



انجمن زیستشناسی ایران

پایه‌شناسی گیاهی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه اصفهان

سال هجری - شماره نهم و دهم - تابستان ۱۳۹۲

شماره: ۸۲۶۴-۲۰۰۸

زیستشناسی گیاهی

علمی پژوهشی

سال نهم و دهم - تابستان ۱۳۹۲

Journal of Plant Biology

5th Year, No. 16

Summer 2013

ISSN: 2008-8264

پرسی میان گشت زوی و اسیدهای آلی مایکنه و سیتریک به پایش‌های آلی کبدی در گیاه ذرت (L. دیوم دیک)

۱۱-۱

اثرات شاخص‌های فیزولوژیک و آنزیمی گیاه پامپه (*Ethiopia cavendishii*) تحت پاشنه‌های مختلف اشعه فرابنفش

۱۳-۱۲

تاثیر قارچ‌های میکروبی از استوکولم بر چوبد ریشه و شاخص‌های پوشش‌هایی گیاهان یروش برای نخت نهم در یروش طی فرآیند سازگاری

۲۰-۲۷

نقشه توانایی نگهداری قارچ‌ها مستقیم در پوشش گیاهی منطقه اطراف صنایع فولادسازی در جاده بندر امام، اهواز

۳۱-۳۲

اثر مایکنه گیاه بر برخی شاخص‌های فیزولوژیک و پوشش‌هایی گیاه ذرت (کوهی) (*Stenotaphrum secundatum*) تحت تنش شوری

۳۷-۳۸

پرسی صفت‌های مورفولوژیکی و آنزیمی (*Pistacia atlantica* var *kanakia*)

۴۰-۴۱

فعال‌سازی پایش‌های دفاعی تحت تنش ایزوتوسپات در گیاه‌های کزرا

۴۳-۴۱

مطالعه فعالیت آنزیمی و نند بیگرونی صابزه متالوئی به گونه از جنس *Tillandsia* از ایران

۴۳-۴۱

پرسی جامعه‌شناسی گیاهی جنگل‌های جلگه‌ای نور و بیسکان، استان مازندران

۴۷-۴۶

Investigation of interaction between zinc and organic acid (malic acid, citric acid) on antioxidant responses in *Zea mays* L.

1

Changes in physiological anatomical and parameters of okra (*Bihilar ovalifolius* L.) under different ultraviolet radiation

2

Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth improvement and biochemical factors of regenerated *Catharanthus roseus* L. plants under trypanin treatment during acclimatization process

3

Comparison of potentiality of heavy metals accumulation in the plants surrounding steel industries in the Mahshahr-Bandar Imam road, Ahvaz

4

The effect of salicylic acid on some of physiological and biochemical parameters of *Azorella antheri* Boiss. under salt stress

5

Leaf anatomical investigation of *Pistacia atlantica* var *kanakia*

6

Activation of defense responses under isothiocyanate stress in oilseed rape plants

7

Antioxidant and antimicrobial activities of the methanolic extracts of three *Trigonotis* species from Iran

8

Physiological survey of Nour and Shuangxi lowland Hydrangea forests, Mazandaran province

9

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

پیشینا کسا
علمی-پژوهشی

سال پنجم - شماره شانزدهم - تابستان ۱۳۹۲

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 (نسخه چاپی) و شماره
استاندارد بین‌المللی ۲۲۰۴-۲۳۲۲ (نسخه الکترونیک) 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>

پایگاه اختصاصی مجله

<http://www.magiran.com>

بانک اطلاعات نشریات کشور

<http://www.SID.ir>

پایگاه اینترنتی جهاد دانشگاهی

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

پایگاه استنادی علوم جهان اسلام

اطلاعات مجله در پایگاه زیر فهرست شده است:

<http://ulrichsweb.serialssolutions.com>

اولریخ: راهنمای بین‌المللی نشریات ادواری

چاپ و لیتوگرافی: انتشارات دانشگاه اصفهان

ناشر: دانشگاه اصفهان

چاپ: تابستان ۱۳۹۲

مجله زیست‌شناسی گیاهی (علمی - پژوهشی)

سال پنجم - شماره شانزدهم - تابستان ۱۳۹۲

شماره استاندارد بین‌المللی (نسخه چاپی): ۸۲۶۴-۲۰۰۸

شماره استاندارد بین‌المللی (نسخه الکترونیک): ۲۲۰۴-۲۳۲۲

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

مدیر مسئول: دکتر منصور شریعتی - استاد - دانشگاه اصفهان

سر دبیر: دکتر منصور شریعتی - استاد - دانشگاه اصفهان

اعضای هیأت تحریریه

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

مدیر اجرایی: فریبا هادیان (کارشناس ارشد)

ویراستار تخصصی انگلیسی: فریدون پرویزیان

ویراستار تخصصی فارسی: مرضیه پائیزی

صفحه‌آرا: مرضیه پائیزی

صفحه‌آرای تخصصی: فریبا هادیان

ناشر: انتشارات دانشگاه اصفهان

نشانی: اصفهان - خیابان هزار جریب - دانشگاه اصفهان - ساختمان کتابخانه مرکزی - معاونت پژوهش و فناوری - طبقه دوم

اداره چاپ، انتشارات و مجلات - کد پستی: ۸۱۷۴۶۷۳۴۴۱ - دفتر مجله زیست‌شناسی گیاهی

نشانی پست الکترونیک: IJPB@ui.ac.ir

پایگاه اختصاصی مجله: <http://uijs.ui.ac.ir/ijpb>

شماره تماس: ۰۹۸-۳۱۱-۷۹۳۴۲۵۵

شماره دورنگار: ۰۹۸-۳۱۱-۷۹۳۲۱۷۷

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- مسؤلیت 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 پرانتز 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 مسؤول (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 مسؤول: 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) مرجع دهی 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) مرجع دهی 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) مرجع دهی 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) مرجع دهی به همایش‌ها (سمینارها، سمپوزیوم‌ها، کنگره‌ها، میتینگ‌ها و ...): به ترتیب شامل: نام نویسندگان، سال انتشار، عنوان مقاله، دوره و نام همایش، محل برگزاری، شهر، کشور.

نمونه فارسی: رنگی‌پور، ا.، افشارزاده، س.، بلالی‌دهکردی، غ. ر. و صاحبی، ج. (۱۳۸۷) مطالعه جنس لویی در رودخانه زاینده‌رود. اولین همایش ملی زیست‌شناسی گیاهی، دانشگاه پیام نور، تالش.

نمونه انگلیسی:

- Mason-Gamer, R. J. and Helfgott, D. M. (2002) Molecular phylogenetic investigation of allopolyploid *Elymus* in North America. 4th International Triticeae Symposium, Prague, Czech Republic.

ب-۷) مرجع دهی به مقاله‌های کامل همایش‌ها (سمینارها، سمپوزیوم‌ها، کنگره‌ها، میتینگ‌ها و ...) (Proceedings): به ترتیب شامل: نام نویسندگان، سال انتشار، عنوان مقاله، دوره و نام همایش، محل برگزاری، شهر، کشور.

نمونه فارسی: صفوی، و. و شریعتی، م. (۱۳۸۶) تأثیر ایلستور متیل جاسمونات بر سنتز بتاکاروتن در جلبک سبز تک سلولی *Dunaliella salina* مجموعه مقالات دومین همایش ملی زیست‌شناسی سلولی و ملکولی، کرمان، ایران.

نمونه انگلیسی:

- Mohsenzadeh, S. (1996) Study of nitrogen fertilizer time and amount on seed production and other characterizations of Sorghum. In: Proceeding of the 4th Iranian Congress of Agriculture and Plant Breeding, Isfahan, Iran.
- Shariati, M. and Lilley, R. McC. (1993) Triggering of glycerol synthesis in *Dunaliella tertiolecta* at constant osmotic pressure. 33rd Annual General Meeting of Australian Society of Plant Physiologist. Perth, Australia.

ب-۸) مرجع دهی به اینترنت: مرجع دهی به نشانی‌های 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.

ب) شکل‌ها و جدول‌ها: شکل‌ها و جدول‌ها به ترتیب ذکر شده درون متن قرار بگیرند، توضیحات شکل‌ها در پایین و توضیحات جدول‌ها در بالای آنها نوشته شود. زیرنویس شکل‌ها و بالانویس جدول‌ها به یکی از دو صورت زیر تنظیم شود:

▪ مقادیر، میانگین ... تکرار $\pm SE$ (یا StD یا انحراف معیار یا خطای معیار) است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون (دانکن یا توکی یا ...) است.

▪ مقادیر، میانگین ... تکرار $\pm SE$ (یا StD یا انحراف معیار یا خطای معیار) است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $p < 0.05$ است.

نمونه: شکل ۱- درصد جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه بذرهای جوانه‌زده افاقیا پس از دو روز در غلظت‌های مختلف نفت‌خام (۰، ۲، و ۴٪ وزنی/وزنی). مقادیر، میانگین ۶ تکرار \pm انحراف معیار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $p < 0.05$ است.

- شکل ۲- میکروگراف الگوی تزئینات سطحی میکارپ با نگاره (SEM). a: نمای کلی میکارپ 25X، b: حلقه قاعده‌ای 62x، c: بافت حلقه قاعده‌ای میکارپ 124X، d: بافت زگیلی و غده‌دار 100X، e: الگوهای متنوع مشبک و چین خورده 250X، f: سطح زگیل‌دار میکارپ 500X.
- شکل ۳- الف) دندروگرام بررسی روابط خویشاوندی رقم‌های پسته بر اساس باندهای پروتئینی محورهای جنینی. A: اکبری، AA: احمدآقایی، F: فندق، K: کله قوچی. ب) دندروگرام بررسی روابط خویشاوندی رقم‌های پسته بر اساس باندهای پروتئینی لپه‌ها. A: اکبری، AA: احمدآقایی، F: فندق، K: کله قوچی.

درستی نام علمی گونه‌های گیاهی از لحاظ صفت گونه‌ای و نام آتور در پایگاه جهانی فهرست نام‌های گیاهی www.ipni.org بررسی شود.

نحوه ارسال مقاله

مقالات به صورت فایل word نسخه ۲۰۰۳ (با نام و نشانی نویسندگان، بدون نام و نشانی نویسندگان، فرم کپی‌رایت) به پایگاه اختصاصی مجله <http://uijs.ui.ac.ir/ijpb> ارسال گردد.

تماس با ما

نشانی پستی: اصفهان- خیابان هزار جریب- دانشگاه اصفهان- ساختمان کتابخانه مرکزی- طبقه دوم- اداره چاپ، انتشارات و مجلات

دفتر مجله زیست‌شناسی گیاهی، کدپستی: ۸۱۷۴۶۷۳۴۴۱

شماره تماس: ۷۹۳۴۲۵۵-۰۳۱۱، دورنگار: ۷۹۳۲۱۷۷-۰۳۱۱

نشانی پست الکترونیک: ijpb@ui.ac.ir

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

داوران این شماره (سال پنجم - شماره شانزدهم - تابستان ۱۳۹۲)

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، از خدمات علمی آنها تقدیر می‌گردد:

دانشگاه اصفهان	دکتر علی اکبر احسانپور
دانشگاه شهید باهنر کرمان	دکتر زهرا اسرار
دانشگاه تربیت مدرس نور	دکتر امید اسماعیل‌زاده
دانشگاه ارومیه	دکتر لطیفه پوراکبر
دانشگاه شهید مدنی آذربایجان	دکتر نادر چاپارزاده
دانشگاه پیام نور	دکتر مینا ربیعی
دانشگاه پیام نور مرکز نجف‌آباد	دکتر رؤیا رضوی‌زاده
پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران	دکتر حسن رهنما
دانشگاه تربیت مدرس تهران	دکتر فاطمه زرین‌کمر
دانشگاه شهرکرد	دکتر لیلا شبانی
دانشگاه شهید باهنر کرمان	دکتر حکیمه علمی
دانشگاه شاهد	دکتر اصغر کامرانی
دانشگاه شهید باهنر کرمان	دکتر بتول کرامت
دانشگاه رازی	دکتر ناصر کریمی
دانشگاه الزهراء (س)	دکتر مریم کشاورزی
دانشگاه الزهراء (س)	دکتر خدیجه کیارستمی
دانشگاه لرستان	دکتر مریم مددکار حق‌جو
دانشگاه شهید باهنر کرمان	دکتر فاطمه نصیبی
دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان	دکتر سیما یحیی‌آبادی

مجله علمی - پژوهشی زیست‌شناسی گیاهی
سال پنجم - شماره شانزدهم - تابستان ۱۳۹۲
شماره استاندارد بین‌المللی (نسخه چاپی): ۸۲۶۴-۲۰۰۸
شماره استاندارد بین‌المللی (نسخه الکترونیک): ۲۳۲۲-۲۲۰۴

فهرست

- بررسی میان‌کنش روی و اسیدهای آلی مالیک و سیتریک بر پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه ذرت (*Zea mays* L.) ۱۲-۱
زهرآ حسینی و لطیفه پورا کبر
- تغییرات شاخص‌های فیزیولوژیک و آناتومیک گیاه بامیه (*Hibiscus esculentus* L.) تحت باندهای مختلف اشعه فرابنفش ۲۶-۱۳
سروش کارگر خرمی، رشید جامعی و سیاوش حسینی سرقین
- تأثیر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر بهبود رشد و شاخص‌های بیوشیمیایی گیاهان پروانش بازرایی شده تحت تیمار تریپتوفان طی فرآیند سازگاری ۴۰-۲۷
سمانه رحمت‌زاده، جلیل خارا و سید کمال کاظمی تبار
- مقایسه توانایی تغلیظ فلزات سنگین در پوشش گیاهی منطقه اطراف صنایع فولادسازی در جاده بندر امام-ماهشهر، اهواز ۵۶-۴۱
پرژک ذوفن، عاطفه سعادت خواه و سعادت رستگارزاده
- اثر سالیسیلیک اسید بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه درمنه کوهی (*Artemisia aucheri* Boiss.) تحت تنش شوری ۷۰-۵۷
زهرآ رضایت‌مند، رمضانعلی خاوری‌نژاد و غلامرضا اصغری
- بررسی صفات تشریحی برگ پسته وحشی (*Pistacia atlantica* var *kurdica*) ۸۰-۷۱
نسرین سیدی، سید غلامعلی جلالی و محمد مقدم
- فعال‌سازی پاسخ‌های دفاعی تحت تنش ایزوتیوسیانات در گیاهچه‌های کلزا ۹۲-۸۱
فهیمة توکلی زانیانی، لیلا شبانی و رؤیا رضوی‌زاده
- مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره متانولی سه‌گونه از جنس *Trigonella* L. از ایران ۱۰۲-۹۳
رؤیا کرمان، مصطفی اسدبگی و زهرآ حاج‌مرادی
- بررسی جامعه‌شناسی گیاهی جنگل‌های جلگه‌ای نور و سیسنگان، استان مازندران ۱۲۱-۱۰۳
علیرضا نقی‌نژاد و سمیه زارع‌زاده

بررسی میان‌کنش روی و اسیدهای آلی مالیک و سیتریک بر پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه ذرت (*Zea mays* L.)

زهرا حسینی و لطیفه پوراکیبر *

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

چکیده

آلودگی‌های خاک با فلزات سنگین یکی از مشکلات جدی برای محیط و همچنین، یکی از تنش‌های محیطی مهم برای گیاهان محسوب می‌شود. روی، به عنوان عنصری ضروری برای رشد و نمو گیاهان نقش ساختاری و عملکردی فراوانی در بسیاری از فرآیندهای ساخت و ساز گیاهان بر عهده دارد، ولی مقدار اضافی آن به ویژه در خاک‌های اسیدی عامل محدود کننده رشد محسوب می‌شود. در این بررسی، دانه‌رست‌های ۵ روزه ذرت به مدت ۱۰ روز در شرایط هیدروپونیک، با سولفات روی صفر، ۴۰۰ و ۶۰۰ میکرومولار و همچنین، مالیک اسید و سیتریک اسید (۰/۳۲ میلی‌مولار) به همراه غلظت‌های روی تیمار شدند. پس از برداشت، وزن خشک، طول ریشه و اندام هوایی، میزان مالون‌دی‌آلدئید، پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز و گایاکول پراکسیداز) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که وزن خشک، طول ریشه و اندام هوایی با افزایش روی کاهش یافت، در حالی که میزان مالون‌دی‌آلدئید، پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با افزایش غلظت روی افزایش پیدا کرد. همچنین، در حضور اسیدهای آلی (مالیک اسید و سیتریک اسید) آثار سمیت در گیاه کاهش یافت. به طور کلی، فلز روی در غلظت بالا باعث ایجاد آثار سمی در گیاه ذرت شد، در حالی که حضور اسیدهای آلی باعث تعدیل آثار سمیت در این گیاه شد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، اسید آلی، پراکسید هیدروژن، سمیت روی، مالون‌دی‌آلدئید

مقدمه

(1996). این نوع آلودگی همچنین، یکی از تنش‌های

محیطی برای گیاهان است. زمین‌های کشاورزی، در

نتیجه صنعتی شدن، شهری شدن و فعالیت‌های

کشاورزی با فلزات سنگین آلوده شده‌اند (Kabata-

آلودگی خاک با فلزات سنگین مشکل محیطی

مهمی در سرتاسر جهان است. از آغاز انقلاب صنعتی،

آلودگی محیط با فلزات سمی سرعت یافت (Nriagu,

بافت‌های گیاهی تجمع می‌یابد، بسته به گونه گیاه باعث تغییر در برخی فرآیندهای متابولیکی گیاه شده، از این طریق در رشد و نمو گیاهان اختلال ایجاد می‌کند (Stoyanova and Doncheva, 2002). علایم سمیت روی در گیاهان شامل: کاهش تولید محصول، توقف رشد، زردی برگ‌ها در اثر کمبود آهن، کاهش سنتز کلروفیل، تجزیه کلروپلاست و اختلال در جذب فسفر، منیزیم و منگنز است (Chaney, 1993). اطلاعات جمع‌آوری شده نشان می‌دهد که روی زیاد باعث تنش اکسیداتیو توسط افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود (Marschner, 1995). توانایی گیاه برای رشد و بقا در محیط آلوده شده به فلز سنگین که معمولاً مقاومت نامیده می‌شود، می‌تواند از طریق مکانیسم‌های مختلف کسب شود که عبارتند از اجتناب و یا تحمل (Millaleo *et al.*, 2010).

عمده مکانیسم تحمل فلز سنگین، جداسازی آنها توسط ترکیبات آلی، در سلول‌ها و یا اندامک‌هایی است که فعالیت متابولیکی اندکی دارند. واکوئل بزرگترین و مهم‌ترین اندامک در این زمینه است، زیرا واکوئل می‌تواند بسیاری از ترکیبات سمی را انبار کند (Pittman, 2005). این ترکیبات می‌توانند آسیب به سلول را از طریق شلاته کردن فلز سنگین، انتقال آن به داخل واکوئل و محافظت پروتوپلاسم از یون فلز کاهش دهند (Davis *et al.*, 2001). جداسازی در واکوئل‌ها برای مقاومت به فلز روی در ساقه گیاه تجمع‌دهنده *Thlaspi caerulescens* گزارش شده است (Lasat *et al.*, 1998). چندین مکانیسم برای

(Pendias and Pendias, 1986). تجمع فلزات سنگین در خاک موجب کاهش فعالیت میکروبی خاک، تنوع زیستی و حاصلخیزی خاک شده، حتی می‌تواند به سلامتی جانوران و انسان در زنجیره غذایی آسیب رساند (Mathys, 1977). در بسیاری از خاک‌های اسیدی سراسر دنیا و حدود نیمی از زمین‌های زراعی که پتانسیل تولید غذا و مواد غذایی را دارند، فلزات سنگین عامل اصلی محدودیت رشد گیاهان هستند (کافی و مهدوی دامغانی، ۱۳۷۹). روی، عنصر کم مصرف ضروری برای رشد و نمو طبیعی گیاهان محسوب می‌شود و در بسیاری از فرآیندهای متابولیسمی آنها شرکت می‌کند، با وجود این، مقادیر خیلی کم یا زیاد آن باعث اختلال در فرآیندهای مهم متابولیسمی و در نتیجه توقف یا کاهش رشد آنها می‌شود (Broadley *et al.*, 2007). روی در فعالیت آنزیم‌ها، بیوسنتز کلروفیل، اکسین، پروتئین و کربوهیدرات و همچنین، متابولیسم لیپید، اسید نوکلئیک و استحكام غشا شرکت دارد (MadhavaRao and Srestry, 2000).

برخی از محققان معتقدند که فلز روی از طریق محافظت پروتئین‌ها و لیپیدهای غشایی در برابر رادیکال‌های آزاد و سایر محصولات حاصل از واکنش‌های احیایی درون سلولی، باعث حفاظت تمامیت غشای سلول‌ها می‌شود، همچنین، این فلز به همراه مس بخش اصلی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را به عنوان جاروب‌کننده رادیکال‌های آزاد تشکیل می‌دهد (Alloway, 2008). مانند سایر فلزات سنگین هنگامی که فلز روی در خاک و در نهایت، در

برای آبیگری، بذرها به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر خیسانده شدند. بذرها برای جوانه‌زنی به پتری‌دیش‌هایی به قطر ۱۵ سانتی‌متر که حاوی دو لایه کاغذ صافی مرطوب بودند، منتقل شدند. پتری‌دیش‌های حاوی بذر به آن با دمای ۲۷ درجه سانتیگراد منتقل شد. پس از ۵ روز، دانه‌رست‌های همسان ذرت درون گلدان‌های پلاستیکی حاوی ماسه قرار داده شد و با محلول هو گلند حاوی غلظت‌های صفر، ۴۰۰ و ۶۰۰ میکرومول سولفات روی و همچنین، سیتریک اسید و مالیک اسید ۰/۳۲ میکرومولار (Inaba and Takenaka, 2005) به همراه غلظت‌های روی (تیمارها شامل غلظت‌های صفر، ۴۰۰، ۶۰۰ میکرومولار روی، ۴۰۰ میکرومولار روی + سیتریک اسید، ۴۰۰ میکرومولار روی + مالیک اسید، ۶۰۰ میکرومولار روی + سیتریک اسید و ۶۰۰ میکرومولار روی + مالیک اسید) و از هر کدام ۶ تکرار تیمار شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. دوره تیمار (۱۰ روز) در اتاقک‌های کشت با شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و درجه حرارت ۲۲/۲۷ درجه سانتیگراد (روز/شب) انجام شد. سپس، گیاهان برای ارزیابی شاخص‌های مورد نظر برداشت شدند. پس از اندازه‌گیری طول ریشه با یک خط کش، ۳ تکرار از هر تیمار برای خشک کردن نمونه‌ها برای تعیین وزن خشک ریشه‌ها و اندام هوایی پس از شستشو با آب مقطر در پاکت‌های مجزا قرار داده شد و در آن ۸۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت. وزن خشک با ترازویی با حساسیت ۰/۰۰۱ گرم اندازه گرفته شد. ۳ تکرار دیگر از هر تیمار پس از برداشت و جدا کردن اندام هوایی از ریشه‌ها

توضیح غیر فعال شدن فلز روی در واکنش بیان شده است که شامل رسوب به عنوان فیتات روی (Qiu *et al.*, 2008) و اتصال به اسیدهای آلی با وزن مولکولی پایین است (Dou *et al.*, 2008).

برای کاهش سمیت فلز در گیاهان، سیستم‌های آنتی‌اکسیدان به عنوان مکانیسم تحمل بررسی می‌شوند (Millaleo *et al.*, 2010). سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، فنل پراکسیداز (POX)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، گایاکول پراکسیداز (GPX) و مولکول‌های آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی مانند آسکوربات، آلفا توکوفرول، کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها و گلوکاتینون هستند (Apel and Hirt, 2004).

گونه‌های مختلف گیاهی واکنش‌های متفاوتی را در واکنش به آلودگی خاک نشان می‌دهند. از آنجا که گیاه ذرت، محصول مهم کشاورزی بوده، در سطح وسیعی کشت می‌شود، هدف از این مطالعه، بررسی اثر سمیت روی به همراه برخی اسیدهای آلی در گیاه ذرت از طریق بررسی برخی پاسخ‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی به ویژه شاخص‌های رشد و پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی بوده است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در گروه زیست‌شناسی دانشگاه ارومیه در سال ۱۳۹۰ انجام شد. ابتدا بذرها در مدت ۱۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت ۱۰ درصد سدیم استریل شد. سپس، چندین بار با آب مقطر شستشو داده شد و

مدت ۵ دقیقه با نیروی ۱۰۰۰۰ g سانتریفیوژ شد. جذب محلول حاصل توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (ضریب خاموشی = $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

سنجش فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز و کاتالاز و گلوکاتایون ردوکتاز

برای استخراج عصاره گیاهی از روش Kang و Saltiveit (۲۰۰۲) با اندکی تغییر استفاده شد. ۰/۵ گرم از بافت تر ریشه و اندام هوایی به همراه ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج تریس-کلریدریک اسید ۵۰ میلی‌مولار (اسیدیته ۷) محتوی ۳ میلی‌مولار MgCl_2 و ۱ میلی‌مولار EDTA در هاون سرد ساییده شد. بافر استخراج برای آنزیم آسکوربات پراکسیداز محتوی ۰/۲ میلی‌مولار آسکوربات نیز بود. همگنای حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد با سرعت ۵۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و کاتالاز استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) با روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (اسیدیته ۷) محتوی EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، آسکوربات سدیم یک میلی‌مولار، ۰/۲ میلی‌لیتر H_2O_2 یک درصد و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره استخراجی بود. فعالیت APX به صورت کاهش در جذب H_2O_2 طی یک دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر محاسبه شد (ضریب خاموشی = $2/8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

برای انجام آزمایشاتی که نیاز به بافت تازه داشتند در فریزر ۸۰- درجه سانتیگراد قرار داده شد.

اندازه‌گیری میزان پراکسید هیدروژن

میزان پراکسید هیدروژن با روش Jana و Choudhuri (۱۹۸۱) اندازه‌گیری شد. ۰/۵ گرم بافت برگ در ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات با اسیدیته ۶/۸ همگن شد. عصاره حاصل به مدت ۲۵ دقیقه با نیروی ۶۰۰۰ سانتیفیوژ شد. برای تعیین میزان پراکسید هیدروژن ۳ میلی‌لیتر از عصاره حاصله برداشته، روی آن ۱ میلی‌لیتر تیتانیوم کلرید ۰/۱ درصد در سولفوریک اسید ۲۰ درصد (V/V) اضافه شد و محلول فوق به مدت ۱۵ دقیقه با نیروی ۶۰۰۰ سانتیفیوژ شد. جذب محلول زرد رنگ حاصل توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (ضریب خاموشی = $0/28 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید

برای اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدئید به عنوان شاخص پراکسیداسیون لپیده‌های غشایی از روش Heath و Packer (۱۹۶۸) استفاده شد. یک گرم بافت تر اندام هوایی و ریشه توزین و توسط ۲/۵ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک اسید ۱۰ درصد ساییده شد. سپس، محلول حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در داخل سانتیفیوژ با نیروی ۱۵۰۰۰ g گذاشته شد. پس از عمل سانتیفیوژ، حجم مساوی از عصاره رویی و تیوباریوتیک اسید ۰/۵ درصد در تری‌کلرواستیک اسید ۲۰ درصد به داخل لوله آزمایش منتقل شد و به مدت ۳۰ دقیقه در داخل انکوباتور ۹۶ درجه سانتیگراد قرار داده شد. در پایان، لوله‌ها به مدت ۵ دقیقه وارد آب یخ شد و پس از آن، به

سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز

سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) با روش Upadhyaya و همکاران (۱۹۸۵) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (اسیدیته ۷) محتوی یک میلی‌لیتر گایاکول یک درصد، یک میلی‌لیتر H_2O_2 یک درصد و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره استخراجی بود. فعالیت GPX به صورت افزایش در جذب گایاکول اکسید شده طی یک دقیقه در طول موج ۴۲۰ نانومتر محاسبه شد (ضریب خاموشی = $26/6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) با روش Aebi (۱۹۸۴) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (اسیدیته ۷) محتوی ۰/۲ میلی‌لیتر H_2O_2 یک درصد و ۰/۳ میلی‌لیتر عصاره استخراجی بود. فعالیت آنزیم کاتالاز به صورت کاهش در جذب طی یک دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر محاسبه شد (ضریب خاموشی = $0/0436 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

سنجش فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز

سنجش فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز (GR) با روش Foyer و Halliwell (۱۹۷۶) با اندکی تغییر انجام شد. اساس سنجش کاهش جذب نمونه‌ها طی یک دقیقه در طول موج ۳۴۰ نانومتر به علت اکسیداسیون NADPH بود. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار، کلرید منیزیم ۲/۵ میلی‌مولار، NADPH ۰/۲ میلی‌مولار، GSSG ۰/۵ میلی‌مولار و ۰/۳ میلی‌لیتر عصاره استخراجی بود (ضریب خاموشی = $6/2 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

تحلیل داده‌ها

میانگین و انحراف استاندارد نمونه‌ها با آنالیز واریانس در نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۱۶/۰ و Excel محاسبه شد. میزان معنی‌داری تغییرات در گروه تجربی در مقایسه با شاهد بر اساس آنالیز واریانس ANOVA و آزمون‌های توکی و دانکن در سطح ۰/۰۵ است.

نتایج

مطالعه علایم ظاهری در گیاهان ذرت شاهد و تیمار شده با روی نشان داد که افزایش غلظت روی باعث نکروزه شدن حاشیه برگ‌ها شده است. نتایج حاصل از تأثیر روی بر طول ریشه، اندام هوایی و وزن خشک در جدول ۱ آورده شده است. نتایج حاصل از بررسی‌ها بر طول ریشه و اندام هوایی در گیاهان تیمار دیده نشانگر آن است که با افزایش روی، طول ریشه و اندام هوایی و وزن خشک آن کاهش یافته است. این کاهش رشد و وزن خشک در اندام هوایی در هر دو غلظت ۴۰۰ و ۶۰۰ میکرومول و در ریشه تنها در غلظت ۶۰۰ میکرومول نسبت به شاهد معنی‌دار است، اما با افزودن اسیدهای آلی روند کاهش تعدیل یافته است.

میزان مالون‌دی‌آلدئید به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی با افزایش غلظت روی افزایش پیدا کرد. این افزایش در غلظت ۶۰۰ میکرومولار روی به بیشینه رسید، ولی تفاوت معنی‌داری بین غلظت ۴۰۰ و ۶۰۰ میکرومولار مشاهده نشد. همچنین، افزودن مالیک اسید و سیتریک اسید باعث کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید هم در اندام هوایی و هم در ریشه نسبت به تیمار روی به تنهایی شد و بیشینه

است و در ریشه افزایش فعالیت آنزیم تحت تیمار روی نسبت به شاهد معنی‌دار نیست. همچنین، افزودن مالیک اسید و سیتریک اسید باعث کاهش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز هم در ریشه و هم در اندام هوایی نسبت به اعمال به تنهایی روی شد (شکل ۴).

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز تحت تنش روی در شکل ۵ نشان داده شده است. با افزایش غلظت روی میزان فعالیت آنزیم افزایش پیدا کرد و این افزایش هم در اندام هوایی و هم در ریشه نسبت به شاهد معنی‌دار است. افزودن مالیک اسید و سیتریک اسید باعث کاهش فعالیت آنزیم در اندام هوایی و ریشه نسبت به اعمال به تنهایی روی شد. بیشینه کاهش در اعمال سیتریک اسید مشاهده شد.

میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز تحت تیمار Zn در هر دو اندام هوایی و ریشه افزایش یافت و این افزایش فقط در غلظت ۶۰۰ میکرومول نسبت به شاهد معنی‌دار است. همچنین، اسیدهای آلی مالیک و سیتریک باعث کاهش آثار سمیت فلز روی و کاهش فعالیت آنزیم GR شدند (شکل ۶).

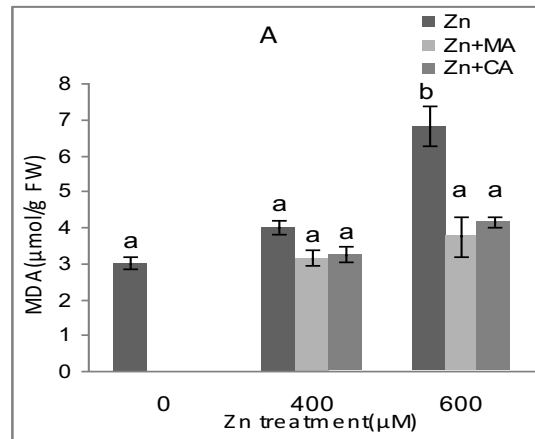
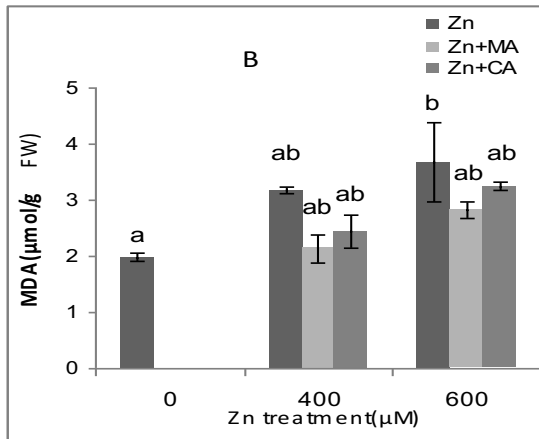
کاهش در تیمار مالیک اسید مشاهده شد. با وجود این، تفاوت معنی‌داری بین اعمال سیتریک اسید و مالیک اسید مشاهده نشد (شکل ۱).

نتایج حاصل از بررسی میزان H_2O_2 نشان داد که با افزایش غلظت روی تولید H_2O_2 هم در ریشه و هم در اندام هوایی نسبت به شاهد افزایش پیدا کرد و این افزایش فقط در غلظت ۶۰۰ میکرومول معنی‌دار بود. با افزودن مالیک اسید و سیتریک اسید روند افزایش پراکسید هیدروژن کمتر شد (شکل ۲). نتایج حاصل از اندازه‌گیری آنزیم آسکوربات پراکسیداز نشان داد که با افزایش غلظت روی میزان فعالیت این آنزیم هم در اندام هوایی و هم در ریشه افزایش می‌یابد. این افزایش در تمام تیمارها نسبت به شاهد معنی‌دار بود. همچنین، با افزودن مالیک اسید و سیتریک اسید اثر سمیت روی کاهش پیدا کرد و روند افزایش فعالیت آنزیم کمتر شد (شکل ۳).

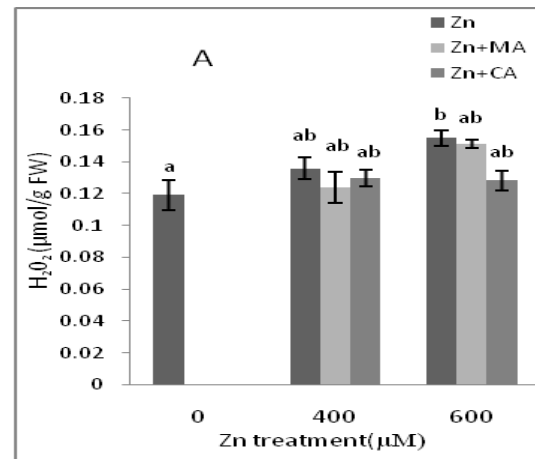
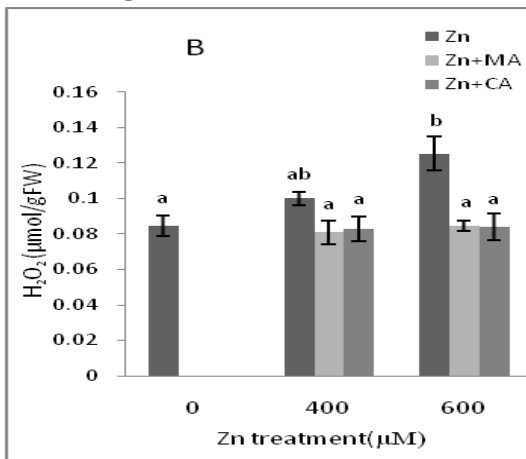
میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار با روی افزایش یافت و این میزان در غلظت ۶۰۰ میکرومول در اندام هوایی نسبت به شاهد درخور توجه و معنی‌دار

جدول ۱- طول و وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه ذرت تحت تأثیر غلظت‌های مختلف روی و بر همکنش روی با مالیک اسید و سیتریک اسید. مقادیر میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار است. *: وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $P < 0.05$ است.

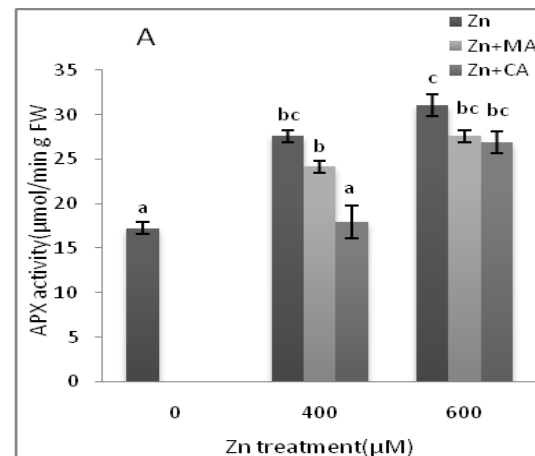
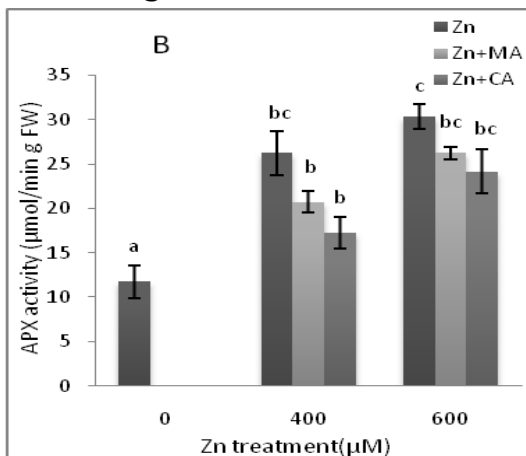
تیمارها	طول ریشه (cm)	طول اندام هوایی (cm)	وزن خشک ریشه (g)	وزن خشک اندام هوایی (g)
شاهد (۰ μmol)	۲۲/۶ \pm ۰/۳۸	۴۸/۹ \pm ۱/۵۵	۰/۱۰۲ \pm ۰/۰۰۲	۰/۲۰۱ \pm ۰/۰۰۴
روی (۴۰۰ μmol)	۲۱/۴ \pm ۰/۹۸	۳۹/۴ \pm ۰/۸۷*	۰/۰۸۶ \pm ۰/۰۰۷	۰/۱۰۲ \pm ۰/۰۰۱*
روی (۴۰۰ μmol) + مالیک اسید	۲۲/۷ \pm ۰/۵۱	۴۴ \pm ۱/۲۷	۰/۰۹۵ \pm ۰/۰۰۱	۰/۱۴۹ \pm ۰/۰۰۱*
روی (۴۰۰ μmol) + سیتریک اسید	۲۲/۵ \pm ۰/۲۲	۴۳/۹ \pm ۱/۳	۰/۱۰۳ \pm ۰/۰۰۲	۰/۱۸۲ \pm ۰/۰۰۲*
روی (۶۰۰ μmol)	۱۸/۲ \pm ۰/۲۹*	۳۸/۳ \pm ۰/۶۹*	۰/۰۷۵ \pm ۰/۰۰۴*	۰/۰۸۵ \pm ۰/۰۰۲*
روی (۶۰۰ μmol) + مالیک اسید	۲۲/۳ \pm ۰/۸۳	۴۲/۹ \pm ۰/۸*	۰/۰۹۴ \pm ۰/۰۰۱	۰/۱۵۳ \pm ۰/۰۰۲*
روی (۶۰۰ μmol) + سیتریک اسید	۲۲/۸ \pm ۰/۹۲	۴۲/۹ \pm ۰/۷۵*	۰/۱۰۳ \pm ۰/۰۰۱	۰/۱۷۷ \pm ۰/۰۰۲*



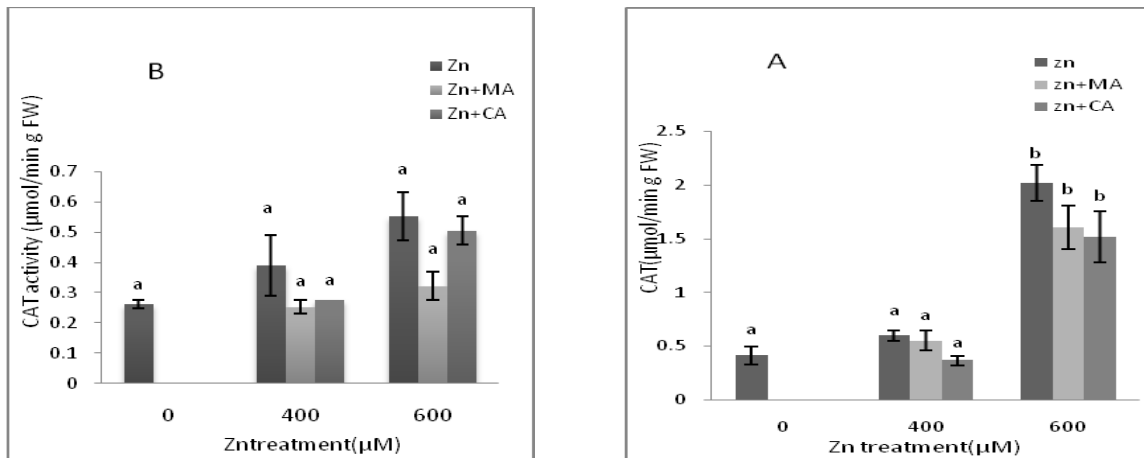
شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف روی و بر همکنش آن با مالیک اسید (MA) و سیتریک اسید (CA) بر میزان مالون‌دی‌آلدئید اندام هوایی (A) و ریشه (B). مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ است.



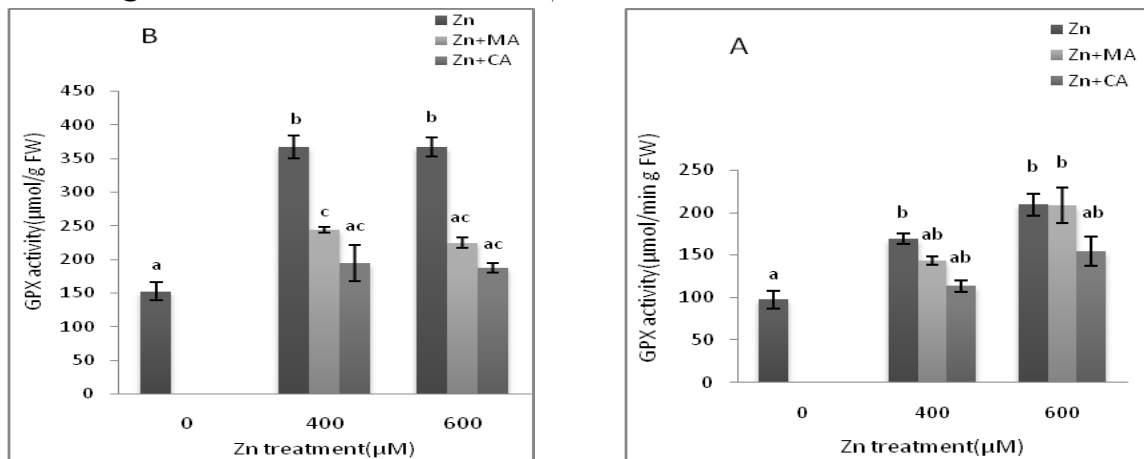
شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف روی و بر همکنش آن با مالیک اسید (MA) و سیتریک اسید (CA) بر میزان H₂O₂ اندام هوایی (A) و ریشه (B). مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ است.



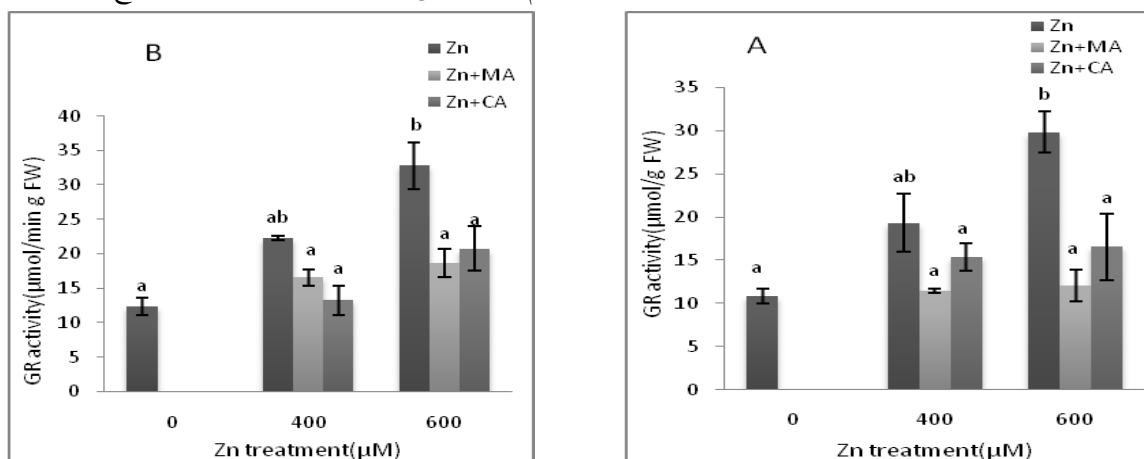
شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف روی و بر همکنش آن با مالیک اسید (MA) و سیتریک اسید (CA) بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز اندام هوایی (A) و ریشه (B). مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ است.



شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف روی و بر همکنش آن با مالیک اسید (MA) و سیتریک اسید (CA) بر میزان فعالیت کاتالاز اندام هوایی (A) و ریشه (B). مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ است.



شکل ۵- غلظت‌های مختلف روی و بر همکنش آن با مالیک اسید (MA) و سیتریک اسید (CA) بر میزان فعالیت گایاکول پراکسیداز اندام هوایی (A) و ریشه (B). مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ است.



شکل ۶- اثر غلظت‌های مختلف روی و بر همکنش آن با مالیک اسید (MA) و سیتریک اسید (CA) بر میزان فعالیت گلوکاتایون ردوکتاز اندام هوایی (A) و ریشه (B). مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ است.

بحث

شده با دیگر فلزات سنگین نیز مشاهده شده است (Nakano and Asada, 1981).

پراکسید هیدروژن در بسیاری از تنش‌های محیطی در گیاهان تولید می‌شود. افزایش در ROSهایی مانند OH⁻، O₂⁻ و H₂O₂ که به ایجاد تنش اکسیداتیو منجر می‌شوند، تحت تنش فلزات سنگین مشاهده شده است. در این پژوهش، محتوای H₂O₂ در گیاهان تیمار شده با روی افزایش یافت. به طور مشابه، افزایش در محتوای H₂O₂ در *Vigna mungo* گزارش شده است (Gupta *et al.*, 2011). همچنین، مشابه با نتایج این تحقیق، افزایش در میزان MDA و H₂O₂ در غلظت‌های بالای روی در نیشکر گزارش شده است (Jain *et al.*, 2010). سمیت روی باعث القای تنش اکسیداتیو از طریق تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) می‌شود (Weckx and Clijsters, 1997). مقدار بالای ROS در شرایط تنش شدید ایجاد می‌شود و تولید زیاد این ROSها مانند سوپر اکسید، H₂O₂ و OH⁻ در گیاهان تحت تنش فلز ایجاد می‌شود (Galligo *et al.*, 1999). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در سلول‌های گیاهی ممکن است H₂O₂ را به H₂O تبدیل کنند و اثر سمیت H₂O₂ را خنثی کنند (Rezai and Farboodnia, 2008). در گیاهان تعدادی از آنزیم‌ها مقادیر H₂O₂ درون سلولی را تنظیم می‌کنند، اما به نظر می‌رسد آنزیم‌های CAT، APX و GPX اهمیت بیشتری دارند (McKersie and Leshem, 1994). آنزیم آسکوربات پراکسیداز مهم‌ترین پراکسیداز در رفع سمیت H₂O₂ هم در سیتوزول و هم در کلروپلاست‌هاست (Mittova *et al.*, 2000). نتایج حاصل نشان می‌دهد که افزایش سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی القا شده توسط روی ممکن

علیرغم نقش بسیار مهم روی در ساختار و راه‌اندازی بسیاری از فرآیندهای متابولیکی گیاه، مقدار بالای این فلز در گیاه باعث بروز برخی علائم ناشی از تنش و عدم رشد طبیعی گیاهان می‌شود. در این تحقیق، مقدار بالای روی باعث کاهش رشد طولی و وزن خشک ریشه و اندام هوایی شد. برخی از پژوهشگران معتقدند که مهار رشد گیاهان در اثر غلظت‌های بالای فلز روی ممکن است به علت رقابت این فلز با فسفر در گیاه باشد (Rout and Das, 2003). تجمع بالای فلز روی در سیتوزول سلول‌های گیاهی در اثر غلظت بالای روی در گیاه نیز از طریق اختلال در عملکرد طبیعی سلول‌ها و مهار فرآیند تنفس و واکنش‌های انرژی‌خواه مرتبط با رشد سلول می‌تواند باعث کاهش رشد و نمو ایده‌آل گیاهان شود (Candan and Tarhan, 2003).

یکی از اختلالات ناشی از القای تنش اکسیداتیو در گیاهان، اثر بر لیپیدهای غشایی و تغییر وضعیت تمامیت غشاهای سلولی است. رادیکال‌های آزاد اکسیژن با اثر بر پیوندهای دوگانه اسیدهای چرب غیراشباع در غشا، واکنش‌های زنجیره‌ای پراکسیداسیون را تحریک و به تخریب اسیدهای چرب منجر می‌شوند (Savoure *et al.*, 1999). مقدار مالون‌دی‌آلدئید (MDA) که در شرایط تنش در بافت‌ها به وجود می‌آید به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدها شناخته شده است. نتایج آزمایش حاضر نشان داد که با افزایش غلظت روی میزان مالون‌دی‌آلدئید در گیاه افزایش پیدا می‌کند. برخی مطالعات هم نشان داده‌اند که میزان بالای روی باعث افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود (Wang *et al.*, 2009). پاسخ مشابه در گیاهان تیمار

اسید می‌تواند در بیان پروتئین‌های مخصوص و یا آنزیم‌های مرتبط با دفاع آنتی‌اکسیدانی نقش داشته باشد (Gao *et al.*, 2012). Mora و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کرده‌اند که تراوش اگزالات و سترات توسط ریشه می‌تواند منگنز فراهم در ریزوسفر را کاهش داده، تحمل به این فلز را در گیاه تلخه (ryegrass) افزایش دهد.

به طور کلی، می‌توان بیان نمود که افزایش غلظت روی باعث بیشتر شدن سمیت در گیاه ذرت شده که این افزایش در ارتباط با القا تنش‌های اکسیداتیو توسط فلز روی در گیاه ذرت بود. احتمال داده می‌شود به کار بردن اسیدهای آلی مانند سیتریک اسید و مالیک اسید باعث کاهش سمیت ناشی از فلز روی با جداسازی این فلز از پروتوپلاسم و انتقال به صورت شلاته شده به داخل واکوئل، در ذرت با افزایش رشد گیاه و کاهش پراکسیداسیون غشا همراه باشد. احتمالاً این اسیدهای آلی از طریق پیوند یافتن با فلز سنگین مانع حضور مقادیر زیاد این فلز در سیتوزول شده، از این طریق از آسیب‌رسانی این فلز در غلظت بالا به مولکول‌های زیستی این بخش جلوگیری نموده است. در نتیجه، با کاهش فلز در بخش سیتوزولی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان تیمار دیده نیز در سطح گیاهان شاهد باقی مانده است.

است به عنوان مکانیسم دفاعی ثانویه در قبال تنش اکسیداتیو باشد. همچنین، نتایج آزمایش نشان داد که در حضور مالیک اسید و سیتریک اسید آثار سمیت فلز روی کمتر شد و این نتایج ممکن است به علت تغییر ساختمان شیمیایی فلز و تغییر از حالت با سمیت زیاد به شکلی که سمیت کمتری در گیاه دارد، باشد. عمده مکانیسم تحمل فلز سنگین، جداسازی آنها توسط ترکیبات آلی در سلول‌ها و یا اندامک‌هایی با فعالیت متابولیکی کمتر است. واکوئل به عنوان بزرگترین و مهم‌ترین اندامک در این زمینه است، زیرا واکوئل می‌تواند بسیاری از ترکیبات سمی را انبار نماید (Pittman, 2005). این ترکیبات می‌توانند آسیب به سلول را از طریق شلاته کردن فلز سنگین، انتقال آن به داخل واکوئل و محافظت پروتوپلاسم از یون فلز، کاهش دهند (Davis *et al.*, 2001). نقش کلیدی مشابه اخیراً برای اگزالیک اسید در جداسازی منگنز داخل سلول توسط شلاته کردن منگنز مازاد در واکوئل‌های گیاهان تجمع‌دهنده منگنز نشان داده شده است (Dou *et al.*, 2008). اسیدهای کربوکسیلیکی مانند سیتریک اسید و مالیک اسید دارای خاصیت باند شدن با فلزات سنگین هستند و می‌توانند نقش اساسی در تحمل و سمیت‌زدایی فلزات سنگین داشته باشند (Clemens, 2001). سیتریک

منابع

کافی، م. و مهدوی دامغانی، ع. م. (۱۳۷۹) مکانیسم‌های مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد.

Aebi, H. (1984) Catalase *in vitro*. Methods in Enzymology 105: 121-126.

Apel, K. and Hirt, H. (2004) Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and

signal transduction. Annual Review of Plant Biology 55: 373-379.

Broadley, M. R., White, P. J., Hammond, J. P. and Zilko, I. V. (2007) Zinc in plants. New

- Phytologist 173: 677-702.
- Candan, N. and Tarhan, L. (2003) Change in chlorophyll-carotenoid contents, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in Zn-stressed *Mentha pulegium*. Turk Journal Chemistry 27: 21-30.
- Chaney, R. L. (1993) Zinc phytotoxicity. In: Zinc in soils and plants (Ed. Robenson, A. D.) 135-150. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Clemens, S. (2001) Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. Planta 212: 475-486.
- Davis, M. A., Pritchard, S. G., Boyd, R. S. and Prior, S. A. (2001) Developmental and induced responses of nickel-based and organic defenses of the nickel-hyper accumulating shrub, *Psychotriadourrei*. New Phytologist 150: 49-58.
- Dou, C., Fu, X., Chen, X, Shi, J. and Chen, Y. (2008) Accumulation and detoxification of manganese in hyperaccumulator *Phytolacca americana*. Plant Biology 11: 664-670.
- Foyer, C. H. and Halliwell, B. (1976) The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. Planta 133: 21-25.
- Galligo, S. M., Benavides, M. P. and Tomoro, M. L. (1999) Effect of Cd ions on antioxidant defense system in sunflower cotyledons. Plant Biology 42: 49-55.
- Gao, Y., Miao, C., Xia, J., Luo, Ch., Mao, L., Zhou, P. and Shi, W. (2012) Effect of citric acid on phytoextraction and antioxidative defense in *Solanum nigrum* L. as a hyper accumulator under Cd and Pb combined pollution. Environmental and Earth Science 65(7): 1923-1932.
- Gupta, B., Pathak, G. C. and Pandey, N. (2011) Induction of oxidative stress and antioxidant responses in *Vigna mungo* by zinc Stress. Russian Journal of Plant Physiology 58: 85-91.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics 125: 189-198.
- Jain, R., Srivastava, S., Solomon, S., Shrivastava, A. K. and Chandra, A. (2010) Impact of excess zinc on growth parameters, cell division, nutrient accumulation, photosynthetic pigments and oxidative stress of sugarcane (*Saccharum* spp.). Acta Physiologiae Plantarum 32: 979-986.
- Jana, S. and Choudhuri, M. A. (1981) Glycolate metabolism of three submerged aquatic angiosperms during aging. Aquatic Botany 12: 345-354.
- Kabata-Pendias, A. and Pendias, H. (1986) Trace Elements in Soils and Plants, CRC Press, Boca Raton.
- Kang, H. M. and Saltveit, M. E. (2002) Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling (leaves and roots) and differentially affected by salicylic acid. Physiologia Plantarum 115: 577-576.
- Lasat, M. M., Baker, A. J. M. and Kochian, L. V. (1998) Altered Zn compartmentation in the root symplasm and stimulated Zn absorption in to the leaf as mechanisms involved in Zn hyper accumulation in *Thlaspi caerulescens*. Plant Physiology 118: 875-883.
- MadhavaRao, K. V. and Srestry, T. V. S. (2000) Antioxidative parameters in the seedlings of pigeon pea (*Cajanuscajan millspaugh* L.) in response to Zn and Ni stresses. Plant Science 157: 113-128.
- Marschner, H. (1995) Mineral nutrition of higher plants, 2nd edition, Academic Press, London.
- Mathys, W. (1977) The role of malate, oxalate, and mustard oil glucosides in the evolution of zinc resistance in herbage plants. Plant Physiology 40: 130-136.
- McKersie, B. D. and Leshem, Y. (1994) Stress and stress coping in cultivated plants. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Millaleo, R., Reyes-Diaz, M., Ivanov, A. G., Mora, M. L. and Alberdi, M. (2010) Manganese as essential and toxic element

- for plants: Transport, accumulation and resistance mechanisms. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 10: 476-494.
- Mittova, V., Volokita, M., Guy, M. and Tal, M. (2000) Activities of SOD and the ascorbate-glutathione cycle enzymes in subcellular compartments in leaves and roots of the cultivated tomato and its wild salt tolerant relative *Lycopersi conpennellii*. *Physiology Plant* 110: 45-51.
- Mora, M., Rosas, A., Ribera, A. and Rengel, R. (2009) Differential tolerance to Mn toxicity in perennial ryegrass genotypes: involvement of antioxidative enzymes and root exudation of carboxylates. *Plant Soil* 320: 79-89.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology* 22: 867-880.
- Nriagu, J. O. (1996) A history of global metal pollution. *Nature* 272: 223-224.
- Pittman, J. (2005) Managing the manganese: molecular mechanisms of manganese transport and homeostasis. *New Phytologist* 167: 733-742.
- Qiu, R. L., Zhao, X., Tang, Y. T., Yu, F. M. and Hu, P. J. (2008) Antioxidative response to Cd in a newly discovered cadmium hyper accumulator in *Arabis paniculata* F. *Chemosphere* 74: 6-12.
- Rezai, K. and Farboodnia, T. (2008) Manganese toxicity effects on chlorophyll content antioxidant enzymes in pea plant (*Pisum sativum* L. cv. Qazvin). *Agricultural Journal* 3: 454-445.
- Alloway, B. J. (2008) Zinc in soils and crop nutrition. 2nd edition, Publishers: Zinc Association (IZA) and International Fertilizer Industry Association (IFA). Brussels, Belgium and Paris.
- Rout, G. R. and Das, P. (2003) Effect of metal toxicity on plant growth and metabolism; zinc. *Agronomy and soil science* 23: 3-11.
- Savoure, A., Thorin, D., Darey, M., Hau, X., Mauro, S., Montagu, V., Inze, D. and Vebruggen, M. (1999) NaCl and CuSO₄ treatment trigger distinct oxidative defence mechanisms in *Nicotiana plumbaginifolia* L. *Plant Cell and Environment* 22: 382-396.
- Stoyanova, Z. and Doncheva, S. (2002) The effect of zinc supply and succinate treatment on plant growth and mineral uptake in pea plant. *Plant physiology* 14(2): 111-116.
- Upadhyaya, A., Sankhla, D., Davis, T. D., Sankhla, N. and Smidh, B. N. (1985) Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. *Plant Physiology* 121: 453-461.
- Wang, C., Zhang, S. H., Wang, P. F., Hou, J., Zhang, W. J., Li, W. and Lin, Z. P. (2009) The effect of excess Zn on mineral nutrition and antioxidative response in rapeseed seedling. *Chemosphere* 75(11): 1468-1476.
- Weckx, J. E. J. and Clijsters, H. (1997) Zn phytotoxicity induces oxidative stress in primary leaves of *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiology and Biochemistry* 35: 405-410.
- Inaba, S. and Takenaka, C. (2005) Effects of dissolved organic matter on toxicity and bioavailability of copper for lettuce seedlings. *Environment International* 31: 603-608.

تغییرات شاخص‌های فیزیولوژیک و آناتومیک گیاه بامیه (*Hibiscus esculentus* L.) تحت باندهای مختلف اشعه فرابنفش

سروش کارگر خرمی، رشید جامعی* و سیاوش حسینی سرقین
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

چکیده

در پژوهش حاضر، گیاهان بامیه به مدت ۱۲ روز در معرض باندهای مختلف اشعه فرابنفش قرار گرفتند. پس از تیمار، طول ریشه و ساقه، وزن تر و خشک، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، قندهای احیا کننده، پروتئین کل و سطح برگ اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که میزان آنها تحت تأثیر اشعه فرابنفش به ویژه UV-B و UV-C به طور معنی‌داری کاهش یافته است. علاوه بر این، در مطالعات ساختاری نیز مشاهده شد که ضخامت اندام‌های مختلف کاهش و میزان تراکم و شاخص روزنه‌ای و طول افزایش یافته است. در بررسی تأثیر اشعه فرابنفش روی اپیدرم ساقه، برگ و دمبرگ مشاهده شد که میزان طول سلول‌ها کاهش و عرض آنها افزایش یافته است. نتایج نشان داد که اشعه UV-B و UV-C دارای آثار زیانبار بر روی بامیه است، در حالی که UV-A دارای آثار زیان بار نیست.

واژه‌های کلیدی: آناتومی، اشعه فرابنفش، پروتئین، رنگیزه، گیاه بامیه، قند

مقدمه

است. این آثار روی گیاهان می‌تواند شامل کاهش فرآیند فتوسنتز، تخریب پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها، تنش اکسایشی و کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی باشد و تغییر در ریخت‌شناسی، تبارزایی و بیوماس گیاه را نیز باعث می‌شود. همچنین، اشعه UV باعث تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن مانند اکسیژن منفرد، آنیون سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل می‌شود که این رادیکال‌ها به برهم زدن تعادل متابولیسمی در سلول‌ها منجر می‌شوند (Asada,

امروزه فعالیت‌های صنعتی بشر باعث افزایش ترکیبات آلوده کننده اتمسفر به ویژه ترکیبات هالوژن‌دار شده است، این ترکیبات سبب تخریب لایه اوزون می‌شوند. کاهش این لایه باعث افزایش میزان اشعه فرابنفش (UV) در سطح زیست کره شده، مشکلاتی را برای موجودات زنده به وجود آورده است (Buchholz et al., 1995). آثار اشعه UV بر گیاهان به علت نیاز دائمی آنها به نور خورشید اجتناب‌ناپذیر

از میوه‌های رسیده و ساقه‌های آن که فیبر زیادی دارند، استفاده می‌شود (Javed *et al.*, 2009).

با توجه به گرمسیر بودن گیاه بامیه و اهمیت تغذیه‌ای و صنعتی آن، هدف از این مطالعه بررسی برخی تغییرات فیزیولوژیک و ساختاری القا شده توسط طیف‌های مختلف اشعه UV روی گیاه بامیه است. مرور منابع فارسی و انگلیسی نشان داد که تا به حال چنین مطالعاتی روی این گیاه و گیاهان مشابه انجام نشده است.

مواد و روش‌ها

کشت گیاه

بذرهای سالم و هم اندازه گیاه بامیه رقم Clemson Spineless با قدرت جوانه‌زنی ۸۵ تا ۹۹ درصد که با راهنمایی مرکز تحقیقات کشاورزی اهواز از شرکت هلندی Bakker Brothers تهیه شده بودند، انتخاب شد. بذرهای پس از ضد عفونی با محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد و شستشو با آب مقطر برای جوانه‌زنی به پتری‌دیش‌هایی که حاوی دو لایه کاغذ صافی مرطوب بودند، منتقل شدند. پتری‌دیش‌های حاوی بذر در انکوباتور با دمای ۲۷ درجه سانتیگراد به مدت ۹۶ ساعت قرار داده شدند تا جوانه بزنند. پس از مدت زمان یاد شده، بذرهای جوانه زده هم اندازه به ۸۰ گلدان پلاستیکی با قطر ۱۲ و ارتفاع ۱۸ سانتی‌متر که حاوی ۴/۵ کیلوگرم ماسه و خاک به نسبت ۵ به ۱ بودند، منتقل شدند. رشد گیاهان در اتاقک‌های کشت با شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، دمای بیشینه ۲۹ درجه سانتیگراد و دمای کمینه ۱۸ درجه سانتیگراد، رطوبت ۶۵ درصد و شدت نور ۱۵۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}$) انجام شد (Hosseini Sarghein *et al.*, 2011).

(1999). تغییرات ایجاد شده در ریخت‌شناسی گیاهان توسط اشعه UV شامل تغییر در شکل برگ، افزایش شاخه‌های جانبی، کاهش میان‌گره‌ها، کاهش وزن، کاهش سطح برگ و کاهش ارتفاع گیاه است (Horii *et al.*, 2007). از مهم‌ترین سازوکارهای سازگاری گیاهان در برابر اشعه UV می‌توان به افزایش ضخامت برگ، کوچک‌تر شدن برگ، تغییر زاویه برگ‌ها نسبت به اشعه تابشی، افزایش انعکاس از سطح برگ‌ها، افزایش ترکیبات جاذب اشعه UV مانند فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و افزایش گرک‌های انعکاسی اشاره کرد (Mpoloka *et al.*, 2007). به طور کلی، سلول‌های گیاهی دارای سیستم حفاظتی پاداکسایشی هستند تا آثار مخرب گونه‌های واکنشگر اکسیژن (ROS) تولید شده را بر طرف کنند. این سیستم، شامل فرآیندهای آنزیمی و غیر آنزیمی است. در سیستم حفاظتی آنزیمی، آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گلوکاتایون ردوکتاز (GR)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و پراکسیدازها (POD) نقش دارند و در سیستم حفاظتی غیر آنزیمی مولکول‌هایی با وزن اندک مانند آسکوربات، گلوکاتایون، آلفا توکوفرول، کاروتنوئیدها و غیره نقش دارند (Mishra *et al.*, 2006). بامیه (*Hibiscus esculentus* L.) یکی از مهم‌ترین سبزیجات است که در مناطق گرم و گرمسیری کاشته می‌شود و جایگاه ویژه‌ای در برنامه غذایی روزانه ساکنان این مناطق دارد. این گیاه به عنوان منبع ارزان قیمتی از پروتئین‌ها، آمینو اسیدها، کربوهیدرات‌ها، ویتامین‌ها (A، B و C) و مواد معدنی در این مناطق به شمار می‌رود. ریشه‌ها و ساقه‌های گیاه بامیه به عنوان پاک‌کننده جوهر و همچنین، قهوه‌ای کردن شکر استفاده می‌شوند. در صنعت برای تهیه کاغذ

اعمال تیمار

پس از ۳۵ روز رشد در شرایط محیطی یکنواخت، گلدان‌ها به طور کاملاً تصادفی به چهار دسته تقسیم شدند. برای تیمار از لامپ‌هایی با مشخصات زیر به مدت ۱۲ روز و هر روز به مدت ۲۰ دقیقه برای تیمار UV-A و UV-B و ۱۰ دقیقه برای تیمار UV-C استفاده شد. زمان اعمال تیمار بین ساعت ۱۲:۰۰ تا ۱۳:۳۰ بود. مشخصات و طول موج لامپ‌ها به صورت زیر بود:

UV-A: 2(F20/BL-Hitachi, Japan), 362 nm

UV-B: 2(15_w) (LF-215m. 312nm), 312 nm

UV-C: (TUV/G30T8-Philips, Holland), 254 nm

لامپ‌ها در بالای گلدان‌ها در فاصله ۷۵ سانتی متری نصب شده بودند (Hosseini Sarghein *et al.*, 2011).

اندازه‌گیری طول ریشه و ساقه

پس از برداشت نمونه‌های شاهد و تیمار طول بلندترین ریشه از ناحیه یقه تا نوک ریشه و طول بلندترین ساقه از ناحیه یقه تا نوک جوانه انتهایی با خط کش اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری وزن تر و خشک ریشه، ساقه و برگ

پس از برداشت گیاهان مربوط به یک گلدان وزن تر اندام‌های مختلف با ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. سپس، نمونه‌ها در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شدند. پس از مدت زمان یاد شده وزن خشک نمونه‌ها اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری سطح برگ

میزان سطح همه برگ‌های یک گیاه از هر تیمار با استفاده از دستگاه اسکنر (Epson, V300) و نرم‌افزار کامپیوتری (Flächenberechnung-einer-sw-Grafik) بر حسب سانتی متر مربع اندازه‌گیری شد.

مطالعات ساختاری

برای مطالعه نمونه‌ها توسط میکروسکوپ نوری ابتدا مقاطع دستی از قسمت‌های مورد نیاز برای مطالعه تهیه شد سپس، مقاطع با روش رنگ آمیزی کارمن زاجی - سبز متیل رنگ آمیزی شدند (Hosseini Sarghein *et al.*, 2011).

قسمت‌های مختلف مورد نظر در برگ و ساقه با میکروسکوپ Zeiss مجهز به عدسی مشبک و مدرج بود، مطالعه شد. عکس برداری از نمونه‌ها با استفاده از دوربین دیجیتالی SONY مدل DSC-W35 که روی میکروسکوپ نصب شده بود، انجام شد.

اندازه‌گیری ضخامت ساقه، دمبرگ، برگ و رگبرگ میانی

مقطع‌گیری دستی برای مطالعه ضخامت ساقه، از ۱/۵ تا ۲ سانتی متر پایین تر از نوک مریستم انتهایی، برای مطالعه ضخامت دمبرگ از ناحیه میانی دمبرگ برگ شماره ۱۰ و برای بررسی ضخامت برگ و رگبرگ میانی از ناحیه میانی برگ شماره ۱۰ در نمونه‌های شاهد و تیمار انجام شد. سپس، با عدسی مدرج ضخامت اندام‌های یاد شده تعیین شد (Hosseini Sarghein *et al.*, 2011).

اندازه‌گیری طول و عرض سلول‌ها

برای اندازه‌گیری طول و عرض سلول‌های اپیدرمی، پارانشیم نرده‌ای، پارانشیم حفره‌ای و روزنه‌ای بزرگ‌ترین سلول‌ها انتخاب و طول و عرض آنها با استفاده از عدسی مدرج اندازه‌گیری شد (Hosseini Sarghein *et al.*, 2011).

اندازه‌گیری تراکم و شاخص روزنه‌ای

برای اندازه‌گیری تراکم و شاخص روزنه‌ای، عدسی مشبک به طور تصادفی روی قسمتی از اپیدرم جدا شده

۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و ۳ میلی‌لیتر سولفوریک اسید ۹۸ درصد اضافه شد. لوله‌ها به مدت یک ساعت به حال خود رها شدند تا رنگ ظاهر و تثبیت شود. پس از ظهور رنگ میزان جذب در ۴۸۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

پروتئین کل

برای تعیین پروتئین کل از روش Lowry و همکاران (۱۹۵۱) استفاده شد. به ۰/۰۲ گرم ماده خشک، ۴ میلی‌لیتر بافر تریس کلریدریک اسید با اسیدیته ۸ (۵۰ میلی‌لیتر تریس ۰/۲ مولار، ۱۷/۲ گرم سوکروز و ۰/۱ گرم آسکوربیک اسید که با آب مقطر به حجم نهایی ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد) اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه روی شیکر گذاشته شد. سپس، به مدت ۳۰ دقیقه در ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. به ۱ میلی‌لیتر از فاز بالایی ۴ میلی‌لیتر معرف سولفات مس قلیایی اضافه شد، پس از هم زدن مخلوط فوق، ۱/۵ میلی‌لیتر محلول ۱۰ برابر رقیق شده فولین سیوکالتتو (Folin-Ciocalteu) افزوده، به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شد. در نهایت، جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۶۰ nm با دستگاه اسپکتروفتومتر ثبت شد.

تحلیل داده‌ها

برای کاهش خطا، نمونه‌برداری و آزمایش‌ها به صورت ۳ تکرار انجام شد. در مطالعات ریخت‌شناختی آزمایش‌ها به صورت ۶ تکرار انجام شد. تحلیل داده‌های آماری بر اساس مدل پایه بلوک‌های کامل تصادفی با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶/۰ با تجزیه واریانس یک‌طرفه One way ANOVA و آزمون دانکن در سطح احتمال آماری $P < 0.05$ انجام شد. نمودارها نیز با نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۰۷ ترسیم شد.

از ناحیه میانی برگ شماره ۱۰ تنظیم شد و پس از عکس‌برداری، سلول‌های اپیدرمی و روزنه‌ای در قسمت مشبک شمارش شدند. برای محاسبه شاخص روزنه‌ای از فرمول زیر استفاده شد (Hosseini Sarghein *et al.*, 2011).

$$\% \text{ Stomata index} = (S)/(S+E) \times 100$$

(S: تعداد روزنه‌ها، E: تعداد سلول‌های اپیدرمی)

رنگیزه‌های کلروفیل و کاروتنوئید

برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های کلروفیل و کاروتنوئید از روش Lichtenthaler و Wellburn (۱۹۸۵) استفاده شد. ۰/۱ گرم از وزن تر برگ به همراه ۵ میلی‌لیتر استون ۱۰۰ درصد در هاون چینی ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۵۰۰ g سانتریفیوژ شد. سپس جذب فاز بالایی هر یک از نمونه‌های سانتریفیوژ شده توسط اسپکتروفتومتر UV/VIS (WPA S2100, UK) در طول موج‌های ۶۶۲، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر ثبت شد. برای محاسبه مقادیر کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها از فرمول‌های زیر استفاده شد (A میزان جذب ثبت شده در هر طول موج توسط اسپکتروفتومتر است).

$$\text{Chla} = 11.75 A_{662} - 2.350 A_{645}$$

$$\text{Chlb} = 18.61 A_{645} - 3.960 A_{662}$$

$$C_{X+C} = 1000 A_{470} - 2.270 \text{ Chla} - 81.4 \text{ Chlb}/227$$

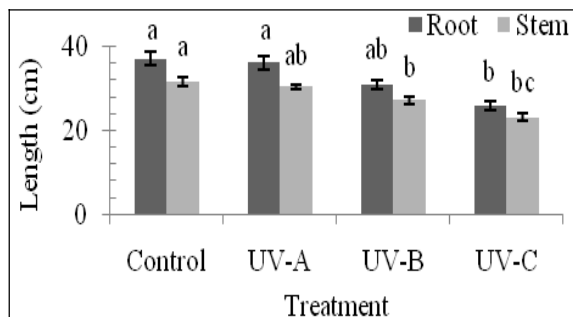
اندازه‌گیری قند محلول

میزان قندهای محلول با روش فنل سولفوریک و بر اساس هیدرولیز اسیدی قندهای محلول و ایجاد ترکیب فورفورال که با فنل یک کمپلکس رنگی تولید می‌کند، اندازه‌گیری شد (Roberts and Martin, 1959). ۰/۵ گرم بافت تر با ۵ میلی‌لیتر آب مقطر در داخل هاون ساییده و سپس با تنظیف صاف شد. به عصاره حاصل،

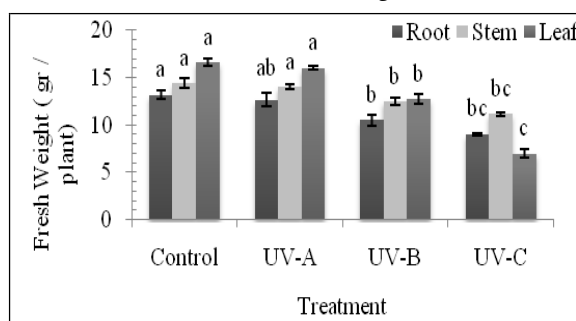
نتایج

طول ریشه و ساقه

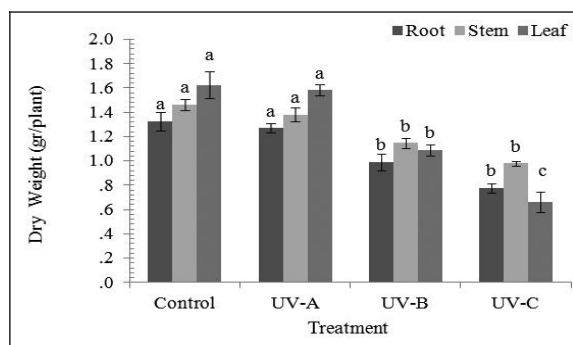
درصدی نمونه‌های تحت تیمار UV-C در مقایسه با نمونه‌های شاهد به صورت معنی‌دار بود (شکل ۳).



شکل ۱- مقایسه میزان طول ریشه و طول ساقه در نمونه‌های شاهد و تیمارهای مختلف UV. مقادیر، میانگین ۳ تکرار \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ با استفاده از آزمون دانکن است.



شکل ۲- مقایسه میزان وزن تر در نمونه‌های شاهد و تیمارهای مختلف UV. مقادیر، میانگین ۳ تکرار \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ با استفاده از آزمون دانکن است.



شکل ۳- مقایسه میزان وزن خشک در نمونه‌های شاهد و تیمارهای مختلف UV. مقادیر، میانگین ۳ تکرار \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ با استفاده از آزمون دانکن است.

بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری طول ریشه و ساقه نشان داد که طول ریشه و ساقه گیاه بامیه در اثر تابش پرتوهای اشعه UV در مقایسه با نمونه‌های شاهد کاهش یافته است (شکل ۱). مشخص شد که کاهش ۳۰/۱ درصدی طول ریشه در نمونه‌های تحت تیمار UV-C در مقایسه با نمونه‌های شاهد به صورت معنی‌داری بود. میزان درصد کاهش طول ساقه در تیمارهای UV-B و UV-C به ترتیب ۱۳/۶ و ۲۶/۵ درصد بود و این کاهش در مقایسه با نمونه‌های شاهد معنی‌دار بود.

وزن تر و خشک

در این پژوهش، مشاهده شد که درصد کاهش وزن تر ریشه در تیمارهای UV-B و UV-C به ترتیب ۲۰ و ۳۱/۶۱ درصد در مقایسه با نمونه‌های شاهد به صورت معنی‌داری بود. میزان کاهش وزن تر ساقه در تیمارهای UV-B و UV-C نیز به ترتیب ۱۲/۴۰ و ۲۱/۸۶ درصد در مقایسه با نمونه‌های شاهد به صورت معنی‌دار بود. در مورد وزن تر برگ در نمونه‌های تیمار در مقایسه با شاهد، نمونه‌های UV-B با ۲۳/۷۳ درصد کاهش و UV-C با ۵۸/۰۵ درصد کاهش در مقایسه با نمونه‌های شاهد به صورت معنی‌دار بود (شکل ۲). درصد کاهش وزن خشک ریشه در تیمارهای مختلف UV-B و UV-C به ترتیب ۲۵ و ۴۱/۱ درصد نسبت به شاهد به صورت معنی‌دار بود. میزان درصد کاهش وزن خشک ساقه در تیمارهای UV-B و UV-C نیز به ترتیب ۲۱/۹ و ۳۲/۹۴ درصد در مقایسه با نمونه‌های شاهد به صورت معنی‌دار بود. مشاهده شد که کاهش ۲۱/۹ درصدی وزن خشک برگ در نمونه‌های تیمارهای UV-B و کاهش ۳۲/۹۴

ضخامت ساقه، برگ، دمبرگ و رگبرگ میانی

مقاطع عرضی تهیه شده از ساقه نشان داد که تیمارهای UV-B و UV-C سبب کاهش ضخامت ساقه در مقایسه با نمونه‌های شاهد شده‌اند، در حالی که در تیمار UV-A ضخامت ساقه افزایش بسیار اندکی نشان داد که چندان معنی دار نبود. کاهش در ضخامت ساقه به میزان ۲۷/۱۸ درصد، تنها در تیمار UV-C نسبت به

شاهد معنی دار بود. مطالعه مقاطع عرضی دمبرگ، برگ و رگبرگ میانی نیز مانند ساقه کاهش ضخامت را در تیمارهای اشعه UV در مقایسه با نمونه‌های شاهد نشان داد. مشاهده شد که کاهش ۱۹/۶، ۲۵/۸ و ۱۹/۱۶ درصد برای تیمار UV-C به ترتیب در دمبرگ، برگ و رگبرگ میانی تنها در بین تیمارهای مختلف در مقایسه با نمونه‌های شاهد معنی دار است (جدول‌های ۱ و ۲).

جدول ۱- تغییرات ساختاری القا شده توسط طیف‌های مختلف اشعه فرابنفش در برگ بامیه. مقادیر میانگین \pm SE تکرار ۶ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح $P < 0.05$ است.

تیمار	ضخامت رگبرگ (mm)	ضخامت برگ (mm)	شاخص روزنه (mm^{-2})	تراکم سلول روزنه (mm^{-2})	طول سلول روزنه (μm)	عرض سلول اپیدرم برگ (μm)	طول سلول اپیدرم برگ (μm)	طول سلول پارانشیم نرده‌ای (μm)
شاهد	۰/۷۵۶ \pm ۰/۰۰۷ ^a	۰/۱۷۴ \pm ۰/۰۰۱ ^a	۳۳/۶۶ \pm ۱/۹۲ ^a	۲۲۰ \pm ۸/۹۴ ^a	۲۵/۵ \pm ۰/۴۲ ^a	۲۴/۳۳ \pm ۰/۸۳ ^a	۴۶/۶۶ \pm ۱/۲۳ ^a	۵۷/۹۱ \pm ۱/۱۹ ^a
UV-A	۰/۷۳۵ \pm ۰/۰۰۷ ^{ab}	۰/۱۷ \pm ۰/۰۰۱ ^{ab}	۴۳ \pm ۱/۴۳ ^a	۲۴۰ \pm ۱۰/۳۲ ^a	۲۳/۳ \pm ۰/۴ ^a	۲۵/۳۳ \pm ۱/۳۳ ^a	۴۷/۹۱ \pm ۲/۰۸ ^a	۵۵/۴۱ \pm ۱/۲ ^a
UV-B	۰/۶۴۸ \pm ۰/۰۰۶ ^b	۰/۱۶۴ \pm ۰/۰۰۱ ^b	۵۱/۳۳ \pm ۲/۴۸ ^b	۲۸۳ \pm ۱۴/۶۰ ^b	۲۶/۵ \pm ۰/۴۳ ^b	۳۰/۸۳ \pm ۰/۸ ^b	۴۳/۳۳ \pm ۱/۰۱ ^a	۴۶/۶۶ \pm ۱/۵۳ ^b
UV-C	۰/۶۰۸ \pm ۰/۰۰۱ ^c	۰/۱۳۲ \pm ۰/۰۰۲ ^c	۶۰/۳۳ \pm ۱/۹۲ ^c	۳۱۳ \pm ۱۲/۲۹ ^b	۲۶/۵ \pm ۰/۴۲ ^b	۳۲/۰۸ \pm ۰/۷۶ ^c	۳۵/۲۵ \pm ۱/۰۷ ^b	۳۰/۸۳ \pm ۲ ^c

جدول ۲- تغییرات ساختاری القا شده توسط طیف‌های مختلف اشعه فرابنفش در دمبرگ و ساقه بامیه. مقادیر میانگین \pm SE تکرار ۶ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح $P < 0.05$ است.

تیمار	ضخامت دمبرگ (mm)	طول سلول اپیدرم دمبرگ (μm)	عرض سلول اپیدرم دمبرگ (μm)	ضخامت ساقه (mm)	طول سلول اپیدرم ساقه (μm)	عرض سلول اپیدرم ساقه (μm)
شاهد	۲/۱۹ \pm ۰/۰۳۷ ^a	۴۶/۶۶ \pm ۱/۲۳ ^a	۴۶/۰۸ \pm ۱/۵ ^a	۲/۹ \pm ۰/۰۰۱ ^a	۴۸/۷۴ \pm ۱/۰۷ ^a	۳۶/۲۵ \pm ۱/۴۱ ^a
UV-A	۲/۱۸ \pm ۰/۰۳۷ ^a	۴۷/۹۱ \pm ۲/۰۸ ^a	۴۸/۱۷ \pm ۱/۶۶ ^a	۳/۰۱ \pm ۰/۰۰۱ ^a	۴۸/۷۵ \pm ۲/۱۱ ^a	۳۵/۸ \pm ۱/۰۵ ^a
UV-B	۲/۱۴ \pm ۰/۰۳ ^a	۴۳/۳۳ \pm ۱/۰۱ ^a	۵۲/۹ \pm ۱/۱۹ ^{bc}	۲/۷۴ \pm ۰/۰۰۱ ^{ab}	۴۲/۰۸ \pm ۱/۷۵ ^b	۴۵/۸۳ \pm ۱/۷۸ ^b
UV-C	۱/۷۶ \pm ۰/۰۰۵ ^b	۳۵/۲۵ \pm ۱/۰۷ ^b	۵۲/۹۱ \pm ۱/۶۳ ^c	۲/۱۷ \pm ۰/۰۰۲ ^b	۴۰/۸۳ \pm ۱/۰۵۴ ^b	۴۳/۳۳ \pm ۱/۲۳ ^b

طول و عرض سلول‌های اپیدرمی (برگ، ساقه و دمبرگ)

بررسی‌های انجام شده نشان داد که طول سلول‌های اپیدرمی در اثر اعمال تیمارها کاهش یافته، فشردگی سلول‌های اپیدرمی افزایش می‌یابد. این کاهش طول در سلول‌های اپیدرمی برگ و دمبرگ در تیمارهای UV-C در مقایسه با نمونه‌های شاهد معنی دار بود.

طول سلول‌های اپیدرمی برگ و دمبرگ در مقایسه با نمونه‌های شاهد به ترتیب ۳۳/۶۲ و ۲۴/۴۵ درصد کاهش داشت (جدول‌های ۱ و ۲). کاهش طول سلول‌های اپیدرمی ساقه در تیمارهای UV-B و UV-C در مقایسه با نمونه‌های شاهد به ترتیب ۱۳/۶۸ و ۲۴/۴۵ درصد معنی دار بود (جدول ۲). همچنین، نتایج نشان داد که عرض سلول‌های اپیدرمی در تیمارهای

رنگیزه‌های کلروفیل و کاروتنوئید

تحلیل داده‌ها نشان داد که میزان کلروفیل‌های a و b و کاروتنوئیدها به طور کلی تحت تأثیر اشعه UV کاهش یافته است (شکل ۴). کاهش کلروفیل a در تیمارهای UV-B و UV-C در مقایسه با نمونه‌های شاهد به ترتیب ۱۶/۵۱ و ۵۱/۱۴ درصد و کاهش کلروفیل b تنها در تیمارهای UV-C به میزان ۵۱/۱۴ درصد در مقایسه با نمونه‌های شاهد به صورت معنی‌دار مشاهده شد. درصد کاهش برای کاروتنوئیدها در تیمارهای UV-B و UV-C در مقایسه با نمونه‌های شاهد به ترتیب ۱۷/۳۶ و ۴۴/۶۲ درصد معنی‌دار بود.

سطح برگ

نتایج نشان داد که تابش اشعه UV باعث کاهش سطح برگ می‌شود. این کاهش در تیمارهای UV-A به میزان ۴/۴۸ درصد، UV-B به میزان ۳۰/۰۸ درصد و در UV-C به میزان ۶۰ درصد نسبت به گیاهان شاهد بود. این کاهش تنها در نمونه‌های UV-B و UV-C در مقایسه با نمونه‌های شاهد در سطح ۵ درصد به صورت معنی‌دار بود (شکل ۵).

قند محلول

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که میزان قند محلول تحت تأثیر اشعه UV کاهش یافته است (شکل ۶). این کاهش در ریشه در تیمار UV-C به میزان ۳۸ درصد در مقایسه با نمونه‌های شاهد به صورت معنی‌دار بود. این کاهش نیز در تیمارهای UV-B و UV-C در ساقه به ترتیب به میزان ۱۹/۲۱ و ۴۶/۷۶ درصد و در برگ به میزان ۲۳/۶۲ و ۳۶/۱۶ درصد نیز در مقایسه با نمونه‌های شاهد به صورت معنی‌دار مشاهده شد.

UV-B و UV-C در مقایسه با نمونه‌های شاهد به طور قابل توجهی افزایش یافته بود. میزان این افزایش در تیمارهای UV-B و UV-C در دم‌برگ به ترتیب ۱۴/۸۲ و ۱۴/۸۲ درصد، در برگ به ترتیب ۲۶/۷۱ و ۳۱/۸۶ درصد و برای ساقه نیز به ترتیب ۲۶/۴۲ و ۱۹/۵۳ درصد بود، این افزایش در هر سه اندام در مقایسه با نمونه‌های شاهد معنی‌دار بود (جدول‌های ۱ و ۲).

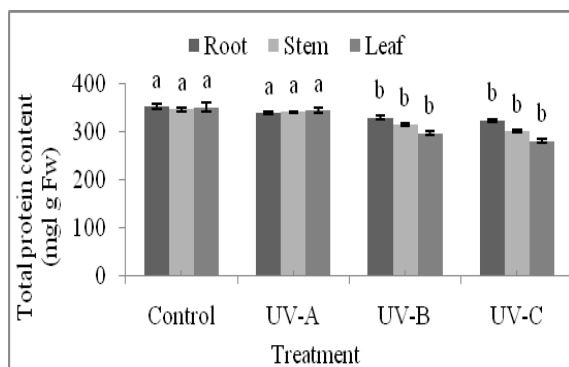
طول، تراکم و شاخص سلول‌های روزنه

تحلیل داده‌های مربوط به اندازه‌گیری طول سلول‌های روزنه نشان داد که طول روزنه‌ها در تیمارها نسبت به نمونه‌های شاهد افزایش یافته است و درصد این افزایش در تیمارهای UV-B و UV-C به میزان ۱۷/۷ درصد در مقایسه با نمونه‌های شاهد بوده است (جدول ۱).

با مطالعه آثار طیف‌های مختلف اشعه UV بر میزان تراکم سلول‌های روزنه‌ای و اپیدرمی برگ مشخص شد که تراکم سلول‌های اپیدرمی کاهش و تراکم سلول‌های روزنه‌ای افزایش یافته است. افزایش تراکم روزنه‌ای برای تیمارهای UV-B نسبت به نمونه‌های شاهد به میزان ۲۷/۲۷ درصد مشاهده شد و افزایش تراکم روزنه‌ای برای تیمارهای UV-C به میزان ۴۲/۴۲ درصد مشاهده شد. این مقادیر در مقایسه با نمونه‌های معنی‌دار بودند. میزان درصد شاخص روزنه‌ای در تمام تیمارها نسبت به نمونه شاهد افزایش نشان داد. روند این افزایش در تیمارها به ترتیب ۱۶/۶۶ درصد برای UV-B و ۳۵/۴۱ درصد برای UV-C نسبت به نمونه‌های شاهد معنی‌دار بودند (جدول ۱).

پروتئین کل

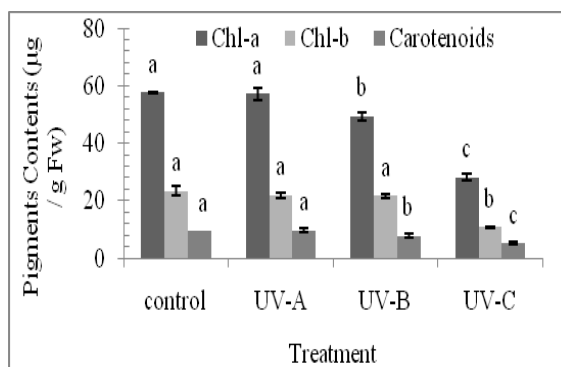
به طور کلی، میزان پروتئین کل تحت تأثیر اشعه UV کاهش یافت (شکل ۷). کاهش ۱۶/۶۴ درصدی در ریشه تیمارهای UV-C در مقایسه با نمونه‌های شاهد معنی‌دار است. همچنین، این کاهش در تیمارهای UV-B و UV-C در ساقه به ترتیب به میزان ۹/۱۱ و ۱۳/۰۴ درصد و در برگ به میزان ۶/۵ و ۸ درصد در مقایسه با نمونه‌های شاهد به صورت معنی‌دار مشاهده شد. شایان ذکر است که کاهش یا افزایش در تمام شاخص‌ها در تیمارهای UV-A در مقایسه با نمونه‌های شاهد معنی‌دار نبود.



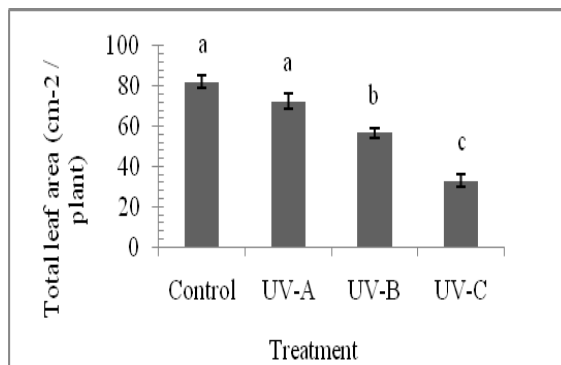
شکل ۷- میزان پروتئین کل در نمونه‌های شاهد و تیمارهای مختلف UV. مقادیر، میانگین ۳ تکرار \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ با استفاده از آزمون دانکن است.

بحث

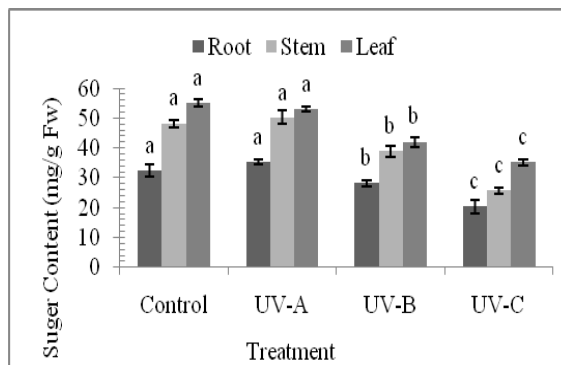
مطالعات فراوان نشان می‌دهند که اشعه فرابنفش باعث کاهش رشد طولی ریشه و اندام هوایی می‌شود. مطالعات Al-Ouda و همکاران (۱۹۹۸) روی گندم و باقلا، مطالعات Kakani و همکاران (۲۰۰۳) روی پنبه و مطالعات Krizek و همکاران (۱۹۹۷) روی رقم‌های خیار نشان داد که میزان رشد طولی تحت تأثیر اشعه UV کاهش می‌یابد. Teramura (۱۹۸۳) علت کاهش رشد



شکل ۴- میزان رنگیزه‌ها در نمونه‌های شاهد و تیمارهای مختلف UV. مقادیر، میانگین ۳ تکرار \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ با استفاده از آزمون دانکن است.



شکل ۵- میزان سطح برگ در نمونه‌های شاهد و تیمارهای مختلف UV. مقادیر، میانگین ۳ تکرار \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ با استفاده از آزمون دانکن است.



شکل ۶- محتوای قند محلول در نمونه‌های شاهد و تیمارهای مختلف UV. مقادیر، میانگین ۳ تکرار \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ با استفاده از آزمون دانکن است.

وزن تر و خشک برگ تحت تأثیر اشعه UV به علت کاهش میزان سطح برگ بوده است. علت کاهش سطح برگ را می‌توان به کاهش میزان تقسیم سلول‌ها نسبت داد. مطالعه Damian و همکاران (۱۹۹۸) روی گیاه نخودفرنگی و Staxen و همکاران (۱۹۹۳) روی گل اطلسی نشان داد که علت اصلی کاهش سطح برگ در اثر اشعه UV در این گیاهان کاهش میزان تقسیم سلولی است. Smirnoff و Whelev (۲۰۰۰) اعلام کردند که کاهش در تقسیم سلولی می‌تواند به علت اکسیداسیون توبولین‌ها تحت تأثیر اشعه UV باشد که خود باعث تأخیر در تشکیل میکروتوبول‌ها و در نهایت کاهش میزان تقسیم سلولی می‌شود. اشعه UV علاوه بر تغییراتی که در فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژی ایجاد می‌کند، به خوبی می‌تواند تغییرات ریخت‌شناسی را در گیاه ایجاد کند. از جمله پاسخ گیاهان به این اشعه کاهش نفوذ آن به بافت‌ها به ویژه برگ‌ها است. تغییرات ساختاری القایی در برگ توسط اشعه UV در گیاهان مختلف گزارش شده است. تغییرات ضخامت ساقه تحت تأثیر اشعه UV در گونه‌های مختلف متفاوت است. مطالعات انجام شده توسط Hosseini Sarghein و همکاران (۲۰۱۱) روی گیاه فلفل قلمی افزایش ضخامت ساقه را تحت تأثیر اشعه UV نشان داد. اما مطالعات انجام شده توسط Yao و همکاران (۲۰۰۶) روی گیاه *Fagopyrum tataricum* کاهش ضخامت را تحت تأثیر اشعه UV نشان داد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که میزان ضخامت ساقه تحت تأثیر اشعه UV کاهش می‌یابد. مطالعه حاضر نشان داد که کاهش در ضخامت برگ بیشتر به کاهش طول لایه پارانشیم نرده‌ای و به میزان کمتر به پارانشیم اسفنجی مربوط است. این نتایج

تحت تأثیر اشعه UV را افزایش فیتوهورمون‌ها به ویژه اتیلن و تخریب نوری می‌داند. Krizek و همکاران (۱۹۹۸) یکی از علت‌های افزایش اتیلن را تولید گونه‌های واکنشگر اکسیژن اعلام کردند، طبق نظر آنها گونه‌های واکنشگر اکسیژن باعث پراکسیداسیون لیپیدها شده و این پراکسیداسیون باعث افزایش میزان اتیلن می‌شود. افزایش اتیلن باعث کاهش رشد طولی و افزایش رشد شعاعی می‌شود. یکی دیگر از فیتوهورمون‌های واسطه رشد، اکسین (IAA) است که میزان آن تحت تأثیر اشعه UV کاهش می‌یابد. کاهش اکسین می‌تواند عاملی برای کاهش رشد طولی باشد. همچنین، می‌توان گفت که کاهش وزن تر و خشک ساقه و ریشه در مطالعه حاضر احتمالاً به علت کاهش رشد طولی القا شده توسط اشعه UV است. Krizek و همکاران (۱۹۹۸) یکی از عوامل کاهش در میزان وزن تر و خشک ساقه تحت تیمارهای اشعه UV را اختلال در بیوسنتز و انتقال تنظیم‌کننده‌های رشد مانند IAA و GA می‌دانند. مطالعات انجام شده روی خردل و لوبیا توسط Pal و همکاران (۱۹۹۸ و ۱۹۹۹) نشان داد که تولید بیوماس گیاهی تحت تأثیر اشعه UV کاهش می‌یابد. البته گزارش‌هایی از افزایش میزان وزن تر و خشک برگ در گیاه سیب‌زمینی تحت تأثیر اشعه UV توسط Santos و همکاران (۲۰۰۴) گزارش شده است. آنها مشاهده کردند که در گیاه سیب‌زمینی تحت تأثیر اشعه UV میزان سطح برگ افزایش می‌یابد و این خود عاملی برای افزایش وزن تر و خشک در گیاه سیب‌زمینی است. یکی از علت‌های کاهش وزن تر و خشک برگ در گیاه بامیه می‌تواند کاهش سطح برگ باشد. نتایج مطالعات Gao و همکاران (۲۰۰۳) روی پنبه نشان داد که کاهش

سلول‌های اپیدرمی تحت تأثیر اشعه UV توسط Gorton و Vogelmann (۱۹۹۶) در گیاه *Antirrhinum* گزارش شد. ایشان معتقدند که ایجاد سلول‌های گنبدی عاملی برای تمرکز اشعه UV روی سلول‌های مزوفیل است. در واقع، این سلول‌ها به صورت عدسی عمل می‌کنند و باعث تمرکز اشعه UV روی سلولی‌های مزوفیل می‌شوند. بنابراین، می‌توان یکی از عوامل کاهش در طول و عرض سلول‌های مزوفیلی در مطالعه حاضر را تمرکز اشعه UV توسط سلول‌های اپیدرمی گنبدی شکل دانست.

بررسی سلول‌های روزنه‌ای نشان داد که اشعه UV باعث افزایش میزان اندازه طول و عرض در این سلول‌ها شده است. در همخوانی با نتایج این مطالعه، افزایش اندازه (طول) و تراکم روزنه‌ای تحت تأثیر اشعه UV در گیاه فلفل قلمی توسط Hosseini Sarghein و همکاران (۲۰۱۱)، در گیاه پنبه توسط Kakani و همکاران (۲۰۰۳)، او کالیپتوس و اکاسیا توسط Liu و همکاران (۲۰۰۵) گزارش شده است. همچنین، افزایش تراکم روزنه‌ای در پاسخ به کاهش دی‌اکسید کربن القا شده توسط اشعه UV توسط Sullivan (۱۹۹۷) گزارش شده است. Dennis و همکاران (۲۰۰۵) با مطالعه آثار اشعه UV در گیاه سویا تغییرات ریخت‌شناسی القا شده توسط اشعه UV را تغییر در توسعه و گسترش اپیدرم و همچنین، تغییرات ایجاد شده در تراکم روزنه‌ای را نتیجه تغییر در تبادلات گازی و افزایش کارآیی آبی (WUE, Water Use Efficiency) در برگ می‌دانند. در مطالعات Mapelli و همکاران (۲۰۰۶) روی گل یخ نیز کاهش میزان تبادلات گازی تحت تأثیر اشعه UV مشاهده شد.

مشابه با گزارش‌های Bornman و همکاران (۱۹۸۳) است. آنها نشان دادند که کاهش ضخامت برگ در گیاه پنبه به کاهش پارانشیم زرده‌ای مربوط است. همچنین، در مطالعه حاضر مشخص شد که کاهش در ضخامت ساقه، دم‌برگ و رگ‌برگ میانی بیشتر به کاهش تعداد لایه‌های سلولی و اندازه سلول‌ها مربوط است. این کاهش در تعداد لایه‌ها و اندازه سلول‌ها به ویژه در تیمارهای UV-B و UV-C در دم‌برگ مشاهده می‌شود. Krizek و همکاران (۱۹۹۷) نشان دادند که اختلالات هورمونی که توسط اشعه UV القا می‌شود می‌تواند به کاهش گسترش سلولی منجر شود. همچنین، Holzinger و Lutz (۲۰۰۶) نشان دادند که اشعه UV با شکست مولکول DNA و تخریب پروتئین‌هایی مانند توبولین که در تقسیم سلولی نقش دارند باعث کاهش در تقسیم و بزرگ شدن سلول می‌شود. افزایش فعالیت پراکسیدازهایی که تحت تأثیر اشعه UV مانند IAA-کسیداز عمل می‌کنند و با این فعالیت باعث کاهش انعطاف‌پذیری دیواره سلولی می‌شوند، موجب کاهش رشد طولی می‌شوند. از طرفی، اشعه UV باعث تغییر در سرعت، میزان تقسیم و گسترش سلولی می‌شود. همچنین، باید به این نکته توجه داشت که هورمون‌هایی مانند اکسین که نقش مهمی در گسترش سلولی دارند، تحت تأثیر اشعه UV تخریب می‌شوند، تخریب اکسین در بافت برگ باعث کاهش رشد سلول‌های بالایی می‌شود، در حالی که لایه‌های پایینی به رشد طبیعی خود ادامه می‌دهند و این به پیچش برگی منجر می‌شود. اپیدرم به عنوان عامل حفاظتی مهم در برابر اشعه UV دستخوش تغییراتی مانند افزایش ضخامت، افزایش میزان موم روی کوتیکول و ایجاد شکل‌های گنبدی می‌شود. ایجاد شکل‌های گنبدی در

جمع‌بندی

افزایش عرض سلول‌های اپیدرمی، کاهش سطح برگ، کاهش ضخامت برگ، دمبرگ، ساقه و رگبرگ میانی و همچنین، کاهش در طول و عرض سلول‌های مزوفیل نرده‌ای در واقع می‌توانند پاسخ‌های دفاعی گیاه بامیه برای کاهش میزان اشعه دریافتی باشند. کاهش قندهای محلول، رنگیزه‌های فتوسنتزی و پروتئین می‌تواند ناشی از آثار مضر اشعه UV باشد. افزایش تعداد و اندازه روزه‌ها می‌تواند راهکاری برای افزایش کارایی دستگاه فتوسنتزی باشد که این امر نشان می‌دهد که گیاه بامیه گیاه مقاومی است. البته برای اثبات این امر بررسی عوامل دیگری مانند مقدار تثبیت CO₂ فتوسنتزی می‌تواند انجام شود. با توجه به نتایج حاصل می‌توان گفت که اشعه UV-B و به ویژه UV-C دارای آثار تخریبی شدیدتری نسبت به UV-A روی شاخص‌های فیزیولوژیک و آناتومیک بررسی شده هستند. یافته‌های حاصل، نظریه‌ای را که گیاهان با راهکارهای مختلف در برابر پرتوهای UV مقاومت می‌کنند، تأیید می‌کند.

سپاسگزاری

از سرکار خانم مهندس ندا فرناد کارشناس آزمایشگاه بیوشیمی، خانم مهندس هانیه مرادیگی کارشناس آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی به خاطر همکاری در تهیه مواد و استفاده از دستگاه‌ها و از خانم‌ها الفت خاکپور و نیر محمدخانی به خاطر همکاری و مساعدت در این تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

به طور کلی، پاسخ گیاه بامیه در تحقیق حاضر به ویژه در تیمارهای UV-B و UV-C با کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها) همراه بود. کاهش میزان کلروفیل به علت جلوگیری این اشعه از سنتز کلروفیل و تخریب پیش‌سازهای این رنگیزه‌هاست. Agrawal (۱۹۹۲) با مطالعه اثر اشعه UV روی رنگیزه‌های فتوسنتزی نوعی جلبک سبز، این مسأله را گزارش کرده بود. همچنین، Gao و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که اشعه UV باعث فوتواکسیداسیون غیر آنزیمی کلروفیل می‌شود. از علت‌های دیگر کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی توسط اشعه UV می‌توان به افزایش در میزان اتیلن اشاره کرد. این هورمون باعث راه‌اندازی تخریب کلروفیل می‌شود (Zhang and Kirkham, 1996). افزایش کاروتنوئیدها در بعضی از گونه‌های گیاهی پاسخ سازشی برای کاهش آثار اشعه UV است (Hollosy, 2002). در آزمایش‌هایی که توسط Allen و همکاران (۱۹۹۸) روی رابطه طول موج‌های پایین نور و کاهش کاروتنوئیدها انجام شد، کاهش کاروتنوئیدها می‌تواند به علت تبدیل آنها به آبسزیک اسید باشد، این تبدیل در بسیاری از تنش‌های محیطی انجام می‌شود.

مشخص شد که میزان قندهای محلول در گیاه بامیه تحت تأثیر UV کاهش یافته است. نصیبی و منوچهری کلانتری (۱۳۸۵) علت کاهش قندهای احیا کننده در گیاه بنگ‌دانه تحت تأثیر اشعه UV را به علت افزایش در سنتز ترکیبات ثانویه اعلام کردند. همچنین، مهدویان و همکاران (۱۳۸۵) از علت‌های احتمالی کاهش قندهای احیا کننده در گیاه فلفل را القا تنش اکسایشی می‌دانند.

منابع

- نصیبی، ف. و منوچهری کلاتسری، خ. (۱۳۸۵) کاربرد باندهای مختلف اشعه UV برای افزایش ترکیبات ثانویه در دو گونه گیاه بنگ‌دانه (*Hyoscyamus*). فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۲(۲): ۱۴۰-۱۴۵.
- Agrawal, S. B. (1992) Effects of supplemental UV-B radiation on photosynthetic pigment, protein and glutathione content in green algae. *Environmental and Experimental Botany* 32: 137-143.
- Allen, D. J., Nogues, S. and Baker, R. N. (1998) Ozone depletion and increased UV-B radiation: is here a real threat to photosynthesis? *Journal of Experimental Botany* 328: 1775-1788.
- Al-Ouda, M., Baydoun, S. A. and Mohammad, A. (1998) Effects of enhanced UV-B on growth and yield of two Syrian crops wheat (*Triticum durum* var. Horani) and Broad Beans (*Vicia faba*) under field conditions. *Environmental and Experimental Botany* 40: 11-16.
- Asada, K. (1999) The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. *Journal of Plant Physiology* 50: 601-639.
- Bornman, J. F., Evert, R. F. and Mierzwa, R. J. (1983) The effect of UV-B and UV-C radiation on sugar beet leaves. *Protoplasma* 117: 7-16.
- Buchholz, G., Ehmann, B. and Wellman, E. (1995) Ultraviolet light inhibition of phytochrome induced flavonoid biosynthesis and DNA photolyase formation in Mustard cotyledones (*Synapis alba* L.). *Journal of Plant Physiology* 108: 227-234.
- Damian, J., Allen, S. N. and Neil, R. B. (1998) Ozone depletion and increased UV-B radiation: is there real threat to photosynthesis? *Journal of Experimental Botany* 49(328): 1775-1788.
- Dennis, C., Gitz, A. Lan, L. G. Steven, J. Britz, Mhedویان، ک.، قربانلی، م.، منوچهری کلاتسری، خ. و محمدی، غ. (۱۳۸۵) تأثیر باندهای مختلف اشعه ماوراء بنفش بر عوامل فیزیولوژیکی و ریخت‌شناسی فلفل (*Capsicum annuum* L.). *مجله زیست‌شناسی ایران* ۱۹(۱): ۴۳-۵۳.
- C. and Joe, H. S. (2005) Ultraviolet-B effects on stomatal density, water use efficiency, and stable carbon isotope discrimination in four glasshouse soybean (*Glycine max*) cultivar growth. *Environmental and Experimental Botany* 53: 343-355.
- Gao, W., Zhen, Y. Slusser, J. R. and Gordon, M. (2003) Impact of enhanced Ultraviolet-B irradiance on cotton growth, development, yield, and qualities under field conditions. *Agricultural and Forest Meterology* 120(5): 241-248.
- Gorton, H. L. and Vogelmann, T. C. (1996) Effect of epidermal cell shape and pigmentation on optical properties of *Antirrhinum* petals at visible and ultraviolet wavelengths. *Journal of Plant Physiology* 112: 879-888.
- Holzinger, A. and Lutz, C. (2006) Algae and UV irradiation; effect on ultrastructure and related metabolic function. *Micron* 37: 190-207.
- Hollosy, F. (2002) Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron* 33: 179-197.
- Horii, A., Mccup, P. and Shetty, k. (2007) Enhancement of seed vigour following insecticide and phenolic elicitor treatment. *Bioresource Technology* 98: 623-632.
- Hosseini Sarghein, S., Carapetian, J. and Khara, J. (2011) The effects of UV radiation on some structural and ultrastructural parameters in pepper (*Capsicum longum* A. DC). *Turkish Journal of Biology* 35: 69-77.
- Javed, H., Aziz, M. A. and Leghari R. A. K. (2009) Resistance in different Okra cultivars (*Abelamoschus Escullentus* L.) against American bollworm *Helicoverpa*

- Arnigera* Hub. Journal of Agriculture 47(4): 433-438.
- Kakani, V. G., Reddy, K. R. Zhao, D. and Mohammed, A. R. (2003) Effects of ultraviolet-B radiation on cotton (*Gossypium hirsutum* L.) morphology and anatomy. Journal of Botany 91: 817-826.
- Krizek, D. T., Mirecki, R. M. and Britzek., S. J. (1997) Inhibitory effects ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth Cucumber. Journal of Physiologia Plantarum 100: 886-893.
- Krizek, D. T., Brita, S. J. and Miewcki, R. M. (1998) Inhibitory effects of ambient level of solar UV-A and UV-B on growth of cv. New Red Fire Lettuce. Journal of Physiology Plant 103(143): 1-7.
- Lichtenthaler, H. K. and Wellburn, A. R. (1985) Determination of total carotenoids and chlorophylls A and B of leaf in different solvents. Biochemical Society Transactions 11: 591-592.
- Liu, L. X., Shou-Min, X. and Woo, K. C. (2005) Solar UV-B radiation on growth photosynthesis and the xanthophyll cycle in tropical *Acacias* and *Eucalyptus*. Environmental and Experimental Botany 54: 121-130.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J. Farr, A. L. and Randal R. J. (1951) Protein measurement with the folin-phenol reagent. Journal of Biological Chemistry 193: 265-275.
- Mapelli, S., Shorina, M., Brambilla, I. and Kuznetsov, V. (2006) Biochemical and physiological events following exposure to UV-B radiation in Ice plant. General and Applied Plant Physiology (Special Issue) 33-44.
- Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R. D., Govindarajan, R., Kuriakose, S. V. and Prasad, M. N. V. (2006) Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. Plant Physiology Biochemistry 44: 25-37.
- Mpoloka, S. W., Abratt, V. A., Mundree, S. G., Thomson, J. A. and Musil, C. F. (2007) Potential effects of prolonged ultraviolet radiation exposure in plants: chloroplast DNA analysis. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences 2(4): 437-441.
- Pal, M., Jain, V. and Sengupta, U. K. (1998) Influence of enhanced UV-B radiation on mustard: cultivar response. Journal of Plant Physiology 1(3): 188-193.
- Pal, M., Sengupta, U. K. Srivastava, A. C. Jain, V. and Meena, R. C. (1999) Changes in growth and photosynthesis of mung bean induced by UV-B radiation. Journal of India Plant Physiology 5(4): 79-84.
- Roberts, E. J. and Martin, L. F. (1959) Progress in determining organic nonsugars of sugarcane juice that affect sugar refining. In: Proceedings of the 6th technical session on bone char (Ed. Deitz, V. R.) 67-99 Bone Char Research Project, Inc.
- Santos, I., Fidalgo, F. and Almeida, J. (2004) Biochemical and ultrastructural changes in leaves of potato plants grown under supplementary UV-B radiation. Plant Science 167: 925-935.
- Smirnoff, N. and Wheeler, G. L. (2000) Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function critical. Journal of Plant Sciences 19(4): 267-290.
- Staxen, L., Bergounioux, C. and Bornman, J. F. (1993) Effect of ultraviolet radiation on cell division and microtubule organization in *Petunia hybrida* protoplasts. Protoplasma 173: 70-76.
- Sullivan, J. H. (1997) Effect of increasing UV-B radiation and atmospheric CO₂ on photosynthesis and growth, implication for terrestrial ecosystems. Plant Ecology 128: 194-206.
- Teramura, A. H. (1983) Effects of UV-B radiation on the growth and yield of crop plant. Journal of Plant Physiology 1(58): 415-427.
- Yao, Y., Xuan, Z., Li, Y., He, Y., Korplainen, H. and Li, C. (2006) Effects of ultraviolet-B radiation on crop growth, development,

yield and leaf pigment concentration of tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) under field conditions. European Journal of Agronomy 25: 215-222.

Zhang, J. and Kirkham, M. B. (1996) Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings. Journal of New Phytology 132: 361-371.

تأثیر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر بهبود رشد و شاخص‌های بیوشیمیایی گیاهان پروانش باززایی شده تحت تیمار تریپتوفان طی فرآیند سازگاری

سمانه رحمت‌زاده^۱، جلیل خارا^{۱*} و سید کمال کاظمی تبار^۲

^۱گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

^۲گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ساری، ایران

چکیده

میکوریزها فراهم آورنده اجتماعی همزیست هستند که در آن، میکوریز کربن را از گیاه به دست می‌آورد و در ذخیره فسفر را برای گیاه فراهم می‌کند. گیاه پروانش (*Catharanthus roseus* L.) به علت تولید دو آلکالوئید دارویی وینبلاستین و وینکریستین بررسی شده است. در این بررسی، تریپتوفان به عنوان پیش‌ساز این آلکالوئیدها در شرایط کشت بافت استفاده شده است. آغشتگی (کلونیزاسیون) گیاه توسط میکوریز، به رشد و حیات گونه‌های متعددی در طول سازگاری به عنوان مهم‌ترین چالش کشت بافت، کمک کرده است. به همین منظور، گیاهچه‌های حاصل از باززایی تحت تیمار غلظت‌های مختلف تریپتوفان، در شرایط آغشتگی میکوریزی تحت سازگاری قرار گرفته، شاخص‌های رشدی و بیوشیمیایی اندام هوایی آنها بررسی شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری طول، وزن تر و خشک، محتوای قندهای محلول و پروتئین کل و همچنین کلروفیل‌های a و b اندام هوایی بیانگر نقش مثبت این دو تیمار بر رشد گیاهچه‌های پروانش در طول سازگاری بود. بیشترین میزان طول و وزن تر و خشک اندام هوایی در نمونه‌های همزیست با *Glomus versiforme* و به ترتیب تحت تأثیر تیمارهای صفر، ۱۵۰ و ۳۵۰ میلی‌گرم در لیتر تریپتوفان به دست آمد. همچنین، بهترین نتیجه حاصل از اندازه‌گیری مقدار پروتئین کل و قندهای محلول نیز در همزیستی با *G. versiforme* و تحت تیمار ۳۵۰ میلی‌گرم در لیتر تریپتوفان مشاهده شد. در نهایت، بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری محتوای کلروفیل‌های a و b نشان داد که بیشترین میزان این شاخص‌ها به ترتیب در نمونه‌های همزیست با *G. versiforme* و *G. etunicatum* تحت تأثیر تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر تریپتوفان است.

واژه‌های کلیدی: باززایی، پروانش، سازگاری، میکوریز

مقدمه

پروانش (*Catharanthus roseus* L.) گیاه علفی و همیشه سبز متعلق به تیره خرزهره (*Apocynaceae*) است. این گیاه ارتفاعی معادل ۳۰ تا ۱۰۰ سانتی‌متر داشته، دارای ساقه‌های استوانه‌ای، مستقیم و چوبی به رنگ‌های سبز یا قرمز کم‌رنگ است. برگ‌های گیاه به صورت براق، سبز تیره و گل‌های آن معطر و در رنگ‌های سفید تا بنفش متمایل به صورتی در انتها است. واریته‌ای که دارای گل‌های قرمز-صورتی است به علت مقدار بالای آلکالوئیدهای آن مورد توجه است و در این پژوهش نیز استفاده شد. همچنین، این گیاه به صورت معمول در باغ‌ها به عنوان گیاهی زینتی کشت می‌شود (Aslam et al., 2010). این گیاه یکی از مهم‌ترین گیاهان طبی و دارویی است که دارای بیش از ۴۰۰ نوع آلکالوئید از نوع تریپتوفان ایندول آلکالوئید است (Faheem et al., 2011). دو آلکالوئید دیمر وینبلاستین و وینکریستین که به صورت عمده در بخش‌های هوایی این گیاه وجود دارند به صورت وسیعی در درمان تومورهای انسانی به کار می‌روند. همچنین، آلکالوئید مونومر آجمالیسین که در ریشه این گیاه به فراوانی وجود دارد، از کاربرد وسیعی در درمان بیماری‌های گردش خون، به ویژه در بهبود تخریب جریان خون طبیعی در مغز برخوردار است. گیاهان پروانش رشد یافته در محیط زراعی هنوز هم منبع اقتصادی برای تولید این داروها هستند. کشت بافت و سلول این گیاه به عنوان منبع جایگزین برای تولید این آلکالوئیدهای ارزشمند است (Whitmer et al., 2002).

کشت بافت کاربرد زیادی در علم گیاه‌شناسی،

بیوشیمی، مهندسی ژنتیک و زیست‌شناسی مولکولی دارد و ابزاری مهم در مهندسی ژنتیک برای دست‌ورزی سلول‌های پذیرنده ژن خارجی است، در حالی که انجام آن در شرایط طبیعی کاری مشکل و غیر قابل کنترل است. علاوه بر این، روش کشت بافت به صورت مؤثر امکان تکثیر تعداد زیادی از واریته‌های مهندسی شده را فراهم می‌کند. بهینه‌سازی شرایط کشت نظیر افزودن پیش‌سازهای بیوسنتزی به محیط کشت، ممکن است تولید آلکالوئیدها را در جایی که تولید توسط فقدان پیش‌ساز ویژه محدود می‌شود، افزایش می‌دهد. تریپتوفان یکی از آمینو اسیدهای ضروری در گیاهان است و پیش‌ساز آلکالوئیدهای ایندولی در پروانش به شمار می‌آید. این آمینو اسید توسط آنزیم تریپتوفان دکربوکسیلاز (TDC) به تریپتامین تبدیل می‌شود که فراهم کننده شاخه ایندولی در این آلکالوئیدها است (Whitmer et al., 2002). همچنین، تریپتوفان می‌تواند به صورت مستقیم یا غیر مستقیم از طریق تبدیل شدن به اکسین (IAA) بر فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه تأثیر گذارد.

انتقال گیاهچه‌های کشت شده در محیط درون شیشه (*in vitro*) به *ex vitro* یکی از مهم‌ترین مراحل سازگاری ساختاری و فیزیولوژیک در طول آماده‌سازی گیاهچه‌ها است به طوری که فرآیند سازگاری برای بسیاری از گونه‌های گیاهی، چالش برانگیزترین مرحله کشت بافت است. این مسأله به صورت عمده ناشی از ناتوانی این قبیل گیاهان نسبت به تحمل انواع مختلف تنش‌ها، نظیر شوک انتقال گیاه، از دست رفتن آب، حمله پاتوژن‌ها، فتوسنتز ضعیف و ... است. گیاهان تولید شده در سوبسترای غنی از مواد غذایی در شرایط

و بالا بردن مقادیر لیپیدها و قندها، افزایش تحمل در برابر تنش‌های محیطی و بیماری‌ها را نام برد (Selvaraj and Chellappan, 2006). قارچ‌های میکوریز آربوسکولار با افزایش جذب عناصر معدنی نظیر فسفر که تحرک نسبتاً اندکی در خاک دارند، حیات گیاه میزبان را بهبود می‌بخشند. در گیاهان، به ویژه آن دسته از گیاهانی که سیستم‌های ریشه‌ای محدود و وضعی دارند، ارتباطات هیفی توسط این قارچ‌ها به عنوان پلی ارتباطی میان ریشه و مکان‌های تغذیه‌ای در خاک عمل کرده، جذب عناصر غذایی غیر متحرک و کم تحرک را توسط سلول‌های میزبان تسهیل می‌کند (Kapoor *et al.*, 2008). در این پژوهش، اثر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر گیاهچه‌های ریزازدیادی شده تحت شرایط اعمال تریتوفان در محیط کشت بازرایی طی فرآیند سازگاری بررسی شد.

مواد و روش‌ها

در این بررسی، از ریزنمونه‌های قطعات گرهی حاصل از گیاهچه‌های سترون رشد یافته در شرایط درون شیشه‌ای و محیط MS استفاده شد. به منظور سترون‌سازی، بذرهاى گیاه پروانش ابتدا به مدت ۳۰ دقیقه در آب خیسانده شد، سپس در اتاقک کشت استریل به مدت ۳۰ ثانیه در معرض اتانول ۷۰ درصد قرار گرفتند. پس از آن، بذرها با آب مقطر استریل چندین بار شسته و الکل اضافی از آنها زدوده شد. سپس، به مدت ۱۵ دقیقه توسط محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد حاوی چند قطره تویین ۲۰ ضد عفونی شدند. برای به دست آوردن گیاهچه‌های سترون، دانه‌ها در محیط موراشیگ و اسکوگ (MS)

سترون بسیار حساس هستند. ممکن است حتی یک درصد از گیاهان بازرایی شده در شرایط درون شیشه‌ای زمانی که به شرایط ناسترون منتقل می‌شوند، زنده نمانند. برگ‌های گیاهان ریزازدیادی شده نازک و دارای مزوفیل برگ‌ها با مقدار اندک کلروفیل هستند که به علت سازمان‌دهی ضعیف کلروپلاست‌های آن است. همچنین، برگ گیاهچه‌های رشد یافته در شرایط درون شیشه دارای روزنه‌های بدون عملکرد هستند و فعالیت آنزیم فتوستتزی رویسکو در چنین برگ‌هایی ضعیف است. همه این شاخص‌ها به کارآیی فتوستتزی پایین در گیاهچه‌های منتقل شده به *ex vitro* منجر می‌شود. آنگیری بالا یا شیشه‌ای شدن گیاهچه‌ها که به کاهش رشد در این گیاهان منجر می‌شود، مشکل دیگری در تثبیت موفق گیاهچه‌های مشتق شده از شرایط درون شیشه‌ای است. گیاهان بازرایی شده در شرایط درون شیشه به طور ضعیف در برابر بیماری‌ها مقاومت می‌کنند که ناشی از مقدار کم فیتوآلکسین‌های آنها است. گیاهان بازرایی شده اغلب ارتباطات آوندی وضعی را نشان می‌دهند که بر جذب آب از ریشه‌ها و انتقال آن به بافت‌های اندام هوایی اثر می‌گذارد (Kapoor *et al.*, 2008).

شاید گسترده‌ترین و احتمالاً مهم‌ترین همیاری بین گیاهان و قارچ‌ها، نوعی همزیستی ریشه‌ای به نام همزیستی میکوریزی آربوسکولار با ریشه گیاهان باشد. این قارچ‌های درون همزیست که با حدود ۸۰ درصد گیاهان خاکزی همزیست می‌شوند، مزایای متعددی را برای گیاهان میزبان خود فراهم می‌سازند که از آن جمله می‌توان افزایش جذب عناصر غذایی به ویژه فسفر، تولید هورمون‌های گیاهی، افزایش مقدار پروتئین

G. etunicatum, *Glomus intraradices* و *G. versiforme* استفاده شد. برای هر گونه قارچی یک گلدان در نظر گرفته شد و در هر گلدان ۵۰۰ گرم از قارچ مورد نظر به علاوه خاک و ماسه به نسبت ۱ به ۵ افزوده شد. ذرت (*Zea mays* L.) واریته ۷۰۳ به علت همزیستی بالایی که با این گونه از قارچ‌ها نشان می‌دهد، برای تهیه مایه تلقیح استفاده شد. بذره‌های ذرت به مدت ۲۰ دقیقه در محلول ۲۰ درصد هیپوکلریت سدیم (NaOCl) استریل شده، با آب مقطر شستشو داده شدند. گلدان‌ها در شرایط گلخانه‌ای با دمای شبانه ۳۲ و روزانه ۲۰ درجه، شدت نور ۱۰۰۰۰ لوکس، دوره روشنایی ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۴۰ تا ۵۰ درصد قرار داده شدند. نور مورد نیاز برای رشد گیاه توسط لامپ‌های فلورسنت، تنگستن و سدیمی تأمین شد. از هفته سوم از محلول غذایی Rorison برای تغذیه گیاهان استفاده شد.

در پایان هفته پنجم برای اطمینان از همزیستی، نمونه‌ای از ریشه ذرت پس از رنگ‌آمیزی زیر میکروسکوپ بررسی شد. پس از گذشت ۱۰ هفته، بخش هوایی گیاه حذف و از بستر خاک حاوی خاک، ماسه، ریشه و هیف قارچی به عنوان مایه تلقیح استفاده شد.

آماده سازی گیاهان برای مرحله سازگاری

برای سازگار نمودن گیاهان باززایی شده با شرایط محیط خارج، ابتدا گیاهچه‌های حاصل از باززایی به آرامی از داخل ژل خارج شده با آب ولرم شسته شدند تا از حذف تمامی ذرات آگار اطمینان حاصل شود. سپس گیاهچه‌های ریشه‌دار شده به گلدان‌های حاوی پیت: ورمیکولیت: شن (۱:۱:۱) منتقل شدند. در این

بدون هورمون که اسیدیته آن با استفاده از NaOH یک نرمال در حد ۵/۵ تنظیم شده بود، کشت شدند.

محیط کشت استفاده شده برای شاخه‌زایی ریزنمونه‌ها شامل محیط کشت MS غنی شده با ۳۰ گرم در لیتر سوکروز و ۷ گرم در لیتر آگار و هورمون‌های BAP(۰/۵mg/l)+ NAA(۱mg/l) بود. برای تعیین اثر تریپتوفان بر رشد و میزان شاخص‌های بیوشیمیایی گیاه پروانش، این آمینو اسید در ۴ غلظت (صفر، ۱۵۰، ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی گرم در لیتر) به محیط کشت باززایی اضافه شد. برای افزودن تریپتوفان به محیط کشت باززایی، پس از تهیه محیط کشت بهینه شاخه‌زایی و اتوکلاو نمودن آن، تحت شرایط هود لامینار و در اتاق کشت سترون شده، تریپتوفان در آب مقطر سترون حل و پس از سترون‌سازی از طریق فیلترهای ۰/۲ میکرومتری واتمن در غلظت‌های مشخص شده به ۴ محیط کشت مورد نظر اضافه شد. پس از آن، محیط کشت آماده شده به شیشه‌ها منتقل و پس از سه روز برای کشت استفاده شد. نمونه‌ها در دمای 25 ± 2 درجه سانتیگراد و در دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و تحت شدت نور ۳۰۰۰ لوکس قرار گرفتند. واکشت نمونه‌ها هر دو هفته یک‌بار صورت گرفت. پس از شاخه‌زایی نمونه‌ها، گیاهچه‌های حاصل برای تشکیل گیاهچه کامل و ریشه‌زایی به محیط کشت ریشه‌زایی شامل محیط کشت MS ۱/۲ غنی شده با ۳۰ گرم در لیتر سوکروز و ۷ گرم در لیتر آگار و IBA (۰/۱ mg/l) و غلظت‌های در نظر گرفته شده تریپتوفان، منتقل شدند. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در ۴ تکرار انجام شد.

تهیه مایه تلقیح قارچی

از سه گونه قارچ میکوریز آربوسکولار به نام‌های

وزن خشک اندام هوایی محاسبه شد.

اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوستزی

ابتدا ۰/۵ گرم از بافت تر برگ همراه با ۱۰ میلی‌لیتر استون ساییده شد تا رنگ سبز آن کاملاً برطرف شود و محلول به دست آمده با استفاده از کاغذ صافی صاف شد. سپس، جذب نمونه‌ها در ۶۴۵ و ۶۶۲ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. در پایان، مقدار کلروفیل‌های a و b با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد (Lichtenthaler and Wellburn, 1983):

$$\text{Chl a} = 11.75 A_{662} - 2.350 A_{645}$$

$$\text{Chl b} = 18.61 A_{645} - 3.960 A_{662}$$

اندازه‌گیری مقدار قندهای محلول

برای اندازه‌گیری مقدار قندهای محلول از روش فنل سولفوریک استفاده شد که بر اساس هیدرولیز قندهای محلول و ایجاد ترکیبات فورفورال است. این ترکیبات با فنل کمپلکس رنگی ایجاد می‌کنند (Fales, 1951). بدین منظور، بر روی ۱۰۰ میلی‌گرم از ماده خشک اندام هوایی ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد افزوده شد و به مدت یک هفته در دمای ۴ درجه یخچال قرار داده شد تا قندهای محلول آن آزاد شوند. پس از این مدت، با افزودن آب مقطر، حجم ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی نمونه‌ها به ۲ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس روی هر کدام از لوله‌های آزمایش، یک میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و سولفوریک اسید افزوده شد. محلول زردرنگ ایجاد شده با گذشت زمان تغییر رنگ داد. پس از ۳۰ دقیقه و بعد از سرد شدن لوله‌ها و ایجاد رنگ نهایی، شدت رنگ حاصل با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای تعیین غلظت قندهای محلول لازم است

تحقیق، برای بررسی نقش قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در سازگاری گیاهان درون شیشه‌ای با محیط خارج، از ۱۰ گرم از هر سه گونه قارچ میکوریز شامل *G. intraradices*, *Glomus etunicatum* و *G. versiforme* به علاوه نمونه‌های شاهد بدون میکوریز، استفاده شد. پیش از انتقال گیاهچه‌ها به گلدان‌ها، خاک به خوبی آبیاری و زهکشی شد. پس از آن، روی گلدان‌ها با نایلون پوشیده شد تا رطوبت محیط اطراف گیاه بالا نگه داشته شود. گلدان‌ها به اتاقک کشت با شدت نور کم که توسط دستگاه رطوبت‌ساز مرطوب نگه داشته شده بود، منتقل شدند. دمای اتاقک کشت در ۲۵ درجه سانتیگراد تنظیم شد. پس از ۴ هفته گیاهان به شرایط نوری بالاتر و رطوبت پایین‌تر منتقل شدند. پس از ۵ هفته درصد حیات در گیاهان سازگاری یافته ارزیابی شد. آزمایش در ۴ تکرار انجام شد.

اندازه‌گیری طول اندام هوایی

برای اندازه‌گیری طول اندام هوایی، پس از برداشت نمونه‌های گیاه پروانش، بخش‌های هوایی در هر یک از بوته‌ها بریده و طول بلندترین بخش در بوته از محل مریستم انتهایی تا محل بریدگی با استفاده از خط کش اندازه‌گیری شد. این عمل برای هر تیمار در ۴ گلدان، هر کدام حاوی یک بوته انجام شد.

اندازه‌گیری وزن تر و خشک اندام هوایی

پس از جداسازی اندام هوایی، وزن تر اندام هوایی با استفاده از ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد و پس از شستشوی آن با آب مقطر، به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد آون قرار داده شد. سپس، مجدداً نمونه‌ها در آون قرار داده و توزین شدند. این عمل تا زمانی انجام شد که وزن نمونه‌ها ثابت ماند. پس از آن،

و حجم آن با آب مقطر به ۱۰۰۰ میکرولیتر رسانده شد. محلول‌ها به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و سپس، جذب آن در ۵۹۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. در پایان، غلظت پروتئین بر اساس منحنی استاندارد بر حسب میکروگرم گرم وزن تر تعیین شد.

تحلیل داده‌ها

تحلیل آماری نتایج حاصل با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ و آزمون توکی انجام و تفاوت میان گروه‌ها با کمک خطای استاندارد در سطح ۵ درصد مقایسه شد.

نتایج

نتایج حاصل از اندازه‌گیری طول اندام هوایی در گیاهان پروانش باززایی شده تحت تیمار تریپتوفان پس از طی دوره سازگاری نشان داد که بالاترین میزان طول اندام هوایی در گیاهان شاهد غیر میکوریزی و گیاهان همزیست با *G. versiforme* و *G. etunicatum* در ۳۵۰ mg/l تریپتوفان و در نمونه‌های همزیست با میکوریز *G. intraradices* در ۲۵۰ mg/l تریپتوفان است که با نمونه‌های شاهد با تریپتوفان صفر در هر گروه فارچی دارای تفاوت معنی‌داری بودند. همچنین، بین تیمارهای میکوریزی در غیاب تریپتوفان بیشترین طول اندام هوایی در گیاهان همزیست با *G. etunicatum* به دست آمد که بررسی آماری نتایج حاصل، بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد بین تیمارهای *G. etunicatum* با سایر تیمارها بود و اختلاف میان شاهد غیر میکوریزی و تیمارهای *G. versiforme* و *G. intraradices* در سطح آماری ۵ درصد معنی‌دار نبود. بررسی نتایج حاصل از اعمال تریپتوفان در گیاهانی که طی سازگاری آغشتگی

منحنی استاندارد با استفاده از غلظت‌های معلوم گلوکز تهیه شود. به این منظور، غلظت‌هایی از گلوکز (صفر، ۱۰، ۱۵، ۲۵ و ۳۵ میلی‌گرم در لیتر) تهیه و طیف جذبی آنها تعیین شد.

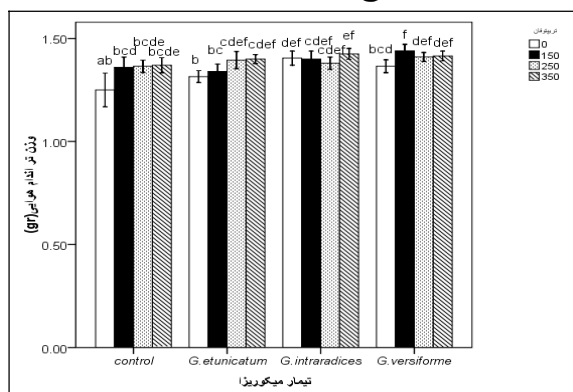
استخراج پروتئین

برای استخراج پروتئین، ابتدا ۵۰۰ میلی‌گرم از بافت‌های اندام هوایی گیاه پروانش توزین شده، توسط ازت مایع به صورت پودر درآمد. سپس، ۰/۸ میلی‌لیتر از بافر استخراج شامل تریس ۰/۰۹ مولار، بوریک اسید ۰/۰۸ مولار و اتیلن دی آمین تترا استات (EDTA) ۰/۹۳ گرم در لیتر با اسیدیت ۴/۸، به علاوه ۰/۸ میلی‌لیتر سوکروز برای غلیظ کردن بافر به نمونه‌های پودر شده درون یک تیوب ۱/۵ میلی‌لیتری اضافه شد. پس از آن، تیوب‌ها در دستگاه سانتریفیوژ ۱۳۰۰۰ دور قرار داده شدند. محلول رویی حاوی پروتئین به تیوب‌های مجزا منتقل شده و تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد فریزر نگهداری شد.

اندازه‌گیری غلظت پروتئین کل

برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین کل از روش برادفورد استفاده شد و سرم آلبومین گاوی در غلظت‌های مختلف برای رسم نمودار استاندارد به کار رفت (Bradford, 1979). برای تهیه معرف برادفورد، مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم از کوماسی بلو G-250 به ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد اضافه شد. سپس، ۱۰۰ میلی‌لیتر فسفریک اسید ۸۵ درصد به این محلول اضافه و حجم کل محلول با استفاده از آب مقطر به یک لیتر رسانده شد. محلول از کاغذ صافی واتمن نمره یک عبور داده شد. برای اندازه‌گیری مقدار پروتئین در نمونه مجهول ۵۰ میکرولیتر به همراه ۲۰ میکرولیتر بافر استخراج و ۹۰۰ میکرولیتر معرف برادفورد ترکیب شده

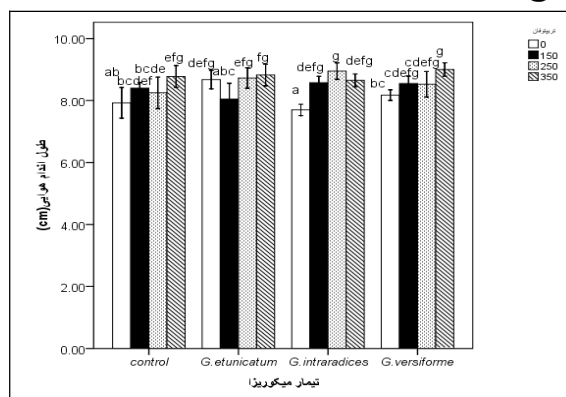
تریتوفان و غلظت‌های به کار رفته آن بود. از سوی دیگر، مقایسه نتایج حاصل از اندازه‌گیری وزن تر اندام هوایی در گیاهان میکوریزی و غیر میکوریزی در شرایط عدم اعمال تریتوفان نشان داد که بالاترین میزان وزن تر به گیاهان همزیست با *G. intraradices* مربوط بود که تفاوت معنی‌داری را با نمونه‌های شاهد غیر میکوریزی و همزیست با *G. etunicatum* نشان داده و با گیاهان همزیست با *G. versiforme* تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵ درصد نشاندهند (شکل ۲).



شکل ۲- وزن تر اندام هوایی گیاهان پروانش تحت تیمار میکوریز و تریتوفان. مقادیر، میانگین ۴ تکرار \pm انحراف معیار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $P < 0.05$ است.

از سوی دیگر، تحلیل نتایج مربوط به وزن خشک اندام هوایی نشان داد که قارچ‌های میکوریز می‌توانند باعث افزایش این شاخص در مقایسه با نمونه‌های غیر میکوریزی شوند. بررسی آماری نتایج نشان داد که تیمار میکوریز در غیاب اعمال تریتوفان باعث افزایش معنی‌داری در وزن خشک اندام هوایی در سطح آماری ۵ درصد تنها در نمونه‌های همزیست با *G. versiforme* در مقایسه با شاهد غیر میکوریزی شده است و در بین سایر تیمارهای میکوریزی تفاوت معنی‌داری نسبت به

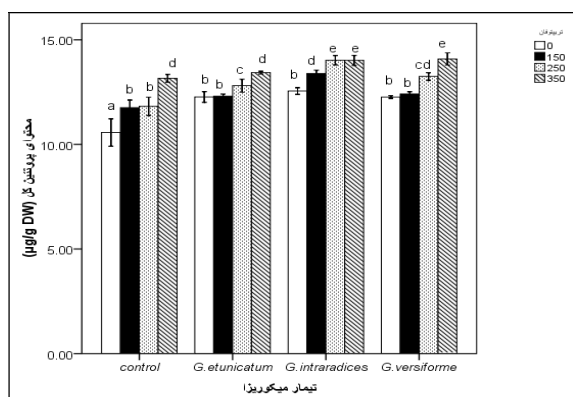
میکوریزی نداشته‌اند نشان داد که بیشترین طول اندام هوایی مربوط به تیمار ۳۵۰ mg/l بود که با تیمارهای صفر و ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تفاوت معنی‌داری را در سطح آماری ۵ درصد نشان دادند (شکل ۱).



شکل ۱- طول اندام هوایی گیاهان پروانش تحت تیمار میکوریز و تریتوفان. مقادیر، میانگین ۴ تکرار \pm انحراف معیار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $P < 0.05$ است.

بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری وزن تر اندام هوایی نشان داد که بین تیمارهای همزیست با *G. intraradices*، *G. etunicatum* و شاهد غیر میکوریزی بالاترین میزان وزن تر در تیمار ۳۵۰ mg/l تریتوفان و در گیاهان همزیست با *G. versiforme* در تیمار ۱۵۰ mg/l تریتوفان به دست آمد و بالاترین میزان وزن تر به گیاهان *G. versiforme* تحت تیمار ۱۵۰ mg/l تریتوفان مربوط بود که اختلاف معنی‌داری را تنها با گیاهان شاهد غیر میکوریزی همزیست با *G. etunicatum* تحت تیمار صفر و ۱۵۰ mg/l تریتوفان و گیاهان همزیست با *G. versiforme* فاقد تریتوفان و گیاهان همزیست با *G. versiforme* فاقد تریتوفان نشان داد. همچنین، تحلیل نتایج مربوط به وزن تر اندام هوایی در گیاهان شاهد غیر میکوریزی بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌های فاقد

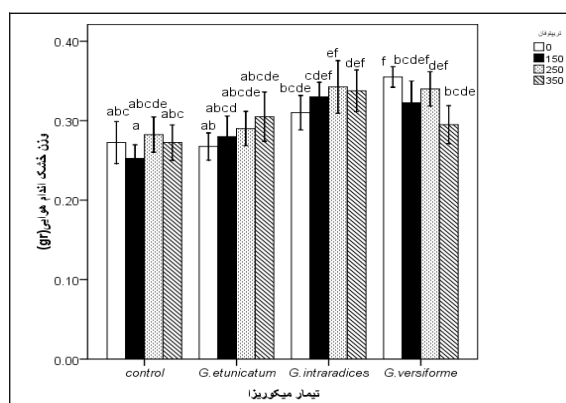
بین این تیمارها مشاهده نشد، در حالی که با سایر تیمارها تفاوت در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. مقایسه نتایج حاصل از اندازه‌گیری پروتئین‌های محلول در تیمارهای تریپتوفان در عدم حضور میکوریز نشان دهنده بالاترین میزان آن در غلظت ۳۵۰ mg/l بود که تفاوت معنی‌داری را با سه غلظت دیگر نشان ندادند. همچنین، بررسی نتایج حاصل از اثر قارچ‌های میکوریز در غلظت صفر تریپتوفان بر مقدار پروتئین محلول نیز تفاوت معنی‌داری را بین سه تیمار قارچی نشان نداد، در حالی که تفاوت با شاهد غیر میکوریزی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. (شکل ۴).



شکل ۴- محتوای پروتئین کل اندام هوایی گیاهان پروانش تحت تیمار میکوریزها و تریپتوفان. مقادیر، میانگین ۴ تکرار \pm انحراف معیار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $P \leq 0.05$ است.

بررسی مقدار قند محلول در گیاهان پروانش میکوریزی و غیر میکوریزی تحت تیمار تریپتوفان نشان داد که بیشترین میزان این شاخص در گیاهان همزیست با *G. versiforme* تحت تیمار ۳۵۰ mg/l تریپتوفان به دست آمده است که به استثنای نمونه‌های همزیست با *G. intraradices* تحت تیمار ۳۵۰ mg/l تریپتوفان، با سایر تیمارها، تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۵

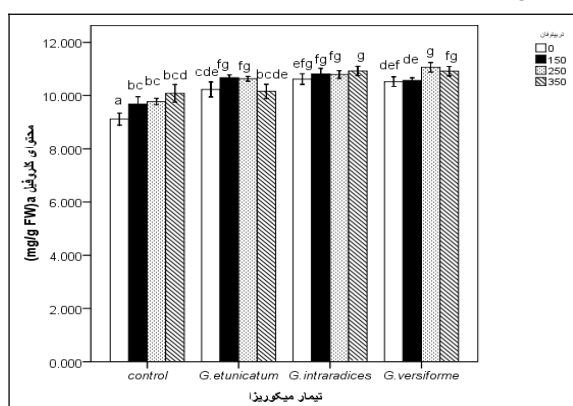
شاهد مشاهده نشد. مقایسه اثر غلظت‌های مختلف تریپتوفان در غیاب میکوریز بیانگر بالاترین میزان وزن خشک اندام هوایی در غلظت ۲۵۰ mg/l تریپتوفان بود. در مجموع، بالاترین میزان این شاخص در نمونه‌های همزیست با *G. versiforme* در غلظت صفر تریپتوفان مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری را با همه غلظت‌های تریپتوفان اعمال شده نمونه‌های شاهد غیر میکوریزی و غلظت‌های صفر تریپتوفان در سایر تیمارهای میکوریزی نشان داد (شکل ۳).



شکل ۳- وزن خشک اندام هوایی گیاهان پروانش تحت تیمار میکوریزها و تریپتوفان. مقادیر، میانگین ۴ تکرار \pm انحراف معیار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $P \leq 0.05$ است.

تحلیل نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان پروتئین کل در گیاهان پروانش میکوریزی و غیر میکوریزی تحت تیمار غلظت‌های مختلف تریپتوفان پس از طی دوره سازگاری بیانگر آن بود که بالاترین میزان این شاخص در نمونه‌های همزیست با *G. versiforme* قرار گرفته تحت تیمار ۳۵۰ mg/l تریپتوفان مشاهده شد که تفاوت اندکی را با گیاهان همزیست با *G. intraradices* تحت غلظت‌های ۲۵۰ mg/l و ۳۵۰ mg/l تریپتوفان نشان دادند و تفاوت معنی‌داری

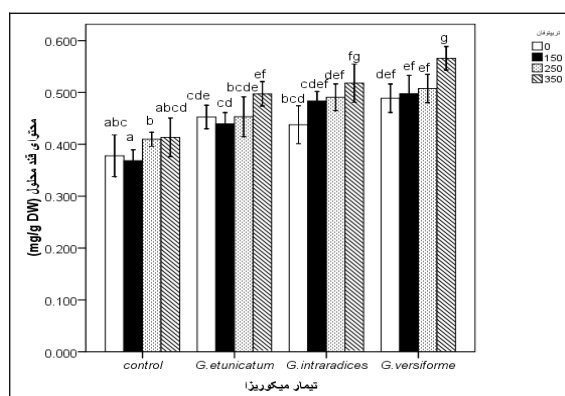
همچنین، *G. etunicatum* تحت تیمارهای ۱۵۰ mg/l و ۲۵۰ mg/l تریپتوفان نشان ندادند. همچنین، بررسی اثر آمینو اسید تریپتوفان بر محتوای کلروفیل a نشان داد که بالاترین میزان این رنگیزه بین نمونه‌های غیر میکوریزی که تنها تحت تیمار تریپتوفان قرار داشتند به تیمار ۳۵۰ mg/l تریپتوفان مربوط بود که تفاوت معنی‌داری را تنها با تیمار فاقد تریپتوفان نشان دادند. تحلیل مقایسه‌ای تیمارهای میکوریزی در غیاب اعمال تریپتوفان نیز بیانگر بالاترین میزان در مقدار کلروفیل a در نمونه‌های همزیست با *G. intraradices* بود که تنها با نمونه‌های شاهد غیر میکوریزی تفاوت معنی‌داری را نشان دادند (شکل ۶).



شکل ۶- محتوای کلروفیل a اندام هوایی گیاهان پروانش تحت تیمار میکوریز و تریپتوفان. مقادیر، میانگین ۴ تکرار \pm انحراف معیار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $P \leq 0.05$ است.

بررسی نتایج مربوط به کلروفیل b نشان دهنده بالاترین میزان این رنگیزه در نمونه‌های همزیست با *G. intraradices* تحت تیمار ۲۵۰ mg/l تریپتوفان بود، با این وجود، این تفاوت در سطح آماری ۵ درصد تنها با نمونه‌های شاهد غیر میکوریزی در همه غلظت‌های تریپتوفان، *G. etunicatum* و در غلظت صفر و

درصد نشان دادند. در بررسی اثر تریپتوفان بر مقدار قندهای محلول در نمونه‌های شاهد غیر میکوریزی، نتایج نشان دادند که تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف وجود نداشته است. همچنین، مقایسه نتایج حاصل از بررسی اثر قارچ‌های میکوریز بر مقدار قندهای محلول اندام هوایی در غیاب اعمال تریپتوفان نشان داد که بالاترین میزان آن در نمونه‌های همزیست با *G. versiforme* به دست آمده که تفاوت معنی‌داری را با گیاهان شاهد غیر میکوریزی نشان داد (شکل ۵).



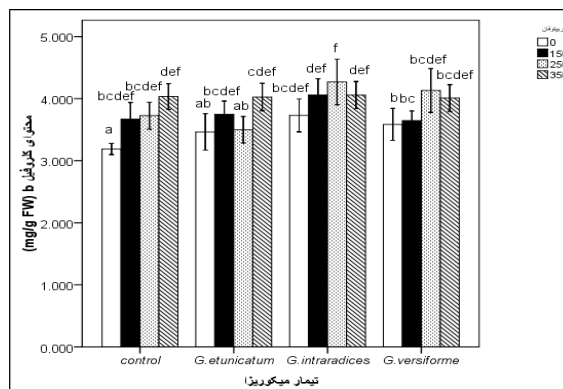
شکل ۵- مقدار قند محلول اندام هوایی گیاهان پروانش تحت تیمار میکوریز و تریپتوفان. مقادیر، میانگین ۴ تکرار \pm انحراف معیار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $P \leq 0.05$ است.

بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل‌های a و b نشان داد که میزان این دو رنگیزه نیز در تیمارهای میکوریزی بالاتر از نمونه‌های شاهد غیر میکوریزی بود. بالاترین میزان کلروفیل a در نمونه‌های همزیست با *G. versiforme* تحت تیمار ۲۵۰ mg/l تریپتوفان مشاهده شد، با وجود این، تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۵ درصد با نمونه‌های همزیست با *G. intraradices* در تمامی غلظت‌های تریپتوفان و

میکوریز سبب افزایش رشد و طول اندام هوایی و وزن تر و خشک در گیاهچه‌های تحت تیمار تریپتوفان شده‌اند.

قارچ‌های میکوریز با افزایش جذب عناصر معدنی نظیر فسفر که تحرک نسبتاً کمی در خاک دارند باعث افزایش رشد در گیاهان می‌شوند. این قارچ‌ها به شدت ریشه‌های جانبی را در خاک افزایش می‌دهند و با تشکیل ریشه شعاعی به گیاه برای جذب آب و مواد معدنی یاری می‌رسانند. همچنین، آغشتگی با قارچ‌های میکوریز می‌تواند بسته به نوع میزان مقدار سایر عناصر غذایی نظیر کلسیم، مس، منیزیم و روی را در گیاه افزایش دهد و این خود به رشد گیاه کمک می‌کند. از سوی دیگر، یکی از مهم‌ترین آثار دوره سازگاری بر گیاهان انتقال یافته به محیط *ex vitro* قرار گرفتن گیاهان تحت تنش رطوبت و آب است. نشان داده شده که تلقیح گیاهچه‌های ریزازدیادی شده با قارچ‌های میکوریز نقش مهمی را در اقتصاد آب گیاه ایفا می‌کند (Kapoor *et al.*, 2008). قارچ‌های میکوریز با افزایش محتوای آب نسبی (RWC) می‌توانند باعث بهبود جذب فسفر از خاک شده، در نهایت، نقش مؤثری در افزایش رشد گیاه داشته باشند (Krishna *et al.*, 2005). از دیگر عوامل مؤثر بر میزان رشد توسط قارچ‌های میکوریز، تأثیر این قارچ‌ها بر هورمون‌های گیاهی به ویژه IAA است. افزایش مقدار IAA، جبریلین و سیتوکینین در گیاه *Prosopis juliflora* همزیست با *G. fasciculatum* توسط Selvaraj و Chellappan (۲۰۰۶) گزارش شده است. Karthikeyan و همکارانش (۲۰۰۸) نشان داده‌اند که همزیستی گیاهان پروانش با قارچ‌های میکوریز *G. mosseae* می‌تواند باعث افزایش ارتفاع گیاه شود.

۲۵۰ mg/l تریپتوفان و *G. versiforme* در غلظت صفر و ۱۵۰ mg/l تریپتوفان معنی‌دار بود. همچنین، مقایسه نتایج حاصل از بررسی اثر تریپتوفان به تنهایی در نمونه‌های غیر میکوریزی نشان داد که بالاترین میزان کلروفیل b در غلظت ۳۵۰ mg/l تریپتوفان مشاهده شد که تنها با شاهد فاقد تریپتوفان تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۵ درصد نشان دادند. از سوی دیگر، نتایج حاصل از آغشتگی گیاهان با میکوریز در تیمارهای فاقد تریپتوفان بیانگر بالاترین میزان کلروفیل b در *G. intraradices* بود که تنها با شاهد غیر میکوریزی تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد دارا بود (شکل ۷).



شکل ۷- محتوای کلروفیل b اندام هوایی گیاهان پروانش تحت تیمار میکوریز و تریپتوفان. مقادیر، میانگین ۴ تکرار \pm انحراف معیار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $P \leq 0.05$ است.

بحث

بررسی نتایج حاصل از برهم کنش قارچ‌های میکوریز در گیاهچه‌های پروانش رشد یافته در شرایط درون شیشه که تحت تأثیر غلظت‌های مختلف تریپتوفان قرار گرفته بودند، طی فرآیند سازگاری نشان داد که این قارچ‌ها اثر مثبتی بر رشد و عوامل بیوشیمیایی این گیاهچه‌ها داشته‌اند. نتایج نشان دادند که قارچ‌های

تریپتوفان به صورت جزئی افزایش می‌یابد (Talaat *et al.*, 2005).

برهم کنش دو تیمار میکوریز و تریپتوفان باعث افزایش غلظت قندهای محلول در گیاهچه‌های پروانش شد. برهم کنش همزیستی در اجتماعات میکوریزی بر اساس تبادل کربوهیدرات‌ها و سنتز پلی‌ساکاریدها استوار است. از سوی دیگر، قارچ‌های میکوریز می‌توانند با افزایش غلظت هورمون‌های گیاهی نظیر سیتوکینین که در باز شدن روزنه‌ها مؤثرند، باعث افزایش فتوسنتز و در نهایت، تشکیل کربوهیدرات‌ها در گیاه شوند. Demir (۲۰۰۴) نشان داد که میزان قندهای فروکتوز، آلفا گلوکز و مقدار قند کل در گیاهان فلفل همزیست با *G. intraradices* بالاتر از انواع غیر میکوریزی بوده است. همچنین، اثر تریپتوفان بر افزایش کربوهیدرات‌ها توسط Wahba و همکارانش (۲۰۰۲) روی *Antholyza acthiopica* نشان داده شده است.

بررسی مقادیر کلروفیل‌های a و b در گیاهچه‌های پروانش میکوریزی که تحت تیمار تریپتوفان، طی فرآیند سازگاری بیانگر مؤثر بودن این دو تیمار در افزایش این عوامل فتوسنتزی بوده است. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که غلظت کلروفیل در گیاهان تیمار شده با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بالاتر از انواع غیر میکوریزی است (Kapoor *et al.*, 2006). بالا بودن غلظت کلروفیل در نمونه‌های میکوریزی را می‌توان به بالا بودن جذب فسفر به عنوان حامل انرژی طی فرآیند فتوسنتز نسبت داد (Selvaraj and Chellappan, 2006). از سوی دیگر، قارچ‌های میکوریز با افزایش جذب عناصر ضروری در بیوسنتز کلروفیل‌ها (شامل منیزیم و آهن) می‌توانند سبب افزایش ساخت این

همچنین، اثر این قارچ‌ها بر شاخص‌هایی نظیر وزن تر و خشک اندام هوایی گزارش شده است (Morone-Fortunato and Avato, 2008).

از سوی دیگر، Talaat و همکارانش (۲۰۰۵) نشان داده‌اند که با افزایش غلظت تریپتوفان به کار رفته در گیاه پروانش، میزان وزن تر و خشک و ارتفاع گیاه افزایش می‌یابد. همچنین، Nahed و همکاران (۲۰۰۹) با به کار بردن دو غلظت از تریپتوفان در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام (ppm) افزایش رشد را در گیاهان *Antirrhinum majus* نشان داده‌اند. اثر مثبت تریپتوفان می‌تواند به علت نقش این آمینو اسید به عنوان مسیری جایگزین در سنتز IAA باشد. به علاوه، زمانی که گیاه دچار کمبود کربوهیدرات می‌شود، تریپتوفان می‌تواند به عنوان منبع کربن و انرژی عمل کند و به این طریق در رشد گیاه مؤثر باشد.

اثر مثبت چند گونه از قارچ‌های میکوریز بر رشد و ارتفاع گیاهچه‌های *Vitis vinifera* در طول سازگاری *ex vitro* گزارش شده است (Krishna *et al.*, 2005). تحلیل نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار پروتئین کل نیز بیانگر اثر مثبت قارچ‌های میکوریز و تیمارهای تریپتوفان بر مقادیر این شاخص بوده است. نشان داده شده است که تلقیح میکوریزی غلظت اسیدهای آمینه و مقدار پروتئین کل را در گیاهان همزیست افزایش می‌دهد. مشخص شده است که گیاهان *Prosopis juliflora* همزیست با *G. fasciculatum* نسبت به شاهد از پروتئین بیشتری در برگ‌های خود برخوردار بوده‌اند (Selvaraj and Chellappan, 2006). همچنین، نشان داده شده است که در گیاهان پروانش تیمار شده با سه غلظت تریپتوفان، مقدار پروتئین کل با افزایش غلظت

می‌توانند سبب افزایش غلظت کلروفیل‌های a و b و کاروتنوئیدها شوند که این نتایج هماهنگ با یافته‌های Abdel Aziz و Balbaa (۲۰۰۷) بر گیاه *Phylodendron erubescens* است.

جمع‌بندی

در مجموع، از بررسی حاضر این نتیجه به دست آمد که طی فرآیند سازگاری، قارچ‌های میکوریز و تریتوفان بر رشد گیاهان پروانش مؤثر بوده، از میان تیمارهای اعمال شده، برهم‌کنش دو تیمار تأثیر بیشتری بر رشد و عوامل بیوشیمیایی این گیاه دارویی ارزشمند دارد.

رنگیزه‌ها و در نهایت، افزایش میزان فتوسنتز شوند (Krishna *et al.*, 2005). افزایش مقدار کلروفیل‌های a و b در گیاهان *Prosopis juliflora* همزیست با *G. fasciculatum* گزارش شده است (Selvaraj and Chellappan, 2006). همچنین، Krishna و همکارانش (۲۰۰۵) افزایش غلظت کلروفیل کل را در گیاهان *Vitis vinifera* همزیست با چند گونه از قارچ‌های میکوریز و Moraes و همکارانش (۲۰۰۴) در گیاه *Podyphyllum peltatum* طی فرآیند سازگاری در شرایط *ex vitro* گزارش کرده‌اند. از سوی دیگر، مشاهده شده که آمینو اسیدها و از جمله تریتوفان

منابع

- Abdel Aziz, N. G. and Balbaa, L. K. (2007) Influence of tyrosine and zinc on growth, flowering and chemical constituents of *Salvia farinaceae* plants. *Journal of Applied Sciences Research* 3: 1479-1489.
- Aslam, J., Haque Khan, S. and Siddiqui Z. H. (2010) *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. an important drug: its applications and production. *Pharmacie Globale* 4: 1-16.
- Bradford, M. M. (1979) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Demir, S. (2004) Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. *Turkish Journal of Biology* 28: 85-90.
- Faheem, M., Singh, S., Tanwer, B. S., Khan, M. and Shahzad, A. (2011) *In vitro* regeneration of multiplication shoots in *Catharanthus roseus* - an important medicinal plant. *Advances in Applied Science Research* 2: 208-213.
- Fales, F. W. (1951) The assimilation and degradation of carbohydrates by yeast cells. *Journal of Biological Chemistry* 193: 113-124.
- Kapoor, R., Sharma, D. and Bhatnagar, A. K. (2008) Arbuscular mycorrhizae in micropropagation systems and their potential applications. *Scientia Horticulturae* 116: 227-239.
- Karthikeyan, B., Abdul Jaleel, C. and Changxing, Z. (2008) The effect of AM fungi and phosphorous level on the biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus*. *Eurasian Journal of Biosciences* 2: 26-33.
- Krishna, H., Singh, S. K. and Sharma, R. R. (2005) Biochemical changes in micropropagated grape (*Vitis vinifera* L.) plantlets due to arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) inoculated during *ex vitro* acclimatization. *Scientia Horticulturae* 106: 554-567.
- Lichtenthaler, H. K. and Wellburn, A. R. (1983) Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11: 591-592.
- Moraes, R. M., Andrade, Z. D., Bedir, E.,

- Dayan, F. E., Lata, H., Khan, I. and Pereira, M. S. (2004) Arbuscular mycorrhiza improves acclimatization and increases lignin content of micropropagated mayapple (*Podophyllum peltatum* L.). *Plant Science* 166: 23-29.
- Morone-Fortunato, I. and Avato, P. (2008) Plant development and synthesis of essential oils in micropropagated and mycorrhiza inoculated plants of *Origanum vulgare* L. ssp. *Hirtum* (Link) Ietswaart. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 93: 139-149.
- Nahed, A. A., Mahgoub N. H. and Mazher, A. A. M. (2009) Physiological effect of phenylalanine and tryptophan on the growth and chemical constituents of *Antirrhinum majus* plants. *Ozean Journal of Applied Sciences* 2: 399-407.
- Selvaraj, T. and Chellappan, P. (2006) Arbuscular mycorrhizae: a diverse personality. *Journal of Central European Agriculture* 7: 349-358.
- Talaat, I. M., Bekheta, M. A. and Mahgoub, M. H. (2005) Physiological response of periwinkle plants (*Catharanthus roseus*) to tryptophan and putrescine. *International Journal of Agriculture and Biology* 2: 210-213.
- Wahba, H. E., Safaa, M. M., Attoa, G. E. and Farahat, A. A. (2002) Response of *Antholyza athipoica* L. to foliar spray with some amino acids and mineral nutrition with sulphur. *Annals of Agricultural Science* 47: 929-944.
- Whitmer, S., Van Der Heijden R. and Verpoorte, R. (2002) Effect of precursor feeding on alkaloid accumulation by a tryptophan decarboxylase over-expressing transgenic cell line T22 of *Catharanthus roseus*. *Journal of Biotechnology* 96: 193-203.

مقایسه توانایی تغلیظ فلزات سنگین در پوشش گیاهی منطقه اطراف صنایع فولادسازی در جاده بندر امام-ماهشهر، اهواز

پژشک ذوفن^۱، عاطفه سعادت خواه^۱ و سعادت رستگارزاده^۲
^۱گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
^۲گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

چکیده

گیاهان به علت استفاده از آب، خاک و هوا، در تغییر شرایط بوم‌شناختی مشارکت مهمی دارند و می‌توان از آنها برای پاکسازی بوم‌نظام‌های آلوده به انواع آلاینده‌ها نظیر فلزات سنگین استفاده نمود. در این مطالعه، میزان تجمع فلزات سنگین Fe، Zn، Mn، Ni در خاک و پوشش گیاهی اطراف مناطق صنایع تولید فولاد در جنوب شرق شهر اهواز واقع در جاده بندر امام-ماهشهر بررسی شد. نتایج این مطالعه میانگین غلظت فلزات به صورت قابل تبادل در نمونه‌های حاکی مناطق بررسی شده را به صورت $Fe > Mn > Zn > Ni$ میلی‌گرم بر کیلوگرم نشان داد. بیشینه میزان تجمع Fe در پوشش گیاهی در بخش هوایی گیاه علفی *Taraxacum kotschy* و در تیپ درختی *Conocarpus erectus* با مقادیر ۸۹۱ و ۸۶۰/۳۰ Zn و Mn در بخش هوایی گیاه علفی *T. kotschy* با مقادیر ۱۰۸/۶۳ و ۹۳/۹۰ و بیشترین مقدار Ni در تیپ درختی *Eucalyptus camaldulensis* ۱۰/۸۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک اندازه‌گیری شد. مقدار Pb در خاک و پوشش گیاهی قابل تعیین نبود. نتایج حاصل از محاسبه عامل تغلیظ زیستی و عامل انتقال مبین آن است که در بیشتر موارد و برای بیشتر فلزات مطالعه شده این شاخص‌ها بالاتر از یک است. بر اساس این مطالعه، غلظت فلزات در پوشش گیاهی منطقه از حد آستانه تعریف شده برای گیاهان بیش تجمع‌دهنده کمتر است، با این حال تصور می‌شود که گونه‌های گیاهی انتخاب شده توانایی تجمع و انباشت فلزات مطالعه شده را در بخش هوایی خود دارند.

واژه‌های کلیدی: تجمع دهندگی، عامل انتقال، عامل تغلیظ زیستی، فلزات سنگین

مقدمه

معدن کاری، احتراق سوخت، حمل و نقل اتمی‌ها، استفاده از آفت‌کش‌ها و کودها در کشاورزی است (Adriano, 1986). روش‌های فیزیکی و شیمیایی

فلزات سنگین فلزاتی با چگالی بالاتر از 5 g/cm^3 تعریف می‌شوند که منبع عمده آنها فعالیت‌های صنعتی و

صنعتی و معدنی انجام شده است (Buszewski *et al.*, 2000؛ Hozhina *et al.*, 2004؛ Alloway *et al.*, 2005؛ Papafilippaki *et al.*, 2008؛ Parizanganeh *et al.*, 2010؛ Lorestani *et al.*, 2011). برای مثال، Yanqun و همکاران (۲۰۰۴) برای شناسایی گونه‌های گیاهی تجمع‌دهنده، میزان برخی فلزات سنگین را در پوشش گیاهی منطقه معدنی Lanping در چین مطالعه کردند. همچنین، Miclean و همکاران (۲۰۰۷) میزان قابلیت دسترسی گیاهان اطراف یک منطقه معدن کاری در رومانی را بررسی کردند. در استان خوزستان وجود منابع سرشار نفت و گاز و توسعه روز افزون صنایع مختلف از جمله صنایع فولاد، موجب بروز مشکلات متنوع در بیشتر جنبه‌های زیست‌محیطی از قبیل افزایش آلودگی هوا و منابع آب و خاک شده است. غبار کوره صنایع فلزی مانند صنایع تولید فولاد، یکی از محصولات فرعی کارخانجات صنایع فولاد است که در افزایش میزان فلزات سنگین در آب، هوا و خاک مناطق اطراف سهم به سزایی دارد. در این پژوهش، میزان تجمع فلزات سنگین نیکل، منگنز، روی، آهن و سرب در پوشش گیاهی و خاک منطقه اطراف فعالیت صنایع فولادسازی واقع در جنوب شرق اهواز به منظور مقایسه پتانسیل تجمع فلز در بخش‌های هوایی و ریشه‌ای گیاهان (به ویژه گیاهان علفی) برای شناسایی گونه‌های (بیش) تجمع‌دهنده بررسی میدانی شد.

مواد و روش‌ها

شرح منطقه

منطقه بررسی شده در این مطالعه، در جنوب شرقی اهواز، واقع در جاده بندر امام-ماهشهر که محل فعالیت

مختلفی برای حذف فلزات سنگین از محیط توسعه یافته‌اند که استفاده از برخی از آنها به لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه نیست و از طرف دیگر به لحاظ بوم‌شناختی آثار منفی بر ویژگی‌های شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیک خاک دارد (Boularbah *et al.*, 2005). استفاده از موجودات زنده نظیر میکرواورگانیسم‌ها و گیاهان به عنوان راهکارهای زیستی مؤثر در حذف فلزات سنگین از محیط، از آن جهت که دوستدار محیط زیست بوده، کمترین هزینه را به لحاظ اقتصادی دارد، در سال‌های اخیر بسیار به آن توجه شده است که به این روش‌ها زیست‌پالایی (bioremediation) گفته می‌شود. چنانچه از گیاهان برای پاکسازی محیط استفاده شود، به آن گیاه‌پالایی (phytoremediation) می‌گویند (Chaney *et al.*, 1997). گیاهان برای رشد در خاک‌های آلوده به فلز سنگین از سه راهکار استفاده می‌کنند: گونه‌های اجتناب‌کننده (excluder) که غلظت عنصر در بخش هوایی، حتی در غلظت‌های بالای آن در خاک، در مقادیر پایینی نگه داشته می‌شود (DeVos *et al.*, 1991)، گونه‌های شاخص یا متحمل (indicator) که میزان فلزات سنگین در گیاه با غلظت عناصر یاد شده در خاک یکسان است و گونه‌های تجمع‌دهنده (accumulator) که قادر به تغلیظ فلز در بخش هوایی خود، بیش از غلظت عنصر در خاک هستند (Taylor, 1987). گیاهان بیش تجمع‌دهنده (hyperaccumulator) زیر گروهی از گیاهان تجمع‌دهنده هستند که می‌توانند در خاک‌های آلوده به فلزات، بدون بروز علائم سمیت، چرخه زندگی خود را تکمیل نمایند (Baker and Brooks, 1989). مطالعات بسیاری روی میزان تجمع فلزات سنگین در پوشش گیاهی موجود در مناطق

روی ($ZnCl_2$)، نیترات آهن II ($Fe(NO_3)_2$) و نیترات سرب ($Pb(NO_3)_2$) استفاده شد.

نمونه برداری از پوشش گیاهی

پوشش گیاهی منطقه مورد مطالعه شامل تیپ‌های درختی، درختچه‌ای و علفی است (جدول ۱). برای نمونه برداری از هر تیپ گیاهی، گونه‌های غالب که در تمام اوقات سال وجود دارند، انتخاب شدند. سپس، نمونه‌های گیاهی برگ درختان و درختچه‌ها و بخش هوایی و ریشه‌ای گیاهان علفی در کمینه ۶ تکرار به صورت تصادفی از هر منطقه جمع‌آوری و در شرایط سرد به آزمایشگاه منتقل شد. پس از شناسایی، برای زدودن گرد و غبار از سطح گیاه، ابتدا نمونه‌های گیاهی با آب مقطر شستشو داده شد. سپس، برای حذف فلزات سنگین از سطح ریشه گیاهان علفی از محلول ۲۰ میلی‌مول در لیتر Na^2-EDTA استفاده شد (Yang *et al.*, 1996). پس از جداسازی ریشه و بخش هوایی در گیاهان علفی، همه نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در آون با درجه حرارت ۷۲ درجه سانتیگراد برای تعیین وزن خشک قرار داده شد.

عصاره‌گیری از نمونه‌های گیاهی

برای سنجش میزان فلزات سنگین، از نمونه‌های خشک و پودر شده گیاهی طبق روش Yanqun و همکاران (۲۰۰۴) و با سه تکرار استفاده شد. عصاره‌گیری از نمونه‌های گیاهی با استفاده از نیتریک اسید ۶۵ درصد (HNO_3) گرم و آب اکسیژنه ۳۰ درصد (H_2O_2) انجام شد (Miclean *et al.*, 2007). برای تعیین مقادیر فلزات سنگین در عصاره‌های تهیه شده از دستگاه جذب اتمی GBC مدل Avanta ساخت کشور استرالیا استفاده شد. برای تهیه محلول‌های استاندارد از

چندین کارخانه تولید فولاد است، قرار دارد. این منطقه، به لحاظ جغرافیایی در ۳۱ درجه و ۲۰ دقیقه عرض شمالی و ۴۸ درجه و ۴۰ دقیقه طول شرقی قرار گرفته است، سرعت وزش باد ۹ متر بر ثانیه و میانگین بارش سالیانه ۲۱۳ میلی‌متر در این منطقه است. برای نمونه برداری از پوشش گیاهی و خاک با در نظر گرفتن فاصله منطقه مورد بررسی از کوره ذوب فلز صنایع فولاد سازی، دو منطقه با سطح ۱۰۰۰ متر مربع که در دو ضلع موازی یک فضای مربع-مستطیل شکل انتخابی که در اطراف صنایع فولاد سازی قرار داشتند به عنوان مناطق ۱ و ۲ انتخاب شدند.

نمونه برداری از خاک

نمونه‌های خاک از محل رشد هر گونه گیاهی با بیشینه عمق ۲۰ سانتی متر در هر منطقه کمینه در ۶ تکرار جمع‌آوری شدند و برای تحلیل به آزمایشگاه منتقل شدند. پس از انتقال نمونه‌های خاکی و غربال آنها با الک ۲ میلی متری و خشک نمودن آنها در معرض هوا به مدت یک هفته، خاک‌های مربوط به هر گونه گیاهی مطابق با روش Yanqun و همکاران (۲۰۰۴) با یکدیگر مخلوط و سپس از این مخلوط سه تکرار برای سنجش فلزات سنگین استفاده شد.

عصاره‌گیری از خاک

مقدار فلزات سنگین در نمونه‌های خاکی به روش قابل تبادل بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم و با استفاده از دستگاه جذب اتمی GBC مدل Avanta ساخت کشور استرالیا ارزیابی شد. برای اندازه‌گیری شکل قابل تبادل از روش DTPA استفاده شد (Lindsay and Norvell, 1978). برای تهیه محلول‌های استاندارد از محلول‌های نیترات نیکل ($NiNO_3$)، کلرید منگنز ($MnCl_2$)، کلرید

تعیین عامل انتقال (Translocation Factor, TF)

این عامل، میزان انتقال فلز سنگین را از بخش ریشه‌ای به بخش هوایی گیاه مشخص می‌کند (Komar *et al.*, 2001).

(TF) عامل انتقال = غلظت فلز سنگین در بخش هوایی / غلظت فلز سنگین در بخش ریشه‌ای

تحلیل داده‌ها

پس از سه تکرار برای نمونه‌های گیاهی و خاکی، مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌دار $P < 0.05$ انجام شد.

فلزات سنگین مورد اشاره از محلول‌های یاد شده برای نمونه‌های خاکی استفاده و غلظت عناصر به صورت میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک گیاهی تعیین شد.

تعیین عامل تغلیظ زیستی (Bioconcentration Factor, BF)

برای تعیین عامل تغلیظ زیستی (BF) از نسبت غلظت فلزات سنگین در بخش هوایی گیاه به غلظت این فلزات به شکل قابل تبادل در خاک استفاده شد (Branquinho *et al.*, 2006).

(BF) عامل تغلیظ زیستی = غلظت فلز سنگین در بخش هوایی / غلظت فلز سنگین در خاک به شکل قابل تبادل

جدول ۱- گونه‌های گیاهی غالب در مناطق ۱ و ۲، خانواده‌های گیاهی و تیپ رویش آنها

نمونه	گونه	خانواده گیاهی	منطقه نمونه برداری	نوع	بخش استفاده شده
۱	<i>Conocarpus erectus</i>	Combretaceae	منطقه ۱	درختی	برگ
۲	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	Myrtaceae	منطقه ۱	درختی	برگ
۳	<i>Prosopis stephaniana</i>	Fabaceae	منطقه ۱	درختی	برگ
۴	<i>Taraxacum kotschy</i>	Asteraceae	منطقه ۱	علفی	ریشه-برگ
۵	<i>Salsola soda</i>	Amaranthaceae	منطقه ۱	علفی	ریشه-برگ
۶	<i>Conocarpus erectus</i>	Combretaceae	منطقه ۲	علفی	ریشه-برگ
۷	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	Myrtaceae	منطقه ۲	درختی	برگ
۸	<i>Prosopis spicigera</i>	Fabaceae	منطقه ۲	درختی	برگ
۹	<i>Taraxacum kotschy</i>	Asteraceae	منطقه ۲	علفی	ریشه-برگ
۱۰	<i>Chenopodium album</i>	Amaranthaceae	منطقه ۲	علفی	ریشه-برگ
۱۱	<i>Nerium oleander</i>	Apocynaceae	منطقه ۲	درختچه‌ای	برگ

نتایج**غلظت فلزات سنگین به شکل قابل تبادل در نمونه‌های خاکی**

این نتایج بیانگر آن است که میانگین غلظت فلزات اشاره شده به شکل قابل تبادل، در هر دو ناحیه به صورت $Fe > Mn > Zn > Ni$ تغییر می‌کند.

مطابق جدول ۲، میانگین غلظت آهن به شکل قابل تبادل در خاک مناطق ۱ و ۲ تجمع معنی‌داری را در مقایسه با سه فلز دیگر به ترتیب با مقادیر $2/1 \pm 28/4$ و $4/6 \pm 18/6$ میلی‌گرم بر کیلوگرم از خود ارایه می‌دهد.

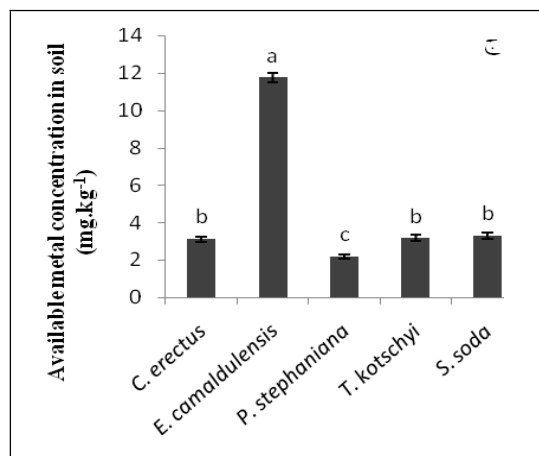
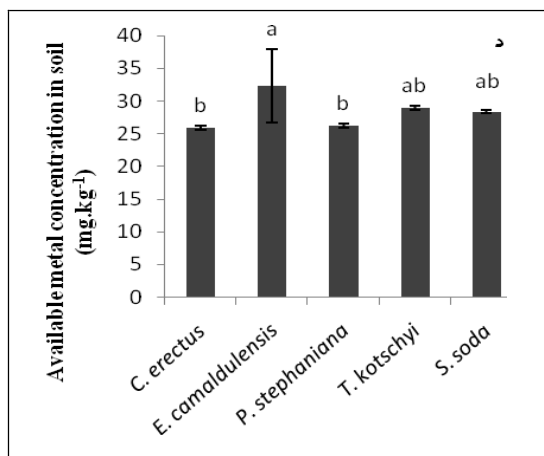
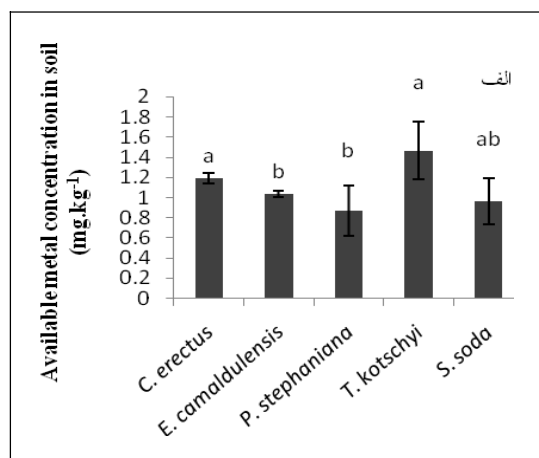
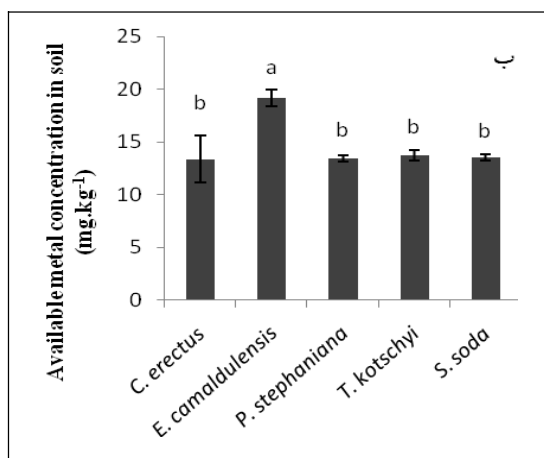
جدول ۲- میانگین مقادیر قابل تبادل فلزات در خاک بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم و میانگین مقادیر فلزات در پوشش گیاهی بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم وزن خشک در مناطق ۱ و ۲. مقادیر منطقه ۱ میانگین ۵ تکرار \pm SD و مقادیر منطقه ۲ میانگین ۶ تکرار \pm SD است. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح $P < 0.05$ است

منطقه ۲				منطقه ۱				
Fe	Zn	Mn	Ni	Fe	Zn	Mn	Ni	
۱۸/۶±۴/۶ ^a	۳/۵±۱/۴ ^c	۱۲/۵±۳/۱ ^b	۰/۴±۰/۱ ^d	۲۸/۴±۲/۱ ^a	۴/۲±۳/۳ ^c	۱۴/۳±۲/۱ ^b	۱/۲±۰/۲ ^d	میانگین مقادیر قابل تبادل فلزات سنگین در خاک
۷۲۶/۵±۲۸۲/۸ ^a	۶۰/۱±۲۵/۶ ^b	۶۰/۹±۲۵/۰ ^b	۳/۳±۳/۵ ^b	۷۱۹/۳±۱۴۴/۷ ^a	۴۴/۸±۱۰/۸ ^b	۳۷/۴±۱۷/۳ ^b	۲/۹±۳/۴ ^b	میانگین فلزات سنگین موجود در پوشش گیاهی

ملاحظه می شود. کمترین مقدار این عنصر مربوط به نمونه خاکی *P. stephaniana* با مقدار ۲/۱۷ میلی گرم بر کیلوگرم اندازه گیری شد (شکل ۱-ج). بررسی میزان روی در منطقه ۲ بیانگر آن است که بیشترین مقدار به نمونه خاکی اطراف *C. erectus* با مقدار ۵/۷۹ میلی گرم بر کیلوگرم و کمترین مقدار مربوط به *P. spicigera* با مقدار ۱/۷۳ میلی گرم بر کیلوگرم با تفاوت معنی دار از لحاظ آماری است (شکل ۲-ج). در منطقه ۱، مقدار فلز آهن در بیشتر نمونه های خاکی اختلاف معنی داری را نشان نداد (شکل ۱-د).

در حالی که در منطقه ۲ برای این شاخص افزایش و کاهش معنی داری در نمونه های خاکی مربوط به گیاهان به ترتیب *C. erectus* با مقدار ۲۴/۹۵ میلی گرم بر کیلوگرم و *P. spicigera* با مقدار ۸/۹۶ میلی گرم بر کیلوگرم مشاهده شد (شکل ۲-د). تحلیل غلظت فلزات یاد شده در نمونه های خاکی مناطق بررسی شده بیانگر عدم وجود سرب است، به همین علت در ارایه نتایج به آن اشاره نشده است.

در بیشتر موارد، در مناطق ۱ و ۲ برای فلز نیکل تفاوت معنی داری در نمونه های خاک اطراف گیاهان مختلف مشاهده نشد (شکل های ۱ و ۲-الف). بر اساس شکل ۱-ب، بیشترین مقدار منگنز در نمونه های خاکی منطقه ۱، در خاک اطراف گونه گیاهی *E. camaldulensis* با مقدار ۱۹/۱۷ میلی گرم بر کیلوگرم سنجش شد که افزایش معنی داری را نسبت به سایر نمونه ها نشان داد. همان طور که در شکل ۲-ب مشاهده می شود، بیشترین مقدار فلز منگنز در منطقه ۲ به دو گیاه *C. erectus* و *P. spicigera* به ترتیب با مقادیر ۱۵/۷۵ و ۱۵/۷۹ میلی گرم بر کیلوگرم مربوط بود که این مقادیر از لحاظ آماری تفاوتی با هم نداشتند. نمونه خاکی *C. album* با مقدار ۷/۶۳ میلی گرم بر کیلوگرم کاهش معنی داری را در این رابطه نسبت به سایر نمونه ها نشان می دهد (شکل ۲-ب). با توجه به شکل ۱-ج، در میزان روی در منطقه ۱ در خاک اطراف گونه گیاهی *E. camaldulensis* با مقدار ۱۱/۷۴ میلی گرم بر کیلوگرم افزایش معنی داری نسبت به دیگر نمونه ها



شکل ۱- میانگین مقادیر قابل تبادل فلز. الف) نیکل، ب) منگنز، ج) روی و د) آهن بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم در منطقه ۱. مقادیر میانگین سه تکرار \pm SD است. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح $P < 0.05$ است.

در حالی که اختلاف معنی‌داری بین این سه گیاه وجود نداشت. مقادیر نیکل در سایر گونه‌های بررسی شده در این منطقه بسیار ناچیز و در حد صفر بوده است. در منطقه ۲، مقادیر اندازه‌گیری شده نیکل به جز در گونه درختی *E. camaldulensis* که با مقدار ۱۰/۸۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک افزایش معنی‌داری را نسبت به دیگر گونه‌ها دارد، در سایر نمونه‌ها مقادیری اندک از این فلز بدون تفاوت آماری معنی‌دار مشاهده شد (شکل ۴-الف). بر اساس شکل ۳-ب، میزان منگنز در گیاه درختی *C. erectus* و بخش هوایی گیاه علفی

غلظت‌های فلزات سنگین نیکل، منگنز، روی، آهن و سرب در نمونه‌های گیاهی

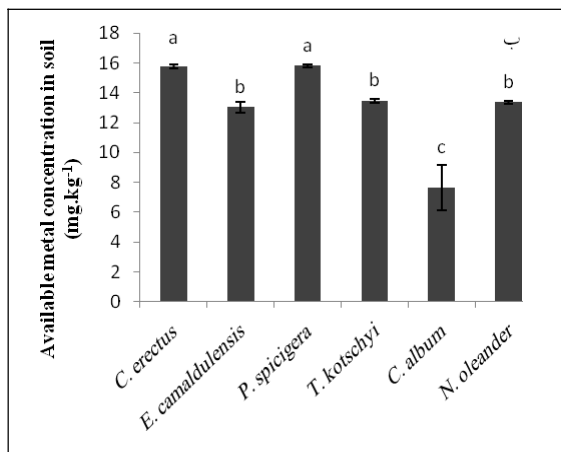
بر اساس جدول ۲، میانگین غلظت فلزات سنگین به صورت میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک گیاهی به ترتیب به صورت $Fe > Zn = Mn > Ni$ در پوشش گیاهی منطقه بررسی شده اندازه‌گیری شد. همان‌طور که در شکل ۳-الف مشاهده می‌شود، افزایش معنی‌داری در غلظت نیکل برای گونه‌های درختی *C. erectus*، *P. stephaniana* و بخش هوایی گیاه علفی *Taraxacum kotschyi* در منطقه ۱ اندازه‌گیری شد،

با مقادیر ۸۲۷/۴ و ۷۹۵/۹ میلی گرم بر کیلوگرم مشاهده می شود. همچنین، گیاه علفی *S. soda* کاهش معنی داری را به لحاظ غلظت آهن با مقدار ۴۷۹/۹۹ میلی گرم بر کیلوگرم در بافت ریشه‌ای نشان می دهد (شکل ۳-د). با توجه به شکل ۴-د، برای فلز آهن در پوشش گیاهی منطقه ۲ کاهش معنی داری در بخش ریشه‌ای گیاه علفی *T. kotschy* با مقدار ۳۷/۲۷ میلی گرم بر کیلوگرم در مقایسه با سایر نمونه‌ها مشاهده می شود، در حالی که سایر نمونه‌های گیاهی تجمع بالایی از فلز آهن را با کمینه مقدار ۷۱۹/۷۰ (در ریشه گیاه علفی *C. album*) و بیشینه مقدار ۸۹۱ میلی گرم بر کیلوگرم (در بخش هوایی گیاه *T. kotschy*) نشان می دهند (شکل ۴-د). بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، به نظر می رسد که در پوشش گیاهی مناطق بررسی شده، مقدار سربی قابل تعیین نبود و بنابراین، در شکل‌ها نتایج مربوط به آن نشان داده نشده است.

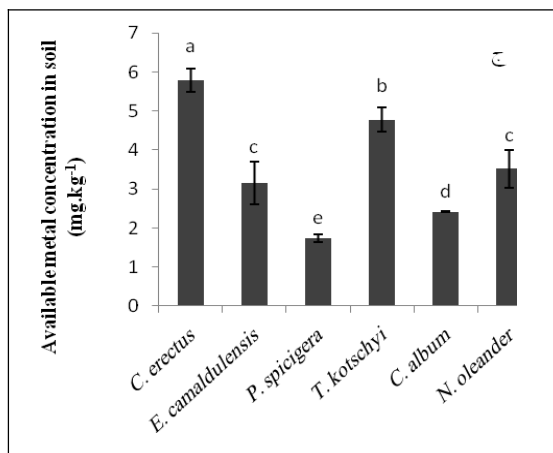
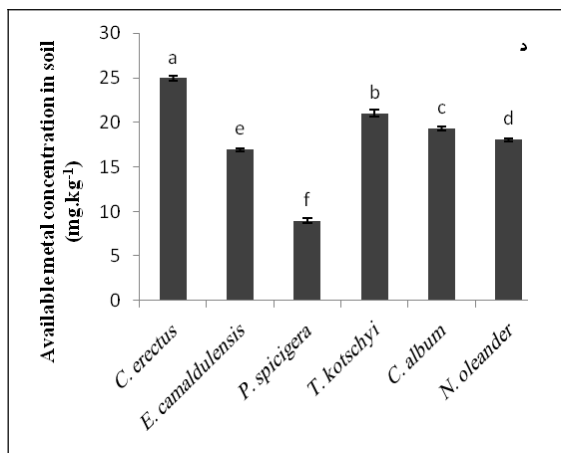
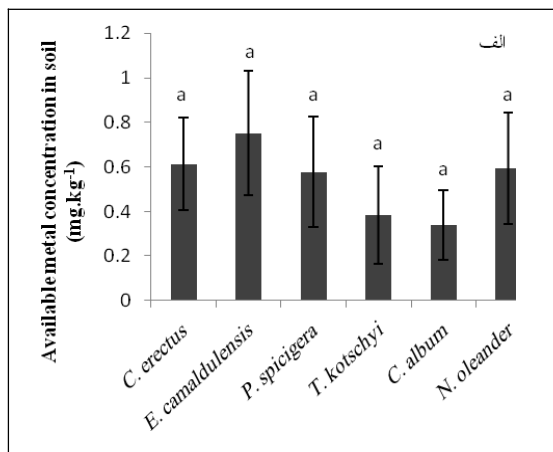
بررسی عامل تغلیظ زیستی (BF) و عامل انتقال (TF)
در مطالعات جذب فلزات سنگین توسط گیاهان، شاخص‌های BF و TF از اهمیت فراوانی برخوردار هستند. بنابراین، به منظور ارزیابی و بررسی میزان توانایی گیاهان انتخاب شده در پاکسازی محیط از فلزات سنگین، دو شاخص یاد شده محاسبه شدند. مطابق جدول ۳، برای بیشتر فلزات در گونه‌های گیاهی مطالعه شده عامل BF بزرگتر از یک است. این مقادیر برای فلز نیکل در نمونه‌های گیاهی *C. erectus*، *P. stephaniana* و بخش هوایی گیاه *T. kotschy*، مقادیر BF بزرگتر از یک را در منطقه ۱ از خود نشان می دهند، در حالی که در منطقه ۲ علاوه بر این سه نمونه، گونه *E. camaldulensis* نیز BF

T. kotschy به ترتیب با مقادیر ۵۵/۲۲ و ۶۱/۵۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن خشک افزایش معنی داری را نسبت به سایر گونه‌های منطقه ۱ نشان می دهد. ریشه گیاه علفی *Salsola soda* کاهش معنی داری را در میزان منگنز در مقایسه با سایر نمونه‌ها با مقدار ۱۲/۴۹ میلی گرم بر کیلوگرم داشت (شکل ۳-ب). همان طور که در شکل ۴-ب ملاحظه می شود، بخش هوایی گیاه علفی *T. kotschy* با مقدار ۹۳/۹ میلی گرم بر کیلوگرم منگنز در منطقه ۲ افزایش و بخش ریشه‌ای گیاه علفی *C. album* با مقدار ۱۵/۰۱ میلی گرم بر کیلوگرم کاهش معنی داری نسبت به سایر نمونه‌های گیاهی نشان می دهد. در منطقه ۱، غلظت روی در بخش هوایی گیاه علفی *T. kotschy* افزایش معنی داری با مقدار ۶۴/۱۸ میلی گرم بر کیلوگرم نشان داد (شکل ۳-ج). کمترین مقدار روی در ریشه‌های گیاهان علفی *T. kotschy* و *S. soda* و بخش هوایی *S. soda* و گونه درختی *C. erectus* به ترتیب با مقادیر ۳۷/۰۶، ۳۹/۵۲ و ۳۴/۸۳ میلی گرم بر کیلوگرم اندازه گیری شد (شکل ۳-ج). با توجه به شکل ۴-ج، بیشینه مقدار فلز روی در پوشش گیاهی منطقه ۲، به بخش هوایی گونه علفی *T. Kotschy* با مقدار ۱۰۸/۶۳ میلی گرم بر کیلوگرم مربوط است که این افزایش در مقایسه با سایر نمونه‌های گیاهی این منطقه معنی دار است. کمترین مقدار روی در این منطقه در بخش ریشه‌ای گیاه *C. album* با مقدار ۲۱/۷۲ میلی گرم بر کیلوگرم سنجش شد (شکل ۴-ج). بر اساس شکل ۳-د، بیشترین تجمع معنی دار آهن با مقدار ۸۶۰/۳۰ در گونه درختی *C. erectus* و در بخش هوایی گیاهان علفی *T. kotschy* و *S. soda* به ترتیب

نشان داد (جدول ۳). همه گونه‌های علفی انتخاب شده عامل TF بزرگتر از یک برای فلزات منگنز، روی و آهن نشان دادند. برای منگنز و روی بیشترین مقدار TF در گونه علفی *C. album* و برای آهن در *T. kotschy* مشاهده شد (جدول ۳).



بزرگتر از یک دارد. مقادیر BF برای عناصر منگنز، روی و آهن در هر دو منطقه برای همه گونه‌ها بالاتر از یک محاسبه شد (جدول ۳). در مقایسه‌ای که برای عامل TF در میان گونه‌های علفی در هر دو منطقه انجام شد، برای فلز نیکل فقط گیاه علفی *T. kotschy* مقادیر بالاتر از یک

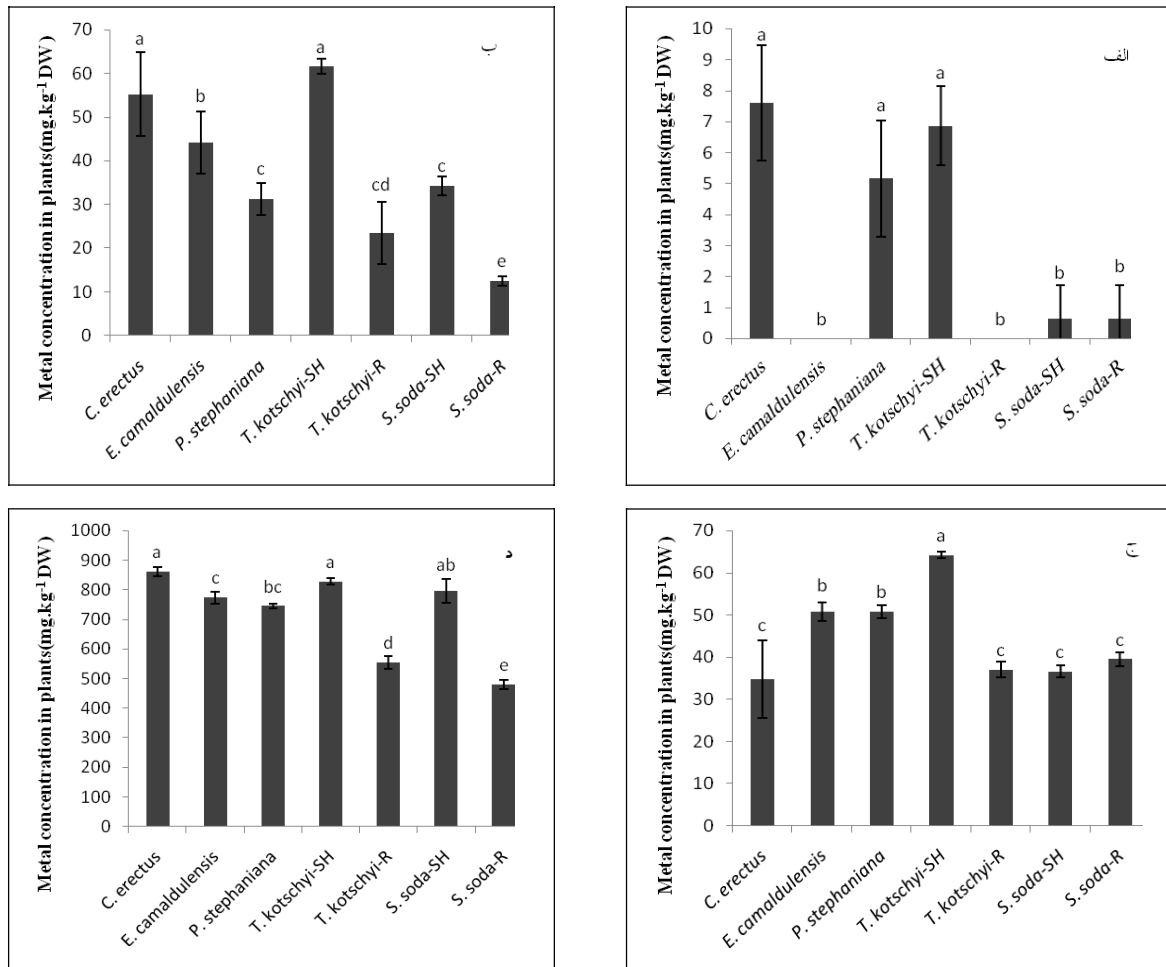


شکل ۲- میانگین مقادیر قابل تبادل فلز. الف) نیکل، ب) منگنز، ج) روی و د) آهن بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم در منطقه ۲. مقادیر میانگین سه تکرار $\pm SD$ است. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح $P < 0.05$ است.

پالایی، استخراج گیاهی (phytoextraction) است که در آن از گیاهان تجمع‌دهنده فلز برای پاکسازی محیط‌های حاوی مقادیر بالای فلزات سنگین استفاده می‌شود (McGrath and Zhao, 2003). این گیاهان می‌توانند مقادیر مهمی از فلزات را در بخش هوایی و قابل برداشت خود مجتمع کنند.

بحث

تجمع بالای فلزات سنگین در محیط می‌تواند آثار منفی زیادی بر سلامتی بوم‌نظام‌ها داشته باشد (Lin et al., 2012). به همین علت، آلودگی فلزات سنگین در سراسر جهان همواره به عنوان مشکلی جدی مطرح بوده است. یکی از روش‌های نوین گیاه



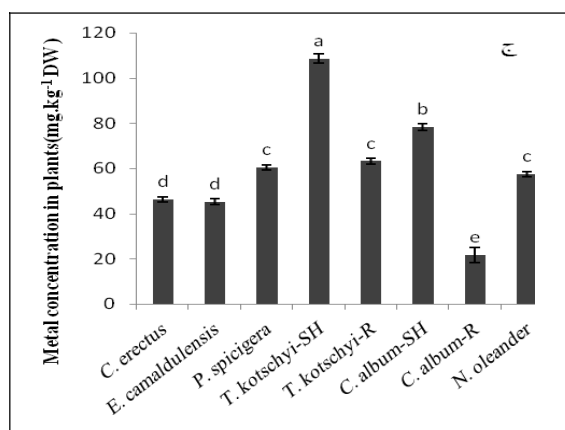
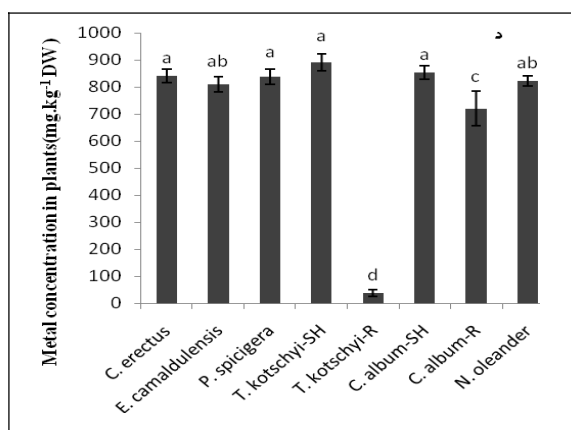
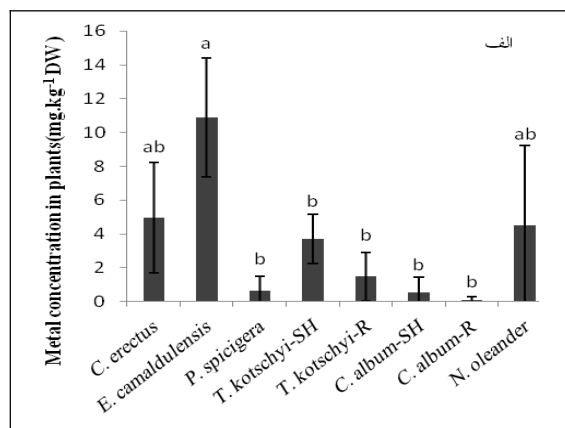
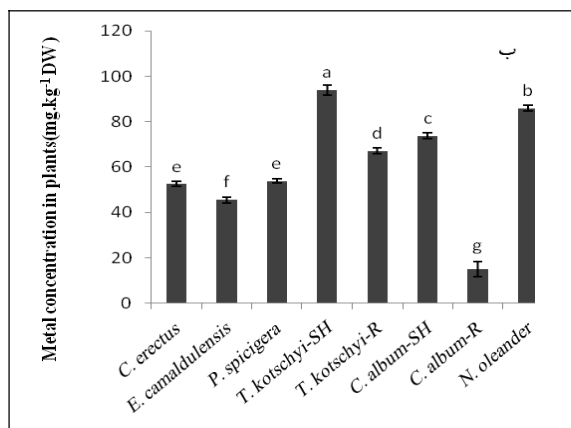
شکل ۳- میانگین مقادیر الف (نیکل، ب) منگنز، ج) روی و د) آهن بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم وزن خشک در پوشش گیاهی در منطقه ۱. مقادیر میانگین ۳ تکرار \pm SD است. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح $P < 0.05$ است. R و SH به ترتیب بیانگر بخش هوایی و ریشه‌ای در گیاهان علفی است.

و می‌تواند به شناسایی گونه‌های گیاهی مناسب برای پاکسازی خاک از فلزات سنگین منجر شود. طبق تعریف، یک گیاه بیش تجمع دهنده فلز سنگین با چهار شاخص مشخص می‌شود (Lin *et al.*, 2012): الف) توانایی تجمع فلز در بخش هوایی، یعنی حد آستانه میزان فلز در بخش هوایی باید بالاتر از گیاهان معمولی باشد، ب) داشتن شاخص تغلیظ زیستی (BF) بزرگتر از یک، ج) داشتن عامل انتقال (TF) بزرگتر از

اگرچه تاکنون بیش از ۴۰۰ گونه گیاهی بیش تجمع دهنده فلز سنگین شناسایی شده است، اما استفاده از روش استخراج گیاهی هنوز به طور عملی در سطح وسیع انجام نشده است (Freeman *et al.*, 2004). بنابراین، بررسی و ارزیابی دقیق پوشش گیاهی موجود در مناطقی که به علت فعالیت‌های انسانی به ویژه فعالیت‌های ذوب فلز در برگیرنده غلظت‌های بالایی از فلزات سنگین هستند، از اهمیت بالایی برخوردار است

خطر ناشی از حضور غلظت‌های بالای فلزات را در محیط نشان دهد، اما الزاماً شاخص مناسبی برای مشخص نمودن مقادیر قابل جذب توسط گیاهان نیست (Gasparatos *et al.*, 2001). بنابراین، غالباً در مطالعات مربوط به میزان تجمع فلزات سنگین در گیاهان به ویژه برای محاسبه شاخص BF از غلظت آن بخش از فلزات که به صورت قابل دسترس در محلول خاک حضور دارند و درصدی از غلظت کل را تشکیل می‌دهند، استفاده می‌شود. پیشنهاد شده است که چنانچه غلظت فلز به شکل قابل تبادل در خاک بالاتر از ۱۰ درصد از غلظت آن به صورت کل باشد، تا حد زیادی برای جذب گیاه قابل دسترس است (Ullrich *et al.*, 1999). نتایج حاصل از مطالعه حاضر بیانگر آن است که به استثنای عنصر نیکل، درصد قابل جذب سایر فلزات بررسی شده در مناطق ۱ و ۲ بالاتر از ۱۰ درصد است (نتایج ارایه نشده است) که این موضوع می‌تواند از جمله عوامل مؤثر در قابلیت جذب و تجمع فلزات در گیاهان انتخابی این ناحیه باشد (شکل‌های ۳ و ۴). در این پژوهش، با اندازه‌گیری اسیدیته نمونه‌های خاکی، مقادیر کمتر از ۷ برای نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق ۱ و ۲ به دست آمد (نتایج مربوط به اسیدیته خاک نشان داده نشده‌اند). بنابراین، به نظر می‌رسد که یکی از عوامل مهم در افزایش درصد شکل قابل تبادل فلزات در خاک مناطق بررسی شده، pH اسیدی و در نتیجه افزایش تبادل کاتیونی و آزاد شدن کاتیون‌های فلزات سنگین به محلول خاک باشد.

یک و د) توانایی تحمل در برابر غلظت‌های بالای فلز. گیاهان بیش تجمع‌دهنده تحت شرایط تنش فلزات سنگین هیچ‌گونه علائم سمیت فلز را از خود نشان نمی‌دهند و توانایی بالایی در تحمل آنها دارند. همان‌طور که در شکل‌های ۱ و ۲ مشاهده می‌شود، غلظت فلزات مطالعه شده در خاک مناطق ۱ و ۲ به استثنای نیکل در برخی موارد بسیار کمتر از میزان تجمع این عناصر در نمونه‌های گیاهی است (شکل‌های ۳ و ۴). بنابراین، به نظر می‌رسد که بیشتر گونه‌های انتخابی قابلیت انباشت فلزات یاد شده را به ویژه در بخش هوایی خود دارند. همچنین، بر اساس این نتایج، تصور می‌شود که بین غلظت این فلزات در خاک و غلظت آنها در نمونه‌های گیاهی منطقه ارتباطی منطقی و مستقیم وجود دارد (جدول ۲). چنین ارتباطی در مطالعه Yanqun و همکاران (۲۰۰۴) به صورت معنی‌داری گزارش شده است. این مطالعات پیشنهاد می‌کند که غلظت فلزات سنگین در خاک تحت تأثیر بسیاری از عوامل تغییر می‌کند و این می‌تواند میزان تجمع آنها را به صورت غیر مستقیم در گیاه تحت تأثیر قرار دهد. به همین علت در مطالعه حاضر، برای دستیابی به غلظت‌های دقیق‌تر فلزات سنگین در خاک و پوشش گیاهی، دو منطقه ارزیابی شد. با این حال، در بیشتر موارد اختلاف معنی‌داری میان میانگین تجمع هر فلز بین دو منطقه (علیرغم وجود فاصله ۲ کیلومتری بین آنها) مشاهده نشد (جدول ۲). اگرچه تعیین غلظت فلزات سنگین به فرم کلی در خاک ممکن است تا حدودی



شکل ۴- میانگین مقادیر الف) نیکل، ب) منگنز، ج) روی و د) آهن بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم وزن خشک در پوشش گیاهی در منطقه ۲. مقادیر میانگین ۳ تکرار \pm SD است. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح $P < 0.05$ است. SH و R به ترتیب بیانگر بخش هوایی و ریشه‌ای در گیاهان علفی است.

نمونه‌های حاکی و گیاهی در مقایسه با سایر فلزات نشان می‌دهد (جدول ۲). به طور کلی، مقدار نیکل در نمونه‌های گیاهی انتخاب شده، در مقایسه با حد آستانه تعریف شده برای یک گیاه بیش تجمع‌دهنده بسیار کمتر است (شکل‌های ۳-الف و ۴-الف)، ولی با توجه به جدول ۳، به نظر می‌رسد که تیپ‌های درختی *E. camaldulensis* و *C. erectus*، *P. stephaniana* و تیپ علفی *T. kotschy* قابلیت انتقال نیکل را به بخش هوایی خود دارند. برخی از مطالعات حاکی از شناسایی گونه‌های گیاهی بیش تجمع‌دهنده برای منگنز است

فلزات نیکل، منگنز و آهن از جمله عناصر ضروری کم مصرفی هستند که در گروه فلزات سنگین طبقه‌بندی می‌شوند. در گیاهان بیش تجمع‌دهنده کمینه میزان نیکل در بخش هوایی ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن خشک است (Baker and Brooks, 1989). بر اساس مطالعات انجام شده جنس *Alyssum* L. از خانواده Brassicaceae بیشترین تعداد گونه گیاهی بیش تجمع‌دهنده نیکل را با توانایی رشد در خاک‌هایی با غلظت‌های بالا و در حد سمی حاوی نیکل دارد (Reeves et al., 1999). در مطالعه حاضر، فلز نیکل کمترین میزان تجمع را در

به علت برخورداری از BF بالاتر یا یکسان نسبت به سایر تیپ‌ها و همچنین، TF بیشتر از یک کارآیی بالاتری در انتقال منگنز از بخش ریشه‌ای به بخش هوایی و در نتیجه تغلیظ آن در بخش هوایی در مقایسه با تیپ‌های درختی و درختچه‌ای دارند که این به وضوح در رابطه با تیپ‌های علفی *T. kotschyi*، *S. soda* و *C. album* مشهود است. نتایج مشابهی برای گیاه علفی *Artrocneum macrostachyum* در مناطق با فعالیت معدنی اسپانیا مشاهده شده است (Martinez-Sanchez et al., 2012). در این گیاه، علیرغم آن که تجمع منگنز در برگ‌ها بالاست ولی کمتر از حد آستانه برای گیاه بیش تجمع‌دهنده است، با این وجود، ضریب TF بیشتر از یک برای منگنز آن را به عنوان گیاهی علفی با قابلیت تجمع فلز در بخش هوایی معرفی می‌نماید.

کمینه میزان تجمع روی در بخش هوایی گیاه برای معرفی به عنوان گیاهی بیش تجمع‌دهنده ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک گیاهی است (Kabata-Pendias and Mukherjee, 2007). از جمله گونه‌های بیش تجمع‌دهنده برای روی می‌توان به *Viola calaminaria*، *Arabidopsis halleri*، چند گونه متعلق به جنس *Thlaspi* (Baker and Brooks, 1989) و *Sedum afelredii* (Deng et al., 2007) و *Corydalis davidii* (Lin et al., 2012) اشاره نمود. بیشینه میزان طبیعی روی در خاک‌ها ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم است (Istvan and Benton, 1997). با بررسی نمونه‌های حاکی مناطق ۱ و ۲، بیشترین مقدار روی در نمونه‌های حاکی تیپ درختی *E. Camaldulensis* و *C. erectus* سنجش شد (شکل‌های ۱-ج و ۲-ج). با این وجود، مطابق با شکل‌های ۳-ج و ۴-ج، تجمع

(Reeves and Baker 2000؛ Min et al., 2007). در گیاهان بیش تجمع‌دهنده میزان منگنز در بخش هوایی بیش از ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک (Baker and Brooks, 1989) و در خاک‌های نرمال مقدار آن حداکثر ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (Kabata-Pendias and Mukherjee, 2007) است. بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، علیرغم این که غلظت منگنز در نمونه‌های حاکی متعلق به تیپ درختی *E. camaldulensis* (شکل ۱-ب) و تیپ‌های درختی *C. erectus* و *P. spicigera* (شکل ۲-ب) در مناطق بررسی شده افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد، با این وجود، افزایش درخوردگی و معنی‌داری در تجمع منگنز در بخش هوایی گیاه علفی *T. kotschyi* نسبت به سایر گونه‌ها مشاهده می‌شود (شکل‌های ۳-ب و ۴-ب). به نظر می‌رسد که این گیاه توانایی بالایی در انتقال منگنز از خاک به بخش هوایی و تغلیظ آن داشته باشد. اگرچه با در نظر گرفتن حد آستانه برای تجمع منگنز در یک گیاه بیش تجمع‌دهنده (Baker and Brooks, 1989)، شاید نتوان گیاه علفی *T. kotschyi* را به عنوان گونه‌ای بیش تجمع‌دهنده معرفی نمود، اما با توجه به این که شاخص‌های تغلیظ زیستی و ضریب انتقال برای این فلز در گیاه یاد شده بیشتر از یک است (جدول ۳)، به نظر می‌رسد که این گیاه توانایی انتقال و تجمع منگنز را از بخش ریشه‌ای به بخش هوایی دارد و می‌تواند به عنوان گیاهی با قابلیت انباشت منگنز مطرح شود. علیرغم این که همه گیاهان انتخاب شده در این مناطق با داشتن ضریب BF بیشتر از یک، توانایی تجمع منگنز را در بخش هوایی خود دارند (جدول ۳)، اما بر اساس نتایج تصور می‌شود که تیپ‌های علفی با وجود بیوماس کمتر

است (Istvan and Benton, 1997). نتایج حاصل از این بررسی حاکی از آن است که متوسط مقدار آهن در خاک مناطق بررسی شده به طور معنی داری بیش از سایر فلزات است (جدول ۲). متوسط میزان آهن در پوشش گیاهی این مناطق نیز از همین روند تبعیت می کند و در مقایسه با سایر فلزات، آهن بیشترین میزان تجمع را در نمونه های گیاهی از خود نشان می دهد (شکل های ۳-د و ۴-د). با توجه به شکل های ۱-د و ۲-د، علیرغم این که میزان قابل دسترس آهن در نمونه های حاکی متعلق به گیاهان انتخاب شده، کمتر از ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم است، اما همه نمونه های گیاهی توانایی بالایی را در تجمع فلز در بافت های هوایی و ریشه ای خود در محدوده ۴۷۹/۹ تا ۸۹۱ میلی گرم بر کیلوگرم از خود نشان می دهند (شکل های ۳-د و ۴-د). با بررسی مقادیر BF (جدول ۳)، تصور می شود که همه گونه های انتخابی شامل تیپ های درختی، درختچه ای و علفی پتانسیل بالایی در تغلیظ آهن در بخش هوایی خود دارند. مقایسه مقادیر TF در سه گونه علفی انتخاب شده در این مناطق بیانگر آن است که احتمالاً گیاه *Taraxcum*، توانایی بالایی را برای انتقال آهن از ریشه به بخش هوایی در مقایسه با دو تیپ علفی دیگر دارد (جدول ۳). نتایج مشابهی در تجمع آهن برای گیاهان علفی *A. macrostachyum* و *Zygophyllum fabago* گزارش شده است (Martinez-Sanchez et al., 2012). این مطالعات حاکی از آن است که گیاهان اشاره شده اگرچه بیش تجمع دهنده آهن نیستند، اما با توجه به ضرایب BF و TF بیشتر از یک می توانند مقادیر بالایی از آهن را در بخش هوایی خود ذخیره کنند.

معنی داری از این فلز در بخش هوایی گیاه علفی *T. kotschy* در هر دو منطقه نسبت به سایر گونه ها مشاهده شد. بر اساس مقادیر BF و TF بیشتر از یک برای این گیاه (جدول ۳)، با وجود آن که میزان روی در اندام هوایی این گیاه بسیار کمتر از حد آستانه برای یک گیاه بیش تجمع دهنده است (Kabata-Pendias and Mukherjee, 2007)، اما به نظر می رسد که این گیاه کارآیی بالایی در انتقال و تجمع روی در بخش هوایی داشته باشد. بررسی مقادیر BF برای عنصر روی در گیاهان انتخاب شده بیانگر آن است که همه این گیاهان توانایی تجمع روی را در اندام هوایی خود دارند (جدول ۳). با این حال، با توجه به مقادیر TF (جدول ۳)، تصور می شود که تیپ های علفی *T. kotschy* و *C. album* به شکل مؤثری قادر به انتقال و تغلیظ روی در بخش هوایی خود در مقایسه با تیپ های درختی و درختچه ای هستند. مطالعات انجام شده بر روی گیاه *Salix viminalis* (Schmidt, 2003) حاکی از آن است که برخی از گونه های گیاهی می توانند مقادیر درخور توجهی از عناصری نظیر روی را جذب و متجمع کنند، اما با توجه به شاخص های تعریف شده برای گیاه بیش تجمع دهنده (Lin et al., 2012)، جزو گیاهان بیش تجمع دهنده طبقه بندی نشده، عمدتاً به عنوان گیاهانی که پتانسیل مناسبی در حذف فلزات سنگین از محیط دارند معرفی می شوند.

در گیاهان بیش تجمع دهنده آهن حد آستانه غلظت این فلز در بخش هوایی ۱۰۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن خشک گیاهی است (Baker and Brooks, 1989). غلظت آهن در خاک تا مقادیر ۳۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در حد طبیعی بدون ایجاد سمیت گزارش شده

جدول ۳- مقادیر عامل تغلیظ زیستی (BF) و عامل انتقال (TF) در مناطق ۱ و ۲. مقادیر میانگین ۳ تکرار \pm SD است. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح $P < 0.05$ است.

عامل تغلیظ زیستی (BF)				شماره گونه‌ها
Fe	Zn	Mn	Ni	
۳۳/۲۵ \pm ۰/۵۷ ^a	۱۱/۱۳ \pm ۲/۶۶ ^b	۴/۲۷ \pm ۱/۳۵ ^a	۶/۳۴ \pm ۱/۲۹ ^a	۱
۲۴/۴۲ \pm ۳/۹۸ ^a	۴/۳۲ \pm ۰/۱۴ ^c	۲/۳۰ \pm ۰/۳۹ ^b	ناچیز ^b	۲
۲۸/۴۵ \pm ۰/۵۳ ^a	۲۳/۳۶ \pm ۰/۸۱ ^a	۲/۳۲ \pm ۰/۳۱ ^b	۵/۸۳ \pm ۰/۶ ^a	۳
۲۸/۵۷ \pm ۰/۰۸ ^a	۲۰/۳۴ \pm ۱/۲۰ ^a	۴/۴۸ \pm ۰/۲۷ ^a	۴/۸۰ \pm ۱/۳ ^a	۴
۲۸/۰۸ \pm ۱/۲۳ ^a	۱۱/۱۶ \pm ۰/۴۶ ^b	۲/۵۲ \pm ۰/۱۶ ^b	۰/۳۵ \pm ۰/۶۱ ^b	۵
۳۳/۷۳ \pm ۰/۸۹ ^b	۷/۹۹ \pm ۰/۲۹ ^b	۳/۳۳ \pm ۰/۱۱ ^c	۸/۰۹ \pm ۳/۹۳ ^a	۶
۴۷/۷۸ \pm ۱/۵۵ ^b	۱۴/۶۴ \pm ۲/۷۰ ^b	۳/۴۹ \pm ۰/۲۳ ^c	۱۷/۷۵ \pm ۱۳/۵ ^a	۷
۹۳/۴۳ \pm ۱/۷۱ ^a	۳۴/۸۹ \pm ۲/۷۴ ^a	۳/۴۱ \pm ۰/۱۷ ^c	۱/۱۰ \pm ۱/۱۱ ^b	۸
۴۲/۴۰ \pm ۱/۸۲ ^b	۲۲/۸۱ \pm ۱/۶۴ ^a	۶/۹۷ \pm ۰/۱۳ ^b	۱۱/۷۲ \pm ۶/۴۱ ^a	۹
۴۴/۲۶ \pm ۱/۱۵ ^b	۳۲/۳۶ \pm ۰/۴۴ ^a	۹/۹۲ \pm ۲/۰۹ ^a	۱/۰۲۱ \pm ۱/۷۶ ^b	۱۰
۴۵/۵۳ \pm ۰/۹۶ ^b	۱۶/۶۰ \pm ۲/۷۶ ^b	۶/۴۳ \pm ۰/۰۸ ^b	۷/۰۱ \pm ۷/۷۹ ^a	۱۱
عامل انتقال (TF)				شماره گونه‌ها
Fe	Zn	Mn	Ni	
-	-	-	-	۱
-	-	-	-	۲
-	-	-	-	۳
۱/۴۹ \pm ۰/۰۴ ^b	۱/۷۳ \pm ۰/۰۸ ^b	۲/۸۲ \pm ۱/۰۲ ^b	۶/۸۳ \pm ۱/۰۳ ^a	۴
۱/۰۱ \pm ۰/۵۵ ^b	۰/۹۲ \pm ۰/۰۰۱ ^c	۲/۷۶ \pm ۰/۳۹ ^b	۰/۳۳ \pm ۰/۴۷ ^b	۵
-	-	-	-	۶
-	-	-	-	۷
-	-	-	-	۸
۲۵/۵۸ \pm ۷/۸۶ ^a	۱/۷۱ \pm ۰/۰۲ ^c	۱/۳۹ \pm ۰/۰۲۶ ^b	۱/۴۶ \pm ۱/۷۴ ^b	۹
۱/۱۹ \pm ۰/۱۴ ^b	۳/۶۶ \pm ۰/۶۰ ^a	۵ \pm ۰/۶۲ ^a	۰/۵۲ \pm ۰/۹۱ ^b	۱۰
-	-	-	-	۱۱

جمع‌بندی

همه این گونه‌ها پتانسیل بالایی در انتقال و انباشت فلزات مورد مطالعه در بخش هوایی خود دارند (به ویژه تیپ‌های علفی علیرغم داشتن بیوماس کمتر) و می‌توان آنها را در گروه گیاهان تجمع‌دهنده قرار داد. بنابراین، پیشنهاد می‌شود که کاشت این گیاهان در این مناطق می‌تواند راهکاری مناسب برای کاهش فرسایش خاک

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، به نظر می‌رسد که گیاهان انتخاب شده با توجه به شاخص‌های تعریف شده برای گیاهان بیش تجمع‌دهنده نمی‌توانند در این گروه طبقه‌بندی شوند، اما با در نظر گرفتن ضریب تغلیظ زیستی (BF) و عامل انتقال (TF) تقریباً

سپاسگزاری

پژوهش حاضر، از هزینه پژوهانه دوره کارشناسی ارشد دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شده است. از معاونت پژوهشی و گروه‌های زیست‌شناسی و شیمی دانشگاه شهید چمران اهواز و حمایت مالی این دانشگاه برای یاری در انجام این تحقیق و فراهم نمودن تسهیلات تشکر و قدردانی می‌گردد.

و نشت فلزات به اعماق خاک و آب‌های زیرزمینی باشد. همچنین، تصور می‌شود که با شناسایی گونه‌هایی که دارای چنین پتانسیلی هستند، گام بعدی کشت گل‌دانی و آب‌کشتی این گونه‌ها در شرایط آزمایشگاهی برای ارزیابی دقیق‌تر از کارآیی آنها در پاکسازی محیط از فلزات سنگین باشد.

منابع

- Adriano, D. C. (1986) Trace elements in the terrestrial environment. Springer-Verlag, New York.
- Alloway, B. J., Jackson, A. P. and Morgan, H. (2005) The accumulation of cadmium by vegetables grown on soils contaminated from a variety of sources. *Society of Environment* 91: 223-236.
- Baker, A. J. M. and Brooks, R. R. (1989) Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements and review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery* 1: 81-126.
- Boularbah, A., Schwartz, Ch. and Bitton, G. (2005) Heavy metal contamination from mining sites in south Morocco: 2. Assessment of metal accumulation and toxicity in plants. *Chemosphere* 63: 811-817.
- Branquinho, C., Serrano, H. C., Pinto, M. J. and Martins-Loucao, M. A. (2006) Revisiting the plant hyperaccumulation criteria to rare plants and earth abundant elements. *Environmental Pollution Journal* 146: 437-443.
- Buszewski, B., Jastrzebska, A., Kowalkowski, K. and Gorna-Binkul, A. (2000) Monitoring of selected heavy metals uptake by plants and soils in the area of Torub, Poland. *Polish Journal of Environmental Studies* 9: 511-515.
- Chaney, R. L. M., Malik, Y. M., Li, S. L., Brown, Y. A. and Baker, A. J. M. (1997) Phytoremediation of soil metals. *Current Opinion in Biotechnology* 8: 279-284.
- DeVos, C. H. R., Schat, H., De Waal, M. A. M., Voojs, R. and Ernst, W. H. O. (1991) Increased resistance to copper-induced damage of root cell plasmalemma in copper tolerant *Silene cucubalus*. *Physiologia Plantarum* 82: 523-528.
- Deng, D. M., Shu, W. S., Zhang, J., Zou, H. L., Lin, Z., Ye, Z. H. and Wong, M. H. (2007) Zinc and cadmium accumulation and tolerance in populations of *Sedum alferedii*. *Environmental Pollution* 147: 381-386.
- Freeman, J. L., Persans, M. W., Nieman, K., Albrecht, C., Peer, W., Pickering, I. J. and Salt, D. E. (2004) Increased glutathion biosynthesis plays a role in nickel tolerance in *Thlaspi nickel hyperaccumulators*. *Plant Cell* 16: 2176-2191.
- Gasparatos, D., Myloni, D., Haidouti, C. and Massas, I. (2001) Heavy metal distribution in soils from eleonas area, Athens, Greece in relation to land use. XXXI Annual ESNA Meeting, Chania, Greece .
- Hozhina, E. I., Khramov, A. A. and Gerasimor, P. A. (2004) Uptake of heavy metals, arsenic, and antimony by aquatic plants in the vicinity of ore mining and processing industries. *Journal of Geochemical Exploration* 74: 153-162.
- Istvan, P. and Benton, J. (1997) Trace

- elements. Lucie Press, Boca Raton, Florida.
- Kabata-Pendias, A. and Mukherjee, A. B. (2007) Trace elements from soil to human. Springer-Verlag, Heidelberg.
- Komar, L., Tu, C., Zhang, W., Cai, Y. and Kennelley, E. K. (2001) A fern that hyperaccumulates arsenic. *Nature Journal* 409: 579-585.
- Lin, W., Xiao, T., Wu, Y., Ao, Z. and Ning, Z. (2012) Hyperaccumulation of zinc by *Corddalis davidii* in Zn-polluted soils. *Chemosphere* 86: 837-842.
- Lindsay, W. L. and Norvell, W. A. (1978) Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Science Society of American Journal* 42: 421-428.
- Lorestani, B., Cheraghi, M. and Yousefi, N. (2011) Introduction potential of lead-zinc mine in Iran. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 77: 163-168.
- Martinez-Sanchez, M., Garcia-Lorenzo, M., Perez-Sirvent, C. and Bench, J. (2012) Trace element accumulation in plants from an aridic area affected by mining activities. *Journal of Geochemical Exploration* 10: 1016-1027.
- McGrath, S. P. and Zhao, F. J. (2003) Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. *Current Opinion Biotechnology* 14: 277-282.
- Miclean, M., Roman, C. and Levei, E. (2007) Heavy metals availability for plants in a mining area from North-Western Romania. *Chemical Speciation and Bioavailability* 1: 11-25.
- Min, Y., Boqing, T., Meizhen, T. and Aoyama, I. (2007) Accumulation and uptake of manganese in a hyperaccumulator *Phytolacca Americana*. *Minerals Engineering* 20: 188-190.
- Papafilippaki, A., Velegraki, D., Vlachaki, C. and Stavroulakis, S. (2008) Levels of heavy metals and bioavailability in soils from the industrial area of Heraklion-Crete, Greece. *Proceedings of the Protection and Restoration of the Environment* 29: 6-10.
- Parizanganeh, A., Hajisoltani, P. and Zamani, A. (2010) Assesment of heavy metal pollution in surficial soils surrounding zinc industrial complex. *Procedia Environmental Sciences* 2:162-166.
- Reeves, R. D. and Baker, A. J. M. (2000) Metal-accumulating plants. In: *Phytoremediation of toxic metals* (Eds. Raskin, I. and Ensley, B. D.) 193-229. John Wiley and Sons, Inc., New York.
- Reeves, R. D., Baker, A. J. M., Borhidi, A. and Berazain, R. (1999) Nickel hyper accumulation in the serpentine flora of Cuba. *Annals of Botany* 83: 29-38.
- Schmidt, U. (2003) Enhancing phytoextraction: the effect of chemical soil manipulation on mobility, plant accumulation, and leaching of heavy metals. *Journal of Environmental Quality* 32: 1939-1954.
- Taylor, G. J. (1987) Exclusion of metals from the symplasm: a possible mechanism of metal tolerance in higher plants. *Journal of Plant Nutrition* 10: 1213-1320.
- Ullrich, S. M., Ramsey, M. H. and Helios-Rybicka, E. (1999) Total and exchangeable concentrations of heavy metals in soils near Bytom, an area of Pb/Zn mining and smelting in Upper Silesia, Poland. *Applied Geochemistry* 14: 187-196.
- Yang, X. E., Baligar, V. C. and Clarl, R. B. (1996) Cadmium effects on influx and transport of mineral nutrients in plants species. *Journal of Plant Nutrition* 19: 643-656.
- Yanqun, Z., Yuana, L., Schwartz, C., Langlade, L. and Fand, L. (2004) Accumulation of Pb, Cd, Cu and Zn in plants and hyperaccumulator choice in Lanping lead-zinc mine area, China. *Environment International* 30: 567-576.

اثر سالیسیلیک اسید بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه درمنه کوهی (*Artemisia aucheri* Boiss.) تحت تنش شوری

زهرا رضایت‌مند^{۱*}، رمضانعلی خاوری‌نژاد^۱ و غلامرضا اصغری^۲

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

^۲ گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

چکیده

در این پژوهش، اثر سالیسیلیک اسید (SA) خارجی در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر بر برخی فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه درمنه کوهی تحت سه سطح شوری (صفر، ۵۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار بررسی شد. شوری به تنهایی شاخص‌های رشد گیاه مانند وزن خشک و طول بخش هوایی و ریشه گیاه و همچنین، مقدار کلروفیل کل و کاروتنوئیدها و محتوی پتاسیم گیاه را کاهش داد، در حالی که تیمار گیاهان با SA تحت تنش شوری باعث افزایش آنها شد. مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و درصد نشت غشا و مقدار پراکسید هیدروژن و محتوی سدیم گیاه نیز تحت تیمارهای شوری افزایش یافت، در حالی که حضور SA خارجی باعث کاهش این مقادیر شد. این نتایج می‌تواند گویای اثر تعدیل‌کننده SA بر فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه درمنه کوهی تحت تنش شوری باشد.

واژه‌های کلیدی: تنش شوری، درمنه کوهی، سالیسیلیک اسید

مقدمه

مواد غذایی و آثار یون‌های ویژه (تنش شوری) است. طی تنش شوری در گیاهان فرآیندهای مهمی از جمله فتوسنتز، سنتز پروتئین و متابولیسم چربی‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرد. به نظر می‌رسد که گیاهان با مکانیسم‌های پیچیده‌ای که در آنها بیان بسیاری از ژن‌ها و مکانیسم‌های فیزیولوژیک دخالت دارد به تنش پاسخ می‌دهند (Parida and Das, 2005). راهکارهای بیوشیمیایی شامل انباشتن انتخابی یا دفع یون‌ها، تنظیم

مسأله شوری خاک و آب، عمده‌ترین چالش در مناطق مرتعی و نیمه مرتعی است که باعث محدود کردن رشد و تولید محصول گیاهان می‌شود (Allakhverdiev et al., 1998). به طور معمول، تنش شوری با نمک سدیم و به ویژه NaCl ایجاد می‌شود. آثار تخریبی تنش شوری بر گیاهان به علت کاهش پتانسیل اسمزی محلول خاک (تنش آبی)، عدم تعادل

گزارش شده است که ترکیبات فنلی در سلول با انتقال الکترون به آنزیم‌های تیپ پراکسیداز و سم‌زدایی آب اکسیژنه تولید شده می‌توانند به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کنند (Sakihama *et al.*, 2002). همه گیاهان تنوع وسیعی از متابولیت‌های ثانویه را تولید می‌کنند که از مهم‌ترین آنها می‌توان به گروه ترکیبات فنلی یا فنلیک‌ها اشاره کرد. سالیسیلیک اسید یا ارتوهیدروکسی بنزوئیک ترکیبی فنلی است که به طور طبیعی در برخی از بافت‌های گیاهی به مقدار فراوان یافت می‌شود (Zhang *et al.*, 2005). همچنین، این ترکیب به عنوان یک پیام اندوژن (داخلی) گیاهی باعث افزایش تحمل گیاه به تنش‌های شوری، خشکی، سرما و گرما می‌شود. سالیسیلیک اسید خارجی در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیک در گیاهان مانند رشد و نمو، فتوسنتز، جذب و انتقال یون و نفوذپذیری غشا تأثیرگذار است (Raskin, 1992). بسیاری از بررسی‌های انجام شده نشان داده است که کاربرد سالیسیلیک اسید (SA) به صورت خارجی در گیاهان تحت تنش شوری می‌تواند آثار تخریبی ناشی از این تنش را کاهش دهد و فرآیندهای رشد را سریعاً به حالت اول برگرداند (Eraslan *et al.*, 2007؛ Arfan *et al.*, 2007؛ Misra and Yusuf *et al.*, 2008؛ Saxena, 2009؛ Szepesi *et al.*, 2009). گیاه درمنه کوهی از یک سو به واسطه ترکیبات مهم دارویی و آثار درمانی درخور توجه به عنوان داروی ضد مالاریا، ضد باکتری، ضد قارچ، آنتی‌اکسیدان و سمیت سلولی و از سوی دیگر به عنوان گیاه مرتعی سازگار با مناطق شور و خشک ایران حایز اهمیت است. با توجه به این که تاکنون در زمینه آثار شوری روی گیاه درمنه کوهی

جذب یون توسط ریشه و انتقال به برگ‌ها، تجمع یون‌ها در سلول‌ها، سنتز محلول‌های سازگار، تغییر در مسیر فتوسنتز، اصلاح در ساختار غشا، القای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و القای هورمون‌های گیاهی است. شوری متابولیسم گیاه و تقسیم سلولی را کاهش داده، در نتیجه از رشد طبیعی جلوگیری می‌کند (Shakirova *et al.*, 2003).

در تنش شوری فعالیت فتوسنتزی گیاه از یک طرف به علت دهیدراته شدن غشا سلولی که نفوذپذیری CO_2 را کاهش می‌دهد و از سوی دیگر به علت ورود یون‌های Na^+ به سلول که به غیر فعال شدن سیستم‌های انتقال الکترون در فتوسنتز منجر می‌شود، باعث کاهش فرآیند فتوسنتز در گیاه می‌شود (Allakhveldiev *et al.*, 1998).

تنظیم هموستازی یون‌ها در گیاه برای مقاومت گیاه و حفظ حالت پایداری در سلول‌های گیاهی در برابر تنش شوری لازم است. در شوری بالا، یون سدیم با سایر یون‌ها به ویژه پتاسیم رقابت می‌کند و به کاهش پتاسیم در گیاه منجر می‌شود (Parida and Das, 2005). نسبت K^+/Na^+ در طی تنش شوری کاهش می‌یابد و این کاهش در گونه‌های حساس به شوری بیشتر است (Sairam *et al.*, 2002).

یکی از مکانیسم‌های مقاومت در برابر تنش‌های محیطی مانند شوری و تنش کم آبی وابسته به دو لایه لیپیدی و اسیدهای چرب غیر اشباع آن است که در طی تنش، پایداری غشا را تضمین می‌کنند. در تنش شوری میزان H_2O_2 گیاه افزایش می‌یابد که به پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب غشایی منجر می‌شود (Erdal *et al.*, 2011).

سنجش وزن خشک و طول اندام هوایی و ریشه گیاه

وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاه با انتقال نمونه‌ها به دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت اندازه‌گیری شد. طول ساقه و ریشه گیاه نیز با خط کش محاسبه شد. برای هر گروه تیمار سه تکرار محاسبه و میانگین به ترتیب بر اساس گرم و واحد میلی‌متر گزارش شد.

سنجش سدیم و پتاسیم

۰/۰۱ گرم از پودر خشک ریشه و بخش هوایی گیاهان درون لوله‌های آزمایش جداگانه ریخته و ۱۰ میلی‌لیتر محلول سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد به هر کدام اضافه شد. درب لوله‌ها با پارافیلیم محکم بسته و به مدت ۲۴ ساعت داخل یخچال در دمای ۴ درجه سانتیگراد انکوبه شد. پس از ۲۴ ساعت نمونه‌ها از یخچال خارج و با کاغذ واتمن شماره یک صاف شد. پس از آماده کردن محلول‌های استاندارد جذب سدیم و پتاسیم محلول‌های استاندارد و عصاره‌های سلولی آماده به کمک دستگاه شعله‌سنج (مدل Sherwood 410) اندازه‌گیری شد. مقدار هر کدام از این عناصر در عصاره‌های گیاهی بر حسب میلی‌مولار در گرم وزن خشک بافت با توجه به منحنی استاندارد محاسبه و گزارش شد.

سنجش رنگدانه‌های گیاهی

برای اندازه‌گیری مقدار رنگدانه‌های گیاهی (کلروفیل و کاروتنوئید) از روش Arnon (۱۹۴۹) استفاده شد. ابتدا، ۰/۱ گرم از بافت تازه برگ‌های جوان گیاه توزین و با استون ۸۰ درصد در هاون چینی روی یخ و به دور از نور مستقیم ساییده شد. مخلوط به دست آمده با کمک کاغذ صافی درون بالن ژوژه

مطالعه‌ای صورت نگرفته است و سالیسیلیک اسید نیز می‌تواند در این راستا به عنوان یک القاکننده با افزایش تحمل به شوری در گیاه از یک سو و القای متابولیت‌های ثانویه از سوی دیگر عمل نماید، بنابراین، در این پژوهش اثر سالیسیلیک اسید بر گیاه درمنه کوهی به عنوان یک گیاه مدل مرتعی تحت تنش شوری بررسی شد.

مواد و روش‌ها

گیاهچه‌های گونه *Artemisia aucheri* Boiss. پس از دریافت از بخش گیاهان دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به قطعه‌های ۱/۵ تا ۲ سانتی‌متری تقسیم و به ظرف‌های حاوی ۳۰ میلی‌لیتر محیط کشت (Murashige and Skoog, MS 1962) دارای ۳ درصد سوکروز و یک درصد آگار، بدون هورمون با اسیدیته ۵/۸ منتقل شد. ظروف در اتاق کشت با دمای 25 ± 1 درجه سانتیگراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و شدت نور $40 \mu\text{M photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$ منتقل شدند. گیاهان پس از یک هفته ریشه‌دار شدند و پس از ۴ هفته از رشد گیاهان، اعمال تیمارها آغاز شد.

قطعه‌های ۱/۵ تا ۲ سانتی‌متری از ساقه به همراه یک جوانه جانبی جدا و به هر محیط کشت ۵ قطعه گیاه در شرایط سترون انتقال داده شد. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. سالیسیلیک اسید در غلظت‌های صفر و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر و نمک در غلظت‌های صفر، ۵۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار به محیط کشت افزوده شد. پس از ۶ هفته، شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاهان اندازه‌گیری شد.

۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیو باریتوریک اسید (TBA) بود به یک میلی لیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد حمام آب گرم قرار داده شد. سپس، مخلوط موجود بلافاصله در یخ سرد و دوباره به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ و شدت جذب این محلول با اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر ثبت شد. (ماده مورد نظر برای جذب در این طول موج کمپلکس قرمز رنگ (MDA-TBA) است). برای محاسبه غلظت (MDA) از ضریب خاموشی معادل $\mu\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ استفاده شد و نتایج حاصل از اندازه گیری بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر و بر اساس رابطه $A = \varepsilon \times b \times c$ محاسبه شد (A = جذب، b = عرض کوت، c = غلظت محلول مورد نظر و ε = ضریب خاموشی).

سنجش پراکسید هیدروژن (H_2O_2)

سنجش پراکسید هیدروژن با روش Velikova و همکاران (۲۰۰۰) انجام شد. اندام هوایی گیاه در حمام یخ با تری کلرو استیک اسید ۰/۱ درصد ساییده شد. عصاره حاصل در سانتریفیوژ یخچال دار (5415R Eppendorf) در ۱۰۰۰۰g برای ۱۵ دقیقه در ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شد. سپس، ۰/۵ میلی لیتر از محلول رویی به ۰/۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی مولار با اسیدیته ۷ و یک میلی لیتر یدور پتاسیم یک مولار اضافه شد و جذب در طول موج ۳۹۰ نانومتر ثبت شد. مقدار پراکسید هیدروژن در هر نمونه با استفاده از ضریب خاموشی $0.028 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر بر اساس رابطه $A = \varepsilon \times b \times c$ محاسبه شد (A = جذب، b = عرض کوت، c = غلظت محلول مورد نظر و ε = ضریب خاموشی).

صاف و حجم عصاره به دست آمده با استون ۸۰ درصد به ۱۰ میلی لیتر رسانده شد. سپس، جذب محلول‌ها با اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر ثبت شد. سپس، میزان کلروفیل کل و کاروتنوئید بر حسب میلی گرم در گرم بافت گیاهی محاسبه شد.

سنجش میزان نشت الکترولیتی غشا پلاسمایی

برای سنجش میزان آسیب به غشا، از میزان نشت یونی از روش Ben Hamed و همکاران (۲۰۰۷) استفاده شد. ۰/۲ گرم از بافت سالم و تازه اندام هوایی گیاه پس از شستشو با آب مقطر برای حذف یون‌های احتمالی از سطح گیاه درون لوله آزمایش در پیچ‌دار قرار داده، ۱۰ میلی لیتر آب دو بار تقطیر به آن اضافه شد. سپس، لوله‌های آزمایش به مدت ۲ ساعت درون حمام آب گرم با دمای ۳۲ درجه سانتیگراد قرار داده، میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها (EC_1) با EC متر اندازه گیری شد. لوله‌های آزمایش در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو پس از کاهش دمای لوله‌ها تا ۲۵ درجه سانتیگراد، میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها (EC_2) مجدداً اندازه گیری و با استفاده از فرمول زیر درصد نشت یونی محاسبه شد.

$$\text{درصد نشت یونی} = (EC_1/EC_2) \times 100$$

سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدها

به منظور بررسی پراکسیداسیون لیپیدهای غشا از روش Heath و Parcker (۱۹۶۸) استفاده شد. ۰/۲ گرم از بافت تازه برگ و ریشه برای اندازه گیری غلظت مالون‌دی‌آلدهید (MDA) توزین و با ۵ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد در هاون چینی ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۵ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ شد. ۵ میلی لیتر محلول TCA

سنجش ترکیبات فنلی کل

محتوای ترکیبات فنلی کل با روش Ronald و Laima (۱۹۹۹) اندازه‌گیری شد. ۰/۱ گرم از اندام هوایی گیاه در ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد ساییده، به مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت در تاریکی نگهداری شد. سپس، به یک میلی‌لیتر محلول رویی یک میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد اضافه و با آب مقطر حجم محلول به ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس، ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین ۵۰ درصد و یک میلی‌لیتر کربنات سدیم ۵ درصد به آن اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت یک ساعت در تاریکی نگهداری و سپس جذب هر نمونه در طول موج ۷۲۵ نانومتر ثبت شد و با استفاده از منحنی استاندارد غلظت ترکیبات فنلی کل بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه و گزارش شد. برای تهیه محلول‌های استاندارد از غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر گالیک اسید استفاده شد.

تحلیل داده‌ها

این پژوهش، در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد و تحلیل داده‌ها با استفاده از مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطح احتمال $P \leq 0.05$ و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

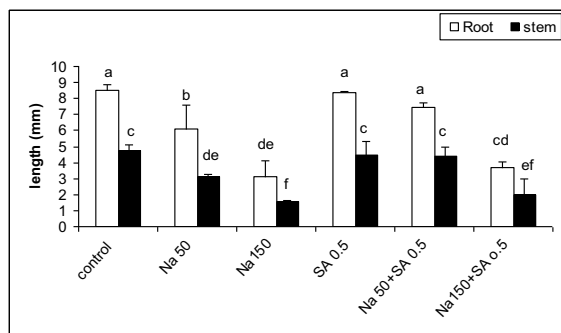
با توجه به شکل‌های ۱ و ۲ مشاهده می‌شود که شوری به ویژه در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl باعث کاهش شدید وزن خشک و طول بخش هوایی و ریشه شد، در حالی که کاربرد SA باعث تعدیل اثر شوری و افزایش

وزن خشک گیاه تنها در اندام هوایی و افزایش طول بخش هوایی و ریشه گیاه شد که در غلظت ۵۰ میلی‌مولار NaCl معنی‌دار است.

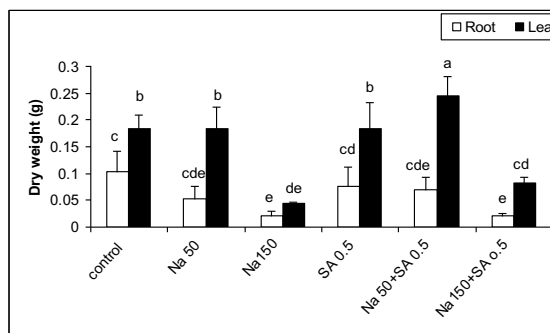
تنش شوری باعث کاهش میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی گیاه شده است (شکل‌های ۳ و ۴) و این کاهش در میزان کلروفیل کل از نظر آماری معنی‌دار است. کاربرد SA همراه با NaCl باعث افزایش معنی‌دار میزان کاروتنوئیدها و کلروفیل کل گیاه نسبت به شرایط عدم اعمال تیمار SA شد که از نظر آماری برای میزان کاروتنوئیدها معنی‌دار است.

نتایج مالون‌دی‌آلدهید به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدهای غشا در شکل ۵ نشان می‌دهد که با افزایش میزان شوری افزایش معنی‌داری در MDA ریشه و بخش هوایی گیاه درمنه کوهی ایجاد شده است. به کارگیری SA خارجی تحت شرایط تنش شوری باعث کاهش میزان MDA در بخش هوایی گیاه نسبت به شاهد شده است که از نظر آماری این کاهش معنی‌دار است. کاهش میزان MDA در ریشه گیاهانی که در غلظت ۵۰ میلی‌مولار نمک همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر SA قرار گرفته‌اند نسبت به تیمار شوری تنها نیز از نظر آماری معنی‌دار است (شکل ۵).

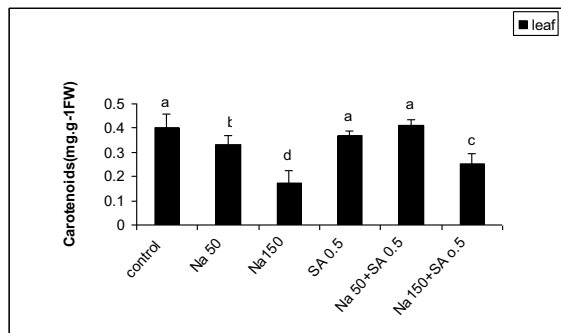
مقدار پراکسید هیدروژن نیز در شرایط تیمار شوری افزایش معنی‌داری در بخش هوایی و ریشه گیاه درمنه کوهی نسبت به شرایط فاقد تیمار نشان داده است و کاربرد SA خارجی همراه با تنش شوری H_2O_2 را کاهش داده است و این کاهش در بخش هوایی گیاه معنی‌دار است (شکل ۶).



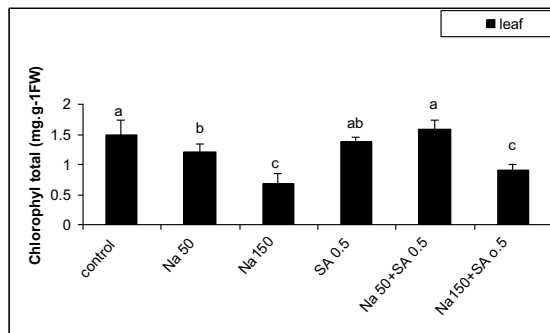
شکل ۲- اثر شوری و سالیسیلیک اسید بر میزان طول ریشه و بخش هوایی گیاه درمنه کوهی. مقادیر میانگین ۳ تکرار $\pm SE$ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است.



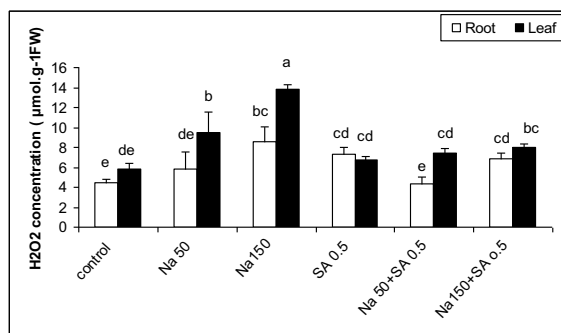
شکل ۱- اثر شوری و سالیسیلیک اسید بر میزان وزن خشک ریشه و بخش هوایی گیاه درمنه کوهی. مقادیر میانگین ۳ تکرار $\pm SE$ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است.



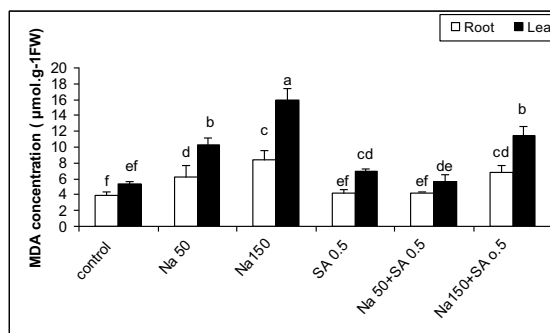
شکل ۴- اثر شوری و سالیسیلیک اسید بر میزان کاروتنوئیدهای گیاه درمنه کوهی. مقادیر میانگین ۳ تکرار $\pm SE$ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است.



شکل ۳- اثر شوری و سالیسیلیک اسید بر میزان کلروفیل کل گیاه درمنه کوهی. مقادیر میانگین ۳ تکرار $\pm SE$ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است.



شکل ۶- اثر شوری و سالیسیلیک اسید بر میزان H_2O_2 گیاه درمنه کوهی. مقادیر میانگین ۳ تکرار $\pm SE$ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است.



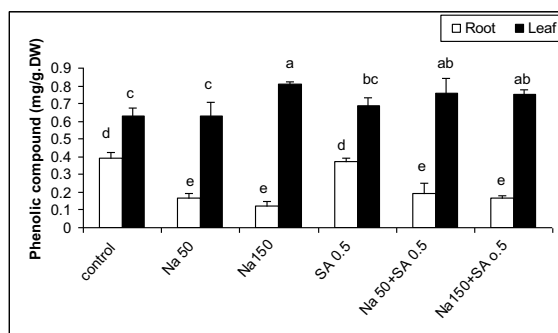
شکل ۵- اثر شوری و سالیسیلیک اسید بر میزان MDA گیاه درمنه کوهی. مقادیر میانگین ۳ تکرار $\pm SE$ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است.

بخش هوایی و ریشه افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد دارد (شکل ۷). کاهش میزان EC در تیمار گیاه با SA در شرایط تنش شوری بیانگر نقش حفاظتی سالیسیلیک

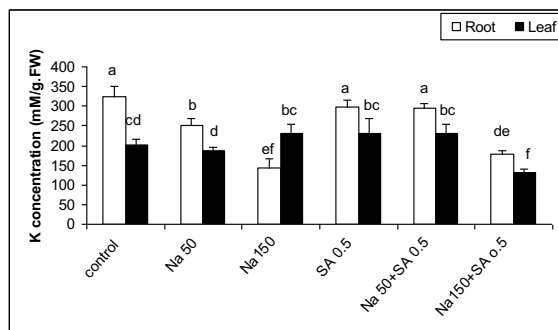
نتایج آزمایش‌های مربوط به بررسی نشت غشا سیتوپلاسمی در گیاه درمنه کوهی نشان می‌دهد که با افزایش تنش شوری درصد نشت غشا سیتوپلاسمی در

هم‌زمان شوری و SA کاهشی در میزان سدیم ریشه و ساقه مشاهده شد که این کاهش در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار شوری معنی‌دار است (شکل ۹).

هم‌زمان با افزایش تنش شوری کاهشی در میزان پتاسیم گیاه نسبت به شاهد مشاهده شد که از نظر آماری معنی‌دار است. کاربرد SA خارجی باعث افزایش میزان پتاسیم ساقه نسبت به شاهد شد که از نظر آماری معنی‌دار است. تیمار گیاه با SA باعث افزایش میزان پتاسیم ریشه و ساقه گیاهان تحت تنش شده که از نظر آماری در غلظت ۵۰ میلی‌مولار نمک معنی‌دار است، در حالی که در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار نمک کاهشی در میزان پتاسیم ریشه و ساقه در حضور SA مشاهده شد (شکل ۱۰).



شکل ۸- اثر شوری و سالیسیلیک اسید بر میزان ترکیبات فنولیک کل گیاه درمنه کوهی. مقادیر میانگین \pm SE تکرار ۳ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است.

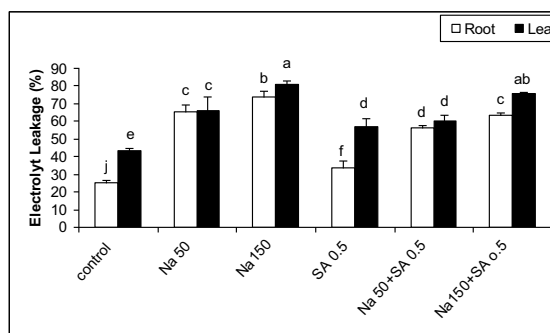


شکل ۱۰- اثر شوری و سالیسیلیک اسید بر میزان پتاسیم گیاه درمنه کوهی. مقادیر میانگین \pm SE تکرار ۳ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است.

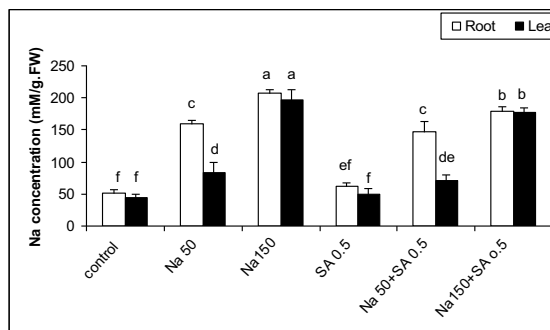
اسید بر غشا سلولی به ویژه در غلظت ۵۰ میلی‌مولار نمک است.

بررسی مقادیر ترکیبات فنلی کل گیاه درمنه کوهی در شرایط تنش شوری در شکل ۸ ارایه شده است. با توجه به شکل مشاهده می‌شود که میزان ترکیبات فنلی کل گیاه تحت تنش شوری در ریشه کاهش و در برگ افزایش یافته و کاربرد سالیسیلیک اسید خارجی باعث افزایش میزان ترکیبات فنلی کل در بخش هوایی و ریشه گیاه نسبت به گیاهان شاهد شده است که از نظر آماری این افزایش در غلظت ۵۰ میلی‌مولار NaCl در بخش هوایی معنی‌دار است.

محتوای سدیم ریشه و ساقه با افزایش تنش شوری در محیط افزایش معنی‌داری را نشان داد. در تیمارهای



شکل ۷- اثر شوری و سالیسیلیک اسید بر میزان نشت غشا گیاه درمنه کوهی. مقادیر میانگین \pm SE تکرار ۳ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است.



شکل ۹- آثار شوری و سالیسیلیک اسید بر میزان سدیم گیاه درمنه کوهی. مقادیر میانگین \pm SE تکرار ۳ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است.

بحث

شوری باعث ایجاد آثار منفی در ارتباط با رشد و نمو گیاه می‌شود. کاهش در میزان فعالیت سلول‌های مریستمی و جلوگیری از طویل شدن سلول‌ها نتیجه تغییر در روابط آبی گیاهان تحت تنش شوری است که مسؤول کاهش شاخص‌های رشدی گیاهان است (Idress *et al.*, 2011). تنش شوری باعث عدم تعادل پتانسیل آبی بین آپوپلاست و سیمپلاست و کاهش فشار تورگر می‌شود که نتیجه آن کاهش رشد است (Bohnert *et al.*, 1995). گزارش‌های متعددی مبنی بر کاهش بیوماس گیاه تحت تنش شوری عنوان شده است. در تحقیقی روی گیاه کتان کاهش ارتفاع بخش هوایی و وزن گیاه تحت شرایط تنش شوری گزارش شده است (Meloni *et al.*, 2004). در این پژوهش نیز تنش شوری باعث کاهش میزان وزن خشک و طول ریشه و بخش هوایی در گیاه درمنه کوهی شد که با نتایج گزارش شده در این زمینه توسط سایر محققان مطابقت دارد.

هاشمی و همکاران (۱۳۸۹) گزارش کردند که پیش‌تیمار بذر شاهی با سالیسیلیک اسید اثر مثبتی بر رشد ریشه و ساقه گیاهچه داشته است، در حالی که در این تحقیق کاربرد SA به تنهایی اثر معنی‌داری روی رشد گیاه نشان نمی‌دهد که شاید به علت تفاوت غلظت سالیسیلیک اسید مصرف شده باشد.

گزارش‌های متعددی مبنی بر تأثیر سالیسیلیک اسید بر افزایش رشد گیاه تحت شرایط تنش شوری در گیاه گندم (shakirova *et al.*, 2003; Hayat *et al.*, 2010) جو (EL-Tayeb, 2005)، ذرت (Hussein *et al.*, 2007) و سویا (Khan *et al.*, 2003) ارائه شده

است. واسطه‌گری SA در ارتباط با افزایش رشد تحت تنش شوری ممکن است به علت اثر حمایتی آن در فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیک باشد. بر این اساس پیشنهاد شده که واسطه‌گری SA در ارتباط با افزایش رشد می‌تواند به علت اثر القایی SA در افزایش میزان فتوسنتز تحت شرایط تنش شوری باشد (Noreen *et al.*, 2010). علاوه بر این، SA باعث القاستت پروتئین‌کینازها تحت تنش شوری می‌شود که ممکن است نقش مهمی در تنظیم تقسیم سلولی و تمایز و رشد گیاه داشته باشد (El-Tayeb, 2005). نتایج این تحقیق نیز آثار تعدیل‌کننده SA بر وزن خشک و طول ریشه و بخش هوایی گیاه را نشان می‌دهد.

یکی از علایم تنش شوری در گیاهان کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل و کاروتنوئید است کاهش کلروفیل گیاه می‌تواند به علت فعال شدن مسیر کاتابولیسمی کلروفیل و یا عدم سنتز کلروفیل باشد (Sairam *et al.*, 2002). تحت تنش شوری، مقدار رنگیزه‌های کلروفیل و کاروتنوئیدهای گیاه هویج کاهش پیدا کرده است (Eraslan *et al.*, 2007). همچنین، گزارش شده که میزان کلروفیل‌های a و b در گیاه جو با به کارگیری NaCl کاهش می‌یابد (El-Tayeb *et al.*, 2005). نتایج این تحقیق نیز گویای کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت شرایط تنش شوری است که با کاربرد سالیسیلیک اسید خارجی تا حدودی تعدیل شده است. به کارگیری SA باعث افزایش محتوی رنگدانه‌های فتوسنتزی گیاه سویا (Zhao *et al.*, 1995)، ذرت (Khodary, 2004) تحت تنش شوری شده است. افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت تیمار SA را می‌توان به علت اثر SA بر تحریک

نفوذپذیری غشا و حفاظت از غشا تیلاکوئیدی در زمان تنش شوری می‌شود و این اثر را احتمالاً با کاهش مقدار H_2O_2 انجام می‌دهد (Borsani *et al.*, 2001).

در این بررسی افزایشی در محتوای H_2O_2 در گیاهچه‌های تحت تیمار شوری مشاهده می‌شود. مشابه این نتایج توسط Velikova و همکاران (۲۰۰۰) در گیاه لوبیا گزارش شده است. تنش شوری با تأثیر بر انتقال الکترون در فرآیندهای همانند فتوسنتز و تنفس می‌تواند باعث ایجاد H_2O_2 در گیاه شود. افزایش H_2O_2 در گیاه باعث کاهش میزان رشد گیاه و همچنین، باعث پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب‌های غشایی می‌شود (Erdal *et al.*, 2011). سالیسیلیک اسید با تغییر فعالیت آنزیم‌های متابولیزه‌کننده H_2O_2 سطح آن را در گیاه تنظیم می‌کند. بنابراین، SA با کاهش میزان H_2O_2 باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و نشت یونی غشا می‌شود که گیاه را در برابر شوری محافظت می‌کند.

حفظ ثبات و سلامتی غشا تحت تنش شوری یکی از مکانیسم‌های سازگاری به شوری است. تیمار گیاهان با SA در شرایط تنش شوری باعث کاهش نشت یونی غشا سلولی می‌شود. کاربرد SA باعث کاهش میزان نشت یونی غشا سلول در گیاه ذرت (Kang and saltveit, 2001)، گیاه جو (El-Tayeb, 2005) و همچنین، گوجه‌فرنگی (Stevens *et al.*, 2006) شده است که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد.

تولید ترکیبات فنلی تحت اثر شوری در گیاهان مختلف پیشنهاد شده است. این ترکیبات آنتی‌اکسیدان‌های نیرومندی در بافت‌های گیاهی تحت تنش هستند و این ویژگی به علت ساختار اسکلتی و گروه فنلی این متابولیت‌هاست. گروه‌های هیدروکسیل آزاد متصل به

مسیر سنتزی این رنگدانه‌ها دانست (Gharib *et al.*, 2007). افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت تیمار SA گویای اثر محافظتی این تنظیم‌کننده رشد بر فتوسنتز و رنگدانه‌های فتوسنتزی گیاهان تحت تنش شوری است (El-Tayeb, 2005). سالیسیلیک اسید با افزایش توان آنتی‌اکسیدانی گیاهان به واسطه موادی از جمله کاروتنوئیدها باعث کاهش مقدار H_2O_2 و پراکسیداسیون لیپیدها و حفاظت بیشتر از غشاهای سلولی می‌شود (فاضلیان و اسرار، ۱۳۹۰).

رادیکال‌های سوپر اکسید ایجاد شده تحت تنش شوری باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشا (Sairam *et al.*, 1998) و افزایش میزان MDA و در نتیجه آسیب غشا سلولی در طی تنش شوری می‌شود (Borsani *et al.*, 2001؛ Gunes *et al.*, 2007). پراکسیداسیون لیپیدها که باعث آسیب رساندن به عملکرد غشا می‌شود قابل اندازه‌گیری است (Sairam *et al.*, 2002). شواهد نشان می‌دهد که مالون‌دی‌آلدئید محصول تجزیه اسیدهای چرب غیر اشباع است که به عنوان نشانگر زیستی برای اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدها استفاده می‌شود (Mittler, 2002). در پژوهش حاضر، میزان MDA در گیاه درمنه کوهی افزایش معنی‌داری در گیاهانی که با NaCl تیمار شده بودند نشان داد که این نشان‌دهنده اثر تنش شوری بر تخریب غشاست.

گزارش شده است که کاربرد SA تحت شرایط شوری باعث کاهش میزان MDA در گیاه می‌شود (Eraslan *et al.*, 2007؛ Sairam *et al.*, 2005)؛ (Gunes *et al.*, 2007) که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. بررسی‌ها نشان داده است که سالیسیلیک اسید باعث جلوگیری از صدمه به اسیدهای چرب و کاهش

گزارشی روی گیاه گوجه‌فرنگی نیز عنوان شده است (Amini and Ehsanpour, 2005).

به کارگیری SA تحت تنش شوری باعث افزایش جذب پتاسیم و کاهش جذب سدیم و کاهش سمیت آن می‌شود (El-Tayeb, 2005; Gunes, 2007). افزایش نسبت K^+/Na^+ در گیاه می‌تواند نمادی از ایجاد مقاومت نسبت به شوری باشد (Hussein et al., 2007). سالیسیلیک اسید با فعال کردن سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه و کاهش آسیب به غشا سلولی می‌تواند در نقل و انتقالات یونی غشا تأثیرگذار باشد. اگر چه مطالعات انجام شده روی اثر SA بر جذب یون‌ها اندک است، لیکن نشان داده شده که SA می‌تواند در کاهش جذب یون کلرید سدیم تحت شرایط شوری مؤثر باشد. کاربرد SA خارجی باعث کاهش میزان سدیم و افزایش میزان پتاسیم در گیاه درمنه کوهی تحت شرایط تنش شوری در این تحقیق شد که می‌تواند باعث ایجاد مقاومت در این گیاه نسبت به تنش شوری اعمال شده باشد که همسو با نتایج سایر محققان است.

جمع‌بندی

بر اساس این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت که تنش شوری باعث ایجاد تغییرات نامطلوب فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در گیاه درمنه کوهی می‌شود و سالیسیلیک اسید به عنوان مولکول سیگنال می‌تواند با تعدیل این آثار مخرب، به القای مقاومت نسبت به تنش شوری در این گیاه کمک نماید.

حلقه آروماتیک توان جاروب کردن رادیکال‌های آزاد را داشته، بدین لحاظ آسیب‌های اکسیداتیو را کاهش داده، ساختارهای سلولی را از تأثیرات منفی شوری محافظت می‌کنند (Al-Amier and Craker, 2006). در این تحقیق نیز میزان ترکیبات فنولیک کل گیاه در طی تنش شوری در بخش هوایی افزایش و در بخش ریشه کاهش نشان داد که شاید دلیل آن انتقال این ترکیبات از ریشه به بخش‌های هوایی گیاه باشد.

Chan و Tian (۲۰۰۶) تجمع ترکیبات فنلی و افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونولیز را در انگور پس از کاربرد سالیسیلیک اسید گزارش کردند. به دنبال افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونولیز میزان ترکیبات فنولیک در گیاه افزایش می‌یابد. پس می‌توان نتیجه گرفت که SA نقش مهمی در بیوستت ترکیبات فنلی و بیان ژن‌های دفاعی گیاه ایجاد می‌کند. در این تحقیق نیز افزایش میزان ترکیبات فنلی کل در اثر SA تحت شرایط تنش شوری در بخش هوایی مشاهده شد.

تنظیم تعادل یونی در گیاهان برای مقاومت گیاه در برابر تنش شوری لازم است. در تنش شوری یون سدیم با یون پتاسیم رقابت می‌کند که این امر باعث افزایش یون سدیم و کاهش یون پتاسیم می‌شود. یون پتاسیم برای حفظ پتانسیل اسمزی و افزایش جذب آب توسط گیاه ضروری است. در این تحقیق، میزان سدیم ریشه و بخش هوایی گیاه درمنه کوهی تحت تنش شوری افزایش و میزان پتاسیم آن کاهش نشان داده است. چنین رفتاری توسط گیاهان تحت تنش شوری در

منابع

فیزیولوژیک گیاه بابونه (*Matricaria recutita* L.).
مجله زیست‌شناسی گیاهی ۳: ۱-۱۲.

فاضلیان، ن. و اسرار، ز. (۱۳۹۰) تأثیر برهمکنش آرسنیک و سالیسیلیک اسید بر رشد و برخی از شاخصهای

- فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در شاهی (*Lepidium sativum*)
مجله زیست‌شناسی گیاهی ایران ۲: ۱-۱۰.
- Al-Amier, H. and Craker, L. E. (2006) *In vitro* selection for stress tolerant spearmint. 2nd edition. ASHS Press, Alexandria Virginia.
- Allakhverdiev, S. R., Mavituna, M., Ganieva, R. and Nafisi, S. (1998) Effects of salt stress and synthetic hormone polystimuline K on photosynthetic activity of *Trianea bogotensis*. Turkish Journal of Botany 22: 19-23.
- Amini, F. and Ehsanpour, A. A. (2005) Soluble protein, carbohydrate and Na/K chande in two tomato (*Lycoersicum esculentum*) cultivar under *in vitro* salt stress. American Journal Biochemistry Biotechnology 1: 212-216.
- Arfan, M., Athar, H. R. and Ashraf, M. (2007) Does exogenous application of salicylic acid through the rooting medium modulate growth and photosynthetic capacity in two differently adapted spring wheat cultivars under salt stress? Plant Physiology 6: 685-694.
- Arnon, D. L. (1949) A copper enzyme is isolated chloroplast polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology 24: 1-15.
- Ben Hamed, K., Castagna, A., Salem, E., Ranieri A. and Abdelly, C. (2007) Sea fennel (*Crithmum maritimum* L.) under salinity conditions: a comparison of leaf and root antioxidant responses. Plant Growth Regulation 53: 185-194.
- Bohnert, H. J., Nelson, D. E. and Jensen, R. G. (1995) Adaptation to environmental stresses. Plant Cell 7: 1099-1111.
- Borsani, O., Valpuestan, V. and Botella, M. A. (2001) Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in Arabidopsis seedlings. Plant Physiology 126: 1024-1030.
- Chan, Z. and Tian, S. (2006) Induction of H₂O₂ metabolizing enzyme and total protein synthesis by antagonistic yeast and salicylic acid in harvested sweet cherry. Postharvest Biology and Technology 39: 314-320.
- هاشمی، ش.، اسرار، ز. و پور سیدی، ش. (۱۳۸۹) اثر پیش تیمار بذر توسط سالیسیلیک اسید بر رشد و برخی از شاخصهای
- EL-Tayeb, M. A. (2005) Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regulation 45: 215-225.
- Eraslan, F., Inal, A., Gunes, A. and Alpaslan, M. (2007) Impact of exogenous salicylic acid on the growth, antioxidant activity and physiology of carrot plants subjected to combined salinity and boron toxicity. Science Horticulture 113: 120-128.
- Erdal, S., Aydın, M., Genisel, M., Taspınar, M. S., Dumlupınar, R., Kaya, O. and Gorcek, Z. (2011) Effects of salicylic acid on wheat salt sensitivity. African Journal of Biotechnology 10(30): 5713-5718.
- Gharib, F. E. L. (2007) Effect of salicylic acid on the growth, metabolic activities and oil content of basil and marjoram. International Journal Agriculture Biology 9: 294-301.
- Gunes, A., Inal, A., Alpaslan, M., Eraslan, F., Bagci, E. G. and Cicek, N. (2007) Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) grown under salinity. Journal of Plant Physiology 164: 728-736.
- Hayat, Q., Hayat, S. H., Irfan, M. and Ahmad, A. (2010) Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: a review. Environmental and Experimental of Botany 68: 14-25.
- Heath, R. L. and Parcker, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplast, kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives in Biochemistry and Biophysic 125: 189-198.
- Hussein, M. M., Balbaa, L. K. and Gaballah, M. S. (2007) Salicylic acid and salinity effects on growth of maize plants. Research Journal Agriculture and Biological Science 3(4): 321-328.
- Idress, M., Naeem, M., Nasir Khan, M., Aftab,

- T., Masroor, A. and Moinuddin, K. H. (2011) Alleviation of salt stress in lemongrass by salicylic acid. *Protoplasma* 10: 314-330.
- Kang, H. and Saltveit, M. E. (2001) Activity of enzymatic antioxidant defense systems in chilled and heat shocked cucumber seedling radicles. *Physiological Plantarum* 113: 548-556.
- Khan, W., Prithviraj, B. and Smith, D. L. (2003) Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. *Journal of Plant Physiology* 160: 485-492.
- Khodary, S. E. A. (2004) Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed maize plants. *International Journal Agriculture Biology* 6(1): 5-8.
- Meloni, D. A., Gulotta, M. R., Martínez, C. A. and Oliva, M. A. (2004) The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycinebetaine accumulation in *Prosopis alba*. *Plant Physiology* 16(1): 39-46.
- Misra, N. and Saxena, P. (2009) Effect of salicylic acid on proline metabolism in lentil grown under salinity stress. *Plant Science* 177: 181-189.
- Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Science* 7: 405-410.
- Murashige, T. and Skoog, F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiological Plantarum* 15: 473-497.
- Noreen, Z., Ashraf, M. and Akram, N. A. (2010) Salt-induced regulation of some key antioxidant enzymes and physiobiochemical phenomena in five diverse cultivars of turnip (*Brassica rapa* L.). *Journal of Agronomy and Crop Science* 196: 273-285.
- Parida, A. K. and Das, A. B. (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60: 324-349.
- Raskin, I. (1992) Role of salicylic acid in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 43: 439-463.
- Ronald, S. F. and Laima, S. K. (1999) Phenolics and cold tolerance of *Brassica napus*. *Plant Agriculture* 1: 1-5.
- Sakihama, Y., Cohen, M., Grace, S. and Yamasaki, H. (2002) plant phenolic antioxidant and prooxidant activities phenolic-induced oxidative damage mediated by metals in plant. *Toxicology* 177: 67-80.
- Sairam, R. K., Deshmukh, P. S. and Saxena, D. C. (1998) Role of antioxidant systems in wheat genotypes tolerance to water stress. *Biological Plantarum* 41: 384-394.
- Sairam, R. K., Rao, K. V. and Srivastava, G. C. (2002) Changes in antioxidant activity in sub-cellular response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science* 163: 1037-1046.
- Sairam, R. K., Srivastava, G. C., Agarwal, S. and Meena, R. C. (2005) faiences in antioxidant activity in response to salinity tress in tolerant and susceptible wheat genotypes. *Biological Plantarum* 49: 85-91.
- Shakirova, F. M., Sakhabutdinova, A. R., Bezrukova, M. V., Fatkhutdinova, R. A. and Fatkhutdinova, D. R. (2003) Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Plant Science* 164: 317-322.
- Stevens, J., Senaratna, T. and Sivasithamparam, K. (2006) Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): associated changes in gas exchange, water relations and membrane stabilization. *Plant Growth Regulation* 49: 77-83.
- Szepesi, A., Csiszár, J., Gémes, K., Horváth, E., Horvath, F., Simon, M. and Tari, I. (2009) Salicylic acid improves acclimation to salt stress by stimulating abscisic

- aldhyde oxidase activity and abscisic acid accumulation, and increase Na^+ content in leaves without toxicity symptoms in *Solanum lycopersicum* L.. Journal Plant Physiology 166: 914-925.
- Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A. (2000) Oxidative stress and some antioxidant system in acid rain treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. Plant Science 151: 59-66.
- Yusuf, M., Hasan, S. A., Ali, B., Hayat, S., Fariduddin, Q. and Ahmad, A. (2008) Effect of salicylic acid on salinity induced changes in *Brassica juncea*. Journal of Integrative Plant Biology 50(9): 1096-1102.
- Zhao, H. J., Lin, X. W., Shi, H. Z. and Chang, S. M. (1995) The regulating effects of phenolic compounds on the physiological characteristics and yield of soybeans. Acta Agronomica Sinica 21: 351-355.
- Zhang, Z., Pang, X., Duan, X., Ji, Z. L. and Jiang, Y. (2005) Role of peroxidase in anthocyanin degradation in litchi fruit pericarp. Food Chemistry 90: 47-52.

بررسی صفات تشریحی برگ پسته وحشی (*Pistacia atlantica* var *kurdica*)

نسرین سیدی^{۱*}، سید غلامعلی جلالی^۲ و محمد مقدم^۳

^۱ گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

^۲ گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

^۳ گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

چکیده

پسته وحشی از درختان مناطق نیمه‌خشک ایران محسوب می‌شود که از نظر مسایل زیست‌محیطی و اقتصادی-اجتماعی اهمیت ویژه‌ای دارد. این گونه به خوبی مطالعه تشریحی نشده است و در برخی حالات تشخیص آن از سایر واریته‌های گروه *Butmela* مشکل است. هدف از پژوهش حاضر، بررسی تنوع بر اساس برخی از صفات تشریحی برگ نظیر اندازه دستجات آوندی بود. به این منظور، برگ‌های جمع‌آوری شده از سه جمعیت به مدت یک ماه در اتانول ۷۰ درصد قرار گرفت سپس، از هر نمونه برش عرضی تهیه شد. بر اساس نتایج به دست آمده برگ‌های این گونه دو رویه بوده، برگ‌ها در هر دو سطح در محل رگبرگ اصلی دارای گُرک‌های کوتاه (از نوع پوششی و غده‌ای) هستند. ضخامت دسته آوند مرکزی، ضخامت برگ و طول دسته آوند مرکزی به ترتیب بیشترین نقش را در گروه‌بندی دارند. همچنین، در این بررسی بین دو جنس نر و ماده در رابطه با صفات تشریحی برگ اختلافی مشاهده نشد. نتایج به دست آمده از بررسی‌های تشریحی در این مطالعه می‌تواند در مطالعات تاکسونومی این گونه به کار رود.

واژه‌های کلیدی: پسته وحشی (*Pistacia atlantica* var *kurdica*)، دستجات آوندی، صفات تشریحی برگ

مقدمه

تعدادی واریته را معرفی کرد، در حالی که هیچ زیرگونه‌ای را معرفی ننمود. Engler برخی گونه‌ها را نیز به طور کامل توضیح نداد (Kafkas, 2006). پس از وی، گونه‌های دیگری توسط محققان مختلف به این جنس اضافه شد. تاکنون، کامل‌ترین طبقه‌بندی توسط Zohary

نخستین طبقه‌بندی‌ها در مورد گیاهان بر اساس صفات ریختی بوده است. در مورد جنس پسته نخستین تقسیم‌بندی، بر اساس ریخت‌شناسی درخت، برگ، گل و میوه توسط Engler (۱۸۸۳) انجام شد. وی ۸ گونه و

P. atlantica به کار رود (Belhadj et al., 2007). ویژگی‌های تشریحی روی رفتارهای بوم‌شناختی، نیازهای محیطی و سازگاری گیاهان با شرایط پیرامونی تأثیر چشمگیری دارند و مطالعه آنها درک بهتری از سازش گیاه با شرایط مختلف محیطی را فراهم می‌کند. برای مثال، در مطالعه‌ای که با هدف تأثیر شوری بر صفات تشریحی برگ، ساقه و میوه دو وارسته از پسته خوراکی (*P. vera*) انجام شد، شوری باعث افزایش ضخامت پهنک برگ و همچنین، افزایش گرک‌های ساده به ویژه در سطح فوقانی برگ و کاهش تراکم گرک‌های غده‌ای به ویژه در سطح تحتانی برگ شده است (فرجادی و همکاران، ۱۳۸۷). همچنین، در مطالعه یاد شده فضای بین سلولی در بافت مزوفیل برگ، نوع روزنه‌ها و طول سلول‌های اپیدرم با تأکید بر تأثیر تنش شوری مطالعه شده‌اند در حالی که هدف از مطالعه حاضر بررسی شاخص‌هایی مانند طول، ضخامت و شکل دسته آوند مرکزی و همچنین، طول و ضخامت آوند چوبی در پسته وحشی است.

پسته وحشی گونه اقتصادی مهمی برای روستاییان ساکن جنگل‌های زاگرس است (Pourreza et al., 2008). این گونه در گذشته‌ای نه چندان دور در نواحی وسیعی از مناطق بیابانی جهان رویش داشته است و یافتن آن در مناطقی که برای سایر گونه‌های درختی قابل کشت نیست، توانمندی آن را در مشجر کردن بسیاری از مناطق نامساعد نشان می‌دهد (میرزایی ندوشن و مداح عارفی، ۱۳۷۸). *P. atlantica* در ایران به رغم نقش انکارناپذیر آن در عرصه منابع طبیعی، هنوز به خوبی مورد توجه محققان قرار نگرفته است. بنابراین، در پژوهش حاضر، ساختار تشریحی برگ برای کمک

(۱۹۵۲ و ۱۹۷۲) انجام شده است. Zohary جنس پسته را بر اساس صفات ریختی برگ و میوه به ۴ بخش و ۱۱ گونه (جدول ۱) تقسیم نمود (Kafkas, 2006). تمام گونه‌های این جنس دو پایه هستند (Kafkas et al., 2000; Kafkas and Perl-Treves, 2001; Kafkas, 2006; Ahmadi-Afzadi et al., 2007).

جدول ۱- تقسیم‌بندی جنس پسته. *: گونه‌های همیشه سبز

Eu-Terebinthus	Eu-Lentiscus*	Lentiscella*	Butmela
<i>P. terebinthus</i>	<i>P. lentiscus</i>	<i>P. mexicana</i>	<i>P. atlantica</i>
<i>P. palaestina</i>	<i>P. weinmannifolia</i>	<i>P. texana</i>	
<i>P. khinjuk</i>	<i>P. saportae</i>		
<i>P. vera</i>			
<i>P. chinensis</i>			

در مورد گونه *P. atlantica* تنوع ریختی وسیعی توسط Belhadj و همکاران (۲۰۰۷) گزارش شده است. پدیده تفاوت درون‌گونه‌ای، از نظر ویژگی‌های ریخت‌شناختی، بین جمعیت‌های گیاهی که در شرایط رویشگاهی متفاوت رشد می‌کنند، اغلب مشاهده می‌شود (Krzakowa et al., 2003; Szczepaniak, 2002; Halpern, Altschuler and Schipunov, 2005; Goulart et al., 2006; 2005). علاوه بر ریخت‌شناسی، از صفات تشریحی برگ نیز برای تکمیل صفات ریخت‌شناسی استفاده می‌شود. استفاده از ویژگی‌های تشریحی گیاهان در تاکسونومی به حدود یک قرن پیش بر می‌گردد و در سطوح پایین‌تر رده‌بندی، شواهد فراساختاری در تقویت نتایجی که بر اساس سایر داده‌ها به دست آمده و نیز در تعیین روابط خویشاوندی جدید، یافته‌های بسیاری را فراهم می‌کند (ریعی و همکاران، ۱۳۸۵). برای مثال، ریخت‌شناسی بشره و تراکم گرک‌ها می‌تواند به خوبی برای تفکیک جمعیت‌ها در

از شستشوی نهایی، روی لام به طور دائم تثبیت و صفات تشریحی توسط میکروسکوپ نوری متصل به کامپیوتر مطالعه و عکس برداری شدند (آل بویه و همکاران، ۱۳۸۰). در این مطالعه، صفاتی نظیر ضخامت، طول و شکل دسته آوند مرکزی، طول آوند چوبی، ضخامت برگ، تراکم کُرک‌ها و عمق برجستگی‌های سطح فوقانی و تحتانی برگ در محل رگبرگ اصلی بررسی و اندازه‌گیری‌ها به کمک عدسی مدرج انجام شد.

تحلیل داده‌ها

داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی، تجزیه واریانس شد. از آزمون t استیودنت به منظور مقایسه دو جنس نر و ماده و از آزمون توکی برای مقایسه‌های چندگانه استفاده شد. برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مطالعه شده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و تجزیه خوشه‌ای به روش Ward بر اساس فاصله اقلیدسی، استفاده شد. پیش از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، آزمون‌های بارتلت و KMO برای تعیین وجود همبستگی قابل قبول بین صفات مطالعه شده انجام شد. همه تجزیه‌های آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۵ انجام شد.

نتایج

طی مطالعات تشریحی که روی درختان مختلف از هر جمعیت انجام شد، تعدادی صفت تشریحی مشاهده شد. از جمله آنها سلول‌های پارانشیم نرده‌ای فقط در سطح فوقانی برگ وجود دارند. از این رو، تشخیص سطح فوقانی و تحتانی برگ از این طریق صورت گرفت. به این برگ‌ها اصطلاحاً دو رویه (bifacial) گفته می‌شود. در هر دو سطح برگ‌ها در محل رگبرگ اصلی، کُرک‌های کوتاه (از نوع پوششی و

به تاکسونومی دقیق‌تر این گونه، ارزیابی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گونه پسته وحشی و ارتباط ویژگی‌های تشریحی با جنسیت در این گونه بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

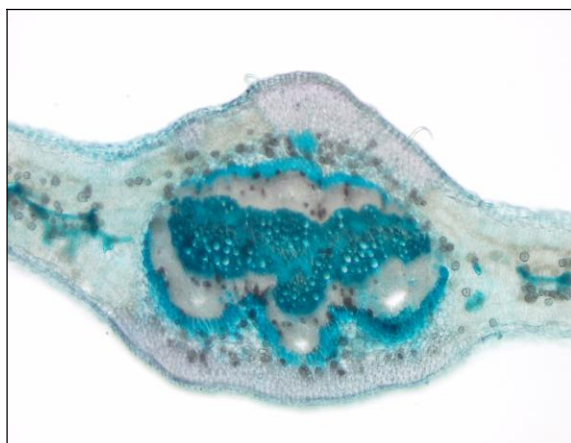
جمع‌آوری برگ در اواخر شهریورماه سال ۱۳۸۷ از سه رویشگاه در دو استان آذربایجان غربی و کردستان (جدول ۲) به روش طرح کاملاً تصادفی از ۲۰ پایه مادری و ۲۰ پایه پدری انجام شد.

جدول ۲- مشخصات جغرافیایی و اقلیمی جمعیت‌های مطالعه شده

نام محل / جمعیت	سلماس	شاهین‌دژ	بانه
استان	آذربایجان غربی	آذربایجان غربی	کردستان
عرض جغرافیایی	۳۸° ۰۶' N	۳۶° ۰۴' N	۳۶° ۳۰' N
طول جغرافیایی	۴۴° ۳۵' E	۴۵° ۴۰' E	۴۶° ۴۲' E
ارتفاع (m)	۱۹۰۰	۱۳۱۰	۱۷۰۰
بارندگی سالانه (mm)	۵۳۱/۷۵	۷۰۸	۶۱۸/۷
متوسط دما (min-max) °C	۱۵/۳-۲۷	۱۸/۶-۸/۶	۱۷/۷۶-۳/۷
متوسط رطوبت نسبی (%)	۵۷	۴۴	۵۴

برای بررسی صفات تشریحی، نمونه‌های تازه جمع‌آوری شده برگ به مدت یک ماه در اتانول ۷۰ درصد قرار گرفت. سپس، برگ‌ها با استفاده از میکروتوم دستی برش داده شدند. قطعات برش یافته پس از شستشو با آب مقطر به وسیله صافی به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه (زمان از دست رفتن رنگ طبیعی نمونه‌ها) در آب ژاول ۵ درصد قرار گرفتند. در این مرحله، پس از شستشو، قطعات برش یافته به مدت ۱۰ تا ۲۰ دقیقه در رنگ کارمن زاجی و در مرحله پایانی پس از شستشوی مجدد به مدت چند ثانیه در رنگ آبی متیل قرار گرفتند و پس

دیگر علاوه بر حالت بیضوی، شکل مدور نیز دیده شد. در عین حال، شکل عمومی دسته آوند مرکزی بیضوی است. برخی صفات تشریحی کمی اندازه‌گیری شده که مقدار آنها در نمونه‌های مختلف متفاوت است، در سه جمعیت بانه، سلماس و شاهین دژ در شکل ۱ مشخص شده‌اند.



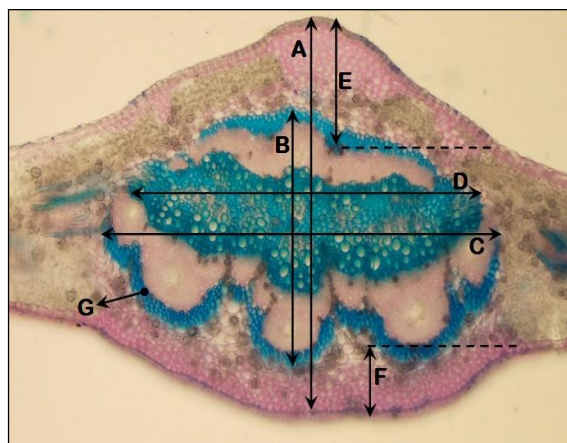
ب



ج

وجود داشت. در مورد صفت طول آوند چوبی در دسته آوند مرکزی جمعیت بانه با هر دو جمعیت اختلاف معنی‌دار نشان داد. از لحاظ صفات ضخامت برگ در محل رگبرگ اصلی، عمق برآمدگی در سطح فوقانی و تحتانی برگ در محل رگبرگ اصلی بین سه جمعیت مطالعه شده اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. به طور کلی،

غده‌ای) به طول حدود $1/5$ میکرومتر (به ندرت بلند) دیده شدند. تراکم گُرک‌ها در هر سه جمعیت اندک بود و از این نظر اختلافی بین جمعیت‌ها مشاهده نشد. شکل دسته آوند مرکزی بیضوی و دایره‌ای است به طوری که در همه نمونه‌های جمعیت بانه شکل دسته آوند مرکزی بیضوی بود، در حالی که در دو جمعیت



الف

شکل ۱- عکس مقطع عرضی برگ $200\times$. الف) جمعیت بانه، ب) جمعیت سلماس و ج) جمعیت شاهین دژ. حروف مشخص شده در شکل الف عبارتند از: A: ضخامت برگ در ناحیه رگبرگ اصلی یعنی فاصله بین بشره تحتانی زیر دسته آوند مرکزی تا بالاترین سلول بشره‌ای در سطح فوقانی برگ (میکرومتر)؛ B: ضخامت دسته آوند مرکزی (میکرومتر)؛ C: طول دسته آوند مرکزی (میکرومتر)؛ D: طول آوند چوبی در دسته آوند مرکزی (میکرومتر)؛ E: عمق برآمدگی در سطح فوقانی برگ در محل رگبرگ اصلی (میکرومتر)؛ F: عمق برآمدگی در سطح زیرین برگ در محل رگبرگ اصلی (میکرومتر)؛ G: تعداد برجستگی‌های دسته آوند مرکزی در سطح تحتانی برگ.

بر اساس جدول ۳، بیشترین ارزش از نظر همه صفات در نمونه‌های جمعیت بانه دیده شد. این سه جمعیت در مورد صفات اندازه‌گیری شده، تفاوت‌هایی با یکدیگر داشتند. به طوری که از نظر صفات: ضخامت، طول و تعداد برجستگی‌های دسته آوند مرکزی بین دو جمعیت سلماس و بانه اختلاف معنی‌دار

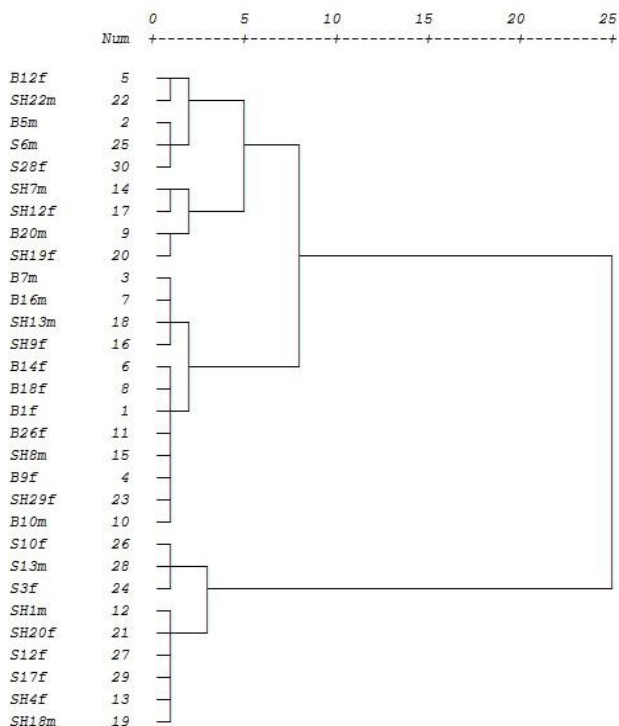
گرفتند، در حالی که بیشتر ژنوتیپ‌های جمعیت بانه در گروه دوم دیده شدند. ژنوتیپ‌های جمعیت شاهین دژ در هر سه گروه تقریباً به طور یکسان پراکنده بودند. به طور کلی، بدون در نظر گرفتن نوع جمعیت، نمونه‌های گرفته شده از هر پایه از نظر صفات اندازه‌گیری شده تفاوت‌هایی داشتند که بیشترین تفاوت به ضخامت دسته آوند مرکزی مربوط بود.

بین دو جنس نر و ماده از لحاظ همه صفات تشریحی برگ اختلاف معنی‌دار دیده نشد. همچنین، اثر جنسیت در هیچ یک از سه جمعیت مطالعه شده معنی‌دار نبود. تجزیه خوشه‌ای صفات تشریحی برگ (شکل ۲)، ژنوتیپ‌های مطالعه شده را به سه گروه اصلی تقسیم کرد که در گروه اول اغلب ژنوتیپ‌های جمعیت بانه و همچنین، تعدادی از ژنوتیپ‌های جمعیت شاهین دژ قرار

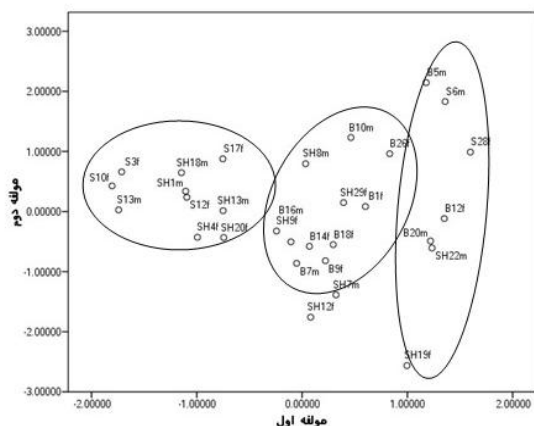
جدول ۳- میانگین و دامنه تغییرات صفات تشریحی برگ در سه جمعیت پسته وحشی. علائم اختصاری صفات در شکل ۱ آمده است. حروف یکسان در یک ردیف بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار میانگین‌های کل با استفاده از آزمون توکی در سطح $P < 0.05$ است.

جمعیت صفات	سلماس		شاهین دژ		بانه	
	میانگین	دامنه تغییرات	میانگین	دامنه تغییرات	میانگین	دامنه تغییرات
کل	۱۸/۰۳ ^a	۱۳/۷۶-۲۵/۲۱	۱۷/۸۹ ^a	۱۴/۹۲-۲۱/۷۳	۲۰/۰۲ ^a	۱۸/۱۱-۲۲/۸۹
A (μm)	نر	۱۳/۷۶-۲۲/۴۶	۳/۶۷	۱۵/۲۱-۲۱/۷۳	۱۹/۸۲	۱۸/۱۱-۲۲/۸۹
ماده	۱۷/۹۹	۱۴/۶۳-۲۵/۲۱	۴/۳۳	۱۴/۹۲-۱۹/۸۵	۲۰/۱۸	۱۸/۹۸-۲۱/۷۳
کل	۱۱/۲۸ ^b	۸/۳-۱۷/۱	۱۱/۸۱ ^{ab}	۹/۱-۱۵/۹	۱۴/۰۲ ^a	۱۱/۶-۱۶/۷
B (μm)	نر	۸/۴-۱۴/۵	۲۰/۲۶	۹/۹-۱۵/۹	۱۴/۰۵	۱۱/۶-۱۵/۹
ماده	۱۱/۲۱	۸/۳-۱۷/۱	۲۲/۰۲	۹/۱-۱۳/۹	۱۳/۹۸	۱۲/۲-۱۶/۷
کل	۱۶/۴ ^b	۱۰/۸۷-۲۳/۹۱	۲۱/۱۴ ^{ab}	۱۴/۷۸-۳۰/۴۳	۲۱/۱۹ ^b	۱۸/۱۱-۲۶/۳۷
C (μm)	نر	۱۱/۷۴-۲۳/۱۸	۱۸/۲۸	۱۴/۷۸-۲۴/۹۲	۲۰/۴۸	۱۸/۱۱-۲۶/۳۷
ماده	۱۶/۰۸	۱۰/۸۷-۲۳/۹۱	۱۷/۵۱	۱۵/۵-۳۰/۴۳	۲۱/۵۸	۱۹/۷۱-۲۳/۹۱
کل	۱۲/۷ ^b	۸/۲۶-۱۷/۹۷	۱۷/۰۶ ^a	۱۲/۰۳-۲۵/۲۱	۱۷/۸۱ ^a	۱۳/۷۶-۲۳/۹۱
D (μm)	نر	۹/۷۱-۱۷/۸۲	۱۶/۲۷	۱۲/۰۳-۲۱/۸۸	۱۷/۲۱	۱۳/۷۶-۲۳/۹۱
ماده	۱۲/۲۶	۸/۲۶-۱۷/۹۷	۱۷/۸۴	۱۳/۴۸-۲۵/۲۱	۱۸/۳	۱۵/۹۴-۲۱/۵۹
کل	۴/۷۳ ^a	۲/۹-۷/۸۲	۵/۰۷ ^a	۳/۳۳-۷/۵۳	۵/۶۵ ^a	۴/۳۵-۷/۳۹
E (μm)	نر	۲/۹-۷/۸۲	۱۱/۹۳	۳/۳۳-۶/۵۲	۶/۱۷	۵/۰۷-۷/۳۹
ماده	۴/۹۵	۳/۳۳-۶/۹۵	۱۱/۶۹	۳/۴۸-۷/۵۳	۵/۲۱	۴/۳۵-۶/۵۲
کل	۵/۸۶ ^a	۴/۴۹-۸/۹۸	۵/۱۹ ^a	۳/۱۹-۶/۳۸	۵/۸۸ ^a	۲/۹-۸/۸۴
F (μm)	نر	۵/۳۶-۸/۹۸	۴/۷۸	۴/۹۳-۶/۳۸	۵/۸	۲/۹-۸/۸۴
ماده	۵/۳۳	۴/۴۹-۶/۵۲	۴/۶۹	۳/۱۹-۶/۰۹	۵/۷	۳/۶۲-۷/۲۴
کل	۳/۷۱ ^b	۳-۵	۴ ^{ab}	۳-۵	۴/۸۲ ^a	۴-۵
G	نر	۴-۵	۵/۶	۳-۵	۴/۸	۴-۵
ماده	۳/۴	۳-۵	۴/۷۶	۴-۵	۴/۸۳	۴-۵

شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای صفات تشریحی برگ سه جمعیت پسته وحشی. حروف S، SH، B، m و f به ترتیب معرف سلماس، شاهین‌دژ، بانه، پایه نر و پایه ماده و اعداد شماره شناسایی درختان هستند.



شکل ۳ گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مطالعه شده را بر اساس دو مؤلفه اصلی اول و دوم نشان می‌دهد. نتایج حاصل صحت گروه‌بندی از طریق تجزیه خوشه‌ای را بیان کند. بنابراین، ژنوتیپ‌هایی که در تجزیه خوشه‌ای در یک گروه واقع شدند، در این شکل نیز نزدیک یکدیگر قرار گرفتند.



شکل ۳- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مطالعه شده بر اساس مؤلفه‌های اول و دوم حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی صفات تشریحی برگ سه جمعیت پسته وحشی

بر اساس نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، مؤلفه اول ۶۰/۴ درصد واریانس کل را پوشش داد، در حالی که مؤلفه‌های دوم و سوم به ترتیب ۱۷/۲۴ و ۱۰/۷۱ درصد واریانس را شامل شدند. با توجه به جدول ۴ در تشکیل مؤلفه اول به ترتیب: ضخامت دسته آوند مرکزی، ضخامت برگ و طول دسته آوند مرکزی بیشترین نقش را داشته‌اند.

جدول ۴- بردارهای ویژه صفات تشریحی برگ بنه در دو مؤلفه اصلی. صفات با بردارهای بیش از ۰/۸۳ به عنوان صفات مؤثر در نظر گرفته شده‌اند.

صفات	مؤلفه اول	مؤلفه دوم
A (μm)	۰/۸۹۲	۰/۲۷۷
B (μm)	۰/۹۲۰	۰/۱۴۰
C (μm)	۰/۸۳۸	-۰/۴۲۷
D (μm)	۰/۸۱۸	-۰/۴۹۰
E (μm)	۰/۶۵۸	۰/۴۹۱
F (μm)	۰/۳۸۷	۰/۶۲۷
G	۰/۷۹۵	-۰/۲۳۰

بحث

در مطالعه حاضر، گُرک در هر دو سطح برگ‌ها و در محل رگبرگ اصلی مشاهده شد که این صفت در تقسیم‌بندی جنس پسته یکی از ویژگی‌های این گونه به شمار می‌رود (Yaltirik, 1967; Al-Yafi, 1978). علاوه بر این، سطح برگ‌های گیاهان خشکی‌پسند معمولاً با گُرک پوشیده شده‌اند (Tewari and Agarwal, 2001). از نظر تراکم گُرک‌ها در محل رگبرگ اصلی، بین سه جمعیت اختلاف چشمگیری دیده نشد در صورتی که Belhadj و همکاران (۲۰۰۷) با استفاده از تراکم گُرک‌ها در گونه *P. atlantica* توانستند جمعیت‌های مطالعه شده را گروه‌بندی کنند. به طوری که تراکم گُرک در محل رگبرگ اصلی در تعدادی از جمعیت‌ها کم و در تعدادی دیگر زیاد بود. با وجود این، آنها گزارش کردند که تراکم گُرک‌ها با صفات رویشگاهی همبستگی ندارد و احتمالاً سایر خصوصیات تشریحی در برابر کاهش بارندگی دخیل هستند. در پژوهش حاضر، جمعیت‌های مطالعه شده با این که از نظر شرایط اقلیمی متفاوت بودند، اما از نظر تراکم گُرک اختلاف نداشتند، تراکم گُرک در محل رگبرگ اصلی در هر سه جمعیت مطالعه شده اندک بود. فرجادی و همکاران (۱۳۸۷) نیز تراکم گُرک‌های ساده در محل رگبرگ اصلی را در دو وارسته از پسته خوراکی (*P. vera*) گزارش کردند.

در مطالعه کنونی، اندازه دسته آوند مرکزی (ضخامت و طول) در جمعیت بانه نسبت به دو جمعیت دیگر بزرگ‌تر بود که این امر شاید به علت اندازه بزرگ‌تر برگ و شرایط متفاوت اقلیمی در این جمعیت توجیه شود. همچنین، ضخامت دسته آوند مرکزی بیشترین نقش را در گروه‌بندی جمعیت‌های مطالعه شده

داشت. در گونه‌هایی از جنس *Festuca* اندازه دسته‌های آوندی یکی از شاخص‌های شناسایی تاکسونومیک به شمار می‌رود (اسلامی جوینده و همکاران، ۱۳۸۷).

در رابطه با صفات تشریحی برگ در این بررسی، بین دو جنس نر و ماده اختلافی مشاهده نشد. تاکنون گزارشی مبنی بر مقایسه صفات تشریحی برگ بین دو جنس در این گونه دیده نشده است.

جمع‌بندی

به طور کلی، گونه *P. atlantica* var *kurdica* از لحاظ سیستماتیک به خوبی مطالعه نشده است و در برخی حالات تشخیص آن از سایر وارسته‌های گروه *Butmela* مشکل است (Belhadj et al., 2007). Zohary (۱۹۵۲) *P. atlantica* var *kurdica* را به علت حضور بال در ابتدای دم‌برگ برگچه‌ها به عنوان وارسته‌ای از *P. atlantica* معرفی کرد و آن را *P. eurycarpa* نامید. پس از وی، Yaltirik (۱۹۶۷) با مطالعه گونه‌های پسته در ترکیه نظریه Zohary را، مبنی بر این که *P. eurycarpa* وارسته‌ای از *P. atlantica* است، رد کرد و به دلیل حضور بال در ابتدای دم‌برگ برگچه‌ها آن را به عنوان گونه‌ای جدید بین دو گروه *Butmela* و *Eu-Terebinthus* قرار داد. پس از آن، Al-Yafi (۱۹۷۸) *P. atlantica* را بر اساس صفات ریختی برگ به دو زیرگونه تقسیم کرد و *P. eurycarpa* را به عنوان وارسته‌ای از *P. atlantica* دانست.

نتایج به دست آمده از بررسی‌های تشریحی در این مطالعه می‌تواند در مطالعات تاکسونومی گونه *P. atlantica* به کار رود. برای مثال، دسته آوند مرکزی در این گونه عموماً بیضوی شکل است.

سپاسگزاری

از مسئولان محترم مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور و دانشگاه ارومیه که امکانات مورد نیاز در اجرای این تحقیق را در اختیار نگارندگان گذاشتند، صمیمانه قدردانی می‌شود. همچنین، مراتب سپاسگزاری

از جناب آقای دکتر حسین میرزایی ندوشن، جناب آقای دکتر سیاوش حسینی و سرکار خانم مهندس روح‌انگیز عباس عظیمی اعلام می‌شود.

منابع

- آل بویه، ر. م.، میرزایی ندوشن، ح.، مجد، ا. و رضایی، م. ب. (۱۳۸۰) ویژگی‌های تشریحی گونه‌هایی از نعنا (*Mentha spp.*). فصلنامه تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران ۸: ۸۱-۹۲.
- اسلامی جوینده، م.، زرین کمر، ف. و اسدی، م. (۱۳۸۷) کاربرد آناتومی برگ در شناسایی گونه‌های ریز برگ جنس *Festuca* در ایران. مجله رستنی‌ها ۹(۲): ۱۶۷-۱۷۷.
- ربیعی، م.، جلیلی، ع. و زرین کمر، ف. (۱۳۸۵) خصوصیات آناتومیکی ۵ گونه درمنه (*Artemisia*) در شمال ایران.
- Goulart, M. F., Lemos, J. P. and Lovato, M. B. (2006) Variability in fruit and seed morphology among and within populations of *Plathymenia* in areas of the Cerrado, the Atlantic Forest, and transitional sites. *Plant Biology* 8(1): 112-119.
- Halpern, S. L. (2005) Sources and consequences of seed size variation in *Lupinus perennis* (Fabaceae): adaptative and non-adaptative hypotheses. *American Journal of Botany* 92: 205-213.
- Kafkas, S. (2006) Phylogeny, evolution and biodiversity in the genus *Pistacia* (Anacardiaceae). In: *Plant genome: biodiversity and evolution. Phanerogams (angiosperm-dicotyledons)* (Ed. Sharma, A. K.) 1(C): 150-172. Science Publishers, An imprint of Edenbridge Ltd. New Hampshire.
- Kafkas, S. and Perl-Treves, R. (2001) Morphological and molecular phylogeny of *Pistacia* species in Turkey. *TAG Theoretical and Applied Genetics* 102: 908-915.
- فصلنامه پژوهش سازندگی ۷۰: ۷۹-۸۷.
- فوجادی، ا.، زرین کمر، ف. و حکم‌آبادی، ح. (۱۳۸۷) مقایسه ویژگی‌های آناتومیکی دو وارسته از گونه *Pistacia vera* و بررسی تأثیر شوری و ضربه مکانیکی بر دفرمه شدن میوه. فصلنامه پژوهش سازندگی ۸۱: ۶۷-۷۹.
- میرزایی ندوشن، ح. و مداح عارفی، ح. (۱۳۷۸) تنوع ژنتیکی درصد پوکی بذر در درختان بنه (*Pistacia atlantica*). فصلنامه مجله پژوهش و سازندگی ۴۲: ۱۰۱-۱۰۰.
- Ahmadi-Afzadi, M., Tabatabaei, B. E. S., Mohammadi, S. A. and Tajabadipur, A. (2007) Comparison of genetic diversity in species and cultivars of pistachio (*Pistacia sp. L.*) based on Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) markers. *Iranian Journal of Biotechnology* 5(3): 147-152.
- Altschuler, E. P. and Schipunov, A. B. (2005) The morphological variability of sedges from *Carex salina* Wahl, (Cyperaceae) group on the White Sea coast. (In Russian). *Vestnik VOOP* 10: 1-6.
- Al-Yafi, J. (1978) New characters differentiating *Pistacia atlantica* subspecies. *Candollea* 33: 201-208.
- Belhadj, S., Derridj, A., Aigouy, T. H., Gers, C. H., Gauquelin, T. H. and Mevy, J. P. H. (2007) Comparative morphology of leaf epidermis in eight populations of Atlas Pistachio (*Pistacia atlantica* Desf., Anacardiaceae). *Microscopy Research and Technique* 70: 837-846.

- Kafkas, S., Perl-Treves, R. and Kaska, N. (2000) Unusual *Pistacia atlantica* Desf. (Anacardiaceae) monoecious sex types in the Yunt Mountains of the Manisa province of Turkey. *Israel Journal of Plant Science* 48: 277-280.
- Krzakowa, M., Kolodziejczak, M., Drapikowska, M. and Jakubiak, H. (2003) The variability of reed (Poaceae) populations expressed in morphological traits of panicles. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 72: 157-160.
- Pourreza, M., Shaw, J. D. and Zangeneh, H. (2008) Sustainability of wild pistachio (*Pistacia atlantica* Desf.) in Zagros forests, Iran. *Forest Ecology and Management* 72(2): 157-160.
- Szczepaniak, M. (2002) Morphological variability of polish populations of *Elymus repens* from various habitats-preliminary report. *Ecological Questions* 2: 159-168.
- Tewari, R. and Agarwal, A. (2001) Distinctive stomatal structure from dispersed leaf cuticle of Sindhudurg formation, Ratnagiri district, Maharashtra, India. *Current Science* 81: 1638-1641.
- Yaltirik, F. (1967) Anacardiaceae. In: *Flora of Turkey* (Ed. Davis, P. H.) 2: 544-548. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Zohary, M. (1952) A monographical study of the genus *Pistacia*. *Palestine Journal of Botany Jerusalem Series* 5: 187-228.
- Zohary, M. (1972) *Pistacia* L. *Flora Palestina* 2: 297-300.

فعال‌سازی پاسخ‌های دفاعی تحت تنش ایزوتیوسیانات در گیاهچه‌های کلزا

فهیمة توکلی زانیانی^۱، لیلا شبانی^۲ * و رؤیا رضوی زاده^۳

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی ۳۶۹۷-۱۹۳۹۵ تهران، ایران

^۲ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

^۳ استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی ۳۶۹۷-۱۹۳۹۵ تهران، ایران

چکیده

در پژوهش حاضر، فرضیه القای پاسخ‌های دفاعی در برگ‌های کلزا (*Brassica napus L.*) تحت تنش ایزوتیوسیانات بررسی شد. تأثیر متیل و پروپیل ایزوتیوسیانات در غلظت‌های صفر، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار بر تجمع پراکسید هیدروژن، محتوای ترکیبات فنولیک کل، فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز و آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز در گیاهچه‌های کلزا ارزیابی شد. افزایش درصد نشت یونی و تجمع پراکسید هیدروژن وجود تنش اکسیداتیو در گیاهچه‌های کلزا تحت تیمار ایزوتیوسیانات‌ها را نشان داد. نتایج همبستگی میان فعالیت آنزیم PAL با مقدار ترکیبات فنولیک کل در گیاهچه‌های کلزا تحت تیمار را نشان داد. در این مطالعه، القای فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز در پاسخ به غلظت یک میلی‌مولار متیل و پروپیل ایزوتیوسیانات در گیاهچه‌های کلزا مشاهده شد. نتایج حاصل پیشنهاد می‌کند که تولید آنتی‌اکسیدان‌ها (ترکیبات فنولیک) تنها مکانیسم سم‌زدایی در گیاه کلزا نبوده، کاندیوگاسیون گلوتاتیون نیز در دفاع گیاه علیه ایزوتیوسیانات‌ها دخالت دارد.

واژه‌های کلیدی: ایزوتیوسیانات، فنیل آلانین آمونیلایز، کلزا، گلوتاتیون اس-ترانسفراز

مقدمه

سوم ارتقا یافته است (Al-Barrak, 2006).

ایزوتیوسیانات‌ها ترکیبات حاوی سولفور هستند که توسط بسیاری از اعضا خانواده Brassicaceae تولید می‌شوند. مشخص شده است که این ترکیبات از گلوکوزینولات‌ها توسط واکنش آنزیمی کاتالیز شده با میروزیناسز تولید می‌شوند و دارای طیف وسیعی از

کلزا با نام علمی *Brassica napus L.* از مهم‌ترین گیاهان زراعی است که در سطح دنیا برای استخراج روغن کشت می‌شود. آمارها نشان دهنده آن است که رشد سالانه تولید کلزا نسبت به سویا، پنبه، آفتابگردان و بادام‌زمینی بیشتر بوده، تولید جهانی آن از رتبه پنجم به

به نقش کلیدی GST در مقابله با تنش اکسیداتیو و خنثی‌سازی مواد سمی آلی، می‌توان افزایش فعالیت این آنزیم را به عنوان احتمال بروز تنش اکسیداتیو در سلول در نظر گرفت.

ایزوتیوسیانات‌ها در سلول‌های جانوری برای جلوگیری از پیشرفت تومور، مرگ سلول‌های سرطانی را القاء می‌کنند در حالی که در سلول‌های گیاهی عملکرد فیزیولوژیک آنها مشخص نشده است. با وجود چندین گزارش اندک روی این ترکیبات مکانیسم فیزیولوژیک گیاه در برابر انواع این ترکیبات به طور کامل مشخص نیست. استفاده از ایزوتیوسیانات‌ها در غلظت‌های بالا در آراییدوپسیس تأثیر علف‌گشتی داشته، در حالی که در غلظت‌های پایین این ترکیبات القا بیان ژن گلوتاتیون اس-ترانسفراز دیده شده است (Hara et al., 2010). همچنین، مشخص شده است که در آراییدوپسیس، آلایل ایزوتیوسیانات از طریق تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن، نیتریک اکسید و افزایش کلسیم درون سلولی، بسته شدن روزنه‌ها را القا کرده است (Khokon et al., 2011). با روشن شدن مکانیسم‌های پاسخ به ایزوتیوسیانات در گیاهان نقش‌های سیستم گلوکوزینولات-میروزیناز مشخص خواهد شد. برای بررسی نقش ایزوتیوسیانات‌ها در فعالیت‌های سم‌زدایی در گیاهان تولید کننده ایزوتیوسیانات، تأثیر متیل و پروبیل ایزوتیوسیانات بر تولید ترکیبات فنولیک، آنتوسیانین، فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز و فعالیت آنزیم GST در گیاهچه‌های کلزا بررسی شد.

مواد و روش‌ها

بذرهای کلزا رقم اکاپی پس از ضدعفونی در گلدان‌های پلاستیکی حاوی ماسه و پرلیت (نسبت ۱:۱)

فعالیت‌های زیستی شامل فعالیت‌های آنتی‌اکسیدان، آنتی‌باکتریال، ضد نماتود و ضد حشره هستند (Yan and Chen, 2007). در چند دهه گذشته، اهمیت این متابولیت‌های ثانویه حاوی سولفور و نیتروژن در گیاهان، به دلیل خاصیت بازدارندگی از سرطان، محافظت محصولات زراعی و مواد ضد عفونی کننده زیستی در کشاورزی افزایش یافته است. علاوه بر اهمیت این ترکیبات برای بشر، به عنوان سیستم دفاعی مهم در گیاهان نیز عمل می‌کنند.

آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی گیاه شامل ترکیبات فنولیک و آنتوسیانین‌ها هستند (Wang and Lin, 2000). این ترکیبات در میوه‌ها و سبزیجات آثار مفیدی برای پاکروبی رادیکال‌های آزاد دارند (Chun et al., 2003). ترکیبات فنولیک سلول‌ها را در برابر آسیب اکسیداتیو ایجاد شده حفاظت می‌کنند (Wada and Ou, 2002). آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز (PAL) نخستین مرحله از بیوسنتز فنیل پروپانویید که نقطه انشعابی میان متابولیسم اولیه و ثانویه است را کاتالیز می‌کند. این آنزیم همچنین نقش مهمی در بیوسنتز فلاونوئیدها، لیگنین‌ها و بسیاری از ترکیبات دیگر ایفا می‌کند. یکی از سیستم‌های دفاعی در برابر آسیب‌های ناشی از تنش اکسیداتیو در گیاهان آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز (GST) است که خانواده‌ای از آنزیم‌های فاز II است که در سم‌زدایی ترکیبات خارجی زیستی نقش دارد (Schröder, 2001). گلوتاتیون اس-ترانسفراز آنزیمی دایمر و چند عملکردی است که در سم‌زدایی مواد داخلی (متابولیت‌های درون سلول) و خارجی (داروها، حشره کش‌ها و سایر آلوده کننده‌ها) از طریق تشکیل کانجوگه (هم یوغ) گلوتاتیون دخالت دارد (Hayes and Pulford, 1995). بنابراین، با توجه

کشت داده شدند. در هر گلدان تعداد ۲۰ عدد بذر قرار داده شد. گلدان‌ها در گلخانه با شرایط کنترل شده به مدت ۲۱ روز نگهداری شدند. در طول هفته اول پس از کاشت، آبیاری با آب مقطر به طور روزانه انجام شد. پس از یک هفته از رشد، از محلول کامل غذایی هوگلند برای آبیاری استفاده شد. پیش از تیمار ایزوتیوسیانات‌ها، دهانه هر گلدان به طور کامل با یک پلاستیک محدود شد و گلدان‌ها در این شرایط برای ۴ روز نگهداری شدند. پس از سازگاری گیاهچه‌ها با این شرایط، امولسیون آبی ایزوتیوسیانات‌ها (متیل و پروپیل) در غلظت‌های صفر، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار روی گلدان‌ها افشانه شد. گلدان‌های تیمار شده با ایزوتیوسیانات‌ها فوراً با پلاستیک پوشانده، به مدت ۳ روز در شرایط گلخانه نگهداری شدند. از اندام هوایی گیاهچه‌های ۲۸ روزه برای سنجش همه شاخص‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک استفاده شد.

$$\%EC = \left(\frac{EC_1}{EC_2} \right) \times 10$$

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوکوتایون اس ترانسفراز
تعیین فعالیت آنزیم گلوکوتایون اس-ترانسفراز بر اساس روش Carmagnol و همکاران (۱۹۸۱) انجام شد. مقدار ۰/۱ گرم از برگ‌ها در بافر پتاسیم فسفات (۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷) همراه با PVP یک درصد و EDTA یک میلی‌مولار روی یخ ساییده شد و در دور ۱۵۰۰۰ g به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شد. محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیمی استفاده شد. در یک لوله آزمایش مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی، ۲ میلی‌لیتر مخلوط واکنش (۰/۱ مولار PBS با اسیدیته ۶/۲۵) حاوی ۳۰ میلی‌مولار GSH و کلرو دی نیتروبنزن (به عنوان گوهرمایه یا سوستر) ریخته شد. تشکیل محصول واکنش یعنی دی‌نیترو کلرو بنزن کانونجک با گلوکوتایون در طول موج ۳۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Ultrospec 3100 pro) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری ترکیبات فنولیک کل

میزان ترکیبات فنولیک کل اندام هوایی گیاهچه‌ها با روش Singleton و Rossi (۱۹۶۵) اندازه‌گیری شد. برای این منظور ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت برگ‌ها در ۱/۵

کشت داده شدند. در هر گلدان تعداد ۲۰ عدد بذر قرار داده شد. گلدان‌ها در گلخانه با شرایط کنترل شده به مدت ۲۱ روز نگهداری شدند. در طول هفته اول پس از کاشت، آبیاری با آب مقطر به طور روزانه انجام شد. پس از یک هفته از رشد، از محلول کامل غذایی هوگلند برای آبیاری استفاده شد. پیش از تیمار ایزوتیوسیانات‌ها، دهانه هر گلدان به طور کامل با یک پلاستیک محدود شد و گلدان‌ها در این شرایط برای ۴ روز نگهداری شدند. پس از سازگاری گیاهچه‌ها با این شرایط، امولسیون آبی ایزوتیوسیانات‌ها (متیل و پروپیل) در غلظت‌های صفر، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار روی گلدان‌ها افشانه شد. گلدان‌های تیمار شده با ایزوتیوسیانات‌ها فوراً با پلاستیک پوشانده، به مدت ۳ روز در شرایط گلخانه نگهداری شدند. از اندام هوایی گیاهچه‌های ۲۸ روزه برای سنجش همه شاخص‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک استفاده شد.

آشکار سازی پراکسید هیدروژن

تجمع پراکسید هیدروژن در بخش‌های هوایی گیاهچه‌ها با استفاده از روش رنگ آمیزی دی‌آمینوبنزیلین (Thordal-Christensen *et al.*, 1997) با اندکی تغییر انجام شد. گیاهچه‌ها به مدت ۴ ساعت در دمای اتاق در محلول دی‌آمینوبنزیلین قرار داده شدند. سپس، گیاهچه‌ها در اتانول ۹۵ درصد قرار گرفتند و پس از حرارت، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد رنگ‌زدایی شدند. پس از شستشوی نمونه‌ها با آب مقطر، از گیاهچه‌ها عکس‌برداری شد.

درصد نشت الکترولیتی غشا

مقدار ۰/۱ گرم از بافت برگ از هر تکرار به دقت شسته، در لوله آزمایش در پوش دار محتوی ۵ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر قرار داده شد. این لوله‌ها به مدت ۱/۵

۱/۲۵ میلی‌لیتر بافر Tris-HCl (۰/۱ مولار با اسیدیته ۸/۵) فاقد فنیل آلانین به عنوان نمونه‌های شاهد تهیه شد. افزایش در جذب به واسطه فعالیت آنزیم پس از ۶۰ دقیقه انکوباسیون در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد به روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۲۹۰ نانومتر ثبت شد. غلظت سینامیک اسید با استفاده از رابطه ۱ (قانون بیر-لمبرت) محاسبه شد. A: شدت جذب، q: ضریب خاموشی سینامیک اسید (9000 M ml^{-1})، C: غلظت و L: طول مسیر (cm) است.

$$A=q \times C \times L \quad \text{رابطه ۱}$$

تحلیل داده‌ها

طرح آزمایشی به کار رفته طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار به ازای هر تیمار انجام شد. نتایج با نرم‌افزار SAS و تجزیه واریانس یک‌طرفه با آزمون دانکن تحلیل شده است.

نتایج

تأثیر ایزوتیوسیانات‌ها بر نشت الکتریکی غشا و تجمع پراکسید هیدروژن

آسیب غشا به طور غیرمستقیم با اندازه‌گیری هدایت الکتریکی نشت نمک‌ها از سلول‌ها اندازه‌گیری می‌شود. استفاده از متیل ایزوتیوسیانات (۱۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) و پروپیل ایزوتیوسیانات (۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) نشت الکتریکی غشا را در بافت‌های برگ کلزا افزایش داد (شکل ۱). افزایش نشت در پروپیل ایزوتیوسیانات در مقایسه با متیل ایزوتیوسیانات بیشتر بود. رنگ آمیزی دی‌آمینو بنزیدین نشان داد که تیمار گیاهچه‌ها با هر دو نوع ایزوتیوسیانات تجمع پراکسید هیدروژن را در برگ‌های کلزا افزایش داده‌اند (شکل ۲).

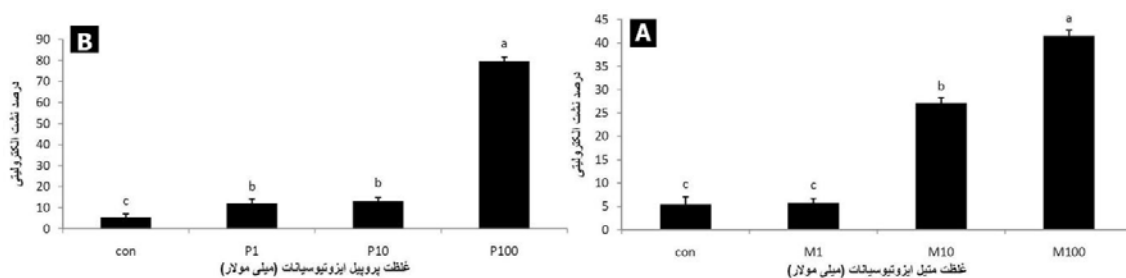
میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد ساییده شد و در دور ۱۵۰۰۰ g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. برای اندازه‌گیری غلظت فنولیک کل موجود در عصاره‌های تهیه شده، ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره متانولی نمونه‌ها با ۱/۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم و ۱/۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتو ترکیب شده، در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر ثبت شد. مقدار ترکیبات فنولیک کل در ریشه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) به دست آمد.

سنجش آنتوسیانین

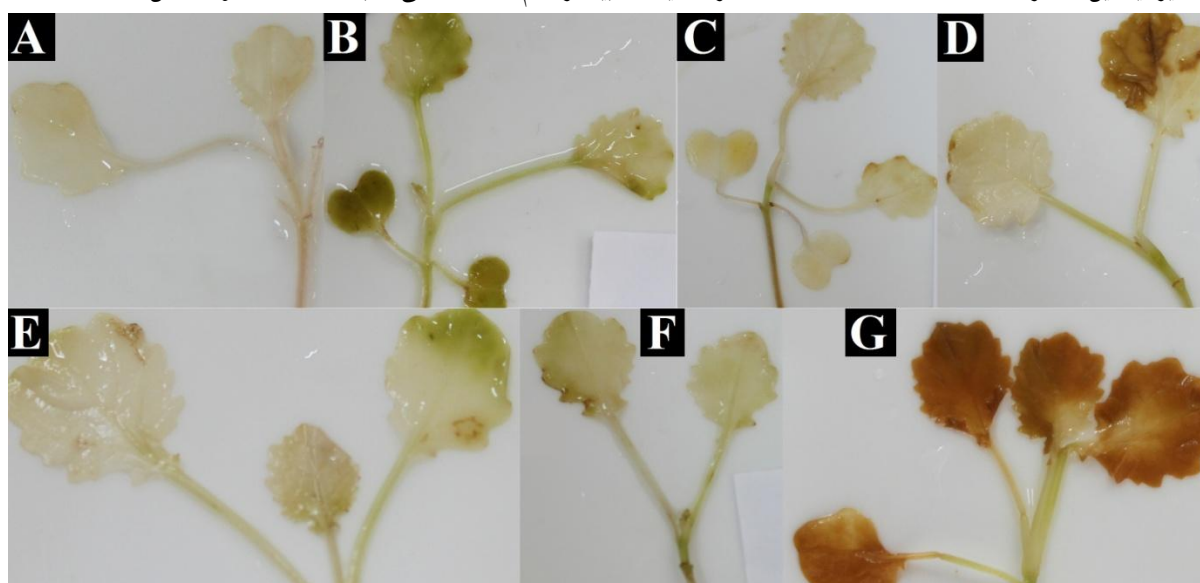
مقدار ۰/۱ گرم از برگ‌های تازه گیاهچه‌ها در ۲ میلی‌لیتر کلریدریک اسید ۰/۱ نرمال ساییده شد و به مدت ۳ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد. عصاره‌های حاصل به مدت ۵ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰ g سانتریفیوژ شدند و جذب محلول رویی در طول موج ۵۱۱ نانومتر قرائت شد. میزان آنتوسیانین بر اساس ضریب خاموشی مولی رافانوزین (۳۱۷۶۰ میکرومول بر سانتی‌متر) محاسبه شد (Bonfill et al., 2003).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز

مقدار ۰/۱ گرم از اندام هوایی گیاهچه‌ها در بافر Tris-HCl (۰/۱ مولار با اسیدیته ۷/۶) همراه با ۰/۵ درصد PVP روی یخ ساییده شد و در دور ۲۵۲۰۰ g به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شد. تعیین فعالیت آنزیم با روش Shen و Abell (۱۹۸۷) انجام شد. در یک سری لوله آزمایش مقدار ۰/۲۵ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی و ۱/۲۵ میلی‌لیتر بافر Tris-HCl (۰/۱ مولار با اسیدیته ۸/۵) حاوی ۱۲ میلی‌مولار فنیل آلانین به عنوان سوبسترا ریخته شد. در سری دوم لوله‌های آزمایش مقدار ۰/۲۵ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی و



شکل ۱- A) تأثیر متیل ایزوتیوسیانات (Con: شاهد؛ M1: ۱ میلی‌مولار؛ M10: ۱۰ میلی‌مولار؛ M100: ۱۰۰ میلی‌مولار) و پروپیل ایزوتیوسیانات (Con: شاهد؛ P1: ۱ میلی‌مولار؛ P10: ۱۰ میلی‌مولار؛ P100: ۱۰۰ میلی‌مولار) بر درصد نشت الکتريکی غشا در گیاهچه‌های کلزا. مقادیر میانگین \pm تکرار ۳ خطای استاندارد (SE) است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن ($P < 0.05$) است.



شکل ۲- رنگ آمیزی دی‌آمینوبنزیدين برای آشکارسازی پراکسید هیدروژن. متیل ایزوتیوسیانات و پروپیل ایزوتیوسیانات در غلظت‌های ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار در گیاهچه‌های کلزا به کار رفته است. لکه‌های قهوه‌ای رنگ وجود پراکسید هیدروژن را نشان می‌دهد. A) شاهد؛ B) متیل ایزوتیوسیانات ۱ میلی‌مولار؛ C) متیل ایزوتیوسیانات ۱۰ میلی‌مولار؛ D) متیل ایزوتیوسیانات ۱۰۰ میلی‌مولار؛ E) پروپیل ایزوتیوسیانات ۱ میلی‌مولار؛ F) پروپیل ایزوتیوسیانات ۱۰ میلی‌مولار؛ G) پروپیل ایزوتیوسیانات ۱۰۰ میلی‌مولار.

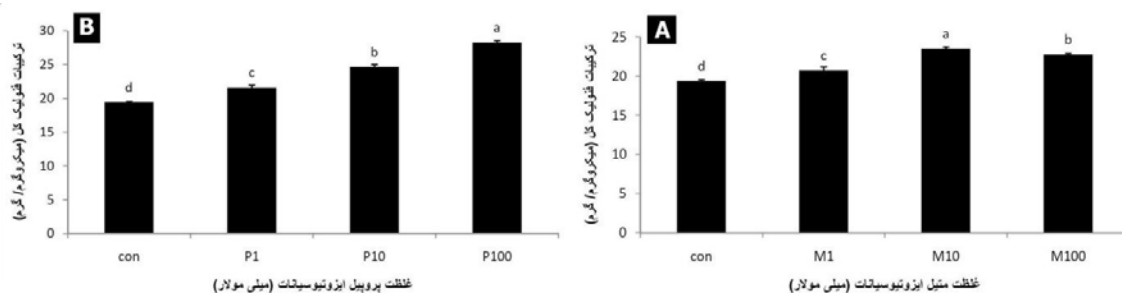
تأثیر ایزوتیوسیانات‌ها بر میزان رنگیزه آنتوسیانین
در بررسی تأثیر متیل ایزوتیوسیانات و پروپیل ایزوتیوسیانات (شکل ۴) مشاهده شد که میزان رنگیزه آنتوسیانین در اندام هوایی نسبت به گیاهچه‌های شاهد افزایش یافته است. متیل ایزوتیوسیانات در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار مقدار آنتوسیانین را تا ۲/۶ برابر در مقایسه با شاهد افزایش داده است. در بررسی اثر پروپیل ایزوتیوسیانات، غلظت ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار باعث

تأثیر ایزوتیوسیانات‌ها بر میزان ترکیبات فنولیک کل
نتایج حاصل از تعیین محتوای ترکیبات فنولیک گویای افزایش این ترکیبات در اندام هوایی گیاهان تیمار شده با هر دو نوع ایزوتیوسیانات بود. بیشترین میزان ترکیبات فنولیک کل در غلظت‌های متیل ایزوتیوسیانات (۱۰ میلی‌مولار) و پروپیل ایزوتیوسیانات (۱۰۰ میلی‌مولار) به ترتیب ۱/۲ و ۱/۵ برابر حاصل شد (شکل ۳).

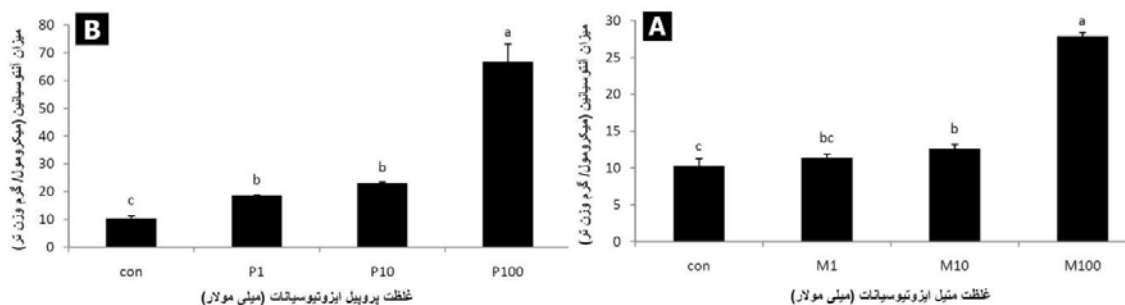
گیاهچه‌های شاهد افزایش یافت. تفاوت معنی‌داری در میزان سینامیک اسید بین تیمارهای ۱ و ۱۰ میلی‌مولار مشاهده نشد. در بررسی اثر پروپیل ایزوتیوسیانات، غلظت ۱۰ میلی‌مولار باعث افزایش میزان سینامیک اسید به میزان ۲/۱ برابر در مقایسه با گیاهچه‌های شاهد شده است. افزایشی در میزان فعالیت این آنزیم در تیمارهای ۱ و ۱۰۰ میلی‌مولار مشاهده نشد (شکل ۵).

افزایش میزان آنتوسیانین به ترتیب به میزان ۲/۱، ۲/۲ و ۶/۴ برابر در مقایسه با گیاهچه‌های شاهد شده است. افزایش چشمگیری در میزان آنتوسیانین تحت تیمار با پروپیل ایزوتیوسیانات در مقایسه با گیاهچه‌های شاهد مشاهده شد. **تأثیر ایزوتیوسیانات‌ها بر میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز**

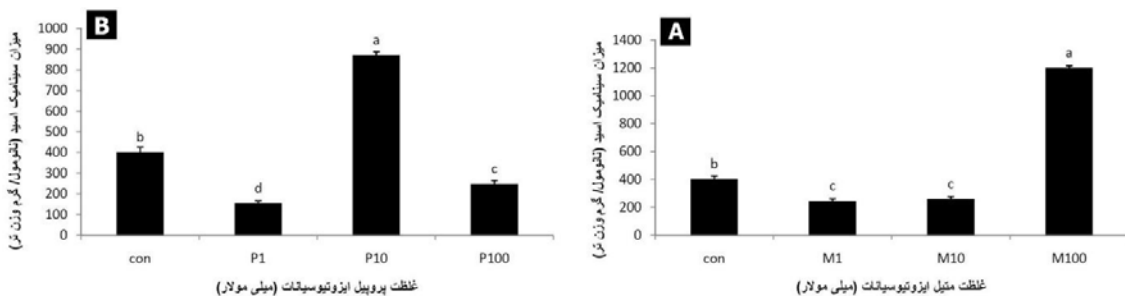
در بررسی تأثیر متیل ایزوتیوسیانات غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار، میزان سینامیک اسید به میزان ۳ برابر نسبت به



شکل ۳- A) تأثیر متیل ایزوتیوسیانات و B) پروپیل ایزوتیوسیانات بر محتوای ترکیبات فنولیک کل در گیاهچه‌های کلزا. مقادیر میانگین \pm تکرار \pm خطای استاندارد (SE) است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن ($P < 0.05$) است.



شکل ۴- A) تأثیر متیل ایزوتیوسیانات و B) پروپیل ایزوتیوسیانات بر میزان آنتوسیانین در گیاهچه‌های کلزا. مقادیر میانگین \pm تکرار \pm خطای استاندارد (SE) است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن ($P < 0.05$) است.



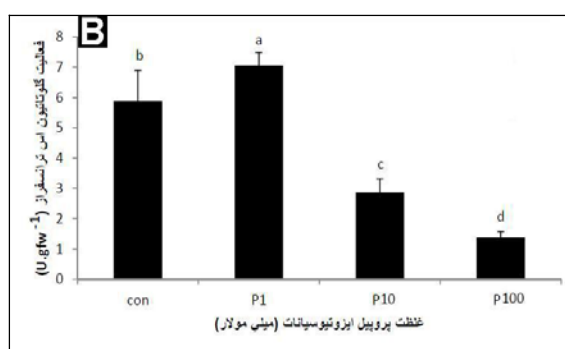
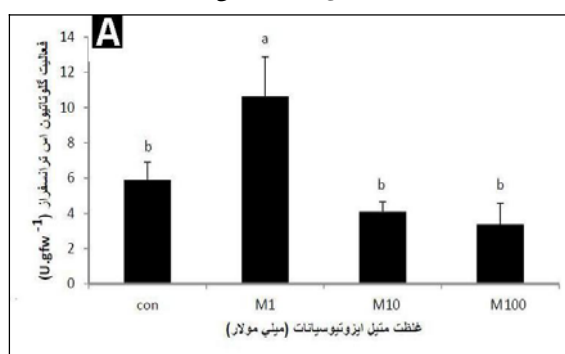
شکل ۵- A) تأثیر متیل ایزوتیوسیانات و B) پروپیل ایزوتیوسیانات بر میزان سینامیک اسید در گیاهچه‌های کلزا. مقادیر میانگین \pm تکرار \pm خطای استاندارد (SE) است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن ($P < 0.05$) است.

بحث

نتایج این بررسی پیشنهاد می‌کند که ایزوتیوسیانات‌ها پاسخ‌های مشابه انفجار اکسیداتیوی شامل نشت الکتریکی غشا و تجمع پراکسید هیدروژن را باعث می‌شوند. در بین دو نوع ایزوتیوسیانات به کار رفته، پروپیل ایزوتیوسیانات پاسخ‌های شدیدتری در مقایسه با متیل ایزوتیوسیانات با توجه به آثار سفید شدن برگ‌ها نشان داده است. متیل و پروپیل ایزوتیوسیانات میزان پراکسید هیدروژن را در برگ‌های کلزا نسبت به شاهد افزایش داده‌اند. این نتایج در راستای نتایج Hara و همکاران (۲۰۱۰) است که آلیل، فنتیل و متیل ایزوتیوسیانات میزان پراکسید هیدروژن را در برگ گیاه آراییدوپسیس افزایش می‌دهند (Hara *et al.*, 2010). همچنین، Wang و Chen (۲۰۱۰) نشان دادند که آلیل ایزوتیوسیانات میزان پراکسید هیدروژن را در میوه بلوبری افزایش می‌دهد. آنها نشان دادند که میزان پراکسید هیدروژن در میوه‌های تحت تیمار با آلیل ایزوتیوسیانات ۲۰ درصد بیش از میوه‌های شاهد است. پراکسید هیدروژن در سطوح متوسط به عنوان یک پیامبر ثانویه برای پیام‌رسانی تنش عمل کرده، به فعال شدن مکانیسم‌های متفاوت منجر می‌شود. بنابراین، تولید پراکسید هیدروژن در جریان تنش‌های غیر زیستی به عنوان بخشی از آبخار پیام‌رسانی به کار رفته است که به محافظت در برابر تنش‌ها منجر می‌شود (Hook *et al.*, 1999). بیشترین درصد نشت الکترولیتی غشا در برگ‌های کلزا در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار متیل و پروپیل ایزوتیوسیانات مشاهده شد. Hara و همکاران (۲۰۱۰) نشان داده‌اند که تیمارهای ۱۰۰ میلی‌مولار متیل ایزوتیوسیانات، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار آلیل و فنتیل

تأثیر ایزوتیوسیانات‌ها بر میزان فعالیت آنزیم گلوکاتایون اس-ترانسفراز

نتایج این پژوهش نشان داد که غلظت ۱ میلی‌مولار متیل ایزوتیوسیانات و پروپیل ایزوتیوسیانات میزان فعالیت گلوکاتایون اس-ترانسفراز را در برگ گیاهچه‌های کلزا نسبت به شاهد افزایش داده است. در گیاهچه‌های تیمار شده با متیل ایزوتیوسیانات اختلاف معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم گلوکاتایون اس-ترانسفراز بین شاهد و غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار مشاهده نشد. غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار پروپیل ایزوتیوسیانات فعالیت این آنزیم را نسبت به گیاهچه‌های شاهد کاهش داد (شکل ۶).



شکل ۶- A) تأثیر متیل ایزوتیوسیانات (B) پروپیل ایزوتیوسیانات بر فعالیت آنزیم گلوکاتایون ترانسفراز در گیاهچه‌های کلزا. مقادیر میانگین ۳ تکرار \pm خطای استاندارد (SE) است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن ($P < 0.05$) است.

و کوئرستین بود. آنزیم فنیل آلانین آمونیلیاز نقش مهمی در سنتز ترکیبات فنولیک ایفا می‌کند و در گزارش‌های متعدد ارتباط میان افزایش در بیان و فعالیت آنزیم PAL و افزایش در ترکیبات فنولی در پاسخ به محرکات مختلف نشان داده شده است (Boudet, 2007). بنابراین، به نظر می‌رسد تجمع ترکیبات فنولی در گیاهچه‌های کلزا تیمار شده با غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار متیل و ۱۰ میلی‌مولار پروپیل ایزوتیوسیانات ممکن است مرتبط با تحریک فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلیاز از طریق تنش ایزوتیوسیانات باشد. در بیشتر گیاهان ترکیبات فنولیک موجود در واکوئل ممکن است که به عنوان گوهرمایه برای پراکسیدازهای واکوئلی در سیستم پاکروبی پراکسیداز/ فنولیک/ آسکوربات عمل کرده، که سلول‌های گیاهی را از آسیب اکسیداتیو القا شده توسط تنش به واسطه افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن حفاظت کنند.

در این پژوهش، القا فعالیت آنزیم GST در غلظت‌های پایین ایزوتیوسیانات‌های به کار رفته (یک میلی‌مولار) مشاهده شد. گیاهان، مجهز به پاک‌کننده‌های غیر آنزیمی و آنزیمی ROS برای حفاظت سلول از آسیب اکسیداتیو هستند. علاوه بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شناخته شده نظیر کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آنزیم‌های چرخه گلوکوتایون-آسکوربات اخیراً نقش آنزیم GST در شرایط تنش‌های مختلف در گیاهان گزارش شده است (Brentner *et al.*, 2008; Valentovicova *et al.*, 2009). مشخص شده است که گلوکوتایون اس-ترانسفرازهای گیاهی کانجوگاسیون ایزوتیوسیانات‌ها را کاتالیز می‌کنند (Cummins *et al.*, 1997; Dixon *et al.*, 1998). ایزوتیوسیانات‌ها

ایزوتیوسیانات در صد نشست الکترولیتی را در گیاهچه‌های آراییدوپسیس افزایش می‌دهند. افزایش نشست الکترولیتی غشا ناشی از رادیکال‌های اکسیژن فعال تولید شده در تنش اکسیداتیو است که بر لیپیدهای موجود در غشای سلول و اندامک‌های درون سلولی تأثیر گذاشته، پایداری، تمامیت و پیوستگی غشا را مختل می‌نماید (Horwitz *et al.*, 1998).

طبق نتایج به دست آمده در این بررسی، متیل و پروپیل ایزوتیوسیانات میزان ترکیبات فنولیک را در اندام هوایی گیاهچه‌های کلزا افزایش داده است. آنتی‌اکسیدان‌ها از جمله ترکیبات فنولیک قادر به انجام عملکردهایی نظیر پاکروبی رادیکال‌های آزاد، تجزیه پراکسیدها و از بین بردن اکسیژن‌های یکتایی هستند (Habtemariam, 2003). سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان‌ها در بردارنده صدها مکانیسم و ماده مختلف است که می‌توانند از آسیب سلول و بافت جلوگیری کنند. همچنین، می‌تواند پراکسیداسیون لیپیدها یا دیگر مولکول‌ها را توسط بازداری آغاز یا انتشار اکسیداسیون واکنش‌های زنجیری به تأخیر اندازند یا متوقف کنند. افزایش یا کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها با افزایش یا کاهش سطح میزان ترکیبات فنولیک و آنتوسیانین منطبق است (Harborne 1994). در گزارش Chen و Wang (۲۰۱۰) آمده است که آلایل ایزوتیوسیانات ابتدا سبب افزایش و سپس کاهش میزان ترکیبات فنولیک در میوه بلوبری (در دمای ۱۰ درجه سانتیگراد) شده است. Olsson و همکاران (۱۹۹۸) تأثیر تابش UV-B را بر محتوای فلاونوئیدها در دو رقم زراعی از *Brassica napus* بررسی کردند. نتایج آنها گویای افزایش ۱۵۰ درصدی فلاونوئیدهای محلول گلوکوزیدهای کامفرول

آراییدوپسیس تحت تیمار فنتیل ایزوتیوسیانات (غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ میلی مولار) افزایش می‌یابد. Wagner و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که بنزیل ایزوتیوسیانات باعث افزایش بیان ژن گلو‌تاتیون اس-ترانسفراز در گیاهچه‌های آراییدوپسیس می‌شود.

بنابراین، احتمالاً غلظت‌های متوسط ایزوتیوسیانات (بسته به نوع آن) به کار رفته در پژوهش حاضر، قادر به القا پاسخ‌های مشابه انفجار اکسیداتیو و فعال‌سازی سیستم دفاعی کلزا باشد. به نظر می‌رسد ترکیبات ایزوتیوسیانات نقش مؤثری در القای پاسخ‌های دفاعی دارند که به طور غیر مستقیم با تأثیر بر فعالیت آنزیم‌های PAL و GST موجب افزایش میزان ترکیبات فیل پروپانوییدی در کشت گلخانه‌ای کلزا می‌شوند.

گوهرمایه فیزیولوژیک گلو‌تاتیون اس-ترانسفرازهای گیاهی محسوب می‌شوند. افزایش درصد نشت و تجمع پراکسید هیدروژن، وجود تنش اکسیداتیو در گیاهچه‌های کلزا تحت تیمار ایزوتیوسیانات‌ها را نشان می‌دهد. پراکسید هیدروژن فعال‌کننده قوی پروموتور گلو‌تاتیون ترانسفراز است (Ezaki *et al.*, 2004)، بنابراین، این آنزیم در شرایط مختلف تنش از جمله ایزوتیوسیانات فرا تنظیم می‌شود. ممکن است غلظت‌های زیاد متیل و پروپیل ایزوتیوسیانات یا از طریق مهار و یا غیرفعال کردن آنزیم GST و فروتنظیمی آن اثر متضاد روی فعالیت این آنزیم دفاعی مشخص داشته باشند. Hara و همکاران (۲۰۱۰) نشان داده‌اند که میزان بیان چهار ژن گلو‌تاتیون اس-ترانسفراز در گیاهچه‌های

منابع

- Abell, C. W. and Shen, R. S. (1987) Phenylalanine ammonia-lyase from the yeast *Rhodotorula glutinis*. *Methods in Enzymology* 142: 242-253.
- Al-Barrak, K. M. (2006) Irrigation interval and nitrogen level effects on growth and yield of canola (*Brassica napus* L.). *Scientific Journal of King Faisal University (Basic and Applied Sciences)* 7: 87-103.
- Bonfill, M., Palazón, J., Cusidó, R. M., Joly, S., Morales, C. And Pinol, M. T. (2003) Influence of elicitors on taxane production and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity in *Taxus × media* cells. *Developments in Biological Plant* 41: 91-96.
- Boudet, A. M. (2007) Evolution and current status of research in phenolic compounds. *Phytochemistry* 68: 2722-2735.
- Brentner, L. B., Mukherji, S. T., Merchie, K. M., Yoon, J. M., Schnoor, J. L. and Aken, B. V. (2008) Expression of glutathione S-transferases in poplar trees (*Populus trichocarpa*) exposed to 2, 4, 6-trinitrotoluene (TNT). *Chemosphere* 73: 657-662.
- Carmagnol, F., Sinet, P. M., Rapin, J. and Jerome, H. (1981) Glutathione-S-transferase of human red blood cells; assay, values in normal subjects and in two pathological circumstances: hyperbilirubinemia and impaired renal function. *Clinica Chimica Acta* 117: 209-217.
- Chun, O. K., Kim, D. O. and Lee, C. Y. (2003) Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 8067-8072.
- Cummins, I., Cole, D. J. and Edwards, R. (1997) Purification of multiple glutathione transferases involved in herbicide detoxification from Wheat (*Triticum aestivum* L.) treated with the safener fenchlorazole-ethyl. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 59: 35-49.
- Dixon, D. P., Cole, D. J. and Edwards, R. (1998) Purification, regulation and cloning

- of a glutathione transferase (GST) from maize resembling the auxin-inducible type-III GSTs. *Plant Molecular Biology* 36: 75-87.
- Ezaki, B., Suzuki, M., Motoda, H., Kawamura, M., Nakashima, S. and Matsumoto, H. (2004) Mechanism of gene expression of *Arabidopsis* glutathione S-transferase, AtGST1, and AtGST11 in response to aluminum stress. *Plant Physiology* 134: 1672-1682.
- Habtemariam, S. (2003) Cytotoxic and cytostatic activity of erlangerins from *Commiphora erlangeriana*. *Toxicol* 41: 723-727.
- Hara, M., Yatsuzuka, Y., Tabata, K. and Kuboi, T. (2010) Exogenously applied isothiocyanates enhance glutathione S-transferase expression in *Arabidopsis* but act as herbicides at higher concentrations. *Journal of Plant Physiology* 167: 643-649.
- Harborne, J. B. (1994) *The flavonoids: advances in research since 1986*. Chapman and Hall, London.
- Hayes, J. D. and Pulford, D. J. (1995) The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance part II. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 30: 521-600.
- Hook, I., Poupateb, Ch., Ahond, A., Gueanard, D., Gueritte, F., Adeline, M. T., Wang, X. P., Dempsey, D., Breuillet, S. and Potie, P. (1999) Seasonal variation of neutral and basic taxoid contents in shoots of European Yew (*Taxus baccata*). *Phytochemistry* 52: 1041-1045.
- Horwitz, S. B., Lothstein, L., Manfredi, J. J., Mellado, W., Parness, J., Roy, S. N., Schiff, P. B., Sorbara, L., and Zeheb, R. (1998) Taxol: mechanisms of action and resistance. *Annals New York Academy of Sciences* 466: 733-744.
- Khokon, M., Jahan, M. D. S., Rahman, T., Hossain, M. A., Muroyama, D., Minami, I., Munemasa, S., Mori, I. C., Nakamura, Y. and Murata, Y. (2011) Allyl isothiocyanate (AITC) induces stomatal closure in *Arabidopsis*. *Plant, Cell and Environment* 34: 1900-1906.
- Olsson, L., Veit, M., Weissenböck, G. and Bornman, J. (1998) Differential flavonoid response to enhanced UV-B radiation in *Brassica napus*. *Phytochemistry* 49: 1021-1028.
- Schröder, P. (2000) Metabolism of Organic Xenobiotics in Plants: Conjugating Enzymes and Metabolic Endpoints. In: *Intercost Workshop on Bioremediation, Italy*.
- Singleton, V. L. and Rossi, J. A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158.
- Thordal-Christensen, H., Zhang, Z., Wei, Y. and Collinge, D. B. (1997) Subcellular localization of H₂O₂ in plants. H₂O₂ accumulation in papillae and hypersensitive response during the barley-powdery mildew interaction. *The Plant Journal* 11: 1187-1194.
- Valentovicova, K., Huttova, J., Mistrík, I. and Tamas, L. (2009) Effect of abiotic stresses on glutathione peroxidase and glutathione S-transferase activity in barley root tips. *Plant Physiology and Biochemistry* 47: 1069-1074.
- Wada, L. and Ou, B. (2002) Antioxidant activity and phenolic content of Oregon canberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 3495-3500.
- Wagner, U., Edwards, R., Dixon, D. P. and Mauch, F. (2002) Probing the diversity of the *Arabidopsis* glutathione S-transferase gene family. *Plant Molecular Biology* 49: 515-532.
- Wang, S. Y. and Chen, C. T. (2010) Effect of allyl isothiocyanate on antioxidant enzyme activities, flavonoids and post-harvest fruit quality of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L. cv. Duke). *Food Chemistry* 122: 1153-1158.
- Wang, S. Y. and Lin, H. S. (2000) Antioxidant

activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 140-146.

Yan, X. and Chen, S. (2007) Regulation of plant glucosinolate metabolism. *Planta* 226: 1343-1352.

مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره متانولی سه گونه از جنس *Trigonella* L. از ایران

رؤیا کرمان*، مصطفی اسدبگی و زهرا حاج‌مرادی
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

چکیده

جنس *Trigonella* L. یکی از جنس‌های مهم تیره Fabaceae است که اغلب گونه‌های آن ارزش غذایی و دارویی دارند. در این بررسی، فعالیت پاد اکسایشی (آنتی‌اکسیدانی) عصاره‌های متانولی سه گونه از این جنس (*T. disperma*، *T. subenervis* و *T. teheranica*) به روش مهار رادیکال آزاد DPPH ارزیابی شد. محتوای فنل و فلاونوئید کل به ترتیب به روش‌های فولن-سیوکالتو و کلرید آلومینیوم اندازه‌گیری شد. همچنین، فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های متانولی به روش انتشار دیسک در برابر شش سویه باکتری گرم مثبت و منفی مطالعه و مقایسه شد. نتایج نشان داد که محتوای فنل کل در سه گونه مطالعه شده از 0.28 ± 8 تا 1.4 ± 22.2 میلی‌گرم بر گرم وزن خشک و محتوای فلاونوئید کل از 0.33 ± 5.23 تا 1.2 ± 10.48 میلی‌گرم بر گرم وزن خشک متغیر است. به علاوه، عصاره‌های گونه‌های مطالعه شده فعالیت آنتی‌اکسیدانی در خور توجهی نشان دادند. با وجود این، تفاوت معنی‌داری میان مقادیر غلظت مهار بیشینه IC_{50} آنها مشاهده نشد. بیشترین فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH در گونه *T. subenervis* با مقدار IC_{50} معادل 0.06 ± 0.123 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. گونه‌های مطالعه شده به ویژه *T. teheranica* فعالیت ضد میکروبی خوبی در برابر باکتری‌های مورد مطالعه نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فعالیت ضد میکروبی، فلاونوئید، فنل، *Trigonella* L.

مقدمه

تغذیه‌ای دارند. *T. foenum-graecum* یکی از گونه‌های معروف این جنس است که معمولاً به عنوان سبزی کشت می‌شود. این گونه دارای ویژگی گرم‌کشی در برابر نماتودهاست و در طب سنتی هند به عنوان ماده تب‌بر و مدرّ و نیز برای درمان ورم،

جنس شبلیله (*Trigonella* L.) متعلق به تیره بزرگ باقلانیان (Fabaceae) متشکل از حدود ۶۵۰ جنس و ۱۸۰۰۰ گونه در دنیا است (Rakhee et al., 2004). گونه‌های مختلف این جنس مصارف دارویی و

در داروسازی، پزشکی و درمان‌های طبیعی است (Abiy et al., 2005).

تنوع گسترده‌ای از مولکول‌های آنتی‌اکسیدانی مانند ترکیبات فنلی (اسیدهای فنلی، فلاونوئیدها، کوئینون‌ها و تانن‌ها)، توکوفرول‌ها، کاروتنوئیدها و آسکوربیک اسید در گیاهان حضور دارند. این آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در بخش‌های مختلف گیاه مانند چوب، پوست، ساقه، میوه، برگ، ریشه، گل، دانه‌گرده و بذر توزیع شده‌اند (Chanwitheesuk et al., 2005). ترکیبات فنلی آنتی‌اکسیدانی ممکن است به عنوان اجزای مهارکننده رادیکال‌های آزاد یا کلات‌کننده یون‌های فلزی فعال در واکنش‌های احیا که قادر به کاتالیز پراکسیداسیون لیپیدها هستند، به کار روند (Schroeter et al., 2002). این ترکیبات در کموتاکسونومی نیز کاربرد وسیعی دارند. فلاونوئیدها مهم‌ترین ترکیبات فنلی از نظر تاکسونومیکی هستند که واجد هسته مشترک با تنوع وسیعی از گروه‌های جانبی هستند. در گونه‌های گیاهی مختلف تنوع چشمگیری از فلاونوئیدها مشاهده می‌شود. باقلائیان، فلاونوئیدهایی مانند ایزوفلاونوئیدها و ۵-داکسی ایزوفلاونوئیدها با ساختار شیمیایی ویژه تولید می‌کنند. این فلاونوئیدها به عنوان ترکیبات دفاعی در برابر میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا و یا سیگنال‌های شیمیایی در هم‌زیستی برای تثبیت ازت نقش مهمی ایفا می‌کنند. از سوی دیگر، به عنوان ترکیبات غذایی و علوفه‌ای اهمیت زیستی فراوانی برای انسان و دام دارند (Aoki et al., 2000).

اغلب مطالعاتی که تاکنون در جنس *Trigonella* پیرامون شناسایی ترکیبات شیمیایی، خواص دارویی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها صورت گرفته است، روی

بیماری‌های قلبی، گرفتگی عروق و بزرگ‌شدگی طحال و کبد به کار می‌رود. از این گونه همچنین، به عنوان عامل ضد دیابت و پایین آورنده گلوکز و کلسترول خون نیز به طور گسترده استفاده می‌شود (Dangi et al., 2004). گونه دیگری از این جنس است که از دانه‌رست‌های جوان آن به عنوان غذا و نیز در صنعت تهیه پنیر استفاده می‌شود (Grossheim, 1945). *T. elliptica* یا شنبلیله شیرازی از بقولات انحصاری و بسیار ارزشمند مرتعی در ایران است که با پراکندگی نسبتاً زیاد، به صورت گونه همراه در ترکیب گیاهی موجود در تیپ‌های مرتعی عرصه‌های کوهستانی دیده می‌شود (مقیمی، ۱۳۸۴).

رادیکال‌های آزاد باعث ایجاد بیش از صد گونه بیماری در انسان مانند آترواسکلروزیز، دیابت، آرتریت، کم‌خونی، صدمات جبران‌ناپذیر بافتی، آسیب به سیستم عصبی مرکزی، گاستریت و سرطان می‌شوند (Kumpulainen and Cook and Samman, 1996). (Valko et al., 2004; Salonen, 1999). فرآیند اکسیداسیون، عامل اصلی تولید رادیکال‌های آزاد در مواد غذایی، داروها و موجودات زنده است (Halliwell, 2000). عدم توازن بین تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی می‌تواند باعث آسیب به ماکرومولکول‌های زیستی مهم مانند لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک شود (Poulson et al., 1998). در حال حاضر، آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در غذاها و گیاهان توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند، زیرا دارای آثار جانبی کمتری هستند (Maxwell, 1995). فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی اساس کاربرد وسیع آنها

این گونه‌ها، گیاهانی چندساله و انحصاری ایران بوده، متعلق به بخش *Ellipticae* هستند.

مواد و روش‌ها مواد گیاهی

گونه‌های مطالعه شده از زیستگاه‌های طبیعی خود جمع‌آوری شده، در هرباریوم دانشگاه بوعلی سینا (BASU) نگهداری شده‌اند که مشخصات آنها در جدول ۱ مشاهده می‌شود.

گونه خوراکی *T. foenuem-greacum* متمرکز است (Girardon et al., 1985؛ Sood, 1975)؛ (Girardon et al., 1989؛ Ahmadiani et al., 2004؛ al., 1989). همچنین، اجزا مختلف تشکیل دهنده اسانس گونه *T. disperma* بررسی و با اجزا اسانس گونه *T. foenuem-greacum* مقایسه شد (Ranjbar et al., 2009). در این مطالعه، برای نخستین بار محتوای فنل و فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی سه گونه *T. disperma*، *T. teheranica* و *T. subenervis* بررسی شده است.

جدول ۱- مشخصات سه گونه مطالعه شده از جنس *Trigonella*

شماره هرباریومی	ارتفاع (متر)	تاریخ جمع‌آوری	جمع‌آوری کننده	محل جمع‌آوری	گونه مطالعه شده
BASU14486	۱۷۳۲	۳/۸/۱۳۸۷	رنجبر و حاج‌مرادی	قزوین: آوج به آبگرم، آبگرم	<i>T. disperma</i>
BASU29401	۱۵۶۰	۱۳۸۶/۳/۹	رنجبر و حاج‌مرادی	تهران: تهران به هراز، ۲۰ کیلومتر به بومهن	<i>T. teheranica</i>
BASU27614	۱۶۲۰	۱۳۸۶/۳/۱۴	رنجبر و حاج‌مرادی	خراسان: کاشمر به نیشابور، کوه سرخ، قبل از ریوش	<i>T. subenervis</i>

شرایط خلأ توسط دستگاه روتاری Lab Tech مدل Ev311 خارج و سپس خشک شد.

تعیین محتوای فنل کل

محتوای فنل کل در عصاره‌ها توسط شناساگر فولین-سیو کالتئو (Folin-Ciocalteu) سنجش شد. بدین منظور ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره رقیق شده (۰/۵) میلی‌لیتر از عصاره (۱:۱۰) از هر عصاره گیاهی یا گالیک اسید (استاندارد فنل) با ۵ میلی‌لیتر شناساگر فولین-سیو کالتئو مخلوط شد. سپس ۴ میلی‌لیتر کربنات سدیم یک مولار به مخلوط اضافه و در دمای اتاق به مدت ۱۵ دقیقه نگهداری شد. سپس، جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر Perkin Elmer مدل

مواد شیمیایی

همه مواد شیمیایی و حلال‌های استفاده شده در این پژوهش از شرکت مرک (آلمان) و ۱۰۱-دی فنیل ۲-پیکریل هیدرازیل (DPPH) از شرکت سیگما (آمریکا) با درصد خلوص بالا تهیه شده است.

روش عصاره‌گیری

گونه‌های مطالعه از زیستگاه‌های طبیعی خود جمع‌آوری شده، پس از خشک شدن در دمای اتاق تا زمان استفاده در ظرف‌های دربسته و دور از نور نگهداری شدند. برای تهیه عصاره، ۲۵ گرم پودر گیاه خشک شده از هر گونه با ۲۵۰ میلی‌لیتر متانول به وسیله سوکسله عصاره‌گیری شد. سپس، حلال عصاره‌ها تحت

اسپکتروفتومتر Perkin Elmer مدل UV/Visible Lambda 45 اندازه‌گیری شد و از آسکوربیک اسید به عنوان شاهد استاندارد استفاده شد. سپس، IC_{50} عصاره‌ها و آسکوربیک اسید محاسبه شد. نمونه‌ها در سه تکرار بررسی شدند. درصد فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH هر عصاره با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$DPPH=100[1-(A_S-A_B/A_C)]$$

سویه‌های باکتری مورد مطالعه

باکتری‌های مطالعه شده عبارتند از: *Proteus*، *Bacillus megaterium vulgaris* (PTCC 1079)، *Serratia marcescens* (PTCC 1017)، *Staphylococcus*، *Eshershia coli* (Wild) 1111، *Bacillus cereus* (PTCC 1247) و *aureus* (Wild)

ارزیابی فعالیت ضد میکروبی

برای تعیین حساسیت سویه‌های باکتری نسبت به عصاره متانولی گیاهان مورد مطالعه از روش انتشار دیسک استفاده شد (Awoyinka et al., 2007). بدین منظور، ابتدا از همه سویه‌های باکتری، سوسپانسیون معادل نیم مک فارلند ($10^8 \times 1/5$) تهیه شد. سپس، با ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تهیه شده بر سطح محیط مولر هیتون آگار، کشت یکنواخت انجام شد. پس از آن، دیسک‌های بلانک استریل (ساخت ایران، شرکت پادتن طب) در غلظت‌های مختلف عصاره متانولی (۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) غوطه‌ور شد و در نهایت، دیسک‌های تهیه شده با فاصله معین از یکدیگر و از لبه پللیت روی سطح

UV/Visible Lambda 45 در طول موج ۷۶۵ نانومتر ثبت شد. محتوای فنل کل در عصاره‌های مطالعه شده به صورت معادل میلی‌گرم گالیک اسید (GAE) بر گرم وزن خشک ارایه شد. نمونه‌ها در سه تکرار بررسی شدند (McDonald et al., 2001).

تعیین محتوای فلاونوئید کل

سنجش محتوای فلاونوئید کل به روش کلرید آلومینیوم انجام شد. بدین منظور ۰/۵ میلی‌لیتر از هر عصاره (۱:۱۰ g/ml) با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. سپس، جذب مخلوط واکنشی در ۴۱۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر Perkin Elmer مدل UV/Visible Lambda 45 ثبت شد. مقدار فلاونوئید کل عصاره‌ها به صورت معادل میلی‌گرم کوئرستین (QE) بر گرم وزن خشک بیان شد. نمونه‌ها در سه تکرار بررسی شدند (McDonald et al., 2001).

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با بررسی فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره گیاهان مورد مطالعه سنجش شد (Stojicevic et al., 2008). بدین منظور، محلول متانولی از هر عصاره در غلظت‌های مختلف ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تهیه شد. سپس، ۲/۵ میلی‌لیتر از هر عصاره با یک میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH با غلظت $10^{-4} \times 3/0$ مولار مخلوط و پس از بهم زدن شدید به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی نگهداری شد. سپس، جذب مخلوط واکنشی در ۵۱۷ نانومتر توسط

فلاونوئید کل در دو گونه *T. subenervis* و *T. teheranica* تفاوت معنی داری نشان نمی‌دهد. جدول ۲- محتوای فنل و فلاونوئید کل در سه گونه *Trigonella*. مقادیر، میانگین ۳ تکرار \pm SD است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح $P \leq 0.05$ است.

گونه	محتوای فلاونوئید کل (mg/g)	محتوای فنل کل (mg/g)
<i>T. disperma</i>	۵/۲۳ \pm ۰/۳۳ ^a	۸ \pm ۰/۲۸ ^a
<i>T. subenervis</i>	۱۰/۴۸ \pm ۱/۲ ^b	۲۲/۲ \pm ۱/۴ ^b
<i>T. teheranica</i>	۹/۱۷ \pm ۰/۱۶ ^b	۲۱/۳۶ \pm ۰/۹ ^b

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی

نتایج حاصل از بررسی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره سه گونه مطالعه شده با روش پتانسیل مهارکنندگی رادیکال DPPH در شکل‌های ۱ و ۲ و جدول ۳ ارائه شده است. هر سه گونه فعالیت آنتی‌اکسیدانی درخور توجهی را نشان می‌دهند، با وجود این، تفاوت معنی داری میان مقادیر IC_{50} آنها مشاهده نمی‌شود.

ارزیابی فعالیت ضد میکروبی

نتایج مربوط به ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره سه گونه *T. disperma*، *T. subenervis* و *T. teheranica* در برابر شش سویه باکتری گرم مثبت و منفی، به ترتیب در جدول‌های ۴ تا ۶ ارائه شده است. عصاره حاصل از گونه *T. disperma* در برابر باکتری‌های *Bacillus megaterium*، *Staphylococcus aureus* و *Serratia marcescens* و به ویژه *Proteus vulgaris* مؤثر بوده است. غلظت‌های مهارکننده حاصل بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در عصاره متانولی حل شده در محلول DMSO در جدول‌های ۴ تا ۶ ارائه شده است. عصاره گونه

آگار قرار داده شدند. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری و سپس قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌های حاوی عصاره اندازه‌گیری شد. قطر هاله ۷ میلی‌متری به عنوان مقاوم در نظر گرفته شد. همچنین، از دیسک حاوی DMSO (رقیق‌کننده عصاره‌ها) به عنوان شاهد منفی و از دیسک حاوی ۳۰ میکروگرم جنتامایسین و پنی‌سیلین به عنوان شاهد مثبت استفاده شد. برای اطمینان، این آزمایش برای هر سویه باکتری سه بار تکرار شد و میانگین قطر هاله‌ها در سه تکرار به عنوان قطر نهایی ثبت شد.

تحلیل داده‌ها

همه آزمایش‌ها در قالب سه تکرار انجام شد. داده‌های حاصل از هر آزمایش با نرم‌افزارهای Excel و SPSS نسخه ۱۲/۰ تحلیل شد. سپس، مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح $P < 0.05$ انجام شد. نتایج حاصل از این بررسی به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شد.

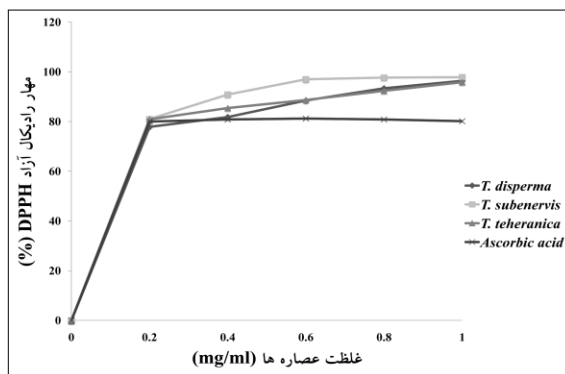
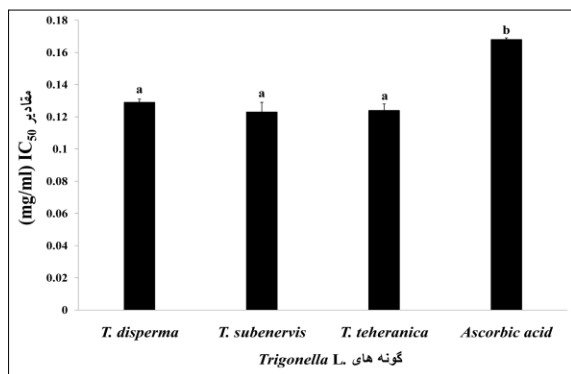
نتایج

تعیین محتوای فنل و فلاونوئید کل

نتایج حاصل از سنجش محتوای فنل کل با معرف فولین-سیوکالتو نشان می‌دهد که محتوای فنل کل در نمونه‌ها بین ۸ تا ۲۲/۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک متغیر است. گونه *T. subenervis* با مقدار ۲۲/۲، بیشترین و گونه *T. disperma* با مقدار ۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک کم‌ترین محتوای فنل را نشان داد (جدول ۲). همچنین، گونه *T. subenervis* بیشترین (۱۰/۴۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و گونه *T. disperma* کمترین (۵/۲۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) محتوای فلاونوئید کل را داراست (جدول ۲). محتوای فنل و

باکتری‌های *Basillus proteus vulgaris*، *Eshershia Serratia marcescens*، *Bacillus coli* و *Staphylococcus aureus* و به ویژه *Bacillus cereus* مؤثر بوده است.

T. subenervis بر روی باکتری‌های *Eshershia coli* و *Bacillus cereus*، *Proteus vulgaris* و *Saphylococcus aureus* و به ویژه *Serratia marcescens* و عصاره گونه *T. teheranica* بر روی



شکل ۲- مقایسه مقادیر IC_{50} عصاره سه گونه *Trigonella* در مقایسه با آسکوربیک اسید. مقادیر، میانگین ۳ تکرار $\pm SD$ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح $P \leq 0.05$ است.

شکل ۱- مقایسه فعالیت مهار رادیکال DPPH توسط عصاره سه گونه *Trigonella*.

جدول ۳- درصد فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH توسط عصاره سه گونه *Trigonella*. مقادیر، میانگین ۳ تکرار $\pm SD$ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار برای میانگین‌ها و مقادیر IC_{50} در هر ستون و در مورد غلظت‌های مختلف در هر سطر در سطح $P \leq 0.05$ است.

IC_{50}	میانگین	غلظت (mg/ml)					گونه
		۱	۰/۸	۰/۶	۰/۴	۰/۲	
0.129 ± 0.002^a	$87/54^b$	$96/38 \pm 1/5^b$	$93/38 \pm 2/8^b$	$88/48 \pm 1/2^b$	$81/80 \pm 2/2^a$	$77/66 \pm 1/8^a$	<i>T. disperma</i>
0.123 ± 0.006^a	$92/87^c$	$83/97 \pm 2/2^c$	$97/69 \pm 1/2^c$	$97/00 \pm 0/9^c$	$90/86 \pm 2/8^b$	$81/00 \pm 3/3^a$	<i>T. subenervis</i>
0.124 ± 0.004^a	$88/63^b$	$95/82 \pm 2/9^b$	$92/35 \pm 2/2^b$	$88/67 \pm 1/7^{ab}$	$85/41 \pm 0/8^a$	$80/90 \pm 2/8^a$	<i>T. teheranica</i>
0.168 ± 0.001^b	$80/61^a$	$80/16 \pm 1/1^a$	$80/84 \pm 0/6^a$	$81/21 \pm 1/7^a$	$80/84 \pm 1/5^a$	$80/00 \pm 3/4^a$	<i>Ascorbic acid</i>

جدول ۴- فعالیت ضد میکروبی عصاره *T. disperma* در برابر شش سویه باکتری گرم مثبت و منفی. مقادیر، میانگین ۳ تکرار $\pm SD$ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح $P \leq 0.05$ است. na=غیرفعال در برابر باکتری مطالعه شده.

سویه باکتری					
۱۰۰	۵۰	۲۵	۱۲/۵	شاهد منفی (DMSO)	
$10 \pm 0/33^c$	$9 \pm 0/18^b$	$7 \pm 0/00^a$	na	na	<i>Proteus vulgaris</i>
na	na	na	na	na	<i>Eshershia coli</i>
$8 \pm 0/12$	na	na	na	na	<i>Bacillus cereus</i>
$8 \pm 0/00^b$	$7 \pm 0/18^a$	na	na	na	<i>Staphylococcus aureus</i>
$7 \pm 0/14$	na	na	na	na	<i>Bacillus megaterium</i>
$7 \pm 0/00$	na	na	na	na	<i>Serratia marcescens</i>

جدول ۵- فعالیت ضد میکروبی عصاره *T. subenervis* در برابر شش سویه باکتری گرم مثبت و منفی. مقادیر، میانگین \pm تکرار ۳ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح $P \leq 0.05$ است. na=غیرفعال در برابر باکتری مطالعه شده.

ناحیه ممانعت بر حسب (mm) در غلظت‌های مختلف عصاره (mg/ml)					سویه باکتری
۱۰۰	۵۰	۲۵	۱۲/۵	شاهد منفی (DMSO)	
۱۰±۰/۲۴ ^b	۸±۰/۲۶ ^a	na	na	na	<i>Proteus vulgaris</i>
۷±۰/۰۰	na	na	na	na	<i>Eshershia coli</i>
۸±۰/۱۶ ^b	۷±۰/۱۲ ^a	na	na	na	<i>Bacillus cereus</i>
۸±۰/۲۸	na	na	na	na	<i>Staphylococcus aureus</i>
na	na	na	na	na	<i>Bacillus megaterium</i>
۱۲±۰/۳۴ ^c	۱۰±۰/۱۸ ^b	۸±۰/۰۰ ^a	na	na	<i>Serratia marcescens</i>

جدول ۶- فعالیت ضد میکروبی عصاره *T. teheranica* در برابر شش سویه باکتری گرم مثبت و منفی. مقادیر، میانگین \pm تکرار ۳ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح $P \leq 0.05$ است. na=غیرفعال در برابر باکتری مطالعه شده.

ناحیه ممانعت بر حسب (mm) در غلظت‌های مختلف عصاره (mg/ml)					سویه باکتری
۱۰۰	۵۰	۲۵	۱۲/۵	شاهد منفی (DMSO)	
۱۰±۰/۳۳ ^b	۸±۰/۰۰ ^a	na	na	na	<i>Proteus vulgaris</i>
۹±۰/۳۳ ^b	۷±۰/۱۵ ^a	na	na	na	<i>Eshershia coli</i>
۱۵±۰/۴۵ ^d	۱۲±۰/۱۸ ^c	۱۰±۰/۲۴ ^b	۷±۰/۱۴ ^a	na	<i>Bacillus cereus</i>
۸±۰/۲۴ ^b	۷±۰/۰۰ ^a	na	na	na	<i>Staphylococcus aureus</i>
۱۱±۰/۲۸ ^d	۱۰±۰/۳۴ ^c	۸±۰/۲۲ ^b	۷±۰/۱۱ ^a	na	<i>Bacillus megaterium</i>
۹±۰/۱۶ ^c	۸±۰/۲۴ ^b	۷±۰/۰۰ ^a	na	na	<i>Serratia marcescens</i>

بحث

داده‌اند که فعالیت زیستی این ترکیبات با فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی آنها در ارتباط است (Gryglewski *et al.*, 1987). فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان اغلب با در نظر گرفتن محتوای ترکیبات فنلی آنها ارزیابی می‌شود (Wojdyło *et al.*, 1992؛ Shahidi *et al.*, 2007). Lapornik و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که متانول، حلالی مؤثر برای تخریب دیواره سلولی و آزادسازی ترکیبات فنلی از سلول است و آنزیم پلی فنل اکسیداز مخرب پلی فنل‌ها، در این محیط خنثی می‌شود. بنابراین، عصاره متانولی گیاهان بیشترین پتانسیل مهارکنندگی رادیکال DPPH را در مقایسه با بسیاری از حلال‌ها دارد (Miliauskasa *et al.*, 2004).

اغلب مطالعاتی که تاکنون پیرامون ترکیبات شیمیایی، خواص دارویی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در جنس *Trigonella L.* انجام شده است، بر روی گونه خوراکی *T. foenuem-greacum* متمرکز بوده است. در این مطالعه، محتوای فنل و فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و نیز فعالیت ضد میکروبی سه گونه *T. subenervis*، *T. teheranica*، *T. disperma* بررسی شد. ترکیبات فنلی با ویژگی مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد، ممانعت از فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو و هیدرولیتیک و نیز فعالیت ضد التهابی شناخته شده‌اند (Frankel, 1995). برخی شواهد نشان

تحقیقات جامع‌تر در زمینه گیاهان دارویی را نشان داده، افزایش روزافزون مقالات منتشر شده در زمینه خواص ضد میکروبی گیاهان را توجیه می‌کند (Cecchini, 1995). گونه‌های مطالعه شده به ویژه گونه *T. teheranica* خاصیت ضد میکروبی خوبی در برابر برخی از باکتری‌های مطالعه شده نشان دادند. تفاوت در محتوای ترکیبات مؤثر و فعالیت‌های زیستی عصاره‌های گیاهی به تفاوت‌های گونه‌ای و شرایط اقلیمی حاکم بر مکان جمع‌آوری آنها مربوط می‌شود. بررسی خواص ضد میکروبی با مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری را در رقت‌های به کار برده شده از عصاره برای هر باکتری نشان داد که گویای آن است که با افزایش غلظت ماده مؤثر در عصاره، ممانعت از رشد باکتری نیز افزایش می‌یابد. به هر حال، کاربرد بالینی گیاهان مطالعه شده نیازمند مطالعات بیشتر و وسیع‌تر است و در صورت موفقیت‌آمیز بودن و استاندارد نمودن نتایج حاصل می‌توان از این گیاهان به عنوان جایگزینی برای داروهای آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی کم اثر فعلی استفاده نمود.

جمع‌بندی

نتایج بررسی حاضر نشان می‌دهد که عصاره سه گونه *Trigonella L.* مطالعه شده دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی درخور توجهی هستند. در صورت انجام مطالعات تکمیلی و بررسی آثار جانبی و نیز بهینه‌سازی کاربرد عصاره گونه‌های مطالعه شده می‌توان از این عصاره‌ها در صنایع غذایی و داروسازی استفاده کرد.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای ترکیبات فنلی در گونه‌های مطالعه شده رابطه مستقیمی وجود دارد و با افزایش محتوای ترکیبات فنلی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابد. این ترکیبات می‌توانند مسؤوول فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراج شده باشند. رابطه خطی میان محتوای ترکیبات فنلی و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی در بسیاری از گونه‌های گیاهی گزارش شده است (Al-Mustafa et al., 2008). مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن نشان می‌دهد که پتانسیل مهارکنندگی رادیکال DPPH توسط رقت‌های مختلف عصاره حاصل از دو گونه *T. disperma* و *T. subnervis* اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد نشان می‌دهد که با افزایش غلظت ماده مؤثر عصاره در دو گونه فوق، توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH نیز افزایش می‌یابد. ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد گونه‌های مطالعه شده فعالیت آنتی‌اکسیدانی درخور توجهی نشان می‌دهند، با وجود این، تفاوت معنی‌داری میان مقادیر IC_{50} آنها مشاهده نمی‌شود. هر سه گونه فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری در مقایسه با آسکوربیک اسید به عنوان شاهد مثبت نشان می‌دهند. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که قادرند از اکسیداسیون لیپیدها یا مولکول‌های دیگر توسط جلوگیری از آغاز یا گسترش زنجیره واکنش اکسیداتیو ممانعت کرده، یا آن را به تأخیر بیاورند (McCall and Frei, 1999). گیاهانی که خواص ضد میکروبی دارند، با مکانیسم‌های مختلف از آنتی‌بیوتیک‌ها برای مهار رشد باکتری‌ها استفاده می‌کنند و این امر لزوم

سپاسگزاری

نگارندگان، از همکاری کارشناسان آزمایشگاه‌های فیزیولوژی گیاهی و میکروبی‌شناسی گروه زیست‌شناسی دانشگاه بوعلی سینا قدردانی می‌کنند.

همچنین، ترکیبات موجود در عصاره سه گونه مطالعه شده در این تحقیق می‌توانند در آینده به عنوان منابعی امیدبخش برای تولید آنتی‌بیوتیک‌ها و مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی طبیعی با اثربخشی بیشتر باشند.

منابع

مقیم، ج. (۱۳۸۴) معرفی برخی گونه‌های مهم مرتعی. انتشارات آرون. تهران.

- Abiy, Y., Solomon, D., Jacob, O. M., Christine, C. B., Matthias, H. and Martin, G. P. (2005) Antimicrobial flavonoids from the stem bark of *Erythrina burtii*. *Fitoterapia* 96: 496-499.
- Ahmadiani, A., Rustaiyan, A., Karimian, M. and Kamalinejad, M. J. (2004) The leaf oil of *Daniellia ogea* L. *Journal of Essential Oil Research* 16 (4): 282-283.
- Al-Mustafa, A. H. and Al-Thunibat, O. S. (2008) Antioxidant activity of some Jordanian medicinal plants used traditionally for treatment of diabetes. *Pakistan Journal of Biological Science* 11 (3): 351-358.
- Aoki, T., Akashi, T. and Ayabe, S. I. (2000) Flavonoids of leguminous plants: structure, biological activity, and biosynthesis. *Journal of Plant Research* 113 (4): 475-488.
- Awoyinka, O. A., Balogun, I. O. and Ogunnowo, A. A. (2007) Photochemical screening and *in vitro* bioactivity of *Cnidocolus aconitifolius* (Euphorbiaceae). *Journal of Medicinal Plants Research* 1(3): 63-65.
- Cecchini, T. (1995) *Encyclopedie des plantes medicinales*. De Vecchi, Baron.
- Chanwitheesuk, A., Teerawutgularg, A. and Rakariyatham, N. (2005) Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. *Food Chemistry* 92: 491-497.
- Cook, N. C. and Samman, S. (1996) Flavonoids: chemistry, metabolism, cardio protective effects and dietary sources. *Nutritional Biochemistry* 7: 66-76.
- Dangi, R. S., Lagu, M. D., Choudhary, L. B., Ranjekar, P. K. and Gupta, V. S. (2004) Assessment of genetic diversity in *Trigonella foenum-graecum* and *Trigonella caerulea* using ISSR and RAPD markers. *Biomed Central Plant Biology* 4: 13-23.
- Frankel, E. (1995) Nutritional benefits of flavonoids. In: *International Conference on Food Factors*, Hamamatsu, Japan.
- Girardon, P., Bessiere, J. M., Baccou, J. C. and Sauvaire, Y. (1985) Volatile constituents of fenugreek seeds. *Planta Medica* 6: 533-534.
- Girardon, P., Sauvaire, Y., Baccou, U. C. and Bessiere, J. M. (1989) Identification de la 3-hydroxy-4, 5-dimethyl-2(5H)-furanone dans l'arôme des graines de fenugrec (*Trigonella foenum graecum* L.). *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie* 19: 44-46.
- Grossheim, A. A. (1945) Fenugreek-*Trigonella* L. In: *Flora URSS* (Ed. Shishkin, B. K.) 102-129. Nauka, Moscow.
- Gryglewski, R. J., Korbut, R. and Robak, J. (1987) On the mechanism of antithrombotic action of flavonoids. *Biochemical Pharmacology* 32: 661-667.
- Halliwell, B. (2000) The antioxidant paradox. *The Lancet* 355: 1179-1180.
- Kumpulainen, J. T. and Salonen, J. T. (1999) Natural antioxidants and anticarcinogens in nutrition, health and disease. *The Royal Society of Chemistry* 3: 178-187.
- Lapornik, B., Prosek, M. and Wondra, A. G.

- (2005) Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering* 71: 214-222.
- Maxwell, S. R. J. (1995) Prospects for the use of antioxidants therapies. *Drugs* 49(3): 345-61.
- McCall, M. R. and Frei, B. (1999) Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans? *Free Radical Biology Medicine* 26: 1034-1053.
- McDonald, S., Prenzler, P. D., Autolovich, M. and Robards, K. (2001) Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry* 73: 73-84.
- Miliauskasa, G., Venskutonisa, P. and Van Beek, T. (2004) Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry* 85: 231-237.
- Poulson, H. E., Prieme, H. and Loft, S. (1998) Role of oxidative DNA damage in cancer initiation and promotion. *European Journal of Cancer Prevention* 7: 9-16.
- Rakhee, S. D., Meena, D. L., Lal, B. C., Prabhakar, K. R. and Vidya, S. G. (2004) Assessment of genetic diversity in *Trigonella foenum-graecum* and *Trigonella caerulea* using ISSR and RAPD markers. *Biomed Central Plant Biology* 4: 1-11.
- Ranjbar, M., Karamian, R. and Hajmoradi, Z. (2009) Composition of the essential oil of *Trigonella disperma* from Iran. *Chemistry of Natural Compound* 45 (1): 116-117.
- Schroeter, H., Boyd, C., Spencer, J. P. E., Williams, R. J., Cadenas, E. and Rice-Evans, C. (2002) MAPK signaling in neurodegeneration: influence of flavonoids and of nitric oxide. *Neurobiology of Aging* 23: 861-880.
- Shahidi, F. and Janitha, P. K. and Wanasundara, P. D. (1992) Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 32: 67-103.
- Sood, A. (1975) Chemical compounds from the leaves of *Trigonella foenum-graecum* L. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 37: 100-101.
- Stojicevic, S., Stanisavljevic, I., Velickovic, D., Veljkovic, V. and Lazic, M. (2008) Comparative screening of the anti-oxidant and antimicrobial activities of *Sempervivum marmoreum* L. extracts obtained by various extraction techniques. *Journal of the Serbian Chemical Society* 73(6): 597-607.
- Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C. J. and Telser, J. (2004) Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry* 266: 37-56.
- Wojdyło, A., Oszmian'ski, J. and Czemerys, R. (2007) Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry* 105: 940-949.

بررسی جامعه‌شناسی گیاهی جنگل‌های جلگه‌ای نور و سیستانگان، استان مازندران

علیرضا نقی‌نژاد* و سمیه زارع‌زاده

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

چکیده

جنگل‌های هیرکانی شمال ایران میراثی به جا مانده از دوران سوم زمین‌شناسی است که امروزه بخش بزرگی از آن در مناطق جلگه‌ای در اثر فعالیت‌های مخرب انسانی نابود شده است. این جنگل‌ها در جنوب دریای خزر دارای اهمیت ویژه‌ای از نظر حفاظتی و مدیریتی است. جنگل‌های نور و سیستانگان در مناطق پست مازندران از نظر جامعه‌شناسی بررسی شدند. با جمع‌آوری داده‌های جامعه‌شناسی از ۵۵ قطعه نمونه و تحلیل داده‌ها با استفاده از فنون DCA و TWINSpan در نرم‌افزار JUICE، چهار واحد پوششی در این دو منطقه تشخیص داده شد که عبارتند از: *Populus Fraxinus excelsior subsp. coriariifolia-Cardamine tenera*، *Celtis australis-Buxus hyrcana* و *Parrotia persica-Carpinus betulus* و *caspicus-Alnus subcordata*. بررسی گسترده گونه‌های شاخص از تمامی جوامع گیاهی معرفی شده در جنگل‌های هیرکانی، نشانگر پیوستگی واحدهای پوششی بررسی شده با دو اتحادیه بزرگ *Alnion subcordatae* و *Parrotio-Carpinion* است. بدیهی است که تصمیم‌گیری نهایی برای جایگاه سین تاکسونومی این واحدها بدون بررسی‌های جامع‌تر در تمامی بخش‌های جنگل‌های هیرکانی امکان‌پذیر نیست.

واژه‌های کلیدی: تحلیل گونه‌های شاخص دو طرفه، جامعه‌شناسی گیاهی، جنگل‌های جلگه‌ای، سیستانگان، نور

مقدمه

(Akhani et al., 2010). در میان سه کمربند ارتفاعی

تعریف شده از جنگل‌های هیرکانی (پست، کوهپایه‌ای

و کوهستانی) (Zohary, 1973؛ Frey and Probst,

1986؛ Hamzeh'ee et al., 2008؛ Naqinezhad et

al., 2008؛ Siadati et al., 2010)، جنگل‌های مناطق

پست از ارزش بالای حفاظتی و مدیریتی برخوردار

بوده، به نظر می‌رسد که برای مطالعات بوم‌شناختی و

کمربند سبز جنگل‌های هیرکانی که از تالش در

جمهوری آذربایجان تا منطقه گلیداغی در استان

خراسان شمالی امتداد یافته است و دامنه‌های شمالی

البرز را پوشش می‌دهد، به علت حضور عناصر بازمانده

از دوران سوم زمین‌شناسی بسیار حایز اهمیت است

(Meusel et al., 1965؛ Hamzeh'ee et al., 2008).

قهرمانی‌نژاد و عاقلی (۱۳۸۸)، نقی‌نژاد و همکاران (۱۳۸۹)، اسدی و همکاران (۱۳۹۰)، قهرمانی‌نژاد و همکاران (۱۳۹۰) اشاره کرد.

در این میان، مطالعات Rastin (۱۹۸۰ و ۱۹۸۳)، Hamzeh'ee و همکاران (۲۰۰۸)، Naqinezhad و همکاران (۲۰۰۸ و ۲۰۱۲) و طبری کوچکسرای و همکاران (۱۳۸۱) به طور تخصصی در مناطق پست هیرکانی انجام گرفته است.

با توجه به این که بیشتر مطالعات انجام شده در جنگل‌های شمال کشور با رویکرد جامعه‌شناسی در نواحی جنگلی کوهستانی و نیمه کوهستانی بوده است، لزوم مطالعه گسترده جامعه‌شناسی در جنگل‌های پست نور و سیسنگان بیش از پیش احساس می‌شود.

پارک‌های جنگلی نور و سیسنگان که به ترتیب در شهرستان‌های نور و نوشهر واقع هستند، گرچه در سال‌های اخیر مورد تخریب انسان و چرای شدید دام قرار گرفته‌اند، با وجود این، باید اعتراف کرد جزو معدود جنگل‌های به جا مانده از جنگل‌های پست خزری محسوب می‌شوند. با وجود اهمیت این مناطق، تاکنون مطالعه کلی و جامعی در آنها صورت نگرفته است. برخی از اهداف این مطالعه عبارتند از: ۱- شناخت جوامع گیاهی موجود در منطقه‌های مطالعه شده به عنوان بخشی از جنگل‌های پست خزری، ۲- مقایسه این جوامع با جوامع معرفی شده در ایران و جنگل‌های اروپا-سیبری، ۳- بازننگری پژوهش‌های پیشین در جامعه‌شناسی جنگل‌های پست خزری و ۴- کاربرد اطلاعات جامعه‌شناسی در تهیه نقشه‌های پوشش گیاهی و مدیریت پایدار در منطقه.

پوشش گیاهی در اولویت باشند، چرا که انسان با حذف عناصر طبیعی و جایگزینی عناصر دیگر در این مناطق، جوامع آن را تا حد زیادی تغییر یا در معرض نابودی قرار داده است (Hamzeh'ee et al., 2008).

اکوسیستم جنگل‌های هیرکانی بارها توسط گیاه‌شناسان و جامعه‌شناسان گیاهی مطالعه و بررسی شده است. از جمله مطالعات انجام گرفته در این جنگل‌ها می‌توان به مطالعات Djazirei (۱۹۶۴ و ۱۹۶۵)، Tregubov (۱۹۶۷)، Mobayen و Tregubov (۱۹۷۰)، Zohary (۱۹۷۳)، Dorostkar (۱۹۷۴)، Dorostkar و Rastin (۱۹۸۰)، Assadollahi (۱۹۷۶)، Noirfalise (۱۹۸۰)، Mossadegh (۱۹۸۱)، Assadollahi و همکاران (۱۹۸۲)، Rastin (۱۹۸۳)، Frey و Probst (۱۹۸۶)، Akhani (۱۹۹۸)، Klein (۲۰۰۱)، Akhani و Ziegler (۲۰۰۲)، Nazarian و همکاران (۲۰۰۴)، Ghahreman و همکاران (۲۰۰۶)، Hamzeh'ee و همکاران (۲۰۰۸)، Akhani و Jafari (۲۰۰۸)، Naqinezhad و همکاران (۲۰۰۸)، Ramezani و همکاران (۲۰۰۸)، Siadati و همکاران (۲۰۱۰)، Akhani و همکاران (۲۰۱۰)، اسدی (۱۳۶۴)، حمزه (۱۳۷۳)، برزیه‌کار (۱۳۷۴)، زارع و همکاران (۱۳۷۷)، اسدالهی (۱۳۷۹)، ابراری و عزیزی (۱۳۸۱)، طبری کوچکسرای و همکاران (۱۳۸۱)، تیمورزاده و همکاران (۱۳۸۲)، اکبری‌نیا و همکاران (۱۳۸۳)، اسماعیل‌زاده و همکاران (۱۳۸۴)، متاجی و بابایی کفاکی (۱۳۸۵)، اسماعیل‌زاده و همکاران (۱۳۸۶)، اصغرزاده و همکاران (۱۳۸۷)، خوشمو (۱۳۸۷)، رضوی (۱۳۸۷)، اجتهادی و همکاران (۱۳۸۸)، رضوی و حسن عباسی (۱۳۸۸)،

مواد و روش‌ها

ویژگی‌های رویشگاه‌های مطالعه شده

جنگل نور با طول جغرافیایی $51^{\circ}00'$ تا $51^{\circ}06'$ و عرض جغرافیایی $36^{\circ}32'$ تا $36^{\circ}34'$ ، در حدود ۳ کیلومتری شرق شهرستان نور واقع است (شکل ۱). گستره جنگل ۳۶۰۰ هکتار است. جنگل سیسنگان با طول جغرافیایی $51^{\circ}47'$ تا $51^{\circ}49'$ و عرض جغرافیایی $36^{\circ}33'$ تا $36^{\circ}34'$ ، در ۲۷ کیلومتری جاده نوشهر به نور

قرار دارد (شکل ۱). مساحت این جنگل در حدود ۶۰۲ هکتار است. با توجه به نزدیکی مناطق مطالعه شده به ایستگاه اقلیمی نوشهر، این رویشگاه‌ها دارای آب و هوای مرطوب با زمستان ملایم و میانگین بارندگی سالانه ۱۲۸۰ میلی‌متر در نوشهر هستند. بر پایه گروه‌بندی جدید زیست اقلیمی (bioclimatic) از ایران، آب و هوای منطقه جزو معتدله اقیانوسی (temperate oceanic) به شمار می‌رود (Djamali et al., 2011).



شکل ۱- موقعیت جغرافیایی جنگل‌های نور و سیسنگان در زمین‌های پست جنوب دریای خزر

روش پژوهش

جمع‌آوری داده‌ها در بهار، تابستان و پاییز سال ۱۳۹۰ و نیز بهار سال ۱۳۹۱ انجام گرفت و اطلاعات جامعه‌شناسی از ۳۸ قطعه نمونه‌برداری (relevé) با ابعاد ۴۰۰ متر مربع در جنگل نور و ۱۷ قطعه نمونه‌برداری با ابعاد ۱۰۰ متر مربع در جنگل سیسنگان یادداشت شدند. مطالعه بر اساس روش براون-بلانکه انجام شد (Braun-Blanquet, 1964) که در آن از مقیاس‌های پوشش-فراوانی (+، ۱، ...، ۵) استفاده شد. در این مقیاس، I برای گیاهی که تنها یک‌بار با پوشش بسیار

اندک در قطعه نمونه دیده شده است، + برای گیاهانی که به تعداد بسیار اندک و با پوشش اندک در قطعه نمونه وجود دارند، ۱ برای گیاهانی با پوشش کمتر از ۵ درصد، ۲ برای گیاهانی با پوشش ۵ تا ۲۵ درصد، ۳ برای گیاهانی با پوشش ۲۵ تا ۵۰ درصد، ۴ برای گیاهانی با پوشش ۵۰ تا ۷۵ درصد و ۵ برای گیاهانی که پوشش ۷۵ تا ۱۰۰ درصد دارند، استفاده شده است. تحلیل اطلاعات توسط رایانه و با استفاده از تحلیل گونه‌های شاخص دو طرفه اصلاح شده

در این بررسی، نتایج حاصل از تحلیل‌های جامعه‌شناسی به صورت جوامع رسمی Braun-Blanquet معرفی نشده، بلکه معرفی آنها با استفاده از یک یا دو گونه شاخص (با استفاده از میزان وفاداری گونه در جدول‌های جامعه‌شناسی) و چیره در جامعه صورت می‌گیرد. بدیهی است که تصمیم‌گیری نهایی درباره نام جامعه (association) و نیز دسته‌بندی سین‌تاکسونومی آنها در گروه‌های بالاتر نیازمند برداشت اطلاعات گسترده‌تر در جنگل‌های هیرکانی در آینده است.

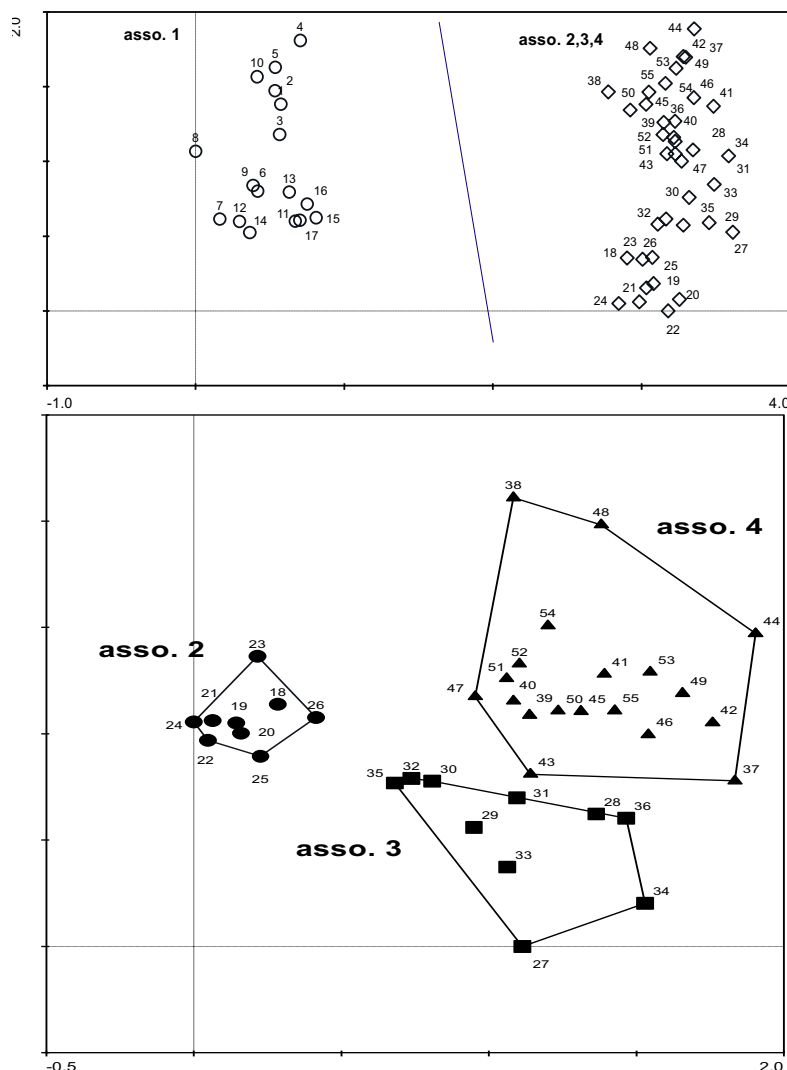
شناسایی گیاهان با بهره‌گیری از کتاب‌های فلورا ایرانیکا (Rechinger, 1963-2010)، مجموعه فلور ایران (اسدی و همکاران، ۱۳۶۷-۱۳۹۱) و نهانزادان آوندی ایران (Khoshravesh *et al.*, 2009) انجام شد.

نتایج

با بهره‌گیری از تحلیل گونه‌های شاخص دو طرفه اصلاح شده، چهار گروه از قطعات نمونه دسته‌بندی شدند که در دو گروه بزرگ قرار می‌گیرند. وجود این دو گروه بزرگ در تحلیل کلی DCA که بر روی تمامی قطعه نمونه‌ها صورت گرفته است، قابل تشخیص است (شکل ۲) و سپس تحلیل‌های جزئی و اختصاصی روی گروه دوم نشان دهنده وجود سه گروه کوچک‌تر در آن است (پیوست‌های ۱ و ۲).

Roleček & Hill, 1979) (Modified TWINSpan) (Tichý, 2002) JUICE در نرم‌افزار *et al.*, 2009) انجام شد. ترازهای برش گونه‌های دروغین (pseudo species cut level) برابر ۷ و ارزش ترازهای برش به صورت ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و ۷ در نظر گرفته شد. کمینه اندازه گروه برابر با ۲ در نظر گرفته شد. وفاداری (fidelity) گونه‌ها به خوشه‌ها و گونه‌های شاخص برای واحدهای پوشش گیاهی با استفاده از مقادیر ضریب فی (phi-coefficient) که بر پایه داده‌های حضور-غیاب محاسبه می‌شوند، تعیین شد. این گونه‌ها حضور معنی‌دار ($P < 0.05$) و هم‌دارای ضریب فی بالاتر در هر واحد پوششی هستند. گونه‌هایی با $\Phi > 0.3$ و $P < 0.05$ به عنوان گونه شاخص (diagnostic species) در نظر گرفته شدند. حد آستانه برای فی (۰/۳) در نظر گرفته شد تا فهرست بلند و کوتاهی از گونه‌های شاخص برای هر یک از واحدهای پوششی به دست نیاید (Illyés *et al.*, 2007). لایه‌های مختلف هر گونه در ساختار جنگلی بر پایه دستور کار برنامه نرم‌افزار JUICE هستند و عبارتند از: ۱=درختی بلند، ۲=درختی متوسط، ۳=درختی کوتاه، ۴=درختچه‌ای بلند، ۵=درختچه‌ای کوتاه، ۶=علفی، ۷=گیاهچه جوان، ۸=دانه‌رست.

تحلیل رسته‌بندی DCA (Detrended Correspondence Analysis)، برای نشان دادن ارتباط بین گروه‌های پوشش گیاهی حاصل در روش‌های گروه‌بندی استفاده شد (Lepš and Šmilauer, 2003).



شکل ۲- نمایش پخش قطعات نمونه در تحلیل رسته‌بندی DCA از تمامی داده‌ها (شکل بالا) و داده‌های جزئی (شکل پایین). شماره روی قطعات نمونه برابر شماره‌های موجود در پیوست ۱ است. جامعه *Celtis australis-Buxus hyrcana* (O)، *Fraxinus excelsior* subsp. (●)، *coriariifolia-Cardamine tenera* (▲) و *Parrotia persica-Carpinus betulus* (▲). کل قطعات نمونه سه واحد پوششی دوم، سوم و چهارم (◇).

این گونه به ویژه در بخش‌های کمتر تخریب یافته، پوشش غیر قابل نفوذی در برابر دسترسی نور به کف ایجاد کرده، باعث کاهش غنای گونه‌ای در کف جنگل می‌شود. گونه شاخص و غالب دیگر این واحد پوششی *Celtis australis* است. برخی دیگر از گونه‌های شاخص در این واحد پوششی مانند *Acer*

۱- واحد پوششی *Celtis australis-Buxus hyrcana* بیشتر بخش‌های مطالعه شده در جنگل سیسنگان از این واحد پوششی است که به علت ترکیب فلوربستیکی مشخص، به راحتی از سایر واحدهای پوششی جدا می‌شود. *Buxus hyrcana* با حضور چشمگیر خود نمونه‌ای از گونه‌های شاخص این واحد پوششی است.

شاخص معرفی می‌شود. گونه‌های *Carpinus betulus* و *Pterocarya fraxinifolia* نیز از فراوانی نسبتاً بالایی در این واحد پوششی برخوردار هستند. برخی از گونه‌های همراه این واحد پوششی *Carex strigosa*، *Carpinus betulus* و *Oplismenus undulatifolius* و *Smilax excelsa* است. این واحد پوششی در غرب و منطقه حفاظت شده سفید پلت (*Populus caspica*) در شرق و بخش‌های مرکزی جنگل نور به چشم می‌خورد. منطقه حفاظت شده مزبور بخش بزرگی از این واحد را تشکیل می‌دهد و آثار مدیریت انسانی در آن بیشتر مشاهده می‌شود.

۴- واحد پوششی *Parrotia persica-Carpinus betulus*

درختان ممرز (*Carpinus betulus*) و انجیلی (*Parrotia persica*) گونه‌های شاخص و غالب این واحد به شمار می‌روند. از دیگر گونه‌های شاخص مهم این گروه می‌توان از درختان خرمنندی (*Diospyros lotus*) و بلندمازو (*Quercus castaneifolia*) نام برد. *Carex strigosa* و *Oplismenus undulatifolius* از گونه‌های همراه مهم این واحد پوششی هستند. این واحد پوششی در بیشتر قسمت‌های جنگل و به ویژه جنوب و غرب به چشم می‌خورد.

بحث

واحد پوششی *Celtis australis-Buxus hyrcana*

این واحد پوششی مشابه جامعه *Celtiseto-Buxetum* از اتحادیه *Parrotio-Carpinion* است که نخستین بار توسط زارع و همکاران (۱۳۷۷) در جنگل مزگای نوشهر معرفی شده است و دارای گونه‌های شاخص *Celtis australis* و *Buxus hyrcana* بوده

Crataegus، *Carpinus betulus*، *cappadocicum* و *microphylla* نیز از اهمیت خاصی برخوردارند. از گونه‌های همراه این گروه می‌توان *Parrotia*، *Carpinus betulus*، *Ruscus hyrcanus persica* و *Smilax excelsa* را نام برد. با این وجود، افزون بر این واحد پوششی، جوامع گیاهی دیگری نیز با غالبیت *Quercus castaneifolia* در این جنگل مشاهده می‌شود که به علت تخریب‌های انسانی مطالعه نشده‌اند.

۲- واحد پوششی *Fraxinus excelsior subsp. coriariifolia-Cardamine tenera*

این واحد پوششی در بیشتر قسمت‌های جنگل نور به ویژه در مناطق بسیار مرطوب و آبدار قابل مشاهده است. دارای پوشش علفی و خزهای چشمگیری است. گونه‌های شاخص آن *Cardamine tenera* و *Fraxinus excelsior subsp. coriariifolia* است. از دیگر گونه‌های شاخص این واحد پوششی می‌توان به *Phyllitis scolopendrium* و *Arum maculatum*، *Pterocarya* و *Alnus glutinosa subsp. Barbata* اشاره کرد. *fraxinifolia* معمولاً در خاک‌های بسیار مرطوب و نمناک رویش دارند. *Parrotia persica*، *Acer* و *Smilax excelsa velutinum* و *Carex sylvatica* همراه این *Carex strigosa* نمونه‌هایی از گونه‌های همراه این واحد پوششی هستند.

۳- واحد پوششی *Populus caspica-Alnus subcordata*

سطح آب زیرزمینی در این واحد پوششی نسبتاً بالا است. این واحد پوششی با گونه‌های *Alnus caspica* و *subcordata* به عنوان گونه‌های

Carpinion (مانند *Parrotia persica* و *Carpinus betulus*) نشان‌دهنده پیوستگی سین تا کسونومی این واحد پوششی با اتحادیه بالا است.

واحد پوششی *Fraxinus excelsior* subsp. *coriariifolia*-*Cardamine tenera*

از *Fraxinus excelsior* subsp. *coriariifolia* گونه‌های شاخص مهم این واحد پوششی است که در جامعه‌هایی مانند *Fraxino-Aceretum insignae*, *Fraxino-Alnetum*, *Fraxino-Buxetum hyrcanae*, *Fraxino-Tilietum begonifoliae*, *glutinosae*, *Fraxino-Quercetum betulae*, *Fraxino-Carpinetum castaneifoliae* و *Fraxino-Quercetum atropatanae* (طبری کوچکسرای و همکاران، ۱۳۸۱) به عنوان گونه غالب و شاخص دیده می‌شود. دیگر گونه‌های شاخص این واحد پوششی *Cardamine tenera*, *Pterocarya fraxinifolia* و *Alnus glutinosa* هستند. *fraxinifolia* از عناصر اکسینو-هیرکانی به جا مانده از دوران سوم زمین‌شناسی است که تا ارتفاع ۱۲۰۰ متری از سطح دریا نیز می‌روید (Zohary, 1973)؛ Browicz (1982). *Alnus glutinosa*، درختی رطوبت‌پسند ساکن خاک‌های مرطوب است و گستره رویشی آن تا ارتفاع ۱۰۰۰ متری از سطح دریا نیز گسترده است (حمزه، ۱۳۷۳ و Zohary, 1973). برخی از جامعه‌های جنگل‌های هیرکانی که در آنها *Alnus glutinosa* گونه شاخص و غالب در نظر گرفته شده است عبارتند از: *Alnetum glutinosae* (Djazirei, 1964)، *Pterocaryo-Alnetum glutinosae* (Rastin, 1983)، *Fraxino-Alnetum glutinosae* (طبری کوچکسرای و همکاران، ۱۳۸۱) *Carici Galio elongatae-Alnetum barbatae*

است. *Buxus hyrcana* درختچه‌ای انحصاری در جنگل هیرکانی است که تا ارتفاع ۲۰۰ متر بالای سطح دریا گسترده است (Zohary, 1973). این درختچه به عنوان گونه شاخص و غالب در بسیاری از جوامع جلگه‌ای مورد توجه بوده است؛ از جمله *Quercus Buxetum* (Tregubov and Mobayen, 1970)، *Fraxino-Buxetum hyrcanae* (طبری کوچکسرای و همکاران، ۱۳۸۱)، *Pterido dentatae-Alnetum Hamzeh'ee et barbatae buxetosum hyrcanae* (زارع و همکاران، 2008)، *Celtiseto-Buxetum al.* (Djazirei, Scolopendrio-Buxetum، ۱۳۷۷)، *Alno-Buxetum* (Mossadegh, 1975) (با گونه غالب و شاخص *Alnus subcordata*) و *Buxo-Carpinetum* (روحی‌مقدم و همکاران، ۱۳۸۱). در جنگل‌های راش ارتفاعات بالا نیز جامعه *Buxo-Fagetum* (حمزه، ۱۳۷۳) با گونه‌های غالب و شاخص *Buxus hyrcana* و *Fagus orientalis* گزارش شده است. *Celtis australis* گونه‌ای گرمادوست است که در شمال آفریقا، جنوب اروپا، کشورهای مدیترانه‌ای و ایران دیده می‌شود (Sattarian, 2006). پراکنش آن از نواحی جلگه‌ای تا ابتدای میان‌بند بوده، در جنگل سیسنگان به صورت پراکنده در بین درختان و درختچه‌های شمشاد دیده می‌شود. وجود گونه *Quercus castaneifolia* در این واحد پوششی نشان‌دهنده نزدیکی آن به جامعه *Quercus-Buxetum* است، که در گستره‌ای وسیع توسط بسیاری از پژوهشگران (Tregubov, 1967؛ Tregubov and Mossadegh, 1981؛ Mobayen, 1970) گزارش شده است. وجود گونه‌های شاخص اتحادیه *Parrotio-*

(Djazirei, 1964) *Ulmo-Alnetum subcordatae*
 Djazirei, (حمزه، ۱۳۷۳؛
 Mossadegh, 1975) *Alno-Buxetum*, (1964)
 Alno-Carpinetum (روحی مقدم
 و همکاران، ۱۳۸۱) *Cariceto-Alnetum subcordatae*
 (Tregubov, 1967) به صورت غالب و شاخص دیده
 می‌شود. گونه‌های دیگر در این واحد پوششی *Ulmus*
minor و *Diospyrus lotus* هستند که در دیگر
 جامعه‌های جنگل‌های هیرکانی دیده می‌شوند.
Diospyro-Alnetum در جامعه *Diospyrus lotus*
 (Djazirei, 1964؛ Tregubov, 1967) به عنوان گونه
 شاخص دیده می‌شود. وجود گونه‌های *Diospyrus*
lotus و *Alnus subcordata* پیوستگی سین‌تاکسونومی
 این جامعه را با اتحادیه *Alnion subcordatae* برقرار
 می‌کند.

واحد پوششی *Parrotia persica-Carpinus betulus*

Parrotia persica بیشتر در مناطق کوهپایه‌ای و
 جلگه‌ای در گستره ارتفاعی ۲۵۰-۴۰۰ متر از سطح دریا
 می‌روید. با این وجود، این گونه در گستره وسیعی از
 منطقه هیرکانی از نواحی پست تا ارتفاعات (تا ۱۴۰۰ متر)
 دیده می‌شود و جوامعی مانند *Parrotio-Carpinetum*
 (Djazirei, 1964, 1965) Dorostkar and Noirfalise,
 (Mossadegh, 1981؛ 1976) را تشکیل می‌دهد.
Carpinus betulus در اقلیم‌های گرم، رشد مناسبی
 داشته، تا ارتفاع ۱۰۰۰ متری از سطح دریا دیده می‌شود
 (Abdi et al., 2009). این گونه در جامعه‌هایی مانند
Fraxino-Carpinetum betulae (طبری کوچکسرایبی و
 همکاران، ۱۳۸۱)، *Fageto-Carpinetum*، *Ilico-*
Carpinetum، *Quercu-Carpinetum*، *Carpinetum*
 (Djazirei,

Ulmo minoris-acutiformis-Alnetum barbatae
Populo caspicae-Alnetum، *Alnetum barbatae*
Pterido dentatae-Alnetum barbatae، *barbatae*
 (Hamzeh'ee et al., 2008). این واحد پوششی از نظر
 ویژگی‌های فلورستیک و رویشگاهی تا حدودی نزدیک
 به جامعه *Pterocaryo-Alnetum glutinosae* در
 جنگل‌های پست خزری است (Rastin, 1983).
 (۱۹۸۳) جامعه *Pterocaryo-Alnetum glutinosae* را به
 سه تیپ (تیپ‌های: *Alnus-Ulmus*، *Acer-Alnus* و
Alnus-Pterocarya) تقسیم کرد. در صورت پذیرش
 چنین تقسیم‌بندی، واحد پوششی مطالعه شده در پژوهش
 حاضر، بیشترین نزدیکی را با تیپ *Alnus-Pterocarya*
 نشان می‌دهد. از سوی دیگر، وجود درخت زبان‌گنجشک
 (*Fraxinus excelsior* subsp. *Coriariifolia*) در این
 واحد پوششی باعث نزدیکی بیشتر آن با جامعه *Fraxino-*
Alnetum glutinosae می‌شود.

واحد پوششی *Populus caspica-Alnus subcordata*

این واحد پوششی تا حدودی مشابه جامعه *Alneto-*
Populetum (طباطبایی و یاسینی، ۱۳۶۳) در ارتفاعات
 است که در آن گونه‌هایی مانند *Populus caspica*
 و *Alnus subcordata* غالب و شاخص هستند.
Populus caspica از گونه‌های در معرض نابودی (Jalili and
 Jamzad, 1999) و به جا مانده از دوران سوم
 زمین‌شناسی است (مروی مهاجر، ۱۳۸۴).
Alnus subcordata از گونه‌های مهم جنگل‌های شمال ایران
 است (Mousavi et al., 2012) که در جامعه‌هایی مانند:
Pterocaryo-Alnetum subcordatae (Djazirei,
 Mossadegh, 1975؛ 1964) *Diospyro-Alnetum*،
 (Djazirei, 1964؛ Tregubov, 1967) *subcordatae*

(Djazirei, 1965) *Alnetalia subcordata* و (Quezel *et al.*, *Rhodendro-Fagetalia orientalis* Ilico-Fagenetalia orientalis 1980) با زیرراسته از زیرراسته بالا که گونه‌های شاخص زیادی از آن در مطالعه حاضر دیده شده است (پیوست ۲)، دو اتحادیه *Parrotia-Carpinion* (Djazirei, 1965) *Rubo-Fagion orientalis* و (Assadollahi, 1980) *Parrotio-* معرف شده است. *Carpinion* ابتدا توسط Djazirei (۱۹۶۴) گزارش شد و پس از آن توسط Djazirei (۱۹۶۵) در *Zelkovo-* *Parrotietalia* گروه‌بندی شد. این راسه توسط Assadollahi (۱۹۸۰) پذیرفته نشد. با وجود این، او *Ilico-Fagenetalia orientalis* به نام جدیدی *Rhododendro-Fagetalia orientalis* از (Assadollahi, 1980) برای این اتحادیه توصیف کرد. اتحادیه *Alnion subcordatae* (Djazirei, 1965) نیز در راسه *Alnetalia subcordatae* قرار گرفته است. بر پایه بررسی‌های دقیق روی گونه‌های شاخص حاصل در این پژوهش، ترکیب فلوریستیک هر چهار واحد پوششی با گونه‌های شاخص اتحادیه بزرگ *Parrotio-Carpinion* پیوستگی زیادی را نشان می‌دهد. از سویی، وجود گونه‌های شاخص اتحادیه *Alnion subcordatae* (مانند: *Pterocarya fraxinifolia*, *Alnus subcordata*, *Carex*, *Diospyrus lotus*, *Alnus glutinosa*, *Populus strigosa* و *Acer velutinum*) در دو جامعه *Fraxinus excelsior* و *caspiica-Alnus subcordata* subsp. *coriariifolia-Cardamine tenera* نشان‌دهنده نزدیکی این دو جامعه به اتحادیه بالا است. در هر صورت، تصمیم‌گیری نهایی برای جایگاه

Parrotio-Carpinetum (Tregubov, 1968؛ 1965 Dorostkar and؛ Tregubov, 1967؛ Djazirei, 1964) *Castaneo-* (Mossadegh, 1981؛ Noirfalise, 1976) *Carpinetum* به عنوان گونه شاخص دیده می‌شود. با وجودی که *Parrotia persica* و *Carpinus betulus* بیشتر در نواحی کوهستانی و کوهپایه‌ای رویش دارند و تشکیل‌دهنده سین‌تاکسون‌های *Zohary, Zelkovo-Parrotietea* (Djazirei, 1973) و *Parrotio-Carpinion* (Djazirei, 1965) هستند، اما به علت قطع شدید درختان جنگلی در نواحی جلگه‌ای و پست می‌توانند به جوامع جلگه‌ای نفوذ کنند (Hamzeh'ee *et al.*, 2008). اگر چه *Parrotia persica* به طور اختصاصی در واحد پوششی *Parrotia persica-Carpinus betulus* مطالعه شده در این پژوهش نیست، اما به نحوی می‌توان آن را جامعه‌ای مشخص از اتحادیه *Parrotio-Carpinion* در نظر گرفت (پیوست‌های ۱ و ۲).

بازنگری سین‌تاکسون‌های معرفی شده در مناطق جنگلی پست هیرکانی

Zohary (۱۹۷۳) جنگل‌های هیرکانی را به سه رده جامعه‌شناسی *Alnetea hyrcanicae*، *Zelkovo-* *Parrotietea orientalis* و *Fagetea orientalis* گروه‌بندی کرد و جوامع پست هیرکانی در رده *Alnetea hyrcanicae* این گروه‌بندی شدند. Assadollahi (۱۹۸۰) و همکاران (۱۹۸۲) و Hamzeh'ee و همکاران (۲۰۰۸) تغییر یافت. تاکنون، همه گروه‌های سین‌تاکسونومیک در رده *Quercu-Fagetea* گروه‌بندی شده‌اند. از رده بالا دو راسه در ناحیه هیرکانی شناسایی شده است:

مسئولان محترم در اداره منابع طبیعی شهرستان نور، همکاران محترم هرباریوم باغ گیاه‌شناسی نوشهر به ویژه جناب آقای دکتر حبیب زارع و خانم مهندس طیبه امینی اشکوری کمال تشکر را داریم. در پایان، از نظرات ارزشمند آقای دکتر اصغر کامرانی از دانشگاه شاهد و داوران محترم برای بالا بردن سطح علمی این پژوهش بسیار سپاسگزاریم.

سین تاکسونومی این واحدهای پوششی بدون بررسی‌های گسترده‌تر در همه بخش‌های هیرکانی امکان‌پذیر نیست.

سپاسگزاری

از آقایان عبدالرحمان دهقانی و حمید قلی‌زاده (دانشگاه مازندران) که در انجام امور میدانی همکاری داشتند قدردانی و تشکر می‌شود. همچنین، از زحمات

منابع

اسماعیل‌زاده، ا.، حسینی، س. م. و طبری، م. (۱۳۸۶) بررسی جوامع جنگلی سرخدار (*Taxus baccata* L.) ذخیره‌گاه افراتخته. مجله پژوهش و سازندگی ۷۴: ۱۷-۲۴.

ابرابری، ک. و عزیزی، پ. (۱۳۸۱) بررسی جوامع گیاهی راشستانهای منطقه خشکاب (سیاهکل-دیلمان). مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی ۲: ۳-۱۴.

اسماعیل‌زاده، ا.، حسینی، س. م. و اولادی، ج. (۱۳۸۴) معرفی فلور، شکل زیستی و پراکنش جغرافیایی گیاهان رویشگاه سرخدار افراتخته. مجله پژوهش و سازندگی ۶۸: ۶۶-۷۵.

اجتهادی، ح.، آتشگاهی، ز. و زارع، ح. (۱۳۸۸) معرفی فلور، شکل زیستی و پراکنش جغرافیایی گیاهان در جنگلهای شرق دودانگه ساری، استان مازندران. مجله زیست‌شناسی ایران ۲۲(۲): ۱۹۳-۲۰۳.

اصغرزاده، پ.، زارع، ح. و حسینی، س. م. (۱۳۸۷) بررسی فلور، ساختار رویشی و کورولوژی عناصر گیاهی پارک جنگلی سیسنگان. مجله علوم و فنون منابع طبیعی ۳(۱): ۱۳-۲۵.

اسدالهی، ف. (۱۳۷۹) مطالعه جوامع گیاهی مناطق رویشی هیرکانی. مجموعه مقالات همایش ملی مدیریت جنگلهای شمال و توسعه پایدار، انتشارات گستره ۲۳۳-۳۴۵.

اکبری‌نیا، م.، زارع، ح.، حسینی، س. م. و اجتهادی، ح. (۱۳۸۳) بررسی فلور، ساختار رویشی و کورولوژی عناصر گیاهی اجتماعات توس درسنگده ساری. مجله پژوهش و سازندگی ۶۴: ۸۴-۹۶.

اسدی، ح.، حسینی، س. م.، اسماعیل‌زاده، ا. و احمدی، ع. (۱۳۹۰) بررسی فلور، شکل زیستی و کورولوژی رویشگاههای شمشاد در جنگل حفاظت شده خیبوس مازندران. مجله زیست‌شناسی گیاهی ۳(۸): ۲۷-۴۰.

برزه‌کار، م. (۱۳۷۴) شناسایی گونه‌ها و جوامع گیاهی پارک جنگلی نور و پراکنش آنها با توجه به نیازهای اکولوژیک (با تهیه نقشه پوشش گیاهی). پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی نور، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران.

اسدی، م. (۱۳۶۴) بررسی جوامع گیاهی خیرود کنار سری پاتم. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

تیمورزاده، ع.، اکبری‌نیا، م.، حسینی، س. م. و طبری، م.

اسدی، م.، معصومی، ا. ع.، خاتم‌ساز، م. و مظفریان، و. (۱۳۶۷-۱۳۹۱) فلور ایران. شماره‌های ۱-۷۳، انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران.

- مازندران، بابلسر.
- طبری کوچکسرای، م.، جزیره‌ای، م. ح.، اسدالهی، ف. و حاجی میرصادقی، م. م. ع. (۱۳۸۱) بررسی جوامع جنگلی و نیازهای محیطی زبان گنجشک (*Fraxinus excelsior* L.) در جنگل‌های شمال ایران. مجله پژوهش و سازندگی ۵۵: ۹۴-۱۰۱.
- قهرمانی نژاد، ف. و عاقلی، س. (۱۳۸۸) بررسی فلوربستیکی پارک ملی کیاسر. مجله تاکسونومی و بیوسیستماتیک ۱۱(۱): ۴۷-۶۲.
- قهرمانی نژاد، ف.، نقی نژاد، ع.، بهاری، س. ح. و اسماعیلی، ر. (۱۳۹۰) معرفی فلور، شکل زیستی و پراکنش جغرافیایی گیاهان دو منطقه حفاظت شده جنگلی سمسکنده و دشت‌ناز، ساری، مازندران. مجله تاکسونومی و بیوسیستماتیک ۳(۷): ۵۳-۷۰.
- متاجی، ا. و بابایی کفاکی، س. (۱۳۸۵) بررسی جوامع گیاهی و شرایط فیزیوگرافیکی به منظور تهیه نيمرخ جوامع جنگلی شمال ایران (مطالعه موردی: جنگل خیرود کنار نوشهر). مجله تحقیقات جنگل و صنوبر ایران ۱۴(۳): ۲۵۸-۲۶۸.
- مروی مهاجر، م. (۱۳۸۴) جنگل‌شناسی و پرورش جنگل. انتشارات دانشگاه تهران، تهران.
- نقی نژاد، ع.، حسینی، س.، رجامند، م. ع. و سعیدی مهرورز، ش. (۱۳۸۹) بررسی فلوربستیکی جنگل‌های حفاظت شده مازی‌بن و سی‌بن رامسر در طول شیب ارتفاعی (۳۰۰ تا ۲۳۰۰ متر) مجله تاکسونومی و بیوسیستماتیک ۲(۵): ۹۳-۱۱۴.
- Abdi, E., Majnouunian, B., Rahimi, H. and Zobeiri, M. (2009) Distribution and tensile strength of Hornbean (*Carpinus betulus*) roots growing on slopes of Caspian forest, Iran. Journal of Forestry Research 20(2): 105-110.
- Akhani, H. (1998) Plant biodiversity of Golestan (۱۳۸۲) بررسی جامعه‌شناسی گیاهی در جنگل‌های شرق اردبیل (اسی‌قران، فندقلو، حسنی و بوبینی). مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی ۱۰(۴): ۱۳۵-۱۴۶.
- حمزه، ب. (۱۳۷۳) بررسی تشخیص جوامع گیاهی و عناصر تشکیل دهنده جنگل‌های لسا کوتی (سری سوم) در جنوب شرقی تنکابن. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران.
- خوشمو، م. (۱۳۸۷) معرفی فلور، شکل زیستی و پراکنش جغرافیایی گیاهان منطقه اساس سوادکوه. مجله علوم و فنون منابع طبیعی ۳(۱): ۶۵-۷۵.
- رضوی، س. ع. (۱۳۸۷) بررسی شکل زیستی و پراکنش جغرافیایی فلور منطقه کوه‌میان (آزادشهر-گلستان). مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی ۱۵(۳): ۹۸-۱۰۸.
- رضوی، ع. و حسن عباسی، ن. ع. (۱۳۸۸) بررسی فلوربستیکی و کورولوژی گیاهان رویشگاه سرو خمره‌ای سورکش (فاضل آباد-گلستان). مجله علوم و فناوری چوب و جنگل ۱۶(۲): ۸۳-۱۰۰.
- روحی مقدم، ع.، اکبری‌نیا، م.، جلالی، س. غ. و حسینی، س. م. (۱۳۸۱) بررسی تأثیر عوامل تخریب (چرای دام و جنگل‌نشینان) در تغییر جوامع گیاهی جنگل‌های چلا و آمل. مجله پژوهش و سازندگی ۱۵(۲): ۵۴-۶۳.
- زارع، ح.، اسدالهی، ف. و رحمانی، ر. (۱۳۷۷) معرفی و بررسی جامعه داغداغان شمشادستان در جنگل‌های مزگنا نوشهر. مجله پژوهش و سازندگی ۳۹: ۴-۹.
- طباطبایی، م. و یاسینی، ع. (۱۳۶۳) پژوهش در جنگل‌های مازندران خاوری، بین آمل تا تیرتاش. انتشارات دانشگاه National Park, Iran. Stapfia 53: 1-411.
- Akhani, H., Djamali, M., Ghorbanalizadeh, A. and Ramezani, E. (2010) Plant biodiversity of Hyrcanian relict forests, N Iran: an overview of the flora, vegetation, palaeoecology and conservation. Pakistan Journal of Botany 42: 231-258.

- Akhani, H. and Ziegler, H. (2002) Photosynthetic pathways and habitats of grasses in Golestan National Park (NE Iran), with an emphasis on the C₄-grass dominated rock communities. *Phytocoenologia* 32: 455-501.
- Assadollahi, F. (1980) Etude phytosociologique et biogéographique des forêts Hyrcanienne. Essai synthétique et application à la région d'Assalem (Iran). Thèse Doct., Université Marseille, Marseille, France.
- Assadollahi, F., Barbero, M. and Quezel, P. (1982) Les écosystèmes forestiers et préforestiers de l' Iran (Colloque: Définition et Localisation des Ecosystèmes méditerranéens terrestres. St. Maximin 16-20/11/1981). *Ecologia Mediterranea* 8: 365-379.
- Braun-Blanquet, J. (1964) Pflanzensoziologie: Grundzüge der Vegetationskunde (3. Auflage) Springer-Verlag, Wien.
- Browicz, K. (1982) Chorology of trees and shrubs in southwest Asia and adjacent regions. vol. 1. Polish Scientific Publisher, Warsaw.
- Djamali, M., Akhani, H., Khoshraresh, R., Andrieu-Ponel, V., Ponel, P. and Brewer, S. (2011) Application of the global bioclimatic classification to Iran: implications for understanding the modern vegetation and biogeography. *Ecologia Mediterranea* 37: 91-114.
- Djazirei, M. H. (1964) Contribution à l'étude de la forêt hyrcanienne. Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux, Gembloux, Belgique.
- Djazirei, M. H. (1965) Contribution à l'étude des forêts primaires de la Caspienne. Bulletin des Institut Agronomiques de Gembloux 33: 36-71.
- Dorostkar, H. (1974) Contribution à l'étude des forêts du district Hyrcanien oriental (Chaine de Gorgan). Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux, Gembloux, Belgique.
- Dorostkar, H. and Noirfalise, A. (1976) Contribution à l'étude des forêts caspiennes orientales (chaîne du Gorgan). Bulletin des Institut Agronomiques de Gembloux 11: 42-57.
- Frey, W. and Probst, W. (1986) Asynopsis of the vegetation of Iran. In: Contributions to the vegetation of Southwest Asia. (Ed. Kürschner, H.) 1-43. Dr. Ludwig Reichert, Wiesbaden.
- Ghahreman, A., Naqinezhad, A., Hamzeh'ee, B., Attar, F. and Assadi, M. (2006) The flora of threatened black alder forests in the Caspian lowlands, Northern Iran. *Rostaniha* 7: 5-30.
- Hamzeh'ee, B., Naqinezhad, A., Attar, F., Ghahreman, A., Assadi, M. and Prieditis, N. (2008) Phytosociological survey of remnant *Alnus glutinosa* ssp. *barbata* communities in the lowland Caspian forests of northern Iran. *Phytocoenologia* 38: 117-132.
- Hill, M. O. (1979) TWINSpan-A FORTRAN program for arranging multivariate data in an ordered two-way table by classification of the individuals and attributes. Cornell University, Ithaca.
- Illyés, E., Chytrý, M., Botta-Dukát, Z., Jandt, U., Škodová, I., Janišová, M., Willner, W. and Hájek, O. (2007) Semi-dry grasslands along a climatic gradient across central Europe: vegetation classification with validation. *Journal of Vegetation Science* 18: 835-846.
- Jafari, S. M. and Akhani, H. (2008) Plants of jahan nama protected area, Golestan province, N. Iran. *Pakistan Journal of Botany* 40: 1533-1554.
- Jalili, A. and Jamzad, Z. (1999) Red data book of Iran. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran.
- Klein, J. C. (2001) La végétation altitudinale de l' Alborz Central (Iran): entre les régions irano-touranienne et euro-sibérienne. Institut Français de Recherche en Iran, Téhéran.
- Khoshraresh, R., Akhani, H., Eskandari, M.

- and Greuter W. (2009) Ferens and fern allies of Iran. *Rostaniha* 10 (supplement 1): 1-129.
- Lepš, J. and Šmilauer, P. (2003) *Multivariate analysis of ecological data using CANOCO*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Meusel, H., Jäger, E. and Weinert, E. (1965) *Vergleichende chorologie der zentraleuropäische Flora. Band I*. Gustav Fischer Verlag, Jena.
- Mossadegh, A. (1975) Contribution à l'étude des associations forestières des massifs bordant la mer Caspienne. *Revue Biologie Ecologie. Méditerranéenne de l'Université de Provence* 2: 3-16.
- Mossadegh, A. (1981) Contribution à l'étude des associations forestières des massifs bordant la mer Caspienne en Iran. *Proceeding of 17th the Global Network for Forest Science Cooperation world congress, Japan*.
- Mousavi, K. S. A., Ali Roshani, G., Jalali, S. G. and Shahrdami, A. (2012) The effects of cover crown, percentage and slope aspect on the Quantitative Distribution of the Alder's Saplings in Forests of North of Iran. *Resources and Environment* 2(1): 17-20.
- Naqinezhad, A., Bahari, S. H., Gholizadeh, H., Esmaili, R., Hamzehee, B., Djamali, M. and Moradi, H. (2012) A phytosociological survey of lowland Caspian (Hyrcanian) forests, N. Iran, toward validation of some forest syntaxa. *Phytologia Balcanica* 18(2): 173-186.
- Naqinezhad, A., Hamzeh'ee, B. and Attar, F. (2008) Vegetation-environment relationship in the Black Alder forests of Caspian lowlands, N. Iran. *Flora* 203: 567-577.
- Nazarian, H., Ghahreman, A., Atri, M. and Assadi, M. (2004) An introduction to the forest associations of Elika ecotone area, N. Iran. *Pakistan Journal of Botany* 36: 641-657.
- Quezel, P., Barbero, M. and Akman, Y. (1980) Contribution à l'étude de la végétation forestière d'Anatolie septentrionale. *Phytocoenologia* 8(3-4): 365-519.
- Ramezani, E., Mohadjer, M. R., Knapp, H. D., Ahmadi, H. and Joosten, H. (2008) The late-Holocene vegetation history of the Central Caspian (Hyrcanian) forests of northern Iran. *The Holocene* 18: 307-321.
- Rastin, N. (1980) *Vegetations und waldkundliche untersuchungen in Hochwaldresten der Kaspischen Ebene*. Ph.D. Thesis, Göttingen University, Göttingen, Germany.
- Rastin, N. (1983) *Vegetationskundliche untersuchungen in Hochwaldresten der Kaspischen Ebene*. *Phytocoenologia* 11(2): 245-289.
- Rechinger, K. H. (ed.) (1963-2010) *Flora Iranica*, nos. 1-178. Graz: Akademische Druck-und Verlagsanstalt (1-174), Wien: Naturhistorisches Museum (175-178).
- Roleček, J., Tichý, L., Zelený, D. and Chytrý, M. (2009) Modified TWINSPAN classification in which the hierarchy respects cluster heterogeneity. *Journal of Vegetation Science* 20: 596-602.
- Sattarian, A. (2006) *Contribution to the biosystematics of Celtis L. (Celtidaceae) with special emphasis on the African species*. Ph.D. Thesis, Wageningen University, Wageningen.
- Siadati, S., Moradi, H., Attar, F., Etemad, V., Hamzeh'ee, B. and Naqinezhad, A. (2010) Botanical diversity of Hyrcanian forests; a case study of a transect in the Kheyroud protected lowland mountain forests in northern Iran. *Phytotaxa* 7: 1-18.
- Tichý, L. (2002) JUICE, software for vegetation classification. *Journal of Vegetation Science* 13: 451-453.
- Tregubov, V. (1967) *Umwandlung der Wälder der Gebirgs und Hügelstufe am Kaspischen Meer im Iran durch waldbauliche Behandlung*. *Proceeding of 14th the Global Network for Forest Science Cooperation world congress, München*.
- Tregubov, V. and Mobayen, S. (1970) *Guide*

pour la carte de la végétation naturelle de l'Iran. 1:2500000. Bull. 14, Project UNDP/FAO IRA 7. University of Tehran, Tehran.

Zohary, M. (1973) Geobotanical foundations of the Middle East. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

پیوست ۲- جدول سینوپتیک با واحد پوششی *Fraxinus excelsior* subsp. *coriariifolia*-*Cardamine*، *Celtis australis*-*Buxus hyrcana* همراه با درخت حاصل از تحلیل TWINSpan. دو عدد یاد شده برای هر گونه درصد فراوانی (frequency) (عدد بزرگتر در پایین) و وفاداری (fidelity) (عدد کوچکتر در بالای فراوانی) را نشان می‌دهند. شایان ذکر است که در این جدول لایه‌های مختلف یک گونه به پیروی از همان گونه در یک واحد گذاشته شده است، حتی اگر آن لایه پوشش ناچیزی داشته باشد.

شماره واحد پوششی	۱	۲	۳	۴
تعداد قطعه نمونه	۱۷	۹	۱۰	۱۹
گونه‌های شاخص واحدهای پوششی				
<i>Buxus hyrcana</i>	3 94 ^{96.1}	.	.	.
<i>Buxus hyrcana</i>	4 100 ¹⁰⁰	.	.	.
<i>Buxus hyrcana</i>	8 24 ^{43.3}	.	.	.
<i>Celtis australis</i>	4 88 ^{92.1}	.	.	.
<i>Acer cappadocicum</i>	4 41 ^{58.7}	.	.	.
<i>Fraxinus excelsior</i> subsp. <i>coriariifolia</i>	1 .	89 ^{92.6}	.	.
<i>Cardamine tenera</i>	6 .	100 ^{80.1}	.	37
<i>Veronica persica</i>	6 .	44 ^{61.2}	.	.
<i>Rubus persicus</i>	7 .	56 ^{60.7}	.	11
<i>Arum maculatum</i>	6 .	67 ^{59.9}	20	5
<i>Phyllitis scolopendrium</i>	6 18	67 ^{58.3}	.	11
<i>Ophioglossum vulgatum</i>	6 .	56 ^{57.3}	10	5
<i>Polystichum woronowii</i>	6 .	44 ^{56.0}	.	5
<i>Polystichum aculeatum</i>	6 .	56 ^{54.1}	20	.
<i>Poa nemoralis</i>	6 .	100 ^{52.8}	60	58
<i>Athyrium filix-femina</i>	6 .	44 ^{51.9}	10	.
<i>Pterocarya fraxinifolia</i>	4 .	89 ^{50.6}	50	42
<i>Pteris dentata</i>	6 6	44 ^{47.0}	.	11
<i>Euphorbia amygdaloides</i>	6 .	78 ^{42.6}	30	58 ^{19.3}
<i>Alnus glutinosa</i> subsp. <i>barbata</i>	2 .	67 ^{41.0}	40	26
<i>Pteris cretica</i>	6 29	78 ^{34.0}	60	26
<i>Pterocarya fraxinifolia</i>	7 .	11	.	11
<i>Fraxinus excelsior</i> subsp. <i>coriariifolia</i>	4 .	.	10	26 ^{34.6}
<i>Alnus glutinosa</i> subsp. <i>barbata</i>	4 6	.	.	.
<i>Populus caspica</i>	1 .	44	90 ^{66.7}	5
<i>Alnus subcordata</i>	2 .	22	80 ^{61.5}	21
<i>Carex divulsa</i> subsp. <i>divulsa</i>	6 .	11	30 ^{33.2}	5
<i>Ulmus minor</i>	3 .	.	30 ^{43.1}	5
<i>Ulmus minor</i>	4 .	.	10	.
<i>Galium ghilanicum</i>	6 .	.	20 ^{39.7}	.
<i>Populus caspica</i>	4 .	11	10	11
<i>Populus caspica</i>	7 .	.	.	5

<i>Ajuga reptans</i>	6	.	22	.	53 ^{50.2}
<i>Viola alba</i>	6	47	44	20	95 ^{49.9}
<i>Geum urbanum</i>	6	.	.	10	42 ^{49.9}
<i>Veronica crista-galli</i>	6	6	44	40	84 ^{47.2}
<i>Poa trivialis</i>	6	.	33	60	84 ^{46.3}
<i>Lindelofia kandavanensis</i>	6	.	.	.	26 ^{46.0}
<i>Carex strigosa</i>	6	6	67	80	100 ^{44.1}
<i>Geranium molle</i>	6	.	.	.	21 ^{40.8}
<i>Microstegium vimineum</i>	6	.	11	20	47 ^{40.3}
<i>Gleditsia caspica</i>	4	.	.	50	58 ^{40.2}
<i>Scutellaria tournefortii</i>	6	.	.	10	32 ^{40.1}
<i>Rumex sanguineus</i>	6	6	22	60	74 ^{39.1}
<i>Circaea lutetiana</i>	6	.	44	60	79 ^{38.4}
<i>Clinopodium umbrosum</i>	6	.	.	.	16 ^{35.1}
<i>Potentilla reptans</i>	6	.	.	10	26 ^{34.6}
<i>Veronica francispetae</i>	6	.	.	20	32 ^{32.2}
<i>Oplismenus undulatifolius</i>	6	6	89	90	95 ^{31.3}
<i>Carex remota</i>	6	6	22	90 ^{44.0}	89 ^{43.4}
<i>Carex sylvatica</i>	6	12	67	100 ^{39.3}	95 ^{32.8}
<i>Gleditsia caspica</i>	3	6	.	10	11
<i>Gleditsia caspica</i>	7	12	.	.	.
گونه‌های شاخص سین تا کسون‌های بالاتر					
<i>Parrotia persica</i>	2	71	100	100	74
<i>Parrotia persica</i>	4	.	.	.	5
<i>Carpinus betulus</i>	2	.	89	90	100 ^{38.0}
<i>Carpinus betulus</i>	3	65 ^{76.1}	.	.	.
<i>Carpinus betulus</i>	4	.	11	.	.
<i>Carpinus betulus</i>	7	18 ^{37.2}	.	.	.
<i>Quercus castaneifolia</i>	1	29	11	20	26
<i>Quercus castaneifolia</i>	4	35 ^{53.9}	.	.	.
<i>Quercus castaneifolia</i>	7	6	.	.	.
<i>Quercus castaneifolia</i>	8	.	.	10	53 ^{58.7}
<i>Crataegus microphylla</i>	3	29 ^{48.8}	.	.	.
<i>Crataegus microphylla</i>	4	.	33	70	79 ^{38.7}
<i>Diospyros lotus</i>	3	24 ^{43.3}	.	.	.
<i>Diospyros lotus</i>	4	.	.	10	53 ^{58.7}
<i>Diospyros lotus</i>	5	.	.	60 ^{53.9}	26
<i>Diospyros lotus</i>	7	12	11	.	.
<i>Acer velutinum</i>	1	12	100 ^{53.7}	50	53
<i>Acer velutinum</i>	4	24	.	40	37
<i>Acer velutinum</i>	7	24 ^{43.3}	.	.	.
<i>Ficus carica</i>	3	47 ^{42.1}	22	.	5
<i>Ficus carica</i>	4	.	.	30	16
<i>Hedera pastuchowii</i>	4	82 ^{30.2}	56	30	58
<i>Hedera pastuchowii</i>	7	6	11	10	.
<i>Ruscus hyrcanus</i>	4	88	89	60	95
<i>Stellaria media</i>	6	6	56	60	100 ^{51.8}
<i>Viola odorata</i>	6	.	56	60	53
<i>Smilax excelsa</i>	4	53	89	80	89
<i>Polypodium vulgare</i>	6	47	44	20	32
<i>Rubus caesius</i>	7	6	11	40	37
گونه‌های همراه					
<i>Cynoglossum officinale</i>	6	.	44	20	32

<i>Albizia julibrissin</i>	4	35 ^{53.9}	.	.	.
<i>Scilla gorganica</i>	6	.	11	10	21
<i>Oxalis corniculata</i>	6	.	.	10	21 ^{28.7}
<i>Cardamine hirsuta</i>	6	.	.	.	5
<i>Willemetia tuberosa</i>	6	.	.	.	11
<i>Asplenium adiantum-nigrum</i>	6	12	11	10	16
<i>Poa annua</i>	6	.	.	.	5
<i>Hypericum hirsutum</i>	6	.	.	.	5
<i>Sambucus ebulus</i>	6	.	.	.	16
<i>Prunella vulgaris</i>	6	.	.	.	11
<i>Carpesium cernuum</i>	6	6	.	.	16
<i>Ophrys sphegodes</i> subsp. <i>sphogodes</i>	6	.	.	.	5
<i>Carex grioletii</i>	6	6	.	.	.
<i>Carex songorica</i>	6	.	.	.	5
<i>Morus alba</i>	4	.	.	.	5
<i>Morus alba</i>	3	6	.	.	.
<i>Mercurialis perennis</i>	6	.	22	20	5
<i>Hypericum androsaemum</i>	6	.	.	10	.
<i>Limodoriun abortivum</i>	6	6	.	.	.
<i>Urtica dioica</i>	6	.	.	10	.
<i>Cyclamen coum</i> subsp. <i>caucasum</i>	6	6	.	.	11
<i>Euphorbia peplus</i>	6	.	.	.	11
<i>Dryopteris pallid</i>	6	.	11	10	.
<i>Equisetum telmatia</i>	6	.	22	10	16
<i>Ranunculus muricatus</i>	6	.	.	.	11
<i>Conyza bonariensis</i>	6	.	.	10	.
<i>Lamium album</i> subsp. <i>album</i>	6	6	.	.	5
<i>Lycopus europaeus</i>	6	.	.	10	5
<i>Ranunculus dolosus</i>	6	.	.	.	5
<i>Mespilus germanica</i>	4	.	.	.	5
<i>Geranium robertianum</i>	6	6	.	.	.
<i>Prunus divaricata</i> subsp. <i>caspica</i>	3	.	11	10	11
<i>Prunus divaricata</i> subsp. <i>caspica</i>	7	.	.	.	5
<i>Sonchus oleraceus</i>	6	.	11	10	5
<i>Torilis arvensis</i>	6	6	11	.	.
<i>Periploca graeca</i>	4	.	.	10	16
<i>Listera ovate</i>	6	.	.	.	11
<i>Mentha aquatica</i>	6	.	.	.	11
<i>Ulmus glabra</i>	4	6	.	.	.
<i>Solanum nigrum</i>	6	6	.	10	.
<i>Ornithogalum kochii</i>	6	.	.	.	5
<i>Polygonum lapathifolium</i>	6	.	.	.	5
<i>Rubus caesius</i>	8	.	11	.	.
<i>Brachypodium sylvaticum</i>	6	.	.	.	5
<i>Punica granatum</i>	7	.	.	10	.
<i>Punica granatum</i>	4	.	.	10	.
<i>Zelkova carpinifolia</i>	3	6	.	.	.
<i>Calystegia sepium</i>	6	6	.	10	5
<i>Matteuccia struthiopteris</i>	6	.	.	10	5
<i>Milium vernale</i>	6	.	.	.	5
<i>Siegesbeckia orientalis</i>	6	.	.	10	.
<i>Sanicula europaea</i>	6	.	.	.	11
<i>Scrophularia vernalis</i> subsp. <i>clausii</i>	6	.	.	10	.

Phytosociological survey of Noor and Sisangan lowland Hyrcanian forests Mazandaran province

Alireza Naqinezhad * and Somayeh Zarezadeh

Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

Abstract

The northern forests of Iran are Tertiary relicts and large parts of its lowlands have been destroyed due to human interference. However, only some small patches of these forests have remained yet which deserve a high value of conservation policies. Noor and Sisangan forests in Mazandaran lowlands were investigated with a phytosociological approach. The phytosociological data were collected from 55 relevés and classified using modified TWINSpan in the JUICE software. Four vegetation unites were described: *Celtis australis-Buxus hyrcana*, *Fraxinus excelsior* subsp. *coriariifolia-Cardamine tenera*, *Populus caspica-Alnus subcordata* and *Parrotia persica-Carpinus betulus*. Exhaustive investigation of all diagnostic species of described communities in the Hyrcanian forest, clarified the connectivity of the studied vegetation unites with two major alliances, Parrotio-Carpinion and Alnion subcordatae. Obviously, the final decision on the syntaxonomical situation of the associations would be impossible without more a comprehensive investigation on the whole Hyrcanian area.

Key words: TWINSpan, Phytosociology, Lowland forests, Sisangan, Noor

* Corresponding Author: a.naqinezhad@umz.ac.ir

Antioxidant and antimicrobial activities of the methanolic extracts of three *Trigonella* species from Iran

Roya Karamian *, Mostafa Asadbegy and Zahra Hajmoradi

Department of Biology, Faculty of Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

Abstract

This paper represents a comparative study of total phenol and flavonoid contents, antioxidant and antimicrobial activities of the methanolic extracts of three *Trigonella* species, namely *T. disperma*, *T. teheranica* and *T. subnervis*. Total phenol and flavonoid contents were determined by Folin Ciocalteu and Aluminum chloride colorimetric methods, respectively. DPPH free radical scavenging assay was used to evaluate antioxidant activity. In addition, antibacterial activities of the extracts against six gram positive and negative bacteria were studied by disc diffusion method. Total phenol and flavonoid contents varied from respectively 8 ± 0.28 to 22.2 ± 1.4 mg/g dw and 5.23 ± 0.33 to 10.48 ± 1.2 mg/g dw, in the studied species. In addition, the species showed high antioxidant capacities. However, there were no significant differences between their IC₅₀ values. The highest scavenging potency of DPPH free radical was observed in *T. subnervis* with IC₅₀ = 0.123 ± 0.006 mg/ml. All three species, especially *T. teheranica* showed remarkable antimicrobial activity against some studied bacteria.

Key words: Antimicrobial activity, Antioxidant activity, Flavonoid, Phenol, *Trigonella*

* Corresponding Author: r_karamian@basu.ac.ir

Activation of defense responses under isothiocyanate stress in oilseed rape plantlets

Fahimeh Tavakoli Zanyani ¹, Leila Shabani ^{2*} and Roya Razavizadeh ³

¹ Biology Department, Payame Noor University, 19395-3697 Tehran, I. R. of Iran

² Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran

³ Biology Department, Payame Noor University, 19395-3697 Tehran, I. R. of Iran

Abstract

In this study, the hypothesis that defense response in leaves of the oilseed rape is induced under isothiocyanate stress was investigated. The effects of different concentrations of methyl and propyl isothiocyanates (0, 1, 10 and 100 mM) were evaluated on accumulation of hydrogen peroxide, phenolic compound content and PAL and GST enzymes activities in *Brassica napus* L. Oxidative stress in isothiocyanates treated oilseed rape plantlets was deduced from increment of percentage of electrolyte leakage and from accumulation of hydrogen peroxide. Results showed that the PAL activity was significantly correlated to the contents of phenolic compounds in response to isothiocyanates. Results also showed that GST activity was induced in oilseed rape plantlets in response to exposure to 1mM isothiocyanate. Results suggested that production of total phenolic compound was not the only means of detoxifying in the oilseed rape plantlets and glutathione conjugation was also involved in the defense response to toxification in oilseed rape.

Key words: Isothiocyanate, Phenylalanine ammonia-lyase, Oil seed rape, Glutathione S-transferase

* Corresponding Author: shabani-l@sci.sku.ac.ir

Leaf anatomical investigation of *Pistacia atlantica* var *kurdica*

Nasrin Seyedi ^{1*}, Seyed Gholamali Jalali ² and Mohammad Moghaddam ³

¹ Department of Forestry, Faculty of Natural Resources and Marine Science, Urmia University, Urmia, Iran

² Department of Forestry, Faculty of Natural Resources and Marine Science, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

³ Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Abstract

Wild pistachio is one of the tree species in semi-arid areas in Iran that has important environmental and economical- social impacts. This species has not been studied well anatomically and in some cases, distinguishing it from other varieties of *Butmela* is difficult. The aim of this research was to investigate the diversity of this species based on some anatomical leaf traits such as vascular tissue. For this reason leaves were collected from tree populations and they were kept in ethanol (70 %) for one month, then cross sections were prepared from each sample. Based on the results, the leaves of *Pistacia atlantica* were bifacial and they had short trichomes (glandular and covering) in both adaxial and abaxial surfaces. Thickness of central vascular tissue, thickness of leaf and length of central vascular tissue had the most important roles in grouping, respectively. Also, no differences were found between male and female trees for anatomical traits. The results from this study could be used in the taxonomy of this species. For example, the form of central vascular tissue in this species was generally oval.

Key words: *Pistacia atlantica*, Vascular tissue, Leaf anatomical traits

* Corresponding Author: n.seyedi@urmia.ac.ir

The effect of salicylic acid on some of physiological and biochemical parameters of *Artemisia aucheri* Boiss. under salt stress

Zahra Rezayatmand^{1*}, Ramazan Ali Khavari-Nejad² and Gholamreza Asghari²

¹ Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

² Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Abstract

In this study, the effects of 0.5 mg/l exogenous SA on some physiological and biochemical processes of *Artemisia aucheri* Boiss. under tree levels of salt stress (0, 50 and 150 mm/l) were investigated. The salt stress decreased the parameters of plant growth such as dry weight, aerial parts and roots length, total chlorophyll, carotenoids and potassium content. But, treatment of plant with SA under salt stress increased the above-mentioned parameters. At the same time, peroxidation of membrane lipids, percentage of membrane leakage, the amount of hydrogen peroxide and sodium content of the plant were increased under salt stress. On the contrary, the presence of exogenous SA decreased the above parameters. The obtained results indicated the modulator effects of salicylic acid on physiological processes of the *Artemisia aucheri* Boiss. under salt stress.

Key word: Salt stress, *Artemisia aucheri* Boiss., Salicylic acid

* Corresponding Author: rezayatmand@iaufala.ac.ir

Comparison of potentiality of heavy metals accumulation in the plants surrounding steel industries in the Mahshahr-Bandar Imam road, Ahvaz

Parzhak Zoufan ^{1*}, Atefeh Saadatkhah ¹ and Saadat Rastegarzadeh ²

¹ Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

² Department of Chemistry, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Abstract

Plants use of water, air and soil plays an important role in changing ecological conditions. Therefore, the plants could be used to purify ecosystems from various pollutions such as heavy metal. In this study, heavy metals concentration such as, Ni, Mn, Zn, Fe and Pb in the plants and soils surrounding steel production industries in east west of Ahvaz city in the Mahshahr-Bandar Imam road was investigated. The results indicated that average bioavailable metal concentration in soil samples changes as Fe > Mn > Zn > Ni > Pb (mg.kg⁻¹). The maximum value of Fe was measured in the shoot of *Taraxacum kotschyi* (891 mg.kg⁻¹ DW) as a herb and *Conocarpus erectus* (860.63 mg.kg⁻¹ DW) as a tree, Zn and Mn maximum was assayed in the shoot of *T. kotschyi* with 108.63 and 93.90 mg.kg⁻¹ DW, respectively. Also, the maximum concentration of Ni was measured in tree type of *Eucalyptus camaldulensis* with 10.86 mg.kg⁻¹ DW value. The Pb concentration was not determinable in plant and soil samples. The results of bioconcentration factor and translocation factor indicated that these factors were higher than 1 in most of the cases. Based on the study, it seemed that mentioned metal concentration in plants was lower than defined as threshold in a hyperaccumulator plant. However, it could be assumed that selected plants would be able to accumulate metal in shoot.

Key words: Accumulation, Translocation factor, Bioconcentration factor, Heavy metals

* Corresponding Author: p.zoufan@scu.ac.ir

Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth improvement and biochemical factors of regenerated *Catharanthus roseus* L. plants under tryptophan treatment during acclimatization process

Samaneh Rahmatzadeh ¹, Jalil Khara ^{1*} and Seyed Kamal Kazemitabar ²

¹ Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran

² Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Agriculture and Natural Resources, Sari, Iran

Abstract

Mycorrhizas provide a symbiotic association in which the fungus obtains carbon from the plant, while providing the plant with a supply of phosphorus. On the other hand, periwinkle plants (*Catharanthus roseus* L.) have been investigated due to production of two medicinal alkaloids namely vinblastine and vincristine. In this evaluation, tryptophan was used as precursor of these alkaloids under tissue culture conditions. Inoculation by mycorrhiza induced the growth and survival of several species during acclimatization, which was the most important challenge of tissue culture. For this reason, the regeneration plantlets obtained under different concentrations of tryptophan, were exposed to acclimatization to mycorrhizal colonization and their shoot growth and biochemical factors were evaluated. Results from measurement of length, fresh and dry weights, soluble sugars and total protein content and also, chlorophyll a and b of shoots, indicated the positive role of these two treatments on growth of periwinkle plantlets under acclimatization. The highest amount of height and fresh and dry weight in shoots were obtained in colonized samples with *Glomus versiforme* and under 0, 150 and 250 mg/l tryptophan treatments, respectively. Also, the highest content of total protein and soluble sugars content was observed in *G. versiforme* colonized plants under 350 mg/l tryptophan treatment. Finally, evaluation of the chlorophyll a and b contents showed that the highest amount of these factors obtained in the colonized samples with *G. versiforme* and *G. etunicatum*, respectively, under 250 mg/l tryptophan treatment.

Key words: Regeneration, Periwinkle, Acclimatization, Mycorrhiza

* Corresponding Author: j.khara@urmia.ac.ir

Changes in physiological anatomical and parameters of okra (*Hibiscus esculentus* L.) under different ultraviolet radiation

Soroush Kargar Khorrami, Rashid Jamei * and Siavash Hosseini Sarghein

Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran

Abstract

In this study, okra plants were exposed to different ultraviolet (UV) radiation for 12 days. After treatment, leaf surface, root and stem length, fresh and dry weight and photosynthetic pigments, protein and sugar content were evaluated and the results showed that their contents were significantly decreased under UV radiation specially in UV-B and UV-C. The anatomical studies indicated that thickness in the different organs was decreased. Also, it was observed that stomatal density, index contents and stomatal length were increased under UV radiation in UV-B and UV-C. Because of the effects of UV radiation on epidermal cells of stem, leaf and petiole were observed to have decreased epidermal length but epidermal breadth was increased specially in UV-B and UV-C. The results of this study showed that UV-B and UV-C had serious effects on okra plant, but UV-A wasn't harmful to okra plants.

Key words: Anatomy, Ultraviolet radiation, Protein, Pigments, Sugar, Okra

* Corresponding Author: r.jamei@urmia.ac.ir

Investigation of interaction between zinc and organic acid (malic acid, citric acid) on antioxidant responses in *Zea mays* L.

Zahra Hosseini and Latifeh Pourakbar *

Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran

Abstract

Soil pollution by toxic metals is a serious problem for the environment and is also one of the environmental stresses for higher plants. Zinc as a heavy metal plays an important role in many biochemical functions of plants. However, excess amount of zinc is one of the most important growth limiting factors in acid soils. In this investigation five day seedlings of *Zea mays* L. for 12 days, under hydroponic conditions were treated with concentrations of 0, 400 and 600 of zinc sulfate also malic acid and citric acid 0.32 mM together with zinc concentrations. Then, plants were harvested and dry weight, root and shoot length, Malondialdehyde (MDA), H₂O₂ content and antioxidant enzyme activity (CAT, APX, GR and GPX) was measured. The results showed that by increasing Zn concentration from 400 to 600 μM, root and shoot dry weight and length were decreased, while MDA, H₂O₂ content, antioxidant enzyme activity were increased. Also, the present of citric and malic acids decreased toxicity effects. Generally, it was concluded that zinc at high concentration induced toxicity effects in *Zea mays* L. but presece of malic and citric acid decreased toxicity effects in this plant.

Key word: Antioxidant enzymes, Organic acid, H₂O₂, Zinc toxicity, Malondealdehyde

Journal of Plant Biology

5th Year, No. 16, Summer 2013

ISSN (Print): 2008-8264

ISSN (Online): 2322-2204

Contents

- **Investigation of interaction between zinc and organic acid (malic acid, citric acid) on antioxidant responses in *Zea mays* L.** 1
Zahra Hosseini and Latifeh Pourakbar

- **Changes in physiological anatomical and parameters of okra (*Hibiscus esculentus* L.) under different ultraviolet radiation** 2
Soroush Kargar Khorrami, Rashid Jamei and Siavash Hosseini Sarghein

- **Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth improvement and biochemical factors of regenerated *Catharanthus roseus* L. plants under tryptophan treatment during acclimatization process** 3
Samaneh Rahmatzadeh, Jalil Khara and Seyed Kamal Kazemitabar

- **Comparison of potentiality of heavy metals accumulation in the plants surrounding steel industries in the Mahshahr-Bandar Imam road, Ahvaz ..** 4
Parzhak Zoufan, Atefeh Saadatkah and Saadat Rastegharzadeh

- **The effect of salicylic acid on some of physiological and biochemical parameters of *Artemisia aucheri* Boiss. under salt stress** 5
Zahra Rezayatmand, Ramazan Ali Khavari-Nejad and Gholamreza Asghari

- **Leaf anatomical investigation of *Pistacia atlantica* var *kurdica*** 6
Nasrin Seyedi, Seyed Gholamali Jalali and Mohammad Moghaddam

- **Activation of defense responses under isothiocyanate stress in oilseed rape plantlets** 7
Fahimeh Tavakoli Zanyani, Leila Shabani and Roya Razavizadeh

- **Antioxidant and antimicrobial activities of the methanolic extracts of three *Trigonella* species from Iran** 8
Roya Karamian, Mostafa Asadbegy and Zahra Hajmoradi

- **Phytosociological survey of Noor and Sisangan lowland Hyrcanian forests, Mazandaran province** 9
Alireza Naqinezhad and Somayeh Zarezadeh

Referees committee (5th Year, No. 16, Summer 2013)

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. Zahra Asrar	Shahid Bahonar University of Kerman
Dr. Nader Chaparzadeh	Azarbaijan University of Tarbiat Moallem
Dr. Ali akbar Ehsanpour	University of Isfahan
Dr. Omid Esmaeilzadeh	Tarbiat Modares University
Dr. Asghar Kamrani	Shahed University
Dr. Naser Karimi	Razi University
Dr. Batoul Keramat	Shahid Bahonar University of Kerman
Dr. Maryam Keshavarzi	Alzahra University
Dr. Khadijeh Kiarostami	Alzahra University
Dr. Maryam Madadkar Haghjou	Lorestan University
Dr. Fatemeh Nasibi	Shahid Bahonar University of Kerman
Dr. Hakimeh Oloumi	Shahid Bahonar University of Kerman
Dr. Latifeh Pourakbar	Urmia University
Dr. Mina Rabie	Payame Noor University
Dr. Hassan Rahnama	Agriculture Biotechnology Research Institute of Iran
Dr. Roya Razavizadeh	Payame Noor University
Dr. Leila Shabani	University of Shahrekord
Dr. Sima Yahyabadi	Islamic Azad University, Falavarjan Branch
Dr. Fatemeh Zarinkamar	Tarbiat Modares University

Journal of Plant Biology (Scientific Research Journal)

5th Year, No. 16, Summer 2013

ISSN (Print): 2008-8264

ISSN (Online): 2322-2204

Managing Editor: Dr. Mansour Shariati (Ph.D) Professor - University of Isfahan

Editor-in-Chief: Dr. Mansour Shariati (Ph.D) Professor - University of Isfahan

Editorial Board

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

Executive and Manuscript Manager: Fariba Hadian (M.Sc)

Scientific English Editor: Fereidoon Parvizian (M.Sc)

General Layout Designer: Marzieh Paeizi (M.Sc)

Professional Layout Designer: Fariba Hadian (M.Sc)

Publisher: University of Isfahan

Address: Journal of Plant Biology Office, Technology and Research Department, University of Isfahan, Hezar Jerib Street, Postal Code 81746-73441, Isfahan, Islamic Republic of Iran.

Email: IJPB@ui.ac.ir

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

Tel: +98-311-7934255

Fax: +98-311-7932177

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** for Print and **ISSN: 2322-2204** for Online 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>

<http://ulrichsweb.serialssolutions.com>

Publication and Lithography: University of Isfahan Publications

Publisher: University of Isfahan

Published: Summer 2013

Journal of Plant Biology

5th Year, No. 16, Summer 2013

Published by
University of Isfahan Research Center