

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

پیشینه‌ها
علمی-پژوهشی

سال دوم - شماره پنجم - پائیز ۱۳۸۹

مجله زیست‌شناسی گیاهی بر اساس ابلاغیه شماره ۳/۱۱/۵۵۸ مورخ ۱۳۸۸/۰۳/۲۵ کمیسیون بررسی نشریات علمی وزارت علوم تحقیقات و فناوری، دارای درجه علمی - پژوهشی و شماره استاندارد بین‌المللی ۸۲۴۶-۲۰۰۸ از سازمان اسناد و کتابخانه ملی جمهوری اسلامی ایران می‌باشد.

" این مجله حاصل فعالیت مشترک دانشگاه اصفهان و انجمن زیست‌شناسی ایران است."

متن کامل مجله در پایگاه‌های اطلاع‌رسانی زیر نمایه می‌شود:

<http://uijs.ui.ac.ir/ijpb>

<http://www.magiran.com>

<http://www.SID.ir>

<http://www.ISC.gov.ir>

سایت اختصاصی مجله

بانک اطلاعات نشریات کشور

سایت اینترنتی جهاد دانشگاهی

پایگاه استنادی علوم جهان اسلام

چاپ و لیتوگرافی: انتشارات دانشگاه اصفهان

ناشر: دانشگاه اصفهان

قیمت: ۲۰۰۰۰ ریال

تیراژ: ۱۰۰۰ نسخه

چاپ: بهار ۱۳۹۰

مجله زیست‌شناسی گیاهی (علمی - پژوهشی)

سال دوم - شماره پنجم - پاییز ۱۳۸۹

شماره استاندارد بین‌المللی: ۸۲۶۴-۲۰۰۸

صاحب امتیاز: معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه اصفهان و انجمن زیست‌شناسی ایران

مدیر مسئول: دکتر منصور شریعتی

سر دبیر: دکتر منصور شریعتی

اعضای هیأت تحریریه

دانشگاه اصفهان	دکتر علی اکبر احسانپور
دانشگاه اصفهان	دکتر محمدرضا رحیمی‌نژاد رنجبر
دانشگاه تهران	دکتر شاهین زارع مبارکه
پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری	دکتر محمدرضا زمانی
دانشگاه اصفهان	دکتر منصور شریعتی
دانشگاه تربیت مدرس	دکتر فائزه فئاتی
مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور	دکتر علی اصغر معصومی

مدیر اجرایی: فریبا هادیان

ویراستار تخصصی انگلیسی: فریدون پرویزیان

ویراستار ادبی: ناصر کریم‌پور

صفحه‌آرا: بهزاد حکیمی‌نیا

صفحه‌آرای تخصصی: فریبا هادیان

ناشر: انتشارات دانشگاه اصفهان

اصفهان - دانشگاه اصفهان - سازمان مرکزی - معاونت تحقیقات و فناوری - طبقه دوم - اداره چاپ، انتشارات و مجلات

کد پستی: ۸۱۷۴۶۷۳۴۴۱ - دفتر مجله زیست‌شناسی گیاهی

نشانی پست الکترونیک: IJPB@ui.ac.ir

پیش از ارسال مقاله، روش تدوین و نگارش مقاله خود را به دقت با مطالب زیر مطابقت فرمایید.

نکات قابل توجه

- ۱- در مقاله، قواعد دستور زبان فارسی و رسا بودن جملات مورد توجه ویژه قرار گیرد.
- ۲- مقالاتی که برای چاپ در این مجله ارسال می‌گردد نباید قبلاً چاپ شده باشد (مگر در شکل خلاصه در گردهمایی‌ها)، همچنین نباید به طور همزمان برای بررسی به مجلات دیگر ارائه شده باشد.
- ۳- مسئولیت مطالب مندرج در مقاله بر عهده نویسنده یا نویسندگان مقاله است.
- ۴- مجله در قبول، رد و اصلاح مقاله‌ها آزاد است.
- ۵- مقاله‌های دریافتی توسط متخصصان امر داوری می‌گردد و در صورت تصویب در هیأت تحریریه با رعایت نوبت به چاپ می‌رسد.
- ۶- عدم رعایت دستورالعمل نگارش مقاله باعث عدم پذیرش و یا کندی مراحل پذیرش مقاله خواهد شد.

روش تدوین مقاله

- ۱- مقاله‌ها بایستی به زبان فارسی تهیه شوند و هر مقاله باید یک چکیده به زبان انگلیسی داشته باشد و خلاصه انگلیسی (Abstract) و واژه‌های کلیدی (Key words) در انتهای مقاله آورده شود.
- ۲- مقاله کامل (Full Paper) دارای خلاصه فارسی، واژه‌های کلیدی، مقدمه، مواد و روش‌ها، نتایج (شامل شکل، جدول و ...)، بحث، جمع‌بندی، قدردانی، منابع، خلاصه انگلیسی (Abstract) و واژه‌های کلیدی انگلیسی (Key words) باشد و حداکثر در ۱۵ صفحه در فرمت نهایی مجله تنظیم شود.
- ۳- مقاله کوتاه (Short Paper) کاملاً شبیه مقاله کامل دارای خلاصه فارسی، واژه‌های کلیدی، مقدمه، مواد و روش‌ها، نتایج (شامل شکل، جدول و ...)، بحث، جمع‌بندی، قدردانی، منابع، خلاصه انگلیسی (Abstract) و واژه‌های کلیدی انگلیسی (Key words) بدون بخش‌بندی و عنوان و حداکثر در ۴ صفحه تنظیم شود.
- ۴- شکل‌ها، نمودارها و جدول‌ها شماره‌گذاری شده و به همراه زیرنویس آنها در متن مقاله آورده شود؛ در نرم‌افزار Word، فرمت شکل‌ها در بخش Text Wrapping، به صورت In line with text انتخاب شود؛ از ارسال شکل‌های گروه‌بندی شده (Group) اکیداً خودداری شود؛ نمودارها به صورت دو بعدی و سیاه و سفید طراحی و از حالت سه بعدی خارج شوند.
- ۵- مقاله‌ها بایستی با فاصله خطوط Single تایپ شود.
- ۶- تایپ مقاله با نرم‌افزار Microsoft Office Word 2003، به صورت یک رو، در کاغذ A4، با حاشیه‌های متن ۳ سانتی‌متر و به صورت یک ستونی انجام شود.
- ۷- از درج پاورقی برای بیان توضیحات انگلیسی و فارسی و بالعکس خودداری شود و در صورت نیاز در درون پراگماتر و در متن مقاله آورده شود.
- ۸- هر مقاله علمی - پژوهشی بایستی دارای قسمت‌های زیر باشد:

عنوان: فارسی: 16 B Lotus Bold و انگلیسی: 14 Times New Roman Bold

نام نگارندگان: فارسی: 14 B Lotus Bold و انگلیسی: 12 Times New Roman Bold

درج شماره مربوط به آدرس هر نگارنده بعد از نام نگارنده به صورت Superscript

علاوه بر درج شماره مربوط، یک ستاره برای نویسنده مسئول (Corresponding Author)

نشانی نگارندگان: فارسی: 12 B Lotus Bold و انگلیسی: 11 Times New Roman Bold

درج شماره مربوط به نشانی هر نگارنده قبل از نام نگارنده به صورت Superscript.

نشانی پست الکترونیک نویسنده مسئول: فارسی: 10 B Lotus Bold و انگلیسی: 10 Times New Roman Bold

نمونه:

اثر تنش شوری و خشکی بر رشد گیاه گندم در مناطق سردسیر

حسن مختار پناه،^۱، علی اکبر مشتاقی^۲

^۱* گروه زیست‌شناسی دانشگاه اصفهان،^۲ مرکز تحقیقات زیستی

mokhtar-p@ui.ac.ir

خلاصه فارسی و انگلیسی: فارسی: 11 B Lotus و انگلیسی: 11 Times New Roman, شامل ۱۰۰ تا ۲۵۰ کلمه و بدون هر گونه کلمه اختصاری واژه‌های کلیدی فارسی و انگلیسی: حداکثر حاوی شش کلمه مرتب شده بر اساس حروف الفبا ترتیب بخش‌های مختلف مقاله: خلاصه فارسی، واژه‌های کلیدی، مقدمه، مواد و روش‌ها، نتایج، بحث، جمع‌بندی، قدردانی، منابع، خلاصه انگلیسی (Abstract)، واژه‌های کلیدی انگلیسی (Key words): فارسی: 13 B Lotus و انگلیسی: 12 Times New Roman تذکر: عنوان جدول در بالای جدول و عنوان نمودار و شکل در زیر آنها با خط 11 B Lotus نوشته شود.

نحوه مرجع‌دهی:

الف) مرجع‌دهی در متن (References in text): در متن به صورت نام نویسنده و یا نویسندگان (بدون نام کوچک) و سال انتشار نوشته شود. نمونه فارسی: یک نویسنده: (قاسمی، ۱۳۸۸)، دو نویسنده: (اکبری و مشتاقی، ۱۳۶۵)، سه نویسنده و بیشتر: (پناهی و همکاران، ۱۳۷۶) نمونه انگلیسی: یک نویسنده: (Weston, 1996)، دو نویسنده: (Schopfer and Plachy, 1984)، سه نویسنده و بیشتر: (Kruse et al., 2000) کلمه *et al.* بایستی به صورت مورب نوشته شود (این کلمه لاتین است).

ب) مرجع‌دهی در بخش منابع (References in list): منابع بر اساس حروف الفبا مرتب و ابتدا منابع فارسی و سپس انگلیسی آورده شود. ب-۱) مرجع‌دهی به مقاله (Paper): به ترتیب شامل: نام نویسنده یا نویسندگان، سال، عنوان مقاله، نام مجله، شماره مجله، شماره صفحات. نام مجله به صورت کامل نوشته شود.

ب-۱-۱) مقاله با یک نگارنده

نمونه فارسی: ولی‌پور، ع. (۱۳۷۶) بررسی پراکنش گیاهان مقاوم به شوری در ایران. مجله زیست‌شناسی ۳: ۷۵-۹۱.

نمونه انگلیسی:

Katz, A. D. (1985) Determination of intracellular osmotic volume and sodium concentration in *Dunaliella*. Plant Physiology 78: 817-820.

ب-۱-۲) مقاله با دو نگارنده:

نمونه فارسی: ولی‌پور، ع. و حسینی، ا. (۱۳۷۶) بررسی پراکنش گیاهان مقاوم به شوری در ایران، مجله زیست‌شناسی ۳: ۷۵-۹۱.

نمونه انگلیسی:

Katz, A. D. and Brown, M. (1985) Determination of intracellular osmotic volume and sodium concentration in *Dunaliella*. Plant Physiology 78: 817-820.

ب-۱-۳) مقاله با سه نگارنده و بیشتر:

نمونه فارسی: ولی‌پور، ع، حسینی، ا. و امینی، ا. ر. (۱۳۷۶) بررسی پراکنش گیاهان مقاوم به شوری در ایران، مجله زیست‌شناسی ۳: ۷۵-۹۱.

نمونه انگلیسی:

Cowan, A. K., Rose, P. D. and Horne, L. G. (1992) A model system for studying the response of plant cells to stress. Journal of Experimental Botany 43: 1535-1547.

ب-۲) مرجع‌دهی به کتاب (Book): به ترتیب شامل: نام نویسنده یا نویسندگان، سال، عنوان کتاب، شماره Edition در صورت وجود، نام مؤسسه انتشاراتی، نام اولین شهری که انتشار در آن انجام گرفته است.

نمونه فارسی: کردوانی، س. ح. (۱۳۷۳) اکوسیستم‌های طبیعی. جلد ۶، مرکز فرهنگی و انتشارات پائیز، تهران.

نمونه انگلیسی:

Rizvi, S. J. H. and Rizvi, V. (1992) Allelopathy in plants: Basic and applied aspects. Chapman and Hall, London.

Rice, E. L. (1984) An introduction to microbiology. 2nd Ed, Academic Press, New York.

مرجع‌دهی به ترجمه فارسی کتاب:

نوگل، جی. ر. و فریتز، ت. (۱۳۸۰) مقدمه‌ای بر فیزیولوژی گیاهی. ترجمه لاهوتی، م. و رحیم‌زاده، ر. انتشارات آستان قدس رضوی. مشهد.

ب-۳) مرجع‌دهی به بخشی از کتاب (Chapter in Book) که هر بخش دارای نویسنده جداگانه باشد:

نمونه انگلیسی:

Chou, C. H. (1990) The role of allelopathy in agroecosystems. In: Researching the ecology basis for sustainable agriculture (ed. Gliessman, S. R.) 105-121. Springer Verlag, Berlin.

Blum, U. (1995) The value of model plant-microbe-soil system for understanding processes associated with allelopathic interaction. In: Organisms, processes and applications (eds. Jnderjit, K. M., Dakshini, M. and Einhelling, F. A.) 127-131. American Chemical Society, Washington D. C.

ب-۴) مرجع‌دهی به پایان‌نامه کارشناسی ارشد یا دکترا: نام نویسنده، سال، عنوان پایان‌نامه، مقطع تحصیلی، نام دانشگاه، نام شهر، نام کشور.
نمونه فارسی: ظهراپی، م.ع. (۱۳۸۸) بررسی اثر شوری بر رشد و میزان پرولین گیاه گندم. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

نمونه انگلیسی:

Lawlor, H. J. (1989) Tissue culture of Australian brown seaweeds and an assessment of their tocopherol content. PhD Thesis, Murdoch University, Perth, Australia.

ب-۵) مرجع‌دهی به Patent:

Suzuki, T., Ohishi, N. and Yagi, K. (2000) Methods of obtaining a composition 9-cis β -Carotene in high purity. US Patent 6057484.

ب-۶) مرجع‌دهی به اینترنت: مرجع‌دهی به آدرس‌های اینترنتی تقریباً فاقد اعتبار بوده و پیشنهاد می‌شود استفاده نگردد. در مواقعی که ناگزیر از استفاده محدود از آن باشد نام نویسنده، زمان چاپ و در انتها نیز زمان استخراج از اینترنت درج گردد.

نمونه:

Rotblat, J. (2000) Fifty Pugwash conferences: a tribute to Eugene Rabinowitch. Retrieved from <http://www.pugwash.org/reports/pac/pac256/otblat.htm>. On: 22 June 2001.

تذکر: درستی نام علمی گونه‌های گیاهی از لحاظ صفت گونه‌ای و نام آتور در سایت اینترنتی www.ipni.org بررسی شود.

نحوه ارسال مقاله

مقالات به صورت فایل word به صورت ضمیمه (attachment) به نشانی پست الکترونیک ijpb@ui.ac.ir ارسال گردد.

تماس با ما

شماره تماس: ۰۳۱۱-۷۹۳۴۱۶۴

دورنگار: ۰۳۱۱-۷۹۳۲۱۷۷

نشانی پست الکترونیک: ijpb@ui.ac.ir

اصفهان- خیابان هزار جریب- دانشگاه اصفهان- سازمان مرکزی- طبقه دوم- اداره چاپ، انتشارات و مجلات

دفتر مجله زیست‌شناسی گیاهی، کدپستی: ۷۳۴۴۱-۸۱۷۴۶

برای دریافت راهنمای کامل نگارش مقاله به سایت اختصاصی مجله <http://uijs.ui.ac.ir/ijpb> مراجعه فرمایید.

هیأت داوران این شماره (سال دوم - شماره پنجم - پاییز ۱۳۸۹)

اعضای محترم هیأت علمی دانشگاه‌ها و مؤسسات آموزشی و پژوهشی کشور که در داوری و ارزیابی مقالات این شماره از مجله علمی-پژوهشی زیست‌شناسی گیاهی همکاری داشته‌اند، معرفی شده و از خدمات علمی آنها تقدیر می‌گردد:

دانشگاه اراک	دکتر محمد حسین آبنوسی
دانشگاه زنجان	دکتر کیوان آقایی جوبنی
دانشگاه اصفهان	دکتر علی اکبر احسانپور
دانشگاه اراک	دکتر فریبا امینی
دانشگاه شهید چمران	دکتر پرژک ذوفن
دانشگاه صنعتی اصفهان	دکتر علی اکبر رامین
دانشگاه شیراز	دکتر هما رجایی
دانشگاه شهید باهنر	دکتر فرخنده رضانژاد
دانشگاه گیلان	دکتر جنت سرمد
دانشگاه گیلان	دکتر ریحانه سریری
پژوهشکده بیوتکنولوژی	دکتر مریم شهبازی
دانشگاه صنعتی اصفهان	دکتر بدرالدین ابراهیم سید طباطبایی
دانشگاه اراک	دکتر مهتری عسکری مهرآبادی
دانشگاه تربیت مدرس	دکتر فائزه قناتی
دانشگاه لرستان	دکتر مریم مددکار حق‌جو
دانشگاه تبریز	دکتر علی موافقی
دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان	دکتر سیما یحیی‌آبادی

مجله علمی - پژوهشی زیست‌شناسی گیاهی
سال دوم - شماره پنجم - پاییز ۱۳۸۹
شماره استاندارد بین‌المللی: ۸۲۴۶-۲۰۰۸

فهرست

- ۱۲ - ۱ ■ اثر منگنز بر رشد و برخی از شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در شاهی
(*Lepidium sativum* L.)
شهلا هاشمی، زهرا اسرار و شهرام پورسیدی
- ۲۴ - ۱۳ ■ بررسی تأثیر هورمون‌های رشد در شرایط درون شیشه بر رشد و تولید گیاهچه
و غده‌چه در گیاه سیب‌زمینی
محمود اطرشی، کوثر مرادی و عبدالرضا نبی‌نژاد
- ۳۶ - ۲۵ ■ بررسی تأثیر غلظت‌های میکرومولاری کلرات بر روی جذب نیترات توسط
HATS، در گیاه آراییدوپسیس تالیانا
پرژک ذوفن و منصور شریعتی
- ۵۰ - ۳۷ ■ تأثیر مصرف خاکی و محلول‌پاشی آهن بر روی برخی از خصوصیات کیفی
دانه گیاه بادام‌زمینی (*Arachis hypogaeae* L.) در خاک قلیایی
محمود پنج‌تن‌دوست، علی سروش‌زاده و فائزه قناتی
- ۶۲ - ۵۱ ■ بررسی اثر کمبود آب بر شاخص‌های فلورسانس کلروفیل و میزان پروکلین در
شش ژنوتیپ جو و رابطه آن با دمای آسمانه (Canopy) و عملکرد
ابراهیم ممنوعی و رئوف سید شریفی
- ۷۴ - ۶۳ ■ بررسی ویژگی‌های تکوینی دانه گرده و تخمک در گونه *Centaurea iberica*
Trevir. ex Spreng
عبدالکریم چهرگانی‌راد، ناصر حسینی، منا ناظمی و حسین لاری یزدی
- ۸۸ - ۷۵ ■ بررسی کمی و کیفی ترکیبات فنلی در پوست سیب، رقم گالا
لمیا وجودی مهربانی، محمدرضا دادپور، عباس دل آذر، علی موافقی و جعفر حاجی‌لو

اثر منگنز بر رشد و برخی از شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در شاهی (*Lepidium sativum* L.)

شهلا هاشمی، زهرا اسرار*^۱ و شهرام پورسیدی^۲

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر، کرمان

^۲ گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان

چکیده

منگنز یکی از عناصر ضروری کم‌مصرف برای همه گیاهان است، اما سمیت آن نشانه‌های نامطلوبی در گیاه ایجاد می‌کند. در خاک‌های اسیدی سمیت منگنز عمومی‌تر از کمبود منگنز است. در این مطالعه، به علت اهمیت شاهی در بسیاری از موارد مانند استفاده گیاه در دارو، غذا و اقتصاد، اثر سمیت منگنز با غلظت‌های ۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار روی بعضی از فاکتورهای رشد و ویژگی‌های بیوشیمیایی بررسی گردید. نتایج، کاهش طول ساقه، ریشه، جذب عنصر روی و فعالیت کاتالاز و افزایش محتوای مالون‌دی‌آلدئید در غلظت‌های ۵۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار منگنز را نشان داد. علاوه بر این، محتوای کاروتنوئید در گیاهانی که با غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار منگنز تیمار شدند، تغییر معنی‌داری نشان نداد، در حالی که محتوای آنتوسیانین افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، شاهی، کاروتنوئید، مالون‌دی‌آلدئید، منگنز

مقدمه

شاهی گیاهی یکساله به ارتفاع حدود ۲۰ تا ۳۰ سانتی‌متر است. منشأ آن به منطقه وسیعی از مصر تا تبت نسبت داده شده است. برگ و ساقه آن رنگ سبز روشنی دارد و گل‌هایش صورتی روشن یا سفید است. شاهی اثر ضد آسکوربوت قوی داشته، همچنین اشتها آور، مدر و تصفیه‌کننده خون است. مصرف دانه آن به عنوان داروی خلط آور مصرف می‌شود (زرگری، ۱۳۷۶). تنش‌های

مختلف همواره محدودکننده رشد و عملکرد گیاه بوده است. یکی از این تنش‌ها سمیت منگنز است. شایان ذکر است که منگنز عنصر ضروری کم‌مصرفی است که از نظر وظایف بیوشیمیایی در گیاه شبیه منیزیم عمل می‌کند. هر دو یون، ATP را با کمپلکس آنزیمی (فسفو کینازها و فسفو ترانسفرازها) پیوند می‌دهند، در حالی که پیوندی که توسط منگنز تشکیل می‌شود، با پیوندی که توسط منیزیم تشکیل می‌شود، کمی متفاوت است. دگر بوکسیلازها و

آسیب‌رسانی به غشاء هستند یکی از مهمترین علایم این آسیب از بین رفتن سلامت غشاء است (حاجی‌بلند و خسروپناه، ۱۳۸۴).

گیاهان مکانیسم‌های دفاعی متعددی برای کنترل و خنثی کردن رادیکال‌های آزاد ناشی از اکسیژن به کار می‌گیرند. از جمله این مکانیسم‌ها، وجود یک سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی با ساز و کار آنزیمی (کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و ...) است که می‌تواند رادیکال‌های آزاد اکسیژن را از بین برده، خسارات ناشی از تنش اکسیداتیو را تخفیف دهد (Qinghua and Zhujun, 2008). سمیت منگنز باعث ظهور علایم کمبود روی می‌شود. دانشمندان دیگری نیز گزارش کردند که سمیت منگنز باعث کاهش جذب روی در گیاه چای شده است (Venkatesan *et al.*, 2007). گیاهان دارویی نظیر شاهی از ارزش و اهمیت خاصی در تأمین بهداشت و سلامتی جوامع هم به لحاظ درمان و هم پیشگیری از بیماری‌ها برخوردار بوده‌اند. از سوی دیگر، ورود عناصر سنگین، مثل منگنز به چرخه زندگی انسان باعث عوارضی مانند پارکینسون (Parkinson) و اختلالات ذهنی در کودکان می‌شود (Yang and Deng, 2008).

در کشور ما، بخصوص استان آذربایجان شرقی، خاک‌های غنی از منگنز و معادن فعال این عنصر وجود دارد که محدوده وسیعی از خاک‌های مرتعی و زمین‌های زراعی مجاور این معادن تحت تأثیر غلظت‌های مسموم‌کننده این عنصر قرار می‌گیرد. در پژوهش حاضر، تأثیر فلز منگنز بر روی واکنش‌های فیزیولوژیک شاهی و جذب عناصر بررسی گردید.

دهیدروژنازهای چرخه کربس نیز توسط منگنز فعال می‌شوند (منگل و کرکی، ۱۳۷۶)، منگنز با فعال ساختن ایندول‌استیک اسید اکسیدازها سبب اکسایش ایندول‌استیک اسید می‌شود. وجود منگنز در فتوسیستم II که در واکنش‌های تجزیه آب شرکت می‌کند نیز ضروری به شمار می‌رود (منگل و کرکی، ۱۳۷۶) با این حال، غلظت‌های بالای منگنز برای گیاه سمی بوده، در برخی از خاک‌ها، از جمله خاک‌های اسیدی و آتشفشانی، احیای بیش از حد این عنصر به سمیت منگنز در بسیاری از خاک‌های مرتعی و کشاورزی (Rezai and Farbodnia, 2008) منجر می‌شود. بدین ترتیب، با کاربرد کودهای اسیدزا مانند سولفات آمونیوم، احتمال ظهور سمیت منگنز افزایش می‌یابد و نیز کاهش پتانسیل اکسایش خاک در خاک‌هایی که به حالت غرقابی درآمده‌اند، سبب افزایش احیای منگنز و تبدیل اشکال مختلف این عنصر می‌شود (منگل و کرکی، ۱۳۷۶). عوامل مختلفی بر روی تحمل گیاه به منگنز مؤثر هستند. سن برگ، دما، تعادل تغذیه‌ای خاک، pH، ژنوتیپ و خصوصاً شدت نور از عوامل مهم تعیین‌کننده شدت حساسیت گونه‌ها به سمیت منگنز است (حاجی‌بلند و خسروپناه، ۱۳۸۴).

آثار سمی عناصر فلزی سنگین، اعم از عناصر ضروری و غیرضروری از طریق تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن اعمال می‌شود (Gille and Singler, 1995). هر چند توانایی این فلزات در انتقال الکترون طی واکنش‌های ردوکس، می‌تواند امکان شرکت آنها را به‌عنوان عناصر ضروری در واکنش‌های متابولیسمی مختلف فراهم نماید، ولی در عین حال، عامل تولید گونه‌های فعال اکسیژن در غلظت مازاد این عناصر در بافت‌هاست. رادیکال‌های اکسیژن عامل پراکسیداسیون لیپدهای غشایی و

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از گیاه شاهی استفاده شد. به منظور بررسی اثر سمیت منگنز بر روی برخی از شاخص‌های رشد، فعالیت آنزیم کاتالاز، محتوای مالون‌دی‌آلدئید، میزان روی و منگنز در بافت گیاه آزمایشی، به صورت طرح کامل تصادفی در ۴ تیمار و ۳ تکرار انجام گرفت. بذره‌های شاهی پس از ضدعفونی شدن با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت ۶ دقیقه با آب مقطر شسته و در گلدان‌های پلاستیکی حاوی پرلیت کاشته شدند. گیاهان در شرایط اتاق رشد با دمای روز/ شب ۱۸/۲۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۰-۶۰ درصد و با دوره تناوب نوری ۸/۱۶ ساعت (روشنایی/ تاریکی) در شدت نور ۵ کیلولوکس کشت داده شدند. در طول هفته اول پس از کاشت، گلدان‌ها با محلول Long- Ashton (Rezai and Farbodnia, 2008) تغذیه شدند و پس از رشد مناسب گیاهان، تیمارهای ۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار منگنز (نمک سولفات منگنز) روی آنها اعمال گردید و بعد از سه هفته تیمار، گیاهان برای آنالیز برداشت شدند.

کاغذ صافی جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Visible مدل Cary 50 ساخت آلمان در طول موج‌های ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲۰، ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. برای صفر نمودن دستگاه، از استون ۸۰ درصد استفاده شد. غلظت رنگیزه‌ها با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید:

$$\text{Chla} = 12.25 A_{663.2} - 2.79 A_{646.8}$$

$$\text{Chlb} = 21.21 A_{646.8} - 5.1 A_{663.2}$$

$$\text{Total Chl} = \text{Chla} + \text{Chlb}$$

$$\text{Car} = (1000A_{470} - 1.8 \text{Chla} - 85.02 \text{Chlb})/198$$

در این فرمول Chla، Chlb، Total Chl و Car به ترتیب غلظت کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها (شامل کاروتن‌ها و گزانتوفیل‌ها) هستند. غلظت بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره گیاهی تعیین و سپس نتایج بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر بافت محاسبه و ارائه گردید.

سنجش میزان آنتوسیانین (Wanger, 1979)

برای اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین‌های برگ، ۰/۱ گرم از بافت برگ را در هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (متانول خالص و کلریدریک اسید خالص به نسبت حجمی ۱:۹۹) کاملاً ساییده و عصاره در لوله‌های آزمایش سرپیچ‌دار ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و جذب محلول بالایی در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه غلظت، ضریب خاموشی ۳۳۰۰۰ (ε) $M^{-1}cm^{-1}$ در نظر گرفته شد و از فرمول‌های زیر برای

اندازه‌گیری طول اندام هوایی و ریشه

طول ساقه و ریشه با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد. طول ساقه از یقه تا قسمت انتهای ساقه و طول ریشه از یقه تا انتهای ریشه در نظر گرفته شد. برای هر گروه تیماری ۳ تکرار، و مقادیر بر اساس سانتی‌متر گزارش شد.

سنجش میزان کاروتنوئید (Lichtenthaler, 1987)

برای سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئید، ۰/۲ گرم از برگ‌های تازه گیاه در هاون چینی که حاوی ۱۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد بود، ساییده شد و پس از صاف کردن با

مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با pH معادل ۷ و پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار است. با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به مخلوط ذکر شده، واکنش شروع می‌شود. شاهد برای صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر شامل مخلوط واکنش بدون عصاره آنزیمی بود. تغییرات جذب (تفاضل جذب در زمان شروع واکنش از جذب در زمان یک دقیقه)، پس از شروع واکنش محاسبه گردید. میزان H_2O_2 موجود در مخلوط واکنش با استفاده از ضریب خاموشی $(\epsilon = 0.28 \text{ mMol}^{-1} \text{ cm}^{-1})$ محاسبه شد.

تعیین میزان یون‌های روی و منگنز در ریشه به روش جذب اتمی

به منظور اندازه‌گیری یون‌های روی و منگنز از روش جذب اتمی (Lozak and Soltyk, 2002) استفاده شد. اندازه‌گیری یون‌ها در بافت ریشه انجام شد. برای این منظور ۰/۵ گرم از بافت گیاهی خشک را در ۱۰ میلی‌لیتر نیتریک اسید ۸۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت در شرایط آزمایشگاه قرار داده شد تا نمونه گیاهی به خوبی در اسید هضم شود. پس از این مدت محلول حاصل به منظور خارج شدن بخارات اسیدی از محلول، گرم شوند. سپس حجم محلول را با آب مقطر به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده و از کاغذ صافی عبور داده شد. از محلول به دست آمده برای اندازه‌گیری عناصر مورد نظر، از دستگاه طیف نگار جذب اتمی Atomic Absorption Spectrometer مدل Spectra AA 220 ساخت کشور آمریکا استفاده شد.

عملیات آماری

آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی انجام شد. آنالیز

تعیین میزان آنتوسیانین بر حسب میلی‌مولار بر گرم وزن تر بافت استفاده گردید.

$$A = \epsilon bc$$

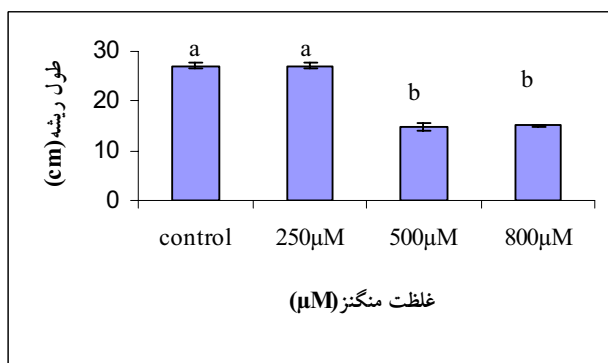
A=جذب؛ b=عرض کووت؛ c=غلظت محلول مورد نظر

اندازه‌گیری غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MDA) (Heath and Packer, 1969)

طبق این روش ۰/۲ گرم از بافت تازه برگ‌گی توزین و در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد ساییده شد. عصاره حاصل با استفاده از دستگاه سانتی‌فیوژ به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتی‌فیوژ شد. سپس به ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی، ۴ میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید (TCA) ۴۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباریتوریک اسید (TBA) بود، اضافه گردید. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حمام آب‌گرم حرارت داده شد. سپس بلافاصله در یخ سرد شد و دوباره مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتی‌فیوژ گردید. شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. ماده مورد نظر برای جذب در این طول موج کمپلکس قرمز (MDA-TBA) است. جذب بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردید. برای محاسبه غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MDA) از ضریب خاموشی معادل $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ استفاده شد و نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب وزن تر بافت محاسبه و ارائه گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (Dhindsa and Motowe, 1981)

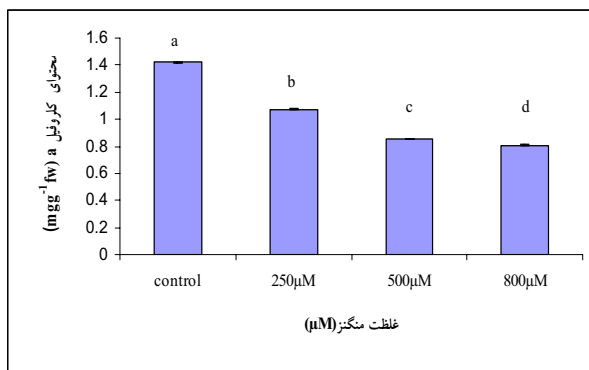
سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از محاسبه کاهش مقدار پراکسید هیدروژن در ۲۴۰ نانومتر انجام شد.



شکل ۲- اثر منگنز روی طول ریشه، مقادیر میانگین \pm انحراف معیار بوده و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شده است. حروف غیر مشترک معرف تفاوت معنی‌دار است.

اثر منگنز بر روی محتوای کلروفیل‌ها

با افزایش غلظت، محتوای کلروفیلی کاهش یافت. کاهش محتوای کلروفیل a (شکل ۳)، b (شکل ۴) و کلروفیل کل (شکل ۵) نسبت به شاهد در تیمار ۸۰۰ میکرومولار منگنز قابل توجه است.



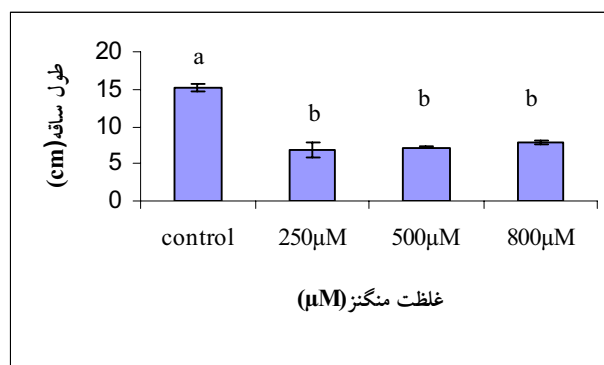
شکل ۳- اثر منگنز روی محتوای کلروفیل a، مقادیر میانگین \pm انحراف معیار بوده و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شده است. حروف غیر مشترک معرف تفاوت معنی‌دار است.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS، آزمون ANOVA صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد و برای رسم شکل از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج

اثر منگنز روی طول ساقه

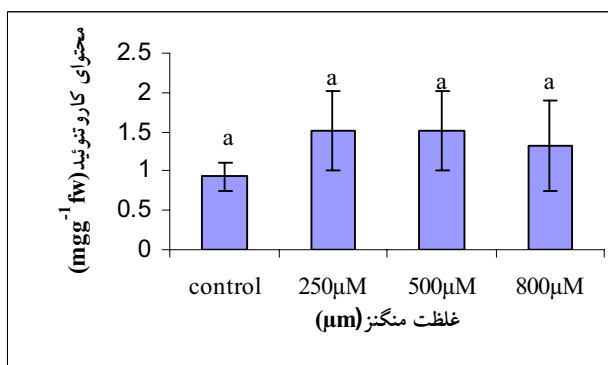
همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، تیمار غلظت بالای منگنز باعث کاهش طول ساقه شده است، اما تیمار ۲۵۰، ۵۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار منگنز نسبت به یکدیگر اثر معنی‌داری ندارند.



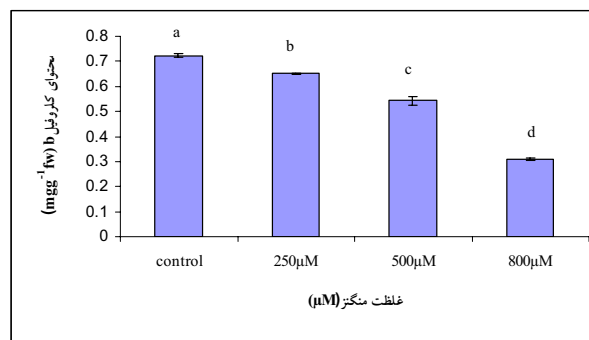
شکل ۱- اثر منگنز روی طول ساقه، مقادیر میانگین \pm انحراف معیار بوده و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شده است. حروف غیر مشترک معرف تفاوت معنی‌دار است.

اثر منگنز بر روی طول ریشه

بر اساس شکل ۲ تیمارهای ۵۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار منگنز باعث کاهش طول ریشه شدند، اما طول ریشه در غلظت ۲۵۰ میکرومولار منگنز نسبت به شاهد، تغییر معنی‌داری نشان نداد.



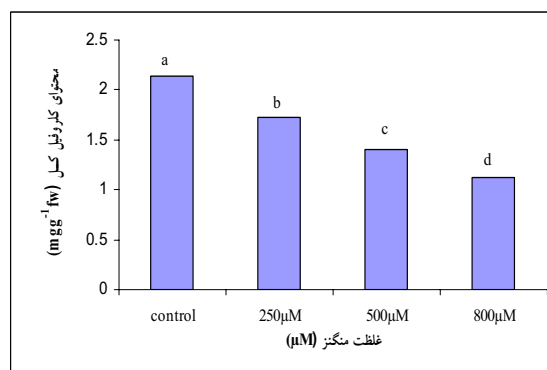
شکل ۶- اثر منگنز روی محتوای کاروتنوئید، مقادیر میانگین ± انحراف معیار بوده و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شده است. حروف غیر مشترک معرف تفاوت معنی‌دار است.



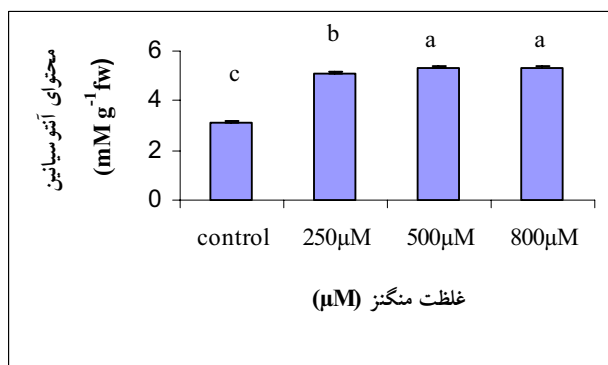
شکل ۴- اثر منگنز روی محتوای کلروفیل b، مقادیر میانگین ± انحراف معیار بوده و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شده است. حروف غیر مشترک معرف تفاوت معنی‌دار است.

اثر منگنز بر روی غلظت آنتوسیانین

با افزایش غلظت‌های منگنز محتوای آنتوسیانین نیز افزایش یافت. بالاترین محتوای آنتوسیانین در تیمار ۵۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار و پایین‌ترین محتوا در شاهد مشاهده شد (شکل ۷).



شکل ۵- اثر منگنز روی محتوای کلروفیل کل، مقادیر میانگین ± انحراف معیار بوده و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شده است. حروف غیر مشترک معرف تفاوت معنی‌دار است.



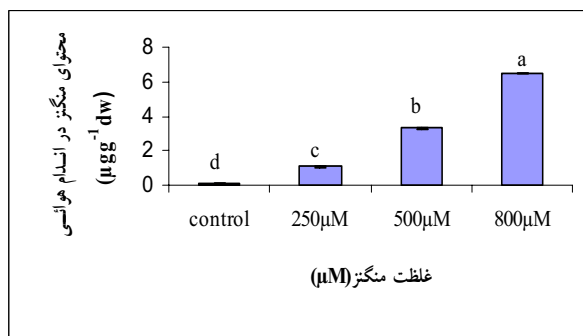
شکل ۷- اثر منگنز روی محتوای آنتوسیانین، مقادیر میانگین ± انحراف معیار بوده و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شده است. حروف غیر مشترک معرف تفاوت معنی‌دار است.

اثر منگنز بر روی غلظت کاروتنوئید

همان‌طور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود، با افزایش تیمار منگنز در محلول غذایی تغییر معنی‌داری در محتوای کاروتنوئید دیده نشد.

غلظت یون منگنز در اندام هوایی

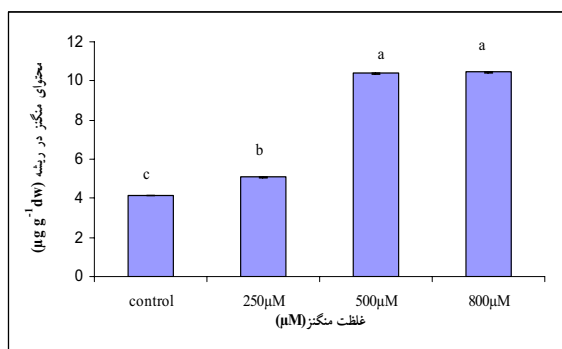
با افزایش غلظت تیمار منگنز، محتوای منگنز اندام هوایی افزایش یافت (شکل ۱۰). بیشترین محتوا مربوط به تیمار ۸۰۰ میکرومولار و کمترین محتوا مربوط به تیمار شاهد است.



شکل ۱۰- محتوای منگنز اندام هوایی در تیمارهای مختلف منگنز، مقادیر میانگین ± انحراف معیار بوده و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شده است. حروف غیر مشترک معرف تفاوت معنی‌دار است.

غلظت یون منگنز در ریشه

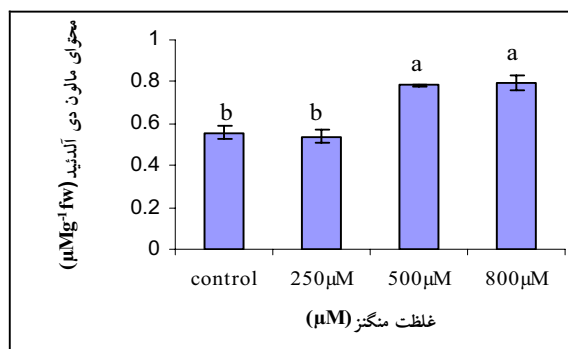
همان‌طور که در شکل ۱۱ مشاهده می‌شود، بالاترین محتوای منگنز در غلظت‌های ۸۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار و پایین‌ترین مقدار مربوط به تیمار شاهد است.



شکل ۱۱- محتوای منگنز ریشه در تیمارهای مختلف منگنز، مقادیر میانگین ± انحراف معیار بوده و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شده است. حروف غیر مشترک معرف تفاوت معنی‌دار است.

اثر منگنز بر روی غلظت مالون‌دی‌آلدئید

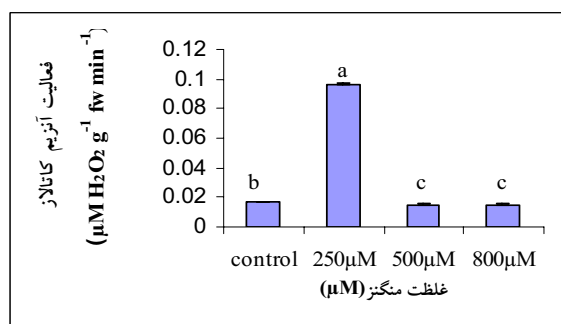
همان‌طور که در شکل ۸ مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت منگنز، محتوای مالون‌دی‌آلدئید افزایش می‌یابد. کمترین مقدار به تیمارهای شاهد و ۲۵۰ میکرومولار منگنز و بالاترین محتوا در تیمارهای ۵۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار منگنز مشاهده می‌شود.



شکل ۸- اثر منگنز روی محتوای مالون‌دی‌آلدئید، مقادیر میانگین ± انحراف معیار بوده و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شده است. حروف غیر مشترک معرف تفاوت معنی‌دار است.

اثر منگنز بر روی فعالیت آنزیم کاتالاز

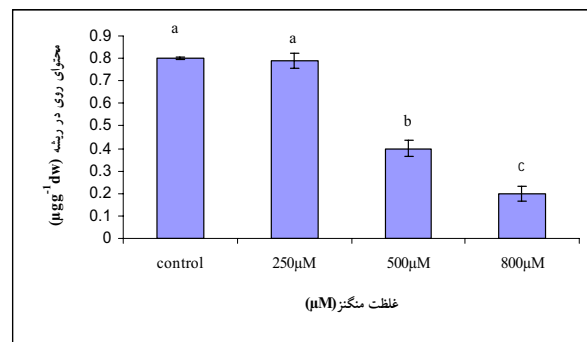
همان‌طور که در شکل ۹ مشاهده می‌شود، تیمار ۲۵۰ میکرومولار منگنز اثر افزایشی و تیمارهای ۵۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار منگنز اثر کاهش‌دهنده روی فعالیت آنزیم کاتالاز داشته است.



شکل ۹- اثر منگنز روی فعالیت آنزیم کاتالاز، مقادیر میانگین ± انحراف معیار بوده و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شده است. حروف غیر مشترک معرف تفاوت معنی‌دار است.

اثر منگنز بر روی غلظت یون روی در ریشه

افزایش محتوای منگنز باعث کاهش محتوای روی شد. بیشترین محتوای روی در شاهد و تیمار ۲۵۰ میکرومولار منگنز و پایین‌ترین محتوا مربوط به تیمار ۸۰۰ میکرومولار است (شکل ۱۲).



شکل ۱۲- محتوای روی ریشه در تیمارهای مختلف منگنز، مقادیر میانگین ± انحراف معیار بوده و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شده است. حروف غیر مشترک معرف تفاوت معنی‌دار است.

بحث

منگنز عنصر ضروری کم مصرف است، اما با این حال غلظت‌های بالای منگنز برای گیاه سمی است (Rezai and Fardodnia, 2008). در پژوهش حاضر، تیمار غلظت‌های بالای منگنز باعث کاهش طول ساقه و ریشه شد. چنین نتایجی با گزارش‌های حاجی‌بلند و خسروپناه (۱۳۸۴) مبنی بر کاهش رشد ریشه آفتابگردان تحت تیمار سمیت منگنز مطابقت دارد. مهار در رشد ریشه توسط منگنز به دلیل ایجاد اختلال در رابطه اسموتیکی گیاه بوده است (Qinghua and Zhujun, 2008). کاهش رشد ساقه بر اثر افزایش سمیت منگنز، احتمالاً به دلیل افزایش فعالیت ایندول استیک اسید اکسیداز است. به نظر می‌رسد که

کاهش رشد بر اثر سمیت منگنز مربوط به کمبود اکسین بوده است؛ گرچه مکانیسم دقیقی که بوسیله آن منگنز، اکسیدازها را فعال می‌سازد، شناسایی نشده است، اگرچه احتمال دارد که تغییر ظرفیت Mn^{3+} به Mn^{2+} در فرآیندهای اکسایش دخالت داشته باشد (Qinghua and Zhujun, 2008). دلیل دیگری را که می‌توان به کاهش ساقه نسبت داد، کاهش جذب روی است (Venkatesan *et al.*, 2007). آنزیم‌های درگیر در بیوسنتز آمینواسید تریپتوفان که به عنوان پیش ماده سنتز اکسین عمل می‌کند، حایز اهمیت است (منگل و کرکبی، ۱۳۷۶). برخی از محققان نیز معتقدند که این عنصر در مسیر تبدیل تریپتوفان به ایندول استیک اسید در مرحله نهایی سنتز اکسین عمل می‌کند (منگل و کرکبی، ۱۳۷۶). دانشمندانی در سال ۲۰۰۷ گزارش کردند که سمیت منگنز باعث کاهش جذب روی در گیاه چای شده است (Venkatesan *et al.*, 2007).

همچنین Rezai و Farbodnia در سال ۲۰۰۸ کاهش جذب روی در نخودفرنگی را بر اثر تیمار غلظت‌های بالای منگنز گزارش نمودند. افزایش منگنز باعث کاهش کلروفیل در چای (Venkatesan *et al.*, 2007)، نخود فرنگی (Rezai and Farbodnia, 2008) و آناناس (Sideris and Young, 1998) شده است. دانشمندانی در سال ۱۹۹۹ گزارش کردند که مهار سنتز کلروفیل به وسیله منگنز اضافی به علت کمبود آهن است که با تجمع پروتوپورفیرین منیزیم و مونو متیل استر آن همراه است (Cstorday *et al.*, 1999). شایان ذکر است که سنتز کلروفیل در مرحله بعدی جایگزینی منیزیم در حلقه تتراپیرول به آهن نیاز دارد (Cstorday *et al.*, 1999).

در غلظت‌های بالای منگنز باعث کاهش فعالیت شده است (Venkatesan *et al.*, 2007) البته، علت کاهش فعالیت آنزیم کاملاً مشخص نیست، با این حال، احتمال داده می‌شود به خاطر رادیکال‌های آزاد منگنز اضافی باشد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که طول ریشه و ساقه به عنوان فاکتور رشد در غلظت‌های ۵۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار کمترین مقدار را داشته است. منگنز در غلظت‌های بالا باعث کاهش غلظت روی، فعالیت آنزیم کاتالاز و افزایش محتوای مالون‌دی‌آلدئید و آنتوسیانین شده است. بنابراین، می‌توانیم نتیجه بگیریم که غلظت‌های ۵۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار منگنز برای گیاه شاهی سمی بودند و عامل تولید رادیکال‌های آزاد و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدها شدند و همچنین گیاه شاهی با افزایش آنتوسیانین به عنوان آنتی‌اکسیدان نتوانست تولید مالون‌دی‌آلدئید را کاهش دهد.

تشکر و قدردانی

خالصانه‌ترین مراتب قدردانی و تشکر خود را محضر استادان گرانقدر و بزرگوار، جناب آقای دکتر آروین و جناب آقای دکتر منوچهر کلانتری تقدیم می‌دارم؛ استادانی که دلسوزانه و با صبر و حوصله کم نظیر، همواره راهنمایم بوده‌اند.

تیمارهای ۵۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار منگنز روی محتوای کاروتنوئید تأثیر معنی‌داری نداشتند، اما باعث افزایش محتوای آنتوسیانین (آنتی‌اکسیدان و از بین برنده رادیکال‌های آزاد شده توسط منگنز اضافی) شد، در حالی که در سال ۲۰۰۷ گزارش کردند که سمیت منگنز باعث افزایش محتوای آن‌ها در چای شده است (Venkatesan *et al.*, 2007). یکی از مکانیسم‌های بروز سمیت در بافت‌های گیاهی در حضور فلزات سنگین مانند منگنز، تولید رادیکال‌های آزاد و ایجاد تنش اکسیداتیو است (Bidwell *et al.*, 2002). رادیکال‌های آزاد با اثر بر پیوندهای دو گانه اسیدهای چرب غیراشباع واکنش‌های زنجیره‌ای پراکسیداسیون را تحریک کرده، و به تخریب اسیدهای چرب و تولید مالون‌دی‌آلدئید منجر می‌شوند (حاجی‌بلند و خسروپناه، ۱۳۸۴).

Zhujun و Qinghua در سال ۲۰۰۸ گزارش کردند که غلظت بالای منگنز باعث افزایش محتوای مالون‌دی‌آلدئید در گیاه چای شد. گیاهان مکانیسم‌های دفاعی متعددی برای کنترل و خنثی کردن رادیکال‌های آزاد ناشی از اکسیژن به کار می‌گیرند. از جمله این مکانیسم‌ها وجود یک سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی با ساز و کار آنزیمی (کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و ...) است که می‌تواند رادیکال‌های آزاد اکسیژن را از بین برده و خسارات ناشی از تنش اکسیداتیو را تخفیف دهد. فعالیت کاتالاز در تیمارهای ۵۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار منگنز کاهش یافت. همچنین در سال ۲۰۰۷ گزارش کردند که فعالیت کاتالاز

منابع

- حاجی‌بلند، ر. و خسروپناه، م. (۱۳۸۴) تحمل مسمومیت منگنز در گیاهان آفتابگردان، برنج و ذرت در شرایط آب‌کشتی. مجله علوم فنون کشاورزی و منابع طبیعی ۴: ۹۱-۱۰۸.
- زرگری، ع. (۱۳۷۶) گیاهان دارویی. جلد سوم. انتشارات ratios. Plant Physiology 24:416-421.
- Venkatesan, S., Hemalatha, K. V. and Jayaganesh, S. (2007) Characterization of manganese toxicity and its influence on nutrient uptake, antioxidant enzymes and biochemical parameters in tea. Journal of Phytochemistry 2: 52-60.
- Wanger, G. J. (1979) Content and vacuole/ extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanins in protoplast. Plant Physiology 64: 88-93.
- Yang, S. X. and Deng, H. (2008) Manganese uptake and accumulation in a woody hyperaccumulator, *Schima superba*. Plant Soil Environment 10:441-446.
- دانشگاه تهران، تهران.
- منگل، ک. و کرکبی، آ. (۱۳۷۶). اصول تغذیه گیاه. ترجمه سالاردینی، ع. ا. و مجتهدی، م. انتشارات مرکز نشر دانشگاهی تهران، تهران.
- Bidwell, S. D., Woodrow, I. E. and Sommer-Knudsen, J. (2002) Hyperaccumulation of manganese in *Austromyrtus bidwilli*. Plant Biology 29:899-905.
- Cstorday, K., Gombos, Z. and Zalontal, B. (1999) Manganese and cobalt toxicity in chlorophyll biosynthesis. Journal of Agricultural Science 3:248-251.
- Dhindsa, R. S. and Motowe, W. (1981) Drought tolerance in two mosses: correlation with enzymatic defense against lipid peroxidation. Journal of Experimental Botany 32: 79-91.
- Gille, G. and Singler, K. (1995) Oxidative stresses in living cells. Folia Microbiology 2:131-152.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1969) Photoperoxidation in isolated chloroplast, kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry 125: 189-198.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology 148:350-382.
- Lozak, A. and Soltyk, K. (2002) Determination of selected trace elements in herbs and their influence. Science Environment 289:33-40.
- Qinghua, S. H. and Zhujun, Z. (2008) Effect of exogenous salicylic acid on manganese toxicity, element contents and antioxidative system in cucumber. Environmental and Experimental Botany 63:317-326.
- Rezai, K. and Farbodnia, T. (2008) The response of pea plant to manganese toxicity in solution culture. Journal of Agricultural Science 3:248-251.
- Sideris, C. P. and Young, H. Y. (1999) Growth and chemical composition of *Ananas comosus* L. in solution cultures with iron manganese

The effect of manganese on growth and some physiological and biochemical parameters of *Lepidium sativum* L.

Shahla Hashemi, Zahra Asrar^{*1} and Shahram Pourseyedi²

¹ Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Bahonar University, Kerman

² Department of Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University, Kerman

Abstract

Manganese (Mn) is one of the essential micronutrients for all plants but its toxicity induced unfavourable symptoms in plants. In acid soils, manganese toxicity is often more common than its deficiency. In this study, because of the importance of *Lepidium Sativum* in many cases such as medicinal, nutritional and economic aspects, the effect of different concentrations of Mn (0, 250, 500 and 800 μ M) on some of the growth factors and biochemical characteristics were studied. The results showed that the concentrations of 500 and 800 μ M of Mn reduced length of shoot, root, absorption of Zn and catalytic activity but increased Malondialdehyde content in comparison with the control. In addition, the plants that treated with 250, 500 and 800 μ M of Mn had no significant effect on carotenoid content while at the same time, increased antocyanin content.

Key words: Antocyanin, *Lepidium sativum*, Carotenoid, Malondialdehyde, Manganese

* Correspong Author: zasrar@mail.uk.ac.ir

بررسی تأثیر هورمون‌های رشد در شرایط درون شیشه بر رشد و تولید گیاهچه و غده‌چه در گیاه سیب‌زمینی

محمود اطرشی*، کوثر مرادی و عبدالرضا نبی‌نژاد

پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه مرکزی کشور (ABRII)، اصفهان

چکیده

آزمایش‌های مورد نظر به منظور تعیین اثرات مستقیم و غیرمستقیم هورمون‌های گیاهی جیبرلیک اسید (GA_3) و کلرومکوات کلراید (CCC) در شرایط درون شیشه بر روی فاکتورهای رشد و متعاقب آن، تولید غده‌چه سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه (اثرات غیرمستقیم) به مرحله اجرا درآمدند. سه غلظت متفاوت از هورمون جیبرلیک اسید (۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) و سه غلظت از هورمون CCC (۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در مورد سه کولتیوار سیب‌زمینی (گلوریا (Gloria)، مارفونا (Marfona) و آگریا (Agria)) شدند. غلظت‌های بالای CCC منجر به تولید شاخساره‌های کمتر گردید. کوتاهترین گیاهچه‌ها با کمترین تعداد برگ بر روی گیاهچه‌های رشد کرده بر روی محیط حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر CCC مشاهده گردید. بالاترین غلظت هر دو هورمون، کمترین میزان سطح برگ را منتج گردید. هورمون جیبرلیک اسید تعداد ریشه را افزایش داد. گیاهچه‌های رشد کرده بر روی محیط‌های کشت حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر CCC سیستم ریشه کوتاهتری را تولید نمودند. اثرات مستقیم هورمون‌های رشد بر روی تعداد و اندازه غده‌چه‌ها معنی‌دار بودند. هر دو پارامتر (ریشه و ساقه) به وسیله هورمون جیبرلیک اسید کاهش معنی‌داری را نشان دادند. قلمه‌های تهیه شده از گیاهچه‌های پیش تیمار شده با CCC کمترین تعداد غده‌چه با کوچکترین اندازه و کمترین وزن را تولید نمودند. تعداد، اندازه و وزن غده‌چه برای هر سه کولتیوار مورد مطالعه یکسان بود.

واژه‌های کلیدی: کلرومکوات، غده‌چه، گیاهچه درون شیشه، جیبرلیک اسید، غده‌چه سیب‌زمینی

مقدمه

در سیستم مرسوم و سنتی، عمدتاً تولید و تکثیر سیب‌زمینی با استفاده از غده‌های بذری صورت می‌گیرد. این شیوه تکثیر دارای معایبی، همچون سرعت پایین تکثیر و خطر بالای آلودگی غده‌ها به عوامل بیماری‌زا، همچون:

قارچ‌ها، باکتری‌ها و ویروس‌هاست (Struik and

Wiersema, 1999; Beukema and Zaag, 1990).

از طرف دیگر، حدود ۱۵ درصد از سطح زیر کشت سیب‌زمینی دنیا برای تولید غده بذری به شیوه مزبور صرف می‌گردد (FAO, 2000). لذا، ضرورت یافتن راهکار

غده‌چه) هورمون‌های رشد گیاهی به طور گسترده و وسیع استفاده می‌شوند. در مرحله تولید گیاهچه، هورمون‌های گیاهی سرعت رشد و برخی دیگر از پارامترها همچون طول گیاهچه، فاصله بین گره‌ها و غیره را تحت تأثیر قرار می‌دهند.

بر اساس تحقیقات انجام شده توسط Miller و همکاران (۱۹۸۵) جیبرلیک اسید (GA_3) باعث افزایش طول گیاهچه و تعداد جوانه - که در یک برنامه‌ریزی ازدیادی از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند - می‌شود. جیبرلیک اسید تشکیل غده‌چه سیب‌زمینی را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد، در حالی که هورمون کلرومکوات کلراید (CCC) کاهش ارتفاع گیاهچه را منتج می‌گردد (Miller *et al.*, 2008; Zakaria *et al.*, 1985). در هر حال، تحقیقات انجام شده حاکی از آن است که غده‌زایی تحت تأثیر فاکتورهای مختلفی، از جمله ترکیبات هورمونی است (Coleman *et al.*, 2001).

برخی از تحقیقات انجام شده بیانگر اثر بازدارنده هورمون GA_3 بر روی غده‌زایی و تولید غده‌چه سیب‌زمینی است. برخی از هورمون‌های رشد گیاهی، همچون CCC منجر به کاهش رشد برخی از قسمت‌های گیاه می‌گردد در حالی که در خصوص دیگر قسمت‌های گیاه، افزایش رشد و تسریع در ظهور غده را منتج می‌گردد (Zakaria *et al.*, 2008) و همچنین طبق نظر Wang و Chy (۱۹۸۲)، CCC تشکیل غده‌چه را تسهیل نموده و ترفیع می‌دهد.

بر اساس گزارش‌ها، ترکیباتی که تأثیر بازدارندگی بر روی رشد رویشی گیاه سیب‌زمینی دارند، در بسیاری از مواقع به تحریک غده‌زایی در این گیاه منجر گردیده‌اند (Wang and Chy, 1982; Zakaria *et al.*, 2008). تحقیقات دیگری نیز در ارتباط با کاربرد هورمون‌های رشد در محیط‌های کشت صورت گرفته که مؤید تأثیر آن بر

اساسی برای رفع مشکل مزبور همواره ضروری و محسوس است (Struik and Wiersema, 1999; Beukema and Zaag, 1990).

سیب‌زمینی می‌تواند با استفاده از تکنیک کشت بافت در مقیاس بالایی تکثیر گردد. در سال‌های اخیر، یک سیستم تولید غده بذری سیب‌زمینی در شرایط کشت در شیشه با بهره‌گیری از گیاهچه یا غده‌چه سیب‌زمینی طراحی و بهره‌برداری شده است. چنین شیوه‌ای امکان تکثیر سریعتر و تأمین حجم انبوهی از غده‌های بذری سالم و عاری از عوامل بیماری‌زا در فاصله زمانی کوتاه را فراهم می‌نماید (Struik and Wiersema, 1999; Beukema and Zaag, 1990).

گیاهچه‌های سیب‌زمینی گیاهان کوچکی هستند که معمولاً از طریق کشت قلمه‌های سیب‌زمینی دارای جوانه در شرایط درون شیشه تولید می‌شوند، در حالی که غده‌چه سیب‌زمینی غده‌های ریزی هستند که در شرایط درون شیشه تولید گردیده، می‌توانند در تمام طول سال و در مکان‌های مختلف بر روی گیاهچه‌های سیب‌زمینی تولید شوند (Ranalli, 1997).

استفاده از غده‌چه سیب‌زمینی در یک برنامه تولید غده بذری سیب‌زمینی، دارای مزایایی همچون: آسانی و سهولت نقل و انتقال، امکان تولید در تمام طول سال در زمان و مکان‌های مختلف، نیاز به فضای کوچک، عاری بودن از کلیه عوامل بیماری‌زا و برخورداری از درجه بالای سلامتی بذراست (Struik and Wiersema, 1999)، بر اساس برخی گزارش‌ها (Dodds, 1988) اگر نقل و انتقال محموله با تأخیر مواجه گردد، غده‌چه در مقایسه با گیاهچه‌ها خسارت کمتری را متحمل خواهد شد.

به طور معمول، در یک شیوه تکثیر در شرایط درون شیشه (چه در مرحله تولید گیاهچه و چه در مرحله تولید

در لیتر آگار و pH معادل ۵/۸ بود. در ادامه کار، ظروف کشت با درپوش‌هایی از جنس پلی‌کربنات بسته و اطراف درپوش‌ها با پارافیلیم مسدود گردید. ظروف حاوی ریزنمونه‌ها در اتاق رشد با دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد، شدت نور ۳۰۰۰ لوکس و ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی برای مدت ۵ هفته قرار گرفتند. در طول مدت مذکور، ریزنمونه‌ها رشد کرده، تولید ریشه و ساقه نمودند. بعد از ۵ هفته گیاهچه‌های تولید شده مجدداً به صورتی که در بالا ذکر شد، واگشت گردیده، بر روی محیط کشت MS تازه واگشت شدند. عملیات تکثیر و واگشت به گونه‌ای که ذکر شد تا حصول تعداد گیاهچه مورد نیاز برای شروع آزمایش اصلی به طور مرتب و به فواصل ۵ هفته تکرار گردید.

تولید غده‌چه در شرایط در شیشه و اعمال تیمارها به منظور ارزیابی اثرات مستقیم هورمون‌های رشد

آزمایش اول به منظور بررسی تأثیر مستقیم هورمون‌های رشد بر روی تولید غده‌چه انجام شد. زمانی که تعداد گیاهچه مورد نیاز فراهم گردید، محلول هورمون‌های گیاهی مورد نظر (GA_3 و کلرومکوآت) آماده گردید. بطور همزمان محیط کشت حاوی ۴/۴ گرم در لیتر محیط کشت MS، ۸۰ گرم در لیتر ساکاروز و ۶ گرم در لیتر آگار تهیه شد. pH محیط در حد ۵/۷ و قبل از اضافه کردن آگار و انجام اتوکلاو تنظیم شد. بلافاصله پس از انجام عملیات اتوکلاو و قبل از منجمد شدن محیط کشت، غلظت‌های منظور شده از هورمون‌های مورد نظر، سه غلظت از هورمون GA_3 (۰/۱، ۰/۵ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) و سه غلظت از هورمون کلرومکوآت (۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) به محیط کشت مورد نظر اضافه گردید و

غده‌زایی است (Hussey and Stacey, 1984).

گرچه مطالعاتی در خصوص تأثیر هورمون‌های رشد گیاهی در شرایط درون شیشه انجام شده است، لیکن کمبود اطلاعات جامع در زمینه اثرات مستقیم هورمون‌های گیاهی در شرایط درون شیشه و تأثیرات بعدی آنها بر روی تولید غده‌چه سیب‌زمینی، هنوز از مشکلات اساسی و عمده به شمار می‌آید و ضرورت انجام مطالعات جامع در این زمینه کاملاً ضروری و الزامی به نظر می‌رسد. هدف اصلی این تحقیق، شناسایی اثرات مستقیم و اثرات غیرمستقیم جیبرلیک اسید و کلرومکوآت در شرایط درون شیشه بر روی تولید گیاهچه‌های سیب‌زمینی و به دنبال آن تولید غده‌چه سیب‌زمینی به منظور افزایش تعداد، اندازه و وزن غده‌چه است.

مواد و روش‌ها

تکثیر گیاهچه‌ها در شرایط درون شیشه‌ای

آزمایش در شرایط آزمایشگاهی در آزمایشگاه کشت بافت بخش اصلاح نباتات دانشگاه Wageningen هلند و در مورد سه رقم سیب‌زمینی گلوریا، مارفونا و آگریا (Gloria، Marfona و Agria) انجام پذیرفت. ابتدا گیاهچه‌های سه رقم سیب‌زمینی مورد نظر از بانک ژن مرکز تحقیقات بین‌المللی دانشگاه Wageningen هلند فراهم گردید. سپس گیاهچه‌های مورد اشاره به قطعاتی به طول ۱ سانتی‌متر تقسیم گردیدند، به طوری که هر قطعه، دارای یک برگ و یک جوانه جانبی بود. در هر ظرف کشت حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت MS (Murashige and Skoog, 1962) ریزنمونه کشت گردید. محیط کشت مورد استفاده حاوی ۴/۴ گرم در لیتر محیط کشت MS، حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکاروز و ۸ گرم

۱۲ میلی‌لیتر محیط کشت جامد قرار گرفتند (در هر لوله آزمایش یک ریزنمونه کشت گردید). این ریزنمونه‌ها بر روی همان محیط کشت با تیمارهای هورمونی مورد نظر توضیح داده شده در آزمایش اول کشت گردیدند. لوله‌های آزمایش به روشی که قبلاً بیان گردید، مسدود گردیده، در اتاق رشد تحت شرایط ۲۴ درجه سانتی‌گراد، ۱۶ ساعت نور برای یک دوره ۳ هفته‌ای قرار گرفتند.

پس از سپری شدن مدت ۳ هفته تعداد شاخساره، طول درازترین ساقه (ارتفاع گیاهچه)، تعداد برگ‌ها، سطح برگ، تعداد ریشه و طول درازترین ریشه، به منظور ارزیابی اثرات مستقیم و غیرمستقیم هورمون‌های رشد گیاهی بر روی تولید گیاهچه سبب‌زمینی اندازه‌گیری و ثبت گردید. در جهت ارزیابی اثرات غیرمستقیم هورمون‌های رشد گیاهی بر روی تولید غده‌چه سبب‌زمینی، ریزنمونه‌های گیاهی از گیاهچه‌های فوق‌الذکر به شیوه‌ای که در آزمایش اول بیان گردید، تهیه شدند. این ریزنمونه‌ها که MS داخل لوله‌های آزمایش حاوی ۱۲ میلی‌لیتر محیط کشت استاندارد (همان محیط کشت استاندارد بالا بیان گردیده و بدون هرگونه هورمون گیاهی) کشت گردیدند. ریزنمونه‌ها در شرایط ۲۴ درجه سانتی‌گراد و تاریکی مطلق قرار گرفتند. پس از ۵۲ روز تعداد، اندازه و وزن غده‌چه‌ها یادداشت‌برداری و ثبت گردید.

طرح آزمایش و آنالیز آماری

آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی و در قالب آزمایش‌های فاکتوریل با دو فاکتور انجام پذیرفت. دو فاکتور مورد استفاده عبارت بودند از: هورمون رشد (فاکتور A) با ۷ سطح (۶ غلظت هورمون‌های رشد و یک شاهد) و کولتیوار سبب‌زمینی (فاکتور B: گلوریا، مارفونا و آگریا).

افزون بر آن، محیط کشت بدون هورمون (شاهد) نیز آزمایش شد.

ریزنمونه‌های حاوی یک برگ و یک جوانه جانبی از گیاهچه‌های فوق‌الذکر تهیه و درون لوله‌های آزمایش حاوی ۱۲ میلی‌لیتر محیط کشت ذکر شده، کشت گردیدند، درون هر لوله آزمایش، یک ریزنمونه کشت گردید. لوله‌های آزمایش با درپوش بسته و با نوار پلاستیک خانگی مسدود گردیدند و در اتاق رشد تحت شرایط ۲۴ درجه سانتی‌گراد و تاریکی برای مدت ۱۰ هفته قرار داده شدند. پس از ۵ هفته، تعداد غده‌چه بر روی گیاهچه شمارش گردید و پس از ۱۰ هفته غده‌چه‌های تولید شده برداشت گردیدند و تعداد، اندازه و وزن غده‌چه تولید شده به وسیله هر گیاهچه به منظور بررسی و ارزیابی اثرات مستقیم و غیرمستقیم هورمون‌های گیاهی بر روی تولید غده‌چه سبب‌زمینی ثبت گردید.

تولید گیاهچه و غده‌چه سبب‌زمینی و انجام تیمارهای مورد نظر به منظور ارزیابی اثرات مستقیم هورمون‌های رشد بر روی تولید گیاهچه سبب‌زمینی در شرایط درون شیشه و همچنین اثرات غیرمستقیم بر روی تولید غده‌چه

آزمایش دوم به منظور ارزیابی اثرات مستقیم هورمون‌های گیاهی بر روی تولید گیاهچه سبب‌زمینی و متعاقب آن، ارزیابی اثرات غیرمستقیم این هورمون‌ها بر روی غده‌زایی و تولید غده‌چه سبب‌زمینی تحت شرایط درون شیشه با استفاده از محیط کشت شاهد و محیط کشت حاوی هورمون‌های گیاهی انجام پذیرفت.

ریزنمونه‌های گیاهی دارای یک جوانه جانبی و یک برگ از گیاهچه‌های ۵ هفته‌ای سالم و عاری از عوامل بیماریزای گیاهی تهیه شدند و در لوله‌های آزمایش حاوی

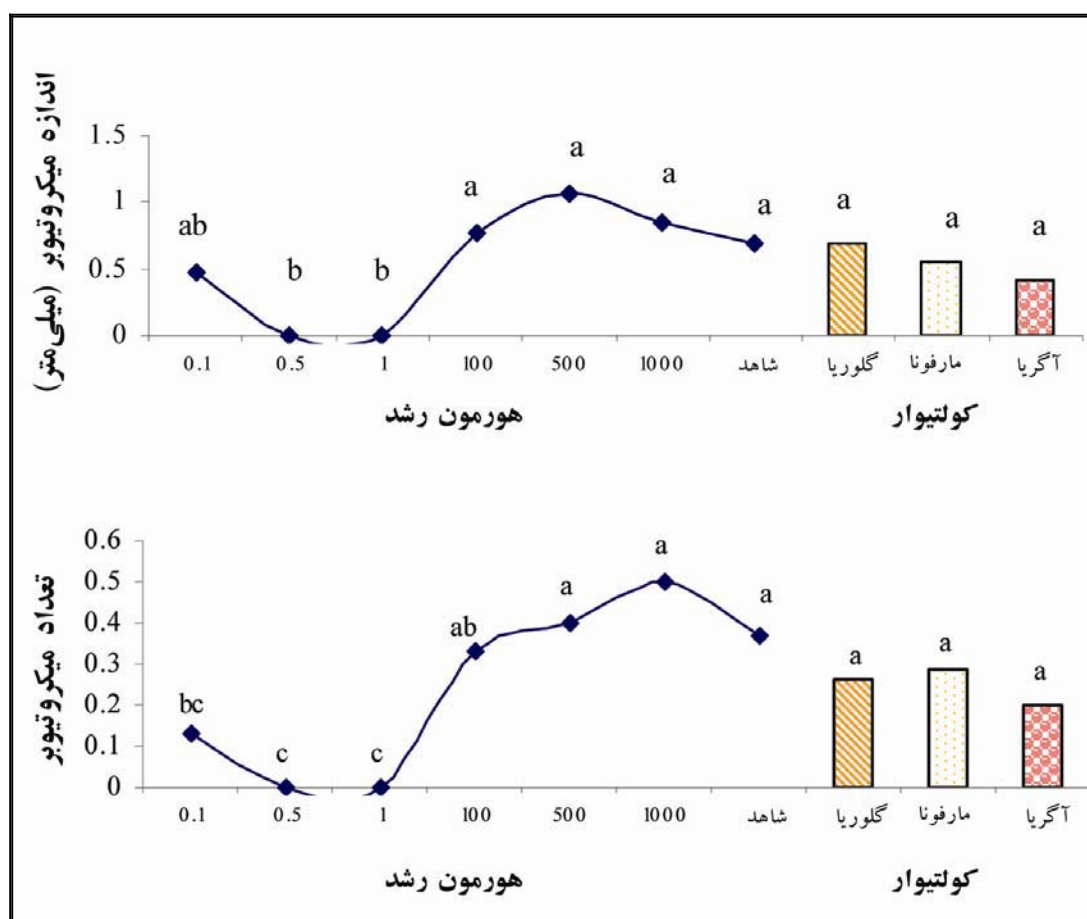
در لیترا) و همچنین شاهد مشاهده گردید، در حالی که هر سه غلظت جیبرلیک اسید (۰/۱، ۰/۵ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیترا) کمترین تعداد غده‌چه را تولید نمود (شکل ۱).

کوچکترین غده‌چه با غلظت‌های بالای GA_3 (۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیترا) مرتبط بود، در حالی که کمترین غلظت GA_3 ، هر سه غلظت کلرومکوات و همچنین شاهد غده‌چه‌های با اندازه نسبتاً بزرگتر را سبب گردیدند. تأثیر معنی‌داری از زمان برداشت بر روی تعداد غده‌چه مشاهده نگردید (داده‌ها ارائه نشده است).

در آزمایش ۱، تعداد غده‌چه بعد از ۵ و ۱۰ هفته ارزیابی گردید. بنابراین، طرح آزمایشی تعداد غده‌چه، طرح کاملاً تصادفی در قالب آزمایش‌های فاکتوریل با سه فاکتور بود. سه فاکتور عبارت بودند از: هورمون رشد، کولتیوار و زمان برداشت (در سطح ۵ و ۱۰ هفته).

نتایج

اثرات مستقیم و غیرمستقیم هورمون‌های گیاهی بر روی تولید غده‌چه و گیاهچه سیب‌زمینی
در آزمایش ۱، بیشترین تعداد غده‌چه در گیاهچه‌های تیمار شده با سه غلظت کلرومکوات (۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم



شکل ۱- اثرات مستقیم هورمون‌های رشد گیاهی و کولتیوار بر روی تعداد و اندازه غده‌چه

آزمایش ۲ نشان داد که اثرات مستقیم هورمون‌های رشد بر روی رشد گیاهچه معنی‌دار بود (جدول ۱). بالاترین تعداد شاخساره بر روی گیاهچه‌های رشد کرده در محیط‌های کشت حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم هورمون کلرومکوات مشاهده گردید، در حالی که گیاهچه‌های

تیمار شده با غلظت بالاتر هورمون کلرومکوات کمترین تعداد ساقه را تولید نمودند. درازترین گیاهچه‌ها مربوط به تیمار شاهد و کوتاه‌ترین گیاهچه‌ها مربوط به تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلرومکوات بود (جدول ۱).

جدول ۱- اثرات مستقیم سه تیمار جیبرلیک اسید، کلرومکوات و رقم بر تعداد شاخساره، ارتفاع گیاهچه، تعداد برگ، سطح برگ، تعداد ریشه و طول ریشه.

تعداد شاخساره	ارتفاع گیاهچه (mm)	تعداد برگ	سطح برگ (mm ²)	تعداد ریشه	طول ریشه (mm)		
۱/۰۲ b	۳۹/۹b	۷/۵ab	۳۵/۶ab	a۱۰/۲	b۵۱/۴	۰/۱ میلی‌گرم در لیتر	
۱/۰۷b	۳۸/۵b	۸/۴ab	a۳۷/۸	a۱۲/۲	b۵۴/۳	۰/۵ میلی‌گرم در لیتر	جیبرلیک اسید
۰/۹bb	۳۵/۸b	۶/۵bc	b۲۲/۲	a۱۱/۳	b۴۹/۴	۱ میلی‌گرم در لیتر	
a۱/۸۱	b۳۶/۰	a۸/۶	ab۳۲/۳	b۵/۹	b۵۴/۳	۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر	
c۰bbb	c۲۶/۵	cd۶/۰	ab۳۸/۷	b۴/۸	b۵۱/۱	۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر	CCC
c۰bbb	d۱۹/۱	d۹/۴	b۲۲/۶	b۳/۶	c۳۱/۶	۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر	
ab۱/۳۸	a۴۷/۶	a۸/۲	a۳۵/۵	b۵/۰	a۶۱/۷	شاهد	
a۱/۲۹	a۴۱/۹	a۸/۰	a۴۷/۴	a۱۰/۴	b۴۶/۱	گلوریا	
a۱/۲۰	a۳۸/۲	a۸/۴	b۳۲/۵	bb۸/۱	a۵۴/۷	مارفونا	رقم
b۰/۱۶	b۲۴/۲	b۵/۰	c۱۲/۱	cb۴/۱	a۵۰/۹	آگریا	
**	**	*	NS	**	**	اثر متقابل رقم × جیبرلیک اسید	

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن است. *: تفاوت معنی‌دار کمتر از ۰/۰۱؛ **: تفاوت معنی‌دار کمتر از ۰/۰۵؛ NS: تفاوت بی معنی (p>۰/۰۵)

بالاترین تعداد برگ بر روی گیاهچه‌های رشد کرده بر روی محیط کشت حاوی غلظت‌های کمتر جیبرلیک اسید و کلرومکوات و همچنین تیمار شاهد مشاهده گردید. کمترین تعداد برگ با غلظت‌های بالاتر کلرومکوات مرتبط بود. بالاترین میزان سطح برگ در غلظت‌های پایین‌تر GA₃ و همچنین کنترل مشاهده گردید. غلظت‌های بالاتر GA₃ و کلرومکوات کمترین میزان سطح برگ را سبب گردیدند (جدول ۱). هر سه تیمار GA₃ در مقایسه با

سه تیمار کلرومکوات و شاهد، تعداد ریشه بیشتری را تولید نمودند (جدول ۱). بیشترین طول ریشه بر روی گیاهچه‌های رشد کرده در محیط‌های کشت بدون هورمون (شاهد) مشاهده گردید، در حالی که گیاهچه‌های رشد کرده در محیط‌های حاوی بالاترین غلظت کلرومکوات کوتاه‌ترین ریشه را تولید نمودند.

اثرات غیر مستقیم هورمون‌های رشد بر روی تولید غده چه

نتایج حاصله بیانگر وضعیت مثبت تأثیرات غیر مستقیم هورمون‌های رشد مورد مطالعه بر روی تعداد، اندازه و وزن غده چه بود (جدول ۱). بیشترین تعداد غده چه با بالاترین اندازه و وزن مربوط به تیمار ۰/۵ میلی گرم جیبرلیک اسید

بود، اگرچه با تیمار شاهد اختلاف معنی داری نداشت و کمترین تعداد غده چه در ارتباط با سه تیمار کلرومکوات و بالاترین غلظت GA_3 ملاحظه گردید. سه غلظت هورمون کلرومکوات، غده چه‌های با کمترین وزن و اندازه را سبب گردیدند (جدول ۲).

جدول ۲- اثرات ثانویه و غیرمستقیم GA_3 و کلرومکوات بر تعداد، اندازه و وزن غده چه

وزن غده چه (mg)	اندازه غده چه (mm)	تعداد غده چه		
bc۰/۳۵	bc۰/۲۸	bc۰/۲۴	۰/۱ میلی گرم در لیتر	
ab۲/۹۵	ab۰/۹۳	ab۰/۵۲	۰/۵ میلی گرم در لیتر	جیبرلیک اسید
bc۱/۲۰	bc۰/۳۳	cb۰/۱۴	۱ میلی گرم در لیتر	
c۰/۰۰	c۰/۰۵	c۰/۰۵	۰/۱ میلی گرم در لیتر	
c۰/۰۰	c۰/۰۰	c۰/۰۵	۰/۵ میلی گرم در لیتر	کلرومکوات
c۰/۰۰	c۰/۰۰	c۰/۰۰	۱ میلی گرم در لیتر	
ab۱/۵۸	ab۰/۵۷	ab/۳۸	شاهد	
a۱/۰۰	a۰/۴۰	a۰/۲۲	گلوریا	
a۱/۰۰	a۰/۲۱	a۰/۱۴	مارفونا	رقم
a۱/۰۰	a۰/۳۲	a۰/۲۲	آگریا	
NS	NS	NS		اثر متقابل هورمون × رقم

حروف مشابه در هر ستون، بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن است. NS: تفاوت بی معنی ($p > 0.05$)

اثرات کولتیوار

اختلاف معنی داری در خصوص تعداد شاخساره، ارتفاع گیاهچه، تعداد برگ، سطح برگ، تعداد ریشه و طول ریشه بین کولتیوارهای مورد مطالعه مشاهده گردید، درحالی که تعداد غده چه‌ها و اندازه آنها برای هر سه کولتیوار یکسان بود (جدول های ۱ و ۲ و شکل ۱).

بحث

اثرات مستقیم هورمون‌های رشد

در مجموع، گیاهچه‌های رشد کرده بر روی محیط‌های کشت حاوی کلرومکوات و همچنین محیط‌های کشت بدون هر گونه هورمون (شاهد) در مقایسه با گیاهچه‌های رشد کرده بر روی محیط‌های کشت حاوی GA_3 غده چه‌های درازتری را تولید نمودند (شکل ۱)، لیکن اختلاف معنی داری در وزن میکروتیورها مشاهده نگردید. بنا به گزارش Harvey و همکاران (۱۹۹۱) در یک کولتیوار از سیب‌زمینی که به سختی غده‌زایی نمود، حضور کلرومکوات باعث تحریک در تشکیل غده چه گردید،

اثرات متقابل

در خصوص تعداد شاخساره، ارتفاع گیاهچه، تعداد برگ، تعداد ریشه و طول ریشه اثر متقابل معنی داری بین هورمون و کولتیوار مشاهده گردید (جدول ۱).

کلرومکوات در محیط‌های کشت باعث کاهش طول میانگره‌ها و همچنین ارتفاع گیاهچه می‌گردد. کاهش معنی‌داری در خصوص تعداد برگ در گیاهچه‌های رشد کرده بر روی محیط‌های کشت حاوی غلظت‌های بالای کلرومکوات مشاهده گردید (جدول ۱).

همه تیمارهای GA_3 افزایش تعداد ریشه را سبب گردید، در حالی که کلرومکوات اثر معنی‌داری بر روی تعداد ریشه نداشت (جدول ۱). به رغم فقدان تأثیر معنی‌دار کلرومکوات، گرایشی به تعداد ریشه کمتر در غلظت بالاتر کلرومکوات ملاحظه می‌گردد. محیط‌های بدون هر گونه هورمون در مقایسه با محیط‌های حاوی GA_3 و یا کلرومکوات گیاهچه‌هایی با ریشه‌های درازتر فراهم نمود. افزایش غلظت کلرومکوات در محیط کشت کاهش طول ریشه را به دنبال داشت (جدول ۱).

اثرات غیرمستقیم هورمون‌های رشد گیاهی بر روی تولید غده‌چه سیب‌زمینی

جدول ۲ تأثیرات معنی‌دار هورمون‌های رشد اعمال شده بر روی تولید غده‌چه (تعداد، اندازه و وزن غده‌چه) را نشان می‌دهد. تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون GA_3 در طول رشد گیاهچه، بهترین نتیجه را برای تعداد، اندازه و وزن غده‌چه فراهم نموده، اگرچه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را با شاهد نشان نمی‌دهد. دیگر تیمارهای اعمال شده منجر به کاهش تعداد، اندازه و وزن غده‌چه‌ها گردیدند.

اثرات کولتیوارها

نتایج حاصله بیانگر آن است که کولتیوار گلوریا (خیلی زودرس) گیاهچه‌های درازتر، تعداد شاخساره، برگ، ریشه

لیکن در یک کولتیوار سیب‌زمینی که به راحتی غده‌زایی می‌نمود، عدم حضور کلرومکوات کاهش وزن تازه غده‌چه را سبب گردیده است. آنها همچنین گزارش نمودند که غلظت کلرومکوات در محیط‌های کشت ممکن است در خصوص کولتیوارهایی که به سختی غده می‌دهند، بر روی رشد غده‌چه تأثیر زیان‌آوری داشته باشد. تاریخ برداشت غده‌چه هیچ اثر معنی‌داری بر روی تعداد میکروتیوبر نداشت و تعداد غده‌چه در دو تاریخ برداشت ۵ و ۱۰ هفته بعد از شروع آزمایش یکسان بود.

نتیجه آزمایش ما که بیانگر نقش منفی اثرات مستقیم GA_3 در تشکیل غده‌چه سیب‌زمینی است. به وسیله تحقیقات انجام شده توسط محققانی همچون Wang و Chy (۱۹۸۲) نیز تأیید می‌گردد.

بالاترین تعداد شاخساره بر روی گیاهچه‌های رشد کرده بر روی محیط‌های حاوی کمترین غلظت کلرومکوات و تیمار شاهد مشاهده گردید. افزودن GA_3 و یا افزایش غلظت کلرومکوات در محیط‌های کشت منجر به کاهش تعداد شاخساره می‌گردد (جدول ۱). کلیه تیمارهای هورمونی اعمال شده در مقایسه با شاهد، کاهش قابل ملاحظه‌ای در خصوص ارتفاع گیاهچه را سبب می‌گردد. همان‌طور که انتظار می‌رفت حضور کلرومکوات در محیط‌های کشت، کاهش ارتفاع گیاهچه را سبب گردید. افزایش غلظت کلرومکوات در محیط‌های کشت به شدت باعث کاهش ارتفاع گیاهچه گردید. کوتاهترین گیاهچه‌ها بر روی محیط‌های کشت حاوی بالاترین غلظت کلرومکوات مشاهده گردید (جدول ۱). Miller و همکاران (۱۹۸۵) در بررسی‌های خود دریافتند که کلرومکوات به شدت ارتفاع گیاهچه را کاهش می‌دهد. Vecchio و همکاران (۲۰۰۰) گزارش نمودند که حضور

فراهم نماید.

تأثیر معنی‌داری از اثر متقابل هورمون رشد × کولتیوار در ارتباط با تعداد شاخساره، برگ و ریشه، ارتفاع گیاهچه و طول ریشه وجود دارد (جدول ۱).

تحقیقات انجام شده توسط Wang و Chy (۱۹۸۲) بیانگر آن است که برخی از اثرات متقابل بین هورمون‌های رشد و دیگر فاکتورها به طور معمول در غده‌زایی در شرایط درون شیشه مشاهده می‌گردد.

نتیجه‌گیری

هورمون‌های رشد گیاهی در شرایط درون شیشه، علاوه بر اثرات مستقیم، دارای تأثیر بر تولید غده‌چه سیب‌زمینی نیز هستند. به کارگیری هورمون رشد کلرومکوات در شرایط درون شیشه، تأثیر بازدارنده بر روی ارتفاع گیاهچه سیب‌زمینی دارد؛ ضمن آنکه پیش تیمار نمودن گیاهچه‌های سیب‌زمینی با هورمون کلرومکوات کاهش تعداد و اندازه غده‌چه سیب‌زمینی را باعث خواهد شد.

استفاده از هورمون جبرلیک اسید، سیستم ریشه‌ای گیاهچه سیب‌زمینی را در شرایط درون شیشه بهبود می‌بخشد، لیکن تعداد غده‌چه‌ها را کاهش می‌دهد.

و سطح برگ بیشتری در مقایسه با کولتیوار آگریا (کولتیوار دیررس) فراهم می‌نماید. به هر حال، آگریا در مقایسه با گلوریا، گیاهچه‌هایی با ریشه‌های درازتر را تولید می‌نماید (جدول ۱).

از بین کولتیوارهای مورد مطالعه، دو کولتیوار گلوریا و مارفونا گیاهچه‌هایی تولید می‌کنند که از نظر تعداد شاخساره، ارتفاع و سطح برگ مشابه هستند، در حالی که دو کولتیوار مارفونا و آگریا از نظر طول ریشه مشابه هستند. در هر دو آزمایش، سه واریته در خصوص تولید غده‌چه به طور مشابه عمل نموده، تعداد، اندازه و وزن غده‌چه‌ها در هر سه کولتیوار مورد مطالعه یکسان است.

برخی از تحقیقات انجام شده، از جمله بررسی‌های انجام شده توسط Miller و همکاران (۱۹۸۵) مؤید این مطلب است که کولتیوارهای مختلف سیب‌زمینی، پاسخ متفاوتی را در رابطه با افزودن هورمون‌های رشد نشان می‌دهند.

اثرات متقابل

اثر متقابل هورمون رشد × رقم در جدول ۱ حاکی از آن است که برخی از ترکیبات هورمونی و کولتیوار ممکن است نتایج بهتر و مطلوب‌تری را در مقایسه با سایر ترکیبات

منابع

- Beukema, H. P. and Zaag, D. E. (1990) Introduction to potato production. The Journal of Agricultural Science 116: 169-169.
- Coleman, K. W., Danielle, J. D. and Colleman S. E. (2001) Potato microtuber as research tools: A Review. American Journal of Potato Research 78:47-55
- Dodds, J. H. (1988) Tissue culture technology: practical application of sophisticated methods. American Journal of Potato Research 65: 167-181.
- FAO (2000) FAO Yearbook Production, Food and Agriculture Organization of United Nation, Rome.
- Harvey, B. M. R., Crothers, N. E. and Selby, C. (1991) The use of growth retardants to improve microtuber formation by potato (*Solanum tuberosum*). Plant Cell, Tissue and Organ Culture 27: 59-64.
- Hussey, G. and Stacey, N. J. (1984) Factors affecting the formation of *in vitro* tubers of potato (*Solanum tuberosum* L.). Annals of

Botany 53: 565-578.

Miller, P. R., Amirouche, L. T. and Matthews, S. (1985) The use of plant growth regulators in micropropagation of slow-growing potato cultivars. *Potato Research* 28: 479-486.

Murashige, T. and Skoog, F. (1962) Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant physiology* 15: 473-497.

Ranalli, P. (1997) Innovative propagation methods in seed tuber multiplication programmes. *Potato Research* 40: 439-453.

Struik, P. C. and Wiersema, S. G. (1999) *Seed Potato Technology*. Wageningen Pers, Wageningen, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 65:173-174.

Vecchio, V., Benedettelli, S. L., Andrenelli, E. P. and Espen, L. (2000) Inductive and noninductive conditions on *in vitro* tuberisation and microtuber dormancy in potato (*Solanum tuberosum* subspecies *tuberosum* and subspecies *andigena*). *Potato Research* 43: 115-123.

Wang, P. J. and Chy, H. U. (1982) *In vitro* mass tuberization and virus-free seed-potato production in Taiwan. *American Journal of Potato Research* 59:33-37.

Zakaria, M., Hossain, M., Khaleque, M., Hossain, T. A. and Uddin, M. Z. (2008) *In vitro* Tuberization of potato influenced by Benzyl Adenine and Chloro Choline Chloride. *Bangladesh Journal of Agricultural Research* 33(3): 419-425.

The effect of growth regulators *in vitro* phase on the quality of *in vitro* plantlets and microtubers in different cultivars of potato in a seed tuber production scheme

Mahmoud Otrshy*, Kosar Moradi and Abdolreza Nabinejad

Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Isfahan

Abstract

Experiments were conducted to determine the effects and post-effects of gibberellic acid (GA₃) and chlormequat chloride (CCC) applying *in vitro* plantlet production (effects) and subsequent *in vitro* tuber production (after-effects) or on immediate *in vitro* tuber production (effects). Three concentrations of GA₃ (0.1, 0.5 or 1 mg/l) and three doses of CCC (100, 500 or 1000 mg/l) with control were tested with the three cultivars (CV) namely Gloria, Marfona and Agria. To test direct effects on *in vitro* plantlet production plantlets were grown from explants on a standard medium containing Murashige and Skoog salts with normal vitamins. To test direct or post-effects on *in vitro* microtuber production the standard medium was used including 8% sucrose. The explants was treated with higher doses of CCC produced fewer stem branches on *in vitro* plantlets. The shortest plants with lowest numbers of leaves were observed in plantlets grown on media with 1000 mg/l CCC. Leaf area was the lowest with the highest doses of either CCC or gibberellic acid. Gibberellic acid increased the number of roots. Plantlets grown on the media with 1000 mg/l CCC produced shorter root systems. The direct effects of growth regulators on the number and size of microtubers were highly significant; both parameters were reduced by gibberellic acid. No direct effect of growth regulators could be observed for the weight of the microtubers. Post-effects of growth regulators on the number, size and weight of microtubers were also significant; cuttings from plantlets were pre-treated with CCC produced lowest numbers of microtubers with smallest size and lowest weight. Number, size and weight of microtubers were similar for the three cultivars.

Key words: Chlormequat, Microtubers, *In vitro*, plantlet, Gibberellic acid, Potato microtubers

* Correspong Author: otrshy@yahoo.com

بررسی تأثیر غلظت‌های میکرومولاری کلرات بر روی جذب نیترات توسط HATS، در گیاه آراییدوپسیس تالیانا

پرژک ذوفن^{۱*} و منصور شریعتی^۲

^{۱*} گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز

^۲ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان

چکیده

تأثیر غلظت‌های میکرومولاری کلرات بین ۰ تا ۱۰۰ میکرومولار به عنوان یک ماده آنالوگ نیترات، بر روی فعالیت سیستم با تمایل بالای نیترات در شرایط بدون نیترات در دو اسیدیته ۶ و ۶/۵ یا همراه با سه غلظت نیترات شامل ۰، ۲۵ و ۵۰ میکرومولار در اسیدیته ۶ در طی دو بخش تحقیقی و با استفاده از لاین‌های آراییدوپسیس تالیانای (*Arabidopsis thaliana*) جهش‌یافته *atnrt2.1*، *atnrt2.4* و *chl1-5* و جهش‌یافته *atnrt2.1* تراریخت شده با ژن *NRT2.1* مطالعه گردید. به دنبال کشت بذرها متعلق به این ژنوتیپ‌ها بر روی محیط کشت جامد حاوی مواد غذایی و انتقال آنها به شرایط رشدی کنترل شده، برای درک بهتر نقش سیستم با تمایل بالا در جذب نیترات، پس از هفت روز درصد برگچه‌های کاملاً باز به عنوان شاخص عملکرد این سیستم بررسی گردید. بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، بالاترین میزان مقاومت در برابر غلظت‌های بالای کلرات هم در محیط فاقد و هم در محیط دارای نیترات در جهش‌یافته *atnrt2.1* مشاهده شد. اختلال در بیان ژن‌های *AtNRT2.4* و *AtCHL1* به افزایش مقاومت گیاهچه‌ها در برابر کلرات منجر نگردید. از طرف دیگر، تشدید بیان ژن *NRT2.1* در جهش‌یافته *atnrt2.1* به کاهش معنی‌دار درصد برگچه‌های کاملاً باز در این ژنوتیپ منجر شد. با تکیه بر این نتایج، به نظر می‌رسد که ژن *AtNRT2.1* نقش اصلی و کلیدی را در جذب نیترات از محیط توسط سیستم با تمایل بالا دارد و این نتایج، تحقیقات فیزیولوژیک و مولکولی قبلی در رابطه با عملکرد این ژن را تأیید می‌کند.

واژه‌های کلیدی: آراییدوپسیس، سیستم با تمایل بالا، کلرات، نیترات

مقدمه

می‌شود (Glass et al., 1992). به نظر می‌رسد که انتقال نیترات حتی در غلظت‌های بالا نیز به شیب الکتروشیمیایی یون‌های پروتون و عملکرد پمپ H^+ -ATPase غشای پلاسمایی وابسته است (Miller and Smith, 1992). این

نیترات یکی از مهمترین منابع نیتروژن معدنی برای رشد و نمو گیاهان است. جذب نیترات در گیاهان از طریق غشای پلاسمایی سلول‌های اپیدرمی و پوست ریشه انجام

کلرات (*chl1*) در آرآییدوپسیس جداسازی و کلون شد (Tsay *et al.*, 1993). جهش یافته‌های فیزیولوژیک این ژن که دارای نقص در جذب نیترات و کلرات بودند، برای نخستین بار در سال ۱۹۷۸ شناسایی شدند (Doddema *et al.*, 1978).

مطالعات بعدی بیانگر آن بود که این جهش یافته علاوه بر نقص در عملکرد LATS قادر به جذب نیترات توسط HATS نیز نیست (Liu *et al.*, 1999; Wang *et al.*, 1998). بنابراین، پیشنهاد شد که CHL1 یک ناقل با تمایل دوگانه نسبت به نیترات است که عمدتاً در بخش‌های جوان ریشه بیان می‌شود (Huang *et al.*, 1999). تصور می‌شود که شرایط غذایی و غلظت نیترات، از مهمترین عوامل کنترل‌کننده تغییر فعالیت ناقل AtNRT1.1 است. بیشتر مطالعات فیزیولوژیک و مولکولی مرتبط با جذب نیترات توسط HATS در گیاه آرآییدوپسیس تالیانا و با هدف درک نقش و نحوه کنترل ژن‌های خانواده *NRT2* انجام شده است و این مطالعات نشان می‌دهد که هفت ژن از این خانواده در ژنوم این گیاه حضور دارند (Filleur and Daniel-Vedele, 1999; Zhuo *et al.*, 1999).

در میان خانواده ژنی *AtNRT2* در آرآییدوپسیس، ژن *AtNRT2.1* در سطح وسیعی مطالعه شده است و بر اساس این شواهد، پیشنهاد شده است که احتمالاً ژن *NRT2.1* نقش غالب و مهمی در قیاس با دیگر ژن‌های *NRT2* در جذب نیترات توسط HATS دارد. (Cerezo *et al.*, 2001; Filleur *et al.*, 2001) به استثنای ژن *AtNRT2.1* و تا حدودی ژن *AtNRT2.2* عملکرد سایر ژن‌های خانواده *NRT2* در گیاهان هنوز مشخص نشده است. برخی مطالعات بر روی جهش یافته‌های دوگانه *atnrt2a* در گیاه

انتقال همراه با دو پروتون انجام می‌شود. تحقیقات فیزیولوژیک روند جذب نیترات در گیاهان (Crawford and Glass, 1998; Forde and Clarkson, 1999) نشان داده است که حداقل سه سیستم مجزا برای جذب نیترات در ریشه‌ها توسعه یافته است: یک سیستم که تمایل بالایی نسبت به نیترات دارد، در غلظت‌های بسیار کم نیترات در محیط (در حد میکرومولار) عمل می‌کند و روندی اشباع‌پذیر را از خود نشان می‌دهد. به این سیستم HATS (High Affinity Transport System) گفته می‌شود که خود به دو نوع مجزا تقسیم می‌گردد؛ یک سیستم که قویاً در برابر حضور نیترات القایی است و به عنوان سیستم iHATS (inducible HATS) شناخته شده است، در حالی که سیستم cHATS (constitutive HATS) به صورت ساختاری بیان می‌شود و حتی در غیاب نیترات نیز فعال است. سومین سیستم ناقل با عنوان LATS (Low Affinity Transport System) از تمایل پایینی نسبت به تغییرات برخوردار است و به نظر می‌رسد که وقتی غلظت نیترات در محیط بیش از یک میلی‌مولار باشد، این سیستم نقش مهمی را در جذب نیترات ایفاء می‌نماید. (Kronzucker *et al.*, 1995; Seddiqi *et al.*, 1990).

در گیاهان عالی حضور دو نوع از ناقلان نیترات با عنوان NRT1 (Nitrate Transporter 1) و NRT2 به اثبات رسیده است. ناقلان NRT2 به عنوان نماینده سیستم‌های HATS شناخته شده‌اند (Filleur and Daniel-Vedele, 1999). ناقل CHL1 (*AtNRT1.1*) بهترین نمونه مطالعه شده از ناقلان نیترات متعلق به خانواده NRT1 در گیاهان عالی است که با استفاده از جهش یافته‌های T-DNA مقاوم به

تفکیک فنوتیپی و فیزیولوژیک این ژنوتیپ‌ها، زمینه مناسبی برای درک نقش این ژن‌ها فراهم می‌آید. به همین جهت، در این تحقیق تلاش بر این بوده است که با استفاده از لاین‌های جهش‌یافته و تراریخت در برخی ژن‌های دخیل در جذب نیترات نقش این ژن‌ها در عملکرد HATS در غلظت‌های میکرومولاری کلرات (به عنوان آنالوگ نیترات) بررسی گردد. بر همین اساس و با توجه به اینکه تاکنون تأثیر غلظت‌های پایین کلرات به عنوان آنالوگ نیترات بر عملکرد HATS در جذب نیترات مطالعه نشده است و با توجه به این که جذب کلرات و تبدیل آن به کلریت سمّی، به ایجاد سمّیت در گیاه و عدم جوانه‌زنی و رشد مناسب منجر می‌شود و همچنین جذب بیشتر کلرات می‌تواند بیانگر توانایی بیشتر گیاه در جذب بیشتر نیترات باشد، بنابراین، اثر کلرات در محدوده فعالیت HATS بر روی درصد جوانه‌زنی بذر برخی لاین‌های جهش‌یافته و تراریخته در ژن‌های *NRT* بررسی گردید تا درک بیشتری از نقش این ژن‌ها در عملکرد HATS و جذب نیترات از طریق آن به دست آید.

مواد و روش‌ها

کلیه بذرهاى مورد استفاده در این از تحقیق، از بانک بذر مرکز تحقیقات کشاورزی INRA، مرکز ورسای واقع در کشور فرانسه تأمین شد. برای بررسی تأثیر کلرات بر عملکرد HATS، دو آزمایش جداگانه طراحی گردید. در آزمایش مقدماتی از جهش‌یافته‌های آرابیدوپسیس نظیر جهش‌یافته *atnrt2.1*، *atnrt2.4* و *chl1-5* به همراه اکوتیپ‌های وحشی (Col) Columbia و Wasselewskija (WS) استفاده شد. در آزمایش دوم

آرابیدوپسیس (این گیاهان دارای حذف کامل ژن *AtNRT2.1* و حذف بخشی از ژن *AtNRT2.2* هستند) بیانگر آن است که بیان ژن *AtNRT2.4* در این جهش‌یافته تشدید می‌شود (Orsel *et al.*, 2004).

همچنین، نتایج حاکی از آن است که بیان ژن *AtNRT2.4* به دنبال برقراری شرایط محرومیت نیتروژن افزایش و در شرایطی غنی از نیتروژن کاهش می‌یابد (ذوفن و همکاران، ۱۳۸۹). بنابراین به نظر می‌رسد که ژن فوق جزو ژن‌های ممانعت‌شونده توسط نیترات باشد. بر اساس برخی تحقیقات، استفاده از گیاهان جهش‌یافته و تراریخته و انجام مطالعات مقایسه‌ای با گیاهان وحشی برای درک بهتر و بیشتر نقش ژن‌های مرتبط با جذب نیترات از کارایی بالایی برخوردار بوده است (Cerezo *et al.*, 2001; Filleur *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2007). این نتایج یاد شده نشان داده‌اند که حضور چند ژن در یک خانواده ژنی می‌تواند به انعطاف‌پذیری فنوتیپی در پاسخ به شرایط محیطی مختلف منجر گردد و عدم حضور یک ژن می‌تواند با بیان و فعالیت ژن‌های دیگر موجود در آن خانواده ژنی جبران شود. کلرات یک آنالوگ نیترات و یک علف‌کش گیاهی است که توسط سیستم‌های جذب نیترات جذب و با فعالیت نیترات رودک‌تاز به کلریت تبدیل می‌گردد که کلریت برای گیاه بسیار سمّی است و به تجزیه کلروفیل و ریزش برگ منجر می‌شود. به همین جهت، این ماده در بررسی‌های اولیه بر روی عملکرد سیستم‌های جذب نیترات توسط LATS استفاده شده است (Tsay *et al.*, 1993). یکی از بهترین راهکارها برای تعیین و تأیید نقش یک ژن، بررسی فیزیولوژیک و مولکولی گیاهان جهش‌یافته و تراریخت و مقایسه آن با گیاهان وحشی است که از طریق

HATS، بر اساس درصد برگچه‌های کاملاً باز بعد از هفت روز از آغاز کشت انجام گردید. شایان ذکر است که با توجه به اینکه در شرایط معمولی (بدون کلرات) برای تهیه این محیط از نیترات پتاسیم و کلسیم به عنوان منبع تأمین‌کننده نیتروژن استفاده می‌شود، بنابراین، در شرایط آزمایش کنونی، کمبود عناصر پتاسیم و کلسیم با افزودن غلظت‌های مناسبی از محلول KCl و CaCl_2 جبران شد. کلیه آزمایش‌های انجام شده در این تحقیق، در قالب طرح‌های کاملاً تصادفی در حداقل سه تکرار طراحی گردید. آنالیز داده‌های حاصل از این تحقیق با نرم‌افزار آماری Sigma Stat و از طریق مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح حداقل اختلاف معنی‌دار با احتمال $P \leq 0.05$ صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

۱- آزمایش مقدماتی برای بررسی تأثیر غلظت‌های میکرومولاری کلرات

الف- بررسی تأثیر غلظت‌های میکرومولاری کلرات در اسیدیته‌های مختلف

بر اساس شکل ۱-الف و ب، در محیط فاقد کلرات یا حاوی ۱۰ میکرومولار کلرات با اسیدیته ۶ در اکثر موارد اختلاف معنی‌داری در درصد برگچه‌های کاملاً باز بین ۶ ژنوتیپ ذکر شده وجود ندارد، به استثنای جهش یافته *atnrt2.1* و تیپ وحشی Col در ۱۰ میکرومولار کلرات که به لحاظ این شاخص با سایر ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهند (شکل ۱-ب). همان‌طور که در شکل ۱-ج و د مشاهده می‌گردد، با افزایش غلظت کلرات در محیط این شاخص در شش ژنوتیپ فوق کاهش

جهش یافته *atnrt2.1* جهش یافته *atnrt2.1* ترا ریخته شده با ژن *NpNRT2* از *Nicotiana plumbaginifolia* به صورت (*atnrt2.1* RoID::*NpNRT2*) و آراییدوپسیس ترا ریخته شده با RoID::*AtNRT2.1* انتخاب شدند که همگی دارای زمینه ژنتیکی اکوتیپ WS بودند. صرف‌نظر از مرحله آزمایش، ابتدا کلیه بذرها با محلول ژاول-تانول ۹۵ درصد استریل شدند و بعد از شستشو با اتانول ۹۵ درصد و تخلیه آن، به مدت ۲ ساعت در زیر هود لامینار قرار گرفتند تا اتانول باقی‌مانده کاملاً تبخیر شود. سپس در شرایط کاملاً استریل در هر پتری‌دیش حاوی محیط کشت جامد ۵۰ بذریه از هر ژنوتیپ با فواصل منظم و در سه تکرار کاشته شد. برای کشت بذرها از محیط کشت جامد مطابق با روش Little و همکاران در ۲۰۰۵ استفاده گردید. در مرحله مقدماتی، چهار غلظت کلرات پتاسیم، شامل ۰، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار در دو اسیدیته ۶ و ۶/۵ بدون حضور نیترات در محیط و در آزمایش بعدی سه غلظت مختلف کلرات پتاسیم شامل ۰، ۲۵ و ۵۰ میکرومولار در ترکیب با سه غلظت مختلف نیترات پتاسیم شامل ۰، ۲۵ و ۵۰ میکرومولار در اسیدیته ۶/۵ به کار برده شد. هر مرحله از این مطالعه در سه تکرار انجام گردید. برای تنظیم pH از محلول ۱۴ درصد MES (Morpholino-ethanesulfonic acid) و ۰/۱۶ BCP درصد (Bromocresol) استفاده شد. بعد از کشت، کلیه پتری‌دیش‌های حاوی بذریه به مدت ۴۸ ساعت به دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و بعد از آن به اتاقک رشد با شرایط ۱۶ ساعت روشنایی/۸ ساعت تاریکی، دمای شبانه‌روزی ۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۷۰ درصد و شدت نور ۱۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه انتقال یافتند. بررسی و ارزیابی تأثیر کلرات بر روی عملکرد

جهش یافته *atnrt2.4* (با زمینه ژنتیکی اکوتیپ Col) استفاده شد. جهش یافته *atnrt2.1* به منظور بررسی تأثیر غلظت‌های پایین کلرات بر جذب آن به واسطه HATS انتخاب شد. با توجه به این که مطالعات قبلی حاکی از تشدید بیان ژن *AtNRT2.4* در فقدان عملکرد ژن *AtNRT2.1* است (Orsel *et al.*, 2004)، جهش یافته *atnrt2.4* برای تعیین نقش ژن *AtNRT2.4* در جذب غلظت‌های میکرومولاری کلرات استفاده گردید.

همچنین، برخی مطالعات (Lie *et al.*, 1999; Wang *et al.*, 1998) بیانگر آن است که ژن *CHL1* یک ناقل با تمایل دوگانه LATS و HATS را برای جذب نیترات کد می‌کند، بنابراین جهش یافته *chl1-5* استفاده شد تا تأثیر غلظت‌های پایین کلرات بر این جهش یافته بررسی گردد.

بر اساس مطالعات انجام شده در سال ۲۰۰۳ توسط Okamoto و همکاران، پیشنهاد شده است که ژن *AtNRT2.4* در گروه ژن‌های القا شونده توسط نیترات قرار می‌گیرد، در حالی که بر اساس نتایج حاصل از تحقیقات ذوفن و همکاران در سال ۱۳۸۹ با استفاده از گیاهان آراییدوپسیس جهش یافته و تراریخت در این ژن، به نظر می‌رسد که ژن مذکور جزو ژن‌های ممانعت‌شونده توسط نیترات باشد؛ به طوری که بیان آن در شرایط غنی از نیترات کاهش و با برقراری شرایط محرومیت از نیتروژن افزایش می‌یابد. با وجود این، نقش دقیق ژن *AtNRT2.4* در جذب غلظت‌های پایین نیترات در گیاهان هنوز مشخص نشده است. با توجه به کاهش معنی‌دار درصد برگچه‌های کاملاً باز در جهش یافته *atnrt2.4* در مقایسه با جهش یافته *atnrt2.1* (شکل ۱- ج و د، شکل ۲- ج و د) در دو اسیدیته ۶ و ۶/۵ و نتایج حاصل از بررسی میزان جذب

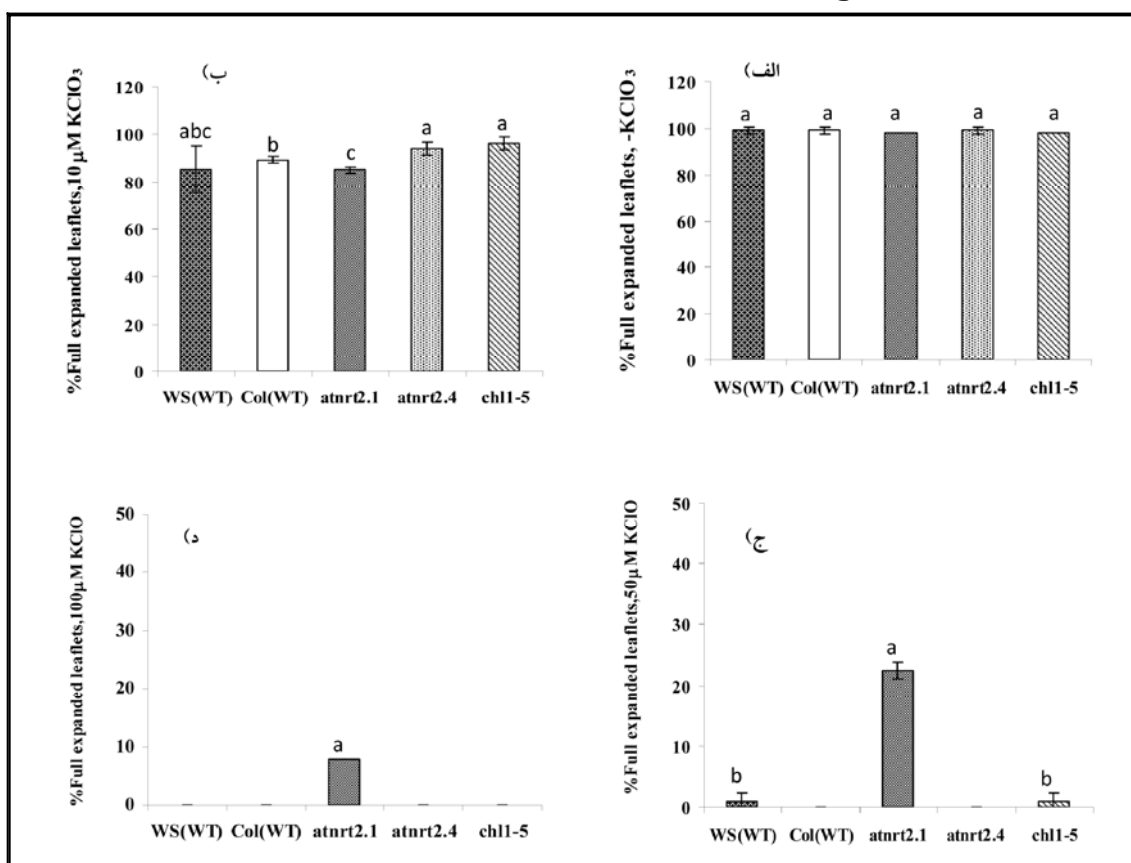
می‌یابد (مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف کلرات در آزمایش مقدماتی، همچنین غلظت‌های مختلف کلرات و نیترات در آزمایش نهایی از طریق آزمون دانکن انجام، ولی نتایج آن ارائه نشده است). با وجود این، در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار کلرات جهش یافته *atnrt2.1* بالاترین میزان این شاخص را نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها نشان می‌دهد. همان طور که در شکل ۲- الف تا د مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت کلرات در محیط دارای اسیدیته ۶/۵ درصد برگچه‌های کاملاً باز کاهش معنی‌داری را برای همه ژنوتیپ‌های مورد اشاره نشان می‌دهد (نتایج آماری مربوط به این مقایسه ارائه نشده است). با وجود این، در غلظت‌های بالاتر کلرات (۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) جهش یافته *atnrt2.1* افزایش معنی‌داری را در این شاخص در مقایسه با ژنوتیپ‌های دیگر از خود ارائه می‌نماید (شکل ۲- ج و د). علاوه بر این، در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار کلرات درصد برگچه‌های کاملاً باز در تیپ وحشی WS بعد از جهش یافته *atnrt2.1* دارای افزایش معنی‌داری است.

کلرات یک علف‌کش و یک ماده برگ‌ریز و تجزیه‌کننده کلروفیل است که در مطالعات اولیه فیزیولوژی جذب نیترات به عنوان یک آنالوگ نیترات، به ویژه در غلظت‌های بالا بسیار مؤثر بوده است. کلرات برای اولین بار برای شناسایی جهش یافته‌های مقاوم به غلظت‌های بالای کلرات با عنوان *chl1* در گیاه آراییدوپسیس استفاده شد (Tsay *et al.*, 1993). این تحقیقات نشان داد که ژن *CHL1* (که به آن ژن *AtNRT1.1* نیز گفته می‌شود) احتمالاً یک ناقل LATS را برای جذب کلرات (نیترات) کد می‌نماید. در این بخش از تحقیق، از جهش یافته‌های *chl1-5 atnrt2.1* (با زمینه ژنتیکی اکوتیپ WS) و

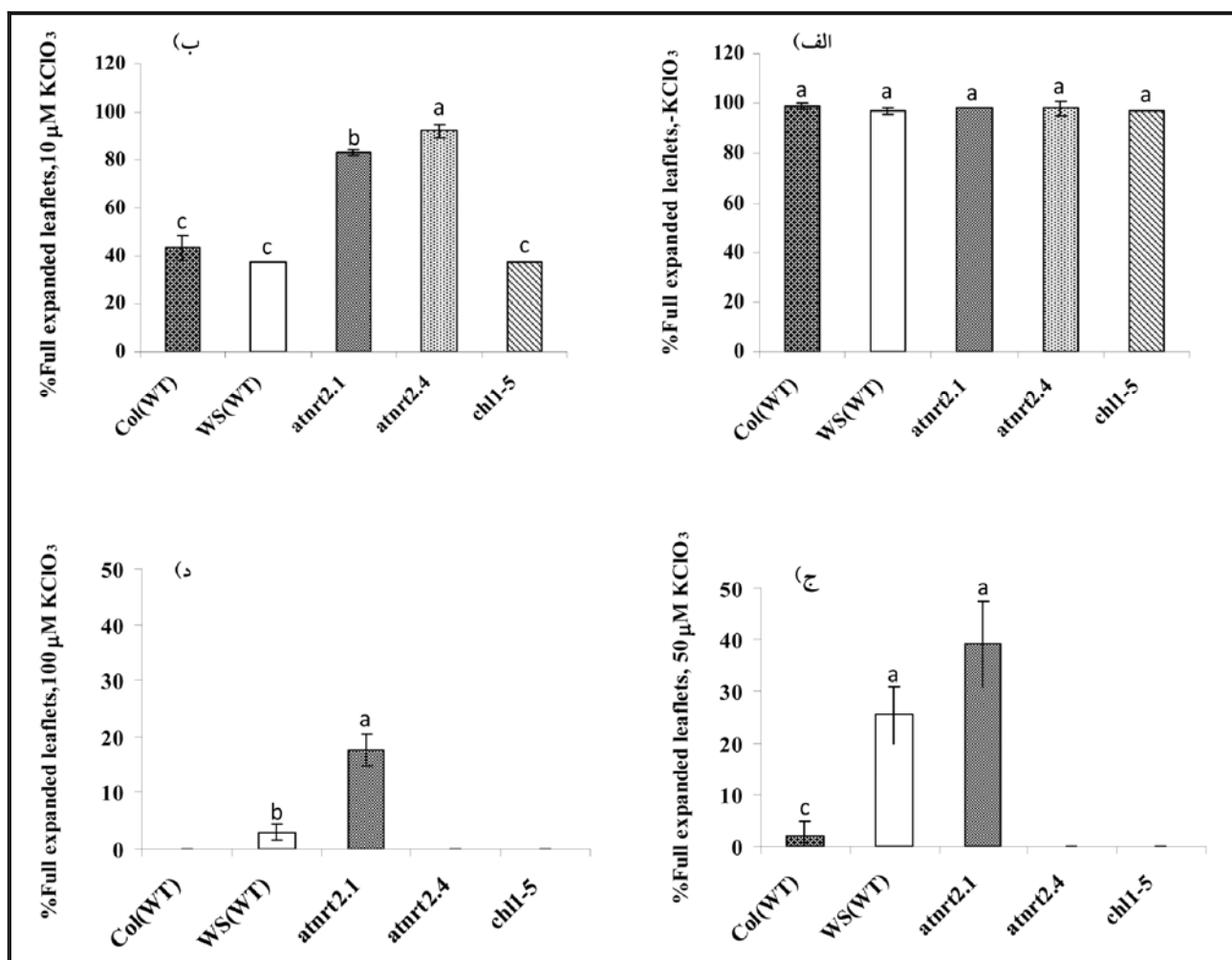
تیپ وحشی است (شکل ۱- ج و د، شکل ۲- ج و د). بنابراین، با تکیه بر این نتایج تصور می‌شود که ژن *AtNRT2.1* نقش اصلی و کلیدی را در عملکرد HATS ایفا می‌نماید؛ به طوری که ایجاد جهش در ژن *AtCHL1* و یا ژن *AtNRT2.4* نمی‌تواند به ایجاد مقاومت در ژنوتیپ‌های مربوطه در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولاری کلرات منجر گردد، در حالی که اختلال در بیان ژن *AtNRT2.1* با ممانعت از جذب کلرات به ایجاد مقاومت در برابر کلرات، بروز سمیت کمتر و در نتیجه درصد جوانه‌زنی بالاتر منجر می‌گردد.

$^{15}\text{NO}_3$ در لاین‌های این جهش‌یافته که با ژن *AtNRT2.4* تراریخت شده‌اند (ذوفن، ۱۳۸۷)، به نظر می‌رسد که احتمالاً پروتئین حاصل از بیان ژن *AtNRT2.4* در جذب مستقیم غلظت‌های پایین نترات توسط ریشه‌ها به عنوان یک سیستم HATS مشارکت ندارد.

اگرچه پیشنهاد شده است که ناقل *CHL1* یک ناقل با تمایل دوگانه LATS و HATS است (Huang *et al.*, 1999)، با این حال، اختلال در بیان ژن *AtCHL1-5*، درصد برگچه‌ها را در قیاس با جهش‌یافته *atnrt2.1* به شدت کاهش می‌دهد و این کاهش در سطح قابل مشاهده برای



شکل ۱- درصد برگچه‌های کاملاً باز در غلظت‌های الف) ۵۰؛ ب) ۱۰؛ ج) ۵۰ و د) ۱۰۰ میکرومولار کلرات در محیط بدون نترات با اسیدیته ۶ در آراییدوپسیس تالیانا با زمینه ژنتیکی اکوتیپ Col و WS. مقادیر بیانگر میانگین حداکثر سه تکرار \pm SD است. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵٪ انجام گرفته و حروف غیر مشترک بیانگر تفاوت معنی‌دار است.



شکل ۲- درصد برگچه‌های کاملاً باز در غلظت‌های الف) ۱۰؛ ب) ۱۰؛ ج) ۵۰ و د) ۱۰۰ میکرومولار کلرات در اسیدیته ۶/۵ در آراییدوپسیس تالیانا با زمینه ژنتیکی دو اکوتیپ Col و WS. مقادیر بیانگر میانگین حداکثر سه تکرار \pm SD است. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵٪ انجام گرفته و حروف غیر مشترک بیانگر تفاوت معنی‌دار است.

توانایی ژن *AtNRT2.1* در جذب کلرات به شکل دقیق‌تری بررسی گردد. کلیه ژنوتیپ‌های مورد استفاده در این قسمت از تحقیق دارای زمینه ژنتیکی اکوتیپ WS بودند. از طرف دیگر، نتایج آزمایش مقدماتی بیانگر آن بود که اسیدیته ۶ در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار کلرات مقاومت کمتری را در جهش یافته *atnrt2.1* و تیپ وحشی WS در مقایسه با اسیدیته ۶/۵ نشان می‌دهد. بنابراین، برای تعیین و درک بهتر نقش ژن *AtNRT2.1* در جذب کلرات تصمیم

۲- تأثیر غلظت‌های میکرومولاری کلرات به همراه غلظت‌های پایین نیترات

با توجه به اینکه نتایج حاصل از آزمایش مقدماتی نشان داد که جهش یافته *atnrt2.1* بالاترین میزان مقاومت به کلرات را به ویژه در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار هم در اسیدیته ۶ و هم در اسیدیته ۶/۵ دارد، بنابراین، در آزمایش دوم از جهش یافته *atnrt2.1* جهش یافته *atnrt2.1* تراریخته شده با ژن *NpNRT2.1* از تنباکو و آراییدوپسیس تراریخته شده با ژن *AtNRT2.1* استفاده شد تا نقش و

غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میکرومولار از خود افزایش نشان می‌دهد. بخش دوم این تحقیق با هدف درک بهتر نقش ژن *NRT2.1* و تکمیل نتایج به دست آمده از بخش اول انجام گردید. نتایج حاصل از بخش مقدماتی نشان می‌دهد که احتمالاً ژن *AtNRT2.1* عملکرد اصلی را در جذب نیترات از این طریق دارد (شکل‌های ۱ و ۲). جهش یافته *atnrt2.1* ترا ریخت شده با ژن *NpNRT2.1* از گیاه تنباکو، باعث کاهش قابل توجه مقاومت گیاهچه‌های آراییدوپسیس تالیانا، به ویژه در غلظت ۵۰ میکرومولار کلرات همراه با غلظت‌های ۰، ۲۵ و ۵۰ میکرومولار نیترات می‌گردد، به طوری که این کاهش در سطح مشاهده شده برای تیپ وحشی است (شکل‌های ۳، ۴ و ۵ موارد ب و ج).

بنابراین، به نظر می‌رسد که احیای بیان ژن *NRT2.1* در جهش یافته *atnrt2.1* با فعال کردن سیستم HATS و جذب کلرات، شرایط را برای کاهش شاخص فوق فراهم نموده است. با وجود این، بر اساس برخی از نتایج به دست آمده از این تحقیق تشدید بیان ژن *AtNRT2.1* تحت کنترل پروموتور RoID در گیاه آراییدوپسیس تالیانا منجر به جذب بیشتر کلرات و در نتیجه کاهش درصد برگچه‌های کاملاً باز نشده است (شکل ۳-ج). با توجه به تأیید بیان ژن انتقالی *NpNRT2.1* در جهش یافته *atnrt2.1* در سطح کپی‌برداری و ترجمه (مکاتبه شخصی با Daniel-Vedele)، تصور می‌شود که عوامل درونی ناشناخته‌ای در سطوح بعد از کپی‌برداری (برای مثال، افزایش بیش از حد کپی‌های ژن بر اثر بیان مداوم ژن انتقالی) از بیان پروتئین عملکردی و فعال تحت شرایط آزمایش کنونی ممانعت می‌نمایند؛ به طوری که بیان مداوم ژن انتقالی منجر به کاهش درصد برگچه‌های کاملاً باز در اکثر موارد، به ویژه در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میکرومولار نیترات نمی‌گردد (شکل‌های ۳، ۴ و ۵

گرفته شد که در آزمایش دوم فقط اسیدیتته ۶/۵ به محیط کشت اعمال گردد. علاوه بر این، آزمایش اول بیانگر آن بود که غلظت ۱۰۰ میکرومولار کلرات تقریباً برای همه ژنوتیپ‌ها به استثنای جهش یافته *atnrt2.1* کُشنده است. همچنین، به نظر می‌رسید که عدم حضور نیترات در محیط باعث از بین رفتن سریع تر گیاهچه‌ها توسط کلرات می‌گردد. بنابراین، در بخش دوم این تحقیق و در یک طراحی جدید حداکثر غلظت کلرات ۵۰ میکرومولار و به همراه سه غلظت مختلف نیترات شامل ۰، ۲۵ و ۵۰ میکرومولار نیترات انتخاب شد.

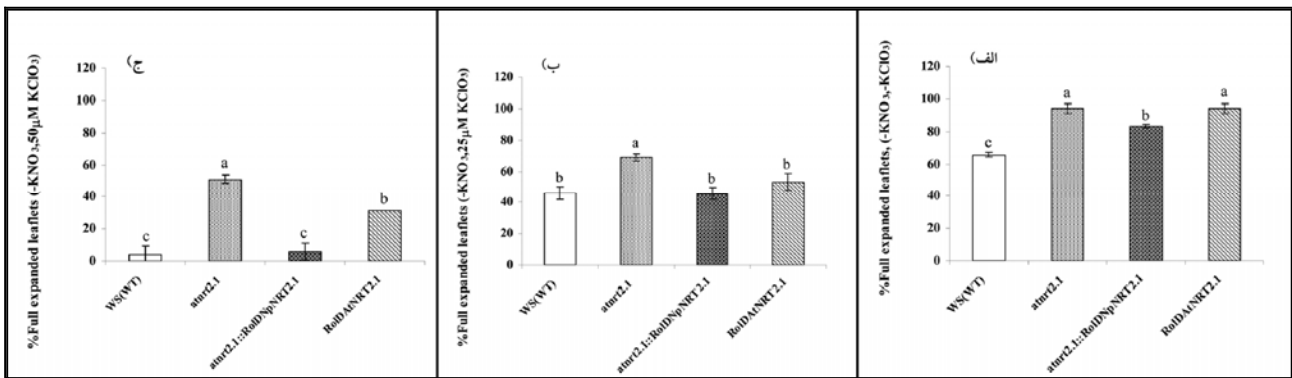
همان‌طور که در شکل ۳-الف، ب و ج مشاهده می‌شود، در محیط فاقد نیترات با افزایش غلظت کلرات درصد برگچه‌های کاملاً باز در همه ژنوتیپ‌ها از خود کاهش نشان می‌دهد. با این حال، این کاهش در جهش یافته *atnrt2.1* به طور معنی‌داری کمتر است. در محیط حاوی ۵۰ میکرومولار کلرات، تشدید بیان ژن *NpNRT2.1* در جهش یافته *atnrt2.1* به کاهش شدید شاخص ذکر شده در سطح مشاهده شده برای تیپ وحشی منجر می‌شود (شکل ۳-ج).

با افزودن ۲۵ میکرومولار نیترات به محیط، افزایش غلظت کلرات به کاهش درصد برگچه‌های کاملاً باز در همه ژنوتیپ‌ها منجر می‌گردد (شکل ۴-الف، ب و ج). با وجود این، جهش یافته *atnrt2.1* بالاترین درصد شاخص رشدی فوق را نشان می‌دهد.

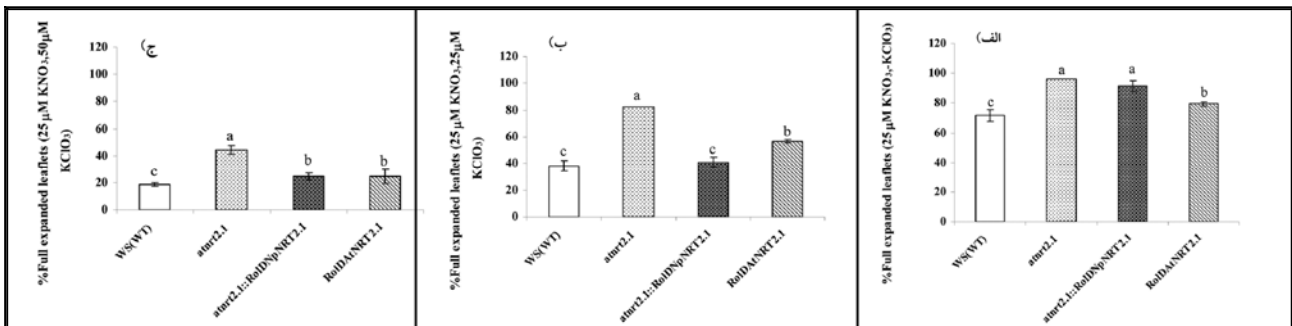
بر اساس شکل ۵-الف، ب و ج، درصد برگچه‌های کاملاً باز در جهش یافته *atnrt2.1* و گیاهان ترا ریخت شده با ژن *AtNRT2.1* در مقایسه با تیپ وحشی و جهش یافته ترا ریخت شده با ژن *NpNRT2.1* در محیط حاوی ۵۰ میکرومولار نیترات با سه غلظت مختلف کلرات، به ویژه در

و جذب نیترات می‌تواند تا حدودی از آثار مخرب کلرات بر شاخص رشدی مذکور جلوگیری نماید. در یک جمع‌بندی کلی و با تکیه بر نتایج به دست آمده از تأثیر غلظت‌های میکرومولاری کلرات بر روی سیستم HATS، مجدداً نتایج مطالعات فیزیولوژیک و مولکولی انجام شده (Cerezo *et al.*, 2001; Chopin *et al.*, 2007; Fraiser *et al.*, 2000; Nazoa *et al.*, 2003; Orsel *et al.*, 2003 مبنی بر مشارکت مستقیم ژن *NRT2.1* در جذب غلظت‌های پایین نیترات به واسطه HATS تأیید می‌گردد.

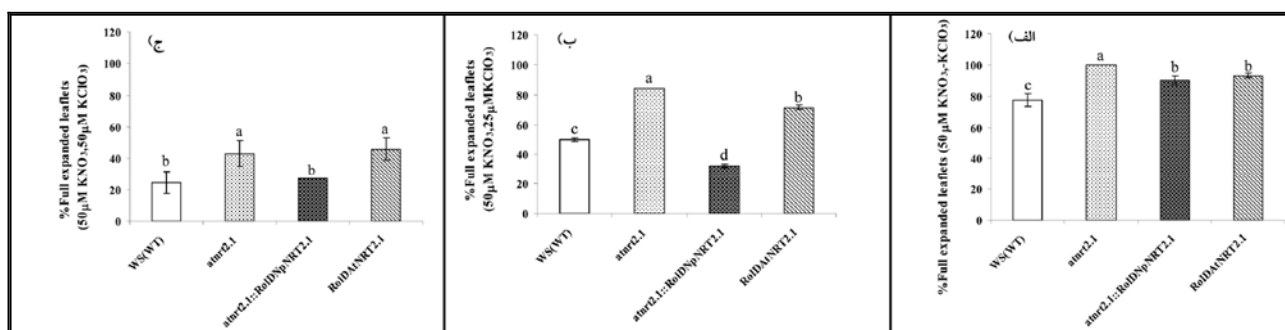
موارد ب و ج). همان‌طور که در نتایج حاصل از بخش دوم مشاهده می‌شود، اعمال نیترات به محیط در حضور کلرات، از کاهش بیش از حد شاخص رشدی مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های ذکر شده ممانعت می‌نماید؛ به طوری که با افزایش غلظت نیترات در محیط، حتی تیپ وحشی نیز اندکی مقاومت در برابر غلظت‌های میکرومولاری کلرات از خود نشان می‌دهد (شکل‌های ۳، ۴ و ۵).
با توجه به اینکه کلرات به عنوان یک آنالوگ نیترات عمل می‌کند، به نظر می‌رسد که نیترات و کلرات در رقابت با یکدیگر توسط یک سیستم ناقل مشترک جذب می‌شوند



شکل ۳- درصد برگچه‌های کاملاً باز در غلظت‌های الف) ۵۰؛ ب) ۲۵؛ ج) ۵۰ میکرومولار کلرات در محیط بدون نیترات با اسیدیته ۶/۵ در آراییدوپسیس تالیانا با زمینه ژنتیکی اکوتیپ WS. مقادیر بیانگر میانگین حداکثر سه تکرار \pm SD است. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵٪ انجام گرفته و حروف غیر مشترک بیانگر تفاوت معنی‌دار است.



شکل ۴- درصد برگچه‌های کاملاً باز در غلظت‌های الف) ۵۰؛ ب) ۲۵؛ ج) ۲۵ میکرومولار کلرات در محیط دارای ۲۵ میکرومولار نیترات با اسیدیته ۶/۵ در آراییدوپسیس تالیانا با زمینه ژنتیکی اکوتیپ WS. مقادیر بیانگر میانگین حداکثر سه تکرار \pm SD است. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵٪ انجام گرفته و حروف غیر مشترک بیانگر تفاوت معنی‌دار است.



شکل ۵- درصد برگچه‌های کاملاً باز در غلظت‌های الف) ۵۰؛ ب) ۲۵ و ج) ۵۰ میکرومولار کلرات در محیط دارای ۵۰ میکرومولار نیترات با اسیدیته ۶/۵ در آراییدوپسیس تالیانا با زمینه ژنتیکی اکوتیپ WS. مقادیر بیانگر میانگین حداکثر سه تکرار \pm SD است. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵٪ انجام گرفته و حروف غیر مشترک بیانگر تفاوت معنی‌دار است.

تشکر و قدردانی

از مرکز تحقیقات کشاورزی INRA واقع در کشور فرانسه جهت تأمین منابع بذری قدردانی می‌گردد.

منابع

ذوفن، پ.، شریعتی، م. و دنیل - ودل، ف. (۱۳۸۹) پاسخ‌های فیزیولوژیکی و مولکولی ناقل AtNRT2.4 به شرایط محرومیت نیتروژن در گیاه *Arabidopsis thaliana*. مجله زیست‌شناسی ایران ۲۳: ۹۴-۱۰۸.

ذوفن، پ. (۱۳۸۷) فیزیولوژی جذب نیترات توسط ناقل NRT2.1 در گیاه ترانسژنی تنباکو (*Nicotiana glauca*) بیان‌نامه دکتری، دانشگاه اصفهان، اصفهان.

Cerezo, M., Tillard, P., Filleur, S., Munos, S., Daniel-Vedele, F. and Gojon, A. (2001) Major alterations of the regulation of root NO₃ uptake are associated with the mutation of *NRT2.1* and *NRT2.2* genes in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 127: 262-271.

Chopin, F., Wirth, J., Dorbe, M. F., Lejay, L., Krapp, A., Gojon, A. and Daniel-Vedele F. (2007) The *Arabidopsis* nitrate transporter ATNRT2.1 is targeted to the root plasma membrane. *Plant Physiology and Biochemistry* 45: 630-635.

Crawford, N. M. and Glass, A. D. M. (1998) Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in plants. *Trends in Plant Science* 3: 389-395.

Doddema, H., Hofstra, J. J. and Feenstra, W. J. (1978) Uptake of nitrate by mutants of *Arabidopsis thaliana* disturbed in uptake or reduction of nitrate. I. Effect of nitrogen source during growth on uptake of nitrate and chlorate. *Physiologia Plantarum* 43: 343-350.

Fraisier, V., Gojon, A., Tillard, P. and Daniel-Vedele, F. (2000) Constitutive expression of a putative high-affinity nitrate transporter in *Nicotiana glauca*: evidence for post-transcriptional regulation by a reduced nitrogen source. *Plant Journal* 23: 489-496.

Filleur, S. and Daniel-Vedele, F. (1999) Expression analysis of a high-affinity nitrate transporter isolated from

- Arabidopsis thaliana* by differential display. *Planta* 207: 461-469.
- Filleur, S., Dorbe, M. F., Cerezo, M., Orsel, M., Granier, F., Gojon, A. and Daniel-Vedele, F. (2001) An *Arabidopsis* T-DNA mutant affected in *NRT2* genes is impaired in nitrate uptake. *Federation of European Biochemical Societies Letters* 489: 220-224.
- Forde, B. G. and Clarkson, D. T. (1999) Nitrate and ammonium nutrition of plants: Physiological and molecular perspectives. *Advances in Botanical Research* 30: 1-90.
- Glass, A. D. M., Shaff, J. E. and Kochian, L. V. (1992) Studies of nitrate uptake in barley. IV: electrophysiology. *Plant Physiology* 99: 456-463.
- Huang, N. C., Liu, K. H., Lo, H. J. and Tsay, Y. F. (1999) Cloning and functional characterization of an *Arabidopsis* nitrate transporter gene that encodes a constitutive component of low-affinity uptake. *The Plant Cell* 11: 1381-1392.
- Kronzucker, H. G., Siddiqi, M. Y. and Glass, A. D. M. (1995) Kinetics of NO_3 influx in spruce. *Plant Physiology* 109: 319-326.
- Li, W., Wang, Y., Okamoto, M., Crawford, N. M., Siddiqi, M. Y. and Glass, A. D. M. (2007) Dissection of the *AtNRT2.1*: *AtNRT2.2* inducible high-affinity nitrate transporter gene cluster. *Plant Physiology* 143: 425-433.
- Little, D. Y., Rao, H., Oliva, S., Daniel-Vedele, F., Krapp, A. and Malamy, J. E. (2005) The putative high-affinity nitrate transporter *NRT2.1* represses lateral root initiation in response to nutritional cues. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*. 102: 13693-13698.
- Liu, K. H., Huang, C. Y. and Tsay, Y. F. (1999) *CHL1* is a dual-affinity nitrate uptake. *The Plant Cell* 11: 865-874.
- Miller, A. J. and Smith, S. J. (1992) The mechanisms of nitrate transport across the tonoplast of barley root cells. *Planta* 187: 554-557.
- Nazoa, P., Vidmar, J. J., Tranbarger, T. J., Mouline, K., Damiani, I., Tillard, P., Zhou, D., Glass, A. D. M. and Touraine, B. (2003) Regulation of the nitrate transporter gene *AtNRT2.1* in *Arabidopsis thaliana*: responses to nitrate, amino acids and developmental stage. *Plant Molecular Biology* 52: 689-703.
- Okamoto, M., Vidmar, J. J. and Glass, A. D. M. (2003) Regulation of *NRT1* and *NRT2* gene families of *Arabidopsis thaliana*: responses to nitrate provision. *Plant Cell Physiology* 44: 304-317.
- Orsel, M., Eulenburg, K., Krapp, A. and Daniel-Vedele, F. (2004) Disruption of the nitrate transporter genes *AtNRT2.1* and *AtNRT2.2* restricts growth at low external nitrate concentration. *Planta* 219: 714-721.
- Siddiqi, M. Y., Glass, A. D. M., Ruth, T. J. and Rufty, T. (1990) Studies of the uptake of nitrate in barley: I. Kinetics of $^{13}\text{NO}_3$ influx. *Plant Physiology* 93: 1426-1432.
- Tsay, Y. F., Schroeder, J. I., Feldmann, K. A. and Crawford, N. M. (1993) The herbicide sensitivity gene *CHL1* of *Arabidopsis* encodes a nitrate-inducible nitrate transporter. *Cell* 72:705-713.
- Wang, R., Liu, D. and Crawford, N. M. (1998) The *Arabidopsis* *CHL1* protein plays a major role in high-affinity nitrate uptake. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 95: 1248-1254.
- Zhuo, D., Okamoto, M., Vidmar, J. J. and Glass, A. D. M. (1999) Regulation of a putative high-affinity nitrate transporter (*Nrt2:1At*) in roots of *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal* 17: 563-568.

The effect of chlorate micromolar concentrations on HATS nitrate uptake in *Arabidopsis thaliana*

Parzhak Zoufan^{*1} and Mansour Shariati²

¹ Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahwaz, Ahwaz

² Department of Biology, Faculty of Science, University of Isfahan, Isfahan

Abstract

The effect of chlorate different concentrations between 0 to 100 μM on high affinity transport system activity using *Arabidopsis thaliana* mutants *atnrt2.1*, *atnrt2.4* and *chl1-5* and transformants in *NRT2.1* gene in two research sections was studied. In the first section, two pH 6 and 6.5 were used in a medium of free nitrate. 3 different nitrate and chlorate concentrations including 0, 25 and 50 μM with pH 6.5 were selected during second section. All seeds were cultured on solid medium and maintained in a controlled-environment condition. After 7 days, in order to gain further insight into the role of nitrate high affinity transport system, percentage of full expanded leaflets as indicator of high affinity transport system activity was investigated. The results showed the superiority of *atnrt2.1* mutant in comparison with the other genotypes, especially on higher concentrations of chlorate, either with nitrate or without nitrate. Deregulation of *AtNRT2.4* and *AtCHL1* genes was not conducive to significant resistance. On the other hand, upregulation of *NpNRT2.1* gene in *atnrt2.1* mutant decreased percentage of full expanded leaflets. Based on these results, it was confirmed that *AtNRT2.1* gene had key and important role in nitrate uptake by high affinity transport system.

Key words: *Arabidopsis*, High affinity transport system, Chlorate, Nitrate

* Correspong Author: parzhakzoufan@yahoo.com

تأثیر مصرف خاکی و محلول پاشی آهن بر روی برخی از خصوصیات کیفی دانه گیاه بادام‌زمینی (*Arachis hypogaeae* L.) در خاک قلیایی

محمود پنج‌تن‌دوست، علی سروش‌زاده*^۱ و فائزه قناتی^۲

^۱گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

^۲گروه علوم گیاهی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

چکیده

به منظور بررسی اثر محلول پاشی و مصرف خاکی آهن [سکوسترین ۱۳۸ (Fe-EDDHA)] بر روی برخی از خصوصیات کیفی دانه بادام‌زمینی رقم North Carolina 2 دو آزمایش در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در بندر کیشهر استان گیلان اجرایی شد. در هر آزمایش چهار سطح از آهن استفاده گردید. در آزمایش اول تیمارهای محلول پاشی در پنج سطح (۰، ۱، ۲، ۳ و ۴ گرم آهن در یک لیتر آب) در مراحل شاخه‌دهی و گلدهی و در آزمایش دوم تیمارهای خاکی نیز در پنج سطح (۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ کیلوگرم آهن در هکتار) فقط در زمان کاشت اعمال شدند. نتایج نشان داد که بر اثر مصرف آهن به هر دو روش مقدار روغن کل دانه کاهش یافت، اما مقدار پروتئین کل دانه و مقدار عناصر ضروری، همچون آهن دو ظرفیتی، آهن کل، نیتروژن، فسفر، پتاسیم و منیزیم دانه گیاه بادام‌زمینی را به طور معنی‌داری افزایش داد. مصرف مقدار ۴ گرم آهن در لیتر و ۲۰ کیلوگرم آهن در هکتار به ترتیب در روش‌های محلول پاشی و خاکی نسبت به شاهد (عدم مصرف آهن) در هر دو روش بهترین اثر را بر افزایش عناصر ضروری دانه گیاه بادام‌زمینی داشتند، اما در مجموع بر اثر مصرف خاکی آهن غلظت عناصر تا حدود بیشتری نسبت به روش محلول پاشی افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: آهن، بادام‌زمینی، روغن، پروتئین

مقدمه

ریز مغذی در این خاک‌ها، نامحلول، غیر متحرک و غیر قابل دسترس می‌شود (فاجریا، ۱۳۷۵). البته، باید توجه داشت که در خاک نسبت بین یون‌های H^+/OH^- که از ریشه ترشح می‌شوند، با تغذیه آهن در گیاهان فرآیندی کاملاً

کمبود آهن در طیف وسیعی از خاک‌ها قابل مشاهده است. معمولاً خاک‌هایی که کمبود آهن دارند، دارای pH بیشتر از ۶ هستند. آهن همانند بعضی از عناصر غذایی

آن مقدار پروتئین و روغن دانه نیز افزایش می‌یابد. در این تحقیق، با مصرف خاکی و محلول‌پاشی آهن در یک خاک قلیایی سعی کرده‌ایم چگونگی تغییرات برخی از شاخص‌های کیفیت بذر در شرایط کمبود آهن را بررسی کنیم.

مواد و روش‌ها

محل اجرای تحقیق و طرح آزمایشی

این آزمایش در شهرستان بندر کیشهر، واقع در شرق استان گیلان اجرایی شد. برای این تحقیق، دو آزمایش در یک مزرعه همزمان به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی (RCBD) در سه تکرار استفاده گردید. برای تعیین مقدار عناصر و نوع خاک از چهار قسمت مختلف مزرعه نمونه‌برداری شد. مقدار بحرانی آهن قابل جذب در خاک ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم است (ملکوتی و همایی، ۱۳۷۳)، که در هر چهار بخش خاک مزرعه مورد آزمایش تقریباً ۲/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم تعیین گردید. در ضمن، اسیدیته خاک نیز ۷/۶ و خاک از نوع رسی-سیلتی بود. تیمارهای آزمایشی شامل روش محلول‌پاشی آهن در پنج غلظت ۰، ۱، ۲، ۳ و ۴ گرم آهن در یک لیتر آب و همچنین روش مصرف خاکی آهن با پنج غلظت ۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ کیلوگرم در هکتار بود. محلول‌پاشی در دو مرحله (آغاز ساقه‌دهی و گلدهی) انجام شد. مصرف خاکی آهن نیز به صورت اختلاط آهن با خاک سطحی (تا عمق ۱۰ سانتی‌متری) فقط در زمان کاشت صورت گرفت.

آماده‌سازی زمین و اجرای آزمایش

برای تهیه بستر کاشت، شخم نسبتاً عمیقی در اوایل بهار زده شد و پس از آن، عملیات دیسک‌زنی اجرا گردید.

پیچیده را به وجود می‌آورد که به پارامترهای خاکی، از جمله محتوای کربنات کلسیم خاک بستگی زیادی دارد (فاجریا، ۱۳۷۵).

گیاهان عالی، از جمله بادام‌زمینی ساز و کارهای تخصصی و غیرتخصصی مختلفی را برای افزایش محلول‌سازی و جذب آهن در محیط ریشه دارند. از جمله مهمترین فاکتورهایی که در ایجاد تعادل یونی و در نتیجه، جذب آهن نقش دارند، عبارتند از: نوع مصرف نیتروژن، نوع مصرف پتاسیم (Marschner, 1995)، وضعیت تغذیه‌ای فسفر در گیاه (Dinkelaker et al., 1989)، اختلاف در ژنوتیپ (Marschner, 1995) و مکانیسم‌های غیر تخصصی، جذب اسیدی (جذب کاتیون بیشتر از آنیون) است که یکی از مهمترین فاکتورها در کاهش pH محیط اطراف ریشه است (Romheld and Marschner, 1983).

البته، باید توجه داشت که افزایش ترشح یون H^+ و جذب آهن توسط گیاه ممکن است به صدمه رساندن به گیاه منجر شود (Marschner, 1995). چون مصرف آهن آثار متقابلی بر جذب دیگر عناصر غذایی در بافت گیاهی دارد. در این خصوص Zaharieva (۱۹۸۶) گزارش کرده است که با مصرف خاکی آهن در بادام‌زمینی‌هایی که دچار کمبود آهن بودند، مقدار عناصر پتاسیم، کلسیم، منگنز و روی در اندام هوایی افزایش و مقدار فسفر آن کاهش یافت. مصرف آهن در خاک‌های آهکی، علاوه بر اثرگذاری روی غلظت دیگر عناصر در گیاه، شاخص‌هایی از جمله مقدار روغن و پروتئین دانه بادام‌زمینی را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد. در این خصوص Patel و همکاران (۱۹۹۳) گزارش کردند که مصرف آهن در خاک‌هایی با اسیدیته بالا، مقدار نیتروژن، گوگرد و پتاسیم را در بادام‌زمینی به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد که در نتیجه

روش از o-phenantroline برای استخراج آهن به عنوان معرف در محلول استخراج شده از بافت گیاهی استفاده شد و سپس مقدار تثبیت شده آهن فعال در طول موج ۵۶۰ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر GBC (ساخت کشور استرالیا) قرائت شد.

کلسیم، منیزیم، پتاسیم و آهن کل: هضم نمونه‌های گیاهی برای سنجش عناصر کلسیم، آهن کل، منیزیم و پتاسیم به روش هضم اسیدی (هضم‌تر) با کلریدریک اسید و نیتریک اسید غلیظ در حرارت ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. مقدار این عناصر در بافت گیاهی نیز توسط دستگاه جذب اتمی تعیین گردید (امامی، ۱۳۷۵).

فسفر: از محلول هضم شده فوق، همچنین برای اندازه‌گیری فسفر به روش وانادات مولیدات استفاده شد. در نهایت، جذب کمپلکس زرد رنگ تشکیل شده به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (GBC) قرائت شد (Black, 1982).

مقدار پروتئین و روغن کل دانه

برای تعیین درصد پروتئین و روغن کل دانه، پس از خشک کردن دانه‌ها، نمونه‌های مربوط به هر تیمار آسیاب شده، با استفاده از دستگاه Inframatic 8620 Pecor (Germany) اندازه‌گیری شدند (Cho et al., 1998).

تعیین میزان اسیدهای چرب دانه

تعیین میزان اسیدهای چرب دانه‌های بادام زمینی به روش Metcalf و همکاران (۱۹۶۶) انجام گرفت. برای این منظور، حدود یک گرم خالص از هر نمونه خشک وزن شد. نمونه‌ها پس از پودر شدن با هاون، مجدداً توزین و به لوله‌های آزمایش درب‌دار منتقل شدند. روی هر لوله برچسب مربوطه درج و ۳ میلی‌لیتر هگزان به هر لوله اضافه

سپس واحدهای آزمایشی در ابعاد ۴×۳ متر به فاصله ۸۰ سانتی‌متر از واحد آزمایشی مجاور ایجاد شدند. بین تکرارها نیز فاصله‌ای حدود یک متر در نظر گرفته شد. کاشت بادام زمینی به صورت مسطح و در شرایط دیم انجام گرفت. تراکم کاشت معادل ۶۲۵۰۰ بوته در هکتار بود. در زمان کاشت مقدار نیتروژن مورد نیاز گیاه (به عنوان کود) از منبع اوره و به مقدار ۶۰ کیلوگرم در هکتار و فسفر مورد نیاز گیاهان ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار سوپر فسفات تریپل در بین ردیف‌های کاشت به صورت نواری و در عمق مناسب خاک قرار داده شدند و نیز برای تامین منبع گوگردی از ۹۰ کیلوگرم گچ استفاده شد (این مقادیر بر اساس وضعیت عناصر در خاک و توصیه کودی برای این گیاه تعیین گردیده‌اند). رقم مورد استفاده NC₂ (North Carolina 2) بود که رقم غالب مورد استفاده در منطقه است. قبل از کاشت بذرها با قارچ کش تیرام به نسبت ۲ در ۱۰۰۰ ضد عفونی شدند. مبارزه با علف‌های هرز نیز به وسیله دست انجام گرفت و مزرعه تحقیقاتی سه بار وجین شد.

سنجش عناصر معدنی دانه

نیتروژن: برای سنجش نیتروژن نمونه‌های گیاهی، پس از آسیاب کردن و گذراندن آنها از الک ۲ میلی‌لیتری، ۲۰۰ گرم از هر نمونه جدا کرده، نمونه‌ها به روش هضم در لوله‌های مخصوص با سولفوریک اسید، سالیسیلیک اسید، آب اکسیژنه و سلنیم هضم گردید و به روش تیتراسیون بعد از تقطیر با استفاده از دستگاه Kejeltec Auto 1030 Analyser Techator غلظت نیتروژن کل در نمونه‌های گیاهی اندازه‌گیری شد (امامی، ۱۳۷۵).

آهن فعال یا دو ظرفیتی (Fe²⁺): آهن فعال نیز به روش Sharma و Katyal (۱۹۸۰) اندازه‌گیری شد. در این

مورد بررسی اثر معنی‌داری داشته است.

در هر دو روش مصرف آهن (خاکی و محلول‌پاشی) با افزایش غلظت آهن تیمارها، مقدار آهن کل در دانه‌ها افزایش معنی‌داری نشان داد؛ به طوری که حداکثر مقدار آهن کل در دانه با تیمار ۲۰ کیلوگرم آهن در هکتار و محلول‌پاشی ۴ گرم آهن در لیتر به ترتیب در روش‌های مصرف خاکی و محلول‌پاشی به دست آمد. نتیجه مشابهی نیز بر روی گیاه سویا به دست آمده است که با مصرف Fe-EDDHA در گیاه سویا، آهن کل (تا ۵۰٪) افزایش نشان داد (Schenkeveld *et al.*, 2008). همچنین، همانند آهن کل، بیشترین افزایش مقدار آهن فعال دانه، در تیمارهای ۴ گرم آهن در لیتر و ۲۰ کیلوگرم آهن در هکتار به ترتیب در روش محلول‌پاشی و مصرف خاکی دیده شد. همچنین کمترین مقدار آهن فعال در هر دو روش مصرف، در شاهد مشاهده شد (جدول ۲).

Zaharieva (۱۹۸۶) نشان داد که همراه با کمبود آهن کل در گیاه بادام‌زمینی، آهن دو ظرفیتی نیز به شدت کاهش می‌یابد. بادام‌زمینی عمدتاً آهن را به صورت آهن دو ظرفیتی جذب می‌کند، اما در خاک‌هایی که تهویه معمولی دارند، آهن به صورت آهن سه ظرفیتی وجود دارد. بنابراین، آهن سه ظرفیتی قبل از آنکه توسط ریشه‌های گیاهان جذب شود باید به آهن دو ظرفیتی احیا شود (Romheld and Marschner, 1983)، زیرا احیای آهن سه ظرفیتی به آهن دو ظرفیتی یک مرحله اجباری در جذب آهن برای گونه‌های گیاهی است که در جذب آهن کارآمد هستند (Chaney *et al.*, 1972). تحقیقات نشان داده است که گیاهان دولپه، از جمله بادام‌زمینی در مقابله با کمبود آهن استراتژی نوع I را برای جذب آهن به کار می‌برند (Marschner, 1995; Smart, 1994). در این

شد. سپس لوله‌های آزمایش به مدت سه ساعت در بن ماری اولتراسونیک (Ultrasonic) قرار گرفتند. بعد از خارج کردن نمونه‌ها از بن ماری، فاز مایع لوله‌های آزمایش که اسیدهای چرب نیز جزو آن بود به لوله‌های جدید منتقل و با استفاده از گاز نیتروژن تا رسیدن به وزن خشک تبخیر شد. در نهایت، عصاره‌گیری انجام و ۰/۲ میکرولیتر از محلول به دستگاه تزریق شد. مشخصات دستگاه GC مورد استفاده نیز شامل 4600 Gas Chromatograph UNICAM با ستون کاپیلاری BPX به طول ۳۰ سانتی‌متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر بود که مخصوص جداسازی اسیدهای چرب است.

محاسبات آماری

کلیه محاسبات آماری شامل تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۶/۱۲ انجام شد. مقایسه میانگین‌ها نیز با روش LSD و در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج آنالیز واریانس مقادیر عناصر دانه در تیمارهای محلول‌پاشی و مصرف خاکی آهن در جدول ۱ ارائه گردیده است. در روش محلول‌پاشی اثر تیمارها از نظر آماری بر مقدار عناصر آهن دو ظرفیتی، آهن کل (Total Fe: T. Fe)، نیتروژن و فسفر بسیار معنی‌دار و بر مقدار پتاسیم منیزیم و کلسیم معنی‌دار نیست، اما در روش مصرف خاکی آهن، اثر تیمارها بر مقدار عناصر آهن دو ظرفیتی، آهن کل، نیتروژن، پتاسیم و منیزیم بسیار معنی‌دار و بر مقدار فسفر و کلسیم معنی‌دار است. به عبارتی، در روش مصرف خاکی آهن، تیمار بر مقدار تمامی عناصر

داخل سلول‌های ریشه جذب می‌شود. علاوه بر این، آهن سه ظرفیتی می‌تواند به وسیله سیستم احیای فعال که در دیواره پلاسمای ریشه قرار دارد، به فرم آهن دو ظرفیتی احیا شود.

روش، کمبود آهن در گیاه موجب آزاد شدن مواد احیا کننده از ریشه گیاه می‌شود. این مواد در فضای آزاد ریشه یا در محلول خارجی، آهن سه ظرفیتی را احیا می‌کنند (Olsen *et al.*, 1982). پس از احیا، آهن دو ظرفیتی به

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر دو روش محلول پاشی و مصرف خاکی آهن بر روی برخی از عناصر معدنی در دانه بادام زمینی

میانگین مربعات در روش محلول پاشی				
منابع تغییر	تکرار	تیمار	اشتباه	CV%
درجه آزادی	۲	۴	۸	-
Ca	۰/۰۰۰۰۰۷ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۶ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۴	۴/۹۴
Mg	۰/۰۰۰۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۷	۱/۵۵
K	۰/۰۰۰۰۰۲۶ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۲۴ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۳	۲/۵۲
P	۰/۰۰۰۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۱۸ ^{**}	۰/۰۰۰۰۰۰۲	۴/۳۷
N	۰/۰۰۰۰۰۰۱۴ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۸۴۷ ^{**}	۰/۰۰۰۰۰۰۴۶	۱/۳۳
Fe ⁺²	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۲ ^{**}	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۰۱	۱/۰۴
T. Fe	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۳۳ ^{**}	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۴	۱/۶۵

میانگین مربعات در روش مصرف خاکی				
منابع تغییر	تکرار	تیمار	اشتباه	CV%
درجه آزادی	۲	۴	۸	-
Ca	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۱ [*]	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۴	۴/۶۶
Mg	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۶ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۰۱۲ ^{**}	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۶	۱/۳۲
K	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۹۸ ^{**}	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۲۲ ^{**}	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۴	۲/۷۱
P	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۲ [*]	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۱	۳/۷۵
N	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۷ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۷۵۶ ^{**}	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۴۷	۱/۲۷
Fe ⁺²	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۲ ^{**}	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۱	۱/۶۶
T. Fe	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۴۷ ^{**}	۰/۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰۴	۱/۶۷

ns* و **: به ترتیب معنی دار نیست و معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات اصلی در دو روش محلول‌پاشی و مصرف خاکی آهن بر روی برخی عناصر معدنی در دانه بادام‌زمینی (مقادیر بر حسب درصد وزنی)

مقدار عناصر در روش محلول‌پاشی							مقدارهای Fe-EDDHA مصرفی (gr/lit)
T. Fe	Fe ⁺²	N	P	K	Mg	Ca	
c./۱۱۷	./۰.۰۲۶ ^d	c _۴ /۶۵	c./۱۰۷	a./۶۱	a./۱۷۳	a./۰.۴۰	۰
d./۱۲۵	./۰.۰۲۶ ^d	c _۴ /۶۲	c./۱۰۷	a./۶۱	a./۱۷۴	a./۰.۴۰	۱
c./۱۳۲	./۰.۰۳۳ ^c	b _۵ /۰.۶	bc./۱۱	a./۷۳	a./۱۷۴	a./۰.۴۳	۲
b./۱۳۳	./۰.۰۴۴ ^b	a _۵ /۷۳	ab./۱۱۹	a./۷۴	a./۱۷۴	a./۰.۴۳	۳
a./۱۴۴	./۰.۰۴۵ ^a	a _۵ /۶۶	a./۱۲۴	a./۷۴	a./۱۷۲	a./۰.۴۳	۴

مقدار عناصر در روش مصرف خاکی							مقدارهای Fe-EDDHA مصرفی (kg/ha)
T. Fe	Fe ⁺²	N	P	K	Mg	Ca	
c./۱۱۷	./۰.۰۲۶ ^d	c _۴ /۶۵	b./۱۰۷	a./۶۱	c./۱۷۲	b./۰.۴۰	۰
d./۱۲۵	./۰.۰۳ ^c	b _۵ /۳۲	b./۱۱	a./۶۱	c./۱۷۵	ab./۰.۴۲	۵
c./۱۳۵	./۰.۰۴۳ ^b	b _۵ /۲۷	b./۱۱۱	a./۷۲	b./۲۰۲	a./۰.۴۵	۱۰
b./۱۴۱	./۰.۰۴۵ ^a	a _۵ /۸۶	a./۱۲۱	a./۷۳	a./۲۱۳	a./۰.۴۶	۱۵
a./۱۴۷	./۰.۰۴۷ ^a	a _۵ /۸۶	a./۱۲۸	a./۷۴	a./۲۱۴	a./۰.۴۶	۲۰

در هر یک از روش‌های مصرف میانگین‌های هر ستون که دارای حروف مشابه هستند، از نظر آماری با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند ($P \leq 0.05$).

خانواده بقولات است که دارای همزیستی با باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن (ریزوبیوم) هستند و می‌توانند مقدار درخور توجهی از نیتروژن مورد نیاز را تأمین نمایند. در این میان، برای تثبیت نیتروژن، عنصر آهن در ترکیب لگ‌هموگلوبین و واکنش‌های مربوط به تثبیت نیتروژن شرکت دارد. علاوه بر این، آهن در ترکیب با آنزیم‌های نیترات و نیتريت‌ردوکتاز (به ترتیب در سیتوپلاسم و کلروپلاست) نیز شرکت دارد، که در نتیجه، علاوه بر تثبیت نیتروژن، بر روی مقدار احیای نیتروژن در گیاه اثر مستقیم دارد (Marschner, 1995)، اما احیاء نیترات با افزایش سن

بر اساس جدول ۲، محتوای نیتروژن دانه‌ها در هر دو روش افزایش یافت؛ به طوری که تیمارهای ۴ گرم آهن در لیتر و ۲۰ کیلوگرم آهن در هکتار، به ترتیب در روش‌های محلول‌پاشی و مصرف خاکی بیشترین مقدار را در دانه داشتند، ولی تیمار شاهد در هر دو مرحله از برداشت کمترین مقدار را داشت. در هر دو روش، محتوای نیتروژن دانه تیمارهای شاهد، کمترین مقدار را نشان دادند. این نتایج با نتایج Patel و همکاران (۱۹۹۳) که گزارش کردند با محلول‌پاشی آهن، محتوای نیتروژن و پتاسیم بادام‌زمینی افزایش می‌یابد، مطابقت دارد. بادام‌زمینی یکی از گیاهان

کمبود آهن به طور قابل توجهی می تواند جذب فسفر را کاهش دهد (Marschner, 1995). به همین صورت، وقتی به محتوای فسفر دانه توجه می کنیم، دیده می شود که با افزایش مقدار آهن در تیمارها در هر دو روش، محتوای فسفر دانه افزایش یافته است که نشان دهنده اثر متقابل این دو عنصر در گیاه است (جدول ۲).

محتوای پتاسیم دانه ها در هر دو روش مصرف آهن اختلاف معنی داری با شاهد نداشتند (جدول ۲)، ولی یک روند افزایش عددی با افزودن آهن دیده می شود که در این باره نیز Zaharieva (۱۹۸۶) مشاهده کرد که با کمبود آهن در گیاه بادام زمینی، محتوای پتاسیم گیاه کاهش یافت که علت آن را تبادل کمتر بین آنیون و کاتیون بر اثر کمبود آهن دانست، ولی در این آزمایش به نظر می رسد به این علت که در بادام زمینی آهن اثر مستقیمی بر جذب بعضی از کاتیون ها، همچون پتاسیم ندارد، می توان نتیجه گرفت که جذب این عنصر تا حدودی مستقل از وضعیت آهن در بافتهاست که نتایج این آزمایش نیز بر این موضوع تأکید دارد. با این تفسیر در مقابل، بعضی از محققان نتایج کاملاً متفاوتی نیز گرفته اند. از جمله Mahmoudi و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که تیمار آهن، محتوای پتاسیم عدس و لوبیا چشم بلبلی را در برگ و دانه به طور معنی داری افزایش داد که علت آن را کاهش فراهمی انرژی و در نتیجه کاهش جذب فعال آنیون ها در سلول های ریشه بر اثر کمبود عنصر آهن، دانسته اند که جذب کاتیون هایی از جمله پتاسیم را کاهش می دهد.

در محتوای منیزیم دانه ها در روش محلول پاشی بین تیمارها تفاوت معنی داری با شاهد دیده نشد (جدول ۲). برخلاف روش محلول پاشی، دانه هایی که با روش مصرف خاکی تیمار شده اند، دارای محتوای منیزیم متفاوتی هستند؛

برگ کاهش می یابد و با توجه به اینکه کمبود آهن بیشتر در برگ های جوان رخ می دهد، لذا احیای نیترات در این مناطق نیز کاهش می یابد و در نهایت، کل گیاه به شدت علائم مربوط به کمبود نیتروژن را نشان می دهد (O'Hara et al., 1988).

مقادیر برای فسفر دانه در روش محلول پاشی با افزایش غلظت تیمارها نیز افزایش یافت و بیشترین مقدار در تیمار ۴ گرم آهن در لیتر مشاهده شد (جدول ۲). تیمارهای ۱ گرم آهن در لیتر و شاهد از نظر محتوای فسفر دانه اختلاف معنی داری نداشتند. در روش مصرف خاکی مقدار فسفر دانه تیمارهای ۵ و ۱۰ کیلوگرم آهن در هکتار و شاهد تفاوت معنی داری نداشتند و تیمار ۲۰ کیلوگرم آهن در هکتار بیشترین مقدار فسفر در بذر را از نظر آماری نشان داد.

گزارش شده است که در خاک هایی که کربنات کلسیم بالایی دارند (خاک های قلیایی)، مقدار زیادی از فسفر به وسیله همین کربنات کلسیم تثبیت می شود (Suwanvesh and Morrill, 1986). از آنجایی که انتقال فسفر در خاک به صورت انتشار است (Marschner, 1995)، در نتیجه حرکت کندی دارد. در این حالت، گیاه بادام زمینی هر چه برای جذب آهن مقدار H^+ بیشتری در خاک آزاد کند (اسیدیته حدود ۶-۶/۵)، فسفر قابل دسترس بیشتری همزمان با احیای آهن در منطقه ریشه برای گیاه فراهم می سازد (به علت جدایی فسفر از ترکیب با کربنات کلسیم در خاک های قلیایی) (Smart, 1994). در تحقیقی نیز دیده شد که با کمبود آهن در بادام زمینی محتوای فسفر گیاه کاهش می یابد (Zaharieva, 1986). همچنین از آنجایی که جذب فسفر فعال است و آهن نیز نقش مهمی در انتقال الکترون دارد،

یکی از آنها بروز کمبود آهن در گیاه است (Vanderstraten *et al.*, 1995). از آنجایی که بادام‌زمینی کلسیم مورد نیاز خود را به طور غیر فعال جذب می‌کند (Murata, 2003)، پس کمبود آهن به طور مستقیم در جذب این عنصر چندان دخالتی نمی‌تواند داشته باشد. البته، بر خلاف دیگر گیاهان زراعی که کلسیم از ریشه جذب می‌کنند، این امر در بادام‌زمینی بیشتر و به طور مستقیم به وسیله غلاف‌ها صورت می‌گیرد؛ بدین معنی که چون کلسیم در آوند چوبی عمدتاً بر اثر تعرق انتقال می‌یابد (Murata, 2003)، بنابراین، تأمین کلسیم برای قسمت‌هایی از گیاه که سطح تعرق کننده کمی دارند (مانند غلاف‌ها) بسیار مشکل خواهد بود. در نتیجه، غلاف‌ها بدون توجه به محتوای کلسیم قسمت‌های هوایی، این عنصر را مستقیماً از خاک جذب می‌کنند (Vanderstraten *et al.*, 1995; Chang and Sung, 2004; Maccio *et al.*, 2002; Smart, 1994).

اثر مصرف آهن بر مقدار پروتئین و روغن دانه بادام‌زمینی

نتایج آنالیز واریانس اثر مصرف آهن به دو روش محلول‌پاشی و مصرف خاکی بر مقدار پروتئین دانه (جدول ۳) نشان می‌دهد که با افزایش مقدار آهن مصرفی به هر دو روش، مقدار پروتئین و روغن دانه افزایش معنی‌داری را دارد.

بیشترین مقدار پروتئین دانه از تیمارهای ۳ و ۴ گرم آهن در لیتر در روش محلول‌پاشی و ۲۰ کیلوگرم آهن در هکتار در روش مصرف خاکی به دست آمد که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد داشت (جدول ۴).

به طوری که تیمار ۱۵ و ۲۰ کیلوگرم آهن در هکتار بیشترین مقدار منیزیم دانه را داشتند، اگرچه اختلاف‌ها بین تیمارها کم بود. منیزیم از جمله عناصری است که مقدار زیادی با فرآیند تبادل آنیون-کاتیونی در سلول‌های ریشه با خاک وارد گیاه می‌شود و احتمالاً کاهش جذب آنیون‌ها و همچنین، کاهش مقدار انرژی بر اثر کمبود آهن در گیاه، جذب و انتقال این عنصر را در بادام‌زمینی کاهش داده است. Zaharieva (۱۹۸۶) نیز گزارش کرد که محتوای آنیون‌هایی، از جمله فسفر در شرایط کمبود آهن کاهش یافت که با مصرف آهن به حالت عادی بازگشت، زیرا جذب آنیونی مثل فسفر بر جذب کاتیون منیزیم نقش مهمی دارد.

مقدار عنصر کلسیم دانه در تیمارهای محلول‌پاشی اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشتند، ولی مقدار این عنصر در دانه‌های تیمار شده به روش مصرف خاکی متفاوت بود؛ به طوری که تیمارهای ۱۵ و ۲۰ کیلوگرم آهن در هکتار بیشترین مقدار و شاهد کمترین مقدار را از نظر عددی داشتند (جدول ۲). کلسیم مهمترین عنصر در رشد و توسعه بذر بادام‌زمینی است و در بسیاری از نواحی دنیا این عنصر عامل اصلی محدودکننده تولید بادام‌زمینی است (Maiti and Ebeling, 2002; Murata, 2003). به طور کلی، قابلیت دسترسی به کلسیم در خاک‌های قلیایی برای بادام‌زمینی زیاد است و در نتیجه، رشد بادام‌زمینی در چنین خاک‌هایی می‌تواند به خوبی صورت بگیرد. پس خاک‌های غیر اسیدی معمولاً مقدار کافی کلسیم را در اختیار گیاه قرار می‌دهند، ولی در این خاک‌ها کمبود کلسیم بیشتر به توزیع و انتقال کم کلسیم در گیاه مربوط می‌شود که این امر می‌تواند علل متفاوتی داشته باشد که

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر مصرف آهن به دو روش محلول پاشی و مصرف خاکی بر روی مقدار پروتئین و روغن کل دانه بادام زمینی

میانگین مربعات در روش مصرف خاکی		میانگین مربعات در روش محلول پاشی		درجه آزادی	منابع تغییر
پروتئین %	روغن %	پروتئین %	روغن %		
۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۳۱ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}	۰/۳۵۹ ^{ns}	۲	تکرار
۲/۹۹ ^{**}	۱۳/۵۳ ^{**}	۲/۸۱ ^{**}	۷/۶۸ ^{**}	۴	تیمار
۸/۹۲	۸/۵۱	۶/۴۰	۱/۷۳	۸	اشتباه
۶/۳۸	۹/۷۳	۵/۳۹	۴/۴۸	-	CV%

ns، * و **: به ترتیب معنی دار نیست، معنی داری در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات اصلی تیمارها (مقادیر مختلف آهن) در دو روش محلول پاشی و مصرف خاکی بر روی پروتئین

و روغن کل دانه بادام زمینی

روش مصرف خاکی		مقدار مصرفی Fe-EDDHA (kg/ha)	روش محلول پاشی		مقدار مصرفی Fe-EDDHA (gr/lit)
پروتئین دانه %	روغن دانه %		پروتئین دانه %	روغن دانه %	
۲۷/۱۸ ^e	۴۸/۲۰ ^a	۰	۲۷/۰۰ ^c	۴۸/۱۴ ^a	۰
۲۸/۹۳ ^d	۴۷/۱۶ ^b	۵	۲۸/۵۷ ^b	۴۷/۳۷ ^b	۱
۲۹/۹۴ ^c	۴۶/۷۲ ^c	۱۰	۲۹/۳۳ ^b	۴۷/۱۱ ^c	۲
۳۰/۹۱ ^b	۴۶/۱۴ ^d	۱۵	۳۰/۴۵ ^a	۴۶/۰۸ ^d	۳
۳۲/۷۵ ^a	۴۵/۵۲ ^e	۲۰	۳۱/۱۶ ^a	۴۵/۷۷ ^e	۴

در هر یک از روش های مصرف میانگین های هر ستون که دارای حروف مشابه هستند، از نظر آماری با یکدیگر اختلاف معنی داری ندارند ($P \leq 0.05$).

جدول تجزیه واریانس اثر تیمارهای آهن بر مقدار روغن در جدول ۳ نشان داده شده است. با افزایش مقدار آهن مصرفی در هر دو روش، محتوای روغن دانه کاهش یافته است. بالاترین مقدار روغن در هر دو روش، از تیمار شاهد به دست آمد که اختلاف معنی داری با تیمارهای مصرفی آهن داشت (جدول ۴). نکته قابل توجه این که استفاده آهن به هر دو روش باعث کاهش روغن در دانه ها شده است. مقدار تولید روغن در دانه بادام زمینی، به مقدار ماده فتوسنتزی تولید شده طی ۵ تا ۱۲ هفته پس از گلدهی بستگی دارد و بیشتر مواد پرورده تولید شده طی این مدت در سنتز روغن مصرف می شود (Sukhija *et al.*, 1987). به

این امر می تواند ناشی از بالاتر بودن شاخص سطح برگ در فاصله زمانی ۹۰ تا ۱۲۰ روز پس از کاشت در تیمارهای ۲۰ کیلوگرم آهن در هکتار و ۳ و ۴ گرم آهن در لیتر نسبت به سایر تیمارها و همچنین بالاتر بودن تولید مواد فتوسنتزی و پروتئین سازی در این تیمارها باشد (داده ها ارائه داده نشده است). از آنجایی که عنصر آهن، یکی از مهمترین عناصری است که در متابولیسم نیتروژن و در نتیجه افزایش سطح برگ گیاه نقش دارد (Tewari *et al.*, 2005)، پس می توان انتظار داشت که با اعمال تیمار آهن در گیاهانی که علائم کمبود این عنصر را نشان می دهند، پروتئین سازی افزایش یابد.

شدن دانه تشکیل می‌دهند (Shibahara *et al.*, 1977)، که در نهایت این مقدار به ۹۰٪ در زمان رسیدگی فیزیولوژیک می‌رسد (Smart, 1994).

گزارش شده است که ترکیب روغن دانه بادام‌زمینی تحت تأثیر محیط و تغییرات فصلی و همچنین تغییرات در ژنوتیپ و طول دوره رسیدگی قرار می‌گیرد (Taira, 1985). اثرات محیطی و فصلی شامل نوسان‌های اقلیمی سالانه، شرایط متغیر شیمی خاک و عملیات کشاورزی (از جمله خاک‌ورزی، کاشت، وجین، آبیاری و برداشت) است (Liu *et al.*, 1984; Worthington *et al.*, 1972).

همان‌طور که در جدول ۵ دیده می‌شود، در روش محلول‌پاشی با افزایش غلظت آهن مقدار سنتز دو اسید چرب مهم پالمیتیک اسید و اولئیک اسید به طور معنی‌داری کاهش یافته است. می‌توان نتیجه گرفت که مصرف آهن در شرایط کمبود آهن در گیاه بادام‌زمینی باعث کاهش مقدار سنتز روغن می‌شود. می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش مقدار آهن در شرایط کمبود این عنصر در خاک، مقدار سنتز اسیدهای چرب در بادام‌زمینی کاهش می‌یابد.

همچنان که در جدول ۵ نیز دیده می‌شود، در روش مصرف خاکی با مصرف آهن، سنتز سه اسید چرب پالمیتیک اسید، اولئیک اسید کاهش یافته که در نهایت کاهش معنی‌داری در مقدار روغن کل دانه (جدول ۴) ایجاد کرده است. در این روش نیز با مصرف آهن در شرایط کمبود آن در بادام‌زمینی مقدار سنتز اسید چرب و در نهایت روغن کل کاهش یافته است.

نظر می‌رسد که گیاه در شرایط کمبود آهن برای تولید روغن چندان مشکلی نداشته است، زیرا به علت تأمین کافی منبع گوگردی (۹۰ کیلوگرم گچ) هنگام کاشت و نیز شرکت گوگرد در سنتز اسیدهای چرب مهم در بادام‌زمینی (Sharma *et al.*, 1992)، افزودن آهن باعث افزایش پروتئین دانه شده و از آنجایی که بین مقدار روغن و پروتئین کل در دانه بادام‌زمینی همبستگی منفی وجود دارد (Sukhija *et al.*, 1987)، در نتیجه مقدار روغن دانه کاهش یافته است، زیرا اثبات شده است که پروتئین‌سازی در دانه بادام‌زمینی با تولید روغن آن رابطه عکس دارد (Sukhija *et al.*, 1987). در این پژوهش نیز دیده شد که با افزایش مقدار پروتئین دانه بادام‌زمینی بر اثر مصرف آهن، مقدار روغن دانه کاهش یافت. احتمالاً بتوان نتیجه گرفت که بیشتر آهن اضافه شده در هر دو روش، در مسیر پروتئین‌سازی به کار گرفته شده است.

اثر مصرف آهن بر مقدار اسیدهای چرب دانه بادام‌زمینی

کیفیت و ترکیب روغن دانه گیاهی به دو دلیل مهم است: نقشی که در تغذیه انسان دارد و تأثیر مستقیمی که بر کیفیت روغن در طول مدت انبارداری دارد (Smart, 1994). در مجموع ۸ اسید چرب ۹۸٪ روغن بادام‌زمینی را تشکیل می‌دهند (Woodroof, 1983; Worthington *et al.*, 1972). همچنین گزارش شده که پالمیتیک، اولئیک و لینولئیک، سه اسید چربی هستند که تقریباً ۸۰٪ محتوای روغن دانه بادام‌زمینی را تا روز سی‌ام بعد از زمان شروع پُر

جدول ۵- اثر مصرف محلول پاشی و خاکی آهن بر ترکیب اسید چرب دانه بادام زمینی (% از کل اسید چرب)

تیمارهای محلول پاشی آهن (gr/lit)					نوع اسید	
۴	۳	۲	۱	شاهد	چرب	
۱۰/۷۵±۰/۳۳ ^d	۱۰/۷۹±۰/۱۸ ^{cd}	۱۱/۰۸±۰/۲۵ ^c	۱۱/۸۱±۰/۱۷ ^{ab}	۱۲/۰۶±۰/۰۵ ^a	(16:0)	
۴/۸۳±۰/۰۵ ^a	۳/۵±۰/۰۴ ^d	۴/۰۲±۰/۰۳ ^b	۳/۱۹±۰/۰۲ ^c	۳/۲۱±۰/۰۱ ^c	(18:0)	
۵۰/۹۰±۰/۰۳ ^h	۵۱/۶۵±۰/۰۵ ^g	۵۱/۹۸±۰/۰۲ ^f	۵۲/±۰/۰۷ ^d	۵۳/۵۸±۰/۰۷ ^a	(18:1)	
۲۶/۴۴±۰/۰۱ ^a	۲۵/۷۸±۰/۰۴ ^d	۲۵/۹۹±۰/۰۱ ^c	۲۶/۴۶±۰/۰۷ ^a	۲۵/۴۳±۰/۰۱ ^c	(18:2)	
۱/۹۷±۰/۰۰۳ ^a	۱/۸۹±۰/۰۰۲ ^b	۱/۷۲±۰/۰۰۲ ^c	۱/۳۳±۰/۰۰۲ ^f	۱/۴۵±۰/۰۰۲ ^c	(18:3)	
۱/۰۲±۰/۰۰۷ ^b	۱/۲۱±۰/۰۰۵ ^a	۰/۹۸±۰/۰۰۳ ^b	۰/۸۸±۰/۰۰۱ ^c	۰/۸۳±۰/۰۰۱ ^c	(20:4)	
۲/۷۶±۰/۰۰۳ ^b	۳/۳۱±۰/۰۰۷ ^a	۲/۷۲±۰/۰۰۳ ^{bc}	۲/۲۶±۰/۰۰۳ ^c	۲/۲۲±۰/۰۰۳ ^c	(20:0)	
۱/۳۴±۰/۰۰۵ ^c	۱/۸۲±۰/۰۰۲ ^a	۱/۴۶±۰/۰۰۵ ^b	۱/۱۳±۰/۰۰۱ ^c	۱/۱۷±۰/۰۰۵ ^c	(23:0)	

تیمارهای مصرف خاکی آهن (kg/ha)					نوع اسید	
۲۰	۱۵	۱۰	۵	شاهد	چرب	
۱۱/۴۱±۰/۰۱ ^b	۱۱/۵۹±۰/۰۱ ^b	۱۱/۳۵±۰/۰۱۵ ^{bc}	۱۱/۹۵±۰/۰۱۳ ^a	۱۲/۰۶±۰/۰۰۵ ^a	(16:0)	
۳/۷۵±۰/۰۰۴ ^c	۴±۰/۰۰۱ ^b	۳/۴۹±۰/۰۰۱ ^d	۲/۲۲±۰/۰۰۲ ^f	۳/۲۱±۰/۰۰۱ ^c	(18:0)	
۵۲/۵۷±۰/۰۱۲ ^c	۵۳±۰/۰۰۱ ^c	۵۳/۲۰±۰/۰۰۶ ^b	۵۳/۵۷±۰/۰۰۲ ^a	۵۳/۵۸±۰/۰۰۷ ^a	(18:1)	
۲۵/۸۶±۰/۰۰۳ ^d	۲۴/۹۱±۰/۰۰۲ ^f	۲۵/۳۵±۰/۰۰۲ ^c	۲۶/۲۷±۰/۰۰۲ ^b	۲۵/۴۳±۰/۰۰۱ ^c	(18:2)	
۱/۵۶±۰/۰۰۳ ^d	۱/۵۲±۰/۰۰۳ ^d	۱/۵۵±۰/۰۰۳ ^d	۱/۳۳±۰/۰۰۲ ^f	۱/۴۵±۰/۰۰۲ ^c	(18:3)	
۰/۹۲±۰/۰۰۲ ^c	۱/۰۳±۰/۰۰۲ ^b	۰/۹۵±۰/۰۰۱ ^b	۰/۹۲±۰/۰۰۴ ^c	۰/۸۳±۰/۰۰۱ ^c	(20:4)	
۲/۵±۰/۰۰۶ ^d	۲/۵۳±۰/۰۰۱ ^d	۲/۶۵±۰/۰۰۵ ^c	۲/۴۲±۰/۰۰۳ ^f	۲/۲۲±۰/۰۰۳ ^c	(20:0)	
۱/۳۷±۰/۰۰۴ ^c	۱/۳۷±۰/۰۰۲ ^c	۱/۴۳±۰/۰۰۲ ^{bc}	۱/۲۷±۰/۰۰۱ ^d	۱/۱۷±۰/۰۰۵ ^c	(23:0)	

داده‌ها ± انحراف معیار، میانگین سه تکرار هستند. میانگین‌های هر ردیف که دارای حروف مشابه هستند، از نظر آماری با یکدیگر اختلاف معنی داری ندارند ($P \leq 0.05$). (پالمیتیک اسید: (۱۶:۰)، استئاریک اسید: (۱۸:۰)، اولئیک اسید: (۱۸:۱)، لینولئیک اسید: (۱۸:۲)، آلفا لینولئیک اسید: (۱۸:۳)، آراشیدونیک اسید: (۲۰:۴)، آراشیدیک اسید: (۲۰:۰) و تریکوزانویک اسید: (۲۳:۰))

در روش‌های محلول پاشی و خاکی نسبت به شاهد (عدم مصرف آهن) در هر دو روش بهترین اثر را بر افزایش عناصر ضروری دانه گیاه بادام زمینی داشتند. کاربرد هر یک از روش‌ها در مزرعه، به عوامل زیادی، از جمله شرایط آب و هوایی منطقه، تناوب زراعی، شرایط آبیاری، خاک منطقه و امکانات مزرعه بستگی دارد. بنابراین، تصمیم‌گیری در مورد استفاده از هر یک از این روش‌ها در هر منطقه به تحقیق نیاز دارد.

در پایان، می‌توان نتیجه گرفت که قلیایی بودن خاک منطقه، عامل مهمی در بروز کمبود آهن در بادام زمینی شده است. از آنجایی که این گیاه از خانواده بقولات است، نیاز دو چندان به عنصر ضروری آهن به علت تثبیت نیتروژن پیدا می‌کند (به ویژه در خاک قلیایی). نتایج نشان داد که با مصرف آهن، پروتئین کل دانه‌ها در هر دو روش افزایش ولی محتوای روغن کل آنها کاهش یافت. در مجموع می‌توان گفت که در این تحقیق مشاهده شد مصرف مقدار ۴ گرم آهن در لیتر و ۲۰ کیلوگرم آهن در هکتار، به ترتیب

منابع

- امامی، ع. (۱۳۷۵) روش‌های تجزیه گیاه. نشریه فنی مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور ۹۸۲ (۱) انتشارات مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور، تهران.
- فاجریا، ان. کا. (۱۳۷۵) افزایش عملکرد گیاهان زراعی. ترجمه اrietinum L.) Plant Physiology 162: 1237-1245.
- Maiti, R. and Ebeling, P. W. (2002) The peanut (*Arachis hypogaea* L.) Science Publishing Inc. Enfield (London), UK.
- Marschner, H. (1995) Mineral nutrition of higher plants: Function of mineral nutrients: Microelements. 2nd Ed, Academic Press, London.
- Metcalf, L. C., Schmitz, A. A. and Pelka, J. R. (1966) Rapid preparation of methyl esters from lipid for gas chromatography analysis. Analytical Chemistry 38: 514-515.
- Murata, M. R. (2003) The impact of soil acidity amelioration on groundnut production on sandy soils of Zimbabwe. Ph.D Thesis University of Pretoria, Zimbabwe.
- O'Hara, G. W., Dilworth, M. J., Boonkero, N. and Parkpian, P. (1988) Iron-deficiency specially limits nodule development in peanut inoculation with *Bradyrhizobium* sp. New Phytologist 108: 51-57.
- Olsen, R. A., Brown, J. C., Bennett, J. H. and Blume, D. (1982) Reduction of Fe⁺³ as it release to Fe chlorosis. Journal of Plant Nutrition 5: 433-445.
- Patel, M. S., Sutar, D. M. and Kanizaria, M. V. (1993) Effect of foliar application of iron and sulfur in curing chlorosis in groundnut. Journal of the Indian Society of Soil Science 41: 103-105.
- Romheld, V. and Marschner, H. (1983) Mechanism of Iron uptake by peanut plants. Plant Physiology 71: 949-954.
- Schenkeveld, W. D. C., Dijcker, R., Reichwein, A. M., Temminghoff, E. J. M. and Riemsdijk, W. H. van (2008) The effectiveness of soil-
- هاشمی دزفولی، ا.، کوچکی، ع. و بنایان اول، م.، انتشارات جهاد دانشگاهی، مشهد.
- ملکوتی، م. و همائی، م. (۱۳۷۳) حاصلخیزی در مناطق خشک. انتشارات دانشگاه تربیت مدرس، تهران.
- Black, C. A. (1982) Method of soil analysis. Vol. 2, Chemical and microbiological properties. American Society of Agronomy, Madison, USA.
- Chaney, R. L., Brown, J. C. and Tiffin, O. (1972) Obligatory reduction of ferric chelates in iron uptake by soybean (*Glycin max* L.). Plant Physiology 50: 208-223.
- Chang, C. S. and Sung, J. M. (2004) Nutrient uptake and yield responses of peanuts and rice to lime and fused magnesium phosphate in an acid soil. Field Crops Research 89: 319-325.
- Cho, S. Y., Kim, J. L. and Rhee, C. (1998) Determination of rancidity of soybean oil by near infrared spectroscopy. Journal of Near Infrared Spectroscopy 6: 349-35.
- Dinkelaker, B., Romhel, V. and Marschner, H. (1989) Critic acid excretion and precipitation of calcium citrate in the Rhizosphere of white lupin (*Lupinus albus* L.). Plant Cell Environment 12: 285-292.
- Katyal, J. C., and Sharma, B. D. (1980) A new technique of plant analysis to resolve iron chlorosis. Plant and Soil 55: 105-119.
- Liu, S. Y., Chan, K. L. and Yang, J. H. (1984) Variation in oil content of the main oil crops of Taiwan. Fette Seifen Anstrichmittel 86 (12): 466-468.
- Maccio, D., Fabra, A. and Castro (2002) Acidity and calcium interaction affect the growth of *Bradyrhizobium* sp. and the attachment to peanut roots. Soil Biology and Biochemistry 34: 201-208.
- Mahmoudi, H., R. Ksouria., M. Gharsallia and Lachaa, M. (2005) Differences in responses to iron deficiency between two legumes: lentil (*Lens culinaris* L.) and chickpea (*Cicer*

- applied FeEDDHA treatments in preventing iron chlorosis in soybean as a function of the o,o-FeEDDHA content. *Plant and Soil* 303:161-176.
- Sharma, P. K., Gill, O. P. and. Sharma, B. L. (1992) Effect of source and mode of sulfur application on yield of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Indian Journal of Agronomy* 37 3: 489-492.
- Shibahara, A., Fukumizu, M. and Yamashoji, S. (1977) Changes in the composition of lipids, fatty acids and tocopherols in peanut seeds during maturation. *Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan* 51 (10): 575-581.
- Smart, J. (1994) *The groundnut crop: A scientific basis for improvement*. Chapman and Hall, London.
- Sukhija, P. S., Radhawa, V., Dhillon, K. S. and Munshi, S. K. (1987) The influence of zinc and sulfur deficiency on oil-filling in peanut (*Arachis hypogaea* L.) kernels. *Plant and Soil* 103: 261-267.
- Suwanvesh, T., Morrill, L. G. (1986) Foliar Application of phosphorus to spanish peanuts *Arachis-Hypogaea*. *Agronomy Journal* 78: 54-58.
- Taira, H. (1985) Oil content and fatty acid composition of peanuts imported in Japan. *Journal of the American Oil Chemist's Society* 62 (4): 699-702.
- Tewari, R. K., Kumar P. and Sharma P. N. (2005) Sign of oxidative stress in the chlorotic leaves of iron starved plants. *Plant Science* 169: 1037-1045.
- Vanderstraten, M., Keltjens, W. G., Okobi, A. C. and Westphal, E. (1995) The calcium nutrition of bambara groundnut (*Vigna subterranean* L.). *Plant and Soil* 176: 229-234.
- Woodroof, J. G. (1983) *Peanut production, processing, products*. 3rd Ed, AVI Publishing Company, Westport, Connecticut, USA.
- Worthington, R. E., Hammons, R. O. and. Alison, J. R. (1972) Varietal differences and seasonal effects on fatty acid composition and stability of oil from 82 peanut genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 20 (3): 727-730.
- Zaharieva, T. (1986) Comparative studies of iron inefficient plant species with plant analysis. *Journal of Plant Nutrition* 9: 939-946.

Effect of iron soil and spray applied on some quality characteristics of peanut (*Arachis hypogaea* L.) plants in a calcareous soil

Mahmoud Panjtandoust, Ali Soroosh zadeh^{*1} and Faezeh Ghanati²

¹ Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Tarbiat Modares, Tehran

² Faculty of Science, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Abstract

In order to study the effect of foliar and soil applications of Fe-EDDHA on some quality characteristics of peanut plants (variety NC₂), two experiments were laid out separately in a Randomized Complete Block Design (RCBD) with three replications under field condition in Kiashahr harbor, Guilan province. In each experiment four levels of Fe-EDDHA were applied by one method (Foliar and Soil applications). In foliar application method, 0, 1, 2, 3 and 4 gr/lit Fe-EDDHA were sprayed on leaves at the beginning of branching as well as at the flowering period while for soil application method, 0, 5, 10, 15 and 20 kg/ha of Fe-EDDHA were applied at the time of sowing. The results showed that kernel oil in both methods of iron application decreased notably whereas kernel protein and also essential minerals such as active iron, total iron, N, P, K, Ca and Mg enhanced significantly. In both methods of iron application, higher doses of iron applications (4 gr/lit and 20 kg/ha of Fe-EDDHA) had significant positive effects on amount of essential elements. Altogether, iron soil-applied minerals had more effects compared to iron foliar-application.

Key words: Iron, Peanut, Oil, Protein

* Corresponding Author: soroosh@modares.ac.ir

بررسی اثر کمبود آب بر شاخص‌های فلورسانس کلروفیل و میزان پرولین در شش ژنوتیپ جو و رابطه آن با دمای آسمانه (Canopy) و عملکرد

ابراهیم ممنوعی^۱ و رئوف سید شریفی^{۲*}

^۱ مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی جیرفت و کهنوج، جیرفت

^۲ گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل

چکیده

تنش خشکی و مبارزه با آن، از مسایل عمده‌ای است که بشر طی هزاران سال، با آن دست به گریبان بوده است. به منظور بررسی اثر کمبود آب بر شاخص‌های فلورسانس کلروفیل، عملکرد و میزان پرولین در شش ژنوتیپ جو، آزمایشی به صورت کرت‌های یک‌بار خرد شده در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. کرت‌های اصلی شامل پنج سطح آبیاری (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد نیاز آبی) و کرت‌های فرعی شامل شش ژنوتیپ جو (ترکمن، کارون×کویر، ریحانی، 9-74-C، گرگان-۴ و کویر×بادیا) بود. نتایج نشان داد محدودیت آبی شاخص‌های فلورسانس کلروفیل یا کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II را به دلیل افزایش فلورسانس مبدا و کاهش فلورسانس ماکزیمم کاهش داد. با افزایش شدت تنش، تجمع پرولین در برگ گیاهان تحت تنش افزایش یافت، ولی ارقام از این نظر با هم اختلاف داشتند. کمبود آب موجب کاهش محتوای نسبی کلروفیل گردید. با این حال، در بین سطوح تیماری ۷۵ و ۱۰۰ درصد آبیاری، اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نگردید. محدودیت آبی موجب شد عملکرد دانه کاهش و دمای آسمانه به‌طور معنی‌داری افزایش یابد. هر چند ژنوتیپ‌هایی که در شرایط آبیاری کافی دارای سایه‌انداز خنک‌تری بودند، در شرایط تنش شدید، عملکرد بهتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها داشتند. مقایسه میانگین‌های اثر متقابل محدودیت آب در ژنوتیپ‌های جو نشان داد که بیشترین عملکرد دانه در کرت‌هایی برآورد گردید که ژنوتیپ‌های کارون×کویر و کویر×بادیا بدون محدودیت آبی به کار برده شدند و کمترین آن در کرت‌هایی برآورد گردید که ژنوتیپ گرگان-۴ تحت شرایط تنش یا با محدودیت کامل آبیاری به کار برده شدند.

واژه‌های کلیدی: پرولین، شاخص‌های فلورسانس کلروفیل، کمبود آب

مقدمه

برخورداری از عملکرد زیاد و مرغوبیت علوفه، ساده‌تر بودن کاشت، داشت و برداشت، دارا بودن مواد قندی و نشاسته‌ای زیاد در مقایسه با زراعت‌های دیگر، از اهمیت قابل توجهی

جو به دلیل مقاوم بودن به خشکی، تحمل خاک‌های شور و قلیایی، سهولت کشت و کار، قابلیت انبارداری بالا،

پیشنهاد شده است (Moffatt *et al.*, 1990). در حقیقت، مقدار فلورسانس کلروفیل، سالم بودن غشای تیلاکوئید و کارایی نسبی انتقال الکترون را از فتوسیستم II به فتوسیستم I نشان می‌دهد. وقتی مولکول‌های کینون (اولین کینون گیرنده الکترون فتوسیستم II Primary quinone electron acceptor of photosystem II) در وضعیت کاملاً اکسیده شده (وضعیت باز مرکز واکنش فتوسیستم II) هستند، سیستم دارای کمترین فلورسانس (F_0) است که بتدریج با افزایش احیا شدن این مولکول‌ها، فلورسانس افزایش می‌یابد. این روند تا احیای کامل مولکول‌های آن ادامه پیدا می‌کند. در چنین حالتی مرکز فتوسیستم در حالت احیای کامل بوده، دارای بیشترین فلورسانس (F_m) است. در واقع، تنش خشکی با تأثیر سوء که بر همانندسازی کربن می‌گذارد، ظرفیت پذیرش و انتقال الکترون را کاهش داده، در نتیجه سیستم به سرعت به F_m می‌رسد، که نتیجه آن کاهش فلورسانس متغیر (F_v) خواهد بود. از طرفی، با افزایش شدت نور، سیستم فتوستتزی با یک روش تنظیمی برای کاهش انرژی القا شده تحریکی، انرژی مازاد را به طریق افزایش خاموشی غیر فتوشیمیایی به صورت فرآیند غیر تشعشعی از دست می‌دهد. با این مکانیسم تنظیمی، ضمن حفاظت از مرکز واکنش، موجب می‌گردد که حداقل صدمه به این مرکز وارد شود (Bhardway and Singhal, 1981). از این رو، کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II به صورت نسبت F_v/F_m (نسبت فلورسانس متغیر به فلورسانس ماکزیم) بیان می‌شود. بنابراین، تنش‌های محیطی با تأثیر بر فتوسیستم II باعث کاهش این نسبت می‌شوند (Ma *et al.*, 1995).

گزارش شده است که F_v همبستگی مثبتی با عملکرد در دمای بالا دارد، اما در شرایط کنترل شده با عملکرد دانه

در تغذیه دام و طیور برخوردار است (سید شریفی و حکم علی‌پور، ۱۳۸۹). جو از جمله گیاهانی است که در شرایط آب و هوایی کاملاً متفاوت رشد نموده و در مقایسه با گندم، نسبت به خشکی و بیماری‌ها مقاومتر است. کمبود آب با تأثیر بر مراحل مختلف رشد گیاه، از قبیل جوانه‌زنی، گل‌دهی و دوره پر شدن دانه، عملکرد نهایی را متأثر می‌سازد. میزان کاهش عملکرد به زمان، مدت و شدت تنش کم آبی بستگی دارد. باز و بسته شدن روزنه‌ها، شدت تعرق را کنترل می‌کند و در چنین شرایطی دمای سایه‌انداز افزایش پیدا می‌یابد (رابرت هی، ۱۹۹۳). گزارش شده است ارقامی که دمای سایه‌انداز بیشتری در شرایط آبیاری دارند، به طور قابل توجهی آب کمتری مصرف نموده، هدایت روزنه‌ای پایین‌تری داشتند (Blum *et al.*, 1989). برخی محققان گزارش کرده‌اند، اگر چه اختلاف دمای هوای آسمانه (canopy) در بین ارقام گندم در اوایل ظهور خوشه در شرایط تنش معنی‌دار بود، ولی رابطه معنی‌داری با کاهش عملکرد نداشت، در حالی که در شرایط بدون تنش کم آبی، کاهش عملکرد با اختلاف دمای سایه‌انداز و هوا رابطه معنی‌داری داشت (Liu and Zhang, 1994).

عده‌ای معتقدند که اختلاف دمای آسمانه یا ΔT می‌تواند شاخص خوبی برای ارزیابی تنش آبی گیاه باشد (Earl and Tollenaar, 1997).

برخی معتقدند که ΔT در پوشش با تراکم کم به دلیل تشعشع حاصل از سطح خاک، بیشتر از پوشش گیاهی با تراکم زیاد بود (Hanson *et al.*, 1979).

امروزه، فلورسانس کلروفیل (Chlorophyll fluorescence) به عنوان یک معیار سنجش برای اندازه‌گیری تأثیر تنش‌های محیطی، از جمله تنش آب بر گونه‌های زراعی و تعیین میزان مقاومت به خشکی آنها

غشای میتوکندری‌ها (Ramzi and Morales., 1988) و اختلال در سنتز پروتئین (Paleg and Spinal, 1981) کاهش می‌یابد. البته، پرولین در تنظیم اسمزی، جذب آمونیاک حاصل از تجزیه پروتئین و همچنین در تولید انرژی در موارد خاص نقش دارد.

نتایج بیشتر بررسی‌ها گویای آن است که کمبود آب به علت کاهش دادن محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی (Burse, 1991)، کاهش در فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی، به ویژه آنزیم رویسکو (Fendina *et al.*, 1993)، کاهش فتوسنتز و رشد (Cronic and Massacci, 1996) نتیجه خود را به صورت کاهش عملکرد نمایان می‌سازد. بر اساس برخی گزارش‌ها کمبود آب در مرحله گل‌دهی اثر معنی‌داری بر تعداد دانه در خوشه داشته، ولی در مرحله بعد از گل‌دهی، وزن دانه را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد (Mohammad *et al.*, 1996). نتایج بررسی‌ها در گندم و جو نشان داد که در شرایط محدودیت آبی عملکرد دانه کاهش می‌یابد (Bhardway and Singhal, 1981; Blum *et al.*, 1989). کاهش عملکرد دانه بر اثر تنش خشکی در گندم (Habash, 1995) و کاهش تعداد خوشه بارور بر اثر کمبود آب ناشی از افزایش تلفات پنجه‌ها (Paleg and Spinal, 1981). طی بررسی‌های مختلف گزارش شده است. این آزمایش به منظور بررسی اثر کمبود آب بر عملکرد، شاخص‌های فلورسانس کلروفیل، دمای آسمانه و میزان پرولین ژنوتیپ‌های جو در شرایط آب و هوایی کرج اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

آزمایش در سال زراعی ۱۳۸۱ در مزرعه ۴۰۰ هکتاری مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج اجرا

همبستگی منفی نشان می‌دهد (Moffatt *et al.*, 1990). بر اساس برخی گزارش‌ها ارقام متحمل به شوری جو نسبت Fv/Fm بالاتری نسبت به ارقام حساس دارند. به عبارت دیگر، کارآیی سیستم نوری II در رقم مقاوم بیشتر بوده است (Ramzi and Morales, 1994).

اظهار شده است که بر اثر تنش آبی محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a و b) در برگ‌ها کاهش می‌یابد (Burse, 1991). عده‌ای معتقدند که شاخص‌های فلورسانس کلروفیل بر اثر تنش‌های ناشی از کمبود آب یا افزایش درجه حرارت تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Yordanov *et al.*, 1997, 1999).

امروزه، یکی از شاخص‌های ارزیابی برای گزینش ارقام تحت شرایط خشکی، تجمع پرولین در اندام‌های مختلف گیاهی است (Leinhose and Bergman, 1995). برخی بررسی‌ها نشان داد که انباشتگی میزان پرولین با میزان تحمل به خشکی گیاه ارتباط مستقیم دارد (Van Rensburg *et al.*, 1993). در این زمینه گزارش‌هایی وجود دارد مبنی بر اینکه، پرولین اثر منفی نمک کلروسدیم و تنش آبی را بر تثبیت کربن اصلاح نموده، می‌تواند کاهش فعالیت آنزیم رویسکو را تحت چنین شرایطی تعدیل نماید (Fendina *et al.*, 1993).

اظهار شده است که تنظیم اسمزی سیتوپلاسم به وسیله افزایش مقدار بتائین و پرولین صورت می‌گیرد (Rhodes and Hanson, 1993). به عبارتی، در شرایط تنش، تجمع پرولین سریع‌تر از اسید آمینه‌های دیگر رخ می‌دهد (Leinhose and Bergman, 1995). تجمع پرولین نتیجه هیدرولیز پروتئین‌ها بوده و مسیر پیشنهادی تولید آن از گلوتامیک اسید گزارش شده است (Mureiel, 1984)، که در شرایط تنش، اکسیداسیون پرولین به علت به هم ریختن

گردید. بر اساس آمار آب و هوا و با توجه به منحنی آمبریوترمیک، منطقه مورد نظر با داشتن ۱۵۰ تا ۲۰۰ روز خشک، جزو مناطق با آب و هوای مدیترانه‌ای گرم و خشک محسوب می‌شود، لیکن با داشتن زمستان سرد و مرطوب و تابستان گرم و خشک جزو مناطق نیمه خشک

محسوب می‌شود. به منظور تعیین ویژگی‌های خاک منطقه مورد نظر، قبل از کشت از نقاط مختلف مزرعه در چهار عمق متفاوت، نمونه‌برداری به وسیله اوگریا مته نمونه‌برداری (Auger) انجام شد که نتایج حاصل از آن در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱ - مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

عمق خاک cm	بافت خاک	جرم حجمی ظاهری g/cm ²	درصد وزنی رطوبت در ظرفیت زراعی	درصد وزنی رطوبت در نقطه پژمردگی	EC Ds/m	اسیدیته خاک	مجموع آنیون‌ها meq/lit	مجموع کاتیون‌ها meq/lit
۰-۲۰	لوم	۱/۳	۲۱/۸	۱۲/۴	۱/۶۳	۸	۲۵/۷	۲۴/۶
۲۰-۴۰	لوم	۱/۳	۲۲/۴	۱۲/۵	۱/۸۱	۸	۲۴/۵	۳۲/۲
۴۰-۶۰	لوم	۱/۳	۲۳/۲	۱۲/۵	۱/۴۶	۸/۱	۱۴	۲۸/۳
۶۰-۸۰	لوم	۱/۳	۲۳	۱۳	۱/۴۶	۸/۱	۱۴	۲۸/۳
میانگین	لوم	۱/۳	۲۲/۶	۱۲/۶	۱/۵۹	۸/۰۵	۱۹/۵۵	۲۵/۸۵

پس از انجام عملیات زراعی، بنا به توصیه مؤسسه آب و خاک کرج معادل ۲۰۰ کیلوگرم فسفات آمونیوم، ۱۰۰ کیلوگرم سولفات پتاسیم، ۴۰ کیلوگرم سولفات روی و ۲۰۰ کیلوگرم اوره در هکتار (نصف آن همزمان با کشت و بقیه در زمان ساقه روی) به خاک اضافه گردید.

در این بررسی تبخیر و تعرق مبنای اساس حاصل ضرب تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A در ضریب تشتک، طبق رابطه زیر محاسبه گردید.

$$ETP = KP \times E_{pan}$$

در این رابطه، ETP، E_{pan} و KP به ترتیب تبخیر و تعرق مبنای تبخیر از تشتک و ضریب تشتک است. نیاز آبی گیاه طبق فرمول زیر محاسبه گردید.

$$ETP \times KC = ETC$$

$$T = ETC \times \text{درصد تیمار}$$

$$\text{ارتفاع آبیاری} = (T - P) \times 1/2$$

ETC، KC، T و P به ترتیب نیاز آبی گیاه، ضریب گیاهی، مقدار آب تیمار و مقدار بارش مؤثر هستند. برای محاسبه حجم آبیاری از Washington Stage W.S.C (College)، فلوم تیپ III استفاده گردید؛ به طوری که بعد از نصب و تراز طولی و عرضی، با قرائت ارتفاع از روی خط کش فلوم و جایگزینی آن در فرمول $Q = 3/79 \times (H)^{2/7.9}$ مقدار دبی آب وارد شده به کرت محاسبه می‌شود (در این فرمول H و Q به ترتیب ارتفاع جریان آب در روی اشل بر حسب سانتی‌متر، دبی جریان در حال عبور از فلوم بر حسب لیتر بر ثانیه هستند) چون دبی جریان آب در جوی ثابت نبود، پس ارتفاع آب از اشل، هر دقیقه یک‌بار قرائت

شاخص‌های فلورسانس کلروفیل (F_v , F_m , F_o) و F_v/F_m با استفاده از دستگاه تنش سنج (Plant stress meter) اندازه‌گیری شد. مدت سازگاری برگ‌ها به تاریکی ۳۰ دقیقه، شدت نور دستگاه ۴۰۰ میکرو اینشتین بر متر مربع بر ثانیه و مدت تابش ۲ ثانیه تنظیم گردید. برای ارزیابی میزان تجمع پرولین به عنوان یک عامل مهم در برآورد میزان مقاومت به خشکی در مرحله خوشه‌دهی، تعداد ۱۵ برگ پرچم از هر کرت نمونه‌برداری و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند. سپس با استفاده از روش Bates (۱۹۷۳) از نمونه‌های مذکور پرولین استخراج گردید. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها و رسم نمودارها از نرم‌افزارهای SAS و Excel استفاده گردید.

نتایج

تغییرات ΔT

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که محدودیت آبی اثر معنی‌داری بر ΔT دارد؛ به طوری که با افزایش سطوح تنش مقدار ΔT به صورت معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۱).

از طرفی، نتایج نشان داد که در شرایط تنش شدید ΔT ارتباطی با عملکرد ندارد، در صورتی که در شرایط آبیاری کافی ΔT با عملکرد رابطه مستقیمی نشان داد؛ به طوری که دو رقم کارون×کویر و ریحانی که در شرایط آبیاری کافی ΔT بالاتری داشتند، عملکرد بالاتری در شرایط تنش نشان دادند (شکل ۲).

می‌شد. سپس میانگین آنها به عنوان ارتفاع، در معادله قرار می‌گرفت. بنا به توصیه بخش فنی مهندسی مؤسسه، راندمان آبیاری ۸۰٪ در نظر گرفته شد.

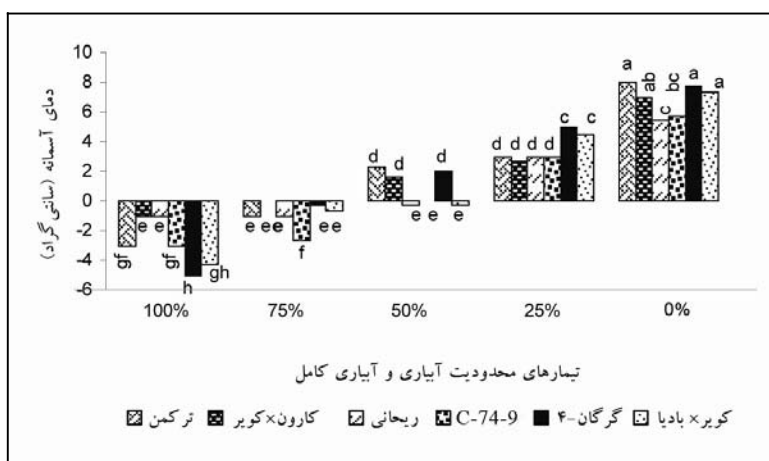
در این آزمایش، سطوح آبیاری در کرت‌های اصلی در پنج سطح بر اساس تبخیر از تشتک تبخیر (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد نیاز آبی) و ژنوتیپ‌های جو در شش سطح شامل (ترکمن، کارون×کویر، ریحانی، C-74-9، گرگان-۴ و کویر×بادیا) بودند. هر کرت شامل ده خط کشت به طول ۱۶ متر و فاصله بین ردیف ۰/۲۵ متر بود. فاصله بین کرت‌های اصلی ۳ متر و بین تکرارها ۵ متر در نظر گرفته شد. اعمال تیمار پس از استقرار گیاه، همزمان با رشد گیاه در بهار قبل از ساقه روی انجام گرفت. برای اندازه‌گیری عملکرد پس از حذف حاشیه و ۰/۵ متر از ابتدا و انتهای هر کرت به عنوان حاشیه، برداشت از خطوط اصلی انجام و عملکرد تعیین شد. دمای سایه‌انداز در مرحله خوشه‌دهی با استفاده از دماسنج مادون قرمز در ساعت ۱۲-۱۴ اندازه‌گیری شد. ΔT از تفاضل دمای سایه‌انداز و دمای هوا به دست آمد.

مقدار کلروفیل برگ پرچم با استفاده از دستگاه کلروفیل‌متر دستی (Soil and Plant or SPAD.502 Analysis Division) در زمان خوشه‌دهی و نیز یک هفته پس از آن اندازه‌گیری شد. شایان ذکر است که نتایج حاصل از اندازه‌گیری کلروفیل به روش SPAD می‌تواند با برآورد مقدار کلروفیل به روش عصاره‌گیری مرتبط باشد؛ به طوری که با مقایسه بین نتایج قرائت SPAD و تعیین کلروفیل به روش عصاره‌گیری یک همبستگی معنی‌داری ($R^2=0.95$) گزارش شده است (Yadava, 1989).

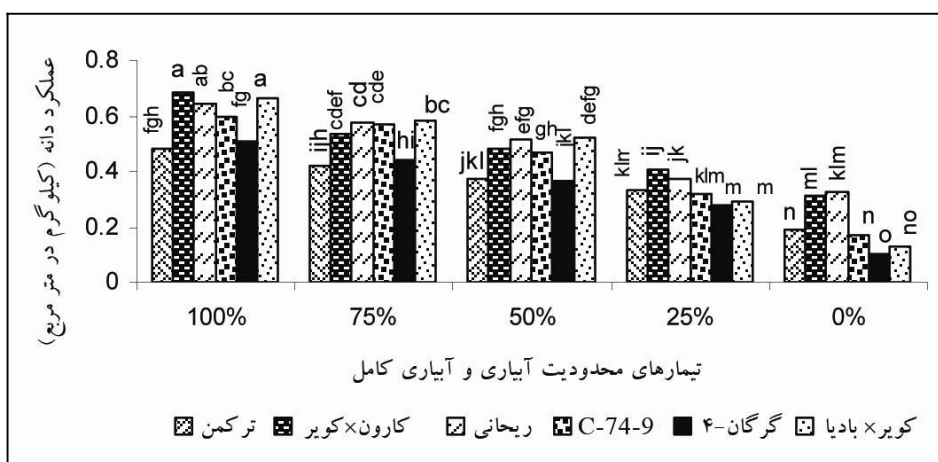
جدول ۲- تجزیه واریانس اثر کمبود آبی بر عملکرد دانه، شاخص‌های فلورسانس کلروفیل و میزان پرولین ارقام جو

منابع تغییرات	درجه آزادی	اختلاف دمای آسمانه (ΔT)	قرائت SPAD	Fv/Fm	پرولین	عملکرد دانه
تکرار	۲	۰/۲۰۸ ^{n.s}	۵۷/۴۹*	۰/۰۰۱ ^{n.s}	۲۰/۹۱ ^{n.s}	۰/۸۳**
کمبود آب	۴	۲۵۶/۷۱**	۲۲۹/۶**	۰/۳۴۹**	۳۶۴۱۲	۰/۴۳**
خطا	۸	۱/۴۷	۷/۵۱۷	۰/۰۰۱	۱۹/۳۶	۰/۰۱۳
رقم	۵	۱۶/۲۹**	۳۰/۵**	۰/۳۱**	۳۳/۱۱*	۰/۸۶**
کمبود آب×رقم	۲۰	۴/۱۹**	۳/۲۴ ^{n.s}	۰/۰۰۳**	۷/۷۹ ^{n.s}	۱۲/۰۱۴**
خطا	۵۰	۰/۹۶	۷/۶۷	۰/۰۰۱	۱۴/۳۸	۰/۱۱۱

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد



شکل ۱- مقایسه میانگین اختلاف دمای آسمانه ژنوتیپ‌های مختلف در شرایط سطوح مختلف آبیاری



شکل ۲- مقایسه میانگین عملکرد دانه ژنوتیپ‌های مختلف در شرایط سطوح مختلف آبیاری

محتوای نسبی کلروفیل

بررسی محتوای نسبی کلروفیل ارقام در تیمارهای مختلف آبی نشان داد، که با افزایش محدودیت آب، قرائت SPAD عدد کوچکتري را نشان داده که حاکی از کاهش

مقدار کلروفیل است؛ هر چند که بین سطوح ۵۰ تا ۱۰۰ درصد نیاز آبی اختلاف معنی داری وجود نداشت (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر کمبود آبی بر عملکرد دانه، شاخص‌های فلورسانس کلروفیل و میزان پرولین ارقام جو

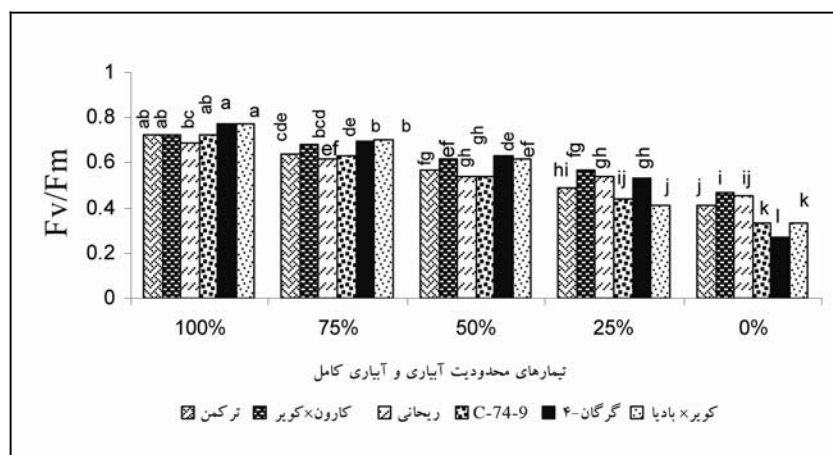
عملکرد gr/m ²	پرولین μg.g ⁻¹ fw	شاخص‌های فلورسانس کلروفیل				قرائت SPAD	ΔT (°C)	
		F _o	F _m	F _v	F _v /F _m			
۰/۶۳۵ a	۴۳/۵۷ e	۰/۳۰ e	۱/۱۳ a	۰/۸۳ a	۰/۷۳ a	۵۴/۷۶ a	-۲/۸۹ d	٪۱۰۰
۰/۵۴ b	۶۶/۸۳ d	۰/۳۶ d	۱/۱۱ a	۰/۷۵ b	۰/۶۷ b	۵۳/۷۴ a	-۰/۲۸ c	٪۷۵
۰/۴۵۸ bc	۸۴/۴۹ c	۰/۴۵ c	۱/۰۹ a	۰/۶۴ c	۰/۵۹ c	۵۳/۱۹ ab	۰/۸۹ c	٪۵۰
۰/۳۶۵ c	۱۳۱ b	۰/۵۲ b	۱/۰۵ a	۰/۵۳ d	۰/۵۰ d	۵۰/۱۴ b	۳/۵۳ b	٪۲۵
۰/۱۸۶ d	۱۵۲ a	۰/۶۳ a	۰/۹۱ b	۰/۲۸ e	۰/۳۰ e	۴۵/۹۶ c	۷/۱۱ a	صفر
۰/۳۶ b	۹۴/۹۸ ab	۰/۴۶ b	۱/۰۸ c	۰/۶۲ b	۰/۵۷ b	۵۲/۹۹ a	۳/۰۷ a	ترکمن
۰/۴۸ a	۹۷/۱۶ a	۰/۵۴ a	۱/۱۶ b	۰/۷۳ a	۰/۶۲ a	۵۱/۳۲ ab	۱/۲۷ cd	کارون×کویر
۰/۴۶ a	۹۶/۶۲ a	۰/۴۱ bc	۰/۹۹ d	۰/۵۸ c	۰/۵۸ b	۵۳/۴۸ a	۰/۴۷ d	ریحانی
۰/۴۹ a	۹۵/۸۳ ab	۰/۴۳ cd	۰/۹۲ e	۰/۴۹ c	۰/۵۳ c	۵۱/۱۳ ab	۰/۶ d	ژنوتیپ‌های جو
۰/۳۳ b	۹۲/۹۵ b	۰/۵۴ a	۱/۲۷ a	۰/۷۳ a	۰/۵۷ b	۵۰/۷۴ ab	۲/۶۷ ab	گرگان-۴
۰/۴۹ a	۹۵/۹۵ ab	۰/۴۱ d	۰/۹۳ e	۰/۴۹ c	۰/۵۲ c	۴۹/۶۹ b	۱/۹۷ bc	کویر×بادیا

میانگین‌های با حروف غیر مشترک در هر ستون اختلاف آماری معنی داری با هم دارند.

کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II (F_v/F_m)

به هر حال، اختلاف معنی داری بین ارقام در شرایط تنش شدید مشاهده گردید (جدول ۳). متأثر شدن کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II (F_v/F_m) در سطح احتمال ۱٪ (جدول ۲) از کمبود آب و مقایسه میانگین‌ها (جدول ۳) نشان داد که با محدودیت آبی کارآیی این سیستم به دلیل بازدارندگی نوری کاهش می‌یابد (شکل ۳). نتایج نشان می‌دهد که تحت شرایط محدودیت آبی، اختلاف بین F_o و F_m؛ یعنی F_v کاهش پیدا می‌کند و این امر به خاطر افزایش

F_o و کاهش F_m بوده است؛ در بین تیمارهای مختلف آبیاری نیز با افزایش محدودیت آب، نسبت F_v/F_m کاهش یافت (جدول ۳). ارقام کارون×کویر، ترکمن، گرگان-۴ و ریحانی بیشترین مقدار F_v/F_m را در شرایط تنش شدید داشتند (جدول ۳). بالا بودن کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II این ارقام نشان می‌دهد که مقدار فتوسنتز آنها بالاتر بوده است به طوری که عملکرد آنها در شرایط تنش شدید نیز بیشتر از دیگر ارقام مورد بررسی بود (شکل ۲).



شکل ۳- مقایسه میانگین Fv/Fm ژنوتیپ‌های مختلف در شرایط سطوح مختلف آبیاری

افزایش ΔT بروز می‌کند که همراه با تنش حرارتی است (Gloestani and Assad, 1998; Blum *et al.*, 1989; Liu and Zhang, 1994). نتایج مشابهی نیز توسط دیگر محققان گزارش شده است (Gloestani and Assad, 1998). بر اساس برخی گزارش‌های Blum و همکاران (1998). به نظر می‌رسد ارقامی که در شرایط آبیاری کافی (ΔT بالاتری نشان دادند، هدایت روزنه‌ای پایین‌تری دارند و به طور قابل توجهی آب کمتری استفاده می‌کنند و این ارقام با مصرف آب کمتر، مقدار بیشتری از آن را برای مراحل بعدی رشد نگه می‌دارند. برخی معتقدند که تغییرات دمای آسمانه در شرایط تنش خشکی یک رابطه خطی با کاهش عملکرد نشان نداد، اما در شرایط غیر تنش، مقدار اختلاف دمای وارسته‌های حساس از مقاوم کمتر بود و یک رابطه خطی با کاهش عملکرد نشان داد (Gefferies, 1997).

بررسی محتوای نسبی کلروفیل

اظهار شده است که بر اثر تنش آبی محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a و b) در برگ‌ها کاهش می‌یابد (Burse, 1991). به نظر می‌رسد که در شرایط تنش

میزان پرولین

معنی‌دار شدن میزان پرولین ارقام مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد در شرایط محدودیت آبی (جدول ۲) و مقایسه میانگین‌ها (جدول ۳) نشان داد که با افزایش سطوح تنش مقدار پرولین افزایش یافت؛ به طوری که ارقامی که در تیمار آبیاری کافی قرار گرفتند، با میانگین ۴۳/۵۷ میکروگرم در گرم وزن تر، کمترین مقدار پرولین را داشتند، در حالی که در تیمار تنش شدید با میانگین ۱۵۲ میکروگرم در گرم وزن تر، بیشترین مقدار را نشان دادند. از آنجا که پرولین در تنظیم اسمزی نقش دارد (Ma *et al.*, 1995)، به نظر می‌رسد برتری عملکرد دو رقم کارون×کویبر و ریحانی در شرایط تنش شدید نسبت به سایر ارقام، با برتری نسبی پرولین این ارقام در شرایط تنش ارتباط داشته باشد (جدول ۳).

بحث

بررسی تغییرات ΔT

افزایش در ΔT در شرایط کمبود آب ناشی از کاهش تعرق به واسطه بسته شدن روزنه‌هاست. از آنجا که تعرق فرآیندی گرماگیر است، پس کاهش تعرق به صورت

مربوط به افزایش شدید انرژی برانگیختگی غیرتشنه‌شعی می‌شود که منجر به آزادسازی انرژی به صورت حرارتی می‌شود (Mohammad *et al.*, 1996). نتایج مشابهی نیز طی بررسی‌های مختلف گزارش شده است (فرداد و شیردلی، ۱۳۷۴؛ Legg *et al.*, 1996; Mohammad *et al.*, 2000). برخی گزارش کردند که ارقام متحمل به شوری و خشکی جو نسبت F_v/F_m بالاتری نسبت به ارقام حساس دارند، به عبارت دیگر، کارآیی سیستم نوری II در رقم مقاوم بیشتر بوده است (Ramzi and Morales, 1994).

میزان پرولین

افزایش میزان پرولین بر اثر تنش خشکی در گندم و جو توسط محققان مختلف گزارش شده است (صفایی و غدیری، ۱۳۷۰؛ Mohammad *et al.*, 1994; Cecile *et al.*, 1996). عده‌ای معتقدند پرولین می‌تواند اثر منفی تنش آبی را بر تثبیت کربن اصلاح نماید (Fendina *et al.*, 1993).

جمع‌بندی

با توجه به نتایج حاصل، محدودیت آبی اثر معنی‌داری بر ΔT ، قرائت SPAD، کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II، میزان پرولین و عملکرد دانه ژنوتیپ‌های مورد بررسی جو داشت. مشخص گردید ارقامی که در شرایط آبیاری کافی ΔT بالاتری نشان دادند، به علت هدایت روزنه‌ای پایین‌تر، به‌طور قابل توجهی آب کمتری استفاده می‌کنند و این ارقام با مصرف آب کمتر، مقدار بیشتری از آن را برای مراحل بعدی رشد نگه می‌دارند. همچنین، در شرایط تنش، کاهش قرائت SPAD می‌تواند ناشی از کاهش فتوسنتز خالص یا

ملایم، کاهش میزان فتوسنتز خالص گیاه در درجه اول، ناشی از بسته شدن روزنه‌ها باشد، اما در شرایط محدودیت شدید آبی، اثر روزنه‌ای ممکن است با افزایش مقاومت مزوفیلی (Mureiel, 1984) و تأثیر سوءای که تنش بر غشای تیلاکوئیدها (روبرت هی، ۱۹۹۳) می‌گذارد، تشدید شود. کاهش قرائت SPAD و کاهش سبز بودن گیاه می‌تواند در نتیجه تخریب کلروفیل به واسطه محدودیت شدید آبی باشد (Yadava, 1989; Umedi, 1989) که به کاهش فتوسنتز خالص منجر خواهد شد (Ma *et al.*, 1995; Johnson *et al.*, 2002; Legg *et al.*, 2000).

برخی محققان گزارش کرده‌اند که بوته‌های جو تحت تنش، کلروفیل کمتری نشان دادند. آنها معتقدند با استمرار تنش، برگ‌ها زودتر از سایر اندام‌ها از بین می‌رود و فتوسنتز کاهش یافته، محتوی کلروفیل کمتر می‌شود (Bergman and Leinhouse, 1995). البته، به نظر می‌رسد در شرایط تنش شدید، محتوای نسبی کلروفیل به تنهایی نمی‌تواند برآورد درستی از عملکرد را نشان دهد، بلکه توان فتوسنتزی برگ پرچم قبل از گرده‌افشانی، همچنین توان ذخیره‌سازی مواد پرورده و قابلیت انتقال مجدد آنها به مخازن فیزیولوژیک نیز حایز اهمیت است (روبرت هی، ۱۹۹۳).

بررسی کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II (F_v/F_m)

بازدارندگی نوری با کاهش کارآیی مصرف فوتونها به وسیله فتوسیستم II مشخص می‌شود. کاهش کارآیی فتوسیستم II در دو وضعیت رخ می‌دهد: اول زمانی که برگ‌ها به‌طور ناگهانی در معرض نور شدید قرار گیرند که به مرکز فتوسیستم II صدمه می‌زند و دوم وقتی که در معرض محدودیت آبی واقع شوند. در این حالت، کاهش

عملکرد دو ژنوتیپ کارون×کویر و ریحانی در شرایط تنش شدید نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها، به دلیل داشتن چنین ویژگی‌هایی باشد.

کاهش مقادیر کلروفیل بر اثر تخریب آن به واسطه کم آبی باشد. در ضمن، ارقام با نسبت بالای F_v/F_m و بیشترین توان در تولید پرولین در شرایط تنش، قادر بودند از کاهش عملکرد کمتری برخوردار باشند. به نظر می‌رسد برتری

منابع

- رابت هی. (۱۹۹۳) مقدمه‌ای بر فیزیولوژی عملکرد گیاهان زراعی، ترجمه امام، ی. و نیک‌نژاد، و. انتشارات دانشگاه شیراز، شیراز.
- سید شریفی، ر. و حکم‌علی‌پور، س. (۱۳۸۹) زراعت گیاهان علوفه‌ای. انتشارات دانشگاه محقق اردبیلی و عمیدی، تبریز.
- Bates, L. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* 39: 205-207
- Bhardway, R. and Singhal, G. (1981) Effect of water stress on photochemical activity of chloroplasts during greening etiolated barley seedlings. *Plant Cell Physiology* 22 (2): 155-162.
- Blum, A., Shpiler, L., Golan, A. and Mayer, J. (1989) Yield stability and canopy temperature of heat genotypes under drought stress. *Field Crop Research* 22: 289-286.
- Burce, J. A. (1991) Comparative responses of leaf conductance to humidity in single attached leaves. *Journal of Experimental Botany* 32: 629-634.
- Cecile, B., Patrick, C. and Chavargieff, P. (1994) Light stress and oxidative cell damage in photoautotrophic cell suspension of *Euphorbia characias*. *Plant Physiology*. 106: 941-946.
- Cronic, C., and Massacci, A. (1996) Leaf photosynthesis under droghut stress. In: *Photosynthesis and the environment* (ed. Baker, N. R.) 347-366. Kluwer Academic Publishing. Dordrecht-Boston-London.
- Earl, H. and Tollenaar, L. (1997) Maize leaf absorption of photosynthetically active radiation and its estimation using a chlorophyll meter. *Crop Science* 37: 436-440.
- Fendina, I. S., Tsonev, T. and Guleva, E. L. (1993) The effect of pretreatment with praline on the responses of (*Pisum sativum* L.) to salt stress. *Photosynthetica* 29:521-527.
- Gefferies, R. A. (1994) Drought and chlorophyll fluorescence in field-grown potato. *Plant Physiology* 90: 93-97.
- Gloestani, S. and Assad, M. T. (1998) Evaluation of four screening techniques for drought resistance and their relationship to yield reduction in wheat. *Euphytica* 103: 293-299.
- Habash, D. (1995) Increased capacity for photosynthesis in wheat grown at elevated CO₂: the relation between electron transfer and carbon metabolism. *Planta* 197: 482-522.
- Hanson, A., Nelson, C. A., Pederson, A. and Everson, E. (1979) Capacity for praline accumulation during water stress in barley and implication for breeding for drought resistance. *Cab Abstract* 1979-1981.
- Johnson, R., Frey, N. M. and Dale, N. (2002) Effect of water stress on photosynthesis and transpiration of flag leaves and spikes of barley and wheat. *Crop Science* 5: 728-731.
- Legg, B. J., Day, W. D., Lawlor, W. and Parkinson, K. J. (2000) The effects of drought on barley growth: models and measurements showing the relative importance of leaf area

- and photosynthetic rate. *The Journal of Agricultural Science* 92: 703-716.
- Leinhose, V. and Bergman, H. (1995) Changes in the yield lignin content and protein pattern of barley induced by drought stress. *Angewandte-Botanik* 69: 206-210.
- Liu, X. Z. and Zhang, L. G. (1994) Differences in diurnal changes in canopy temperature of winter wheat under water stress condition. *Journal of Plant Physiology* 27: 626-631.
- Ma, B. L., Morison, M. J. and Videng, H. D. (1995) Leaf greenness and photosynthetic rates in soybean. *Crop Science* 35: 1411-1414.
- Moffatt, J., Sears, M. R. G. and Paulsen, G. (1990) Wheat height temperature tolerance during reproductive growth. I: Evaluation by chlorophyll fluorescence. *Crop Science*: 881-885.
- Mohammad, J., Naziri, M., Nazir, A., Shah, D. and Jamal, H. (1996) Wheat yield component as affected by low water stress at different growth stage. *Sarhad Journal Agriculture* 12: 19-26.
- Mureiel, J. (1984) Free proline and reducing sugars accumulation in water stress. *Ser-Agricola* 29:39-46.
- Paleg, L. and Spinal, D. (1981) The physiology and biochemistry of drought resistance in plant. *Academic Press* 89-101.
- Ramzi, B. and Morales, F. (1994) Chlorophyll fluorescence as a possible tool for salinity tolerance screening in barley. *Plant Physiology* 104: 667-673.
- Rhodes, D. and Hanson, A. D. (1993) Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. *Plant Physiology* 44: 357-384.
- Umedi, L. V. (1989) A rapid and nondestructive method to determine response to water deficit in the barley plant. *Crop Science* 35:655-650.
- Van Rensburg, L. Kruger, C. H. and Kruger, H. (1993) Proline accumulation as drought-tolerance selection criterion: its relationship to member integrity and chloroplast ultrastructure in *Nicotiana tabacum* L.. *Journal of Plant Physiology* 141:188-194.
- Yadava, U. (1989) A rapid and nondestructive method to determine chlorophyll in intact leaves. *Horticulture Science* 21: 1449-1450.
- Yordanov, I., Tsonev, T., Merakchiska-Nicolav, V. and Georgieva, K. (1997) Gas exchange and chlorophyll fluorescence during water and high temperature stresses and recovery probable protective effect of carbamide cytokinin 4-PU30. *Photosynthetica* 33: 423-431.
- Yordanov, I., Velikova, V. and Tsoner, T. (1999) Influence of drought, high temperature and carbamide cytokinin 4-PU-30 on photosynthetic activity of plants. I. changes in chlorophyll fluorescence quenching. *Photosynthetica* 37: 447-457.

Study the effects of water deficit on chlorophyll fluorescence indices and the amount of proline in six barley genotypes and its relation with canopy temperature and yield

Ebrahim Mamnoei ¹ and Raouf Seyed Sharifi ^{*2}

¹ Agricultural and Natural Resource Research Center of Jiroft and Kahnoj, Kahnoj

² Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil

Abstract

Controlling drought stress and its related problems had confronted mankind in thousands years. In order to investigate the effects of water deficit on chlorophyll fluorescence indices and the amount of proline in six barley genotypes, an experiment split plot based on randomized complete block design with three replications was conducted in Farm Seed and Plant Improvement Institute Karaj in 2002. In this study, the main plots were irrigated in five levels (0, 20, 50, 75 and 100 % of plant water requirement), and sub-plots were barley genotypes in six levels (Torkaman, Karon×kavir, Rihany, C-74-9, Ghorghan-4, Kavir×Badia). The results showed that water deficit caused chlorophyll fluorescence indices or photochemical efficiency of photosystem II declined significantly due to increasing of initial fluorescence (F_o) and decreasing of maximum fluorescence (F_m). With increasing stress, proline accumulated under water deficit increased although there were significant differences among genotypes under water deficit. Water deficit caused relative chlorophyll content decreased. However, between 100 and 75% plant irrigation no significant differences were seen. Water deficit caused grain yield decreased but canopy temperature increased significantly and genotypes with cooler canopy under control treatment were tolerant to drought and showed higher yield than other genotypes under drought condition. Means comparison of interaction of water limitation×barley genotypes showed that the highest grain yield was obtained in the plots which Karon×kavir and Kavir×Badia genotypes were applied without of water limitation and the least of it was obtained in the plots which Ghorghan-4 genotype under drought condition or with full water limitation was applied.

Key words: Proline, Chlorophyll fluorescence indicators, Water deficit

* Corresponding Author: raouf_ssharifi@yahoo.com

بررسی ویژگی‌های تکوینی دانه گرده و تخمک در گونه *Centaurea iberica* Trevir. ex Spreng

عبدالکریم چهرگانی راد*^۱، ناصر حسینی^۲، منا ناظمی^۳ و حسین لاری یزدی^۲
^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه بوعلی سینا، همدان
^۲ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد، بروجرد
^۳ گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه اراک، اراک

چکیده

مطالعات رویان‌شناختی جایگاه ویژه‌ای در علم گیاه‌شناسی و تاکسونومی گیاهی دارند. در این پژوهش مراحل و چگونگی تکوین تخمک و دانه گرده در گیاه *Centaurea iberica* بررسی شد. گل‌ها و غنچه‌ها در مراحل مختلف نمو برداشت شده، در FAA₇₀ تثبیت و در الکل ۷۰٪ نگهداری شد. نمونه‌ها پس از قالب‌گیری در پارافین با میکروتوم برش‌گیری گردید. رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین و ائوزین انجام گرفت. لام‌های تهیه شده از مراحل مختلف تکوینی با دقت با استفاده از میکروسکوپ نوری بررسی گردید. بر اساس نتایج حاصل از این بررسی، تخمک به شکل واژگون، دوپوسته‌ای و کم‌خورش بوده و تکوین کیسه رویانی از طرح تک اسپوری و تیپ پلی‌گونوم پیروی می‌کند. پس از تقسیم میوز تترادهای مگاسپور آرایش خطی دارند. کیسه رویانی ابتدا بسیار کوچک است؛ به طوری که هسته‌های آن آرایش خطی فشرده را به خود می‌گیرند، اما در جریان بلوغ، کیسه رشد طولی قابل توجهی پیدا می‌کند. بساک به صورت چهار کیسه‌ای است. در *C. iberica* لایه تاپی از نوع پلاسمودیومی با یاخته‌های دو هسته‌ای است. آرایش تترادهای میکروسپور در این گونه به صورت تترادرال، تراگونال و خطی و دانه‌های گرده از نوع سه شکافه و دو یاخته‌ای است.

واژه‌های کلیدی: دانه گرده، تخمک، کیسه رویانی، میکروسپور، *Centaurea iberica*

مقدمه

۲۳۰۰۰ گونه دارد. در این تیره تقسیم‌بندی سرده‌ها و تشخیص مرز بین آنها اغلب مشکل‌زا بوده و برخی از آنها باید پی در پی به زیر گروه‌های کوچک‌تر تقسیم شوند

تیره آفتابگردان (Asteraceae) بزرگترین تیره گیاهی است (Bremer, 1994). بر اساس گزارش‌های باغ گیاه‌شناسی سلطنتی کیو، این تیره بیش از ۱۶۰۰ سرده و

(Richards, 1997; 2001)، افزایش یاخسته‌های آنتی‌پود (Harling, 1951)، تکوین کیسه رویانی ۴ یاخسته‌ای (Davis, 1968) و وجود آپومیکسی (Chaudhury, et al., 2001).

در مقایسه با اطلاعات گردآوری شده درباره نمو دانه گرده، شناخت کمتری از نمو گامتوفیت ماده و ارتباط کیسه رویانی با تخمک قبل و بعد از لقاح، در دسترس است. مقداری اطلاعات درباره اولین مراحل نمو تخمک نیز صرفاً در گزارش‌های Roth (۱۹۵۷) و Schulz و Jensen (۱۹۸۱) یافت می‌شود. بر پایه شباهت‌های زیاد در ساختار کیسه رویانی (تکوین نوع نرمال یا تیپ علف هفت‌بند) که در بخش عمده‌ای از نهادانگان وجود دارد و عمومیت مطلق لقاح مضاعف در بین آنها، به نظر می‌رسد این ویژگی‌ها یکباره در تاریخ تکاملی نهادانگان، به وجود آمده‌اند (Romanov, 1944; Maheshwari, 1950). اطلاعات جدید تهیه شده توسط شاخه‌های مختلف علوم زیستی از قبیل ریخت‌شناسی، زیست‌شناسی تولید مثلی و زیست‌شناسی تکوینی، بایستی مطالعات رویان‌شناسی با دیدگاه تکاملی را تکمیل نمایند که در این زمینه پژوهش‌های متعددی به ویژه در ارتباط با جنبه‌های مختلف رویان‌زایی توصیفی و مقایسه‌ای صورت گرفته است (Johri et al., 1992).

تاکسون مورد بررسی در این پژوهش، گونه *Centaurea iberica* Trevir. ex Spreng. به تیره Asteraceae و طایفه *Cynareae* است. هدف از انجام این بررسی، تجزیه و تحلیل مراحل تکوینی گامتوفیت نر و ماده است. علاوه بر آن، در این پژوهش سعی شد تا کلیه صفات ارزشمند در مورد اندام‌های زایشی، با استناد به مطالعات مرجع شناختی، در تاکسون مورد مطالعه، بررسی

(Hind et al., 1995). یکی از مشکلات اساسی آرایه‌شناختی در این تیره ارتباطات بین سرده‌ها، طایفه‌ها و همچنین وجود گونه‌های چند شکل (پلی‌مورف) است (Torrell et al., 1999)، که مطالعات تکوینی و رویان‌شناختی می‌تواند به حل مشکلات آرایه‌شناختی در این تیره نیز کمک نماید.

سرده‌ها و گونه‌های فراوان این تیره، پراکنش جهانی، و این حقیقت که شامل تعداد زیادی گیاه مفید و دارویی است این تیره را موضوع مطالعات متعددی نموده است (Watanabe, 2002). بسیاری از گیاهان این تیره از جمله *Centaurea* از نظر دارویی و داشتن اسانس، ارزش ویژه‌ای دارند (Valles et al., 2005). مطالعات متعدد کاربولوژیک و فیتوشیمی در این آرایه صورت گرفته است (Valles et al., 2005). اما با وجود این، به نظر می‌رسد که مطالعات تکوینی و رویان‌شناختی محدودی در این تیره انجام شده است، بنابراین هنوز انجام مطالعات جدید تکوینی برای افزایش دانش و آگاهی درباره گیاهان این تیره ضروری است (Shamrov, 1998). همچنین پیش‌بینی می‌شود مطالعات تکوینی و رویان‌شناختی بتواند در کنار سایر مطالعات در حل مشکلات آرایه‌شناختی این گروه نیز همانند سایر تیره‌های گیاهی استفاده شود (Johri et al., 1992). بر اساس مطالعات رویان‌شناختی محدود که در این تیره انجام شده است، ویژگی‌های استثنایی و نادر متعددی در این گیاهان این تیره گزارش شده است. برخی از موارد استثنایی و نادر مشاهده شده در گیاهان این تیره عبارت است از: وجود پدیده Nemec یعنی تشکیل ساختارهایی شبیه به کیسه رویانی در دانه گرده (Davis, 1964; Batygina, 1987)، افزایش یاخسته‌های قرینه (سینرژیدها) در کیسه رویانی (Cichan and Palser, 1982; Pandey,

ظهور و تکوین پرچم‌ها زودتر از ظهور مادگی است؛ به طوری که در زمان تشکیل پریموردیوم تخمکی، میله‌ها و بساک‌ها با چهار کیسه گرده و لایه‌های تشکیل دهنده دیواره کیسه‌های گرده قابل تشخیص هستند (شکل ۱B). تعداد پرچم‌ها در گونه مورد بررسی پنج عدد است که به صورت جدا از هم و با آرایش چرخه‌ای بر روی یک دایره قرار گرفته‌اند و کیسه‌های بساک از پهلو به یکدیگر متصل می‌شوند و استوانه‌ای را در اطراف خامه تشکیل می‌دهند (شکل ۱F).

تکوین بساک

بساک به صورت تتراسپورانژ یا چهار کیسه گرده‌ای است (شکل ۱E). هر میکروسپورانژ در ابتدای نمو از یک گروه یاخته‌های زیر اپیدرمی به نام آرکسپور تشکیل یافته که با تقسیمات مماسی خود بافت هاگزا و لایه‌های جداری میکروسپورانژ را تولید می‌کنند (شکل ۱B). به دنبال تقسیمات مماسی یاخته‌های لایه جداری، ساختار چهار لایه‌ای دیواره میکروسپورانژ یا کیسه گرده به وجود می‌آید که این لایه‌ها از سمت خارج به داخل عبارتند از لایه مکانیکی که زیر اپیدرم واقع است، لایه میانی که بین لایه مغذی (تابی) و مکانیکی قرار دارد و لایه مغذی که بافت هاگزای بساک را احاطه می‌کند. هر یک از چهار لایه مذکور صرفاً از یک ردیف یاخته تشکیل شده‌اند (شکل ۱B).

به دنبال تقسیمات میتوزی در توده یاخته‌های هاگزایی که مرکز کیسه گرده را پُر می‌کنند میکروسپوروسیت‌ها یا یاخته‌های مادر گرده ایجاد می‌شوند و همان‌طور که در شکل ۱B مشخص است در حال ورود به تقسیم میوز هستند و با حجم زیاد، سیتوپلاسم متراکم و هسته‌های درشت و

شوند. از آنجا که اغلب پژوهش‌هایی که با دیدگاه سیستماتیک بر روی اندام‌های زایشی صورت گرفته، به دلیل سادگی نسبی کار و کثرت دانه‌های گرده، بر روی خصوصیات دانه گرده بوده است، به نظر می‌رسد که مطالعه اندام زایشی ماده، به ویژه مراحل تکوین کیسه رویانی ارائه‌دهنده ویژگی‌های ارزشمند و بسیار متنوعی است که می‌تواند از دیدگاه سیستماتیک مورد توجه واقع شود.

مواد و روش‌ها

گل‌ها و جوانه‌های گونه مورد مطالعه در اوایل تابستان از گل‌دشت بروجرد جمع‌آوری شد، و نمونه هرباریومی گونه مورد نظر در هرباریوم دانشگاه بروجرد (BUH) نگهداری می‌شود. گل‌ها و غنچه‌ها در مراحل مختلف تکوین جهت تثبیت در (Formalin Acetic acid Ethanol) 70% FAA قرار داده شد. سپس ذخیره‌سازی در الکل 70٪ صورت گرفت. پس از جاسازی، برش‌گیری نمونه‌ها در قالب‌های پارافین با میکروتوم در اندازه 10-5 μm صورت گرفت (Xue and Li, 2005). شفاف‌سازی نمونه‌ها مطابق روش Yeung (1984) و رنگ‌آمیزی مضاعف هسته و سیتوپلاسم به وسیله هماتوکسیلین و اتوزین صورت گرفت. نمونه‌های مورد مطالعه با میکروسکوپ نوری Olympus CX21FS1 (Japan) بررسی شد و عکس‌برداری به کمک دوربین دیجیتال مدل Canon Pc. 1049 انجام گرفت.

نتایج

تشکیل پرچم

پرچم‌ها ابتدا به صورت برجستگی‌های کوچک مریستمی بر روی نهنج و در زیر پوشش کاسبرگ‌ها ظاهر شده (شکل ۱A) و سپس به سرعت رشد و نمو می‌یابند.

رویشی و زایشی هستند. اطراف هر میکروسپور رها شده از پوشش کالوزی را دیواره آگزين اوليه در بر گرفته است. دیواره پکتوسلولزی دیگری نیز به نام انتین، در مجاورت سیتوپلاسم تشکیل می‌شود که در محل شیارها ضخیم‌تر است. باز شدن بساک تتراسپورانژ با ایجاد شکاف طولی صورت می‌گیرد و در این زمان لایه تاپی تحلیل رفته است. در این گونه، دانه‌های گرده بالغ آزاد شده از بساک، بیضی شکل بوده و همچنین سه شیار رویشی که محل‌های رویش لوله گرده هستند، بر روی سطح دیواره آنها مشاهده می‌شود (شکل ۱F).

تکوین تخمک

در نمونه مورد بررسی، تخمک‌ها از نوع واژگون، دو پوششی با خورش کم هستند (شکل ۲A). تخمک‌ها در ابتدا به صورت برجستگی کوچک در جدار تخمدان پدیدار می‌شوند. پرموردیوم تخمکی کمی انحنای برمی‌دارد و کم و بیش هلالی شکل می‌شود. بنیان‌گذاری پوسته‌های تخمک در طرفین جسم تخمک و در قاعده خورش ابتدا به صورت برجستگی‌های چند یاخته‌ای صورت می‌گیرد. هر چند زمان تشکیل پوسته درونی زودتر است (شکل ۲B)، ولی پوسته بیرونی نسبت به پوسته درونی از رشد سریع‌تری برخوردار است. انتهای آزاد پوسته‌ها در قطب سفیدی تخمک ایجاد مجرای باریک میکروپیلی یا سفیدی را می‌کند، که شکل میکروپیل به صورت خطی راست، با کمی انحنای داسی شکل است. وجود یا عدم لایه آندوتلیوم نیز اهمیت تاکسونومیک دارد. یاخته‌های این لایه دارای هسته کاملاً واضح و سیتوپلاسمی متراکم هستند که از پایداری زیادی برخوردار است، به طوری که در زمان تشکیل رویان نیز حضور دارند (شکل ۲F). به دنبال رشد

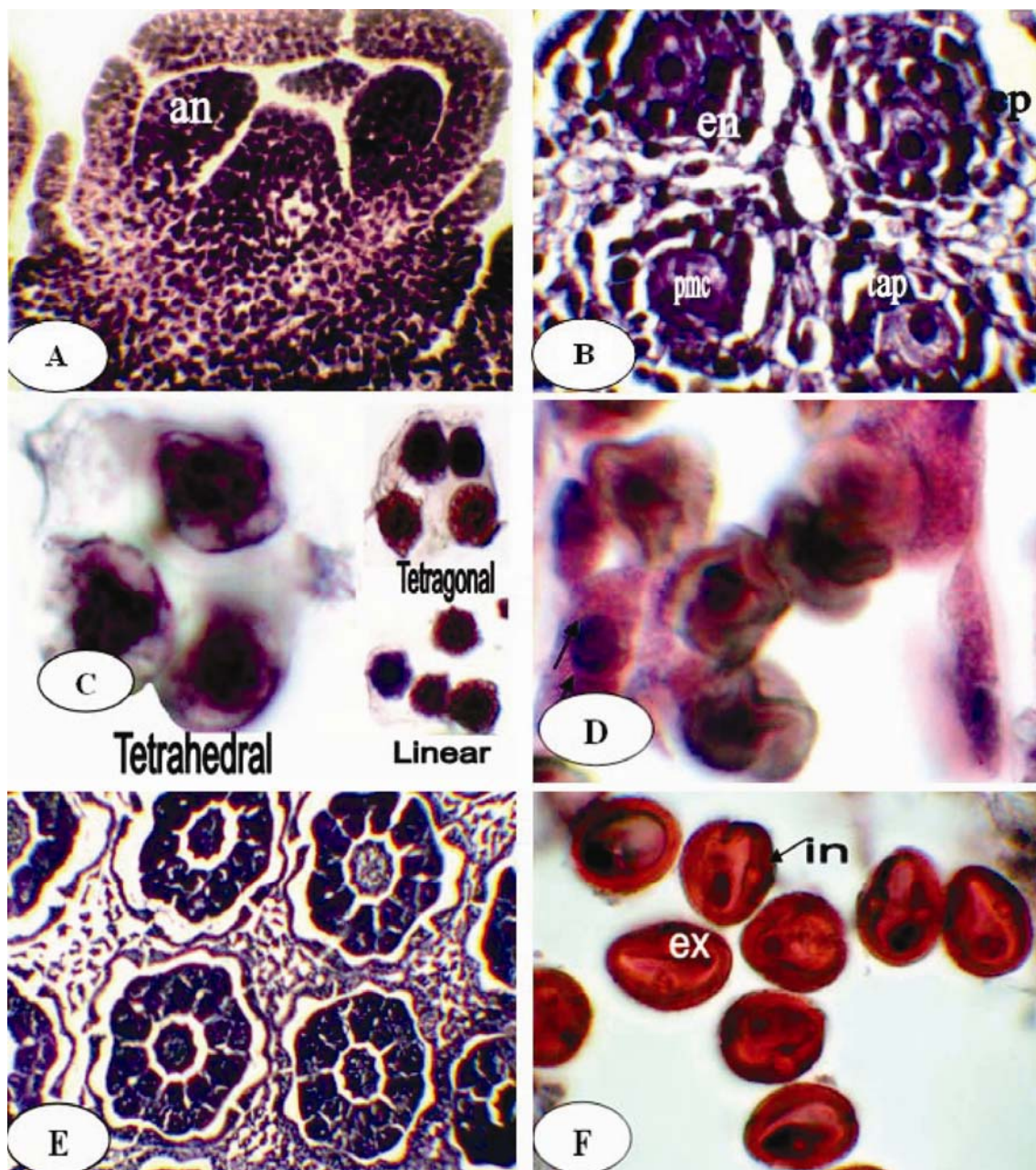
مشخص از یاخته‌های اطرافشان قابل تشخیص هستند. با شروع میوز، کالوز در اطراف میکروسپوروسیت‌ها شروع به تشکیل می‌کند. در طی فرآیند میکروسپورزایی، به دنبال تقسیم میوز I در میکروسپوروسیت‌ها بدون تشکیل صفحه یاخته‌ای، دو هسته دیادی در یک سیتوپلاسم مشترک قرار می‌گیرند. بعد از تقسیم میوز II چهار هسته هاپلوئید به وجود می‌آید و به طور همزمان بین چهار هسته حاصله سیتوکینز رخ می‌دهد (شکل ۱C). در *C. iberica* آرایش تتراسپورهای ایجاد شده در داخل پوشش کالوزی، از نوع تتراکونال، تتراهدراال و خطی است (شکل ۱C). تمایز و تخصص‌یافتگی بیشتر یاخته‌های لایه‌های دیواره میکروسپورانژ همزمان با میوز رخ می‌دهد. بنابراین، یاخته‌های لایه تاپی که نقش اصلی آنها رساندن مواد مغذی به میکروسپورهای در حال نمو است، به طور معمول در مرحله تتراد به حداکثر اندازه می‌رسند. در بساک *C. iberica* لایه تاپی از نوع پلاسمودیومی است. یاخته‌های تاپی در گونه مذکور دو هسته‌ای هستند و هسته‌ها بزرگ و کاملاً مشخص‌اند (شکل ۱D). همچنین یاخته‌های تاپی به علت نقش مغذی، بیشترین رنگ‌پذیری را نسبت به سایر یاخته‌های دیواره بساک دارند (شکل ۱B). با اتمام میوز، دیواره کالوزی اطراف این یاخته‌ها به صورت همزمان شروع به تجزیه سریع می‌کند و سرانجام میکروسپورهای جوان در یک تتراد از یکدیگر جدا می‌شوند. رشد محسوس میکروسپورها بلافاصله پس از رهایی آنها از پوشش کالوزی به خوبی قابل مشاهده است که همراه با آبگیری و واکوئله شدن سیتوپلاسم است. نمو میکروسپور با انجام یک تقسیم میتوز کامل می‌شود؛ بدین ترتیب که تقسیم میتوز نامساوی موجب تشکیل دو یاخته متفاوت از نظر عملکردی و ریخت‌شناختی می‌شود که یاخته‌های

گونه، دو قطبی، هفت یاخته‌ای و هشت هسته‌ای و از نوع پلی‌گونوم است. همچنین دو هسته یاخته مرکزی به تدریج به هم نزدیک‌تر شده و همزمان به سمت دستگاه تخم مهاجرت می‌کنند (شکل ۲E)، تا این که در نزدیکی دستگاه تخم و مصادف با تمایز دستگاه تخم، یعنی زمانی که دستگاه تخم گلابی شکل می‌شود و دیواره مشخصی پیدا می‌کند، با هم تلفیق می‌شوند و هسته ثانویه را ایجاد می‌کنند (شکل ۲E). آنتی‌پودها یا یاخته‌های قطب شالازی نیز به طور سریع و قبل از عمل لقاح در کیسه رویانی از بین می‌روند. بدین ترتیب، کیسه رویانی بالغ که در آن تمایز یافتگی اجزا نشان‌دهنده خصوصیات ویژه تاکسون است، کامل شده، و در این حالت کیسه رویانی آماده لقاح است (شکل ۲E). به دنبال لقاح یاخته تخم‌زا با یکی از اسپرم‌های لوله‌گرده و تشکیل یاخته تخم، رویان کروی شکل ایجاد می‌شود (شکل ۲F) و شروع به تکوین می‌نماید. در گونه *C. iberica* از ترکیب هسته ثانویه با دومین اسپرم و تقسیمات پی‌در پی یاخته حاصله، بافت ذخیره‌ای آلبومن (آندوسپرم) سنسیتیوم به وجود می‌آید. هسته‌های حاصل از تقسیم تخم ضمیمه، به علت فقدان دیواره جداکننده، توده‌ای سیتوپلاسمی با هسته‌های بی‌شمار به نام آلبومن هسته‌ای (سنسیتیوم) را تشکیل می‌دهند. رویان کروی در رأس یک سوسپانسونور بلند قرار دارد (شکل ۲F).

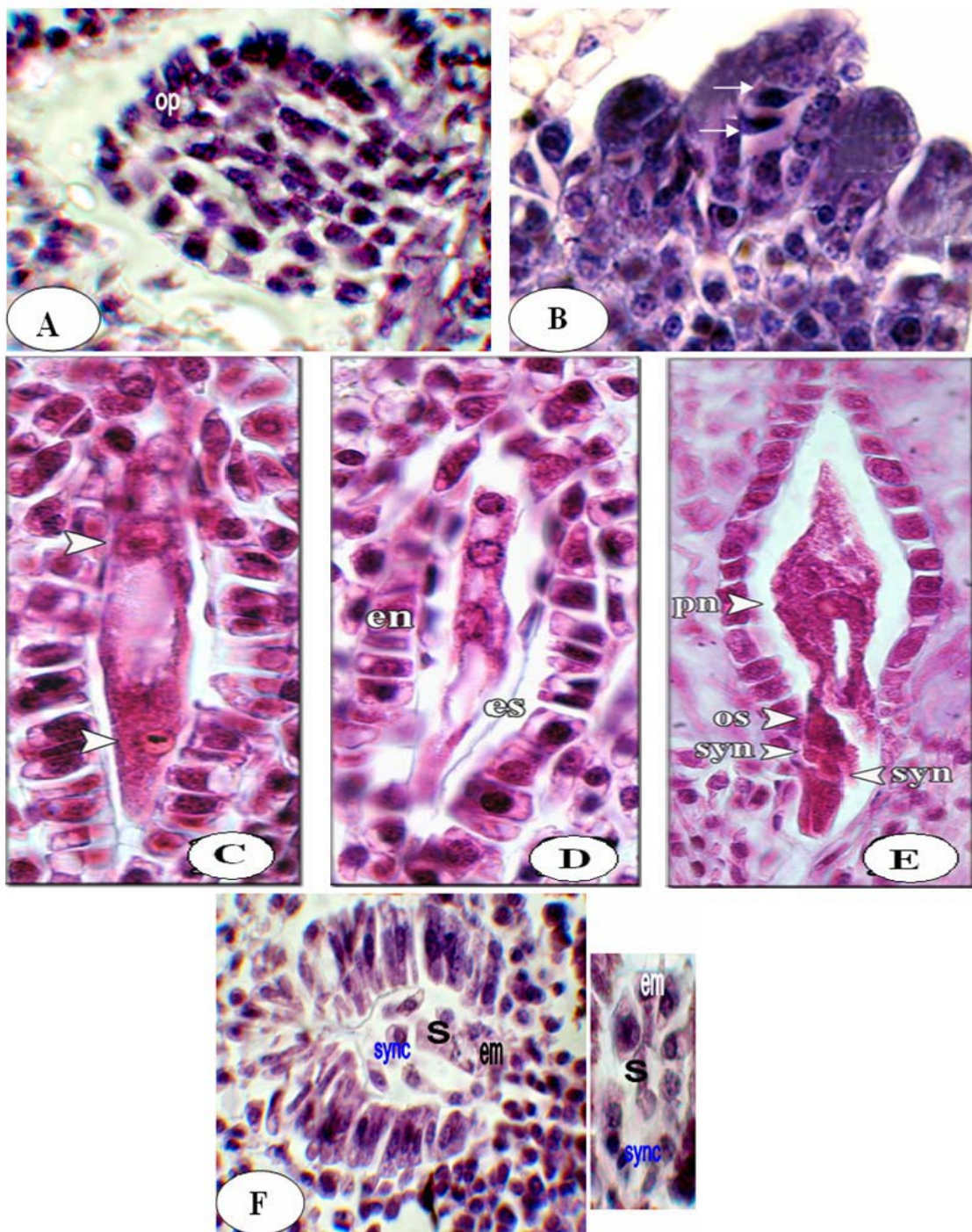
سریع یکی از یاخته‌های خورش، یاخته‌ای به نام آرکسپور یا یاخته مادر مگاسپور تمایز می‌یابد. سپس یاخته مادر مگاسپور به دنبال افزایش حجم، متحمل تقسیم میوز می‌شود. اولین تقسیم میوزی مگاکامتوسیت موجب تشکیل دو یاخته دیاد می‌گردد (شکل ۲B)، و دومین تقسیم میوزی آن موجب تشکیل چهار یاخته تتراد می‌شود. آرایش تترادها در این گونه از نوع خطی است که در این مرحله از نمو، پوسته‌های تخمک بیشتر از سه چهارم از جسم تخمک را بر گرفته‌اند. سپس سه یاخته تحلیل رفته و تنها یاخته باقی‌مانده که مگاسپور فعال یا عملکردی نامیده می‌شود، به کیسه رویانی تحول می‌یابد.

نمو کیسه رویانی

هسته یاخته بنیادی کیسه رویانی در این گونه سه تقسیم میتوزی متوالی را انجام می‌دهد. نخستین تقسیم میتوزی موجب تشکیل کیسه رویانی دو هسته‌ای می‌شود (شکل ۲C). به دنبال انجام دومین تقسیم میتوزی در هر کیسه رویانی، چهار هسته تشکیل می‌شود (شکل ۲D). حاصل تقسیم سوم، کیسه رویانی هشت هسته‌ای است که شامل یک یاخته میانی تخم‌زا و دو یاخته قرینه (سینرژید) است و در قسمت بُنی، سه یاخته آنتی‌پود به وجود می‌آید. یک یاخته مرکزی هم شامل دو هسته قطبی جدا شده از قطب‌های بُنی و سفتی است که بیشترین حجم کیسه رویانی توسط آن اشغال می‌گردد. بنابراین، کیسه رویانی در این



شکل ۱- مراحل تکوین بساک و دانه گرده در *Centaurea iberica*: (A) پرچم‌ها (an) به صورت برآمدگی‌های کوچکی بر روی نهنج پدیدار شده‌اند؛ (B) میکروسپوروسیت‌ها (pmc) با سیتوپلاسم متراکم، اندازه بزرگ و هسته‌های مشخص از یاخته‌های بافت احاطه‌کننده متمایز شده‌اند و در اطراف آنها کالوز شروع به تشکیل می‌کند. سه لایه دیواره بساک قابل تشخیص است: اپیدرم (ep)، لایه مکانیکی (en)، لایه تاپی (tap)؛ (C) آرایش میکروسپورها در داخل پوشش کالوزی از نوع تتراهدرال، تتراگونال و خطی است؛ (D) لایه تاپی پلاسمودیومی و دو هسته‌ای (↑↑)؛ (E) برش عرضی از پرچم‌ها و بخشی از گل‌آذین کپه نشان‌دهنده گلچه‌ها، که در آن پرچم‌های متصل بساک نیز قابل مشاهده هستند؛ (F) شکل نمای قطبی دانه گرده بالغ بیضی شکل دو یاخته‌ای و سه لوبه با سه فرو رفتگی مربوط به سه شیار مشاهده می‌شود، اگرین (ex) که در محل شیارها وجود ندارد و انتین (in) که در محل شیارها ضخیم‌تر بوده و به صورت کمی بیرون‌زده قابل تشخیص است.



شکل ۲- مراحل تشکیل تخمک و کیسه رویانی در *Centaurea iberica*: (A) پریموردیوم تخمکی (op)، یک تخمک تمایز نیافته جوان، به صورت برجستگی کوچک تقریباً کروی و در جدار تخمدان پدیدار می‌شود؛ (B) تشکیل دو یاخته دیاد (↑↑)؛ (C) تشکیل کیسه رویانی دو هسته‌ای (↑↑)؛ (D) ایجاد کیسه رویانی (es) با چهار هسته، لایه آندوتلیوم (en) با رنگ‌پذیری بیشتر نسبت به یاخته‌های اطراف قابل تشخیص است؛ (E) کیسه رویانی بالغ (es) که آماده لقاح است: یاخته تخم‌زا (os)، سینرژیدها (syn)، هسته قطبی (pn)؛ (F) هسته‌های حاصل از تقسیم تخم ضمیمه، تشکیل توده‌ای سیتوپلاسمی با هسته‌های بی‌شمار به نام بافت نموی (syncytium) را می‌دهند. رویان کروی شکل (em) در رأس یک سوسپانسور بلند (s) قرار دارد.

بحث

تکونین بساک و دانه گرده

در گونه مورد مطالعه، نمو سه لایه‌ای دیواره بساک بر اساس تیپ دو لپه‌ای انجام می‌گیرد که با نظریه Davis (۱۹۶۶) و Pullaiah (۱۹۷۹) در مورد گیاهان تیره Asteraceae همسویی دارد. یاخته‌های لایه تاپی درجه بالایی از پلوئیدی را نشان می‌دهند که نمایانگر فعالیت متابولیسمی بالای آنهاست و از این نظر شبیه به یاخته‌های آنتی‌پود کیسه رویانی هستند (Maheshwari, 1950). در نهان‌دانگان دو تیپ اصلی نمو لایه تاپی بساک قابل تشخیص است (Pacini et al., 1985): ترشچی (جداری) و آمیبی (Periplasmodial). در گیاه مورد مطالعه، لایه تاپی از نوع پلاسمودیومی است که در آن تکثیر هسته‌ها صورت گرفته و تعداد هسته‌ها در هر یاخته به دو یا سه افزایش می‌یابد. لایه تاپی آمیبی برای گونه‌های متعددی از تیره Asteraceae گزارش شده است (Pacini et al., 1985). گزارش ما در مورد لایه تاپی گونه *C. iberica* با نظر Gotelli و همکاران (۲۰۰۸) در مورد *Helianthus annuus* مطابقت می‌کند. آرایش میکروسپورهای داخل دیواره کالوزی در *C. iberica* از نوع تتراهدرا و تترائگونال مشاهده شد، در صورتی که در مورد برخی گونه‌های دیگر تیره Asteraceae مانند *Helianthus annuus* (Gotelli et al., 2008) و *Eupatorium laevigatum* (Coleman, 2005) آرایش میکروسپورها تنها از نوع تتراهدرا گزارش شده است. میکروسپورها در زمان آزاد شدن از تترادها هیچ واکوئلی نداشته و دارای یک سیتوپلاسم متراکم، شکل منظم با یک هسته حجیم قرار گرفته در بخش میانی هستند. هسته‌ها با روش میتوز تقسیم شده و دو هسته نابرابر را به وجود می‌آورند که هسته

بزرگتر رویشی و هسته کوچکتر زایشی است. بنابراین، دانه گرده در گونه مورد مطالعه به صورت دو یاخته‌ای و سه شیاره دیده شد که بر خلاف گزارش‌های Pullaiah (۱۹۷۹) و Johri و همکاران (۱۹۹۲) است که بیان داشته‌اند دانه گرده در گیاهان تیره Asteraceae به صورت سه یاخته‌ای است. دانه گرده سه شیاره از خصوصیات دولپه‌ای‌های پیشرفته است (باتی گینا، ۱۳۸۷).

تکونین تخمک و کیسه رویانی

نتایج این مطالعه نشان داد که در هر تخمدان فقط یک تخمک واژگون کم خورش وجود دارد. در لایه زیر اپیدرمی تخمک فقط یک یاخته آرکنوسپوری وجود دارد که با پیشرفت رشد و تکونین تخمک، مستقیماً به یاخته مادر مگاسپور تمایز می‌یابد. موقعیت زیر اپیدرمی یاخته مگاسپوریت در سایر گیاهان این تیره نیز گزارش شده است (Johri et al., 1992).

مطالعه مگاسپوروژنز گونه مورد مطالعه، نشان می‌دهد که شکل تتراد به صورت خطی است. وجود تترادهای خطی در گیاهان این تیره به وسیله پژوهشگران متعددی گزارش شده است (Kapil and Bhatnagar, 1981; Rangaswamy and Pullaiah, 1986; Huang and Russell, 1992). سه مگاسپور دیگر که به صورت غیر عملکردی هستند توسط کالوز احاطه شده و نهایتاً تخریب می‌شوند، که بر اساس نظریه Webb و Gunning (۱۹۹۰) وظیفه اصلی کالوز در طی مگاسپوروژنز، متوقف کردن عملکرد مگاسپور غیر عملکردی است. زمان ترکیب هسته‌های قطبی با توجه به الگوی نموی کیسه رویانی می‌تواند متفاوت باشد (Haig, 1990; Huang and Russell, 1992)، که در گونه *C. iberica* این ترکیب قبل از لقاح است. وجود سه یاخته آنتی‌پودال از جمله ویژگی‌های تیپ

تشکیل می‌شود، به گونه‌ای که هسته‌های حاصل از تقسیم تخم ضمیمه به علت فقدان دیواره جدا کننده، توده‌ای سیتوپلاسمی با هسته‌های بی‌شمار به نام بافت نموی را تشکیل می‌دهد. در این مرحله جنین کروی در رأس یک سوسپانسونور بلند قابل مشاهده است.

در تخمک این گونه، بر اثر تغییر شکل یاخته‌های داخلی خورش که بعداً در تماس با کیسه رویانی قرار می‌گیرند، یک لایه از یاخته‌های ترشچی به نام آندوتلیوم تشکیل می‌شود (Areal, 1963). در گونه بررسی شده، آندوتلیوم از پایداری زیادی برخوردار است و یاخته‌های آن طرح‌های منظم و یکنواختی را نشان می‌دهند.

پلی‌گونوم است (Maheshwari, 1950; Newcomb, 1972)، که در گونه مورد مطالعه نیز سه یاخته آنتی‌پودال مشاهده می‌شود. الگوی تیپ علف هفت‌بند یا پلی‌گونوم متداول‌ترین الگوی نموی کیسه رویانی است که در ۷۰ درصد از گیاهان گل‌دار وجود دارد (Maheshwari, 1950; Haig, 1990; Huang and Russell, 1992).

سینرژیدها یاخته‌های ناپایداری هستند که قبل از لقاح تخریب می‌شوند (Maheshwari, 1950). در این گونه، تخریب سینرژیدها قبل از لقاح است که مطابق با نظریه Newcomb (۱۹۷۲) و Yan و همکاران (۱۹۹۰) است. در گونه *C. iberica* در ابتدای رویان‌زایی آندوسپرم هسته‌ای

منابع

باتی گینا، تی. بی. (۱۳۸۷) رویان‌شناسی گیاهان گل‌دار. ترجمه رضائزاد، ف. و چهرگانی‌راد، ع. انتشارات دانشگاه شهید باهنر، کرمان.

- Areal, G. D. (1963) Embryological studies in Canadian representatives of the tribe Rhinanthae and Scrophulariaceae. *Canadian Journal of Botany* 41:267-305.
- Batygina, T. B. (1987) Embryology of flowering plants: terminology and concepts. Science Publishers, New York.
- Bremer, K. (1994) Asteraceae, Cladistics and Classification. Timber Press, Portland, Oregon.
- Chaudhury, A. M., Koltunow, A., Payn, T., Luo, M., Tucker, M. R., Dennis, E. S. and Peacock, W. J. (2001) Control of early seed development. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 17: 677-699.
- Cichan, M. A. and Palser, B. F. (1982) Development of normal and seedless achenes in *Cichorium intybus* (Compositae). *American Journal of Botany* 69: 885-895.
- Coleman, J. R. (2005) Embryology and cytogenetic of *Eupatorium laevigatum* (Asteraceae). *Genetics and Biology* 28: 123-128.
- Davis, G. L. (1964) Embryological studies in the Compositae. IV. Sporogenesis, gametogenesis, and embryogeny in *Brachycome ciliaris* (Labill.) Less. *Australian Journal of Botany* 12: 142-151.
- Davis, G. L. (1966) Systematic embryology of the Angiosperms. John Wiley and Sons, New York.
- Davis, G. L. (1968) Apomixis and abnormal anther development in *Calotis lappulacea* Benth (Compositae). *Australian Journal of Botany* 16: 1-17.
- Gotelli, M. M., Galati, B. G. and Medan, D. (2008) Embryology of *Helianthus annuus* (Asteraceae). *Annales Botanici Fennici* 45:81-96.
- Haig, D. (1990) New perspective on the angiosperm female gametophyte. *Botanical Review* 56: 236-274.
- Harling, G. (1951) Embryological studies in the Compositae: Anthemideae -Chrysantheminae.

- Acta Horticulture Bergiani 16: 1-56.
- Hind, D. J. N. (1995) Compositae (ed. Stannard, B. L.) 187-278. Royal Botanical Gardens, Kew.
- Huang, B. Q. and Russell, S. D. (1992) Female germ Unit: Organization, isolation and function. International Review of Cytology 140: 233-292.
- Johri, B. M., Ambegaokear, K. and Srivastava, P. S. (1992) Comparative embryology of Angiosperms. Springer-Verlag. Berlin. Germany.
- Kapil, R. N. and Bhatnagar, A. K. (1981) Ultrastructure and biology of female gametophyte in flowering plants. Cytology 70: 291-337.
- Maheshwari, J. K. (1950) An introduction to the embryology of angiosperms. McGraw-Hill, New York.
- Newcomb, W. (1972) The development of the embryo sac of sunflower (*Helianthus annuus*) after fertilization. Canadian Journal of Botany 51: 879-898
- Pacini, E., Franchi, G. G. and Hesse, M. (1985) The tapetum: its form, function and possible phylogeny in Embryophyta. Plant Systematics and Evolution 149:155-185.
- Pandey, B. P. (2001) A textbook of botany, Angiosperms. Taxonomy, Anatomy, embryology (including tissue culture) and economic botany. McGraw Hill, New York.
- Pullaiah, T. (1979) Embryology of *Adenostemma*, *Elephantopus* and *Vernonia* (Compositae). Botanica Notiser 32: 51-56.
- Rangaswamy, V. and Pullaiah, T. (1986) Studies in the embryology of *Senecio candicans* DC. (Compositae). Journal of Indian Botanical Society 65: 509-512.
- Richards, A. J. (1997) Plant breeding systems. Chapman and Hall, New York.
- Romanov, I. D. (1944) The evolution of angiosperm embryo sacs. Ph.D. Thesis, Tashkent, Uzbekistan.
- Roth, I. (1957) Die Histogenese der Integumente von *Capsella bursa-pastoris* Und, ihre morphologische Bedeutung. Flora 145: 212-235.
- Schulz, P. and Jensen, W. A. (1981) Pre-fertilization ovule development in *Capsella*: ultrastructure and ultracytochemical localization of acid phosphatase in the meiocytes. Protoplasma 107: 27-45.
- Shamrov, I. (1998) Ovule classification in flowering plants- new approach and concepts. Botanische Jahrbucher fur Systematik 120: 377-400.
- Torrell, M., Garcia-Jacas, N., Susanna, A. and Valles, J. (1999) Phylogeny of *Artemisia* (*Asteraceae-Anthemideae*) inferred from nuclear ribosomal DNA (ITS) sequences. Taxon 48: 721-36.
- Valles, J., Garnatje, T., Garcia, S., Sanz, M. and Korbkov, A. (2005) Chromosome numbers in the tribes Anthemideae and Inuleae (*Asteraceae*) from Kazakstan. Botanical Journal of the Linnean Society 148: 77-85.
- Watanabe, W. (2002) Index to chromosome numbers in *Asteraceae*. Retrieved from <http://www.asteraceae.cla.kobeu.ac.jp/index.html>. On: 15 August 2008.
- Webb, M. C. and Gunning, B. E. S. (1990) Embryo sac development in *Arabidopsis thaliana*: Megasporogenesis, including the microtubular cytoskeleton. Sexual Plant Reproduction 3: 244-256.
- Xue, C. Y., Li, D. Z. (2005) Embryology of *Megacodon stylophorus* and *Veratilla baillonii* (*Gentianaceae*): description and systematic implication. Botanical Journal of the Linnean Society 147: 317-331.
- Yan, H., Yang, H. Y. and Jensen, W. (1990) Ultrastructure of the developing embryo sac of sunflower (*Helianthus annuus*) before and after fertilization. Canadian Journal of Botany 69:191-202.
- Yeung, E. C. (1984). Histological and histochemical staining procedures. In: Cell culture and somatic cell genetics of plants (ed. Vasil, I. K.) 689-697, Academic Press, Orlando, Florida.

Study on pollen grain and ovule developmental properties in *Centaurea iberica* Trevir. ex Spreng

Abdolkarim Chehregani rad*^{1,2}, Naser Hosseini³, Mona Nazemi² and Hossein Lari Yazdi²

¹ Department of Biology, Faculty of Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan

³ Department of Biology, Islamic Azad University, Broujerd Branch, Broujerd

² Department of Medicinal Plant, Faculty of Agriculture, University of Arak, Arak

Abstract

In botanical and taxonomical science embryological studies are specially important. In this research, developmental stages of pollen grains and ovules were studied in *Centaurea iberica*. The flower and buds in different developmental stages were removed, fixed in FAA, stored in 70% ethanol, embedded in paraffin and sliced with a microtome. Staining was done with Hematoxilin and Eosin. The prepared slides from different developmental stages were studied carefully using a light microscope. On the basis of this research results, ovule was anatropous, bitegumic and tenuinucellate. The development of the embryo sac followed the mono-sporic, polygonum type. After the meiosis, megaspore tetrads had linear arrangement. First, embryo sac was very small, so that its nuclei were compressed linearly but in maturation progress, embryo sac sustained longitude growth considerably. The anther was tetra-sporangiate. In *C. iberica*, the tapetum was plasmodial with bi-nucleate cells. In species microspore tetrads were observed with tetrahedral, tetragonal and linear arrangement. Pollen grains were two-celled and tricolpate.

Key words: Pollen grain, Ovule, Embryo sac, Microspore, *Centaurea iberica*,

بررسی کمی و کیفی ترکیبات فنلی در پوست سیب، رقم گالا

لمیا وجودی مهربانی^۱، محمدرضا دادپور^{۱*}، عباس دل آذر^۲، علی موافقی^۳ و جعفر حاجی لو^۱

^۱ گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز

^۲ گروه فارماکوگنوزی و مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز

^۳ گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه تبریز، تبریز

چکیده

بررسی کمی و کیفی ترکیبات فنلی (اسیدهای فنلی، فلاونولها و آنتوسیانین) میوه سیب رقم گالا (Gala) به وسیله کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) از نوع تجزیه‌ای، میکروسکوپ فلورسنس و میکروسکوپ نوربازتابشی در سه مرحله اصلی نمو سیب [۱- مرحله فندق؛ ۲- مرحله میانی نمو میوه (۸۰ روز بعد از تمام گل)؛ ۳- مرحله برداشت تجارتي میوه] انجام شد. نتایج حاصل نشان‌دهنده وجود تفاوت‌های کمی و کیفی در تجمع و میزان فنل‌های اندازه‌گیری شده در طی فصل رشد در پوست سیب رقم گالا بود. میزان آنتوسیانین در طی فصل به تدریج در پوست میوه افزایش یافت و نتایج حاصل از مطالعات HPLC و میکروسکوپی نشان دادند که بیشترین مقدار و تجمع آنتوسیانین در مرحله برداشت تجارتي میوه مشاهده شد. مطالعه HPLC و میکروسکوپی انجام شده نشان داد که بیشترین میزان اسیدهای فنلی در مرحله فندق میوه وجود دارد. با این حال، کاهش شدید در میزان اسیدهای فنلی در مرحله میانی نمو میوه قابل توجه است و در مرحله برداشت تجارتي میوه افزایش در میزان اسیدهای فنلی نسبت به مرحله میانی نمو میوه مشاهده شد. مقایسه داده‌های HPLC و تصاویر میکروسکوپی نشان داد که در مرحله برداشت تجارتي میوه کاهش، شدید در میزان فلاونولها وجود دارد. انطباق تصاویر میکروسکوپی با داده‌های HPLC توانایی میکروسکوپ فلورسنس در مطالعه ترکیبات فنلی موجود در پوست میوه سیب را نشان می‌دهد. مطالعه ترکیبات ذکر شده توسط میکروسکوپ فلورسنس در تطبیق با مطالعات کروماتوگرافی، روشی سریع در شناسایی گروه‌های مختلف ترکیبات فنلی است که می‌تواند به اتخاذ تدابیر صحیح مدیریتی باغ‌ها در ارتباط با افزایش ویژگی‌های کیفی میوه سیب کمک نماید.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، ترکیبات فنلی، سیب، کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا، میکروسکوپ فلورسنس

مقدمه

بیوسنتز آنها در پوست میوه سیب و سایر بافت‌های گیاهی، از طریق دو مسیر شیکمیک اسید و استات- مولونات تحت تأثیر مرحله نمو گیاه و فاکتورهای بیرونی انجام می‌گیرد

میوه سیب منبع غنی از ترکیبات فنلی است. ترکیبات فنلی از مهمترین متابولیت‌های ثانویه در گیاهان هستند که

این بررسی، بیشترین تجمع ترکیبات فنلی (روتین، فلاونول گلیکوزید، فلاونول) در پوست میوه وجود داشت. با توجه به اینکه شناسایی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در طی فصل رشد به کمک روش‌های کروماتوگرافی مشکل است، لذا در تحقیق حاضر سعی شده است با استفاده از فنون میکروسکوپی (فلورسنس و نوربازتابشی) و کروماتوگرافی (HPLC) روند تغییرات ترکیبات فنلی در پوست میوه سیب مورد بررسی قرار گیرد. انتظار می‌رود که با آگاهی از روند تغییرات ترکیبات فوق‌بتوان ویژگی‌های کیفی میوه را در مقیاس عملی با اعمال روش‌های مدیریتی صحیح به‌زراعی و مدیریت باغ افزایش داد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: میوه سیب، رقم گالا از درختان پیوندی روی پایه مالینگ مرتون ۱۰۶ موجود در شهرستان بستان‌آباد واقع در آذربایجان شرقی تهیه شد. نمونه‌گیری برای مطالعات مورد نظر از سه مرحله اصلی رشد میوه، شامل: ۱- مرحله فندقی؛ ۲- مرحله میانی نمو میوه (۸۰ روز بعد از تمام‌گل) و ۳- مرحله برداشت تجاری میوه انجام شد. نمونه‌گیری به صورت تصادفی از چهار جهت درخت انجام شد. نمونه‌ها بعد از جمع‌آوری بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند و گرد و غبار موجود در سطح میوه به کمک آب مقطر شسته و سپس پوست میوه‌ها با حوله تمیز خشک شد. پوست میوه‌ها با چاقوی تیز به صورت خیلی نازک جدا و خشک شد. نمونه‌های خشک شده بعد از آسیاب کردن برای مطالعه فیتوشیمیایی استفاده شدند.

(Santiago *et al.*, 2000; Takos *et al.*, 2006). ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی اغلب در پوست میوه سیب تجمع یافته، و عمده‌ترین آنها اسیدهای فنلی، فلاونول‌ها، کوئرستین گلیکوزید، دی‌هیدروچالکون‌ها، فلاونول و آنتوسیانین هستند (Awad *et al.*, 2001b; Takos *et al.*, 2006) ترکیبات فنلی در گیاهان دارای فعالیت‌های متعددی، از قبیل تنظیم فعالیت‌های نموی و واکنش‌های دفاعی گیاهان در مقابل عوامل زنده و غیر زنده هستند (Khanizadeh *et al.*, 2007; Santiago *et al.*, 2000; Pothavorn, 2008) روش‌های متعددی برای مطالعه ترکیبات فنلی در گیاهان وجود دارد که عمده‌ترین آنها آنالیز کمی و کیفی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی با استفاده از روش‌های جداسازی و تعیین ساختار، از قبیل کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا، طیف‌سنجی جرمی، طیف‌سنج رزونانس مغناطیس هسته‌ای (NMR) و کروماتوگرافی لایه‌نازک هستند. بعلاوه، برای آشکارسازی و مکان‌یابی معمولاً از روش‌های متعارف میکروسکوپی (میکروسکوپ نوری، الکترونی، فلورسنس و کونفو کال) استفاده می‌شود (Bae *et al.*, 2006; Rudall and Gaddick, 1994) Rudall و Gaddick (۱۹۹۴) بیان نمودند که ساده‌ترین و مؤثرترین تکنیک مطالعه حضور اسیدهای فنلی (مشتقات فرولیک اسید) در دیواره‌های سلولی گیاهان تک‌لپه، استفاده از میکروسکوپ فلورسنس ماوراءبنفش است. مطالعات HPLC انجام شده روی ترکیبات فنلی گوشت و پوست ارقام مختلف سیب توسط Khanizadeh و همکاران (۲۰۰۷) نشان‌دهنده وجود تفاوت‌هایی در میزان تجمع ترکیبات پلی‌فنلی در بخش‌های مختلف میوه بود. بر اساس

استخراج ترکیبات پلی فنلی و فلاونوئیدی: به منظور

استخراج ترکیبات فلاونوئیدی (آنتوسیانین و فلاونول) و اسیدهای فنلی روی یک گرم از پوست میوه خشک شده، ده میلی لیتر حلال هگزان افزوده شده و به مدت بیست دقیقه در حمام فراصوت (Ultra Sonic Bath, Power Sonic, در دمای آزمایشگاه عصاره گیری شد. سپس 505, Korea) عصاره هگزانی به وسیله تبخیر در خلأ (Heidolph, Germany) خشک شد. روی عصاره خشک شده مرحله قبلی ۱۰۰ میلی لیتر مخلوط متانول: آب (۱:۱) افزوده شد و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در حمام فراصوت قرار گرفت. عصاره‌های حاصل صاف شده، سپس به مدت ده دقیقه در دور ۱۳۰۰۰ در دقیقه سانتریفوژ (Beckman, J-25 USA) شدند. ۲۰ میکرولیتر از عصاره حاصل برای شناسایی ترکیبات فنلی به وسیله HPLC تجزیه‌ای استفاده قرار گردید.

کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC):

استخراج و شناسایی ترکیبات فلاونوئیدی و اسیدهای فنلی با استفاده از روش تغییر یافته Lata و همکاران (۲۰۰۹) و Khanizadeh و همکاران (۲۰۰۷) انجام شد. روش مورد استفاده امکان شناسایی ترکیبات ذکر شده را در زمان کوتاه (۳۰ دقیقه) فراهم می‌آورد. جداسازی به وسیله سیستم HPLC تجزیه‌ای (Cecil, English) مجهز به پمپ دوگانه (Cecil, 4100)، حذف کننده حباب‌های هوا (Cecil) و آشکارکننده ماوراءبنفش (Cecil, 4201) UV/Vis انجام شد. جداسازی ترکیبات فنلی با استفاده از ستون فاز معکوس (C18) (به طول ۲۵۰ میلی متر و با قطر داخلی ۴/۵ میلی متر با اندازه ذرات ۵ میکرومتر) که به

وسيله ستون محافظ (C18) (به طول ۵ میلی متر با قطر داخلی ۴ میلی متر با اندازه ذرات ۵ میکرومتر) محافظت می‌شد، انجام شد. شناسایی ترکیبات فلاونوئیدی و اسیدهای فنلی در طول موج ۲۸۰ نانومتر انجام شد. برای شناسایی فلاونول‌ها، آنتوسیانین و اسیدهای فنلی از فاز متحرک حاوی ۲٪ استیک اسید در آب (پمپ A) و متانول (پمپ B) استفاده شد. شیب خطی غلظت به کاربرده شده برای حلال متانول حاوی استیک اسید از ۱۰٪ B شروع شد و سپس در طی ۲۰ دقیقه به ۱۰۰٪ رسید. در فاصله زمانی ۲۰ تا ۲۵ دقیقه در این حالت باقی ماند. سپس در طی ۲ دقیقه دوباره به حالت اول خود؛ یعنی ۱۰٪ B رسید، و تا زمان ۳۰ دقیقه در این حالت باقی ماند.

شناسایی و کمی‌یابی ترکیبات پلی فنلی و

فلاونوئیدی: برای شناسایی ترکیبات فلاونوئیدی (آنتوسیانین و فلاونول) و اسیدهای فنلی از مقایسه زمان بازداری (Retention Time) پیک‌های مربوط به ترکیبات استاندارد با ترکیبات حاصل از عصاره پوست استفاده شد. برای به دست آوردن زمان بازداری ترکیبات فلاونوئیدی و اسیدهای فنلی، ترکیبات استاندارد با غلظت ۰/۲ میلی گرم در یک میلی لیتر متانول تهیه گردیدند. سپس برای شناسایی ترکیبات فلاونوئیدی و اسیدهای فنلی عصاره‌ها و حصول به زمان بازداری استاندارد، ۲۰ میکرولیتر از عصاره و استانداردها به طور جداگانه به دستگاه HPLC آنالیتیکال تزریق شدند. در مواردی که اندازه پیک استاندارد در مقایسه با پیک‌های مجهول بزرگتر بود، محلول استاندارد ۱:۵ تا ۱:۱۰ رقیق گردید و سپس به دستگاه تزریق شد تا اندازه منحنی‌های مجهول و استاندارد قابل مقایسه باشد.

آزمایش‌های میکروسکوپی

آماده‌سازی نمونه‌ها برای مطالعات هیستولوژیک

حذف واکس نمونه‌ها: حذف واکس به منظور

مشاهده بهتر نمونه‌ها در زیر میکروسکوپ با استفاده از روش Gniwotta و همکاران (۲۰۰۵) انجام شد. سپس نمونه‌های به اندازه $0/5 \times 0/5$ سانتی‌متر با استفاده از تیغه تیز از قسمت میانی پوست میوه مطابق روش Bae و همکاران (۲۰۰۶) تهیه شدند.

مشاهده آنتوسیانین‌ها: نمونه‌های تهیه شده به روش

ذکر شده در بالادر داخل پتری‌دیش حاوی آب مقطر قرار گرفت. آنتوسیانین با استفاده از روش میکروسکوپ نوربازتابشی مشاهده شد.

مواد رنگ آمیزی

رنگ آمیزی با دی فنیل بوریک اسید ۲- آمونیا

اتیل استر (NA) برای مشاهده فلاونول‌ها و

اسیدهای فنلی: رنگ آمیزی نمونه‌ها مطابق روش Kladnik و همکاران (۲۰۰۴) انجام شد؛ با این تفاوت که در تحقیق انجام شده از نمونه‌های تازه گیاهی به عوض نمونه‌های آبگیری شده استفاده شد.

رنگ آمیزی بافت‌ها با کلرید آهن برای مشاهده

تانن‌ها: از کلرید آهن برای رنگ آمیزی تانن‌ها مطابق روش Rangari (۲۰۰۷) استفاده شد.

میکروسکوپ فلورسنس: برای مکان‌یابی و توزیع

آنتوسیانین‌ها و سایر ترکیبات فنلی در پوست میوه سیب از فنون نوین میکروسکوپی بر پایه بهبود عمق میدان (Dadpour *et al.*, 2008) بهره‌گیری شد. در این روش می‌توان در

تعیین کمی‌ت ترکیبات فلاونوئیدی و اسیدهای فنلی با استفاده از روش اندازه‌گیری سطح زیرمنحنی و مقایسه با استانداردهای مربوطه انجام گرفت. زمان بازداری ترکیبات استاندارد مورد استفاده برای کمی‌ت‌یابی ترکیبات پلی‌فنلی و فلاونوئیدی به ترتیب زیر بود: پارا- کوماریک اسید $13'/23''$ گالیک اسید $6'/51''$ ، فرولیک اسید $13'/53''$ ، کافئیک اسید $11'/57''$ ، ترانس-۲- هیدروکسی سینامیک اسید $15'/27''$ ، اپی کتچین $11'$ ، کتچین $9'/38''$ و سیانیدین-۳- گالاکتوزید $11'/13''$.

ترکیبات استاندارد و حلال‌های مورد استفاده:

پارا کوماریک اسید، - (-) اپی کتچین، سیانیدین-۳- گالاکتوزید و گالیک اسید از شرکت Sigma خریداری شدند. کافئیک اسید، فرولیک اسید، ترانس-۲- هیدروکسی سینامیک اسید و (+) کتچین از شرکت Sigma Aldrich تهیه شدند. استونیتریل، ان- هگزان و فرمیک اسید از شرکت Merck و متانول از شرکت Caledon خریداری شد.

در این آزمایش، تجزیه واریانس داده‌های حاصل از تیمارها (مراحل نموی میوه) و صفات (ترکیبات) که در دو تکرار (دو بار تزریق) به دست آمده بودند، از طریق تجزیه و تحلیل یک طرفه انجام گردید. مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ صورت گرفت. برای این منظور، از بسته نرم‌افزاری SPSS استفاده شد.

سانتی گراد و دمای روزانه ۲۴ - ۳۰ درجه سانتی گراد بود که محدوده دمایی مناسبی برای بیوستز آنتوسیانین ها است.

فلاونول ها یا تانن ها: نتایج نشان داد که با نمو میوه بر

میزان فلاونول ها در پوست میوه افزوده شد، اما درست قبل از رسیدن میوه میزان فلاونول ها در پوست میوه کاهش یافت. بیشترین میزان فلاونول ها در مرحله میانی نمو میوه مشاهده شد ($P \leq 0.05$). در این مرحله فلاونول ها (کتچین و اپی کتچین) ۵۰٪ از کل ترکیبات فنلی را شامل بود. کاهش در میزان فلاونول ها در مرحله برداشت تجاری میوه در ارتباط با کاهش شدید در محتوای اپی کتچین بود، که میزان آن در مرحله برداشت میوه نسبت به مرحله فندقی تا ۳ برابر کاهش نشان داد (شکل ۱). میزان کتچین در مرحله میانی نمو میوه بیشتر از مراحل فندقی و برداشت میوه بود (شکل ۱). اپی کتچین و گالیک اسید (اسید فنلی) از پیش سازهای مهم تانن های متراکم هستند که تغییر مقدار ترکیبات فوق به نوسان هایی در میزان تانن های متراکم مربوط است.

اسیدهای فنلی: نتایج نشان دهنده وجود تغییراتی در

میزان اسیدهای فنلی ($P \leq 0.05$) موجود در پوست میوه بود (شکل ۲). اسیدهای فنلی در مرحله فندقی میوه ۵٪، در مرحله میانی نمو میوه ۳٪ و در مرحله برداشت میوه ۴٪ از کل ترکیبات فنلی را شامل می شدند. میزان گالیک اسید به ترتیب در مرحله فندقی و میانی نمو میوه ۶ و ۱۳٪ و در مرحله برداشت میوه ۲٪ از اسیدهای فنلی کل را به خود اختصاص می داد. میزان کافئیک اسید در پوست گالا در مرحله برداشت، بیشتر از میزان آن در مرحله فندقی بود و کمترین میزان آن در مرحله میانی رشد مشاهده گردید

کنار بهبود عمق میدان دید میکروسکوپی، کانال های چندگانه فلورسنس را در یک تصویر هم آوری نمود و از این راه داده های کاملی را به دست آورد. در این راستا، پس از انجام رنگ آمیزی، نمونه در یک پتری دیش پلاستیکی سیاه رنگ که با آب مقطر (به منظور جلوگیری از چروکیدگی) پُر شده بود، جایگیری گردید. از میکروسکوپ فلورسنس اولمپوس BX51 در چهار پرتو برانگیخته ۳۷۰، ۴۷۰، ۵۱۰-۵۵۰ و ۵۶۰-۶۱۰ نانومتر بهره گیری شد. برداشت تصویر با دوربین خنک شونده بسیار حساس (توانایی جداسازی ۱۶ میلیون رنگ در نور کم) انجام پذیرفت و در قالب بندی TIFF در حالت RGB (۱۲ بیت به ازای هر کانال) ذخیره شد. فرآوری و پردازش تصویرهای برداشت شده با نرم افزار ImageJ صورت گرفت.

نتایج

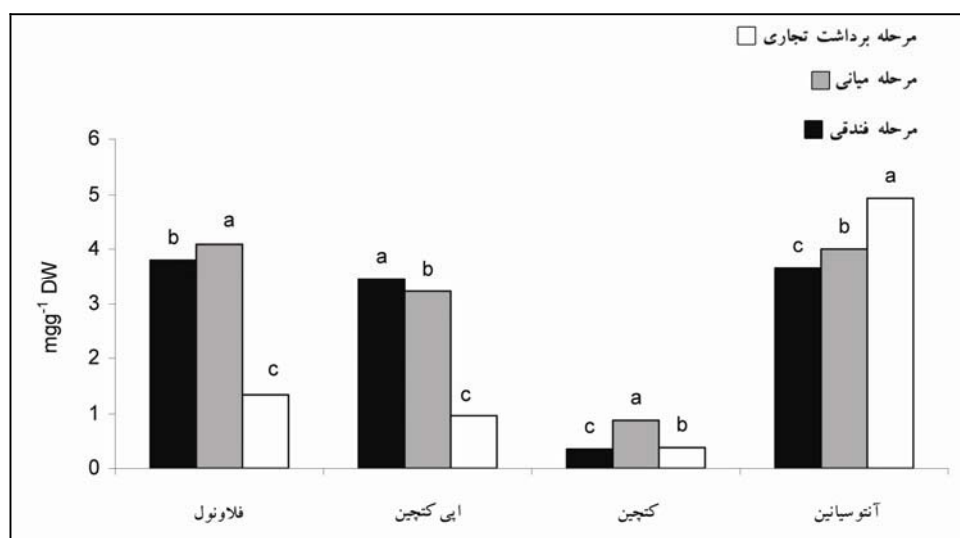
نتایج حاصل از مطالعه HPLC

آنتوسیانین ها: نتایج نشان دهنده وجود تفاوت های

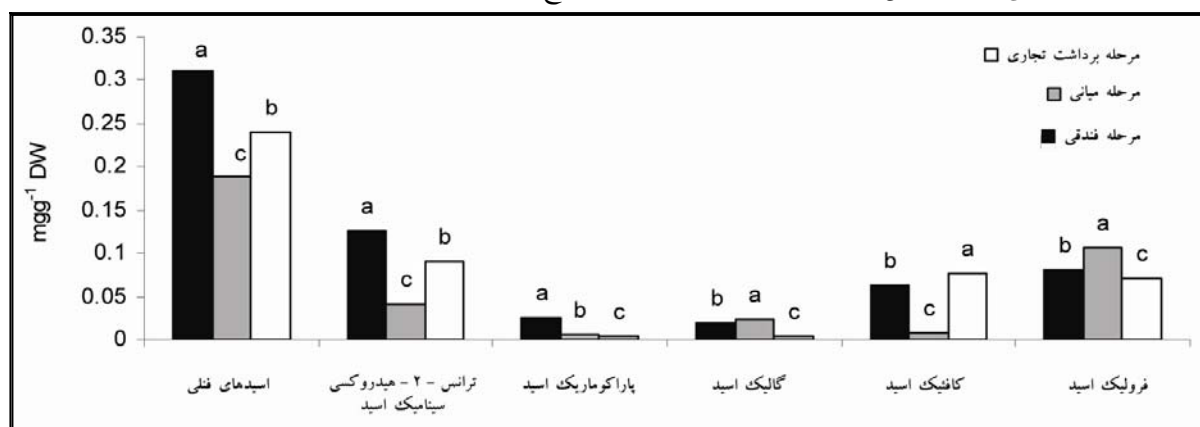
کمی در میزان آنتوسیانین در طی فصل رشد در پوست سیب رقم گالا بود. حداکثر تجمع آنتوسیانین ها در پوست سیب در مرحله برداشت تجاری میوه مشاهده شد (شکل ۱) ($P \leq 0.05$). افزایش تدریجی در میزان آنتوسیانین پوست سیب گالا بویژه در مرحله میانی نمو میوه (۸۰ روز بعد از تمام گل) شاید در ارتباط با شرایط آب و هوایی منطقه استان آباد باشد. با توجه به داده های هواشناسی (داده ها نشان داده نشده است) مشخص شده است که از مرداد ماه به بعد در منطقه استان آباد متوسط دمایی شبانه ۱۸ درجه

کل اسیدهای فنلی هر مرحله را شامل می‌شد. میزان فرولیک اسید در مرحله میانی رشد میوه بیشتر از مراحل ابتدایی و نهایی نمو میوه بود (شکل ۲).

(شکل ۲). ترانس-۲-هیدروکسی سینامیک اسید فراوانترین اسید فنلی مشاهده شده در پوست سیب گالا به غیر از مرحله میانی نمو میوه بود (شکل ۲) که میزان آن در مرحله فندق میوه ۵/۸٪ و در مرحله برداشت میوه ۳۷٪ از



شکل ۱- تغییرات آنتوسیانین و فلاونول‌های (کتچین و ای سی کتچین) موجود در پوست سیب گالا در طی فصل رشد. حروف موجود در ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین مراحل مختلف نمو برای هر ترکیب در سطح احتمال ۵٪ بر مبنای آزمون دانکن است.



شکل ۲- تغییرات اسیدهای فنلی موجود در پوست سیب گالا در طی فصل رشد. حروف موجود در ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین مراحل نمو مختلف برای هر ترکیب در سطح احتمال ۵٪ بر مبنای آزمون دانکن است.

نتایج حاصل از مطالعات میکروسکوپی

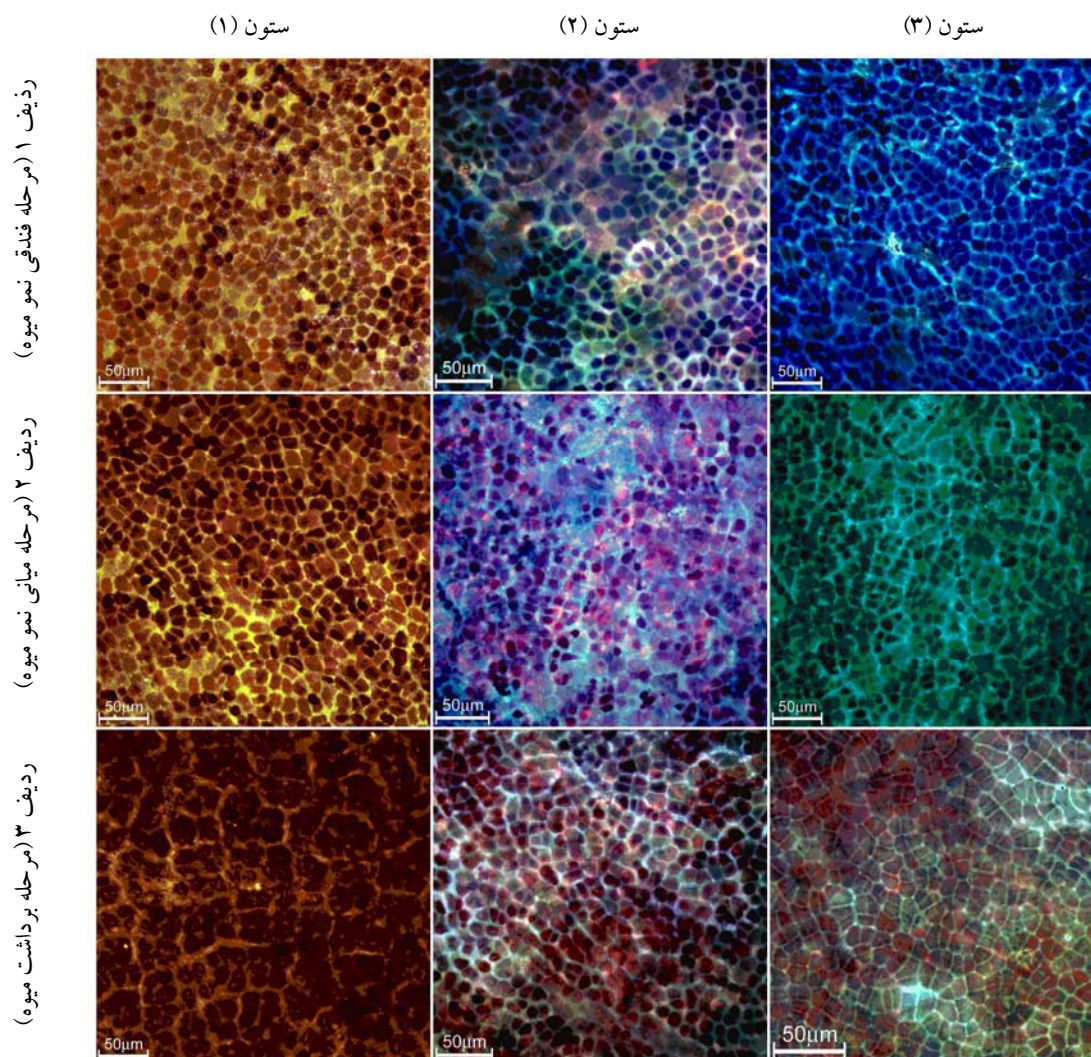
تصاویر میکروسکوپی نشان‌دهنده افزایش تدریجی میزان آنتوسیانین در طی فصل رشد در پوست سیب گالا بود. حداکثر تجمع آنتوسیانین در مرحله برداشت میوه در

پوست سیب دیده شد (شکل ۳- ستون ۱ ردیف ۳). در مرحله فندق (شکل ۳- ستون ۱ ردیف ۱) و میانی نمو میوه (ستون ۱ ردیف ۲) تجمع آنتوسیانین در داخل سلول مشاهده شد، اما به تدریج با نمو میوه، آنتوسیانین در

واکوئل‌های سلول‌های مستقر در خوشه‌های سلولی تمرکز یافت (ستون ۱ ردیف ۳). تصاویر میکروسکوپی نشان‌دهنده تغییراتی در میزان ترکیبات فلاونوئیدی و اسیدهای فنلی موجود در پوست سیب گالا در طی فصل رشد بود. همان‌گونه که شکل ۳ (ستون ۲ ردیف ۲) نشان می‌دهد، بیشترین تجمع فلاونول‌ها (فلورسنس آبی) در مرحله میانی نمو میوه دیده شد و به طرف مرحله برداشت میوه کاهش جزئی در تجمع فلاونوئیدها مشاهده گردید. در این مرحله از رشد میوه از تجمع اسیدهای فنلی در پوست میوه نسبت به مرحله فندق‌نمو میوه کاسته شد (شکل ۳- ستون ۳ ردیف ۲).

مقایسه فلورسنس حاصل از نمونه‌های پوست و استانداردهای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی رنگ‌آمیزی شده با NA نشان داد که در مرحله فندق‌نمو میوه (شکل ۳- ستون ۲ ردیف ۱) فلورسنس نارنجی مایل به صورتی به دلیل حضور آنتوسیانین در پوست میوه بوده و فلورسنس سبز-آبی مشاهده شده به دلیل حضور اسیدهای فنلی، مخصوصاً پاراکوماریک اسید، فرولیک اسید، گالیک اسید (از پیش‌سازهای تانن)، ترانس - ۲ - هیدروکسی سینامیک اسید و کافئیک اسید بود. در اواسط فصل رشد اثری از آنتوسیانین در سلول مشاهده نشد (شکل ۳- ستون ۲ ردیف ۲). در این مرحله بر تجمع فرولیک اسید و گالیک اسید نسبت به مرحله فندق‌نمو افزوده شد. بعلاوه، کاهش شدید در تجمع برخی اسیدهای فنلی، از قبیل کافئیک اسید، ترانس - ۲ - هیدروکسی سینامیک اسید و پاراکوماریک اسید نسبت به مرحله فندق‌نمو دیده شده و بیشترین میزان فلورسنس آبی - سبز مشاهده شده در این مرحله به دلیل حضور کتچین (فلاونول‌ها) در سلول بود (ستون ۲ ردیف ۲). در مرحله برداشت میوه، بر میزان

اسیدهای فنلی، مخصوصاً کافئیک اسید (فلورسنس آبی روشن) و ترانس - ۲ - هیدروکسی سینامیک اسید (فلورسنس سبز روشن) نسبت به مرحله میانی رشد میوه افزوده شد، اما از تجمع فرولیک اسید، گالیک اسید و پاراکوماریک اسید کاسته شد (شکل ۳- ستون ۳ ردیف ۲). فلورسنس آبی مشاهده شده در مرحله فندق‌نمو نشان‌دهنده تجمع تانن‌های قابل هیدرولیز (کتچین، اپی‌کتچین و گالیک اسید) در اطراف دیواره‌های سلولی و داخل سلول بود (شکل ۳- ستون ۳ ردیف ۱). اپی‌کتچین از پیش‌سازهای مهم تانن‌های متراکم در سلول‌های گیاهی است و حداکثر تجمع این ترکیب در سلول‌های گیاهی در مرحله فندق‌نمو (فلورسنس آبی مشاهده شده در شکل ۳ ستون ۳ ردیف ۱) و میانی نمو میوه سیب (فلورسنس سبز مشاهده شده در شکل ۳ (ستون ۳ ردیف ۲) مشاهده شد و به تدریج با نمو میوه از تجمع تانن‌های قابل هیدرولیز کاسته و بر تجمع تانن‌های متراکم افزوده شد. فلورسنس سبز مشاهده شده در اطراف دیواره‌های سلولی و در داخل سلول، دلیل بر افزایش این مواد در سلول‌های پوست سیب بود (شکل ۳- ستون ۳ ردیف ۲). فلورسنس سبز مشاهده شده در مرحله برداشت میوه نشان‌دهنده کاهش تجمع تانن‌های متراکم (مخصوصاً کاهش شدید در تجمع اپی‌کتچین در پوست میوه نسبت به مرحله فندق‌نمو) و استقرار آنها در دیواره‌های سلولی پوست سیب بود (شکل ۳- ستون ۳ ردیف ۳).



شکل ۳- روند تغییرات ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در سه مرحله نموی در پوست میوه؛ سیب رقم گالا

ستون ۱- روند تغییرات آنتوسیانین در طی فصل رشد: ردیف ۱- تجمع آنتوسیانین در سلول‌های منفرد پوست میوه، ردیف ۲- افزایش تدریجی در میزان آنتوسیانین نسبت به مرحله اول رشد میوه؛ ردیف ۳- افزایش شدید در میزان آنتوسیانین‌ها و استقرار آنها در سلول‌های موجود در خوشه‌های سلولی.

ستون ۲- روند تغییرات ترکیبات فلاونوئیدی و اسیدهای فنلی رنگ آمیزی شده با $FeCl_3$ ، ردیف ۱- فلورسنس آبی نشان‌دهنده حضور تانن‌های قابل هیدرولیز در پوست میوه؛ ردیف ۲- فلورسنس سبز در اطراف دیواره‌های سلولی پوست میوه

ستون ۳- روند تغییرات ترکیبات فلاونوئیدی و اسیدهای فنلی رنگ آمیزی شده با NA، ردیف ۱- فلورسنس نارنجی مایل به صورتی نشان‌دهنده حضور

(شب‌های خنک و روزهای گرم همراه با تابش بالا) در طی اواسط فصل رشد در منطقه مذکور باشد.

فلاونول‌ها یا تانن‌های متراکم: تانن‌های متراکم

سیب اکثراً پلیمر پروآنتوسیانیدین‌ها هستند (Takos *et al.*, 2006). در پوست سیب سیس و ترانس فلاوان-۳-اول‌ها همان کتچین و اپی‌کتچین‌ها هستند که به عنوان واحدهای آغازشگر بیوستنز تانن‌های متراکم عمل می‌کنند (Awad *et al.*, 2001a). بررسی‌های انجام شده توسط Rangari (۲۰۰۷) نشان داد که دو گروه از تانن‌ها با کلرید آهن واکنش نشان می‌دهند: ۱- تانن‌های قابل هیدرولیز که محلول در آب هستند و بر اثر رنگ‌آمیزی با کلرید آهن به رنگ آبی دیده شدند؛ ۲- تانن‌های متراکم که بر اثر رنگ‌آمیزی با کلرید آهن به رنگ سبز دیده شدند. چنین به نظر می‌رسد که استقرار تانن‌های متراکم در مرحله برداشت میوه سیب گالا به دلیل رسوب این ترکیبات بر اثر ایجاد پیوند با پروتئین‌های موجود در دیواره‌های سلولی باشد که با یافته‌های Takos و همکاران (۲۰۰۶) و Fournand و همکاران (۲۰۰۶) مطابقت دارد. تصاویر میکروسکوپی شکل ۳ (ستون ۳ ردیف‌های ۱ و ۲) نشان داد که در مرحله فندقی و میانی نمو میوه، سیب ترکیبات تاننی موجود در داخل سلول فرم مشخصی نداشته، در داخل سیتوپلاسم سلول و اطراف دیواره‌های سلولی پراکنده‌اند. Alemanno و همکاران (۲۰۰۳) در بررسی‌های خود روی گل‌های کاکائو بیان نمودند که ترکیبات تاننی به صورت بی‌شکل و یا کروی در تمام بافت‌های اپیدرمی و پارانشیمی گیاهان مورد مطالعه دیده شدند.

نتایج حاصل از آزمایش‌های (میکروسکوپی و HPLC) انجام شده نشان داد که با نمو میوه بر میزان فلاونول‌ها در پوست میوه افزوده شد، اما درست قبل از رسیدن میوه میزان

به دلیل حضور تانن‌های متراکم در پوست میوه؛ ردیف ۳- فلورسنس سبز نشان‌دهنده وجود تانن‌های متراکم در پوست میوه در مرحله برداشت تجاری میوه است.

بحث

آنتوسیانین‌ها: نتایج حاصل از آزمایش‌های HPLC و

میکروسکوپی نشان‌دهنده وجود روند تدریجی در افزایش میزان آنتوسیانین‌ها در طی فصل رشد در پوست سیب گالا بود. حداکثر تجمع آنتوسیانین در مرحله برداشت میوه در سلول‌های اپیدرمی سیب مشاهده شد که با یافته‌های Lister و همکاران (۱۹۹۴)، Santiago و همکاران (۲۰۰۰) و Alemanno و همکاران (۲۰۰۳) در این خصوص مطابقت دارد. افزایش تدریجی در میزان آنتوسیانین‌های پوست (مخصوصاً در مرحله میانی نمو میوه) در طی فصل رشد، شاید در ارتباط با شرایط آب و هوایی منطقه بستان آباد باشد. نتایج حاصل از این آزمایش با نتایج حاصل از آزمایش‌های Reay و Lancaster (۲۰۰۱) و Yuri و همکاران (۲۰۰۹) در خصوص اثر اختلاف دمایی در بیوستنز آنتوسیانین مطابقت دارد. Takos و همکاران (۲۰۰۶) بیان نمودند که دو مرحله در بیوستنز آنتوسیانین‌ها وجود دارد: ۱- در مراحل اولیه نمو میوه (۱۸ تا ۴۸ روز بعد از تمام‌گل)؛ ۲- در هنگام رسیدن میوه (۱۳۴ روز بعد از تمام‌گل). کاهش در میزان آنتوسیانین‌ها در مراحل میانی نمو میوه به دلیل رقیق شدن این ترکیبات بر اثر رشد سریع میوه است، اما در تحقیق حاضر (نتایج حاصل از آزمایش‌های میکروسکوپی و HPLC) کاهش در میزان آنتوسیانین در مرحله میانی نمو میوه دیده نشد که شاید دلیل آن، وجود شرایط محیطی مناسب برای بیوستنز آنتوسیانین

فلورسنس آبی مشاهده شده در نمونه‌های گیاهی *Johnsonia lupulina* بدون رنگ آمیزی (قرار دادن نمونه در آب خالص) و رنگ آمیزی شده با هیدروکسید آمونیوم نشان‌دهنده حضور فرولیک اسید متصل به دیواره‌های سلولی است (Rudall and Gaddick, 1994; Hoerner and Weissenbock, 2003). از طرف دیگر، فلورسنس (آبی - سبز) مشاهده شده در مرحله میانی نمو، میوه احتمالاً به دلیل حضور کتچین (فلاونول) در سلول است که با یافته‌های Wuyts (۲۰۰۶) در مورد ریشه موز مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری کلی

در این مطالعه سعی شد تا مکان‌یابی بافتی و الگوی تجمع برخی ترکیبات فنلی در مراحل مختلف نمو میوه سیب‌گالا با استفاده از روش‌های میکروسکوپی (نوربازتابشی و فلورسنس) و کروماتوگرافی بررسی شود. استفاده از روش‌های میکروسکوپی فوق در تلفیق با روش‌های کروماتوگرافی روشی مطمئن در شناسایی ترکیبات فنلی نسبت به استفاده منفرد از روش‌های کروماتوگرافی بود. برای مطالعه موفقیت آمیز ترکیبات فنلی گیاهان ابتدا باید مکان قرارگیری آنها در بافت‌های گیاهی بررسی گردد که دست‌یابی به این مهم با استفاده از روش‌های میکروسکوپی مقدور است. روش‌های میکروسکوپی در تعیین کمیت ترکیبات فنلی موجود در گیاهان ناتوانند و لذا برای رفع این مشکل باید از روش‌های کروماتوگرافی توأم با روش‌های میکروسکوپی بهره جست. از آنجایی که ترکیبات فنلی نقش مهمی در ویژگی‌های چشایی (رنگ، طعم و مزه) میوه‌های تازه برداشت شده دارند و بیوستتزی این ترکیبات، مخصوصاً آنتوسیانین در مرحله برداشت میوه از دیدگاه تجاری در سیب‌حایز

فلاونول‌ها در پوست میوه کاهش شدیدی نشان داد. نتایج حاصل از آزمایش حاضر با یافته‌های Takos و همکاران (۲۰۰۶) در خصوص کاهش میزان تانن‌های متراکم در سیب رقم Crisp red یافته‌های Lister و همکاران (۱۹۹۴) در سیب رقم Granny Smith مطابقت دارد. کاهش در میزان تانن‌های متراکم به دلیل رقیق شدن این ترکیبات بر اثر رشد میوه و افزایش در میزان آنتوسیانین است (Fournand et al., 2006; Takos et al., 2006; Hanlin and Downey, 2009).

اسیدهای فنلی: نتایج مطالعات میکروسکوپی و

HPLC نشان داد که بیشترین میزان اسیدهای فنلی در مرحله ابتدایی نمو میوه سیب دیده شد و با پیشرفت فصل رشد، از میزان اسیدهای فنلی موجود در پوست میوه کاسته شد. در مرحله برداشت میوه افزایش دوباره در میزان اسیدهای فنلی مشاهده گردید. Awad و همکاران (۲۰۰۱a) بیان نمودند که در سیب ارقام Elstar و Jonagold مقدار اسیدهای فنلی در اوایل فصل بالا بوده و در مرحله رسیدن میوه مقدار ترکیبات فوق ثابت بود. فلورسنس نارنجی مایل به صورتی مشاهده شده در شکل ۳ (ستون ۲ ردیف ۱) به دلیل حضور آنتوسیانین در پوست میوه بود که با فلورسنس مشاهده شده در گیاه جو توسط Hoerner و Weissenbock (۲۰۰۳) مطابقت دارد. فلورسنس سبز - آبی مشاهده شده به دلیل حضور اسیدهای فنلی (پارا‌کوماریک اسید، فرولیک اسید و کافئیک اسید) بود. چنین به نظر می‌رسد که فرولیک اسید و پارا‌کوماریک اسید از ترکیبات فنلی متصل به دیواره‌های سلولی بوده، پیش‌ماده بیوستتزی لیگنین باشند (Rudall and Gaddick, 1994; Pothavorn, 2008).

سپاسگزاری

از آقای نامور به دلیل همکاری در تهیه نمونه‌های مورد نیاز، از خانم دکتر اثنی‌عشری و خانم دکتر بامداد به جهت همکاری در آنالیز نمونه‌ها، و از آقای دکتر مطلبی آذر که تجزیه آماری این آزمایش را تقبل نمودند، بی نهایت تشکر می‌گردد. از معاونت پژوهشی دانشگاه تبریز به دلیل تأمین بخشی از هزینه‌های آزمایش حاضر کمال تشکر به عمل می‌آید.

اهمیت است، لذا شناخت دقیق این ترکیبات و مکان‌یابی آنها در طی فصل رشد به مدیریت دقیق باغ‌ها کمک خواهد کرد تا با ایجاد تغییراتی در مدیریت باغ (هرس، آبیاری، کود دهی، کیسه‌گذاری میوه‌ها، استفاده از پایه‌های مناسب، استفاده از پوشش‌های انعکاسی نور و ...) بتوان بیوستن این ترکیبات را در میوه‌ها افزایش داد.

منابع

- Alemanno, L., Ramos, T., Gargadenc, A., Andary, C. and Ferriere, N. (2003) Localization and identification of phenolic compounds in *Theobroma cacao* L. somatic embryogenesis. *Annals of Botany* 92: 613-623.
- Awad, M. A., Jager, A. D. and Wagenmakers, P. S. (2001b) Effects of light on flavonoids and chlorogenic acid levels in the skin of 'Jonagold' apple. *Scientia Horticulturæ* 88:289-298.
- Awad, M. A., Jager, A. D., Plas, L. H. and Krol, A. R. (2001a) Flavonoid and chlorogenic acid changes in skin of 'Elstar' and 'Jonagold' apples during development and ripening. *Scientia Horticulturæ* 90: 69-83.
- Bae, R. N., Kim, K. W., Kim, T. C. and Lee, S. K. (2006) Anatomical observation of anthocyanin rich cell in apple skins. *HortScience* 41(3):733-736.
- Dadpour, M. R., Grigorian, W., Nazemih, A. and Valizadeh, M. (2008) Application of epillumination light microscopy for study of floral ontogeny in fruit trees. *International Journal of Botany* 4(1): 49-55.
- Fournand, D., Vicens, A., Sidhoum, L. and Marc, J. (2006) Accumulation and extractability of grape skin tannins and anthocyanins at different advanced physiological stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54 (19): 7331-7338.
- Gniwotta, F., Vogg, G., Gartmann, V., Carver, T. L. W., Riederer, M. and Jetter, R. (2005) What do microbes encounter at the plant surface? Chemical composition of Pea leaf cuticular waxes. *Plant Physiology* 139: 519-530.
- Hanlin, R. L. and Downey, M. O. (2009) Condensed tannin accumulation and composition in skin of shiraz and Cabernet Sauvignon grapes during berry development. *American Journal of Enology and Viticulture* 60: 13-23.
- Hoerner, S. R. and Weissenbock, G. (2003) Contribution of phenolic compounds to the UV-B screening capacity of developing barley primary leaves in relation to DNA damage and repair under elevated UV-B levels. *Phytochemistry* 4: 243-255.
- Khanizadeh, S., Ding, L., Tsao, R., Rekika, D., Yang, R., Charies, M. T., Vigneault, C. and Rupasinghe, H. P. (2007) Phytochemical distribution among selected advanced apple genotypes development for fresh market and processing. *Journal of Agriculture, Food, and Environmental Sciences* 1(2). Retrieved from: <http://www.scientificjournals.org/journals2007/articles/1266pdf>.
- Kladnik, A., Chamusco, K., Dermastia, M. and Chourey, P. (2004) Evidence of programmed cell death in post-phloem transport cells of the maternal pedicel tissue in developing caryopsis of maize. *Plant Physiology* 136: 3572-3581.

- Lata, B., Trampczynska, A and Paczesna, J. (2009) Cultivar variation in apple peel and whole fruit phenolic composition. *Scientia Horticulturae* 121: 176- 181.
- Lister, C. E. Lancaster, J. E. Sutton, K. H. Walker, J. R. L. (1994) Developmental changes in the concentration and composition of flavonoids in skin of a red and a green apple cultivar. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 64(2): 155-161.
- Pothavorn, P. (2008) Sap phenolic compositions in some bananas in Thailand. M.Sc Thesis, Mahidol University, Thailand.
- Rangari, V. (2007) Pharmacognosy: Tannin containing drugs. Retrieved from <http://nsdi.niscair.res.in/bitstream/123456789/591/1/revised+tannin+containing+drugs.pdf>
- Reay, P. F. and Lancaster, J. E. (2001) Accumulation of anthocyanins and quercetin glycosides in 'Gala' and 'Royal Gala' apple fruit skin with UV-B-visible irradiation: modifying effects of fruit maturity, fruit side, and temperature *Scientia Horticulturae* 90: 57-68.
- Rudall, P. J and Gaddick, L. R. (1994) Investigation of presence of phenolic compounds in monocotyledonous cell walls using UV fluorescence microscopy. *Annals of Botany* 74: 483-491.
- Santiago, L. J., Ricardo, P. and Oliveira, D. (2000) Compartmentation of phenolic compounds and phenylalanine ammonia-lyase in leaves of *Phyllanthus tenellus* Roxb. and their induction by copper sulphate. *Annals of Botany* 86: 1023-1032.
- Takos, A. M., Ubi, B. E., Robinson, S. P. and Walker, A. R. (2006) Condensed tannin biosynthesis gene are regulated separately from other flavonoid biosynthesis genes in apple fruit skin. *Plant Science* 170: 487-499.
- Wuyts, N. (2006) Interaction between plant parasitic nematodes and plant secondary metabolism, with emphasis on phenylpropanoids in roots. Ph.D. Thesis. Katholieke University, Belgium.
- Yuri, J., Neira, A., Quilodran, A., Motomura, Y. and Palomo, I. (2009) Antioxidant activity and total phenolics concentration in apple peel and flesh is determined by cultivar and agro-climatic growing regions in Chile. *Journal of food, Agriculture and Environment* 7: 513-517.

Quantitative and qualitative investigation of phenolic compounds in Gala apple peel

Lamia Vojodi Mehrabani ¹, Mohammad Reza Dadpour ^{*1}, Abbas Delazar ², Ali Movafeghi ³ and Jafar Hadjilou ¹

¹ Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz

² School of Pharmacy and Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences

³ Department of plant Biology, Faculty of Natural Science, University of Tabriz, Tabriz

Abstract

Quantitative and qualitative study of phenolic compounds (phenolic acids, flavanols and anthocyanins) in peel of Gala apple were implemented using analytical HPLC, fluorescence microscopy and epi-illumination light microscopy at three different growing stages [1- fruit early growing stage 2- mid-stage of fruit development (80 days after full bloom) 3- during commercial harvest time]. The results showed qualitative and quantitative differences between diverse growing stages regarding the content and accumulation of phenolic compounds. HPLC and microscopic studies showed that anthocyanin content of peel increased progressively during season. Microscopic data revealed that the highest anthocyanin accumulation occurred at the commercial harvest time. Our results showed that phenolic acids content decreased till mid-season but then, after their content had increasing pattern until commercial harvest time. Microscopic pictures verified this claim as well. Simultaneous comparison of HPLC and microscopy of derived data showed that flavanol content of peel increased towards mid season. In contrast, a drastic decline was recorded for flavanols during commercial harvest time. Comparative survey of microscopic and chromatographic data indicated that the great potential of fluorescence microscopy for study of phenolic compounds in apple peels. In brief, integrated study of phenolic compounds by means microscopic and chromatographic techniques is fast and easy methods for identification and quantification of phenolic compounds leading to accurate conclusion regarding elevation of apple fruit quality criteria.

Key words: Anthocyanin, Phenolic compounds, Apple, HPLC, Fluorescence microscopy

* Correspong Author: dadpour@tabrizu.ac.ir

فرم اشتراک مجله زیست‌شناسی گیاهی

نام و نام خانوادگی:

سمت: با ارسال فیش بانکی به مبلغ ۸۰۰۰۰ ریال (هزینه پست و اشتراک) به حساب شماره ۲۳۸۰۰۲۴۰۲۱۷۷۲۴ بانک ملی، شناسه پرداخت ۱۱۰۲۲۷، شعبه دانشگاه اصفهان، به نام درآمدهای اختصاصی دانشگاه اصفهان، متقاضی اشتراک یک ساله (چهار شماره) مجله زیست‌شناسی گیاهی می‌باشم. لطفاً مجله را از شماره به نشانی زیر ارسال نمایید.

نشانی:

.....

کد پستی: تلفن:

فیش بانکی به شماره (.....) ضمیمه است. تاریخ: امضاء

نشانی: اصفهان - دانشگاه اصفهان - معاونت تحقیقات و فناوری - دفتر مجله زیست‌شناسی گیاهی - امور مشترکین

دورنگار: ۰۳۱۱ - ۷۹۳۲۱۷۷



فرم اشتراک مجله زیست‌شناسی گیاهی

نام و نام خانوادگی:

سمت: با ارسال فیش بانکی به مبلغ ۸۰۰۰۰ ریال (هزینه پست و اشتراک) به حساب شماره ۲۳۸۰۰۲۴۰۲۱۷۷۲۴ بانک ملی، شناسه پرداخت ۱۱۰۲۲۷، شعبه دانشگاه اصفهان، به نام درآمدهای اختصاصی دانشگاه اصفهان، متقاضی اشتراک یک ساله (چهار شماره) مجله زیست‌شناسی گیاهی می‌باشم. لطفاً مجله را از شماره به نشانی زیر ارسال نمایید.

نشانی:

.....

کد پستی: تلفن:

فیش بانکی به شماره (.....) ضمیمه است. تاریخ: امضاء

نشانی: اصفهان - دانشگاه اصفهان - معاونت تحقیقات و فناوری - دفتر مجله زیست‌شناسی گیاهی - امور مشترکین

دورنگار: ۰۳۱۱ - ۷۹۳۲۱۷۷

Journal of Plant Biology
2nd Year, No. 5, Autumn 2010
ISSN: 2008-8246

Content

- | | |
|---|------------------|
| <p>■ The effect of manganese on growth and some physiological and biochemical parameters of <i>Lepidium sativum</i> L.
Shahla Hashemi, Zahra Asrar and Shahram Pourseyedi</p> | <p>11</p> |
| <p>■ The effect of growth regulators <i>in vitro</i> phase on the quality of <i>in vitro</i> plantlets and microtubers in different cultivars of potato in a seed tuber production scheme
Mahmoud Otrshy, Kosar Moradi and Abdolreza Nabinejad</p> | <p>23</p> |
| <p>■ The effect of chlorate micromolar concentrations on HATS nitrate uptake in <i>Arabidopsis thaliana</i>
Parzhak Zoufan and Mansour Shariati</p> | <p>36</p> |
| <p>■ Effect of iron soil and spray applied on some quality characteristics of peanut (<i>Arachis hypogaea</i> L.) plants in a calcareous soil
Mahmoud Panjtandoust, Ali Soroosh zadeh and Faezeh Ghanati</p> | <p>50</p> |
| <p>■ Study the effects of water deficit on chlorophyll fluorescence indices and the amount of proline in six barley genotypes and its relation with canopy temperature and yield
Ebrahim Mamnoei and Raouf Seyed Sharifi</p> | <p>62</p> |
| <p>■ Study on pollen grain and ovule developmental properties in <i>Centaurea iberica</i> Trevir. ex Spreng
Abdolkarim Chehregani rad, Naser Hosseini, Mona Nazemi and Hossein Lari Yazdi</p> | <p>73</p> |
| <p>■ Quantitative and qualitative investigation of phenolic compounds in Gala apple peel
Lamia Vojodi Mehrabani, Mohammad Reza Dadpour, Abbas Delazar, Ali Movafeghi and Jafar Hadjilou</p> | <p>84</p> |

Referees committee (2nd Year, No. 5, Autumn 2010)

We express our deep gratitude to the following faculty members of the universities and of educational-research Institutes who have cooperated in evaluation and assessment of the articles of this issue of Journal of Plant Biology:

Dr. Mohammad Hossein Abnoosi	University of Arak
Dr. Keyvan Aghaei Jouboni	University of Zanjan
Dr. Fariba Amini	University of Arak
Dr. Mehri Askari Mehrabadi	University of Arak
Dr. Ali Akbar Ehsanpour	University of Isfahan
Dr. Faezeh Ghanati	Tarbiat Modares University
Dr. Maryam Madadkar Haghjoo	University of Lorestan
Dr. Ali Movafeghi	University of Tabriz
Dr. Homa Rajaei	University of Shiraz
Dr. Ali Akbar Ramin	Isfahan University of Technology
Dr. Farkhondeh Rezanejad	Shahid Bahonar University
Dr. Reyhaneh Sariri	University of Guilan
Dr. Jannat Sarmad	University of Guilan
Dr. Badrodin Ebrahim Seyed Tabatabaee	Isfahan University of Technology
Dr. Maryam Shahbazi	Agriculture Biotechnology Research Institute of Iran
Dr. Sima Yahyabadi	Islamic Azad University of Falavarjan
Dr. Parjak Zoufan	Shahid Chamran University

Journal of Plant Biology (Scientific Research Journal)

2nd Year, No. 5, Autumn 2010

ISSN: 2008-8264

Managing Editor: Dr. Mansour Shariati

Editor-in-Chief: Dr. Mansour Shariati

Editorial Board

Dr. Ali Akbar Ehsanpour	University of Isfahan
Dr. Faezeh Ghanati	Tarbiat Modares University
Dr. Ali Asghar Maassoumi	Research Institute of Forests and Rangelands
Dr. Mohammad Reza Rahiminejad	University of Isfahan
Dr. Mansour Shariati	University of Isfahan
Dr. Shahin Zare Mobarakeh	University of Tehran
Dr. Mohammad Reza Zamani	National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology

Executive and Manuscript Manager: Fariba Hadian

Scientific English Editor: Fereidoon Parvizian

Literary Editor: Naser Karimpoor

General Layout Designer: Behzad Hakiminia

Professional Layout Designer: Fariba Hadian

Publisher: University of Isfahan

Address: University of Isfahan- Department of Technology and Research - Journal of Plant Biology Office.

Email: IJPB@ui.ac.ir

Journal of Plant Biology has been ranked as a *scientific-research* journal based on the document number 3/11/558 issued by the Evaluation Committee of Scientific Journals of Research and Technology Ministry in June, 2009; also it has been registered with *International Standard Serial Number (ISSN): 2008-8246* by National Library and Archives of Islamic Republic of Iran.

This Journal has been prepared through the cooperation of the University of Isfahan and Biology Society.

The complete text of this Journal is available at the following sites:

<http://uijs.ui.ac.ir/ijpb>

<http://www.magiran.com>

<http://www.SID.ir>

<http://www.ISC.gov.ir>

Publication and Lithography: University of Isfahan Publications

Publisher: University of Isfahan

Price: 20000 Rials

Number of copies: 1000 Copies

Published: Spring 2011

Journal of Plant Biology

2nd Year, Number 5, Autumn 2010

**Published by
University of Isfahan Research Center**