

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

پیشینه‌های
علمی-پژوهشی

سال پنجم - شماره پانزدهم - بهار 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: بهار ۱۳۹۲

مجله زیست‌شناسی گیاهی (علمی - پژوهشی)

سال پنجم - شماره پانزدهم - بهار 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 مسؤول: 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: +۹۸-۳۱۱-۷۹۳۴۲۵۵

شماره دورنگار: +۹۸-۳۱۱-۷۹۳۲۱۷۷

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 پراکنش 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 مسؤل (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 مسؤل: 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. Jenderjit, 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: رنگی پور، ا.، افشارزاده، س.، بلالی دهکردی، 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 الیستینور 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 بذرهاى جوانه‌زده افاقیا پس از دو روز در غلظت‌های مختلف نفت‌خام (۰، ۲، 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 مریکارپ با نگاره (SEM) a: نمای کلی مریکارپ 25X، b: حلقه قاعده‌ای 62x، c: بافت حلقه قاعده‌ای مریکارپ 124X، d: بافت زگیلی و غده‌دار 100X، e: الگوهای متنوع مشبک و چین خورده 250X، f: سطح زگیل‌دار مریکارپ 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 پانزدهم - بهار 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 مراغه	دکتر عزت‌اله اسفندیاری
دانشگاه زابل	دکتر صدیقه اسمعیل‌زاده بهابادی
دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان	دکتر مهناز اقدسی
دانشگاه اراک	دکتر م.مدر □ امیر □انی
دانشگاه ارومیه	دکتر لایفه پورا کبر
دانشگاه شهید مدنی آذربایجان	دکتر نادر □پارزاده
دانشگاه بوعلی سینا	دکتر عبداللریم □هر □انی راد
دانشگاه پیام نور	دکتر مینا ربیعی
دانشگاه پیام نور مرکز نجف آباد	دکتر ر □ یا ر □وی‌زاده
دانشگاه شهرکرد	دکتر لیه □ شبانی
پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی	دکتر مجید قربانی نهو □ی
دانشگاه تربیت مدرس	دکتر □□زه قنلی
دانشگاه بوعلی سینا	دکتر ر □ یا کریمیان
دانشگاه شاهد	دکتر □ر □ کریمی
دانشگاه رازی کرمانشاه	دکتر سید م. □مد مع □ومی
دانشگاه مازندران	دکتر علیر □□ نقی □□اد

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

فهرست

- بهینه‌سازی شرایط باززایی گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) ۱۴-۱
مهناز کرمی، محمدباقر باقریه‌نجار و مهناز اقدسی
- اثر کلرید سدیم و سالیسیلیک اسید بر برخی شاخص‌های فتوسنتزی و تغذیه معدنی گیاه ذرت (*Zea mays* L.) ۳۰-۱۵
نغمه مؤمنی، محمدجواد آروین، غلامرضا خواجه‌جویی نژاد، بتول کرامت و فاطمه دانشمند
- مطالعه ریخت‌شناسی و نمو گل خارشتر (*Alhagi pseudoalhagi* (M. B.) Desv.) و برخی ویژگی‌های تشریحی اجزای آن ۴۴-۳۱
زهرا هاشمی و فرخنده رضائزاد
- مطالعه فلوربستیک و تعیین شکل‌های زیستی گیاهان معدن آهن گلالسی ۵۸-۴۵
بهروز عشقی ملایری، مهتاب عسگری نعمتیان، فاطمه کاظمینی و محمد مهدی دهشیری
- پاسخ‌های فیزیولوژیک سلول‌های جداگشت گیاه جعفری به میدان مغناطیسی ایستا ۶۸-۵۹
الهام رجب‌بیگی، فائزه قناتی و پرویز عبدالمالکی
- مطالعه اثر تنش شوری بر برخی از شاخص‌های رشد در سه گونه از جنس اسپرس (*Onobrychis*) در ایران ۸۲-۶۹
رؤیا کرمان و صدیقه عطایی برازنده
- مطالعه تکوینی فراساختار سلول‌های کلاهدک در ریشه گیاه نخود (*Pisum sativum* L.) ۹۴-۸۳
علی موافقی
- مطالعه اثر پایه و رقم در فعالیت آنزیم PAL، تولید ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در گل، برگ و میوه گیاه پسته (*Pistacia vera* L.) ۱۱۰-۹۵
نازی نادرنژاد، علی احمدی مقدم، سید جواد حسینی فرد و شهرام پورسیدی
- تأثیر تنش خشکی بر رشد و سیستم آنتی‌اکسیدان در سه رقم نخود ۱۲۴-۱۱۱
مریم نصرافهانی

بهینه‌سازی شرایط باززایی گیاه لویا (*Phaseolus vulgaris* L.)

مهناز کرمی، محمدباقر باقریه‌نجانر* و مهناز اقدسی
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان، ایران

چکیده

لویا یکی از مهم‌ترین اعضای تیره باقلانیان (Fabaceae) است که دارای اهمیت اقتصادی درخور توجهی در تغذیه انسان است. باززایی از طریق کشت بافت یکی از روش‌های مناسب و مؤثر برای حفظ و تکثیر گیاهان به شمار می‌رود. در پژوهش حاضر، وضعیت کالوس‌زایی، ساقه‌زایی و ریشه‌زایی در گیاه لویا رقم گلی تحت اثر هورمون‌های بنزیل آمینو پورین و آلفا-نفتالین استیک اسید بررسی شده است. ابتدا بذرها به صورت سطحی استریل و برای به دست آوردن گیاهچه استریل به داخل محیط کشت مناسب منتقل شدند. پس از ۱۰ روز، قطعات جداکشت (هیپوکوتیل، ریشه و برگ) به دست آمده از گیاهچه استریل در ۲۵ تیمار هورمونی مختلف بررسی شدند. برای انجام فرآیندهای باززایی قطعات جداکشت به محیط کشت موراشیگ و اسکوگ جامد متشکل از سوکروز ۳ درصد، ویتامین B5 و هورمون‌های آلفا-نفتالین استیک اسید (با غلظت‌های صفر، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر) و بنزیل آمینو پورین (با غلظت‌های صفر، ۰/۵، ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر) انتقال یافتند. طبق نتایج حاصل، بهترین غلظت برای کالوس‌دهی در ترکیبی از این دو هورمون به میزان ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر هورمون آلفا-نفتالین استیک اسید و ۲ میلی‌گرم در لیتر هورمون بنزیل آمینو پورین به دست آمد. در فرآیند ساقه‌زایی با افزایش غلظت هورمون بنزیل آمینو پورین درصد ساقه‌زایی تا غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر افزایش و پس از آن کاهش یافت. در فرآیند ریشه‌زایی با افزایش غلظت هورمون آلفا-نفتالین استیک اسید ریشه‌زایی افزایش یافت. پس از مراحل بالا گیاهچه کامل تشکیل و به خاک انتقال یافت.

واژه‌های کلیدی: آلفا-نفتالین استیک اسید، بنزیل آمینو پورین، کشت بافت، لویا

مقدمه

(Pollhil, 1994). مقدار پروتئین موجود در بذر حبوبات ۲ تا ۳ برابر بیشتر از پروتئین موجود در دانه غلات و ۱۰ تا ۲۰ برابر بیشتر از پروتئین موجود در گیاهان غده‌ای و نشاسته‌ای است (Broughton et

تیره باقلانیان، تیره بسیار بزرگی با حدود ۱۸۰۰۰ گونه مانند *Glycine max*، *Phaseolus vulgaris* و *Vigna unguiculata* است (Lavin et al., 1990;

آنها روی برگ و ساقه بوده است. باززایی از طریق جنین‌زایی رویشی نیز در کشت بافت لوبیا مشاهده شده است (Allavena and Rossetti, 1983)؛ Saunders *et al.*, Martins and Sondahl, 1984 (1987). Saam و همکاران (۱۹۸۷) تحقیقاتی را روی کشت بافت لوبیا در زمینه تأثیر هورمون‌های سیتوکینین و اکسین انجام دادند و مشاهده کردند که محدوده بالایی از غلظت هورمون BA (بنزیل آدنین) ساقه‌زایی را در گیاه لوبیا القا می‌کند (Saam *et al.*, 1987). القای جوانه‌زنی در لوبیا به غلظت هورمون‌هایی مانند بنزیل آدنین (6-Benzyladenine)، دی متیل آلایل آمینو پورین (2ip) (6- γ -Dimethylallylamino-purine) و جیبرلیک اسید وابسته است (Saam *et al.*, 1987; Zambre, Benedicic *et al.*, 1997) و همکارانش (۲۰۰۱) بیشترین درصد تشکیل ساقه در کالوس‌ها را در محیط کشت حاوی یک میلی گرم در لیتر هورمون BAP مشاهده کردند. بسیاری از گونه‌های تیره باقلانیان مانند لوبیا تمایل بیشتری به تشکیل ریشه نسبت به ساقه دارند (Westhuizen *et al.*, 1990). Ahmed و همکاران (۲۰۰۲) در پژوهشی، بهترین کالوس‌ها را در محیط کشت MS حاوی هورمون بنزیل آدنین با غلظت یک میلی گرم در لیتر و نفتالین استیک اسید با غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر در قطعه جدا کشت گرهک لپه‌ای به دست آوردند. در این کشت نتایجی که به دست آمد مشابه نتایج به دست آمده از آزمایش‌های Malik و Saxena (۱۹۹۱) بود. بر اساس نتایج حاصل سلول‌های جوان‌تر پاسخ بهتری به محرک‌های هورمونی می‌دهند (Ahmed *et al.*,

2003). *al.*، لوبیا با حدود ۱۸-۳۵ درصد پروتئین از منابع غذایی مهم برای انسان به شمار می‌رود (Varisia *et al.*, 2006). ترکیب مناسبی از پروتئین لوبیا به همراه پروتئین غلات موجب برطرف شدن کمبود اسید آمینه و سوء تغذیه است (ون شونهوون و ویست، ۱۳۸۰). کم‌آبی و شوری از عوامل محدود کننده عملکرد لوبیا محسوب می‌شوند (واعظی راد و همکاران، ۱۳۸۷). باززایی لوبیا در شرایط آزمایشگاه چه به صورت غیر مستقیم از طریق کالوس‌زایی و چه به صورت مستقیم از طریق اندام‌زایی و یا جنین‌زایی رویشی (Somatic embryogenesis) به سختی انجام می‌شود، به همین دلیل انتقال ژن با سرعت پایینی انجام می‌گیرد (McClean and Grafton, 1989; Veltecheva *et al.*, 2005). کشت بافت یکی از مراحل ضروری و لازم برای انجام مراحل انتقال ژن است (Angelini and Allavena, 1989). در بیشتر آزمایش‌ها در این زمینه کشت در محیط پایه موراشیگ و اسکوگ (Morashige and Skoog, 1962) همراه با نسبت‌های مختلفی از هورمون‌های گیاهی انجام شده است. در بیشتر تحقیقات، در هنگام برش قطعات جدا کشت به علت میزان بالای فنل گیاه و وقوع واکنش قهوه‌ای شدن (browning) باززایی مختل شده، به همین علت کشت در تاریکی انجام می‌شود (Bhat and Chandel, 1991; Laukkanen *et al.*, 1999). تاکنون، آزمایش‌هایی روی اندام‌های مختلف گیاه لوبیا از جمله برگ (Veltecheva *et al.*, 2005) (Hoddon and ساک، 1976) (Pelcher *et al.*, Northcote, 1976)، پروتوپلاست (1974) و جنین انجام شده است که موفقیت‌آمیزترین

غلظت؛ ۲) یافتن بهترین قطعه جداکشت با آزمون بازرایی در بخش‌های مختلف گیاه در کمینه غلظت هورمونی؛ ۳) دست یافتن به عوامل تأثیرگذار در فرآیند بازرایی در شرایط *in vitro* برای کاهش غلظت هورمون‌های استفاده شده؛ ۴) دست یافتن به گیاهچه کامل و سازگاری رشد گیاهچه با خاک. در این مطالعه، غلظت‌های هورمونی به مراتب کمتر از غلظت‌های پیشنهادی مطالعات قبلی استفاده شد و شرایط بهینه کالوس‌زایی در روشنایی بدون تولید ترکیبات فنلی شرح داده شده است. به علاوه، شرایط بهینه دستیابی به گیاه کامل از کشت کالوس به عنوان یکی از مراحل لازم برای انتقال ژن به گیاه بیان شده است و در مجموع، همه مراحل بازرایی گیاه لوبیای رقم ایرانی گلی با توجه به شرایط آزمایشگاهی کشور به گونه‌ای بومی سازی شده است که برای تولید لوبیای تراریخت مناسب باشد.

مواد و روش‌ها کشت گیاهان

ابتدا بذرهای رقم گلی و اختر لوبیا قرمز (*Phaseolus vulgaris* L.) از مرکز تحقیقات خمین تهیه شد. برای به دست آوردن گیاهچه استریل، بذرهای رقم گلی و اختر پس از شستشو، ابتدا برای استریل سطحی با اتانول ۷۰ درصد به مدت ۳ دقیقه تیمار و سپس با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم ۱۵ درصد به مدت یک دقیقه ضدعفونی شدند. پس از ۳-۴ بار شستشو با آب مقطر استریل، بذرها برای کشت آماده شدند. به علت جوانه‌زنی پایین رقم اختر آزمایش‌های بعدی روی رقم گلی انجام شد. بذرهای استریل در

(2002). تحقیقات امیری و فهیمی (۱۳۸۲) نشان داد بهترین تیمار هورمونی برای رشد کالوس‌ها در تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر از هورمون ۲ و ۴ دی‌کلرو فنوکسی استیک اسید (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid: 2,4-D) و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر از هورمون کینتین (kinetin) در قطعه جدا کشت محور زیر لپه (hypocotil) است. فرآیند ریشه‌زایی در قطعات جدا کشت برگ لپه‌ای در تیمار هورمونی ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر از هورمون ۲ و ۴ دی‌کلرو فنوکسی استیک اسید و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر از هورمون کینتین مشاهده شد (امیری و فهیمی، ۱۳۸۲).

بازرایی از طریق کشت بافت یکی از روش‌های مناسب و مؤثر برای حفظ و تکثیر گیاهان به شمار می‌رود و بهینه‌سازی روش‌های کلی انتقال ژن متناسب با نوع گونه مورد نظر با توجه به پیچیدگی‌های ساختاری گونه‌های مختلف از دیرباز مورد توجه دانشمندان بوده است. نظر به اهمیت لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) به عنوان مهم‌ترین گیاه زراعی در تیره باقلائیان و حساسیت آن به خشکی و شوری خاک، با بهینه‌سازی کشت بافت این گیاه می‌توان زمینه را برای وارد کردن ژن‌های مناسب برای افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی مهیا ساخت. تاکنون با استفاده از هورمون‌های مختلف بازرایی در گیاه لوبیا به مراتب انجام گرفته و هدف بیشتر آنها مطالعه کالوس‌ها و سنجش عناصر مختلف در آن بوده است. بنابراین، از غلظت بالای هورمونی استفاده کرده‌اند که برای تولید گیاه تراریخت توصیه نمی‌شود. اهداف پژوهش حاضر عبارت است از: ۱) یافتن بهترین تیمار هورمونی برای بازرایی رقم گلی گیاه لوبیا در شرایط *in vitro* با کمینه

نمونه‌ها انجام شد. در این تحقیق، ساقه‌زایی، مشاهده ساقه بیش از یک سانتی‌متر با داشتن کمینه دو برگ و ریشه‌زایی، مشاهده ریشه بیش از یک سانتی‌متر در نظر گرفته شده است.

تحلیل داده‌ها

همه آزمایش‌ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد که در آن آثار اصلی شامل تیمارهای هورمونی و انواع قطعات جدا کشت بود. تجزیه و تحلیل داده‌ها با آزمون LSmeans (LSD) آزمون دانکن ۱ در سطح احتمال ۵ درصد با نرم‌افزار SAS و رسم نمودارها و جدول‌ها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

بررسی فرآیند کالوس‌زایی

در این بررسی قطعات جدا کشت (هیپوکوتیل، ریشه و برگ) روی محیط کشت پایه MS جامد حاوی سوکروز ۳ درصد، ویتامین B5 و غلظت‌های مختلفی از دو هورمون NAA و BAP قرار گرفتند. در این آزمایش، از ۲۵ غلظت ترکیبی از دو هورمون NAA و BAP استفاده شد. اولین واکنش‌های به تشکیل کالوس در قطعات جدا کشت پس از گذشت ۴ روز مشاهده مربوط بود و این فرآیند پس از گذشت ۱۴ روز کامل شد (شکل ۷). کالوس‌های مورد نظر برای انجام فرآیند باززایی (تشکیل ساقه و ریشه) در مراحل بعدی آزمایش استفاده شدند. پس از بررسی‌های آماری، نتایج نشان داد که هر دو هورمون NAA و BAP باعث القای فرآیند کالوس‌زایی در قطعات جدا کشت می‌شوند. تشکیل کالوس در بیشتر غلظت‌ها در قطعات جدا کشت

داخل محیط کشت جامد حاوی آب و آگار ۰/۸ درصد به مدت یک هفته تا ۱۰ روز کشت شدند. سپس، نمونه‌های کشت شده به اتاقک کشت با شرایط کاملاً تنظیم شده از نظر دما (25 ± 2 درجه سانتیگراد)، رطوبت، جریان هوا، کیفیت و طول مدت روشنایی (فتوپریود 16 ± 8) قرار داده شدند.

انجام مراحل باززایی

از گیاهچه‌های استریل، قطعات جدا کشت مختلف شامل هیپوکوتیل، ریشه و برگ تهیه شد. برای انجام مراحل باززایی در گیاه، قطعات جدا کشت به محیط کشت MS جامد حاوی غلظت‌های مختلف هورمونی، سوکروز ۳ درصد و ویتامین B5 انتقال یافتند. آزمایش‌ها در ۲۵ تیمار هورمونی مختلف از دو هورمون NAA (α - نفتالین استیک اسید) و BAP (بنزیل آمینو پورین) مطابق جدول ۱، به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی هر کدام با ۳ تکرار انجام شد. از هر یک از قطعات جدا کشت، ۵ عدد در هر پتری دیش کشت و به اتاقک کشت منتقل شد. در بیشتر تحقیقات، کشت گیاهچه استریل و قطعات جدا کشت به علت فنل بالای این گیاه و پدیده قهوه‌ای شدن در تاریکی انجام می‌شد، اما در پژوهش حاضر، همه مراحل کشت در روشنایی و شرایط اتاقک کشت انجام شد.

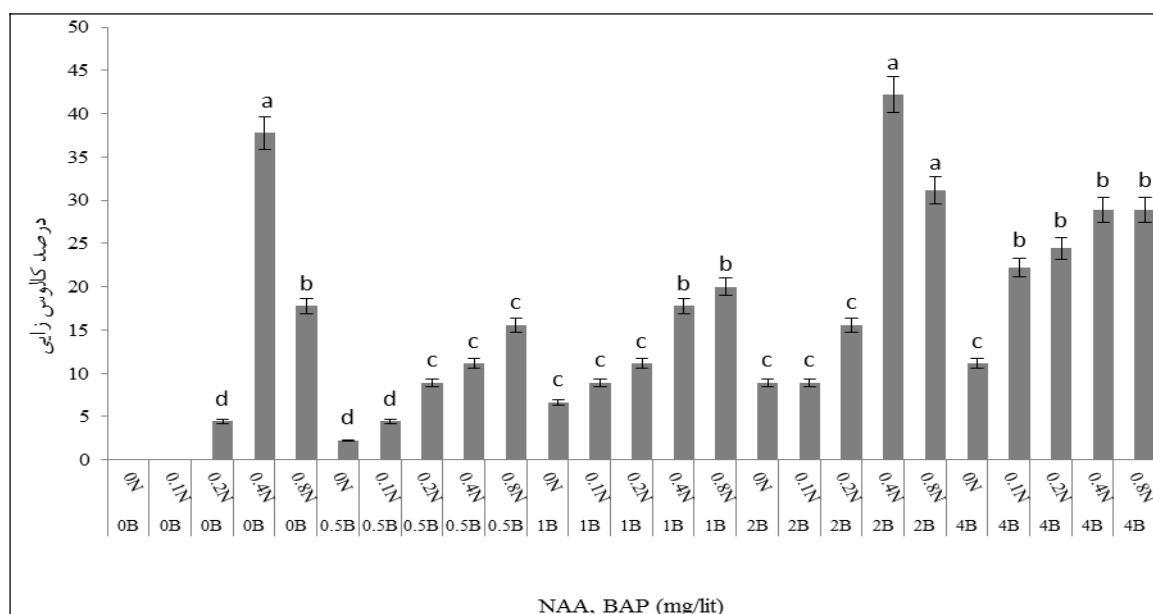
جدول ۱- غلظت هورمون‌های استفاده شده در آزمایش

هورمون		غلظت (میلی‌گرم در لیتر)			
نفتالین استیک اسید (NAA)	۰	۰/۱	۰/۲	۰/۴	۰/۸
بنزیل آمینوپورین (BAP)	۰	۰/۵	۱	۲	۴

سپس، مشاهدات حاصل از فرآیندهای تشکیل کالوس، ساقه، برگ و ریشه ثبت و عکس برداری از

۰/۴ میلی گرم در لیتر هورمون NAA و ۲ میلی گرم در لیتر هورمون BAP)، (۰/۴ میلی گرم در لیتر هورمون NAA بدون حضور هورمون BAP) و (۰/۸ میلی گرم در لیتر هورمون BAP) در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارند (شکل ۱). بنابراین، برای تشکیل کالوس در قطعات جدا کشت توصیه می شود در محیط های حاوی تیمارهای هورمونی (۰/۴ میلی گرم در لیتر هورمون NAA و ۲ میلی گرم در لیتر هورمون BAP)، (۰/۴ میلی گرم در لیتر هورمون NAA بدون حضور هورمون BAP) و (۰/۸ میلی گرم در لیتر هورمون NAA و ۲ میلی گرم در لیتر هورمون BAP) کشت شوند.

مشاهده شد. بیشترین درصد تشکیل کالوس (۹۵ درصد) در قطعات جدا کشت هیپوکوتیل و فقط حدود ۵ درصد در قطعات جدا کشت ریشه مشاهده شد. در قطعات جدا کشت برگ هیچ گونه کالوسی تشکیل نشد. همان طور که در شکل ۲ مشاهده می شود بیشترین تولید کالوس در قطعات جدا کشت هیپوکوتیل در غلظت ۲ میلی گرم در لیتر هورمون BAP و ۰/۴ میلی گرم در لیتر هورمون NAA است (۴۲ درصد). در غلظت ۰/۴ میلی گرم در لیتر هورمون NAA بدون حضور هورمون BAP کالوس زایی در حدود ۳۷ درصد مشاهده می شود. نتایج حاصل از جدول آنالیز واریانس و آزمون دانکن نشان می دهد که تیمارهای هورمونی



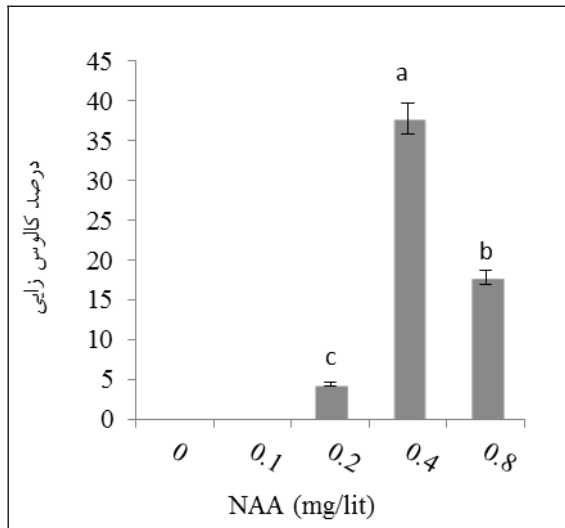
شکل ۱- بررسی برهم کنش هورمون های NAA و BAP بر درصد کالوس زایی در قطعات جدا کشت هیپوکوتیل گیاه لوبیا رقم گلی بر اساس آزمون LSD: N. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.

در غلظت ۴ میلی گرم در لیتر مشاهده می شود (شکل ۲ الف). از نظر آماری غلظت های ۱، ۲ و ۴ میلی گرم در لیتر هورمون BAP تفاوت معنی داری را در سطح ۵ درصد از خود نشان نمی دهند. اما در بررسی تأثیر

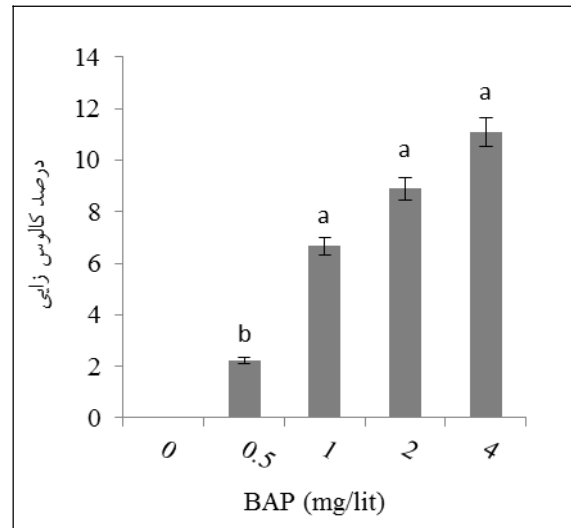
بررسی تأثیر هر یک از هورمون ها به صورت مجزا در کالوس زایی

در تأثیر هورمون BAP به تنهایی در تشکیل کالوس، بیشترین میزان کالوس زایی حدود ۱۱ درصد

صورت ترکیبی به همراه هورمون NAA استفاده شود، فرآیند کالوس‌زایی را تشدید می‌کند. برای مثال، درصد کالوس‌زایی در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP بدون حضور هورمون NAA فقط در حدود ۹ درصد است، در حالی که در همین غلظت در حالت ترکیبی با هورمون NAA این فرآیند تا حدود ۴۲ درصد افزایش یافته است. در حالی که استفاده از هورمون NAA به تنهایی در غلظت ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش کالوس‌زایی تا حدود ۳۸ درصد شده است.



هورمون NAA به تنهایی، تشکیل کالوس در دو غلظت صفر و ۰/۱ مشاهده نمی‌شود (شکل ۲ ب). بیشترین تولید کالوس در غلظت ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA مشاهده می‌شود (۳۸ درصد). از نظر آماری غلظت ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA اختلاف معنی‌داری را در سطح ۵ درصد با غلظت ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA نشان می‌دهد. مقایسه شکل ۲ (الف و ب) نشان می‌دهد که هورمون NAA به تنهایی در القای فرآیند کالوس‌زایی نسبت به هورمون BAP بهتر عمل می‌کند. اما هورمون BAP هنگامی که به



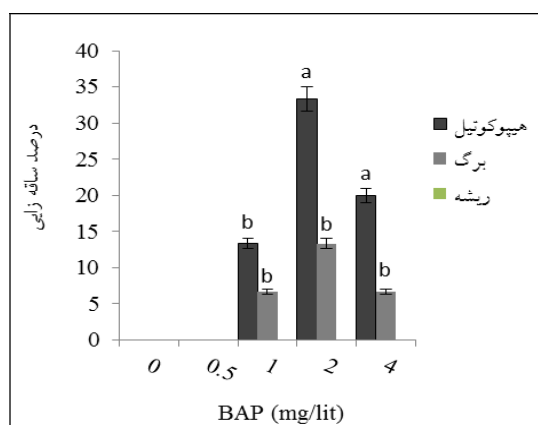
شکل ۲-الف) بررسی تأثیر هورمون BAP به تنهایی بر درصد کالوس‌زایی در قطعات جدا کشت هیپوکوتیل، ب) بررسی تأثیر هورمون NAA به تنهایی بر درصد کالوس‌زایی در قطعات جدا کشت هیپوکوتیل. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

میلی‌گرم در لیتر هر کدام با ۳ تکرار انجام شد. پس از گذشت ۱۰ روز نخستین واکنش‌های مربوط به تشکیل ساقه در کالوس‌ها مشاهده شد. واکنش کالوس‌ها و انتقال آنها به محیط کشت جدید، هر ۵ روز یک بار انجام شد. در مسیر مستقیم، ساقه‌ها پس از گذشت ۸ روز در قطعات جدا کشت و در مسیر غیر مستقیم پس از گذشت ۱۵ روز در کالوس‌ها تشکیل شدند (شکل ۷).

بررسی تأثیر هورمون BAP در ساقه‌زایی

در این بررسی، به منظور القای فرآیند باززایی در مسیر مستقیم قطعات جدا کشت (هیپوکوتیل، ریشه و برگ) و در مسیر غیر مستقیم کالوس‌های تشکیل شده در مرحله پیشین به محیط کشت MS جامد حاوی سوکروز ۳ درصد، ویتامین B5 و غلظت‌های مختلف هورمون BAP انتقال یافتند. آزمایش‌ها در ۵ غلظت صفر، ۰/۵، ۱، ۲ و ۴

جدا کشت برگ نیز با افزایش هورمون BAP افزایش یافت و در غلظت ۲ میلی گرم در لیتر هورمون BAP به بیشترین میزان در حدود ۱۳ درصد رسیده است. در قطعات جدا کشت ریشه هیچ گونه ساقه‌زایی مشاهده نمی‌شود. بنابراین، بهترین قطعه جدا کشت در پاسخ به فرآیند ساقه‌زایی هیپوکوتیل است. نتایج حاصل از جدول آنالیز واریانس و آزمون دانکن آثار متقابل قطعات جدا کشت هیپوکوتیل و غلظت‌های مختلف هورمون BAP بر درصد ساقه‌زایی نشان می‌دهد که غلظت‌های هورمونی ۲ و ۴ میلی گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری را در سطح ۵ درصد ندارند. اما ساقه‌زایی در غلظت ۲ میلی گرم در لیتر هورمون BAP در قطعات جدا کشت هیپوکوتیل و برگ اختلاف معنی‌داری را در سطح ۵ درصد نشان می‌دهند. در قطعات جدا کشت برگ در غلظت‌های مختلف هورمون BAP اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد مشاهده نمی‌شود (شکل ۴).

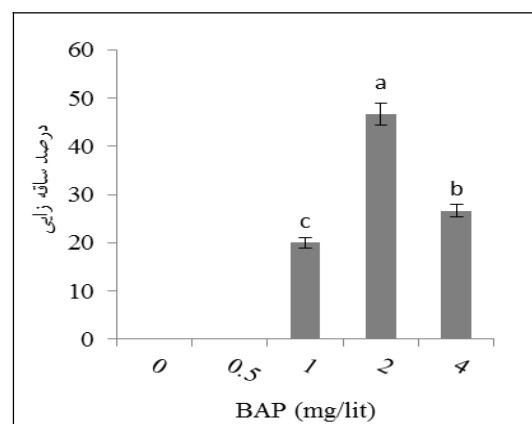


شکل ۴- بررسی آثار متقابل قطعات مختلف جدا کشت و غلظت‌های مختلف هورمون BAP بر درصد ساقه‌زایی.

بررسی تأثیر هورمون NAA در ریشه‌زایی

در این بررسی، ابتدا قطعات جدا کشت هیپوکوتیل، ریشه و برگ در محیط کشت MS جامد حاوی

همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود با افزایش غلظت هورمون BAP ساقه‌زایی تا غلظت ۲ میلی گرم در لیتر افزایش و پس از آن کاهش یافته است. در دو غلظت صفر و ۰/۵ میلی گرم در لیتر هورمون BAP فرآیند ساقه‌زایی اصلاً مشاهده نمی‌شود. بهترین غلظت برای القای فرآیند ساقه‌زایی در غلظت ۲ میلی گرم در لیتر هورمون BAP مشاهده می‌شود (۴۶ درصد). نتایج حاصل از جدول آنالیز واریانس و آزمون دانکن اثر غلظت‌های مختلف هورمون BAP بر درصد ساقه‌زایی، نشان می‌دهد که غلظت ۲ میلی گرم در لیتر تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵ درصد با غلظت‌های دیگر دارد (شکل ۳).

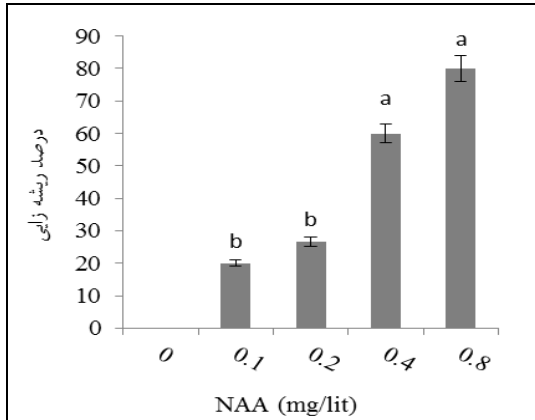


شکل ۳- بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف هورمون BAP بر درصد ساقه‌زایی در حالت کلی و بدون در نظر گرفتن قطعات جدا کشت.

بررسی تأثیر قطعات مختلف جدا کشت در ساقه‌زایی

در این قسمت از تحقیق، تأثیر هر یک از قطعات مختلف هیپوکوتیل، برگ و ریشه در ساقه‌زایی بررسی شده است. همان‌طور که شکل ۴ نشان می‌دهد بیشترین میزان ساقه‌زایی در قطعات جدا کشت هیپوکوتیل در غلظت ۲ میلی گرم در لیتر هورمون BAP مشاهده می‌شود. این در حالی است که ساقه‌زایی در قطعات

انجامید. سپس، گیاهچه‌های کامل به خاک جنگل حاوی خزه و ورمیکولیت با نسبت (۱:۱:۵) انتقال داده شدند (شکل ۷).



شکل ۵- بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف هورمون NAA بر درصد ریشه‌زایی در حالت کلی و بدون در نظر گرفتن قطعات جدا کشت.

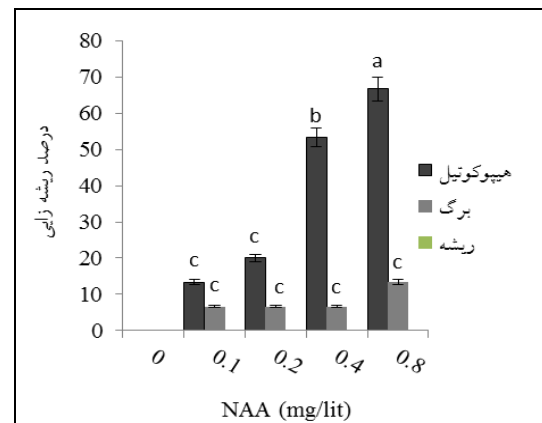
بررسی تأثیر قطعات مختلف جدا کشت در ریشه‌زایی

در این بخش، تأثیر هر یک از قطعات مختلف هیپوکوتیل، برگ و ریشه در ریشه‌زایی بررسی شد. همان‌طور که شکل ۶ نشان می‌دهد بیشترین میزان ریشه‌زایی در غلظت ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA در قطعات جدا کشت هیپوکوتیل مشاهده می‌شود. در قطعات جدا کشت برگ، ریشه‌زایی به مقدار محدودی در حدود ۱۳ درصد در غلظت ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA مشاهده می‌شود، در حالی که در قطعات جدا کشت ریشه هیچ‌گونه پاسخی از القای فرآیند ریشه‌زایی مشاهده نمی‌شود. نتایج حاصل از جدول آنالیز واریانس و آزمون دانکن آثار متقابل قطعات جدا کشت هیپوکوتیل و غلظت‌های مختلف هورمونی NAA بر درصد ریشه‌زایی نشان می‌دهد که غلظت‌های ۰/۴ و ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر

سوکرز ۳ درصد، ویتامین B5 و غلظت‌های مختلف صفر، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA قرار گرفتند. سپس، بهترین غلظت‌هایی که ریشه‌زایی در آنها اتفاق افتاد، به دست آمد. طبق شکل ۵ با افزایش غلظت هورمون NAA، ریشه‌زایی نیز افزایش یافته است. بیشترین ریشه‌زایی در غلظت ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA مشاهده می‌شود (۸۰ درصد). نتایج حاصل از جدول آنالیز واریانس و آزمون دانکن نشان می‌دهد که غلظت‌های ۰/۸ و ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند. پس از به دست آوردن بهترین تیمار هورمونی برای ایجاد ریشه در ساقه‌های متشکل از مرحله پیشین و تشکیل گیاهچه کامل، ساقه‌ها در سه تیمار هورمونی: ۱) ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA بدون BAP، ۲) ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP، ۳) ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA و یک میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP قرار گرفتند. طبق مشاهدات نخستین، در محیط کشت حاوی غلظت هورمونی ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA بدون حضور BAP ساقه‌ها نکروزه شدند و از بین رفتند. در غلظت هورمونی ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP مدت زمان تشکیل ریشه خیلی طولانی شد. بهترین وضعیت تشکیل ریشه‌ها در تیمار هورمونی ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP مشاهده شد. واکشت ساقه‌ها و انتقال آنها به محیط کشت جدید، هر سه روز یک بار انجام شد. القای فرآیند ریشه‌زایی در ساقه‌ها و تشکیل گیاهچه‌های کامل ۸-۱۲ روز به طول

هورمون NAA و ۲ میلی‌گرم در لیتر از هورمون BAP (۴۲ درصد)، ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA بدون حضور هورمون BAP (۳۸ درصد) و ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA و ۲ میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP (۳۱ درصد) مشاهده شد (شکل ۱). در نتایجی غیر مشابه Ahmed و همکارانش (۲۰۰۲) بهترین کالوس‌ها را در محیط کشت MS حاوی هورمون بنزید آدنین با غلظت یک میلی‌گرم در لیتر و α -نفتالین استیک اسید با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر به دست آوردند. بیشترین تولید کالوس هم در پژوهش احمد و همکارانش (۲۰۰۲) و هم در پژوهش حاضر حاصل برهم‌کنش دو هورمون اکسینی و سیتوکینینی است. ظاهراً به نظر می‌رسد به علت این که قطعات جدا کشت مورد استفاده در دو آزمایش متفاوت بوده است، غلظت‌های بهینه هورمون‌های به کار برده شده نیز متفاوت است. البته احتمال این که گونه‌های مختلف استفاده شده و شرایط آزمایشگاهی متفاوت علت اصلی تفاوت مشاهده شده در غلظت‌های بهینه هورمون‌هاست را نیز نمی‌توان از نظر دور داشت. امیری و فهیمی (۱۳۸۲) در نتایجی غیر مشابه بهترین کالوس‌ها را در قطعات جدا کشت هیپوکوتیل رقم ناز در غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون 2,4-D و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون Kin به دست آوردند. قابل تأمل این که هورمون‌های NAA و BAP نسبت به هورمون‌های 2,4-D و Kin، هورمون‌های ضعیف‌تری محسوب می‌شوند. در بیشتر مطالعات مانند مطالعه حاضر، بهترین کالوس‌ها در تیمار هورمونی متشکل از دو هورمون اکسینی و سیتوکینینی ایجاد می‌شوند. قطعات جدا کشت هیپوکوتیل، ریشه و برگ نتایج مختلفی را در

اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد دارند. همچنین، در غلظت‌های ۰/۴ و ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA در قطعات جدا کشت هیپوکوتیل و برگ اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد مشاهده می‌شود. در غلظت‌های پایین‌تر هورمون NAA اختلاف معنی‌دار بین قطعات جدا کشت هیپوکوتیل و برگ مشاهده نمی‌شود.



شکل ۶- بررسی آثار متقابل قطعات مختلف جدا کشت و غلظت‌های مختلف هورمون NAA بر درصد ریشه‌زایی.

بحث

برای انجام باززایی در شرایط *in vitro* پس از به دست آوردن گیاهچه استریل قطعات ریشه، برگ و هیپوکوتیل در محیط کشت MS حاوی سوکروز ۳ درصد و ویتامین B5 با غلظت‌های هورمونی متفاوت کشت شدند. آزمایش‌ها در ۲۵ غلظت هورمونی از ترکیب دو هورمون NAA و BAP هر کدام با ۳ تکرار انجام شد. در ۲۳ غلظت تشکیل کالوس مشاهده شد. کالوس‌های تشکیل شده در بیشتر غلظت‌ها کرم‌رنگ و در برخی بی‌رنگ و از نظر ساختار فیزیکی نرم بودند (شکل ۷ الف و ب). بیشترین درصد تشکیل کالوس به ترتیب در تیمارهای هورمونی ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر از

در غلظت ۲ میلی گرم در لیتر هورمون BAP بیشترین میزان ساقه‌زایی یعنی در حدود ۱۳ درصد مشاهده می‌شود. در قطعات جدا کشت ریشه هیچ گونه ساقه‌زایی مشاهده نمی‌شود (شکل ۴). همان طور که Saam و همکاران (۱۹۸۷) مشاهده کردند محدوده بالایی از غلظت هورمون‌های سیتوکینینی مانند BA (بنزیل آدنین) ساقه‌زایی را در گیاه لویبا القا می‌کند، نتایج آزمایش حاضر نیز این مهم را به اثبات می‌رساند. نتایج تحقیقات انجام شده توسط Delgado-Sanchez و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که غلظت‌های بسیار بالای BAP باعث تشکیل ساقه در کالوس‌ها می‌شود. آنها همچنین، ساقه‌زایی را در ۴ غلظت صفر، ۰/۱، ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر هورمون BAP بررسی کردند. ساقه‌زایی در غلظت‌های صفر و ۰/۱ مشاهده نشد، در حالی که در غلظت‌های ۵ و ۱۰ به خوبی مشاهده شد. نتایج این گروه نیز گویای این است که در غلظت‌های پایین BAP ساقه‌زایی اتفاق نمی‌افتد. در پژوهشی دیگر توسط Zambre و همکاران (۲۰۰۱) القای فرآیند ساقه‌زایی در کالوس‌ها در محیط کشت حاوی ۱ میلی گرم در لیتر هورمون BAP مشاهده شد. بنابراین، نتایج تحقیق حاضر در القای فرآیند ساقه‌زایی با نتایج بیشتر تحقیقات در این زمینه مغایرت دارد که برای القای فرآیند ساقه‌زایی به غلظت‌های بالایی از هورمون‌های سیتوکینینی نیاز است.

در فرآیند ریشه‌زایی با افزایش غلظت هورمون NAA ریشه‌زایی افزایش یافته است. بهترین ریشه‌زایی‌ها در تیمارهای هورمونی ۰/۸ میلی گرم در لیتر هورمون NAA (۸۰ درصد) و ۰/۴ میلی گرم در لیتر هورمون NAA (۶۰ درصد) مشاهده می‌شود (شکل

فرآیند تشکیل کالوس در غلظت‌های مختلف هورمونی از خود نشان دادند.

نتایج کشت قطعات جدا کشت برگ نشان داد که آنها در هیچ یک از غلظت‌ها قادر به کالوس‌زایی نیستند و پس از مدت زمان کوتاهی نکروزه شده و از بین می‌روند. این فرآیند به خوبی در قطعات جدا کشت هیپوکوتیل در حدود ۹۵ درصد مشاهده شد. تشکیل کالوس در قطعات جدا کشت ریشه فقط در حدود ۵ درصد در تیمار هورمونی ۰/۴ میلی گرم در لیتر از هورمون NAA و ۲ میلی گرم در لیتر از هورمون BAP مشاهده شد. بهترین قطعات جدا کشت برای تشکیل کالوس طبق تحقیقات Malik و Saxena (۱۹۹۱) برگ، امیری و فهیمی (۱۳۸۲) هیپوکوتیل، Ahmed و همکاران (۲۰۰۲) گرهک لپه‌ای، El-Shemy و همکاران (۲۰۰۲) اپی کوتیل و Veltecheva و همکاران (۲۰۰۵) برگ، در گونه‌های مختلف لویبا معرفی شده‌اند.

در القای فرآیند ساقه‌زایی با افزایش غلظت هورمون BAP ساقه‌زایی تا غلظت ۲ میلی گرم در لیتر افزایش و پس از آن کاهش یافته است (شکل ۳). شایان ذکر است که در غلظت‌های پایین این هورمون یعنی در غلظت‌های صفر و ۰/۵ میلی گرم در لیتر فرآیند ساقه‌زایی اصلاً مشاهده نمی‌شود. بیشترین تشکیل ساقه و برگ در غلظت ۲ میلی گرم در لیتر هورمون BAP مشاهده می‌شود (۴۶ درصد). در بررسی تأثیر هر یک از قطعات مختلف هیپوکوتیل، برگ و ریشه در ساقه‌زایی بیشترین میزان ساقه‌زایی در قطعات جدا کشت هیپوکوتیل در غلظت ۲ میلی گرم در لیتر هورمون BAP مشاهده می‌شود. در قطعات جدا کشت برگ نیز ساقه‌زایی با افزایش میزان هورمون BAP افزایش یافته و

سلول‌های جوان‌تر گیاه پاسخ بهتری به محرک‌های هورمونی می‌دهند. بهترین کالوس‌ها در تیماری از ترکیب دو هورمون NAA و BAP به دست آمد. هورمون NAA نقش بسزایی در ایجاد کالوس و ریشه دارد. همه فرآیندهای تشکیل کالوس، ساقه و ریشه به خوبی در قطعات جدا کشت هیپوکوتیل مشاهده شد.



شکل ۷- مراحل بازرایی در رقم گلی گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Goli). الف و ب) کالوس‌زایی در قطعات جدا کشت هیپوکوتیل در غلظت ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA و ۲ میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP پس از گذشت ۱۴ روز؛ پ و ت) تشکیل ساقه و برگ در کالوس‌ها در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP پس از گذشت ۱۵ روز؛ ث و ج) ساقه‌زایی در مسیر مستقیم بازرایی در قطعات جدا کشت هیپوکوتیل و برگ در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP پس از گذشت ۸ روز؛ چ) ریشه‌زایی در قطعه جدا کشت برگ در غلظت ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA پس از گذشت ۵ روز و یافتن بهترین غلظت برای القای فرآیند ریشه‌زایی؛ ح) انتقال ساقه‌ها به محیط کشت حاوی هورمون NAA برای ریشه‌زایی و تشکیل گیاهچه کامل پس از گذشت ۱۲ روز؛ خ) انتقال گیاهچه به خاک جنگل حاوی خزه و ورمیکولیت با نسبت (۱:۵).

۵). در بررسی تأثیر هر یک از قطعات مختلف هیپوکوتیل، برگ و ریشه در ریشه‌زایی، بیشترین میزان ریشه‌زایی در غلظت ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA در قطعات جدا کشت هیپوکوتیل مشاهده می‌شود. در قطعات جدا کشت برگ نیز ریشه‌زایی به مقدار محدودی در حدود ۱۳ درصد در غلظت ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA مشاهده می‌شود، در حالی که در قطعات جدا کشت ریشه هیچ گونه پاسخی از القای فرآیند ریشه‌زایی مشاهده نمی‌شود (شکل ۶). در پژوهش‌های امیری و فهیمی (۱۳۸۲) ریشه‌زایی در غلظت ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون 2,4-D با طول بسیار کوتاه مشاهده شده است، در حالی که در پژوهش حاضر در غلظت ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA طول ریشه‌ها بیش از ۱۰ سانتی‌متر نیز مشاهده می‌شود (شکل ۷). قابل تأمل است که هورمون NAA نسبت به هورمون 2,4-D هورمون ضعیف‌تری محسوب می‌شود. Zambre و همکارانش (۱۹۹۸) بهترین ریشه‌ها را در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر هورمون IAA (*Indole-3-Acetic Acid*) مشاهده کردند. نتایج مطالعه حاضر در القای فرآیند ریشه‌زایی با نتایج بیشتر تحقیقات در این زمینه مغایرت دارد. طبق نتایج Westhuizen و همکاران (۱۹۹۰) بسیاری از گونه‌های تیره باقلائیان مانند لوبیا تمایل بیشتری به تشکیل ریشه نسبت به ساقه دارند که نتایج حاصل از پژوهش حاضر این مهم را به اثبات می‌رساند.

نتیجه‌گیری

باززایی در رقم گلی گیاه لوبیا در حضور هورمون‌های NAA و BAP به خوبی انجام می‌شود.

سپاسگزاری

همچنین، از دانشگاه گلستان برای حمایت مالی پژوهشی قدردانی می‌شود.

نویسندگان از زحمات سرکار خانم معصومه چخماقی و سرکار خانم دکتر مهناز خلفی برای مساعدت در تحلیل‌های آماری قدردانی می‌کنند.

منابع

مختلف رشد بر عملکرد دانه در لوبیای قرمز. مجله دانش نوین کشاورزی ۱۰: ۸۵-۹۴.
ون شونهون، ا. و ویست، ا. (۱۳۸۰) زراعت و اصلاح لوبیا. ترجمه باقری، ع.، محمودی، ع. ا. و دین قزلی، ف. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، مشهد.

امیری، ح. و فهیمی، ح. (۱۳۸۲) بررسی اثر غلظت‌های مختلف پتاسیم در مقاومت به شوری گیاه لوبیا در کشت بافت. مجله علوم دانشگاه تهران ۲۹: ۳۱۷-۳۲۶.

واعظی راد، س.، شکاری، ف.، شیرانی راد، ا. و زنگانی، ا. (۱۳۸۷) اثر تنش کم آبی در مراحل

Allavena, A. and Rossetti, L. (1983) Efforts in somatic embryogenesis of *Phaseolus vulgaris* L. Acta Horticulturae 131: 239-246.

Angelini, R. R. and Allavena, A. (1989) Plant regeneration from immature cotyledon explant cultures of bean (*Phaseolus coccineus* L.). Plant Cell Tissue Organ Culture 19: 167-174.

Benedicic, D., Ravanikar, M. and Gogala, N. (1997) The regeneration of bean plants from meristem culture. Phyton (Horn, Austria) 37: 151-160.

Bhat, S. R. and Chandel, K. P. S. (1991) A novel technique to overcome browning in tissue culture. Plant Cell Reports 7: 358-361.

Broughton, W. J., Hernandez, G., Blair, M., Beebe, S., Gepts, P. and Vanderleyden, J. (2003) Beans model food legumes. Plant and Soil 252: 55-128.

Delgado-Sanchez, P., Saucedo-Ruiz, M., Guzman-Maldonado, S. H., Villordo-Pineda, E., Gonzalez-Chavira, M., Fraire-Vaelazquez, S., Acosta-Gallegos, J. A. and Mora-Aviles, A. (2006) An organic plant regeneration system for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Plant Science 170: 822-827.

Eissa Ahmed, E., Bisztray, G. Y. D. and Velich, I. (2002) Plant regeneration from seedling explant of common bean. Acta Biologica Szegediensis 46: 27-28.

El-Shemy, A. H., Khalafalla, M., Wakasa, K. and Ishimoto, M. (2002) Reproducible transformation in two grain legumes soybean and azuki bean using different systems. Cellular and Molecular Biology 7: 709-719.

Hodson, L. and Northcote, D. H. (1976) The effect of growth conditions and origin of tissue on the ploidy and morphogenetic potential of tissue cultures of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Experimental Botany 27: 1031-1051.

Laukkaen, H., Haggman, H., Kontunen, S. and Hohtola, A. (1999) Tissue browning of *in vitro* cultures of Scots pine: role of peroxidase and polyphenol oxidase. Physiologia Plantarum 3: 337-343.

Lavin, M., Doyle, J. J. and Palmer, J. D. (1990) Evolutionary significance of the loss of the chloroplast-DNA inverted repeat in the Leguminosae subfamily Papilionoideae. Evolution 44: 390-402.

Malik, K. A., and Saxena, P. K. (1991) Regeneration in *Phaseolus vulgaris* promotive role of N6-benzylaminopurine in

- culture from juvenile leaves. *Planta* 184: 148-150.
- Martins, I. S. and Sondahl, M. R. (1984) Early stages of somatic embryo differentiation from callus cells of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown in liquid medium. *Journal of Physiology* 117: 97-103.
- McClellan, P. and Grafton, K. F. (1989) Regeneration of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) via organogenesis. *Plant Science* 60: 117-122.
- Murashige, T. and Skoog, F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
- Pelcher, L. E., Gamburg, O. L. and Kao, K. N. (1974) Bean mesophyll protoplast: production, culture and callus formation. *Plant Science Letters* 3: 107-111.
- Polhill, R. M. (1994) Classification of the Leguminosae. In: *Phytochemical Dictionary of the Leguminosae* (eds. Bisby, F. A., Buckingham, J. and Harborne, J. B.) 16-35. Chapman and Hall, London.
- Saam, M. M., Hosfield, G. L. and Saunders, J. W. (1987) *In vitro* propagation of dry bean from seedling shoot tips. *American Society for Horticultural Science* 112: 852-855.
- Saunders, J. W., Hosfield, G. L. and Levi, A. (1987) Morphogenetic effects of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid on pinto bean (*Phaseolus vulgaris* L.) leaf explants in vitro. *Plant Cell Reports* 6: 46-49.
- Varisia, M. S., Sung, J. M., Jeng, T. L. and Wang, C. S. (2006) Organogenesis of *Phaseolus angularis* L.: high efficiency of adventitious shoot regeneration from etiolated seedlings in the presence of N6-benzylaminopurine and thidiazuron. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 2: 187-199.
- Veltecheva, M., Svetleva, D., Petkova, S. P. and Perl, A. (2005) *In vitro* regeneration and genetic transformation of common bean. *Scientia Horticulturae* 107: 2-10.
- Westhuizen, V. A., Groenewald, E. G. and Westhuizen, A. J. (1990) Root formation and attempts to establish morphogenesis callus tissues of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *South African Journal of Botany* 56: 271-273.
- Zambre, M., Geerts, P., Maquet, A., Van Montagu, M., Dellen, W. and Angenon, G. (2001) Regeneration of fertile plants from callus in *Phaseolus polyanthus* greenman (Year bean). *Annals of Botany* 88: 371-377.
- Zambre, M. A., De Clercq, J., Varanova, E., Van Montagu, M., Angenon, G. and Dillen, W. (1998) Plant regeneration from embryo-derived callus in *Phaseolus vulgaris* L. (common bean) and *P. acutifolius* A. Gray (teparty bean). *Plant Cell Reports* 17: 626-630.

اثر کلرید سدیم و سالیسیلیک اسید بر برخی شاخص‌های فتوسنتزی و تغذیه معدنی گیاه ذرت (*Zea mays* L.)

نغمه مؤمنی^۱، محمدجواد آروین^۲، غلامرضا خواجهی نژاد^۱، بتول کرامت^۳ و فاطمه دانشمند^۴*

^۱ گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

^۲ گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

^۳ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

^۴ گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران ۴۶۹۷-۱۹۳۹۵، ج.ا. ایران

چکیده

تنش شوری، یک تنش محیطی است که رشد و نمو گیاهان و تولید محصولات کشاورزی را در بیشتر نقاط جهان متأثر می‌سازد. در این مطالعه، تأثیر تنش شوری (کلرید سدیم) و پیش‌تیمار سالیسیلیک اسید بر شاخص‌های رشد، مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی، کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II شامل عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (PSII Φ), بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) و خاموشی غیر فتوشیمیایی (NPQ) و تغذیه معدنی شامل عناصر سدیم، پتاسیم، نیتروژن، فسفر، کلسیم، منیزیم، آهن، روی، منگنز، مس و بور در برگ‌های ذرت (KSC704) بررسی شد. برای این منظور، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو سطح شوری و سه سطح سالیسیلیک اسید و با ۵ تکرار انجام شد. تنش شوری باعث کاهش شاخص‌های رشد، کلروفیل، کاروتنوئید، عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (PSII Φ) و بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) و افزایش مقدار خاموشی غیر فتوشیمیایی (NPQ) شد. همچنین، تنش شوری میزان عناصر معدنی را در برگ‌های ذرت تحت تأثیر قرار داد و باعث کاهش مقدار پتاسیم و مس و افزایش مقدار سدیم، فسفر، منیزیم، آهن، روی، منگنز و بور شد و بر مقادیر نیتروژن و کلسیم تأثیری نداشت. پیش‌تیمار سالیسیلیک اسید باعث افزایش کلروفیل، کاروتنوئید، عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (PSII Φ) و بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) و کاهش مقدار خاموشی غیر فتوشیمیایی (NPQ) شد. سالیسیلیک اسید همچنین باعث تغییر در جذب و انتقال مواد معدنی به برگ از جمله کاهش مقدار سدیم شد. نتایج مثبت پیش‌تیمار سالیسیلیک اسید در کاهش آثار تنش شوری و بهبود شاخص‌های رشد مشخص است.

واژه‌های کلیدی: تنش شوری، سالیسیلیک اسید، کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II، ذرت

مقدمه

شوری آب و خاک یکی از مشکلات جدی در کشاورزی است. کمبود منابع آب شیرین و استفاده از آب‌های شور یا آب‌های با کیفیت پایین برای آبیاری باعث افزایش شوری خاک می‌شود، که این مسأله میزان تولید محصول را تحت تأثیر خود قرار می‌دهد (Silva et al., 2008). شوری، ارتباطات آبی و یونی را توسط آثار یونی و اسمزی خود تحت تأثیر قرار می‌دهد. به علت وجود نمک در ریزوسفر، جذب آب در گیاهان تحت تأثیر قرار می‌گیرد و آثار یونی نمک به علت سمیت نمک در داخل یا عدم تعادل به علت وجود نمک زیادی در فضای خارج سلول ایجاد می‌شود. به علاوه، تنش‌های محیطی نظیر شوری و خشکی به افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و در نتیجه تنش اکسیداتیو منجر می‌شود (Rajish et al., 1998).

تنش شوری از رشد گیاهان می‌کاهد و تولید محصول هم در نتیجه برهم خوردن تعادل در جذب عناصر ضروری و آب و تنش اکسیداتیو کاهش می‌یابد (Parida and Das, 2005; Molassiotis et al., 2006). اگرچه رشد گیاه نتیجه فرآیندهای فیزیولوژیک منظم و کامل است و مهار رشد گیاه توسط عوامل محیطی رانمی‌توان تنها به یک فرآیند فیزیولوژیک خاص نسبت داد، اما پدیده فیزیولوژیک غالب، فتوسنتز است (Parida and Das, 2005). رشد گیاه و تولید بیوماس به میزان فتوسنتز خالص بستگی دارد و تنش نمک بسته به شدت آن بر فتوسنتز تأثیر می‌گذارد. گزارش‌های بسیاری وجود دارد که نشان می‌دهد تنش شوری بسته به شدت آن بر فتوسنتز تأثیر

می‌گذارد. البته گزارش‌هایی نیز گویای این مطلب هستند که کاهش فتوسنتز به نوع گیاه و غلظت نمک بستگی داشته، حتی در غلظت‌های پایین نمک بر شدت فتوسنتز افزوده می‌شود (Parida and Das, 2005). کارآیی فتوسنتز بستگی به توالی فرآیندهای متابولیک نظیر واکنش‌های فتوشیمیایی، آنزیم‌های دخیل در تثبیت کربن، ساختار دستگاه فتوسنتزی و انتقال حدواسط‌های فتوسنتزی بین اجزای سلولی دارد. بنابراین، در تنش شوری آن چه فتوسنتز را تحت تأثیر قرار می‌دهد، کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، کاهش سطح برگ (کاهش سطح فتوسنتزی)، کاهش دسترسی به CO₂ به علت بسته شدن روزنه‌ها (کاهش هدایت روزنه‌ای)، کاهش هدایت مزوفیلی (به علت کاهش نفوذپذیری غشا به CO₂ به علت دهیدراته شدن غشاهای سلولی)، تغییر در فعالیت آنزیم‌ها به علت تغییرات در ساختار سیتوپلاسمی (آنزیم‌های روبیسکو و چرخه کلونین)، سمیت نمک، افزایش پیری القا شده توسط شوری و آسیب اکسیداتیو به غشاهای فتوسنتزی است (Orcutt and Nilsen, 2000; Parida and Das, 2005). همچنین، شوری فعالیت زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی و فتوسیستم‌ها به ویژه فتوسیستم II (پروتئین D₁) را نیز متأثر می‌سازد و آسیب به فتوسیستم II باعث افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. شوری بر آناتومی برگ و زیرساختارهای کلروپلاستی نیز تأثیر می‌گذارد، بنابراین، فتوسنتز تحت تأثیر این عوامل نیز قرار می‌گیرد (Parida and Das, 2005). شوری بر بسیاری از آنزیم‌های دخیل در مراحل گلیکولیز و آنزیم‌های تنفسی و زنجیره انتقال الکترون میتوکندریایی نیز تأثیر می‌گذارد، بنابراین، به طور کلی متابولیسم

(Orcutt and Ahmad, 2007) اما در تنش شوری گزارش‌های متفاوتی در مورد نقش این مواد در افزایش یا کاهش مقاومت به تنش وجود دارد. در این بررسی، نقش پیش‌تیمار سالیسیلیک اسید (با توجه به مزایایی چون ارزان و در دسترس بودن) بر بهبود شاخص‌های رشد با تأکید بر سیستم فتوسنتزی و جذب و انتقال عناصر ضروری در شرایط تنش شوری بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت گلخانه‌ای در گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۲۷ سانتی‌متری و با گنجایش ۸ کیلوگرم خاک انجام شد. خاک گلدان‌ها، شن و خاک مزرعه با نسبت ۳ به ۱ بود که پیش از پر کردن گلدان‌ها ابتدا شن شسته و خشک شده و سپس با خاک مزرعه که با استفاده از سرنند غربال‌گیری شده بود، مخلوط شد. برای تقویت خاک و تأمین عناصر مورد نیاز اولیه گیاه، ۹۲ گرم کود اوره، ۱۳۸ گرم کود سوپر فسفات تریپل و ۹۲ گرم کود سولفات پتاسیم به خاک گلدان‌ها افزوده و مخلوط شد. همچنین، در مرحله ۴ تا ۵ برگی مجدداً کود اوره به شکل سرک به گلدان‌ها داده شد. شیوه و محاسبه مقادیر کودها با توجه به مساحت هر گلدان و مقدار کود مورد نیاز برای گیاه در شرایط مزرعه انجام شد.

بذر مورد استفاده از رقم ذرت هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ (KSC704) از مرکز تحقیقات کشاورزی کرمان تهیه شد و در هر گلدان ۵ بذر سالم ضد عفونی شده با سم کاربوکسین تیرام به عمق ۳ تا ۵ سانتی‌متر در فروردین ماه کاشته شد و پس از ظهور گیاهچه در مرحله سه برگی به سه بوته تنک شد. آبیاری تا زمان

کربن تحت تأثیر شوری قرار می‌گیرد (Orcutt and Nilsen, 2000; Parida and Das, 2005).

شوری، جذب مواد معدنی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. شوری می‌تواند با دخالت در عمل‌ناقل‌ها و کانال‌های یونی در ریشه مانند کانال‌های انتخابی پتاسیم (رقابت سدیم با پتاسیم)، یا مهار رشد ریشه توسط آثار اسمزی سدیم و یا با تأثیر سدیم بر ساختار خاک باعث کاهش جذب آب و مواد معدنی شود (Orcutt and Nilsen, 2000; Tester and Venport, 2003; Parida and Das, 2005; Mahajan and Tuteja, 2005). در خاک‌های شور حلالیت برخی از عناصر مانند مس، آهن، منگنز، روی، بور، سلنیوم، مولیبدن، پتاسیم، فسفر و نیتروژن تغییر می‌کند و تغذیه معدنی گیاه تحت تأثیر این عامل نیز قرار می‌گیرد (Orcutt and Nilsen, 2000).

ذرت، گیاهی از خانواده غلات با دوره رشد نسبتاً کوتاه و عملکرد بالا است که در سطح جهانی از نظر میزان تولید در واحد سطح پس از گندم در رتبه دوم و از نظر سطح زیر کشت پس از گندم و برنج مقام سوم را به خود اختصاص داده است (Xu et al., 2004). با توجه به اهمیت این محصول انتظار می‌رود با به کار گرفتن روش‌های مناسب بتوان به افزایش تولید این محصول مهم در شرایط مختلف آب و هوایی کشور کمک نمود.

استفاده از ترکیبات یا تنظیم‌کننده‌های رشد به صورت برون‌زا در بسیاری از موارد در کاهش آثار تنش‌های محیطی مؤثر بوده است. نقش سالیسیلیک اسید (SA) و ترکیبات وابسته به آن در کاهش آثار بسیاری از تنش‌های محیطی ثابت شده است (Hayat

برداشت گیاهان شش هفته پس از اعمال تنش از سطح خاک انجام شد. پس از برداشت گیاهان شاخص‌های رشد، مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی، کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II شامل عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (PSII) (Ø)، بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) و خاموشی غیر فتوشیمیایی (NPQ) و تغذیه معدنی شامل عناصر سدیم، پتاسیم، نیتروژن، فسفر، کلسیم، منیزیم، آهن، روی، منگنز، مس و بور اندازه‌گیری شد.

شاخص‌های رشد

وزن تر اندام هوایی و ریشه گیاهان در گروه‌های تیماری مختلف اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها در فویل آلومینیومی پیچیده شده و به مدت ۷۲ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد خشک شد. وزن خشک و تر نمونه‌ها با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری و بر حسب گرم گزارش شد.

اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی

اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها (کاروتنوئید و گزانتوفیل) با استفاده از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) انجام شد. ۰/۲ گرم از برگ‌های فریز شده انتهای گیاه (که با استفاده از نیتروژن مایع فریز شده و در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شده بودند) ساییده شد و با ۱۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد مخلوط و پس از صاف کردن، جذب آنها با اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲۰ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد و غلظت رنگیزه‌ها با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد و بر حسب میکروگرم بر گرم وزن تر گزارش شد.

$$\text{chl}a = 12.25 A_{663.2} - 2.79 A_{646.8} \text{ (کلروفیل a)}$$

اعمال تنش شوری به صورت یک روز در میان با توجه به ظرفیت مزرعه برای همه گلدان‌ها به طور یکسان انجام شد.

ابتدا طی چند آزمایش مقدماتی غلظت سالیسیلیک اسید و غلظت نمک و مدت زمان تیمار بهینه شد و سپس این آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار انجام شد. عوامل مورد بررسی عبارتند از: شوری در دو سطح (صفر و ۸۰ میلی‌مولار) و سالیسیلیک اسید در سه سطح (شاهد، خیساندن بذر در آب، خیساندن بذر در محلول سالیسیلیک اسید ۰/۱ میلی‌مولار). برای پرایمینگ، بذرها به دو گروه تقسیم شدند بذرهای برای تیمار خیساندن بذر در آب به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر و بقیه بذرها به مدت ۶ ساعت در محلول ۰/۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید خیسانده شدند. نسبت وزن بذر به حجم محلول ۱ به ۵ بود. زمان اعمال تنش شوری دو ماه پس از کاشت، در مرحله ۶ برگگی انجام شد. نحوه اعمال تنش با توجه به عصاره اشباع خاک در ۶ مرحله برای جلوگیری از وارد شدن شوک ناگهانی به گیاه و در هر مرحله به میزان ۴۰۰ میلی‌لیتر محلول NaCl (۸۰ میلی‌مولار) برای هر گلدان انجام شد و برای گلدان‌های شاهد، از آب مقطر استفاده شد. در مرحله سوم، اعمال تنش شوری از ۳ گلدان شاهدی که برای اندازه‌گیری هدایت الکتریکی (EC, Electrical Conductivity) در نظر گرفته شده بود، برای اطمینان از صحت شیوه اعمال تنش EC خاک آنها اندازه‌گیری شد. همچنین، پس از برداشت گیاهان، خاک ۳ گلدان از گلدان‌های شاهد و گلدان‌های تحت تیمار شوری به طور تصادفی انتخاب و EC خاک آنها اندازه‌گیری شد.

اسپکتوفتومتر (Schimadzu UV-VIS 1201) اندازه‌گیری شد و کلسیم، منیزیم، آهن، روی، مس، بور و منگنز توسط Analytic Jena (Vario AAS) تعیین شدند و مقدار عناصر ماکرو بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک و عناصر میکرو بر حسب ذره در میلیون (ppm) گزارش شد.

تحلیل داده‌ها

این آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار انجام شد. عوامل مورد بررسی شوری در دو سطح و سالیسیلیک اسید در سه سطح بود. محاسبات آماری داده‌ها با نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح ۵ درصد با نرم‌افزار MSTAT-C انجام شد.

نتایج

اثر تنش شوری و پیش‌تیمار سالیسیلیک اسید بر شاخص‌های رشد (وزن تر اندام هوایی و وزن تر و خشک ریشه) در جدول ۱ آمده است. شوری باعث کاهش وزن تر اندام هوایی و وزن تر و خشک ریشه به ترتیب به میزان ۴۷، ۶۴ و ۳۶ درصد شد و پیش‌تیمار سالیسیلیک اسید باعث بهبود این شاخص‌ها گردید (جدول ۱).

تنش شوری باعث کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها به ترتیب حدود ۳۵، ۳۲، ۲۹ و ۴۰ درصد شد و پیش‌تیمار سالیسیلیک اسید باعث افزایش مقدار این شاخص‌ها گردید (جدول ۱).

عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (Φ PSII)، بیشینه عملکرد فتوسیستم II (Fv/Fm) به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمار شوری قرار گرفت و به ترتیب حدود ۸ و ۱۸

$$\text{chl}b = 21.21 A_{646.8} - 5.1 A_{663.2} \text{ (کلروفیل b)}$$

$$\text{chl}T = 7.15 A_{663.2} - 18.71 A_{646.8} \text{ (کلروفیل کل)}$$

$$\text{car} = (1000A_{470} - 1.8 \text{ chla} - 85.02 \text{ chlb}) / 198 \text{ (کاروتنوئید)}$$

اندازه‌گیری عملکرد کوانتومی فتوسیستم II

II (PSII) Φ ، بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) و خاموشی غیر فتوشیمیایی (NPQ)

اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل با استفاده از دستگاه فلورومتر (PAM: H. Walz GmbH, Effeltrich, Germany) انجام شد و سپس شاخص‌های عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (Φ PSII)، بیشینه عملکرد فتوسیستم II (Fv/Fm) و خاموشی غیر فتوشیمیایی (NPQ) طبق فرمول‌های زیر محاسبه شدند (Van Kooten and Snel, 1990):

$$Fv/Fm = (Fm - F_0) / Fm$$

$$NPQ = (Fm - F'_m) / F'_m$$

$$\Phi PSII = (Fm - F_t) / F'_m$$

اندازه‌گیری عناصر معدنی

برگ گیاهان تیمار شده پس از برداشت به دقت شسته و در آون با دمای ۷۰ درجه سانتیگراد برای به دست آوردن ماده خشک، خشک شدند. برای اندازه‌گیری مواد معدنی، نمونه‌های گیاهی در کوره با دمای ۵۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۶ ساعت خاکستر و سپس در ۵ میلی‌لیتر محلول نیتریک اسید ۲ مولار حل شدند و در نهایت، حجم محلول با آب دو بار تقطیر به ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد و با کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شد. سدیم و پتاسیم توسط فلم فتومتر (Jenway PFP7; ELE instrument Co. Ltd.) اندازه‌گیری شدند. نیتروژن با روش Lambert و DuBois (۱۹۷۱) تعیین شد. فسفر با استفاده از

برگ‌های ذرت تحت تأثیر قرار داد و باعث کاهش مقدار پتاسیم و مس و افزایش مقدار سدیم، فسفر، منیزیم، آهن، روی، منگنز و بور شد و بر مقادیر نیتروژن و کلسیم تأثیری نداشت (جدول ۲). در مقایسه با شاهد، تیمار خیساندن بذر در آب باعث افزایش یون‌های کلسیم و آهن و کاهش یون‌های فسفر، سدیم، روی، منگنز و بور در گیاهان تحت تنش شوری شده است. در صورتی که کاربرد SA باعث افزایش یون‌های کلسیم، نیتروژن، آهن، مس و بور و کاهش یون‌های فسفر، سدیم، روی و منگنز در تنش شوری شد (جدول ۲).

درصد کاهش یافت. خیساندن بذر در SA باعث افزایش معنی‌دار عملکرد کوانتومی فتوسیستم II در شرایط تنش و غیر تنش شد (جدول ۱). شوری، بر خاموشی غیر فتوشیمیایی (NPQ) اثر معنی‌داری داشت، به طوری که آن را به میزان ۳ درصد افزایش داد. تیمار SA به کاهش خاموشی غیر فتوشیمیایی در هر دو شرایط شور و غیر شور منجر شد (جدول ۱). آثار تنش شوری و پیش‌تیمار سالیسیلیک اسید بر مقدار عناصر معدنی در برگ ذرت در جدول ۲ آمده است. تنش شوری مقدار عناصر معدنی را نیز در

جدول ۱- تأثیر تیمارهای شوری (NaCl) و سالیسیلیک اسید (SA) بر شاخص‌های رشد، کلروفیل (a, b و کل)، کاروتنوئید، عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (PSII Φ), بیشینه عملکرد فتوسیستم II (Fv/Fm) و خاموشی غیر فتوشیمیایی (NPQ). مقادیر میانگین ۵ تکرار \pm انحراف استاندارد است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است.

کاروتنوئید ($\mu\text{g/g fw}$)	کلروفیل کل ($\mu\text{g/g fw}$)	کلروفیل b ($\mu\text{g/g fw}$)	کلروفیل a ($\mu\text{g/g fw}$)	وزن تر اندام هوایی (g)	
۲۰/۵۱ \pm ۱/۵۱ ^c	۲۰۴/۶۵ \pm ۱/۴۵ ^d	۱۰۷/۴۳ \pm ۰/۹۹ ^d	۹۵/۱۰ \pm ۰/۵۰ ^c	۱۹۴/۷۶ \pm ۰/۸۵ ^c	شاهد خشک
۴۹/۱۹ \pm ۱/۳۱ ^b	۲۶۰/۳۵ \pm ۱/۵۴ ^b	۱۴۳/۷۲ \pm ۰/۹۳ ^b	۱۰۶/۳۰ \pm ۰/۵۰ ^b	۲۴۰/۴۰ \pm ۰/۸۰ ^b	خیساندن در آب
۷۵/۳۶ \pm ۱/۱۴ ^a	۲۹۱/۲۹ \pm ۲/۲۸ ^a	۱۴۹/۳۰ \pm ۰/۵۲ ^a	۱۳۹/۱۰۰ \pm ۰/۹۰ ^a	۲۵۸/۱۰۰ \pm ۰/۸۷ ^a	خیساندن در SA (۰/۱ mM)
۱۲/۴۷ \pm ۲/۱۰ ^f	۱۴۵/۸۴ \pm ۲/۳۰ ^f	۸۲/۵۸ \pm ۱/۵۶ ^f	۶۱/۷۰ \pm ۰/۸۸ ^c	۱۲۵/۱۰ \pm ۰/۷ ^f	شوری (۸۰ mM)
۲۶/۸۹ \pm ۱/۸۰ ^d	۱۷۹/۲۸ \pm ۲/۰۰ ^c	۹۰/۹۸ \pm ۱/۲۵ ^c	۸۶/۴۵ \pm ۰/۴۵ ^d	۱۶۲/۲۰ \pm ۰/۷۵ ^c	شوری و خیساندن در آب
۴۴/۱۳ \pm ۲/۱۳ ^c	۲۲۶/۲۸ \pm ۱/۷۱ ^c	۱۲۸/۸۶ \pm ۰/۸۸ ^c	۹۴/۹۸ \pm ۰/۹۰ ^c	۱۷۰/۴۰ \pm ۰/۹۹ ^d	شوری و خیساندن در SA (۰/۱ mM)

ادامه جدول ۱ ...

NPQ	Fv/Fm	Φ PSII	وزن خشک ریشه (g)	وزن تر ریشه (g)	
۰/۴۸ \pm ۰/۰۰۲ ^b	۰/۴۳ \pm ۰/۰۲ ^d	۰/۳۶ \pm ۰/۰۰۸ ^d	۳۳/۴۲ \pm ۰/۵۱ ^c	۱۷۴/۷ \pm ۰/۷ ^c	شاهد خشک
۰/۳۷ \pm ۰/۰۰۸ ^c	۰/۵۲ \pm ۰/۰۳ ^c	۰/۳۹ \pm ۰/۰۰۴ ^c	۴۳/۰۴ \pm ۰/۳۰ ^b	۲۱۲/۶ \pm ۰/۹ ^b	خیساندن در آب
۰/۳۵ \pm ۰/۰۰۹ ^c	۰/۶۹ \pm ۰/۰۳ ^a	۰/۴۸ \pm ۰/۰۰۷ ^a	۴۷/۱۸ \pm ۰/۴۲ ^a	۲۳۷/۶ \pm ۰/۸ ^a	خیساندن در SA (۰/۱ mM)
۰/۴۹ \pm ۰/۰۰۴ ^a	۰/۳۶ \pm ۰/۰۳ ^c	۰/۲۹ \pm ۰/۰۰۴ ^c	۲۱/۱۶ \pm ۰/۶۲ ^c	۹۶/۴ \pm ۰/۹ ^f	شوری (۸۰ mM)
۰/۴۶ \pm ۰/۰۰۲ ^b	۰/۴۲ \pm ۰/۰۳ ^d	۰/۳۱ \pm ۰/۰۰۵ ^d	۲۷/۷۲ \pm ۰/۴۵ ^d	۱۱۹/۴ \pm ۰/۶ ^c	شوری و خیساندن در آب
۰/۲۸ \pm ۰/۰۰۵ ^d	۰/۶۲ \pm ۰/۰۲ ^b	۰/۴۰ \pm ۰/۰۰۲ ^b	۳۲/۳۳ \pm ۰/۶۰ ^c	۱۳۰/۴ \pm ۰/۸ ^d	شوری و خیساندن در SA (۰/۱ mM)

جدول ۲- تأثیر تیمارهای شوری (NaCl) و سالیسیلیک اسید (SA) بر مقدار یون‌های سدیم، پتاسیم، نیتروژن، فسفر، کلسیم، آهن، روی، منگنز، مس و بور مقادیر میانگین ۵ تکرار \pm انحراف استاندارد است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است.

سدیم (mg/g dw)	پتاسیم (mg/g dw)	نیتروژن (mg/g dw)	فسفر (mg/g dw)	کلسیم (mg/g dw)	منیزیم (mg/g dw)
۱/۲۱ \pm ۰/۰۲ ^d	۲۷/۹ \pm ۰/۵۰ ^a	۱۳/۱ \pm ۰/۷۱ ^b	۰/۷ \pm ۰/۰۰۲ ^f	۵/۴۷ \pm ۰/۳۸ ^c	۴/۲ \pm ۰/۱۱ ^c
۰/۳۳ \pm ۰/۰۳ ^c	۲۶/۷ \pm ۰/۶۱ ^a	۱۳/۰ \pm ۰/۸۴ ^b	۰/۹ \pm ۰/۰۰۳ ^d	۷/۰۳ \pm ۰/۲۱ ^b	۴/۸ \pm ۰/۳۰ ^b
۰/۳۰ \pm ۰/۰۴ ^c	۲۴/۴ \pm ۰/۴۱ ^b	۱۲/۸ \pm ۰/۹۱ ^b	۰/۸ \pm ۰/۰۰۲ ^c	۵/۱۳ \pm ۰/۳۳ ^c	۴/۶ \pm ۰/۱۹ ^b
۴/۲۲ \pm ۰/۰۷ ^a	۲۴/۲ \pm ۰/۵۲ ^b	۱۲/۵ \pm ۰/۷۳ ^b	۱/۵ \pm ۰/۰۰۳ ^a	۵/۴۷ \pm ۰/۳۱ ^c	۵/۴ \pm ۰/۲۸ ^a
۲/۶۸ \pm ۰/۰۵ ^b	۲۳/۸ \pm ۰/۷۲ ^b	۱۲/۵ \pm ۰/۶۶ ^b	۱/۲ \pm ۰/۰۰۲ ^b	۸/۱۱ \pm ۰/۲۸ ^a	۵/۲ \pm ۰/۲۹ ^a
۲/۵۰ \pm ۰/۰۴ ^c	۲۴/۸ \pm ۰/۴۵ ^b	۱۸/۵ \pm ۰/۵۱ ^a	۱/۴ \pm ۰/۰۰۳ ^c	۷/۲۳ \pm ۰/۱۸ ^b	۵/۳ \pm ۰/۳۰ ^a

(۰/۱ mM)

ادامه جدول ۲ ...

آهن (ppm)	روی (ppm)	منگنز (ppm)	مس (ppm)	بور (ppm)
۱۸۱/۳ \pm ۴/۶۱ ^c	۲۳/۳ \pm ۰/۴۱ ^c	۴۳/۳ \pm ۰/۲۱ ^f	۶/۸ \pm ۰/۰۰۹ ^b	۲۷/۵ \pm ۰/۸۷ ^f
۳۰۸/۸ \pm ۴/۱۲ ^c	۱۶/۵ \pm ۰/۴۸ ^f	۴۵/۸ \pm ۰/۴۰ ^c	۶/۵ \pm ۰/۰۱۲ ^c	۴۲/۰ \pm ۰/۳۶ ^c
۳۳۴/۵ \pm ۴/۲۱ ^b	۲۰/۳ \pm ۰/۲۰ ^c	۴۷/۸ \pm ۰/۷۱ ^d	۱۰/۰ \pm ۰/۰۳۱ ^a	۴۵/۵ \pm ۰/۴۸ ^d
۲۴۸/۰ \pm ۲/۸۷ ^d	۳۲/۵ \pm ۰/۴۳ ^a	۸۱/۸ \pm ۰/۲۵ ^a	۴/۲ \pm ۰/۰۱۱ ^d	۵۷/۰ \pm ۰/۸۱ ^b
۳۳۹/۰ \pm ۳/۹۱ ^b	۲۱/۸ \pm ۰/۳۳ ^d	۵۸/۰ \pm ۰/۵۲ ^c	۴/۳ \pm ۰/۰۱۵ ^d	۵۳/۰ \pm ۰/۷۶ ^c
۴۵۱/۵ \pm ۲/۸۵ ^a	۲۸/۵ \pm ۰/۵۱ ^b	۸۰/۸ \pm ۰/۱۱ ^b	۶/۵ \pm ۰/۰۱۷ ^c	۶۰/۵ \pm ۰/۵۳ ^a

(۰/۱ mM)

نتیجه‌گیری و بحث

در این پژوهش، تنش شوری باعث کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل و کاروتنوئید) شد. این کاهش می‌تواند عمدتاً به علت تخریب ساختمان کلروپلاست و دستگاه فتوسنتزی، فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها، واکنش آنها با اکسیژن یکتایی، تخریب پیش‌ماده‌های سنتز کلروفیل و جلوگیری از بیوسنتز کلروفیل‌های جدید و فعال شدن آنزیم‌های تجزیه‌کننده کلروفیل از جمله کلروفیلاز و اختلالات هورمونی باشد (El-Tayeb, 2005; Rout *et al.*, 1997/1998; Sultana *et al.*, 1999; Neocleous and Vasilakakis, 2007)، هر چند که تجمع یون‌های سدیم

و کلر در برگ‌ها در تنش شوری نیز تأثیر منفی بر غلظت کلروفیل دارد (Sultana *et al.*, 1999; Stepien and Klobus, 2006). علاوه بر این، تنش شوری در جذب برخی عناصر ضروری نظیر آهن و منیزیم اختلال ایجاد می‌کند. این عناصر در سنتز کلروفیل ضروری هستند (Neocleous and Vasilakakis, 2007). لیپوکسیژناز نیز از آنزیم‌های دخیل در کاتابولیسم کلروفیل گزارش شده است، لیپوکسیژناز در هنگام تنش یکی از آنزیم‌های دخیل در پراکسیداسیون لیپیدهاست (Costa *et al.*, 2005). کاهش مقدار کاروتنوئید در شرایط تنش نیز به علت تجزیه بتاکاروتن و تشکیل زئازانتین در چرخه گزانتوفیل است (Sultana *et al.*, 1999). کاهش مقدار

اکسید شوند. به علاوه، قادرند حالت برانگیخته سه تایی کلروفیل را خاموش نمایند. بنابراین، به طور غیر مستقیم نیز تولید گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش می‌دهند. همچنین، کاروتنوئیدها از طریق مکانیسمی که چرخه گزانتوفیل نامیده می‌شود و در آن به طور پی در پی واکنش‌های اپوکسیداسیون و داپوکسیداسیون انجام می‌گیرد باعث مصرف اکسیژن و حفاظت از کلروفیل در مقابل فتواکسیداسیون می‌شوند (Loggini *et al.*, 1999).

به نظر می‌رسد که پیش تیمار با SA به عنوان یک فرآیند مقاوم‌سازی عمل نموده است و با افزایش توان آنتی‌اکسیدانی سلول از جمله کاروتنوئیدها، (داده‌های مربوط به تنش اکسیداتیو و توان آنتی‌اکسیدانی گیاه ذرت آورده نشده است). باعث کاهش مقدار پراکسیداسیون لیپیدها و باعث حفاظت بیشتر از غشاهای سلولی، فتوسنتزی، رنگیزه‌های فتوسنتزی و مانع از کاتابولیسم کلروفیل شده است که نتایج آن در بهبود شاخص‌های رشد مشخص است.

اندازه‌گیری میزان فلورسانس کلروفیل میزانی برای بررسی تغییرات در فتوسیستم II و تعیین بازدارندگی نوری فتوسنتز است که به عنوان شاخص‌های خسارت به سیستم فتوسنتزی توسط تنش‌های محیطی و تنش اکسیداتیو به آن توجه شده است. در این پژوهش، شوری باعث کاهش عملکرد فتوسیستم II و بیشینه عملکرد فتوسیستم II در برگ‌های ذرت شد. کاهش عملکرد فتوسیستم II و بیشینه عملکرد فتوسیستم II در بسیاری از گیاهان تحت تأثیر تنش‌های مختلف گزارش شده است. برای مثال، در سورگوم (Lu and Zhang, 1998; Netondo *et al.*, 2004) و کلزا (Attlasi *et al.*, 2009)

کلروفیل و کاروتنوئید در شرایط تنش شوری در گیاه گوجه‌فرنگی (Tari *et al.*, 2002; Juan *et al.*, 2005) و سویا (Abd El Samad and Shaddad, 1997) گزارش شده است و این کاهش در رقم‌های حساس بیشتر از رقم‌های مقاوم بود (Juan *et al.*, 2005).

در مقایسه با شاهد، تیمار خیساندن بذر در آب و پیش تیمار با SA، سبب افزایش مقدار کلروفیل (به عنوان یکی از اجزای اصلی فتوسنتزی و تأثیرگذار بر وزن خشک) و محتوای کاروتنوئید در گیاهان در شرایط تنش و غیر تنش گردید که نشان‌دهنده توانایی پرایمینگ برای بهبود رشد است. به طور کلی، پیش تیمار با SA به مراتب تأثیر بیشتری روی این شاخص‌ها داشت. مشابه با نتایج این آزمایش، سالیسیلیک اسید در گیاهان جو (El-Tayeb, 2005)، گندم (Agarwal *et al.*, 2005)، اسفناج (Eraslan *et al.*, 2008)، کلزا (Ghai *et al.*, 2002)، گوجه‌فرنگی (Tari *et al.*, 2002) و نخود (Popova *et al.*, 2009) مقدار کلروفیل و کاروتنوئید را افزایش داد.

القای سنتز کاروتنوئیدها در شرایط تنش می‌تواند به علت نقش حفاظتی آنها در تشکیلات فتوسنتزی باشد. زیرا این رنگیزه‌ها مسؤول خاموش کردن اکسیژن یکتایی و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها و در نهایت، تنش اکسیداتیو هستند (Koyro, 2006). کاروتنوئیدها انرژی زیادی را از فتوسیستم I و II به صورت گرما یا واکنش‌های شیمیایی بی‌ضرر دفع کرده، می‌توانند غشاهای کلروپلاستی را حفظ نمایند (Koyro, 2002; Juan *et al.*, 2005; Matysik *et al.*, 2006). کاروتنوئیدها علاوه بر خاموش کردن اکسیژن یکتایی، به طور مستقیم می‌توانند توسط اکسیژن

(2005, *al.*) در این تحقیق، شوری باعث افزایش خاموشی غیر فتوشیمیایی (NPQ) شد. افزایش در خاموشی غیر فتوشیمیایی در سورگوم (*Netondo et al.*, 2004) و کلزا (*Atlassi Pak et al.*, 2009) تحت تنش شوری نیز گزارش شده است.

در مقایسه با شاهد، خیساندن بذر در آب تأثیر چندانی در عملکرد فتوسیستم II نداشت، اما باعث افزایش بیشینه عملکرد فتوسیستم II شد. ولی خیساندن بذر با محلول SA باعث افزایش قابل ملاحظه‌ای در عملکرد فتوسیستم II و بیشینه عملکرد فتوسیستم II برگ‌ها شد.

تأثیر مثبت SA بر عملکرد فتوسیستم II و بیشینه عملکرد فتوسیستم II تحت تنش‌های مختلف در خیار تحت تنش گرما (*Shi et al.*, 2006)، کنف تحت تنش کادمیوم (*Shi et al.*, 2009) و لویبا تحت تنش خشکی (*Nelson and Maria*, 2006) گزارش شده است.

در پژوهش حاضر، شوری باعث افزایش مقدار سدیم، کاهش پتاسیم شد که در نتیجه باعث کاهش نسبت K^+/Na^+ می‌شود. افزایش جذب سدیم معمولاً با کاهش جذب پتاسیم و در نتیجه کاهش نسبت پتاسیم به سدیم همراه است. کاهش پتاسیم و افزایش سدیم یکی از بارزترین آثار تنش شوری است که در بسیاری از گزارش‌ها به آن اشاره شده است. کاهش غلظت پتاسیم در گیاه در محیط شور به این علت است که وجود غلظت‌های بالای سدیم در محیط خارجی باعث ایجاد رقابت با پتاسیم برای ورود به داخل سلول می‌شود و چون این دو یون دارای شعاع هیدراته مشابهی هستند، پروتئین‌های انتقال‌دهنده آنها ممکن است در تشخیص آنها دچار اشتباه شوند. بنابراین، سدیم به راحتی از

تحت تأثیر تنش شوری عملکرد فتوسیستم II و بیشینه عملکرد فتوسیستم II کاهش پیدا کرده است.

تنش‌هایی نظیر شوری و خشکی به علت آسیب به دستگاه فتوسنتزی به ویژه فتوسیستم II و جدا نمودن برخی از پلی‌پپتیدهای آن (*Sudhir and Murthy*, 2004)، مسدود شدن زنجیره انتقال الکترون در حضور غلظت‌های بالای نمک از جمله کلر (*Neocleous and Vasilakakis*, 2007) و با تأثیر منفی که بر برخی از پروتئین‌های کمپلکس کینون می‌گذارند، ظرفیت پذیرش و انتقال الکترون را کاهش می‌دهند و در نتیجه سیستم به سرعت به بیشینه فلورسانس (F_m) می‌رسد که نتیجه آن کاهش فلورسانس متغیر (F_v) خواهد بود (*Stepien and Klobus*, 2006). کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II به صورت نسبت F_v/F_m بیان می‌شود. بنابراین، تنش‌های محیطی با تأثیر بر فتوسیستم II باعث کاهش این نسبت می‌شوند. کاهش‌های مشاهده شده در کارآیی عملکرد کوانتومی فتوسیستم II، اشاره به کاهش سرعت انتقال الکترون در زنجیره انتقال الکترون کلروپلاستی می‌کند و کاهش پذیرنده‌های الکترون ممکن است سبب افزایش احتمال تولید رادیکال‌های واکنش‌پذیر شود، که این رادیکال‌های آزاد می‌توانند به اجزا فتوسیستم II آسیب وارد نماید. گزارش شده است که رقم‌های متحمل به تنش دارای F_v/F_m بالاتری نسبت به رقم‌های حساس داشتند، به بیان دیگر، کارآیی فتوسیستم II در رقم‌های مقاوم بیشتر است (*Lu et al.*, 2002). متأثر شدن کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در اثر تنش شوری و تنش اسمزی و اکسیداتیو حاصل از آن نشان می‌دهد که کارآیی این سیستم به علت بازدارندگی نوری کاهش می‌یابد (*Backhausen et*

منگنز و بور شد و بر مقادیر نیتروژن و کلسیم تأثیری نداشت. کاربرد SA باعث افزایش یون‌های کلسیم، نیتروژن، آهن، مس و بور و کاهش یون‌های فسفر، سدیم، روی و منگنز شد.

در پژوهش‌های مختلف، گزارش‌های متناقضی در مورد تأثیر سالیسیلیک اسید بر جذب یون‌ها وجود دارد. کاربرد سالیسیلیک اسید هیچ تأثیری بر مقدار سدیم در هویج (Eraslan *et al.*, 2007) و اسفناج (Eraslan *et al.*, 2008) نداشت. کاربرد استیل سالیسیلیک اسید نیز تأثیری بر عناصر معدنی در گیاه کدو تحت تنش خشکی نداشته است (Korkmaz *et al.*, 2007). اما Gunes و همکاران (۲۰۰۷ و ۲۰۰۵) گزارش نمودند که سالیسیلیک اسید باعث کاهش غلظت سدیم و کلر و افزایش کاتیون‌ها از جمله پتاسیم، نیتروژن، منیزیم، آهن، منگنز و مس در گیاهان ذرت در تنش‌های مختلف شده است. در گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری، بیش‌تیمار آسپرین باعث افزایش مقدار سدیم در برگ‌ها شد. در این گزارش، افزایش جذب سدیم، پاسخی مفید در افزایش توان گیاه برای تنظیم اسمزی یاد شده است (Tari *et al.*, 2002). کاربرد سالیسیلیک اسید در گیاه جو در تنش شوری باعث کاهش سدیم و افزایش میزان پتاسیم، کلسیم، نیتروژن، آهن در گیاهان جو شد که در این گزارش بیان شده است، کاهش جذب سدیم در کاهش آسیب به غشا و افزایش تولید وزن خشک مؤثر است (El-Tayeb, 2005) و بالاخره Eraslan و همکاران (۲۰۰۸) بیان نمودند تأثیر سالیسیلیک اسید بر جذب و انتقال یون در گیاهان به پاسخی خاص برای هر گونه منجر می‌شود.

در این پژوهش، تنش شوری باعث کاهش

طریق ناقل‌های با تمایل کم به پتاسیم و یا با تمایل زیاد به پتاسیم وارد سلول شده و جذب پتاسیم کاهش می‌یابد. از سوی دیگر، انتقال سدیم به قسمت‌های مختلف گیاه و برگ‌ها باعث جایگزینی آنها با کلسیم در فضای آپوپلاستی شده که به دپلاریزاسیون غشا منجر می‌شود و در نتیجه، توانایی غشاها برای جذب انتخابی برخی از یون‌ها دچار اختلال شده و عدم تعادل یونی غیر قابل اجتناب خواهد بود (Blumwald *et al.*, 2000؛ Aqeel Ahmad *et al.*, 2006؛ Molassiotis *et al.*, 2007). از آنجا که پتاسیم عنصری ضروری برای گیاهان و دارای نقش کلیدی در فرآیندهای فیزیولوژیک و رشد گیاه، سنتز پروتئین و نشاسته، انتقال قندها و فعال شدن بسیاری از آنزیم‌ها از جمله آنزیم‌های کلیدی در فتوسنتز و تنفس و حفظ یکپارچگی سیستم فتوسنتزی، سنتز ATP، تنظیم اسمزی، باز و بسته شدن روزنه، خنثی کردن بارهای منفی پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک است، جایگزین شدن آن توسط سدیم می‌تواند باعث آسیب به گیاه شود، زیرا سدیم قادر به انجام نقش‌های پتاسیم نیست. تجمع سدیم و تغییر نسبت K^+/Na^+ در سیتوپلاسم می‌تواند روی فرآیندهای انرژی‌زا اثر بگذارد. جایگزینی سدیم به جای پتاسیم می‌تواند سبب غیر فعال شدن آنزیم‌ها، کاهش رشد و حتی مرگ سلول یا گیاه شود (Rahnama and Ebrahimzadeh, 2004؛ Kao *et al.*, 2006؛ Sudhir and Murthy, 2004؛ Wu and Xu, 2008). در این پژوهش، علاوه بر یون‌های سدیم و پتاسیم، تنش شوری در جذب و انتقال عناصر دیگر نیز تغییر به وجود آورد و باعث کاهش مقدار مس و افزایش مقدار فسفر، منیزیم، آهن، روی،

ترکیبات مهم زیستی از جمله پروتئین‌ها و یا پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب به غشاهای زیستی از جمله غشاهای تیلاکوئیدی از جمله عللی است که در کاهش رشد در شرایط تنش شوری در گزارش‌های مختلف یاد شده است (Parida and Das, 2005; Orcutt and Nilsen, 2000).

در مقایسه با شاهد، خیساندن بذر در آب باعث افزایش معنی‌داری در شاخص‌های رشد شده است که نشان دهنده اثر مثبت پیش تیمار بذر است. ولی خیساندن بذر با محلول SA افزایش قابل ملاحظه‌ای در شاخص‌های رشد شد. گزارش‌های زیادی از اثر تیمارهای SA بر کاهش آثار تنش‌های محیطی بر رشد وجود دارد. برای مثال، گیاهان تحت تأثیر تنش شوری در لویا (Palma *et al.*, 2009) و آفتابگردان (Noreen *et al.*, 2008)، تحت تنش سرما در ذرت (Farooq *et al.*, 2008)، تحت تنش خشکی در گندم (Singh and Usha, 2003)، تحت تنش گرما در خردل (Hayat *et al.*, 2009) و تحت تیمار کادمیوم در جو (Metwally *et al.*, 2003) گزارش شده است.

آثار تحریکی SA بر رشد می‌تواند به عللی مانند افزایش میزان تقسیم در مناطق مریستمی و رشد سلولی باشد که باعث افزایش رشد می‌شود و علت دیگر آن نیز تأثیر SA بر سایر هورمون‌های گیاهی است (Shakirova *et al.*, 2003؛ Sakhabutdinova *et al.*, 2003). از علل دیگر بهبود شاخص‌های رشد تحت تأثیر تیمار SA، می‌توان تأثیر سالیسیلیک اسید بر دستگاه فتوسنتزی و حفاظت از دستگاه فتوسنتزی، مقدار فتوسنتز، فعالیت آنزیم روبیسکو، مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی، هدایت روزنه‌ای، سیستم دفاع

شاخص‌های رشد شد. کاهش رشد تحت تنش‌های مختلفی از جمله شوری در اسفناج (Eraslan *et al.*, 2008)، گوجه‌فرنگی (Juan *et al.*, 2005; Shibli *et al.*, 2007)، عدس (Bandeoglu *et al.*, 2004)، یونجه (Wang *et al.*, 2009) گزارش شده است. کاهش میزان رشد در شرایط تنش شوری یا خشکی می‌تواند به علت دخالت در فرآیندهای دخیل در تولید انرژی مثل فتوسنتز و تنفس باشد. گزارش شده است که تغییر نسبت K^+/Na^+ بر فعالیت‌های انرژی‌زای سلول تأثیر می‌گذارد (یون پتاسیم به عنوان کوفاکتور بسیاری از آنزیم‌های فتوسنتزی و تنفسی است) (Kao *et al.*, 2006; Sudhir and Murthy, 2004). تغییر در تعادل هورمونی نیز یکی دیگر از علل کاهش رشد است (Pandey *et al.*, 2003/2004). مهار گسترش تقسیم سلولی، کاهش سطح برگ و بنابراین، کاهش سطح دریافت نور، تسریع پیری برگ‌ها، افزایش درجه حرارت برگ، تحت تأثیر قرار گرفتن دستگاه فتوسنتزی، کاهش کارآیی زنجیره انتقال الکترون و کمپکس جمع‌کننده نور، کاهش کارآیی کربوکسیلازی آنزیم روبیسکو و یا افزایش فعالیت اکسیژنازی این آنزیم، کاهش ظرفیت بازسازی RUBP، مهار سنتز ATP به علت مهار فعالیت کمپلکس ATP سنتتاز، غیر فعال شدن PSI و PSII به علت جدا شدن برخی از پروتئین‌ها از آنها در حضور غلظت‌های بالای سدیم و کلر، تغییر در هدایت روزانه‌ای، نرخ تعرق، محتوای نسبی آب و کاهش تورگر، تغییر در مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی و القای کلروفیلاز، سمیت نمک به علت جذب مقادیر زیاد یون‌های سدیم و کلر و رقابت و اختلال در جذب و انتقال یون‌های ضروری و عدم تعادل و کمبود عناصر ضروری، تنش اکسیداتیو و اکسیداسیون

اسید با کاهش مقدار سدیم در برگ باعث افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی (به عنوان یکی از اجزای تأثیرگذار بر تولید بیوماس)، مقدار کاروتنوئیدها (به عنوان یکی از اجزای سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی) و بهبود شاخص‌های فتوسنتزی شد که نتیجه آن در بهبود شاخص‌های رشد مشاهده شد.

آنتی‌اکسیدانی، کاهش تنش اکسیداتیو و نشت یونی، افزایش همبستگی غشاهای زیستی، متابولیسم نیتروژن و تغذیه معدنی گیاه را نام برد که در مطالعه‌های مختلف به آنها اشاره شده است (El-Tayeb, 2005؛ Stevens, Popova et al.; Kormkaz et al., 2007؛ et al., 2006؛ al., 2009). در این پژوهش، پیش‌تیمار سالیسیلیک

منابع

- Abd El Samad, H. M. and Shaddad, M. A. K. (1997) Salt tolerance of soybean cultivars. *Biologia Plantarum* 39(2): 263-269.
- Agarwal, S., Sairam, R. K., Srivasta, G. C. and Meena, R. C. (2005) Changes in antioxidant enzymes activity and oxidative stress by abscisic acid and salicylic acid in wheat genotypes. *Biologia Plantarum* 49(4): 541-550.
- Aqueel Ahmad, M. S., Javed, F. and Ashraf, M. (2007) Iso osmotic effect of NaCl and PEG on growth, cations and free proline accumulation in callus tissue of two indica rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. *Plant Growth Regulation* 53: 53-63.
- Atlassi Pak, V., Nabipour, M. and Meskarbashee, M. (2009) Effect of salt stress chlorophyll content, fluorescence, Na and K content in rape plants (*Brassica napus* L.). *Asian Journal of agricultural* 3(2): 28-37.
- Backhausen, J. E., Kelin, M., Klocke, M., Jung, S. and Scheibe, R. (2005) Salt tolerance of potato (*Solanum tuberosum* L. var. Desiree) plants depends on light intensity and air humidity. *Plant Science* 169: 229-237.
- Bandeoglu, E., Egidogan, F., Yucel, M. and Avni Oktem, H. (2004) Antioxidant responses of shoots and roots of lentil to NaCl- salinity stress. *Plant Growth Regulation* 42: 69-77.
- Blumwald, E., Aharon, G. S. and Apse, M. P. (2000) Sodium transport in plant cells. *Biochemistry and Biophysics Acta* 1465: 140-151.
- Costa, M., Civell, P. M., Chaves, A. R. and Martinez, G. A. (2005) Effects of ethephon and 6-benzylaminopurine on chlorophyll degrading enzymes and a peroxidase-linked chlorophyll bleaching during post-harvest senescence of broccoli (*Brassica oleracea* L.) at 20°C. *Postharvest Biology and Technology* 35: 191-199.
- El-Tayeb, M. A. (2005) Response of barley grain to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation* 42: 215-224.
- 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. *Scientia Horticulturae* 113: 120-128.
- Eraslan, F., Inal, A., Pilbeam, D. J. and Gunes, A. (2008) Interactive effects of salicylic acid and silicon on oxidative damage and antioxidant activity in spinach (*Spinacia oleracea* L. CV. Matador) grown under boron toxicity and salinity. *Plant Growth Regulation* 55: 207-219.
- Farooq, M., Aziz, T., Basra, S. M. A., Cheema, M. A. and Rahman, H. (2008) Chilling tolerance in hybrid maize induced by priming whit salicylic acid. *Agronomy and Crop Science* 194: 161-168.
- Ghai, N., Setia, R. C. and Setia, N. (2002) Effect of paclobutrazol and salicylic acid on chlorophyll content, hill activity and yield components in *Brassica napus* L. (cv. GSL-

- 1). *Phytomorphology* 52: 83-87.
- Gunes, A., Inal, A., Alpaslan, M., Cicek, N., Guneri, E., Eraslan, F. and Guzelorda, T. (2005) effects of exogenously applied salicylic acid on the induction of multiple stress tolerance and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) *Archive of Agronomy and Soil Science* 51: 687-695.
- Gunes, A., Inal, A., Alpaslan, M., Eraslan, F., Guneri, E. 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, S. and Ahmad, A. (2007) *Salicylic acid: a plant hormone*. 1st edition, Springer, Netherlands.
- Hayat, S., Masood, A., Yusef, M., Fariduddin, Q. and Ahmad, A. (2009) Growth of Indian musard (*Brassica juncea* L.) in response to salicylic acid under high-temperature stress. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 21(3): 187-195.
- Juan, M., Rivero, R. M., Romero, L. and Ruiz, J. M. (2005) Evaluation of some nutritional and biochemical indicators in selecting salt-resistant tomato cultivars. *Environmental and Experimental Botany* 54: 193-201.
- Kao, W. Y., Tsai, T. T., Tsai, H. C. and Shih, C. N. (2006) Response of three Glycine species to salt stress. *Environmental and Experimental Botany* 56: 120-125.
- Korkmaz, A., Uzunlu, M. and Demirkairan, A. R. (2007) Treatment with acetylsalicylic acid protects muskmelon seedlings against drought stress. *Acta Physiologia Plantarum* 29: 503-508.
- Koyro, H. W. (2006) Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* L. *Environmental and Experimental Botany* 56: 136-149.
- Lambert, R. S. and DuBois, R. J. (1971) Spectrophotometric determination of nitrate in the presence of chloride. *Annals of Chemistry* 43: 494-501.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
- Loggini, B., Scartazza, A., Brugonli, E. and Navari-Izzo, F. (1999) Antioxidative defense system, pigment composition, and photosynthetic efficiency in two wheat cultivars subjected to drought. *Plant Physiology* 119: 1091-1099.
- Lu, C. and Zhang, J. (1998) Thermostability of photosystem II is increased in salt-stressed sorghum. *Australian Journal of Plant Physiology* 25: 317-324.
- Lu, C., Qiu, N., Lu, Q., Wang, B. and Kuango, T. (2002) Does salt stress lead to increased susceptibility of photosystem II to photoinhibition and changes in photosynthetic pigment composition in halophyte *Sueda salsa* grown outdoors? *Plant Science* 163: 1063-1068.
- Mahajajn, S. and Tuteja, N. (2005) Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archive of Biochemistry and Biophysics* 444: 139-158.
- Matysik, J., Alia, A., Bhalu, B. and Mohanty, P. (2002) Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. *Current Science* 82(5): 525-532.
- Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M. and Dietz, K. J. (2003) Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. *Plant Physiology* 132: 272-281.
- Molassiotis, A. N., Sotiropoulos, T., Tanou, G., Kofidis, G., Diamantidis, G. and Therios, I. (2006) Antioxidant and anatomical responses in shoot culture of the apple rootstock MM 106 treated with NaCl, KCl, mannitol or sorbitol. *Biologia Plantarum* 50(1): 61-68.
- Nelson, B. M. N. and Maria, A. B. D. (2006) Physiological and biochemical response of common bean varieties treated with salicylic

- acid under water stress. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 6: 269-277.
- Neocleous, D. and Vasilakakis, M. (2007) Effects of NaCl stress on red raspberry (*Rubus idaeus* L. "Autumn Bliss"). *Scientia Horticulturae* 112: 282-289.
- Netondo, G. W., Onyango, J. C. and Beck, E. (2004) Sorghum and Salinity: II. Gas Exchange and Chlorophyll Fluorescence of Sorghum under Salt Stress. *Crop Science* 44: 806-811.
- Noreen, S. and Ashraf, M. (2008) Alleviation of adverse effects of salt stress on sunflower (*Helianthus annuus* L.) by exogenous application of salicylic acid: growth and photosynthesis. *Pakistan Journal of Botany* 40: 1657-1663.
- Orcutt, D. M. and Nilsen, E. T. (2000) The physiology of plants under stress, soil and biotic factors. 1st edition. John Wiley and Sons, New York.
- Palma, F., Liuch, C., Iribarne, C., Garcia-Garrido, J. M. and Garcia, N. A. T. (2009) Combined effect of salicylic acid and salinity on some antioxidant activities, oxidative stress and metabolite accumulation in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Growth Regulation* 58(3): 307-316.
- Pandey, D. M., Goswami, C. L. and Kumar, B. (2003/4) Physiological effects of plant hormones in cotton under drought. *Biologia Plantarum* 47(4): 535-540.
- Parida, A. K. and Das, A. B. (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60: 324-349.
- Popova, L. P., Maslenskova, L. T., Yordanova, R. Y., Ivanova, A. P., Krantev, A. P., Szalai, G. and Janda, T. (2009) Exogenous treatment with salicylic acid attenuates cadmium toxicity in pea seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry* 47: 224-231.
- Rahnama, H. and Ebrahimzadeh, H. (2004) The effect of NaCl on proline accumulation in potato seedlings and calli. *Acta Physiologia Plantarum* 26(3): 263-270.
- Rajesh, A., Arumugam, R. and Venkatesalu, V. (1998) Growth and photosynthetic characteristics of *Ceriops roxburghiana* under NaCl stress. *Photosynthetica* 35(2): 285-287.
- Rout, N. P., Tripathi, S. B. and Shaw, B. P. (1997/98) Effect of salinity on chlorophyll and proline content in three aquatic macrophytes. *Biologia Plantarum* 40(3): 453-458.
- Sakhabutdinova, A. R., Fatkhutdinova, D. R., Bezrukova, M. V. and Shakirova, F. M. (2003) Salicylic acid prevents the damaging action of stress factors on wheat plants. *Bulgarian Journal of Plant Physiology Special Issue*: 314-319.
- Shakirova, F. M., Sakhabutdinova, A. R., Bozrutkova, 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.
- Shi, G. R., Cai, Q. S., Liu, Q. Q. and Wu, L. (2009) Salicylic acid-mediated alleviation of cadmium toxicity in hemp plants in relation to cadmium uptake, photosynthesis, and antioxidant enzymes. *Acta Physiologia Plantarum* 31: 969-977.
- Shi, Q., Bao, Z., Zhu, Z., Ying, Q. and Qian, Q. (2006) Effects of different treatments of salicylic acid on heat tolerance, chlorophyll fluorescence and antioxidant enzyme activity in seedlings of *Cucumis sativa* L. *Plant Growth Regulation* 48: 127-135.
- Shibli, R. A., Kushad, M., Yousef, G. G. and Lila, M. A. (2007) Physiological and biochemical responses of tomato micro shoots to induced salinity stress with associated ethylene accumulation. *Plant Growth Regulation* 51: 159-169.
- Silva, C., Martinez, V. and Carvajal, M. (2008) Osmotic versus toxic effects of NaCl on pepper plants. *Biologia Plantarum* 52(1): 72-79.
- Singh, B. and Usha, K. (2003) Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water

- stress. *Plant Growth Regulation* 39: 137-141.
- Stepien, P. and Klobus, G. (2006) Water relations and photosynthesis in *Cucumis sativus* L. leaves under salt stress. *Biologia Plantarum* 50(4): 610-616.
- 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.
- Sudhir, P. and Murthy, S. D. S. (2004) Effects of salt stress on basic processes of photosynthesis. *Photosynthetica* 42(4): 481-486.
- Sultana, N., Ikeda, T. and Itoh, R. (1999) Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. *Environmental and Experimental Botany* 42(3): 211-220.
- Tari, I., Csiszar, J., Szalai, G., Horvath, F., Pecsvaradi, A., Kiss, G., Szepesi, A., Szabo, M. and Erdei, L. (2002) Acclimation of tomato plants to salinity stress after a salicylic acid pre-treatment. *Acta Biologica Szegediensis* 46 (3-4): 55-56.
- Tester, M. and Venport, R. D. (2003) Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Annals Botany* 91: 503-527.
- Van Kooten, O. and Snel, J. F. H. (1990) The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynthesis Research* 25:147-150.
- Wang, W. B., Kim, Y. H., Lee, H. S., Kim, K. Y., Deng, X. P. and Kwak, S. S. (2009) Analysis of antioxidant enzymes activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *Plant Physiology and Biochemistry* 47(7): 570-577.
- Wu, Y., Hu, Y. and Xu, G. (2008) Interactive effects of potassium and sodium on root growth and expression of K/Na transporter genes in rice. *Plant Growth Regulation* 57(3): 271-280.
- Xu, N., Yrle, K., Miler, P. O. and Cheilch, N. (2004) Co regulation of ear growth and internode elongation in corn. *Plant Growth Regulation* 44: 231-241.

مطالعه ریخت‌شناسی و نمو گل خارشتر (*Alhagi pseudoalhagi* (M. B.) Desv.) و برخی ویژگی‌های تشریحی اجزای آن

زهرا هاشمی و فرخنده رضاتژاد *

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

چکیده

در پژوهش حاضر، گل خارشتر (*Alhagi pseudoalhagi* (M. B.) Desv.) از لحاظ ریخت‌شناسی و نمو اجزای گل بررسی شد. اجزای گل بدون کُرک ترشچی و پوششی، کاسه گل پیوسته، جام پروانه‌آسا، بال‌ها دارای رنگ تیره و سلول‌های اپیدرمی با دیواره برآمده به سمت بیرون، ناوها پیوسته و همراه با درفش به صورت جام بسته، نافه دو دسته‌ای و ناجور ریخت، بساک‌ها برون‌گشا و شکوفایی طولی، دیواره کیسه‌گرده از نوع دولپه‌ای، سلول‌های لایه مغذی بساک مستطیلی شکل و از نوع ترشچی هستند. پس از تقسیم میوز، جداره‌بندی یا تقسیم سیتوپلاسم از نوع همزمان است و در مرحله بلوغ میکروسپورها هنوز کیسه رویانی در مرحله تقسیم میتوز است و هسته‌های کیسه جنینی به طور کامل تشکیل نشده‌اند. مادگی یک برچه‌ای، تخمدان یک‌خانه و فوقانی، تخمک‌ها واژگون و پرخورش، خامه توخالی و میوه نیام ۲-۵ دانه‌ای است. لایه اپیدرمی و زیراپیدرمی کاسه گل، جام گل، تخمدان و نیز بافت رابط بساک دارای مواد فنلی (تاننی) و مواد با زیربنای چربی هستند.

واژه‌های کلیدی: خارشتر، گل پروانه‌آسا، مواد فنلی (تاننی)، میکروسپورزایی

مقدمه

گلبرگ به تعداد ۵ عدد (درفش، دو بال و دوناو)، ۱۰ پرچم به حالت دو دسته‌ای و یک برچه تک‌خانه دارند (Tucker, 2003a). پرچم‌ها ناجور شکل و بساک چهار کیسه‌گرده‌ای است. در بین تیره‌های گیاهی چهار نوع نمو دیواره بساک توصیف شده است که بر اساس نوع لایه‌های میانی تعیین می‌شود: نوع پایه (type I)، نوع دولپه‌ای (type II)، نوع تک‌لپه‌ای (type III) و نوع

تاکنون ساختمان گل در بسیاری از گیاهان تیره پروانه‌آسا (Fabaceae) بررسی شده است (Tucker, 1998؛ Tucker, 2002؛ Benlloch *et al.*, 2003؛ Etcheverry *et al.*, 2008). مطالعات نشان داده‌اند بیشتر گل‌های تیره پروانه‌آسا دو جنسی، با تقارن دو جانبی هستند و ۵ کاسبرگ پیوسته، سه نوع

ناحیه ایرانی-تورانی، متعلق به تیره پروانه‌آسا، دارای خارهای فراوان است و در استان کرمان در گویش محلی به نام آدور شناخته می‌شود (Bazoobandi *et al.*, 2006) و در خاک‌های خشک، صخره‌ای و نمکی یافت می‌شود (Hassanein and Mazen, 2001). خارشتر به علت چندساله بودن و پراکنش وسیع، تپه‌های شنی را پایدار نگه می‌دارد و از فرسایش خاک جلوگیری می‌کند (Fanjiang *et al.*, 2002). این گیاه همچنین، به عنوان گیاهی دارویی مورد توجه بوده است و در درمان اختلالات گوارشی، سنگ کلیه و دردهای روماتیسمی استفاده می‌شود. گل‌ها کوچک، دارای دم‌گل کوتاه و صورتی رنگ، بر روی محورهای نوک تیز خاردار و روی بخش‌های بالایی گیاه استقرار یافته‌اند. میوه‌ها قهوه‌ای تا قرمز رنگ هستند (قهрман، ۱۳۷۳؛ Gharibnaseri and Mard, 2007). با وجودی که به علت پوست دانه سخت و وزن ۱۰۰۰ دانه زیاد گونه‌ها به راحتی توسط بذر تکثیر و گسترش نمی‌یابند (Bazoobandi *et al.*, 2006) و به میزان زیادی از طریق تکثیر رویشی گسترش می‌یابند، اما این امر از اهمیت گل‌ها در تولید نسل بعد نمی‌کاهد، زیرا گل‌ها نیز به علت ساختار پروانه‌آسا و توانایی در جلب گرده‌افشان‌های خاص به ویژه زنبور عسل، به عنوان عاملی اساسی در تولید گونه‌های هیبرید و ایجاد تنوع زیستی درخورد اهمیت هستند و به نظر می‌رسد مطالعه ساختمان گل این گیاه و نحوه تکوین اندام‌های زایشی نر و ماده از اهمیت خاصی برخوردار باشد. بنابراین، در این پژوهش، ساختار گل و نحوه نمو اجزای آن با تأکید بر مقایسه اهمیت گلبرگ‌ها در گرده‌افشانی مطالعه شده است.

کاهش یافته (type IV). به طور معمول، هر تیره گیاهی نوع خاصی از نمودیواره را نشان می‌دهد (Liu and Huang, 1999). در تیره پروانه‌آسا نوع I (با دو لایه میانی) (Liu and Huang, 1999؛ Teixeira *et al.*, 2002؛ Liu and Huang, 2003؛ Rezanejad, 2007) و نیز نوع دولپه‌ای (با یک لایه میانی) (Wilson, 2001؛ Galati *et al.*, 2006) گزارش شده است. در بیشتر گیاهان تیره پروانه‌آسا، مانند *Phaseolus vulgaris* L. لایه مغذی ترش‌حی و تقسیم سیتوپلاسم از نوع همزمان است (Liu and Huang, 1999؛ Suzuki *et al.*, 2001؛ Wilson, 2001؛ Liu and Teixeira *et al.*, 2002؛ Rezanejad, 2003؛ Huang, 2003؛ Feng *et al.*, 2006؛ Chehregani *et al.*, 2007؛ 2008). در زیرتیره Papilionoideae تخمک دو پوسته‌ای، واژگون و پرخورش و میکروپیل زیگزاگ و کیسه جنینی از نوع پلی‌گونوم است (Benlloch؛ Akhalkatsi *et al.*, 1999؛ Soverna *et al.*, 2003؛ Moco and Mariath, 2003؛ Galati *et al.*, 2003؛ Moco and Mariath, 2004؛ Rodriguez-Riano *et al.*, 2006؛ Rezanejad, 2006؛ Rodriguez-Pontes, 2007؛ 2006) و در برخی موارد در تیره پروانه‌آسا تخمک خمیده نیز دیده می‌شود (Benlloch *et al.*, 2003؛ Moco and Mariath, 2003؛ Rodriguez-Pontes, 2007؛ Soverna *et al.*, 2003؛ Galati *et al.*, 2006؛ 2003). هر دو نوع تتراد خطی و T شکل در طی مراحل مگاسپورزایی دیده شده است (Moco and Mariath, 2003؛ Galati *et al.*, 2006؛ Soverna *et al.*, 2003). گیاه خارشتر از جنس *Alhagi* از زیرتیره Papilionoideae، بوته‌ای چندساله، علفی مهاجم، به ارتفاع ۵۰-۸۰ سانتی‌متر، بدون گُرک، سبزرنگ با منشأ

مواد و روش‌ها

در این بررسی، گل‌های خارشتر (*Alhagi pseudoalhagi* (M. B.) Desv.) در مراحل مختلف نمو (جدول ۱) در اردیبهشت‌ماه سال ۱۳۸۸ از شهر کرمان جمع‌آوری و در محلول FAA (حاوی الکل اتانول ۷۰ درصد، استیک اسید، فرم‌آلدئید به ترتیب به نسبت‌های ۹۰:۵:۵) تثبیت شدند. پس از آب‌گیری (dehydration) در درجات رو به افزایش الکل، به منظور تهیه بلوک‌های پارافینی در مخلوط‌های رو به افزایش الکل-تولون، تولون-پارافین و پارافین خالص قرار گرفتند. برش‌گیری نمونه‌ها توسط میکروتوم چرخان با ضخامت ۸-۱۱ میکرومتر انجام و برش‌های حاصل پس از پارافین‌زدایی، با همتوکسیلین و ائوزین الکی رنگ‌آمیزی شدند. نمونه‌های مناسب توسط دوربین دیجیتال Olympus و میکروسکوپ نوری Olympus عکس‌برداری و مطالعه شدند (Rezanejad, 2007).

جدول ۱- مراحل نمو مختلف گل خارشتر. غنچه‌های گل در چهار مرحله نمو بر اساس اندازه تقسیم‌بندی شدند.

مراحل نمو گل	اندازه غنچه‌های گل (mm)	ویژگی ریخت‌شناختی
مرحله نمو ۱	۱-۲	جام نهفته در کاسه گل
مرحله نمو ۲	۲-۵	جام نهفته در کاسه گل
مرحله نمو ۳	۵-۱۰	جام نیمه باز
مرحله نمو ۴	۱۰	گل بالغ با جام مشخص

نتایج

ریخت‌شناسی گل و گل‌آذین در خارشتر

ارتفاع این گیاه از حدود ۰/۵ تا ۰/۸ متر متفاوت است (شکل ۱A). در زاویه بین برگ‌ها (ساده) با ساقه اصلی، محور گل‌آذین خوشه‌ای رشد می‌کند که

انتهای آن تبدیل به خار شده است، در نتیجه در روی یک گل‌آذین، گل‌های مختلف از نظر مراحل نمو را می‌توان دید که به طور معمول ۲-۵ عدد هستند (شکل ۱B-C).

گل خارشتر دارای تخمدان فوقانی، دوجنسی، با تقارن دوجانبی، پروانه‌آسا، و به رنگ صورتی تیره است (شکل ۱B-E). اجزای گل در چهار حلقه قرار دارند: کاسه گل از ۵ کاسبرگ پیوسته تشکیل می‌شود که در انتها دندانه‌دار است و در مراحل اولیه نمو، پوششی را به وجود می‌آورند که تمام اجزای گل را در بر می‌گیرد (شکل ۱D). جام گل ۵ گلبرگ دارد که در سه شکل ظاهر می‌شوند: یک گلبرگ درفش، دو گلبرگ بال، دو گلبرگ ناو. درفش حاشیه‌های توسعه یافته‌ای دارد و همه اجزای گل را در بر می‌گیرد و در پایه گل به رنگ سفید و در رأس به رنگ صورتی است. در یک گل جوان طی بزرگ شدن جوانه گل، درفش به تدریج نمایان می‌شود، در حالی که اجزای دیگر تا هنگام شکوفایی کامل گل، توسط درفش پوشیده می‌شوند. در گل‌های بالغ ناوها به هم پیوسته و یک گلبرگ واحد را می‌سازند (شکل ۱D-E). پرچم‌ها در حلقه سوم گل در دو پیرامون ۵ پرچمی به حالت دو دسته‌ای (*diadelphus*) قرار دارند، به این معنی که یکی از پرچم‌ها از بقیه جدا است و ۹ پرچم دیگر از محل قاعده میله‌ها به هم متصل می‌شوند و لوله پرچم را تشکیل می‌دهند، اما در رأس از یکدیگر جدا می‌شوند (شکل ۱E, F). پرچم‌ها ناجور ریخت هستند یعنی ۵ پرچم بلند و ۵ پرچم کوتاه است (شکل ۱F). در مرحله بلوغ، میله پرچم‌ها نسبت به مادگی کوتاه‌تر است (شکل ۱F). مادگی که

هیچ مرحله‌ی نمو روی سطح خارجی اپیدرم، هیچ یک از اجزای ضمیمه خاصی مانند کُرک‌های ترش‌حی یا پوششی وجود ندارند (شکل‌های ۳A و ۴A).

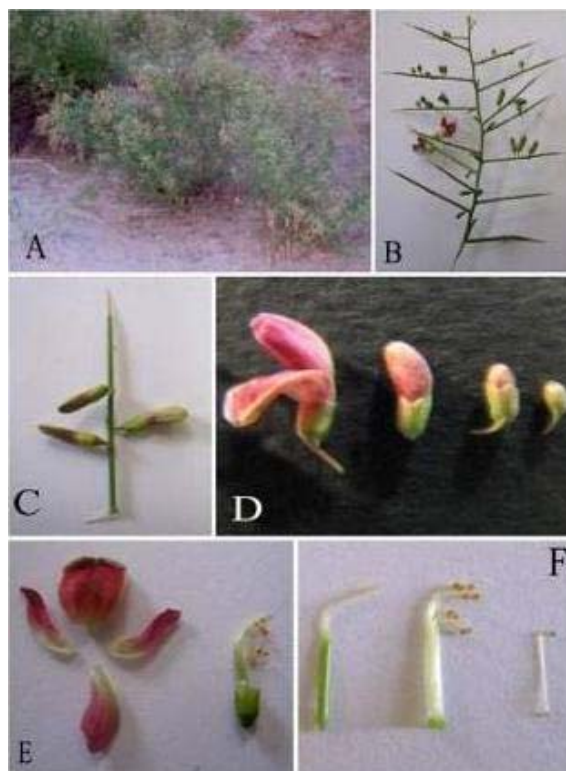
در مراحل نخستین نمو، ساختار تشریحی پرچم‌ها نیز ناجور شکلی آنها را نشان می‌دهد (شکل ۳A). در پرچم‌ها اگر چه توده‌ها گزرا از دیواره‌های بساک از هم قابل تشخیص هستند، اما هیچ آثاری از تمایز دیواره‌های سازنده بساک دیده نمی‌شود (شکل ۳A-C).



شکل ۲- تخمدان و میوه خارشتر. A- ساختار کل مادگی، با بزرگنمایی ۱X، B- ساختمان تخمدان با دیواره صاف؛ C- ساختمان خامه بدون کُرک؛ D- انتهای خامه که به یک کلاله نوک‌تیز می‌رسد، پیکان به گرده‌های سطح کلاله اشاره می‌کند؛ E- میوه نیام. B-D، با بزرگنمایی ۴X.

مادگی، یک برچه‌ای با اپیدرم تمایز یافته است که سلول‌های اپیدرمی دارای مواد فنلی (تاننی) و موادی با زیربنای چربی هستند، اما کُرک ندارند (شکل ۳D). از بافت پارانشیمی تخمک برجستگی کوچکی رشد می‌کند و پریموردیوم بافت تخمک را می‌سازد (شکل ۳D,E). به طور جالب توجه از همان مراحل نخستین نمو، مواد فنلی (تاننی) و مواد با زیربنای چربی در

داخلی‌ترین حلقه گل است، از یک برچه با یک خامه که در انتها باریک می‌شود و یک کلاله نوک‌تیز تشکیل شده است (شکل ۲A-D). میوه این گیاه دارای دیواره صاف، بند بند، خمیده و حاوی ۱ تا ۵ بذر است (شکل ۲E).



شکل ۱- ساختار رویشی و زایشی خارشتر. A و B- ریخت بوته‌ای گیاه و گل‌آذین‌های خوشه؛ C- گل‌آذین خوشه با گل‌های صورتی رنگ؛ D- گل خارشتر در مراحل نمو مختلف؛ E- ساختار جام گل و گل بدون جام با کاسه، پرچم و مادگی؛ F- مادگی و نافه دو دسته‌ای.

ساختار تشریحی گل خارشتر در مراحل نمو مختلف

ساختار تشریحی غنچه جوان در گل خارشتر نیز پیوسته بودن کاسبرگ‌ها، جام پروانه‌آسا با رشد درخور توجه درفش، یک برچه‌ای بودن و تمکن کناری تخمدان را نشان می‌دهد (شکل ۳A). به طور کلی، در

۵A-C)، در این مرحله، لایه‌های دیواره بساک به ویژه لایه مغذی در مجاورت سلول‌های مادر گرده قابل تشخیص هستند (شکل ۵A-C). سپس با انجام تقسیمات میوزی سلول‌های مادر گرده سلول‌های دیادی (شکل ۵D) و تترادی (شکل ۵E) را تولید می‌کنند. در این زمان، لایه‌های دیواره نیز سازمان می‌یابند که شامل لایه مغذی، لایه گذر (بینابینی) و لایه مکانیکی در زیر اپیدرم هستند (شکل ۵C-E). سلول‌های لایه مغذی در جهت شعاعی کشیده و دوکی شکل می‌شوند. به طور جالب توجه سلول‌های با مواد فنلی (تاننی) و مواد با زیربنای چربی در اطراف میله پرچم‌ها دیده می‌شوند (شکل ۵A, B, E). در این مرحله، بافت کاسبرگ‌ها تغییر چندانی نکرده است و فقط فضای بین سلولی آن افزوده شده است و لایه‌های اپیدرمی و زیراپیدرمی با محتوای فنلی و مواد با زیربنای چربی هم دیده می‌شود (شکل‌های ۵A و ۶A). رنگ‌پذیری گلبرگ‌ها به ویژه در دو گوشه انتهایی آنها بیشتر از کاسبرگ‌ها است. تمایز در اپیدرم درونی گلبرگ‌ها نیز گسترش یافته، اما به طور کامل پیشرفت نکرده است و بخشی از اپیدرم درونی از سلول‌های پارانشیمی مستطیلی با هسته قاعده‌ای تشکیل شده است (شکل ۶B-E). فضای بین سلولی در بافت زمینه گلبرگ‌ها نیز تا حدودی افزایش یافته است و بافت زمینه به حدود ۳-۴ لایه سلولی می‌رسد. بافت اپیدرمی و زیراپیدرمی تخمدان نیز تمایز می‌یابند و از مواد فنلی (تاننی) و مواد با زیربنای چربی پر می‌شوند. رشد بافت خورش به صورت برجستگی به داخل حفره تخمدان بیشتر شده، اما هنوز تمایز خاصی در ساختمان آن دیده نمی‌شود (شکل ۶F).

سلول‌های اپیدرمی تخمدان، بافت رابط پرچم‌ها و لایه زیر اپیدرمی کاسه گل توسعه زیادی دارند که این حالت در بخش وسیعی از جام گل نیز دیده می‌شود و مواد زیادی درون اپیدرم آنها وجود دارد (شکل ۳A). در این مرحله، گلبرگ درفش نسبت به سایر گلبرگ‌ها توسعه یافته‌تر است، با وجود این، هم‌پوشانی بین گلبرگ‌ها دیده نمی‌شود و همه گلبرگ‌ها در یک حلقه قرار دارند (شکل ۳A) و تجمع مواد فنلی (تاننی) و موادی با زیربنای چربی درون سلول‌های اپیدرم بیرونی گلبرگ درفش شروع می‌شود (شکل‌های ۳A و ۴B,C). چنین تمایزی در گلبرگ بال و ناو دیرتر رخ می‌دهد (شکل‌های ۳A، ۴D-F)، به طوری که در ناو فقط چند سلول از بافت اپیدرمی از مواد فنلی (تاننی) و مواد با زیربنای چربی انباشته شده‌اند (شکل ۴D,E) و در بال هنوز تغییر خاصی دیده نمی‌شود. رنگ‌پذیری زیادی نیز در دو گوشه گلبرگ‌ها دیده می‌شود که نشان‌دهنده تقسیمات سلولی فراوان در این بخش‌ها است (شکل ۴C,D,F). اپیدرم درونی در گلبرگ درفش به صورت خطی است (شکل ۴B,C). در گلبرگ ناو نیز تمایز مختصری در اپیدرم بیرونی قابل مشاهده است، با وجود این، اپیدرم درونی پارانشیمی است و دیواره رأسی سلول‌ها به سمت بیرون برآمدگی‌هایی دارد و سلول‌ها خطی و منظم نیستند (شکل‌های ۳A و ۴D,E). در گلبرگ بال نیز سلول‌ها خطی است و هیچ نوع موادی در دیواره آن دیده نمی‌شود (شکل ۴F).

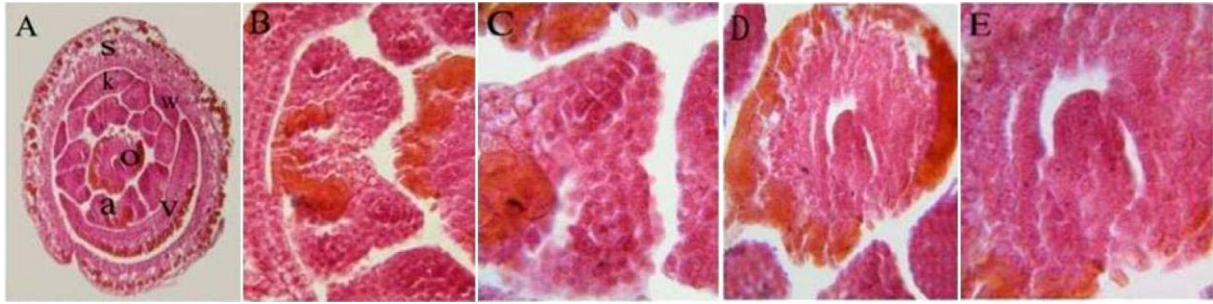
در بساک با نمو سلول‌های بافت هاگزای به سلول‌های مادر گرده، اندازه این سلول‌ها افزایش یافته، هسته آنها حجیم، پررنگ و مرکزی می‌شود (شکل

گلبرگ ناو در سطح مقابل درفش به هم رسیده و ساختمان ناوی شکل به وجود می‌آید (شکل ۷A) و در حقیقت آرایش خاص ناو و درفش باعث می‌شود درفش از سمت پشتی و ناو از سمت شکمی اندام‌ها را در برگیرند و محیط بسته‌ای را به وجود آورند (شکل ۷A). بال‌ها بین درفش و ناو قرار می‌گیرند (شکل ۸A, C, E).

در مرحله بلوغ گل، در حلقه سوم پرچم‌های پیوسته به هم لوله پرچمی را تشکیل می‌دهند که مادگی در داخل این لوله قرار می‌گیرد (شکل ۹A). در این مرحله میکروسپوره‌های بالغ را می‌توان دید (شکل ۸C-D). تیغه بین دو کیسه‌گرده تحلیل رفته، شکوفایی طولی در دیواره بساک رخ می‌دهد. دیواره بساک از یک لایه مکانیکی و یک لایه اپیدرمی تشکیل شده است (شکل ۸D). در این مرحله هر کدام از گلبرگ‌ها به مرحله بلوغ نمو خود رسیده، دارای بافت اپیدرمی تمایز یافته هم در سطح درونی و هم در سطح بیرونی هستند (شکل ۸A و B).

مراحل تشکیل کیسه جنینی در مادگی با تأخیر بیشتری نسبت به تمایز دانه‌گرده اتفاق می‌افتد و در مرحله بلوغ کیسه‌گرده که دانه‌های گرده در حال آزاد شدن هستند، کیسه جنینی در مرحله‌ای است که سلول مگاسپور تقسیمات میتوز خود را انجام می‌دهد (شکل ۹E, F). اپیدرم تخمک نیز در حال تمایز است و سلول‌ها مواد فنلی (تاننی) و مواد بازیربنای چربی دارند و تغییراتی نیز در بافت‌های اطراف کیسه جنینی رخ داده است و لایه‌های اندوتلیال (endothelial) در حال شکل‌گیری هستند (شکل ۹F). تخمک نیز از نوع واژگون است (شکل ۹E, F).

با افزایش تمایز گل، میکروسپورزایی ادامه می‌یابد و تترادهای چهار وجهی که هنوز در دیواره کالوزی احاطه شده‌اند تشکیل می‌شوند (شکل ۷A-D). در این مرحله بساک‌ها چهار حفره‌ای هستند و هنوز تیغه (سپتوم) بین کیسه‌های گرده وجود دارد. دیواره‌های بساک از یکدیگر قابل تشخیص هستند، به طوری که شروع تجزیه لایه مغزی که از نوع ترش‌حی است دیده می‌شود، لایه میانی تحلیل رفته و در زیر اپیدرم لایه مکانیکی به صورت بدون تمایز دیده می‌شود. اطراف رابط بساک بافت سازمان یافته‌ای متشکل از مواد فنلی (تاننی) و مواد بازیربنای چربی دیده می‌شود (شکل ۷A-D). اطراف تخمدان نیز چنین بافتی تشکیل می‌شود که بافت تخمک در حال تمایز را احاطه می‌کند. تخمک تا حدودی به صورت خمیده شده است، اما هنوز واژگون نیست و سلول مادر مگاسپور مشاهده نشده است (شکل ۷E, F). هم زمان با انجام تغییرات یاد شده، در گلبرگ‌ها نیز تغییراتی شامل تمایز بیشتر سلول‌های اپیدرمی، افزایش فضای بین سلولی و ایجاد فضاهایی با رنگ‌پذیری بیشتر در بافت زمینه‌ای اتفاق می‌افتد (شکل ۸A-F). تغییرات در سلول‌های اپیدرمی درفش زودتر از گلبرگ‌های دیگر انجام می‌شود و شدت بیشتری دارد (شکل ۸D)، اما میزان حفرات یا مجاری ترش‌حی با رنگ‌پذیری بالا در بال به مراتب بیشتر از دیگر گلبرگ‌ها است (شکل E و ۸C). این ساختارها در گلبرگ ناو هم وجود دارند، اما در گلبرگ درفش به ندرت دیده می‌شوند (شکل F و ۸B). در این مرحله، در اثر رشد حاشیه‌های گلبرگی، هم پوشانی اتفاق افتاده و گلبرگ درفش در خارجی‌ترین حلقه، گلبرگ‌های دیگر و اندام‌های داخلی‌تر را در بر می‌گیرد و ناو نیز به حدی رشد می‌کند که حاشیه‌های دو



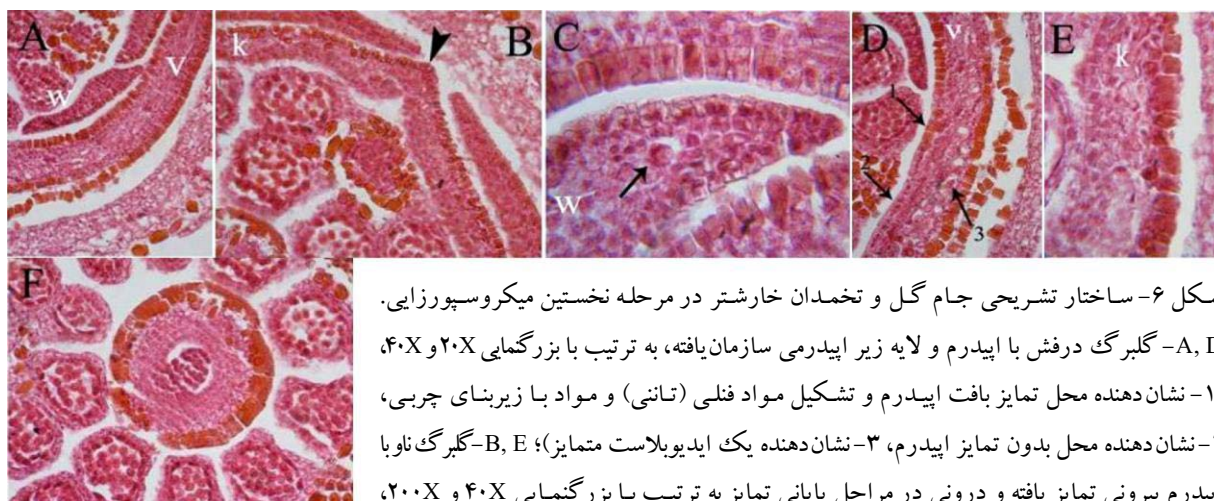
شکل ۳- برش عرضی غنچه جوان گل و اجزای آن در خارشتر. A, B- برش عرضی غنچه جوان، با بزرگنمایی ۱۵X؛ B, C- بساک که در آن بافت اسپروژن و لایه‌های دیواره‌ای از هم قابل تشخیص هستند، با بزرگنمایی ۴۰X و ۲۰۰X؛ D- تخمدان با بزرگنمایی ۱۰۰X؛ E- برجستگی تخمک با بزرگنمایی ۲۰۰X. a: بساک؛ b: پراکته؛ v: درفش؛ w: بال؛ k: ناو؛ o: تخمدان؛ s: کاسبرگ.



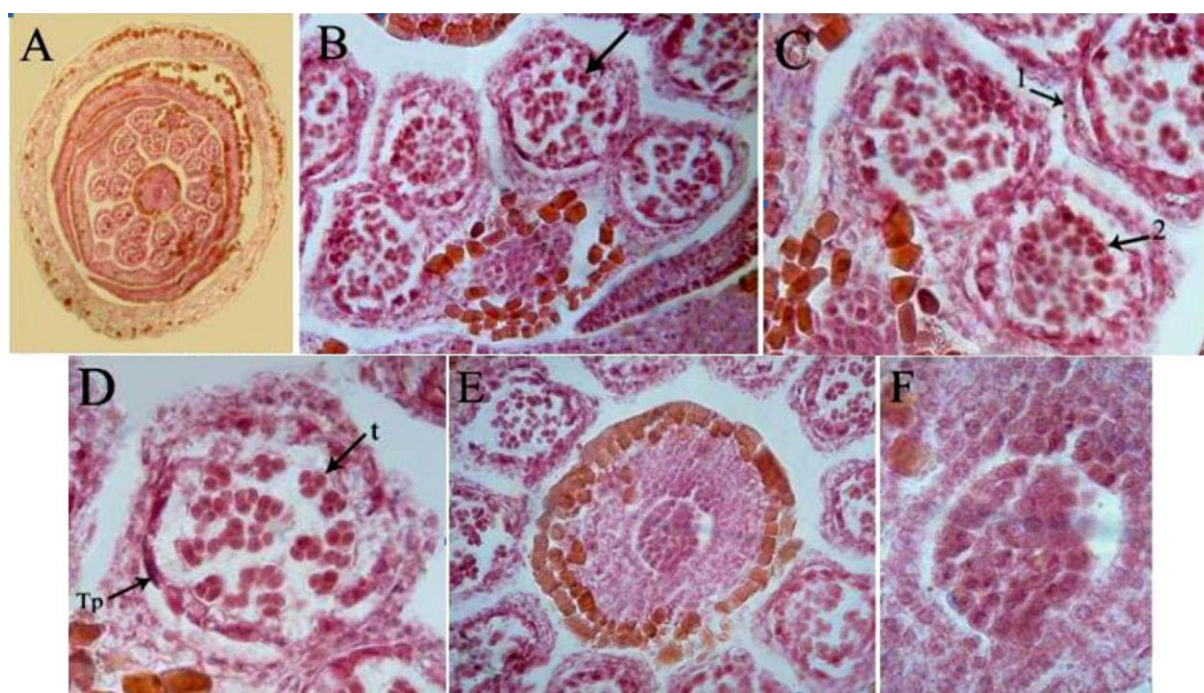
شکل ۴- ساختار تشریحی کاسه و جام گل در مرحله غنچه جوان گل در خارشتر. A- کاسبرگ، با بزرگنمایی ۱۰۰X؛ B, C- درفش، (در شکل B با اپیدرم بیرونی تمایز یافته و اپیدرم درونی صاف و بدون تمایز با بزرگنمایی ۲۰۰X و در شکل C حاشیه انتهایی گلبرگ درفش بدون تمایز با بزرگنمایی ۲۰۰X)؛ D, E- گلبرگ ناو (D- آثار تمایز در سطح بیرونی ناو، با بزرگنمایی ۱۰۰X، E- گلبرگ ناو با بزرگنمایی بیشتر ۲۰۰X)؛ F- گلبرگ بال با بزرگنمایی ۲۰۰X.



شکل ۵- A- ساختار تشریحی گل خارشتر طی مرحله اولیه میکروسپورزایی، ۱۰X؛ B- ساختمان بساک دارای چهار کیسه گرده و بافت ترشچی در محل رابط، ۲۰X؛ C- کیسه گرده با تمام لایه‌های دیواره‌ای مشخص، ۲۰۰X؛ D- کیسه گرده با سلول‌های مادر میکروسپور در حال تقسیم با دو هسته، ۲۰۰X؛ E- تشکیل سلول‌های تترادی در کیسه گرده، دو سلول از سلول‌های رشد یافته با محتویات رنگی که اطراف رابط را احاطه کرده‌اند در میدان دید آشکار هستند، ۲۰۰X؛ Ep: دیواره اپیدرمی؛ En: لایه مکانیکی؛ MI: لایه میانی؛ Tp: لایه مغذی؛ pmc: سلول‌های مادر دانه گرده؛ Tm: سلول‌های تترادی.



شکل ۶- ساختار تشریحی جام گل و تخمدان خارشتر در مرحله نخستین میکروسپورزایی. A, D- گلبرگ درفش با اپیدرم و لایه زیر اپیدرمی سازمان یافته، به ترتیب با بزرگنمایی ۲۰X و ۴۰X، (۱- نشان دهنده محل تمایز بافت اپیدرم و تشکیل مواد فلتی (تانی) و مواد با زیربنای چربی، ۲- نشان دهنده محل بدون تمایز اپیدرم، ۳- نشان دهنده یک ایدیوبلاست متمایز)؛ B, E- گلبرگ ناو با اپیدرم بیرونی تمایز یافته و درونی در مراحل پایانی تمایز به ترتیب با بزرگنمایی ۴۰X و ۲۰۰X، (پیکان شکل B نشان دهنده ناحیه اتصال دو گلبرگ ناو به یکدیگر و تمایز اپیدرم بیرونی است)؛ C- گلبرگ بال با اپیدرم بیرونی در مراحل نخستین تمایز، (پیکان نشان دهنده یک ایدیوبلاست است)، با بزرگنمایی ۲۰۰X؛ F- تخمدان با دیواره بیرونی سازمان یافته که برجستگی کوچکی برای ایجاد تخمک به وجود آمده، با بزرگنمایی ۴۰X. v: درفش؛ w: بال؛ k: ناو.



شکل ۷- برش عرضی گل خارشتر در مراحل پایانی میکروسپورزایی. A- غنچه گل در مرحله تتراد که هنوز در دیواره کالوزی ویژه قرار دارند، با بزرگنمایی ۱۰X؛ B, C- ساختار بساک با تترادهای چهار وجهی (پیکان نشان دهنده تترادهاست، لایه گذر از بین رفته است، شروع تجزیه لایه مغذی دیده می‌شود؛ لایه مکانیکی تمایز خاصی نشان نمی‌دهد و در اطراف بافت رابط پرچم‌ها سلول‌های دارای مواد فلتی (تانی) و مواد با زیربنای چربی دیده می‌شود)، به ترتیب با بزرگنمایی ۴۰X و ۱۰۰X؛ E, F- ساختمان تخمدان با دیواره تمایز یافته و شروع تمایز تخمک، به بافت سازمان یافته اطراف تخمدان توجه شود، به ترتیب با بزرگنمایی ۴۰X و ۲۰۰X. t: تتراد؛ Tp: لایه مغذی؛ ۱- لایه‌های دیواره‌ای بساک؛ ۲- تترادهای چهار وجهی.



شکل ۸- ساختار گل‌پوش در خارشتر. A- جام گل واجد درفش، بال با حفرات یا مجاری ترش‌چی و ناو، با بزرگنمایی ۴۰X؛ B، F؛ گلبرگ ناو با اپیدرم بیرونی تمایز یافته و اپیدرم درونی در حال تمایز، به ترتیب با بزرگنمایی ۸۰X و ۱۰۰X؛ C، E؛ بال با اپیدرم بیرونی و درونی تمایز یافته، به ترتیب با بزرگنمایی ۸۰X و ۱۰۰X؛ D- حفره یا مجرای ترش‌چی (پیکان) در درفش با اپیدرم بیرونی تمایز یافته. پیکان‌ها در شکل‌های A-F مجاری (حفرات ترش‌چی) را نشان می‌دهند. v: درفش؛ w: بال؛ k: ناو.



شکل ۹- ساختار گل خارشتر در مرحله بلوغ. A- برش عرضی گل بالغ، با بزرگنمایی ۱۰X؛ B- جام گل و پرچم، لایه‌های سطحی با سلول‌های تمایز یافته دارای مواد فنلی (تاننی) و مواد با زیربنای چربی همه اجزای گل پوش دیده می‌شود، با بزرگنمایی ۴۰X؛ C، D- بساک کامل با لایه مکانیکی رشد یافته (پیکان‌ها) و گرم‌های در حال رها شدن، تیغه جدا کننده بین دو خانه بساک از بین رفته است و محل شکوفایی بساک (نوک پیکان) آشکار است، به ترتیب با بزرگنمایی ۴۰X، ۸۰X؛ E، F- ساختار تخمدان با لایه‌های سطحی تمایز یافته و پر از مواد فنلی (تاننی) و مواد با زیربنای چربی، شروع تمایز این سلول‌های تمایز یافته در تخمک نیز آشکار است، به ترتیب با بزرگنمایی ۴۰X و ۱۰۰X. Ep: اپیدرم؛ En: لایه مکانیکی.

بحث

در خارشتر ساختار گل از الگوی کلی موجود در Papilionoideae پیروی می‌کند و تقارن دو جانبی پشتی-شکمی دارد (Tucker, 2003a). این نوع تقارن نوعی سازگاری تکاملی است که دگرلقاحی را از طریق جذب گرده‌افشان‌ها آسان می‌کند (Feng *et al.*,

2006). از طرفی، این پدیده عامل انتخاب گروه کمتری از گرده‌افشان‌هاست و به نظر می‌رسد زنبورهای بزرگ، گرده‌افشان‌های اصلی گل‌های نامتقارن باشند (Etcheverry *et al.*, 2003). زنبورها شکل‌های پیچیده را به راحتی تشخیص می‌دهند و بنابراین، نامنظم بودن بسیاری از گل‌های لگوم را خوب می‌شناسند (Cronk,

برجسته‌ای در گل‌های پروانه‌آسااست و باعث محدود شدن رفتار گرده‌افشان می‌شود (Etcheverry *et al.*, 2003). پرچم‌ها ناجور شکل (heteromorphy) هستند یعنی میله‌های آنها کوتاه و بلند بوده، بساک‌ها نیز بزرگ و کوچک هستند. درون بساک، کیسه‌های گرده نیز از نظر مراحل نمو یکسان نیستند، یعنی نمو آنها ناهمزمان است (Mansano and Teixeira, 2008). ناهمزمانی نمو در بساک‌های بیرونی و درونی گیاه *Crotalaria micans* Link نیز دیده می‌شود و بنابراین، هنگام ملاقات گرده‌افشان بساک‌های بیرونی که زودتر از کلاله نمو دارند، دانه‌های گرده خود را به گرده‌افشان می‌دهند و سپس، یک حالت خود گرده‌افشانی بارشد بساک‌های درونی به سمت کلاله ایجاد می‌شود که نوعی خود گرده‌افشانی تأخیری است (Etcheverry *et al.*, 2003). Mansano *et al.*, 2003 و Teixeira همچنین، ناهمزمانی نمو در *Holocalyx blansae* Micheli و *Zollernia magnifica* A. M. Carvalho & Barneby گزارش شده است (Mansano and Teixeira, 2008). ناجور شکلی و دو دسته‌ای بودن پرچم‌ها در سایر گیاهان زیر تیره پروانه‌آسانیز دیده می‌شود (Tucker, 2003a). بساک‌ها چهار کیسه گرده‌ای (Liu and Huang, 1999؛ Teixeira *et al.*, 2002؛ Liu and Huang, 2003؛ Galati *et al.*, 2006؛ Chehregani *et al.*, 2008) با دیواره چهار لایه‌ای متشکل از: اپیدرم، لایه مکانیکی، لایه میانی با یک ردیف سلول و لایه مغزی در اطراف بافت اسپورزا است. بنابراین، دیواره کیسه گرده از نوع دولپه‌ای (dicotyledonous) است (Galati *et al.*, 2006؛ Wilson, 2001). در حالی که در گیاهان *Dumasia*

(2006). در بررسی ریخت‌شناختی مشخص شد که سطح اپیدرمی اندام‌ها بدون کرک است. بال‌ها باریک هستند اما هیچ تغییر رنگی در آنها دیده نمی‌شود، شاید ساختار بال به عنوان پایه برای پاهای حشره باشد (Etcheverry *et al.*, 2008). ادغام دو گلبرگ ناو که ویژگی معمول پروانه‌آساها در نظر گرفته شده است، در خارشتر نیز به نوعی محل جمع شدن گرده گل است. به نظر می‌رسد ناو پیوسته به گرده‌افشانی از نوع پیستون کمک می‌کند، زیرا در این حالت دانه گرده توسط خامه بیرون از ناو کشیده می‌شود (Etcheverry *et al.*, 2003). توسعه لایه اپیدرمی تمایز یافته دارای مواد فنلی (تاننی) و مواد با زیربنای چربی در جام گل و تخمدان خارشتر از مرحله‌ای که بساک در حال تولید بافت اسپورزاست، آغاز می‌شود. اما تمایز لایه اپیدرمی در بال دیرتر رخ می‌دهد.

تمایز اپیدرم تخمدان و کاسبرگ خارشتر هنگامی که بافت‌های دیگر تمایز خود را شروع نکرده‌اند، آغاز می‌شود. به نظر می‌رسد این نوع تمایزها در حفاظت از اندام‌های داخلی گل نقش دارند. در مراحل پایانی نمو، سلول‌های بافت زمینه گلبرگ‌ها توسعه یافته، فضای بین سلولی رشد یافته‌ای داشتند. همچنین، نقاط قرمز رنگی در بافت زمینه بال‌ها و ناوها در مرحله سلول مادر میکروسپور دیده شد که به نظر می‌رسد مجاری ترشچی باشند که در جذب گرده‌افشان‌ها مؤثرند. تراکم آنها در ناو کمتر از بال و در درفش نیز به مراتب کمتر هستند. تشکیل مجاری ترشچی بسیار معمول است و در تاکسون‌های مختلف از جمله بقولات (Fabaceae) نیز پیشنهاد شده است (Paiva *et al.*, 2009). الحاق پرچم‌ها باعث لوله‌ای شدن آنها می‌شود که ویژگی

Liu؛ Teixeira *et al.*, 2002؛ Wilson, 2001؛ 2001؛ Galati *et al.*, 2006؛ and Huang, 2003؛ Rezanejad, 2007؛ Chehregani *et al.*, 2008) ساختار مادگی، یک برچه‌ای با تمکن کناری، تخمک واژگون (anatropous) و پرخورش است که مطابق مطالعات پیشین و ویژگی معمول در این زیرتیره است (Soverna *et al.*,؛ Moco and Mariath, 2003)؛ 2003؛ Galati *et al.*, 2006؛ Rezanejad, 2006؛ Rodriguez-Pontes, 2007؛ Riahi and Zarre, 2009؛ Chehregani and Tanaomi, 2010).

در خارشتر نمو کیسه رویانی با تأخیر همراه است و در مرحله بلوغ میکروسپورها، کیسه رویانی هنوز در مرحله تقسیم میتوز است و تمام هسته‌ها تشکیل نشده‌اند. مراحل مربوط به نمو کیسه رویانی در گیاه مورد مطالعه به طور کامل مشاهده نشد، اما در مطالعات پیشین وجود هر دو نوع تتراد خطی (Soverna؛ Moco and Mariath, 2003)؛ Rodriguez-Riano *et al.*, 2006؛ *et al.*, 2003؛ Chehregani and Tanaomi, 2010) و T-شکل (Rodriguez-Pontes, 2007؛ Soverna *et al.*, 2003) در گیاهان این تیره گزارش شده است. کیسه رویانی بالغ از نوع پلی‌گونوم است که از ویژگی‌های معمول در این زیرتیره است (Moco and؛ Akhalkatsi *et al.*, 1999)؛ Moco and؛ Soverna *et al.*, 2003؛ Mariath, 2003؛ Rezanejad,؛ Galati *et al.*, 2006؛ Mariath, 2004؛ Rodriguez-؛ Rodriguez-Riano *et al.*, 2006؛ 2006؛ Pontes, 2007). روی اپیدرم تخمدان و تخمک کوتیکول دیده نمی‌شود، اما مواد فنلی (تاننی) و مواد با زیربنای چربی درون سلول‌ها وجود دارند. وجود کوتیکول ضخیم در اطراف دانه در Mimosoideae و

Uraria؛ (Liu and Huang, 2003) *miaoliensis*؛ (Liu and Huang, 1999) *crinita* (L.) Desv. و (Rezanejad, 2007) *Spartium junceum* L. (Teixeira *et al.*, 2002) *Dahlstedtia Malme* (Liu and است پایه است (Huang, 1999).

لایه‌های دیواره کیسه‌گرده در خارشتر در مرحله‌ای که سلول‌های مادر میکروسپور تقسیمات میوزی را آغاز می‌کنند، به خوبی از یکدیگر متمایز می‌شوند، سازمان یابی و حضور کامل سلول‌های لایه مغذی نیز در این مرحله دیده می‌شود. لایه مغذی، تک هسته‌ای است که از این نظر مشابه اکثر گیاهان مطالعه شده از این تیره است (Suzuki *et al.*, 2001؛ Liu and Huang, 1999)؛ 2002؛ Teixeira *et al.*, 2002؛ Rezanejad, 2007؛ Galati *et al.*, 2006؛ Chehregani *et al.*, 2008)، اما در گیاه *Onobrychis schahuensis* Bornm. مغذی تک هسته‌ای و دو هسته‌ای هستند (Chehregani *et al.*, 2008). در خارشتر لایه مغذی تا اواخر میوز و تولید میکروسپورهای آزاد باقی می‌ماند که ویژگی شاخص تیره لگوم است. در تیره Oxalidaceae لایه‌های مغذی طی مرحله تتراد تجزیه و سلول‌های خود را از دست می‌دهد و تیره Cabombaceae حتی لایه مغذی خود را زودتر در طی مرحله سلول مادر میکروسپور از دست می‌دهد (Moco and Mariath, 2004). لایه مغذی ترشحی و تقسیم سیتوپلاسم همزمان و آرایش میکروسپورها درون دیواره کالوزی چهار وجهی (tetrahedral) است که با نتایج مطالعات قبلی از این تیره مشابه است (Suzuki *et al.*,؛ Liu and Huang, 1999).

شرایط کم اکسیژنی (hypoxia) می‌شود که برای نمو رویان مورد نیاز است، انطباق دارد (Rodriguez-Pontes, 2007).

Caesalpinoideae نسبت به Papilionoideae معمول‌تر است. این پدیده با داده‌های تجربی اخیر که پیشنهاد می‌کنند نفوذپذیری اندک پوشش دانه لگوم باعث ایجاد

منابع

قهرمان، ا.، (۱۳۷۳) کورموفیت‌های ایران. انتشارات مرکز نشر دانشگاهی. تهران.

- Akhalkatsi, M., Pfauth, M. and Calvin, C. L. (1999) Structural aspects of ovule and seed development and nonrandom abortion in *Melilotus officinalis* (Fabaceae). *Protoplasma* 208: 211-223.
- Bazoobandi, M., Barati, M. and Haghghi, S. (2006) Physiological response of *Alhagi pseudoalhagi* to root exhausting management during fallow season. *Iranian Journal of Weed Science* 2: 84-95.
- Benlloch, R., Navarro, C., Bltran, J. P. and Canas, L. A. (2003) Floral development of the model legume *Medicago truncatula*: ontogeny studies as a tool to better characterize homeotic mutations. *Sexual Plant Reproduction* 15: 231-241.
- Chehregani, A. and Tanaomi, N. (2010) Ovule ontogenesis and megagametophyte development in *Onobrychis schahuensis* Bornm. (Fabaceae). *Turk Journal of Botany* 34: 241-248.
- Chehregani, A., Tanaomi, N. and Ranjbar, M. (2008) Pollen and anther Development in *Onobrychis schahuensis* Bornm. (Fabaceae). *International Journal of Botany* 4: 241-244.
- Cronk, Q. C. B. (2006) Legume flowers bear fruit. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103: 4801-4802.
- Etcheverry, A. V., Protomastro, J. J. and Westerkamp, C. (2003) Delayed autonomous self-pollination in the colonizer *Crotalaria micans* (Fabaceae: Papilionoideae): structural and functional aspects. *Plant Systematic and Evolution* 239: 15-28.
- Etcheverry, A.V., Aleman, M. M. and Fleming, T. F. (2008) Flower morphology, pollination biology and mating system of the complex flower of *Vigna caracalla* (Fabaceae: Papilionoideae). *Annals of Botany* 102: 305-316.
- Fanjiang, Z., Ximing, Z., Foetzki, A., Xiangyi, L., Xiaoming, L. and Runge, M. (2002) Water relation characteristics of *Alhagi sparsifolia* and consequences for a sustainable management. *Science in China* 45: 125-131.
- Feng, X., Zhao, Z., Tian, Z., Xu, S., Luo, Y., Cai, Z., Wang, Y., Yang, J., Wang, Z., Weng, L., Chen, J., Zheng, L., Zheng, L., Guo, X., Luo, J., Sato, S., Tabata, S., Ma, W., Cao, X., Hu, X., Sun, C. and Luo, D. (2006) Control of petal shape and floral zygomorphy in *Lotus japonicas*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103: 4970-4975.
- Galati, B. G., Rosenfeldt, S. and Tourn, G. M. (2006) Embryological studies in *Lotus glaber* (Fabaceae). *Annales Botanici Fennici* 43: 97-106.
- Gharibnaseri, M. K. and Mard, S. A. (2007) Gastroprotective effect of *Alhagi camelorum* on experimental gastric ulcer in rats. *Physiology and Pharmacology* 10: 343-350.
- Hassanein, A. M. and Mazen, A. M. A. (2001) Adventitious bud formation in *Alhagi graecorum*. *Plant Cell, Tissue and organ culture* 65: 31-35.
- Liu, C. C. and Huang, T. C. (1999) Microsporogenesis and exine substructure in *Uraria crinita* (Fabaceae). *Grana* 38: 277-283.
- Liu, C. C. and Huang, T. C. (2003) Anther and pollen wall development in *Dumasia*

- miaoliensis* Liu and Lu (Fabaceae). *Taiwania* 48: 273-281.
- Mansano, V. F. and Teixeira, S. P. (2008) Floral anatomy of the Lecoitea clade (Leguminosae, Papilionoideae, Swartzieae sensu lato). *Plant Systematic Evolution* 273: 201-209.
- Moco, M. C. C. and Mariath, J. E. A. (2003) Ovule ontogenesis and megasporogenesis in *Adesmia latifolia* (Spreng.) Vog. (Leguminosae-Papilionoideae). *Revista Brasil Botany* 26: 495-502.
- Moco, M. C. C. and Mariath, J. E. A. (2004) Female gametophyte development in *Adesmia latifolia* (Spreng.) Vog. (Leguminosae- Papilionoideae). *Revista Brazilian Botany* 2: 241-248.
- Paiva, E. A. S., Oliveria, D. M. T. and Machado, S. R. (2009) Anatomy and ontogeny of the pericarp of *Pterodon emarginatus* Vogel (Fabaceae, Faboideae), with emphasis on secretory ducts. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* 80: 455-465.
- Rezanejad, F. (2006) Zygotic Embryogenesis in *Spartium junceum* L. (Fabaceae): Development of embryo and suspensor. *International Journal of Botany* 2: 113-16.
- Rezanejad, F. (2007) The effect of air pollution on Microsporogenesis in *Spartium Junceum* L. (Fabaceae). *Turk Journal of Botany* 31: 183-191.
- Riahi, M. and Zarre, S. (2009) Seed development in *Astragalus cemerinus* and *A. ruscifolius* (Fabaceae), and its systematic implications. *Acta Biologica Cracoviensia* 51: 111-117.
- Rodriguez-Pontes, M. (2007) Development of megagametophyte, embryo and seed in *Senna corymbosa* (Lam.) H. S. Irwin & Barneby (Leguminosae- Caesalpinoideae). *Botany Journal of Linnean Society* 153: 169-179.
- Rodriguez-Riano, T., Valtuena, F. J. and Ortega-Olivencia, A. (2006) Megasporogenesis, Megagametogenesis and Ontogeny of the Aril in *Cytisus striatus* and *C. multiflorus* (Leguminosae: Papilionoideae). *Annals of Botany* 98: 777-791.
- Soverna, A. F., Galati, B. and Hoc, P. (2003) Study of ovule and megagametophyte development in four species of subtribe Phaseolinae (Leguminosae). *Acta Biologica Cracoviensia* 45: 63-73.
- Suzuki, K., Takeda, H., Tsukaguchi, T. and Egawa, Y. (2001) Ultrastructural study on degeneration of tapetum in anther of Snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under heat stress. *Sexual Plant Reproduction* 13: 293-299.
- Teixera, S. P., Forni-Martins, E. R. and Ranga, N. T. (2002) Development and cytology of pollen in *Dahlstedtia Malme* (Leguminosae: Papilionoideae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 138: 461-471.
- Tucker, S. C. (1998) Floral ontogeny in Legume genera *Petalostylis*, *Labichea*, and *Dialium* (Caesalpinoidea: Cassieae), A series in floral reduction. *American Journal of Botany* 85: 184-208.
- Tucker, S. C. (2002) Floral ontogeny in Sophoreae (Leguminosae: Papilionoideae). III. Radial symmetry and random petal aestivation in *Cadia Purpurea*. *American Journal of Botany* 89: 748-757.
- Tucker, S. C. (2003a) Floral Development in Legumes I. *Plant Physiology* 131: 911-926.
- Tucker, S. C. (2003b) Floral ontogeny in Swartzia (Leguminosae: Papilionoideae: Swartzieae): distribution and role of the ring meristem. *American Journal of Botany* 90: 1271-1292.
- Wilson, C. A. (2001) Floral stages, ovule development, and ovule and fruit success in *Iris tenax*, focusing on var. *Gormanii*, a taxon with low seed set. *American Journal of Botany* 88: 2221-2231.

مطالعه فلوربستییک و تعیین شکل‌های زیستی گیاهان معدن آهن گلالی

بهروز عشقی ملایری^۱، مهتاب عسگری نعمتیان^{۲*}، فاطمه کاظمینی^۳ و محمد مهدی دهشیری^۳

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان، ایران

^۲ مربی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران ۴۶۹۷-۱۹۳۹۵، ج. ا. ایران

^۳ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد، بروجرد، ایران

چکیده

در پژوهش حاضر، فلور معدن آهن گلالی بررسی شد. این معدن در ۵۸ کیلومتری شمال‌غربی استان همدان، در مرز همدان، کرمانشاه و سندج، در مختصات ۴۷ درجه، ۵۴ دقیقه طول شمالی و ۳۴ درجه و ۵۹ دقیقه عرض شرقی قرار دارد. روش جمع‌آوری گیاهان منطقه یادشده، روش مرسوم مطالعات فلوربستییک منطقه‌ای است. نمونه‌های جمع‌آوری شده بر اساس روش‌های مرسوم تاکسونومی گیاهی و به کارگیری منابع لازم شناسایی و خانواده، جنس و گونه‌هریک تعیین شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده در این بررسی در هرباریوم دانشگاه بوعلی‌سینا نگهداری می‌شود. شکل زیستی هر یک از عناصر گیاهی منطقه با روش رانکایر (Raunkiaer) مشخص شد. در بررسی منطقه معدن آهن گلالی، ۳۶ خانواده، ۱۱۶ جنس و ۱۴۷ گونه و واحدهای تحت‌گونه‌ای شناسایی شد که خانواده‌های Asteraceae (آفتاب‌گردان)، Brassicaceae (شب‌بو)، Poaceae (گندمیان)، Fabaceae (نیام‌داران) و Lamiaceae (نعنایان) بیشترین فراوانی را داشتند. شکل‌های زیستی منطقه شامل ۱ درصد فانروفیت، ۵ درصد کریتوفیت، ۴۹ درصد همی کریتوفیت، ۶ درصد کامفیت و ۳۹ درصد تروفیت هستند. بیشترین پراکنش جغرافیایی، گونه‌ها متعلق به ناحیه ایرانی-تورانی است.

واژه‌های کلیدی: پراکنش جغرافیایی، شکل زیستی، فلوربستییک، معدن گلالی

مقدمه

ریخت‌شناختی گیاه با شرایط محیطی به وجود آمده است. از جمله عوامل مختلف بوم‌شناختی که در تعیین شکل زیستی گیاهان هر منطقه دخالت دارند می‌توان به ارتفاع محل، عمق و رطوبت خاک، سرعت باد و فشار ناشی از چریده شدن اشاره کرد (مصدیقی،

بررسی فلوربستییک هر منطقه از اهمیت بالایی برخوردار است، زیرا مانند شناسنامه‌ای وجود گیاهان و وضعیت آنها را نشان می‌دهد. شکل زیستی هر گونه گیاهی ویژگی ثابتی است که بر اساس سازش‌های

انباشت ساز فلزات سنگین در برخی از پسماندهای معادن مکزیک را شناسایی و فلور آن مکان‌ها را معرفی کردند. در بررسی گیاهان علفی، درختچه‌ها و درختان رویش یافته در معدن زغال‌سنگ در هند مشاهده شد که بین گونه‌های درختی، بیشینه ارتباط مثبت برای عنصر مس، در ساقه و برگ گیاه *Trema orientalis* وجود دارد (Bandita et al., 2011).

این پژوهش برای نخستین بار در منطقه معدن آهن گلالی در شهرستان قروه کردستان برای تهیه لیست فلوربستیک گونه‌های گیاهی، تعیین شکل‌های زیستی و پراکنش جغرافیایی انجام شد که می‌توان توسط آن به تنوع گونه‌ای، وضعیت گیاهان و پتانسیل منطقه از نظر رویشی و بوم‌شناختی پی برد و همچنین، می‌تواند مبنای مطالعات جامعه‌شناسی و بوم‌شناختی باشد، همچنین، در پی بردن به پتانسیل‌های گیاهی قابل بهره‌برداری از لحاظ گیاهان دارویی، مرتعی، جنگلی، صنعتی و ... کمک می‌کند.

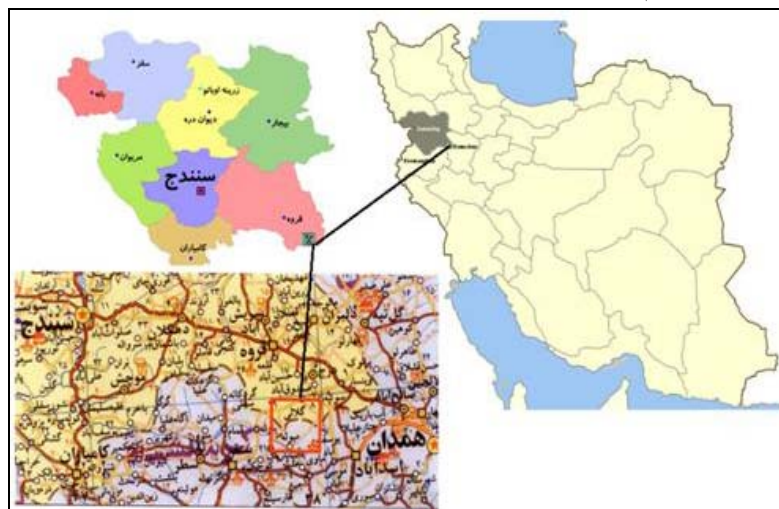
مواد و روش‌ها

معدن آهن گلالی با وسعت ۹/۲۲۵ کیلومتر مربع در مختصات جغرافیایی ۴۷ درجه و ۵۴ دقیقه طول شرقی و ۳۴ درجه و ۵۹ دقیقه عرض شمالی و در ارتفاع ۲۴۲۵ متر از سطح دریا واقع شده است. از نظر موقعیت مکانی در فاصله حدود ۵۸ کیلومتری شمال غرب همدان و ۵۰ کیلومتری شمال غربی اسدآباد و ۲۷ کیلومتری شمال غربی روستای چنار عباس خان و یک کیلومتری روستای گلالی قرار دارد (شکل ۱). طبق طبقه‌بندی سازمان هواشناسی کشور، منطقه گلالی در زیر گروه سرد و خشک قرار می‌گیرد، به طوری که آب و هوای

(۱۳۸۰). عوامل ریخت‌شناختی، نقش مهمی در ترکیب فلوربستیک و سیمای ظاهری هر منطقه ایفا می‌کند. هر تغییری در عوامل بوم‌شناختی و خاک منطقه می‌تواند به تغییراتی در ترکیب فلوربستیک و یا حتی ریختارهای گیاهی آن منطقه منجر شود. با توجه به این که هر زیستگاه دارای ترکیبی از عوامل بوم‌شناختی ویژه خود است، بر اثر عوامل بوم‌شناختی خاص حاکم بر آن، ترکیب گونه‌ای ویژه‌ای را می‌پذیرد. بنابراین، نقش و اهمیت عوامل بوم‌شناختی روی ترکیب رُستنی‌ها و روابط دو جانبه آنها در یک زیستگاه مشخص می‌شود. پس تنوع و تغییر عوامل بوم‌شناختی و تأثیر پدیده‌هایی همچون برهم‌کنش و جایگزینی عوامل بوم‌شناختی باعث به وجود آمدن شرایط بوم‌شناختی مختلف و در نتیجه ایجاد زیستگاه‌های متفاوت در یک منطقه می‌شود (Guinochet, 1973). فلور ایران به فلور کشورهای شرقی که شامل مناطق فیتوجغرافیایی به نام ایرانی-تورانی هستند، تعلق دارد. Manafi و Hajiboland (۲۰۰۷) بر روی فلور خاک‌های غنی از فلزات سنگین در شمال غرب ایران مطالعاتی را انجام دادند. قربانلی و همکاران (۱۳۸۶) در بررسی و مطالعه فلور معدن مس نکتار مشخص نمودند که بیشترین گونه‌های این منطقه متعلق به تیره Asteraceae است. یوسفی در سال ۱۳۸۶ گونه‌های انباشت‌ساز معدن همه کسی در استان همدان که نزدیکترین معدن به معدن گلالی است را بررسی و فلور منطقه را معرفی کرد. گل محمدی (۱۳۸۴)، گیاهان معدن سرب و روی آهنگران در استان همدان را مطالعه و فلور گیاهی معدن را معرفی کرد. Carrillo و Gonzalez-chavez (۲۰۰۶) گیاهان

استفاده از کتاب فرهنگ نام‌های گیاهان ایران (مظفریان، ۱۳۸۳) تعیین شد. ارزش دارویی و مرتعی بودن گیاهان نیز با استفاده از کتاب‌ها و منابع موجود مشخص شد (زرگری، ۱۳۷۵؛ کریمی، ۱۳۸۴). به منظور تعیین شکل‌های مختلف زیستی منطقه از روش مرسوم Raunkiaer (۱۹۷۳) استفاده شد. در این سیستم، گیاهان بر اساس موقعیت جوانه‌های تجدید حیات کننده به ۵ دسته فانروفیت‌ها، کامفیت‌ها، کریپتوفیت، همی کریپتوفیت و تروفیت‌ها تقسیم می‌شوند (مبین، ۱۳۶۰). سپس، پراکنش جغرافیایی گونه‌ها با توجه به مناطق انتشار آنها در ایران و سایر کشورها و بر اساس تلفیقی از تقسیم‌بندی‌های جغرافیایی رویش‌های ایران White و Leonard (۱۹۹۱)، Takhtajan (۱۹۸۶) و Zohary (۱۹۷۳) تشخیص داده شد.

منطقه در زمستان سرد و در تابستان معتدل است. میانگین بارندگی سالیانه حدود ۳۳۰ میلی‌متر و کمینه و بیشینه درجه حرارت بین ۳۳- و ۴۰ درجه سانتیگراد است (سامان یکتا معدن، ۱۳۸۶). در این پژوهش، برای تعیین فلور، گیاهان منطقه از اسفند ۱۳۸۸ تا شهریور ۱۳۸۹ با روش سیستماتیک-تصادفی (بدون قاب و با مشاهده نظری) انجام شد (مصدیقی، ۱۳۸۰). پس از پرس شدن، روی کارت‌های مقوایی ویژه چسبانده و در کنار آن ویژگی‌های نمونه از قبیل ارتفاع، محل جمع‌آوری، تاریخ جمع‌آوری و شماره هرباریومی یادداشت شد، سپس گیاهان جمع‌آوری شده با استفاده از سری کتب فلورا ایرانیکا (Rechinger, 1963-2001)، فلورهای معتبر قهرمان (۱۳۸۳) و فلور ایران (Parsa, 1986) شناسایی شدند و نام فارسی آنها نیز با



شکل ۱- نقشه موقعیت جغرافیایی محدوده مورد مطالعه (مقیاس ۱:۲۰۰۰۰۰۰) و راه‌های دسترسی به معدن گلالی (گلستانی، ۱۳۸۰)

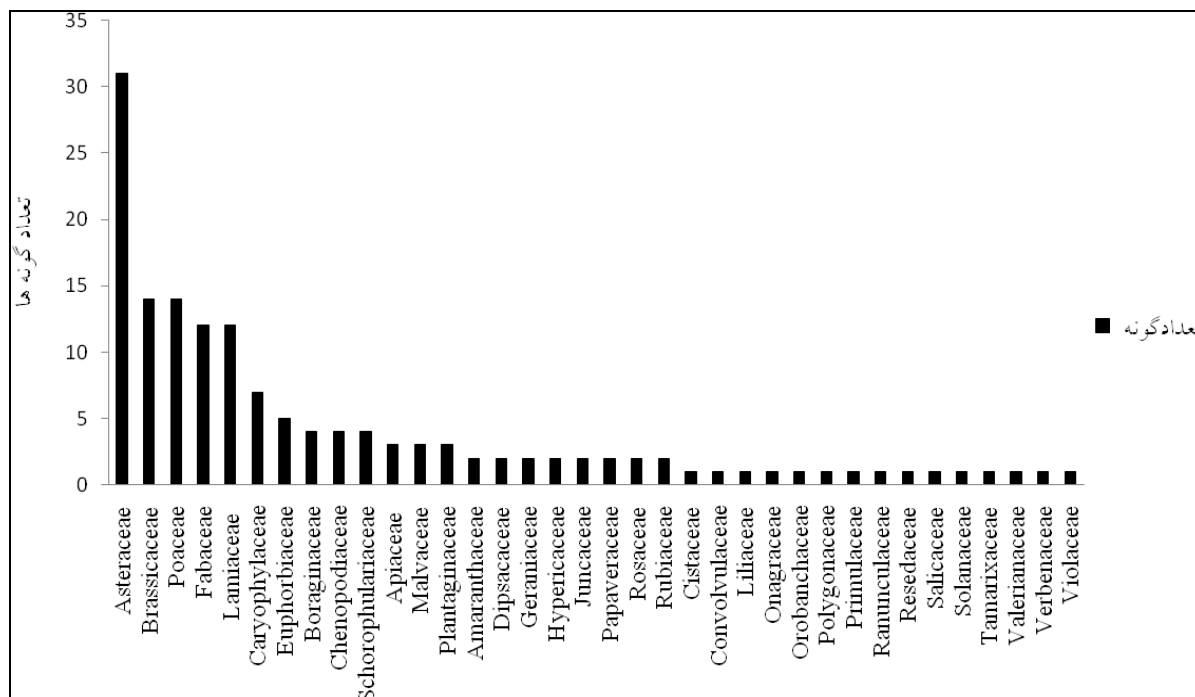
گونه تک‌لپه) انتشار دارد که از مهم‌ترین خانواده‌ها می‌توان به تیره Asteraceae با ۳۱ گونه، Poaceae با ۱۴ گونه، Brassicaceae با ۱۴ گونه و Fabaceae با ۱۲ گونه اشاره کرد (شکل ۲). در جدول ۱ اسامی گونه‌های گیاهی این منطقه به ترتیب حروف الفبایی

نتایج

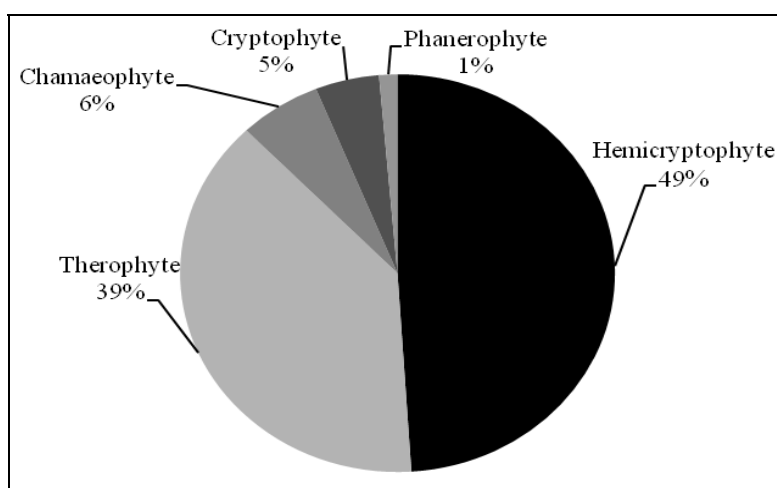
شناسایی فلور این منطقه نشان داد که در منطقه معدن آهن ۳۶ خانواده گیاهی (۳۳ خانواده دو لپه و ۳ خانواده تک‌لپه)، ۱۱۶ جنس (۹۹ جنس دو لپه و ۱۷ جنس تک‌لپه) و ۱۴۷ گونه (۱۳۰ گونه دو لپه و ۱۷

کامفیت و ۳۹ درصد تروفیت است. از لحاظ پراکنش جغرافیایی بیشترین گونه‌ها متعلق به ناحیه ایرانی-تورانی است (شکل ۴).

خانواده تنظیم شده است. با توجه به شکل ۳ شکل‌های زیستی گیاهان منطقه شامل ۱ درصد فانروفیت، ۵ درصد کریپتوفیت، ۴۹ درصد همی کریپتوفیت، ۶ درصد



شکل ۲- نمودار فراوانی گونه‌های گیاهی متعلق به هر تیره گیاهی در منطقه



شکل ۳- درصد فراوانی شکل‌های زیستی گونه‌های گیاهی منطقه. Ph: فانروفیت؛ Ch: کامفیت؛ He: همی کریپتوفیت؛ Cr: کریپتوفیت؛ Th: تروفیت.

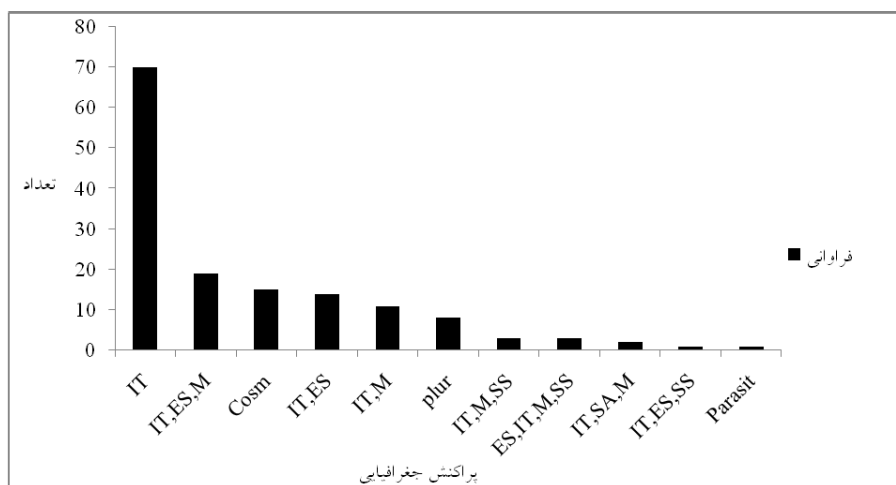
جدول ۱- فهرست گونه‌های گیاهی شناسایی شده در منطقه

نام گیاه	نام فارسی	نوع گیاه	شکل زیستی
خانواده تاج خروس <i>Amaranthaceae</i>			
<i>Amaranthus albus</i> L.	تاج خروس سفید	مرتهی	Th
<i>Amaranthus retroflexus</i> L.	تاج خروس، زلف عروسان	دارویی	Th
خانواده جعفری <i>Apiaceae</i> (<i>Umbeliferae</i>)			
<i>Eryngium billardieri</i> F. Delaroche.	زول	دارویی	He
<i>Scandix stellata</i> Banks & Soland.	شانه ونوس ستاره‌ای	مرتهی	Th
<i>Turgenia latifolia</i> (L.) Hoffm.	گیس چسبک، گیس میماسی	مرتهی	Th
خانواده آفتابگردان <i>Asteraceae</i> (<i>Compositae</i>)			
<i>Achikea wilhelmsii</i> C. Koch.	بومادران	دارویی	He
<i>Anthemis</i> sp.	بابونه	دارویی	Th
<i>Carthamus oxyacantha</i> M. B.	گلرنگ زرد، خارخرون	دارویی	Th
<i>Centaurea depressa</i> M. B.	گل گندم	مرتهی	Th
<i>Centaurea iberica</i> Trev. ex Spreng.	گل گندم چمن‌زار	دارویی	He
<i>Centaurea solstitialis</i> L.	گل گندم زرد	دارویی	He
<i>Centaurea virgata</i> Lam.	گل گندم ترکه‌ای، گل گندم بوته‌ای	دارویی	He
<i>Chondrilla juncea</i> L.	قندرون	دارویی	Th
<i>Chardinia orientalis</i> (L.) O.Kuntze		مرتهی	Th
<i>Cichorium intybus</i> L.	کاسنی	دارویی	He
<i>Cirsium lappaceum</i> M.B. var. <i>tomentosum</i> Boiss.	کنگر خاردار کندوانی، کنگر خاردار نم‌دی	مرتهی	He
<i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten.	کنگر معمولی، کنگر همه جایی	مرتهی	He
<i>Cnicus benedictus</i> L.	خار مقدس	دارویی	Th
<i>Crupina cnpinastrium</i> (Moris) Vis	سیاه فندق، دانه سیاه	مرتهی	Th
<i>Cousinia bijarensis</i> Rech. f.	هزار خار بیجاری	مرتهی	He
<i>Crepis</i> sp.	کفشک، ریش قوش	دارویی	Th
<i>Echinops pungens</i> Trautv.	شکر تیغال نیش دار	دارویی	He
<i>Filago arvensis</i> L.	-	مرتهی	Th
<i>Garhadiolus angulosus</i> Jaub & Spach.	-	مرتهی	Th
<i>Gundelia tournefortii</i> L.	کنگر علوفه‌ای، کنگر خوراکی	دارویی	He
<i>Onopordon heteracanthum</i> C. A. Mey.	خار پنبه ناجور خار	مرتهی	Ch
<i>Picnomon acarna</i> (L.) Cass.	زرد خار، خار زردک	دارویی	Th
<i>Picris strigosa</i> M. B.	تلخک کردی	مرتهی	He
<i>Scariola orientalis</i> (Boiss.) Sojak.	گاوچاق کن	مرتهی	Ch
<i>Senecio vernalis</i> Waldst. & Kit.	قاصد بهار، پیر گیاه بهار	دارویی	Th
<i>Sonchus oleraceus</i> L.	شیر تیغک رطوبت پسند، شیر تیغک معمولی	دارویی	He
<i>Tanacetum polycephalum</i> Schultz. Bip.	مینای پرکپه	دارویی	He
<i>Tragopogon gram inifolius</i> DC.	شنگ	دارویی	He
<i>Tragopogon longirostris</i> Bisch.	شنگ حلبی، شنگ نوک دراز	مرتهی	He

نام گیاه	نام فارسی	نوع گیاه	شکل زیستی
<i>Xanthium spinosum</i> L.	زردینه خاردار	دارویی	Th
<i>Xanthium strumarium</i> L.	زردینه	دارویی	Th
خانواده گل‌گاو زبان Boraginaceae			
<i>Heliotropium europaeum</i> L.	آفتاب پرست اروپایی	دارویی	Th
<i>Nonnea persica</i> Boiss.	چشم گریه‌ای ایرانی	مرتعی	He
<i>Onosma kotschyi</i> Boiss.	زنگوله‌ای دناپی	مرتعی	He
<i>Rochelia dispema</i> (L. F) C.Koch.	چنکگی دودانه‌ای	مرتعی	Th
خانواده شب‌بو Brassicaceae (Cruciferae)			
<i>Alyssum linifolium</i> Steph. ex Willd.	قدومه برگ باریک	دارویی	Th
<i>Alyssum minus</i> (L.) Rothm.	قدومه	دارویی	Th
<i>Alyssum szowitsianum</i> Fisch & C. A. Mey.	قدومه آراتی	دارویی	Th
<i>Camelina hispida</i> Boiss.	کتان کُش کرکی	مرتعی	Th
<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Medicus.	کیسه کشیش	دارویی	Th
<i>Cardaria draba</i> (L.) Desv.	آزمک	دارویی	He
<i>Clypeola lappacea</i> Boiss.	خردل سپری قلابی	مرتعی	Th
<i>Descurainia sophia</i> (L.) Schur.	خاکشیر ایرانی	دارویی	Th
<i>Erysimum crassipes</i> Fisch. & C. A. Mey.	خاکشیر تلخ تالشی، خاکشیر تلخ پایک کلفت	دارویی	He
<i>Erysimum cuspidatum</i> (M. B.) DC.	خاکشیر تلخ نیش‌دار	دارویی	He
<i>Erysimum griffithianum</i> Boiss.	خاکشیر تلخ ایرانی	دارویی	He
<i>Erysimum repandum</i> L.	خاکشیر تلخ موج، خاکشیر بدل	مرتعی	Th
<i>Euclidium syriacum</i> (L.) R. Br.	سرگنجشکی	مرتعی	Th
<i>Malcolmia africana</i> (L.) R. Br.	شب‌بوی صحرایی	مرتعی	Th
خانواده میخک Caryophyllaceae			
<i>Acanthophyllum microcephalum</i> Boiss.	چوبک ایرانی، چوبک بوته‌ای	دارویی	Ch
<i>Cerastium inflatum</i> Link ex Desf.	دانه مرغ متورم	مرتعی	Th
<i>Gypsophila leioclada</i> Rech. f.	گچ دوست بی کرک، گچ دوست شاخه صاف	مرتعی	He
<i>Holosteum umbellatum</i> L.	-	مرتعی	Th
<i>Minuartia hamata</i> (Hausskn.) Mattf.	مروارید اسپانیایی، مرواریدی قلابدار	مرتعی	He
<i>Minuartia meyeri</i> (Boiss.) Bomm.	مروارید تالشی	مرتعی	Th
<i>Silene conoidea</i> L.	سیلن هرز، سیلن مزرعه روی	دارویی	Th
خانواده اسفناج Chenopodiaceae			
<i>Chenopodium album</i> L.	سلمک، سلمه تره	دارویی	Th
<i>Chenopodium botrys</i> L.	سلمک اورشلیمی، درمنه ترکی	دارویی	Th
<i>Noaea mucronata</i> (Forsk) Aschers & Schweinf	شوخ، خارکو	مرتعی	CH
<i>Salsola kali</i> L.	شور خاردار	مرتعی	Th
خانواده گل آفتابی Cistaceae			
<i>Helianthemum ledifolium</i> (L.) Miller	گل آفتابی اروپایی	مرتعی	Th
خانواده پیچک Convolvulaceae			

نام گیاه	نام فارسی	نوع گیاه	شکل زیستی
<i>Salvia spinosa</i> L.	مریم‌گلی خاردار	دارویی	He
<i>Stachys inflata</i> Benth.	اولبله، سنبله‌ای بادکنکی، سنبله‌ای ارغوانی	دارویی	He
<i>Stachys lavandulifolia</i> Vahl.	سنبله‌ای زیبا، چای کوهی	دارویی	He
<i>Teucrium orientale</i> L.	مریم‌نخودی شرقی	دارویی	He
<i>Teucrium polium</i> L.	جز، کلپوره، مریم‌نخودی	دارویی	He
<i>Ziziphora capitata</i> L.	کاکوتی سرسان	مرتعی	Th
<i>Ziziphora clinopodioides</i> Lam.	کاکوتی کوهی، مشک طرامشک	دارویی	He
Liliaceae خانواده سوسن			
<i>Colchicum kotschyii</i> Boiss.	گل حسرت	دارویی	Cr
Malvaceae خانواده پنیرک			
<i>Alcea kurdica</i> (Schlecht.) Alef.	ختمی کردی	دارویی	He
<i>Hibiscus trionum</i> L.	ختمی سه رنگ، بستان گلی، گل یک ساعته	دارویی	Th
<i>Malva neglecta</i> Wallr.	پنیرک	دارویی	He
Onagraceae خانواده گل مغربی			
<i>Epilobium frigidum</i> Hausskn.	بید علفی یخچالی، علف خر یخچالی	مرتعی	He
Orobanchaceae خانواده گل جالیز			
<i>Orobancha anatolica</i> Boiss. & Reut.	گل جالیز آناتومی	مرتعی	Cr
Papaveraceae خانواده تریاک			
<i>Glaucium grandiflorum</i> Boiss. & Heut.	شقایق گل درشت	دارویی	He
<i>Papaver dubium</i> L.	شقایق	مرتعی	Th
Plantaginaceae خانواده بارهنگ			
<i>Plantago lanceolata</i> L.	بارهنگ سر نيزه‌ای، کاردی	مرتعی	He
<i>Plantago major</i> L.	بارهنگ	دارویی	He
<i>Plantago ovata</i> Forssk.	اسفرزه، بارهنگ تخم‌مرغی	دارویی	He
Poaceae (Gramineae) خانواده گندمیان			
<i>Aegilops triuncialis</i> L.	گندم نیای سه لایه	مرتعی	Th
<i>Agropyrum trichophorum</i> (Link) Richter.	چمن گندمی کُرکدار	مرتعی	He
<i>Boissiera squarrosa</i> (Banks & Soland.) Nevski.	-	مرتعی	Th
<i>Bromus sterilis</i> L.	چارو علفی نازا	مرتعی	Th
<i>Calamagrostis pseudophragmites</i> (Hall. f.) Koel	علف نی	مرتعی	He
<i>Crypsis alopecuroides</i> (Piller & Mitterp) Schrad.	نهان سنبل دشتی، نهان سنبل دم روباهی	مرتعی	Th
<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.	مرغ	دارویی	Cr
<i>Festuca ovina</i> Brot.	علف بره	مرتعی	He
<i>Heterantheum piliferum</i> (Banks & Soland) Hochst.	دگرگندمی	مرتعی	Th
<i>Melica jacquemontii</i> Decne. ex Jaquem.	ملیکای صخره‌روی، ملیکای صخره‌ای	مرتعی	Cr
<i>Oryzopsis holcifomis</i> (M. B) Hack.	برنجی زاگرس	مرتعی	He
<i>Poa bulbosa</i> L.	چمن پیازک‌دار	مرتعی	Cr
<i>Polypogon semiverticillatus</i> (Forssk) Hyl.	شال دم‌فراهم	مرتعی	He

شکل زیستی	نوع گیاه	نام فارسی	نام گیاه
He	مرتعی	استپی ریش‌دار	<i>Stipa barbata</i> Desf. خانواده علف هفت‌بند Polygonaceae
Th	دارویی	علف هفت‌بند	<i>Polygonum aviculare</i> L. خانواده گل پامچال Primulaceae
Th	مرتعی	یاسمن صخره‌ای یکساله	<i>Androsace maxima</i> L. خانواده آلاله Ranunculaceae
Th	مرتعی	چشم خروس تابستانه، گل خروسک	<i>Adonis aestivalis</i> L. خانواده ورث Resedaceae
He	دارویی	ورث زردنما، ورث زردچهره	<i>Reseda lutea</i> L. خانواده گل سرخ Rosaceae
Ch	مرتعی	-	<i>Hultenia persica</i> (Mich) Bomm.
He	دارویی	توت رویاهی	<i>Sanguisorba minor</i> Scop. خانواده روناس Rubiaceae
He	مرتعی	-	<i>Galium mite</i> Boiss. & Hohen
Th	مرتعی	شیر پنیر	<i>Galium tricomutum</i> Dandy. خانواده بید Salicaceae
PH	دارویی	بید	<i>Salix</i> sp. خانواده سیب‌زمینی Solanaceae
He	دارویی	بذرالبنج	<i>Hyoscyamus reticulatus</i> L. خانواده گل میمون Schorophulariaceae
He	دارویی	گل میمونی شیاردار	<i>Scrophularia striata</i> Boiss.
He	دارویی، مرتعی	گل ماهور تماشایی	<i>Verbascum speciosum</i> Scharder.
He	دارویی	سیزاب آبی	<i>Veronica anagalis-aquatica</i> L.
He	-	-	<i>Veronica</i> sp. خانواده گز Tamarixaceae
PH	دارویی	گز پرشاخه	<i>Tamarix ramosissima</i> Ledeb. خانواده Valerianaceae
Th	مرتعی	شیرینک زگیل دار	<i>Valerianella tuberculata</i> Boiss. خانواده شاه‌پسند Verbenaceae
He	دارویی	شاه‌پسند وحشی	<i>Verbena officinalis</i> L. خانواده بنفشه Violaceae
Th	مرتعی	بنفشه فروتن	<i>Viola modesta</i> Fenzl.



شکل ۴- هیستوگرام فراوانی پراکنش جغرافیایی گونه‌های گیاهی منطقه. Cosm: جهان وطنی؛ Es: اروپا-سیبری؛ IT: ایران-تورانی؛ M: مدیترانه‌ای؛ SS: صحرا-سندی؛ SA: صحرا-عربی؛ Plur: چند ناحیه‌ای.

می‌دهند، تحمل‌کننده خشکی هستند. این گروه از گیاهان به علت سازگاری کمتر در مقایسه با گروه‌های پیشین آستانه تحمل مشخصی نسبت به شرایط خشک دارند و با افزایش شرایط نامساعد زیستی محکوم به مرگ هستند. با توجه به غلظت بالای فلزات سنگین در این منطقه در مقایسه با منطقه شاهد، گیاهانی قادر به بقا در این منطقه هستند که در برابر آلودگی خاک مقاوم‌تر باشند (کاظمینی، ۱۳۸۹). فراوانی تیره Asteraceae در این منطقه می‌تواند به چرای زیاد در منطقه، درصد بالای تخریب پوشش گیاهی منطقه و همچنین، مقاومت تاکسون‌های این تیره در برابر فلزات سنگین و آلودگی‌های خاکی مربوط باشد. نتایج حاصل از این بررسی با نتایج تحقیق قربانلی و همکاران (۱۳۸۶) در بررسی فلور معدن مس نکتار که بیشترین گونه‌ها متعلق به تیره Asteraceae و بالاترین درصد شکل‌های زیستی به تروفیت و همی کریپتوفیت مربوط بودند، مطابقت دارد. همچنین، بررسی نتایج فلور معدن آهن همه‌کسی (نزدیکترین معدن به معدن گالالی) نشان می‌دهد که خانواده‌های Asteraceae (آفتابگردان)، با ۱۸ گونه،

بحث و نتیجه‌گیری

از مجموع ۳۶ تیره گیاهی شناسایی شده در منطقه، خانواده‌های Asteraceae (آفتابگردان)، با ۳۱ گونه، Brassicaceae (شب‌بو) و Poaceae (گندمیان)، هریک با ۱۴ گونه، Fabaceae (نیام‌داران) و Lamiaceae (نعنایان) هر کدام با ۱۲ گونه بیشترین فراوانی را داشتند. بررسی شکل زیستی گیاهان منطقه بیانگر وجود تنوع نسبتاً خوب در شکل‌های زیستی آن است که به علت سازگاری گیاهان منطقه به شرایط اقلیمی و خاکی است. عوامل اقلیم، آب و بستر به عنوان عوامل اصلی و عوامل تعیین‌کننده‌ای مانند ارتفاع، شیب (درصد شیب و جهت شیب)، عوامل خاک‌شناسی شامل اسیدیته، بافت، درصد مواد آلی و غیره در تنوع فلوربستیک منطقه مؤثر بوده‌اند (عطری و صفی‌خانی، ۱۳۷۸). درصد نسبتاً بالای همی کریپتوفیت‌ها نشانگر سازگاری خاص گیاهان با شرایط اقلیمی سرد و کوهستانی است (Archibold, 1995) و فراوانی تروفیت‌ها گویای تخریب‌هایی است که در منطقه صورت گرفته است. در مقابل گیاهان فانروفیت که درصد کم تری از فلور منطقه را تشکیل

Stipa barbata و *Centaurea virgata* اشاره کرد (کازمینی، ۱۳۸۹). این نتایج با نظر ملایری و همکاران (۱۳۸۳) و گل محمدی (۱۳۸۴) که گونه‌های *Centaurea virgata* را گونه انباشته‌ساز معدن آهنگران معرفی کردند و خسروپناهی و حاجی‌بلند (۱۳۸۳) که *Stipa barbata* را به عنوان انباشته‌ساز عنصر منگنز معرفی کردند، مطابقت دارد. همچنین، موسایی (۱۳۸۶)، *Verbascum speciosum* را به عنوان گونه انباشتگر معدن همه کسی معرفی نمود. توجه به این که اقلیم منطقه سرد و خشک است، از نظر پراکنش جغرافیایی عناصر ایرانی-تورانی ۴۷/۶۱ درصد، ایرانی-تورانی/مدیترانه‌ای/اروپا-سیبری ۱۲/۲۴ درصد، جهان‌وطن ۱۰/۲۰ درصد و بقیه به سایر نواحی رویشی تعلق داشتند. شایان ذکر است که با توجه به پراکنش جغرافیایی گیاهان نمی‌توان درباره منشأ و خاستگاه آنها به طور دقیق نظر داد. از طرفی، رویشگاه‌های فعلی و فلور هر ناحیه با شرایط اقلیمی فعلی انطباق کاملی ندارند، زیرا به شدت متأثر از دگرگونی‌های زمین‌شناسی است (عصری و مهرنیا، ۱۳۸۱).

Lamiaceae (نعنایان) و Poaceae (گندمیان)، هر یک با ۱۳ گونه، Brassicaceae (شب‌بو) با ۶ گونه و Fabaceae (بقولات) با ۵ گونه بیشترین فراوانی را دارند (یوسفی، ۱۳۸۶) که این نتایج نیز با نتایج حاصل از این تحقیق در معدن آهن گلالی، انطباق دارد. بنا بر مطالعات Stanislav و همکاران (۲۰۰۷) نیز در خاک‌های غنی از فلزات سنگین، تیره‌های اشاره شده بیش از سایر خانواده‌ها حضور دارند و دارای گونه‌هایی هستند که مقاوم و دارای توانایی بالای گیاه پالایی هستند. در معدن سرب و روی آهنگران، بیشترین درصد فراوانی گونه‌ها نیز متعلق به تیره Asteraceae است (گل محمدی، ۱۳۸۴). تحلیل گیاهان معدن مورد مطالعه و مقایسه نتایج آن با منطقه شاهد نشان می‌دهد که از میان گونه‌های بومی معرفی شده در فلور منطقه مورد نظر، گونه‌های گیاهی مناسبی برای گیاه پالایی به شیوه تثبیت گیاهی (phytostabilization) و استخراج گیاهی (phytoextraction) وجود دارند. از گونه‌های انباشتگر مهم در منطقه می‌توان به *Tanacetum polycephalum*، *Chenopodium botrys*، *Verbascum speciosum*

منابع

عصری، ی. و مهرنیا، م. (۱۳۸۱) معرفی فلور بخش مرکزی منطقه حفاظت شده سفیدکوه. مجله منابع طبیعی ایران ۵۵: ۳۶۳-۳۷۶.

عطری، م. و صفی‌خانی، ک. (۱۳۷۸) گزارش نهایی طرح تحقیقاتی بررسی اکوفیتوسوسیولوژی پوشش گیاهی استان همدان (فاز دوم، منطقه گیان نه‌آوند). مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام استان همدان، همدان.

قربانلی، م.، اسداللهی، ف. و جوهرچی، م. (۱۳۸۶) معرفی فلور و شکل زیستی و پراکنش جغرافیایی گیاهان معدن

خسروپناه، م. (۱۳۸۳) مقایسه تحمل، قدرت جذب و انباشته‌گری مقادیر سمی منگنز بین چند گونه زراعی و وحشی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان، ایران.

زرگری، ع. (۱۳۷۵) گیاهان دارویی. جلد‌های ۳-۵. مؤسسه چاپ و انتشار دانشگاه تهران، تهران.

شرکت سامان یکتا معدن (۱۳۸۶) گزارش زمین‌شناسی - معدنی و تعیین ذخیره کانسار سنگ آهن گلالی. کردستان.

- مصدقی، م. (۱۳۸۰) توصیف و تحلیل پوشش گیاهی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، مشهد.
- مظفریان، و. (۱۳۸۳) فرهنگ نام‌های گیاهی ایران. انتشارات فرهنگ معاصر، تهران.
- ملایری، ب.، گل محمدی، ر. و میرغفاری، ن. (۱۳۸۳) شناسایی گونه‌های گیاهی مقاوم و ذخیره‌کننده فلزات سنگین در محدوده معدن سرب و روی آهنگران. خلاصه مقالات دوازدهمین کنفرانس سراسری زیست‌شناسی ایران. دانشگاه بوعلی سینا، همدان.
- موسایی، م. (۱۳۸۶) شناسایی گونه‌های معرف فلزات سنگین در محدوده معدن همه‌کسی استان همدان و بررسی تأثیر این فلزات بر مورفولوژی و عملکرد ضد میکروبی *Verbascum speciosum* Scharder. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.
- یوسفی، ن. (۱۳۸۶) شناسایی گونه‌های انباشت‌ساز در معدن همه‌کسی استان همدان و بررسی اثرات فلزات سنگین بر ویژگی‌های مورفولوژیک و سیتوژنتیک گیاه *Chenopodium botrys*. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.
- Archibold, O. W. (1995) Ecology of world vegetation. Chapman and Hall, London.
- Bandita, D., Gayatri, N. and Sahu, R. K. (2011) Studies on the uptake of heavy metals by selected plant species growing on coal mine spoil in sub-tropical regions of India. Journal of American Science 7: 26-34.
- Carrillo Gonzalez, R. and Gonzales-chavez, M. C. A. (2006) Metal accumulation in wild plants surrounding mining wastes. Environmental Pollution Journal 144: 84-92.
- Guinochet, M. (1973) Phytosociologie. Elsevier Masson, Paris.
- Hajiboland, R. and Manafi, M. H. (2007) Flora of heavy metal-rich soils NW Iran and some potential hyper-accumulator and accumulator species. Acta Botanica Croatica 66(2): 177-195.
- Parsa, A. (1986) Flora of Iran (2) Tehran University Press, Iran.
- Raunkiar, C. (1973) Plant life forms. Oxford University Press, Clarendon.
- Rechinger, K. H. (ed.). (1963-2001) Flora Iranica, nos. 1-176. Akademische Druck-und Verlagsanstalt (1-174), Graz; Naturhistorisches Museum (175-178). Wien.
- Stanisla, W., Gawronski, G. and Gawronska, H. (2007) Plant taxonomy for phytoremediation. In: Advanced science and technology for biological decontamination of sites affected by chemical and radiological nuclear agents (ed. Marmiroli, N.) 79-88.
- مس تکنار در شهرستان بردسکن. فصلنامه علمی پژوهشی گیاه و زیست بوم ۱۸: ۲-۱۶.
- قهرمان، ا. (۱۳۸۳) کورموفیت‌های ایران. جلد‌های ۱-۳. انتشارات نشر دانشگاهی، تهران.
- کاظمینی، ف. (۱۳۸۹) بررسی گونه‌های گیاهی مقاوم به فلزات سنگین در محدوده معدن گلالی، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی مرکز بروجرد، بروجرد، ایران.
- کریمی، ه. (۱۳۸۴) مرتعداری. مؤسسه چاپ و انتشارات دانشگاه تهران، تهران.
- گل محمدی، ر. (۱۳۸۴) شناسایی گونه‌های مقاوم و ذخیره‌کننده فلزات سنگین در منطقه معدن آهنگران و بررسی اثر این فلزات بر مراحل رویان‌زایی گیاهان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.
- گلستانی، و. (۱۳۸۰) گزارش زمین‌شناسی-معدنی کانسار سنگ آهن باباعلی. شرکت مهندسی مشاور زریابان اکتشاف، همدان.
- مبین، ص. (۱۳۶۰) جغرافیای گیاهی. انتشارات دانشگاه تهران، تهران.

- Takhtajan, M. (1986) Floristic regions of the world. University of California Press, Berkeley.
- White, F. and Leonard, J. (1991) Phytogeographical links between Africa and southwest Asia. *Flora et Vegetatio Mundi* 9: 229-246.
- Zohary, M. (1973) Geobotanical Foundations of the Middle East. 2 vols. Stuttgart, Israel.

پاسخ‌های فیزیولوژیک سلول‌های جداگشت گیاه جعفری به میدان مغناطیسی ایستا

اله‌ام رجب‌بیگی^۱، فائزه قناتی^{۱*} و پرویز عبدالمالکی^۲

^۱ گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

^۲ گروه بیوفیزیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

چکیده

سلول‌های زنده دارای بار الکتریکی هستند که به واسطه حضور یون‌ها و رادیکال‌های آزاد ایجاد می‌شوند. میدان‌های مغناطیسی با برهم‌کنش با یون‌ها و به ویژه مواد فرومگنتیک نظیر آهن بر سلول‌های زنده تأثیر می‌گذارند. میدان‌های مغناطیسی از جمله عوامل محیطی هستند که می‌توانند آثار درخور توجهی را حتی در مدت زمان اندک و شدت‌های پایین بر سیستم‌های زنده داشته باشند. در این بررسی، سلول‌های گیاه جعفری (*Petroselinum crispum*) در کشت تعلیقی به مدت ۴ ساعت در معرض میدان مغناطیسی ۳۰ میلی‌تسلا قرار گرفتند و محتوای آهن کل سلول، محتوای فریتین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز بررسی شد. بر مبنای نتایج به دست آمده میدان مغناطیسی باعث کاهش جذب آهن و به دنبال آن کاهش محتوای فریتین گشت. فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز نیز کاهش یافت که این کاهش می‌تواند نتیجه کاهش مشارکت آهن به عنوان واحد ساختاری در آنزیم‌های فوق باشد، در حالی که فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، آهن، سوپر اکسید دیسموتاز، فریتین، کاتالاز، میدان مغناطیسی

مقدمه

از تکنولوژی بشر امروزی، در زندگی روزمره انسان حضور داشته‌اند (Belyavskaya, 2004). در مورد آثار میدان‌های مغناطیسی بر سیستم‌های زنده، گزارش‌های ضد و نقیضی وجود دارد. از گذشته‌های بسیار دور انسان به تأثیر میدان مغناطیسی بر سیستم گردش خون

میدان‌های مغناطیسی از جمله تنش‌های غیرزیستی هستند که حاصل عصر تکنولوژی بوده، امروزه توجه بسیاری از محققان را به خود جلب کرده‌اند. این میدان‌ها هم به صورت طبیعی و هم به صورت نتیجه‌ای

نقش دوگانه‌ای داشته باشند. به طوری که از یک سو باعث تخریب در سلول شود و از سوی دیگر، خود به عنوان مولکول سیگنال باعث به راه افتادن مکانیسم‌های دفاعی در سلول می‌شوند (Belyavskaya, 2004; Ghanati *et al.*, 2007). میدان مغناطیسی در سطح آنزیمی می‌تواند باعث افزایش فعالیت آنزیم‌هایی چون کاتالاز، کاتالاز، پلی فنل اکسیداز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز شود (Pandolfini *et al.*, 1992).

مکانیسم پیشنهادی دیگر برای نحوه عمل میدان مغناطیسی از طریق تأثیر بر مواد دارای خاصیت مغناطیسی است که مهم‌ترین این مواد عبارتند از مواد فرومگنتیک نظیر آهن و مواد دیامگنتیک نظیر نشاسته. آهن به عنوان عنصری ضروری برای گیاهان دارای نقش دوگانه‌ایست، به طوری که از یک طرف در واکنش‌های اکسیداسیون-احیا و ساختار بسیاری از آنزیم‌های داخل سلولی نظیر کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز شرکت می‌کند و از سوی دیگر، از طریق واکنش هابر-وایس گونه‌های فعال اکسیژن تولید می‌کند (Dat *et al.*, 2000). بنابراین، تنظیم محتوای آهن سلولی بسیار حایز اهمیت است. فریتین از جمله مولکول‌های مهم دخیل در تنظیم هموستازی آهن است که در تمام سلسله‌های موجودات زنده یافت می‌شود (Theil, 1987; Briat *et al.*, 1995; Chasteen and Harrison, 1999). با اکسید کردن Fe^{+2} به Fe^{+3} ، آهن را در هسته مرکزی خود ذخیره می‌کند (Laulhère and Briat, 1993) و همچنین به عنوان ماده‌ای با گشتاور مغناطیسی (magnetic moment) نامزد مناسبی برای مطالعه برهم‌کنش آهن و میدان مغناطیسی در سلول‌های زنده

واقف بود و برای درمان برخی از بیماری‌های خونی از آن بهره‌م‌ی‌برده است (Santwani, 1981). تحقیقات دیگری نشان داده‌اند که میدان‌های مغناطیسی شدید باعث ابتلا به لوسمی در کودکان شده که با تخریب ملاتونین (melatonin) غده صنوبری (pineal) همراه است (Henshaw and Reiter, 2005). گزارش‌هایی نیز در زمینه تأثیر میدان در عالم پروکاریوتی و نیز گیاهی وجود دارد. در ۶۷ درصد مطالعات انجام شده، میدان مغناطیسی باعث کاهش درصد جوانه‌زنی شده است (Belyavskaya, 2004). در گیاه توتون درصد جوانه‌زنی بذرها، تحت تأثیر میدان مغناطیسی ۰/۱۵ تسلا (T) افزایش نشان می‌دهد. جوانه‌زنی بذرها، کاهو تحت تأثیر میدان مغناطیسی صفر تا ۱۰ میلی‌تسلا افزایش یافت (Aladjadjian, 2002). با این حال، مکانیسم تأثیر میدان‌های مغناطیسی بر سلول‌های زنده هنوز به طور دقیق مشخص نشده است، ولی باید گفت که آثار مهاری یا تحریکی میدان مغناطیسی بر رشد بافت‌ها به عواملی نظیر گونه و اندام گیاهی، فرکانس و نوع میدان، مدت زمان تیمار و سایر عوامل تنش‌زا بستگی دارد (Kato *et al.*, 1989). برخی تحقیقات نشان داده است که میدان مغناطیسی می‌تواند به تولید و یا افزایش طول عمر رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) منجر شود. تجمع این رادیکال‌ها می‌تواند به تنش اکسیداتیو منجر شود (Belyavskaya, 2004; Sahebamei *et al.*, 2007). تنش اکسیداتیو باعث تغییر در فعالیت آنزیم‌ها، بیان ژن و آزاد سازی کلسیم از ذخایر سلولی می‌شود. همچنین، این تنش می‌تواند بر ساختار غشا، رشد سلول و مرگ سلول‌ها تأثیرگذار باشد (Green *et al.*, 1999). این رادیکال‌ها می‌توانند

0.75 mgL^{-1} پیریدوکسین، 0.75 mgL^{-1} نیکوتینیک اسید، و اسیدیتته $5/8$ استفاده شد. کالوس‌های به دست آمده از بخش هوایی چندین بار واگشت شد. برای تهیه کشت تعلیقی حدود ۲ گرم کالوس به 30 میلی‌لیتر محیط کشت LS مایع اضافه و هر دو هفته واگشت شد.

به منظور تعیین وزن خشک گونه‌های مورد بررسی، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در 70 درجه سانتیگراد نگهداری و سپس وزن خشک آنها اندازه‌گیری شد.

در بررسی حاضر، سلول‌ها در روز دهم پس از واگشت، مشابه تحقیقات گذشته (Shabrangi *et al.*, 2011)، به مدت ۴ ساعت، تحت تأثیر میدان مغناطیسی ایستا (30 میلی‌تسلا) قرار گرفتند. پس از اتمام تیمار، سلول‌ها برداشت شده و برای انجام تحلیل‌های بیوشیمیایی در نیتروژن مایع (80 -درجه سانتیگراد) فریز و نگهداری شدند.

اندازه‌گیری محتوای آهن کل

۲ گرم نمونه گیاهی در کوره به مدت ۲ ساعت در 250 درجه سانتیگراد و سپس ۲ ساعت در دمای 550 درجه سانتیگراد خاکستر شد. خاکستر حاصل در مخلوط کلریدریک اسید غلیظ و آب (۱:۱) هضم و سپس روی شن داغ (110 درجه سانتیگراد) خشک شد. 5 میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۱ نرمال به آن اضافه شد تا کل محتوای آهن هضم شده و آهن کل با دستگاه جذب اتمی سنجیده شد (Katyral and Sharma, 1980).

اندازه‌گیری محتوای فریتین

نمونه‌های فریز شده روی یخ در بافر استخراج ساییده شدند (Lukac *et al.*, 2009) و با استفاده از کیت الایزا (ELISA) طبق روش Flowers و همکاران (۱۹۸۶) ارزیابی شدند. به طور خلاصه، یک گرم

است (Cespedes and Ueno, 2009). تأثیر میدان مغناطیسی 30 میلی‌تسلا بر سیستم‌های زیستی در گذشته روی سلول‌های گیاهی و جانوری بررسی شده است (Ghanati *et al.*, 2007; Ishiwata *et al.*, 2008). شدت میدان 30 میلی‌تسلا به عنوان کمترین آستانه شدت میدان برای جابجایی مواد مغناطیسی در موجودات زنده معرفی شده است (Takashima *et al.*, 2003).

گیاه جعفری (*Petroselinum crispum*) از خانواده چتریان (Apiaceae) است که در بسیاری از نقاط جهان و ایران دارای اهمیت غذایی و دارویی است (Ozsoy-Sacan *et al.*, 2006). این گیاه حاوی مقادیر بالای آهن، کلسیم، منیزیم، ویتامین C و A است (Pennington and Church, 1985).

هدف این مطالعه بررسی تأثیر میدان مغناطیسی بر محتوای آهن و فریتین در سلول‌های جداگشت گیاه جعفری است. علاوه بر این، فعالیت سه آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز نیز بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

شرایط رشد سلولی و تیمار سلول‌ها با میدان مغناطیسی ایستا

پس از نگهداری سلول‌ها در محیط کشت‌های مختلف و چند بار واگشت آنها وزن کالوس‌ها اندازه‌گیری و نتایج به دست آمده با هم مقایسه شد. بر اساس نتایج به دست آمده، محیط کشت LS تغییر یافته (Sahebamei *et al.*, 2007) به عنوان بهترین محیط انتخاب شد. برای تولید کالوس از بذرهای گیاه جعفری کشت شده در محیط کشت LS تغییر یافته (محیط کشت حاوی 0.15 mgL^{-1} کینتین، $1/5 \text{ mgL}^{-1}$ تیمامین،

منجر به مهار ۵۰ درصدی نیترو بلو تترازولیوم (NBT) در ۵۶۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (Sahebamei *et al.*, 2007).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

سلول‌های منجمد شده گیاه جعفری در بافر سدیم فسفات (۵۰ میلی‌مولار با اسیدیتته ۷/۸) حاوی آسکوربات ۵ میلی‌مولار، دی تیو تریتول (DTT) ۵ میلی‌مولار، EDTA (۵ میلی‌مولار)، کلرید سدیم (۱۰۰ میلی‌مولار) و ۲ درصد Polyvinylpyrrolidin (PVP) عصاره‌گیری شد. همگنای حاصل در دور ۱۵۰۰۰g، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شد. از بخش رویی برای سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز استفاده شد. ترکیب واکنش شامل بافر سدیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار حاوی همه ترکیبات بالا، H_2O_2 (۴۴ میکرومولار) و عصاره آنزیمی به مقدار مناسب بود. فعالیت آنزیمی APX توسط کاهش در جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر با استفاده از ضریب ثابت ۲/۸ مول بر سانتی‌متر و به ازای هر میلی‌گرم پروتئین در عصاره آنزیمی محاسبه شد (Nakano and Asada, 1987).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز

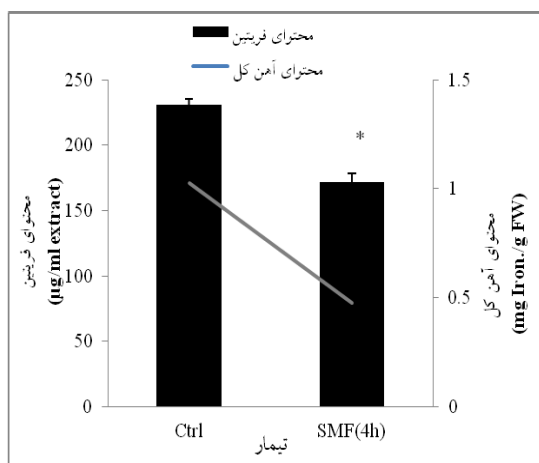
مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از سلول جداگشت منجمد شده، در بافر سدیم فسفات ۲۵ میلی‌مولار (اسیدیتته ۶/۱) عصاره‌گیری و مخلوط حاصل در ۱۲۰۰۰g و دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. از محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیمی استفاده شد. به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی بافر فسفات ۲۵ میلی‌مولار (اسیدیتته ۶/۸) و H_2O_2 (۱۰ میلی‌مولار)

نمونه روی یخ و در بافر استخراج (۱۰ میلی‌مولار بافر سدیم فسفات، ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، پلی وینیل پیرولیدین ۲ درصد و یک میلی‌مولار فیل متان سولفونیل فلوراید، اسیدیتته ۷/۲) ساییده، سپس در دمای ۴ درجه سانتیگراد (دور ۱۵۰۰۰g) و به مدت ۱۰ دقیقه (سانتریفیوژ شد. ۵۰ میکرولیتر از محلول رویی و استاندارد به پلیتی که با آنتی‌بادی آنتی‌فریتین پوشیده شده بود، افزوده و سایر مراحل بر اساس دستورالعمل شرکت پیشتاز-طب انجام شد. محتوای فریتین بر اساس برهم‌کنش آنتی‌ژن-آنتی‌بادی و جذب در ۴۵۰ نانومتر با استفاده از الایزایدر (ELISA reader) سنجیده شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

به منظور استخراج آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (Giannopolitis and Ries, 1977) سلول‌های منجمد شده در بافر HEPES-KOH با اسیدیتته ۷/۸، حاوی EDTA (۰/۱ میلی‌مولار) عصاره‌گیری شد. همگنای حاصل در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شد (۱۵۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه). بخش رویی حاصل برای سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز استفاده شد. به عصاره آنزیمی حاصل برای سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز بافر HEPES-KOH (۵۰ میلی‌مولار) با اسیدیتته ۷/۸ حاوی EDTA (۰/۱ میلی‌مولار)، Na_2CO_3 (۵۰ میلی‌مولار) با اسیدیتته ۱۰/۲، L-متیونین (۱۲ میلی‌مولار)، (NBT) نیترو بلو تترازولیوم (۷۵ میلی‌مولار)، ریبوفلاوین (یک میکرومولار) اضافه شد. عصاره آنزیمی به مقدار مناسب یک واحد فعالیت SOD به عنوان مقدار آنزیمی در نظر گرفته شد که

تحقیقات انجام شده روی تغییر محتوای آهن تحت تأثیر میدان‌های مغناطیسی اندک است (Dhawi and Al-Khayri, 2009). در این آزمایش، جذب آهن در پاسخ به میدان مغناطیسی کاهش یافت (شکل ۱). این کاهش می‌تواند ناشی از تغییر نفوذپذیری غشای سلولی و یا تغییر در عملکرد کانال‌های یونی تحت تأثیر میدان مغناطیسی باشد، به طوری که احتمالاً فسفولیپیدهای موجود در غشای پلاسمایی (که دارای خاصیت دیامگنتیک هستند)، تحت تأثیر میدان مغناطیسی قرار گرفته، جهت قرارگیری آنها در غشا تغییر کرده، در نتیجه، شیوه قرارگیری کانال‌های موجود در غشا نیز تغییر می‌کند (Yao et al., 2005; Hajnorouzi et al., 2012; Radhakrishnan and Kumari, 2011). از سوی دیگر نتایج نشان داد که به دنبال کاهش محتوای آهن سلولی، میزان فیتوفریتین نیز کاهش می‌یابد (شکل ۱).



شکل ۱- محتوای آهن کل سلولی و میزان فریتین در سلول‌های جداگشت گیاه جعفری در پاسخ به تأثیر میدان مغناطیسی ایستای ۳۰ میلی‌تسلا به مدت ۴ ساعت مقادیر، میانگین کمینه \pm تکرار ۳ SD است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است. ضریب همبستگی میان محتوای آهن و محتوای فریتین در این آزمایش بیش از ۸۸ درصد است.

اضافه شد. فعالیت کاتالاز با توجه به روند تجزیه H_2O_2 و در نتیجه، کاهش جذب در ۲۴۰ نانومتر سنجیده، به ازای میلی‌گرم پروتئین عصاره آنزیمی محاسبه شد (Cakmak and Horst, 1991).

تحلیل داده‌ها

تمامی آزمایش‌ها با ۳ تکرار از حداقل ۳ نمونه مستقل انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ و آزمون توکی (Tukey) برای تعیین معنی‌دار بودن تفاوت‌ها در سطح $P \leq 0.05$ انجام شد. ضریب همبستگی با استفاده از اندکس پیرسون تعیین شد.

نتایج و بحث

افزایش آهن در داخل سلول از یک سوز طریق واکنش فنتون، مقدار Fe^{+2} و رادیکال‌های آزاد داخل سلول را افزایش می‌دهد که این رادیکال‌ها می‌توانند به تخریب غشاها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک منجر شوند (Becana and Moran, 1998) و از سوی دیگر، افزایش آهن باعث به راه افتادن مکانیسم‌های دفاعی در داخل سلول می‌شود که حاصل آن کاهش محتوای آهن و حفظ هموستازی آن است. از جمله این مکانیسم‌ها ریال ذخیره شدن آهن در اندامک‌هایی نظیر واکوئل و یا در مولکول‌هایی نظیر فیتوفریتین است (Chasteen and Harrison, Briat et al., 1995). علاوه بر این، آهن به عنوان ماده‌ای فرومگنتیک تحت تأثیر میدان مغناطیسی قرار می‌گیرد. تحقیقات گذشته نشان داده است که میدان‌های مغناطیسی با افزایش اکسیداسیون لیپیدهای غشایی قادر به تغییر نفوذپذیری یون‌ها از خلال غشای سلول‌ها هستند (Vaezzadeh et al., 2006). با وجود این،

نتایج به دست آمده در این بررسی نشان داد که در شرایط مورد آزمایش در سلول‌های جعفری، فعالیت آنزیم SOD از 27 ± 3 در گروه شاهد به 36 ± 2 در گروه تیمار شده با میدان مغناطیسی افزایش یافته است (جدول ۱) که مشابه نتایجی است که Celik و همکاران (۲۰۱۰) به دست آوردند. نتایج آنها نشان داد که طی تیمار با میدان مغناطیسی مقدار رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد و این افزایش خود می‌تواند به افزایش فعالیت SOD منجر شود. افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز احتمالاً موجب افزایش H_2O_2 می‌شود. به منظور جلوگیری از آثار نامطلوب افزایش H_2O_2 ، سلول با استفاده از سایر آنزیم‌ها یا سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی H_2O_2 را جاروب می‌کند.

جدول ۱- فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز در پاسخ به میدان مغناطیسی ۳۰ میلی‌تسلا. میزان فعالیت آنزیم SOD و APX به ترتیب بر اساس اختلاف جذب در ۵۶۰ و ۲۹۰ نانومتر بر میلی‌گرم پروتئین بیان شد. * نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح $P \leq 0.05$ است.

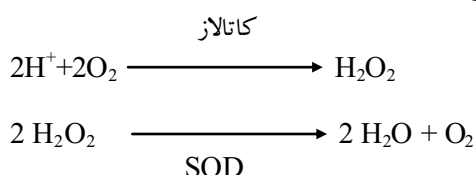
فعالیت آسکوربات	فعالیت سوپراکسید	
پراکسیداز	دیسموتاز	
$\Delta abs 560/mg Pr$	$\Delta abs 290/mg Pr$	
86 ± 2	27 ± 3	شاهد
$50 \pm 2^*$	$36 \pm 2^*$	میدان مغناطیسی ۳۰ میلی‌تسلا

در این تحقیق، اندازه‌گیری فعالیت APX نشان داد که APX که یکی از آنزیم‌های جمع‌کننده ROS است، در پاسخ به میدان مغناطیسی از 86 ± 2 در گروه شاهد به 50 ± 2 در گروه تیمار کاهش یافت (جدول ۱). این کاهش همراه با کاهش محتوای آهن سلولی است و ضریب همبستگی آن با محتوای آهن سلول بیش از ۹۰ درصد است (جدول ۲). افزایش رادیکال‌های آزاد خود

برخی مطالعات نشان می‌دهد که رابطه مستقیمی بین محتوای فریتین و mRNA فریتین با میزان آهن سلول وجود دارد (Van der Mark *et al.*, 1983; Lescure *et al.*, 1991). بنا بر این، کاهش جذب آهن خود می‌تواند علتی برای کاهش میزان فریتین باشد. به طوری که مطالعات آماری نشان می‌دهد که ضریب همبستگی میان محتوای آهن و محتوای فریتین حدود ۸۸ درصد است. از طرفی Belyavskaya (۱۹۸۱) پیشنهاد می‌کند که کاهش محتوای فیتوفریتین تحت تأثیر میدان مغناطیسی احتمالاً به علت مهار بیوسنتز فیتوفریتین باشد و یا از فیتوفریتین برای سنتز سایر پروتئین‌های حاوی آهن استفاده شده باشد.

علاوه بر فیتوفریتین که با جمع‌آوری آهن آزاد سلولی باعث کاهش احتمال وقوع واکنش فنتون و در نتیجه کاهش تولید ROS می‌شود، سلول‌ها قادرند از طریق آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نیز محتوای رادیکال‌های آزاد داخل سلولی را کاهش دهند (Kos *et al.*, 2008). مطالعات دیگر نشان می‌دهد که جمع‌آوری رادیکال‌های اکسیژن تولید شده توسط SOD یا سایر مسیرها، علاوه بر سیستم غیر آنزیمی می‌تواند از طریق آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاتالاز یا APX انجام شود (Sahebamei *et al.*, 2007). میدان‌های مغناطیسی همچنین می‌توانند بر الکترون‌های جفت نشده فلزات موجود در ساختار این آنزیم‌ها و تغییر ساختار فضایی آنها بر فعالیت زیستی آنزیم‌ها تأثیر گذارند. SOD و APX و کاتالاز از جمله آنزیم‌هایی هستند که به علت داشتن آهن در ساختار خود می‌توانند تحت تأثیر میدان مغناطیسی قرار گیرند (Sahebamei *et al.*, 2007; Celik *et al.*, 2010).

طبق واکنش‌هایی که در زیر آمده است افزایش فعالیت SOD به افزایش تولید H_2O_2 منجر می‌شود که خود پیش ماده اصلی لازم برای فعالیت کاتالاز است (Chen and Pan, 1996). بنابراین، به نظر می‌رسد در پاسخ به میدان مغناطیسی، فعالیت کاتالاز در سلول‌ها افزایش یافت تا H_2O_2 تولید شده توسط SOD را کاهش دهد و بدین ترتیب از آثار مخرب ناشی از تجمع آن جلوگیری کند (Celik *et al.*, 2010).



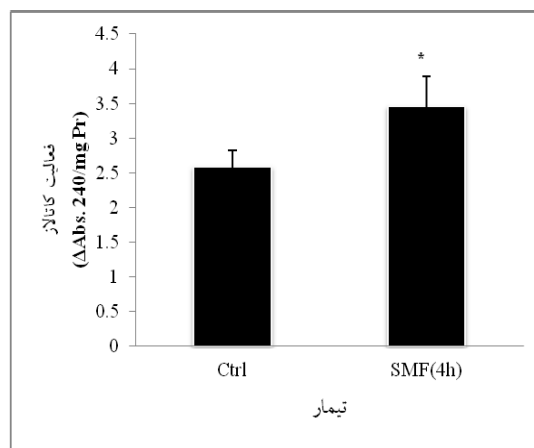
بنابراین، همان‌طور که انتظار می‌رود یکی از مکانیسم‌های تأثیر میدان‌های مغناطیسی بر سیستم‌های زنده از طریق برهم‌کنش با مولکول‌ها یا عناصر دارای ویژگی‌های مغناطیسی است که در این میان آهن و مولکول‌های زیستی حاوی آهن گزینه‌های مناسبی برای بررسی این برهم‌کنش‌ها هستند. همچنین، میدان‌های مغناطیسی احتمالاً با تأثیر بر ساختار فضایی آنزیم و یا تغییر میزان و سرعت اتصال سوپراکسید به آنزیم (Batcioglu *et al.*, 2002)، آثار خود را بر فعالیت آنزیم‌ها اعمال می‌کنند. بدین ترتیب، با توجه به حضور آهن در ساختار آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز، یکی از مکانیسم‌های احتمالی تغییر فعالیت این آنزیم‌ها در پاسخ به میدان مغناطیسی از طریق تأثیر بر آهن و به دنبال آن تغییر ساختار فضایی آنزیم است.

می‌تواند به تنظیم فعالیت APX منجر شود. به طوری که پیشنهاد شده در حضور میدان مغناطیسی ۳۰ میلی‌تسلا فعالیت آنزیم APX و همچنین، بیان ژن یاد شده از طریق افزایش ROS مهار می‌شود (Sahebamei *et al.*, 2007).

جدول ۲- همبستگی میان محتوای آهن در داخل سلول با فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (Pearson Index)

ضریب همبستگی	ضریب همبستگی معناداری	
۰/۴۹ -	۰/۰۵	محتوای آهن - کاتالاز
۰/۹۱	۰/۰۵	محتوای آهن - آسکوربات پراکسیداز
۰/۹۶ -	۰/۰۱	محتوای آهن - سوپراکسید دیسموتاز

گزینه مناسب دیگر برای جمع‌آوری و تجزیه H_2O_2 کاتالاز است. همان‌طور که در شکل ۲ دیده می‌شود، فعالیت آنزیم کاتالاز در پاسخ به میدان مغناطیسی افزایش یافته است.



شکل ۲- فعالیت آنزیم کاتالاز در سلول‌های جداگشت گیاه جعفری در پاسخ به میدان مغناطیسی ایستا ۳۰ میلی‌تسلا. * نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح $P \leq 0/05$ است.

منابع

Aladjajjyan, A. (2002) Study of the influence of magnetic field on some biological characteristics of *Zea mays*. Journal of Central European Agriculture 3: 89-94

Batcioglu, K., Ozturk, K., Atalay, S., Dogan, D., Bayri, N. and Demirtas, H. (2002) Investigation of time dependent magnetic field effects on superoxide dismutase and

- catalase activity. *Journal of Biological Physics and Chemistry* 2: 108-112.
- Becana, M. and Moran, J. F. (1998) Iturbe-Ormaetxe, I. Iron-dependent oxygen free radical generation in plants subjected to environmental stress: toxicity and antioxidant protection. *Plant and Soil* 201: 137-147.
- Belyavskaya, N. A. (1981) Changes in plastid ultrastructure in pea meristem cells exposed to magnetic fields with conditionally zero magnetic intensity. *Ukrainian Botanical Journal* 37: 81-82. (in Ukrainian).
- Belyavskaya, N. A. (2004) Biological effects due to weak magnetic field on plants. *Advances in space Research* 34(7): 1566-1574.
- Briat, J. F., Fobis-Loisy, I., Grignon, N., Lobréaux, S., Pascal, N., Savino, G., Thoiron, S., Von Wirén, N. and Van Wuytswinkel, O. (1995) Cellular and molecular aspects of iron metabolism in plants. *Biology of the Cell* 84: 69-81.
- Cakmak, I. and Horst, W. J. (1991) Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiologia Plantarum* 83: 463-468.
- Celik, H., Aşık, B., Gürel, S., and Katkat, A. (2010) Effects of potassium and iron on macro element uptake of maize. *Zemdirb Agriculture* 97: 11-22.
- Céspedes, O. and Ueno, S. (2009) Effects of radio frequency magnetic fields on iron release from cage proteins. *Bioelectromagnetics* 30: 336-342.
- Chasteen, N. D. and Harrison P. M. (1999) Mineralization in ferritin: an efficient means of iron storage. *Journal of Structural Biology* 126: 182-194.
- Chen, C. and Pan, Z. (1996) Assay of superoxide dismutase activity by combining electrophoresis and densitometry. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 37: 107-111.
- Dat, J., Vandenabeele, S., Vranova, E., Van Montagu, M., Inze, D. and Van Breusegem, F. (2000) Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cellular and Molecular, Life Sciences* 57: 779-795.
- Dhawi, F. and Al-Khayri, J. (2009) Magnetic fields induce changes in photosynthetic pigments content in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) seedlings. *The Open Agriculture Journal* 3: 1-5
- Flowers, C. A., Kuizon M., Beard J. L., Skikne B. S., Covell A. M. and Cook J. D. A. (1986) Serum ferritin assay for prevalence studies of iron-deficiency. *American Journal of Hematology* 23(2): 141-151.
- Ghanati, F., Abdolmaleki, P., Vaezzadeh, M., Rajabbeigi, E. and Yazdani, M. (2007) Application of magnetic field and iron in order to change medicinal products of *Ocimum basilicum*. *Environmentalist* 27: 429-434.
- Giannopolitis, C. N. and Ries S. K. (1977) Superoxide dismutase I occurrence in higher plants. *Plant Physiology* 59: 309-314.
- Green, L. M., Miller, A. B., Agnew, D. A., Greenberg, M. L., Li, J., Villeneuve, J. P. and Tibshirani, R. (1999) Childhood leukaemia and personal monitoring of residential exposures to electric and magnetic fields in Ontario, Canada. *Cancer Causes Control* 10: 233-243.
- Hajnorouzi, A., Vaezzadeh, M., Ghanati, F., jamnezhad, H. and Nahidian, B. (2011) Growth promotion and a decrease of oxidative stress in maize seedlings by a combination of geomagnetic and weak electromagnetic fields. *Journal of Plant Physiology* 168: 1123-1128.
- Henshaw, D. and Reiter, R. (2005) Do magnetic fields cause increased risk of childhood leukaemia via melatonin disruption? *Bioelectromagnetics* 26(S7): 86-97
- Ishiwata, S., Taguchi, Y., Murakawa, H., Onose, Y. and Tokura, Y. (2008) Low-magnetic-field control of electric polarization vector in a helimagnet. *Science* 319: 1643-1646.
- Kato, R., Kamada, H. and Asashima, M. (1989) Effect of high and very low magnetic field

- on the growth of hairy roots of *Daucus carotta* and *Atropa belladonna*. *Cell Physiology* 30: 605-608
- Katyal, K. C. and Sharma, B. D. (1980) A new technique of plant analysis to resolve iron chlorosis. *Plant and Soil*, 55: 105-109.
- Kos, P., Oláh, R., Zok, A., Horváth, G., Szegedi E., Váradi, G., Bálo, B. and Hideg, E. (2008). The role of ferritin in enhancing the stress tolerance of grapevine. *Acta Biologica Szegediensis* 52: 41-43
- Laulhère, J. and Briat, J. (1993) Iron release and uptake by plant ferritin: effects of pH, reduction and chelation. *Biochemical Journal* 290: 693-699.
- Lescure, A., Proudhon, D., Pesey, H., Ragland, M., Theil, E. C. and Briat, J. (1991) Ferritin gene transcription is regulated by iron in soybean cell cultures. *Biochemistry* 88: 8222-8226.
- Lukac, R. J., Aluru, M. R. and Reddy, M. B. (2009) Quantification of ferritin from staple food crops. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 57: 2155-2161.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1987) Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant Cell Physiology* 28(1): 131-140.
- Ozsoy-Sacan, O., Yanardag, R., Orak, H., Ozgey, Y., Yarat, A. and Tunalı, T. (2006) Effects of parsley (*Petroselinum crispum*) extract versus glibornuride on the liver of streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethno Pharmacology* 104: 175-181.
- Pandolfini, T., Gabbrielli, R. and Comparini, C. (1992) Nickel toxicity and peroxidase activity in seedlings of *Triticum aestivum* L. *Plant, Cell and Environment* 15: 719-725.
- Pennington, J. and Church, H. (1985) Bowes and church's food values of portions commonly used. 14th Ed, Lippincott, Williams and Wilkins, Pennsylvania.
- Radhakrishnan, R. and Kumari, B. (2012) Pulsed magnetic field: a contemporary approach offers to enhance plant growth and yield of soybean. *Plant Physiology and Biochemistry* 51: 139-144.
- Sahebamei, H., Abdolmaleki, P. and Ghanati, F. (2007) Effects of magnetic field on the antioxidant enzyme activities of suspension-cultured tobacco cells. *Bioelectromagnetics* 28: 42-47.
- Santwani, M. T. (1981) *The Art of Magnetic Healing*. B. Jain Publishers, New Delhi.
- Shabrangi, A., Majd, A. and Sheidai, M. (2011) Effects of extremely low frequency electromagnetic fields on growth, cytogenetic, protein content and antioxidant system of *Zea mays* L. *African Journal of Biotechnology* 10: 9362-9369.
- Takashima, Y., Ikehata, M., Miakoshi, J. and Koana, T. (2003) Inhibition of UV-induced G1 arrest by exposure to 50 Hz magnetic fields in repair-proficient and -deficient yeast strains. *International Journal of Radiation Biology* 79: 919-924.
- Theil, E. C. (1987) Ferritin: structure, gene regulation, and cellular function in animals, plants, and microorganisms. *Annual Review of Biochemistry* 56: 289-315.
- Vaezzadeh, M., Noruzifar, E., Ghanati, F., Salehkotahi, M. and Mehdian, M. (2006) Excitation of plant growth in dormant temperature by steady magnetic field. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 302: 105-108.
- Van der Mark, F., Bienfait, F. and Van den Ende, H. (1983) Variable amounts of translatable ferritin mRNA in bean leaves with various iron contents. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 115: 463-469.
- Yao, Y., Li, Y., Yang, Y. and Li, C. (2005) Effect of seed pretreatment by magnetic field on the sensitivity of cucumber (*Cucumis sativus*) seedlings to ultraviolet-B radiation. *Environmental and Experimental Botany* 54: 286-294.

مطالعه اثر تنش شوری بر برخی از شاخص‌های رشد در سه گونه از جنس اسپرس (*Onobrychis*) در ایران

رؤیا کریمیان* و صدیقه عطایی برازنده

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان، ایران

چکیده

اسپرس (*Onobrychis*) از گیاهان مرتعی و علوفه‌ای مهمی است که اغلب گونه‌های آن به صورت خودرو در ایران می‌روید. به منظور تعیین آثار سطوح مختلف شوری بر جوانه‌زنی، وزن تر و وزن خشک در سه گونه اسپرس مرتعی (*O. melanotricha* و *O. viciifolia*، *O. subnitens*)، آزمایشی در قالب فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار با ۵ تیمار مختلف در غلظت‌های صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم انجام شد. نتایج حاصل نشان داد که با افزایش سطح شوری، جوانه‌زنی در هر سه گونه کاهش یافته، در تیمار ۴۰۰ میلی‌مولار متوقف می‌شود. مقایسه میانگین ویژگی‌های وزن تر و وزن خشک دانه‌رست‌های رشد یافته در حضور نمک نشان داد که این ویژگی‌ها تا غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار نمک کاهش یافته، اختلاف معنی‌داری نیز میان سطوح مختلف شوری مشاهده شد. نتایج حاصل از مطالعه کمی و کیفی پروتئین‌ها نیز گویای افزایش محتوای پروتئین کل و کاهش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز در تنش شوری است. از آثار دیگر شوری می‌توان به افزایش درخور توجه محتوای پرولین آزاد در گیاهان مورد مطالعه اشاره نمود که در پاسخ به شوری برای تنظیم پتانسیل اسمزی به کار می‌رود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، اسپرس، پرولین، تنش شوری، جوانه‌زنی بذر

مقدمه

لیبید و انرژی و در نتیجه تمام مراحل زندگی گیاه از جوانه‌زنی تا تولید دانه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Maslenkova et al., 1999; Naidoo and Naidoo, 2001). شوری، از طریق کاهش پتانسیل اسمزی محیط رشد و سمیت یون‌های خاص باعث تأخیر در جوانه‌زنی، کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی و کاهش

یکی از مهمترین مشکلات منابع طبیعی و به ویژه مراتع، شور شدن خاک‌هاست که شرایط زندگی گیاه و در نهایت، کل اکوسیستم را تحت تأثیر قرار می‌دهد (آذرنیوند و همکاران، ۱۳۸۳). شوری، تمام فرآیندهای اصلی مانند رشد، فتوسنتز، سنتز پروتئین و متابولیسم

(Chinnusamy *et al.*, 2006).

مطالعات نشان داده است که پراکسیدازها در لیگنینی و سوبرینی شدن دیواره، کاتابولیسیم اکسین و مقاومت در برابر پاتوژن‌ها، تحمل شوری و پیری نقش کلیدی ایفا می‌کنند (Atak *et al.*, 2007). این آنزیم‌ها گلیکو پروتئین‌های واجد هم هستند که توسط یک خانواده چند ژنی در گیاهان رمزگذاری می‌شوند و در دیواره سلولی، شبکه آندوپلاسمی، دستگاه گلژی و واکوئل یافت شده، در تجزیه پراکسید هیدروژن نقش دارند (Schloss *et al.*, 1987). پلی فنل اکسیدازها در اکسیداسیون فنل‌ها به کوئینون‌ها و تشکیل لیگنین در سلول‌های گیاهی نقش مؤثری دارند. این آنزیم‌ها در فعالیت‌های دفاعی و فوق حساس در برابر ویروس‌ها، باکتری‌ها و قارچ‌ها دخالت داشته، باعث واکنش‌های قهوه‌ای شدن بافت زخمی و تشکیل سدهای دفاعی در برابر عوامل بیماری‌زا می‌شوند (Mohammadi and Kazemi, 2002).

تجمع پرولین یکی از روش‌های متابولیک است که در پاسخ به تنش اسمزی و یا سایر تنش‌ها توسط گیاهان به کار می‌رود (Hua *et al.*, 1997; Levitte, 1980). پرولین تجمع یافته نقش‌هایی مانند ایجاد ترکیب اسمزی، ترکیب ذخیره‌ای ازت، جاروب کننده رادیکال‌های هیدروکسیل، تنظیم پتانسیل اکسیداسیون سلولی، تنظیم اسیدیته، حفظ تورژسانس و حجم سلول را به عهده دارد که در نهایت، باعث سازش و تحمل در برابر تنش شوری می‌شود (Hua *et al.*, 1997; Levitte, 1980; Nakashima *et al.*, 1998). تغییر محتوای پرولین از رایج‌ترین پاسخ‌هایی است که توسط تنش شوری در گیاهان القا می‌شود و در سازوکارهای

رشد گیاهیچه شده (Huang and Remann, 1995; Ashraf and Harris, 2004)، فعالیت بیوشیمیایی و فیزیولوژیک بذر را توسط جلوگیری از تنفس هوازی یا تحریک مراحل کاتابولیسیمی تغییر می‌دهد (Ejazrasll and Rehman, 1997).

پروتئین‌هایی که در گیاهان تحت شرایط شوری تجمع می‌یابند به عنوان ذخایری از نیتروژن در تنظیم اسمزی نقش دارند. پروتئین‌ها ممکن است در پاسخ به تنش شوری از نو سنتز شده و یا به طور ساختمانی در غلظت پایین موجود باشند (Pareek-Singla and Grover, 1997). تعمیر و ترمیم آسیب حاصل از تنش برای بقا سلول در سطوح مهار متابولیسیمی در تنش‌های اسمزی یا یونی ضروری است. این راه کارها ممکن است سازگاری اسمزی و فیزیولوژیک دیگر مانند تغییر در رشد ریشه و بخش‌های هوایی و نیز تعرق را در برگیرد (Chinnusamy *et al.*, 2006) که گویای سنتز از نو پروتئین‌ها تحت تنش شوری است.

گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) باعث آسیب اکسیداتیو به لیپیدهای غشایی، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شوند. ترکیبات آنتی‌اکسیدان مختلفی که در گیاهان برای جاروب کردن گونه‌های فعال اکسیژن به کار می‌روند شامل آسکوربات، گلوکاتیون، آلفا توکوفرول و کاروتنوئیدها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و آنزیم‌های چرخه گلوکاتیون-آسکوربات هستند. تنش شوری تجمع ROS را القا می‌کند و بیان آنزیم‌های سم‌زدایی کننده ROS را افزایش می‌دهد. کاهش آسیب اکسیداتیو از طریق جاروب کردن ROS، راهکار مهمی در گیاهان برای تحمل تنش است

گیاهی در غلظت‌های مختلف شوری به توسعه روش‌های ممکن برای معرفی گونه‌های متحمل به شوری برای کشت در زمین‌های بایر و شور کمک می‌کند (Joshi et al., 2004).

مواد و روش‌ها

در این بررسی، بذرهای سه گونه مرتعی اسپرس *O. melanotricha*، *O. viciifolia* و *O. subnitens* از زیستگاه‌های طبیعی خود (به ترتیب استان‌های کردستان، آذربایجان و همدان) جمع‌آوری شده و برای اعمال تیمارهای شوری استفاده شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل با ۳ تکرار و با تیمارهای آب مقطر (شاهد) و ۴ سطح کلرید سدیم در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌مولار انجام شد. ابتدا بذرهای به مدت ۱ تا ۳ دقیقه در سولفوریک اسید قرار داده شد سپس، ۳ بار با آب مقطر شستشو و در پتری‌دیش‌های حاوی محیط کشت MS و غلظت‌های مختلف کلرید سدیم کشت داده شدند. پتری‌دیش‌ها در اتاقک رشد با دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و در تاریکی قرار داده شدند. پس از خروج برگ‌های لپه‌ای، پتری‌دیش‌ها در همان شرایط دمایی به فتوپریود ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند و سپس شاخص‌های مختلف دانه‌رست سه گونه مورد مطالعه پس از ۴ هفته ارزیابی شدند. معیار ارزیابی جوانه‌زنی، خروج ریشه‌چه از بذرها بود. دو ویژگی درصد و سرعت جوانه‌زنی در بذرها اندازه‌گیری و سرعت جوانه‌زنی از رابطه

$$X_1/Y_1 + (X_2 - X_1)/Y_2 + \dots + (X_n - X_{n-1})/Y_n$$

محاسبه شد که در آن X_n درصد جوانه‌زنی در روز n ام

بردباری به تنش دخیل است (Sudhakar et al., 1993; Lutts et al., 1999). آگاهی از نحوه پاسخ گونه‌ها و رقم‌های گیاهی به تنش شوری طی مرحله جوانه‌زنی از جنبه‌های بوم‌شناسی و فیزیولوژیک حایز اهمیت است، زیرا جوانه‌زنی مرحله‌ای بحرانی برای استقرار گیاه است (Aiazzi et al., 2004).

جنس اسپرس (*Onobrychis* Miller) از تیره بقولات، علوفه ارزشمندی است که قرن‌هاست در سطوح وسیعی از کشورهای مختلف، به ویژه مناطق معتدل آسیا و از جمله ایران کشت می‌شود. این گیاه در مناطق سرد کوهستانی نیز به شکل خودرو دیده می‌شود (Rechinger, 1984; Lock and Simpson, 1991; Mabberley, 1997). اکثر مطالعات انجام شده در زمینه آثار شوری بر گیاهان زراعی متمرکز بوده است. همچنین، در بررسی‌های اندکی که بر گیاهان مرتعی صورت گرفته، به بیشتر گیاهان مرتعی و علوفه‌ای کشت شده توجه شده و تحقیقات محدودی بر گیاهان خودرو و بومی انجام شده است. مجیدی و همکاران (۱۳۸۸) اثر تنش شوری بر جوانه‌زنی، ویژگی‌های دانه‌رست و تجمع عناصر سدیم و پتاسیم را در توده‌های مختلف اسپرس زراعی مطالعه کرده، نشان دادند که افزایش غلظت نمک باعث کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول و وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه، درصد پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم در دانه‌رست می‌شود.

در پژوهش حاضر، اثر شوری بر جوانه‌زنی، محتوای پروتئین کل، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز و نیز محتوای پرولین علاوه بر گونه کشت شده و خودروی *O. viciifolia*، در دو گونه دیگر اسپرس خودرو بررسی شد. مطالعه جوانه‌زنی گونه‌های مختلف

آنزیم‌های پلی‌فنل اکسیداز و پراکسیداز به ترتیب از روش‌های Raymond و همکاران (۱۹۹۳) و Liu و همکاران (۱۹۹۹) استفاده شد.

محتوای پرولین آزاد با روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد. بدین منظور ۰/۰۵ گرم ماده تر گیاهی در ۵ میلی‌لیتر محلول سولفوسالیسیلیک اسید (۳ درصد) ساییده شد. سپس ۲ میلی‌لیتر عصاره صاف شده با ۲ میلی‌لیتر محلول اسیدی نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک اسید مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. پس از انتقال لوله‌های آزمایش به حمام یخ، ۶ میلی‌لیتر تولوئن به لوله‌های آزمایش اضافه و به خوبی تکان داده شدند. از لایه فوقانی حاوی تولوئن و پرولین، برای اندازه‌گیری محتوای پرولین در طول موج ۵۲۰ نانومتر در برابر شاهد تولوئن خالص استفاده شد و محتوای آن با استفاده از منحنی استاندارد تعیین و برحسب میکروگرم بر گرم وزن تر بیان شد.

تحلیل داده‌ها

تحلیل آماری داده‌ها با نرم‌افزارهای SAS و MSTATC انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن و در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد محاسبه شد.

نتایج

نتایج حاصل نشان داد که شوری اثر معنی‌داری بر شاخص‌های مختلف رشد دانه‌رست در سه گونه اسپرس مورد مطالعه داشته است. درصد جوانه‌زنی در گونه‌های مورد مطالعه با افزایش غلظت نمک کاهش یافت، با وجود این، میان غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. اثر شوری بر سه گونه مورد

و Y_n ، تعداد روز پس از روز اول آزمایش است (Magurie, 1962).

به منظور تعیین وزن خشک گونه‌های مورد بررسی، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون ۷۰ درجه سانتیگراد نگهداری و سپس وزن خشک آنها اندازه‌گیری شد.

مطالعه کمی و کیفی پروتئین‌ها پس از استخراج و غلظت‌سنجی، به روش‌های اسپکتروفتومتری و الکتروفورزی SDS-PAGE انجام شد. برای عصاره‌گیری از بافر فسفات سدیم و به منظور جلوگیری از فعالیت فنل اکسیدازها و آثار سوء آنها در سنجش پروتئین، از پلی وینیل پیرولیدین (PVP) با وزن مولکولی ۴۰۰۰۰ استفاده شد. همه مراحل استخراج در دمای صفر تا ۴ درجه سانتیگراد انجام شد. سپس نمونه‌ها در سانتیفریوژ یخچال‌دار Eppendorf مدل 5417R به مدت ۶۰ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتیفریوژ و پس از صاف کردن، محلول‌های رویی در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. غلظت سنجی پروتئین با روش Bradford (۱۹۷۶) و جذب نمونه‌ها پس از ۲۵ دقیقه با اسپکتروفتومتر UV/Vis Perkin-Elmer مدل Lambda 45 در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. در نهایت، محتوای پروتئین بر حسب میکروگرم بر گرم بافت تر و با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید. برای مطالعه کیفی الگوی پروتئینی از روش SDS-PAGE استفاده شد (Hames and Rickwood, 1981). پس از انجام الکتروفورز، حرکت نسبی (RM, Relative Mobility) نوارهای پروتئینی استاندارد و نیز نوارهای پروتئینی موجود در نمونه‌های مختلف به دقت محاسبه و سپس با استفاده از منحنی استاندارد، وزن مولکولی هر نوار به دست آمد. به منظور مطالعه اسپکتروفتومتری فعالیت

O. subnitens و *O. melanotricha* وزن تر و وزن خشک به طور منظم کاهش یافته، در بیشترین غلظت کلرید سدیم به کمینه مقدار خود رسید. هر چند میان غلظت‌های متوالی نمک تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱).

مطالعه کمی پروتئین‌ها نشان داد که محتوای پروتئین کل در هر سه گونه تحت تنش شوری افزایش یافته، بیشترین مقدار به ترتیب در *O. subnitens*، *O. melanotricha* و *O. viciifolia* مشاهده شد. در همه گونه‌ها محتوای پروتئین در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار بیش از سایر تیمارها بود (شکل ۲). هر چند در گونه *O. subnitens* در غلظت ۵۰ میلی‌مولار نیز محتوای پروتئین افزایش چشمگیری داشت (جدول ۲).

نتایج حاصل از مطالعه سینتیک فعالیت آنزیم‌های گلیسولیک اسید پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز همراه با افزایش غلظت نمک است. فعالیت آنزیم پراکسیداز با افزایش غلظت نمک کاهش یافت. هر چند در دو گونه *O. viciifolia* و *O. subnitens* فعالیت این آنزیم در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار نسبت به تیمار پیشین افزایش و با افزایش شدت تنش دوباره کاهش یافت. همچنین، فعالیت آنزیم‌ها در همه تیمارها در گونه *O. melanotricha* بسیار بیشتر از دو گونه دیگر بود. اگرچه فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در گونه *O. melanotricha* کمتر از دو گونه دیگر بود، با وجود این، در هر سه گونه روند کاهشی در فعالیت آن مشاهده شد. فعالیت این آنزیم تنها در گونه *O. subnitens* در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار افزایش یافت، در حالی که در هر سه گونه بیشترین فعالیت در تیمار شاهد و کمترین فعالیت در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار مشاهده شد (جدول ۲).

مطالعه تفاوت معنی‌داری داشت و کمترین درصد جوانه‌زنی در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار مشاهده شد. همچنین، در غلظت‌های مختلف نمک، هر سه گونه درصد جوانه‌زنی مشابهی نشان دادند و سرعت جوانه‌زنی آنها در محیط شاهد (فاقد نمک) بیشتر از سایر تیمارها بود. با افزایش سطح شوری سرعت جوانه‌زنی به طور منظم کاهش یافت. هر چند گونه *O. subnitens* از سرعت جوانه‌زنی کمتری نسبت به دو گونه دیگر برخوردار بود. مقایسه میانگین سه گونه اسپرس مورد مطالعه تحت تأثیر غلظت‌های مختلف کلرید سدیم نشان داد که بیشترین سرعت جوانه‌زنی در محیط کشت شاهد در گونه‌های *O. viciifolia* (۷۹ درصد) و *O. melanotricha* (۹۰ درصد) مشاهده می‌شود و با افزایش شوری تا غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار، سرعت جوانه‌زنی به کمترین میزان خود می‌رسد. نتایج حاصل همچنین نشان داد که اثر متقابل شوری و گونه برای وزن تر و وزن خشک و نیز محتوای پرولین آزاد معنی‌دار بوده است. وزن تر و وزن خشک دانه‌رست گونه‌های مورد مطالعه نیز تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نمک قرار گرفته، با افزایش غلظت نمک کاهش یافت، در حالی که ویژگی وزن تر در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار تفاوت معنی‌داری نداشت. از سه گونه مطالعه شده، *O. subnitens* کمترین وزن تر و خشک را نیز نشان داد. مقایسه میانگین وزن تر و وزن خشک تحت تأثیر سطوح مختلف شوری نشان داد که با افزایش شوری کاهش در هر دو ویژگی وزن تر و وزن خشک مشاهده می‌شود. در گونه *O. viciifolia* وزن تر و وزن خشک در غلظت ۵۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار و در خور توجهی نشان دادند. در غلظت‌های بالاتر روند کاهشی منظم بود، در حالی که در گونه‌های

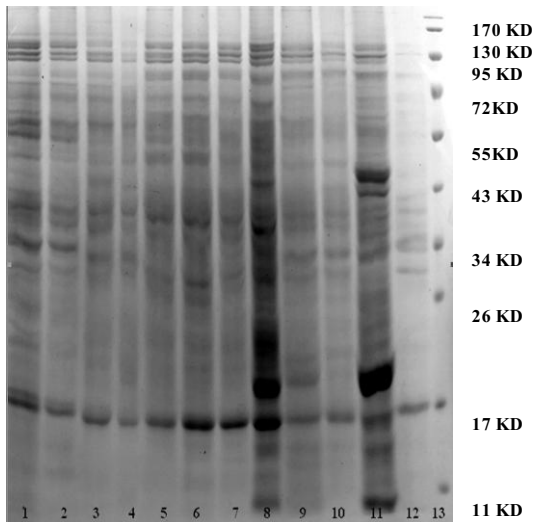
جدول ۱- اثر غلظت‌های مختلف NaCl بر شاخص‌های مختلف رشد دانه‌رست در گونه‌های اسپرس مورد مطالعه. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ است.

گونه	تیمار شوری (میلی مولار)	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	وزن تر (g)	وزن خشک (g)
<i>O. viciifolia</i>	شاهد	۹۰/۶۰±۴/۹ ^a	۷۹/۶۶±۷/۱ ^a	۱/۰۸±۰/۰۶ ^a	۰/۰۷۱±۰/۰۱ ^a
	۵۰	۶۹/۳۳±۴ ^b	۴۷/۵۳±۶/۶ ^{bcd}	۰/۶۸۸±۰/۲۲ ^{bcd}	۰/۰۴±۰/۰۰۳ ^{bcd}
	۱۰۰	۶۱/۶±۱۰/۴ ^b	۴۰/۱۸±۱۷/۵ ^{de}	۰/۵۰±۰/۱۳ ^{def}	۰/۰۲۴±۰/۰۰۳ ^{defg}
	۲۰۰	۴۳/۶±۱۰/۹ ^c	۲۴/۷±۵ ^{ef}	۰/۱۹۸±۰/۰۲ ^g	۰/۰۱±۰/۰۰۱ ^{fgh}
<i>O. melanotricha</i>	شاهد	۹۰/۰۳±۲/۵ ^a	۹۰/۰۳±۲/۵ ^a	۱/۰۶۴±۰/۱۳ ^a	۰/۰۴۹±۰/۰۱۷ ^b
	۵۰	۷۰/۶۶±۸ ^b	۷۰/۶۶±۸ ^b	۰/۹۴±۰/۱۹ ^{ab}	۰/۰۴۳±۰/۰۱۴ ^{bc}
	۱۰۰	۶۹/۲۳±۳/۳ ^b	۶۹/۲۳±۳/۳ ^b	۰/۸۱۳±۰/۳۲ ^{abc}	۰/۰۲۶±۰/۰۰۴ ^{def}
	۲۰۰	۴۲/۸±۱۱/۱ ^c	۴۲/۸±۱۱/۱ ^c	۰/۱۸۸±۰/۰۶ ^g	۰/۰۰۸±۰/۰۰۲ ^{gh}
<i>O. subnitens</i>	شاهد	۷۵±۵ ^b	۵۸/۵±۱۰/۲ ^{bc}	۰/۵۷۶±۰/۰۸ ^{cde}	۰/۰۲±۰/۰۱۳ ^{cde}
	۵۰	۷۰/۱۶±۷/۷ ^b	۴۴/۳۳±۱۰ ^{cd}	۰/۳۳±۰/۰۹ ^{efg}	۰/۰۱۶±۰/۰۰۴ ^{efgh}
	۱۰۰	۶۹/۱۶±۶/۳ ^b	۲۹/۳۳±۶ ^{def}	۰/۲۴۱±۰/۱۱ ^{fg}	۰/۰۰۸±۰/۰۰۲ ^h
	۲۰۰	۳۲/۶۶±۶/۴ ^c	۱۳/۵۳±۲/۵ ^{ef}	۰/۱۲۳±۰/۰۱ ^g	۰/۰۰۷±۰/۰۰۱ ^h

جدول ۲- اثر غلظت‌های مختلف NaCl بر فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز ($U\ mg^{-1}\ protein$)، محتوای پروتئین کل و پرولین آزاد ($\mu g\ g^{-1}\ FW$) در دانه‌رست گونه‌های اسپرس مورد مطالعه. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ است.

گونه	تیمار شوری (میلی مولار)	فعالیت پراکسیداز	فعالیت پلی‌فنل اکسیداز	محتوای پروتئین	محتوای پرولین
<i>O. viciifolia</i>	شاهد	۱۵/۲۶±۲/۵ ^{cd}	۰/۷۵۳±۰/۰۶ ^a	۱۶۶/۱۶±۳۶/۴ ^{cde}	۱۸۹/۰/۲ ^{cd}
	۵۰	۶/۲۳±۱/۹ ^{ef}	۰/۶۶۶±۰/۱۲ ^{ab}	۱۶۸/۶۶±۳۶/۳ ^c	۱۱۷۵ ^{cd}
	۱۰۰	۱۱/۰۶±۵/۴ ^{de}	۰/۵۴۳±۰/۰۵ ^{bc}	۱۵۰/۶۶±۱۸/۴ ^{cd}	۲۳۵۶ ^{cd}
	۲۰۰	۶/۰۶±۱/۶ ^{ef}	۰/۱۹۳±۰/۰۱ ^f	۳۳۰/۶±۴۱ ^a	۵۲۰۸ ^{ab}
<i>O. melanotricha</i>	شاهد	۴۱/۵۰±۵/۴ ^a	۰/۴۸۳±۰/۰۶ ^{cd}	۷۴/۶۶±۳/۵ ^e	۳۲۰/۲ ^d
	۵۰	۳۲/۵۶±۳/۶ ^b	۰/۳۸۳±۰/۱۲ ^{de}	۹۲/۸۰±۱۱/۷ ^{de}	۳۴۶/۱ ^d
	۱۰۰	۲۰/۴۱±۲/۱ ^c	۰/۳۴۶±۰/۰۹ ^{de}	۱۵۸/۹۸±۲۲/۸ ^{cd}	۵۰۵/۴ ^d
	۲۰۰	۱۳/۵±۳/۱ ^d	۰/۱۲۰±۰/۰۲ ^f	۲۴۴/۴۸±۱۴ ^b	۵۵۳۵/۲ ^a
<i>O. subnitens</i>	شاهد	۱۳/۷±۴/۳ ^d	۰/۷۸۳±۰/۰۰۵ ^a	۱۲۹/۱۸±۴۴ ^{cde}	۴۰۴/۱ ^d
	۵۰	۳/۰۳±۱/۳ ^f	۰/۳۲۳±۰/۰۲ ^e	۳۷۹/۶۳±۲۶ ^a	۳۹۸/۳ ^d
	۱۰۰	۵/۴۶±۱ ^{ef}	۰/۶۴۶±۰/۱۳ ^{ab}	۲۶۱/۲۱±۶/۳ ^b	۱۴۹۰/۲ ^{cd}
	۲۰۰	۲/۹۱±۱/۳ ^f	۰/۴۴۳±۰/۰۵ ^{cde}	۳۶۱/۵۶±۵۸/۶ ^a	۳۸۵۳/۳ ^b

گونه *O. viciifolia* پروتئین ۳۶ کیلودالتونی در غلظت ۲۰۰ میلی مولار نمک ناپدید شد. این پروتئین در تمام غلظت‌های نمک در گونه *O. subnitens* نیز مشاهده نشد. ظهور پروتئین‌های ۵۰، ۵۵، ۶۶، ۱۲۰ و ۱۷۰ کیلودالتونی در غلظت‌های بالای نمک در این گونه مشاهده شد و پروتئین ۱۷ کیلودالتونی در آن حضور نداشت. نوار مربوط به پروتئین ۸۰ کیلودالتونی در این گونه و گونه *O. viciifolia* و نوار پروتئینی ۴۸ کیلودالتونی در این گونه در غلظت ۱۰۰ میلی مولار بسیار ضعیف بود (شکل ۱).



شکل ۱- نیم‌رخ الکتروفورزی نوارهای پروتئینی دانه‌رست در سه گونه اسپرس مورد مطالعه. *O. melanotricha* (۱-۴)، *O. viciifolia* (۵-۸)، *O. subnitens* (۹-۱۲) و پروتئین استاندارد (۱۳). از چپ به راست به ترتیب شاهد و غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار نمک.

بحث

شوری یکی از مهم‌ترین مشکلات مناطق خشک و نیمه خشک دنیاست، از این رو یافتن گیاهان مقاوم به شوری می‌تواند راهکاری مناسب برای افزایش بهره‌وری از آب‌ها و زمین‌های شور باشد. نتایج حاصل

محتوای پرولین در غلظت‌های مختلف کلرید سدیم افزایش یافت و با آن که افزایش محتوای پرولین دانه‌رست در سطوح شوری تا ۱۰۰ میلی مولار مشاهده شد، افزایش تنها در بالاترین سطح تنش معنی‌دار بود. به طور کلی، مقایسه میانگین محتوای پرولین تحت تأثیر سطوح مختلف شوری نیز نشان داد که در هر سه گونه با افزایش غلظت نمک مقدار پرولین گونه‌ها افزایش می‌یابد، به طوری که در غلظت ۲۰۰ میلی مولار افزایش معنی‌دار و درخور توجه مشاهده شد. با وجود این، میزان پرولین در غلظت‌های کمتر از ۲۰۰ میلی مولار در گونه *O. viciifolia* بیش از دو گونه دیگر بود، اما بیشترین محتوای پرولین در غلظت ۲۰۰ میلی مولار گونه *O. melanotricha* مشاهده شد (جدول ۲).

نتایج حاصل از مطالعه کیفی پروتئین‌ها با روش SDS-PAGE نشان داد که با وجود پروتئین‌های مشترک میان سه گونه مورد مطالعه مانند پروتئین‌های ۱۱، ۲۲، ۲۸، ۴۳، ۷۰، ۹۵ و ۱۳۰ کیلودالتونی، برخی تنها در بعضی از گونه‌ها حضور داشته، در سایرین وجود ندارند. برای مثال، پروتئین‌های ۴۰، ۶۶ و ۱۲۵ کیلودالتونی در *O. melanotricha* و پروتئین‌های ۱۷ و ۳۶ کیلودالتونی در *O. subnitens* حضور نداشتند. در گونه *O. melanotricha* پروتئین ۳۸ کیلودالتونی در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار نمک ناپدید شد، در حالی که این پروتئین در همین غلظت‌ها در دو گونه دیگر حضور داشت. از سوی دیگر در این گونه‌ها القا پروتئین‌های ۵، ۵۰، ۱۲۰ و ۱۷۰ کیلودالتونی در غلظت‌های بالای نمک (۲۰۰ میلی مولار) مشاهده شد. ظهور این پروتئین‌ها در گونه‌های *O. subnitens* و *O. viciifolia* نیز تحت تنش شوری مشاهده شد. در

از تحقیقات نشان داده است که شوری میزان جوانه‌زنی بذرهای گیاهان مختلف را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در مناطقی با غلظت پایین نمک، افزایش شوری باعث کاهش تدریجی جوانه‌زنی می‌شود و در مناطقی با غلظت بالای نمک توانایی جوانه‌زنی با افزایش شوری کاهش می‌یابد. برخی از یون‌ها ممکن است دارای اثر سمی باشند که باعث کاهش جوانه‌زنی یا ایجاد حالت غیر طبیعی در بذرهای می‌شوند. همچنین، همیشه میان مقاومت نسبی گیاهان به شوری در مرحله جوانه‌زنی و مراحل بعدی نمو، همبستگی وجود ندارد. اغلب گیاهان در مرحله دانه‌رستی نسبت به شوری حساسیت بیشتری دارند (Gale, 1970). همچنین، Serrano و Zapata (۲۰۰۴) نشان دادند که شوری باعث کاهش درصد جوانه‌زنی بذرهای اسفناج، کاهو، چغندر قند و کلم می‌شود. نتایجی که از بررسی بسیاری از گیاهان یک ساله به دست آمده تأیید می‌کند که با افزایش شوری، جوانه‌زنی کاهش می‌یابد و بیشینه جوانه‌زنی در تیمار شاهد مشاهده می‌شود (آذرینوند و همکاران، ۱۳۸۳). افزایش شوری باعث افزایش جذب یون‌های سدیم و کلر می‌شود. این یون‌ها علاوه بر مضر بودن، باعث اختلال در متابولیسم عناصر غذایی دیگر می‌شوند. برای مثال، رقابت یون سدیم با پتاسیم و یون کلر با نیترات باعث اختلال در جذب عناصر غذایی پتاسیم و نیترات می‌شود و این امر بر فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه تأثیر منفی گذاشته، می‌تواند علت کاهش درصد جوانه‌زنی باشد (Gorham, 1996). در پژوهش حاضر، افزایش شوری باعث کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی در هر سه گونه اسپرس شد، با این حال روند کاهشی در غلظت‌های مختلف، متفاوت بود.

تنش شوری به عنوان عامل محیطی مؤثر بر سرعت جوانه‌زنی علاوه بر مسمومیتی که در گیاه ایجاد می‌کند، جذب آب توسط بذر را نیز با اشکال روبرو می‌سازد. از سوی دیگر نفوذ سدیم و کلر به درون بافت باعث اختلال در متابولیسم سلول‌ها به ویژه فعالیت غشاهای سلولی و در نتیجه افزایش میزان نشت مواد درون سلولی به خارج می‌شود. هر قدر غلظت نمک در محیط بیشتر باشد، خسارت وارده سریع‌تر و شدیدتر اعمال می‌شود (کریمی و همکاران، ۱۳۸۳). در تحقیق حاضر نیز در غلظت‌های بالاتر نمک، شدت کاهش رشد و کاهش جوانه‌زنی بیشتر بود. همچنین، مقایسه میانگین ویژگی‌های مختلف تحت تأثیر سطوح مختلف شوری در مرحله جوانه‌زنی نشان داد که با افزایش غلظت کلرید سدیم درصد و سرعت جوانه‌زنی در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار به طور معنی‌داری کاهش می‌یابند. به نظر می‌رسد که غلظت بالای نمک در گونه‌ها توانسته است محیط جوانه‌زنی بذر را نامناسب کند. نتایج حاصل از مطالعه مجیدی و همکاران (۱۳۸۸) بر توده‌های مختلف اسپرس زراعی نیز این مطلب را تأیید می‌کند. کاهش رشد و ویژگی‌سازی برای بقا گیاه تحت شرایط تنشی است و به گیاه اجازه می‌دهد که از انرژی متابولیسمی سلولی کمتری برای رشد استفاده کند و از آن بیشتر برای مقابله با تنش استفاده کند (Zhu, 2001).

وزن تر و وزن خشک در گونه‌های مورد مطالعه با افزایش غلظت نمک کاهش یافت، این کاهش ممکن است ناشی از هزینه انرژی متابولیک مربوط به سازگاری به شرایط تنشی، کاهش نرخ فتوسنتز در واحد سطح برگ، کاهش جذب کربن، آسیب به بافت‌ها و

است (Ashraf and Harris, 2004). سازگاری اسمزی، تجمع ترکیبات اسمزی، مدیریت تنش اکسیداتیو، القای پروتئین‌های تنش و سازش‌های فیزیولوژیک دیگر مانند تغییر در رشد ریشه و بخش‌های هوایی و نیز تعرق (Chinnusamy *et al.*, 2006)، گویای سنتز از نو پروتئین‌ها تحت تنش شوری است.

ناپدید شدن برخی از نوارهای پروتئینی نیز به خاموش شدن سیستم ژنتیک سنتز پروتئین‌ها در پاسخ به نمک و یا به واسرشته شدن آنها مربوط می‌شود. کاهش سنتز پروتئین و تسریع در تخریب و فروپاشی برخی پروتئین‌ها در گیاهان در پاسخ به تنش شوری توسط برخی محققان دیگر نیز گزارش شده است (Sudhahar *et al.*, 1993). در حقیقت پروتئین‌هایی که به تازگی تحت تنش شوری سنتز می‌شوند، پروتئین‌های القا شدنی تحت تنش هستند که توسط ژن‌های مربوطه در پاسخ به شوری تنظیم شده‌اند. ظهور پروتئین‌های ۵۰، ۵۵، ۶۶، ۱۲۰ و ۱۷۰ کیلودالتونی در گونه‌های *O. subnitens* و *O. viciifolia* که عدد کروموزومی پایه یکسانی ($x=7$) دارند، تحت تنش شوری مشاهده شد. گزارش‌های متعددی در مورد ظهور پروتئین‌های ۵۰ و ۶۶ کیلودالتونی در گیاهان تحت تنش شوری وجود دارد. Abd El-baky و همکاران (۲۰۰۳) پروتئین ۵۰ کیلودالتونی را در رقم‌های مختلف پیاز تحت اثر شوری گزارش کرده‌اند. القای پروتئین ۶۶ کیلودالتونی نیز در رقم‌های مختلف پیاز توسط Abd El-baky و همکاران (۲۰۰۳) و در گیاهان توتون توسط Ericson و Alfinito (۱۹۸۴) و نیز در گیاهان گوجه‌فرنگی توسط El-Farash و همکاران (۱۹۹۳) گزارش شده است. به علاوه، در نوار پروتئینی ۶۰ کیلودالتونی در غلظت‌های بالای نمک در

رسیدن به بیشینه غلظت نمکی باشد که گیاه آن را تحمل می‌کند (Shannon, 1997; Ashraf, 1994; Meneguzzo *et al.*, 2000). سمیت احتمالی ناشی از تجمع بیش از حد یون‌ها، به ویژه سدیم در اندام‌های گیاهی، کاهش تولید ماده خشک گیاه را به دنبال خواهد داشت (Flowers and Yeo, 1995; Shannon, 1997). همچنین، Neumann (۱۹۹۷) و Hassegawa و همکاران (۲۰۰۰) و Munns (۲۰۰۲) کاهش وزن خشک کل در اثر تنش شوری را گزارش و بیان کردند که علت این کاهش، تلفیق آثار تنش اسمزی با اثر سمیت یونی و تغییر غلظت عناصر غذایی ناشی از نمک موجود در محلول خاک است. در سطوح شوری بیشتر احتمالاً جذب غیر متعارف یون، روندهای طبیعی متابولیسمی را مختل نموده، گیاه بخشی از انرژی مواد آلی را به جای تخصیص به رشد به تولید محلول‌های سازگار، به تعدیل اسمزی و حفظ سلول اختصاص می‌دهد. افزایش میزان پرولین دانه‌رست در سطوح شوری بالا خود علتی بر این مدعاست (کریمی و همکاران، ۱۳۸۳).

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که با افزایش غلظت کلرید سدیم محتوای پروتئین در سه گونه مورد مطالعه افزایش می‌یابد. تحت شرایط شوری انباشتگی این پروتئین‌ها به عنوان ذخایری از نیتروژن ممکن است در تنظیم اسمزی نقش داشته باشند (Singh *et al.*, 1987). این پروتئین‌ها ممکن است در پاسخ به تنش شوری از نو سنتز شوند و یا به طور ساختمانی در غلظت پایین موجود باشند (Pareek-Singla and Grover, 1997). محتوای بالای پروتئین‌های محلول در رقم‌های متحمل به شوری جو، آفتابگردان و برنج مشاهده شده

در این مطالعه، انباشتگی پرولین در اثر تنش شوری در هر سه گونه اسپرس مورد مطالعه مشاهده شد. به نظر می‌رسد که پرولین هم به عنوان تنظیم‌کننده اسمزی و هم به عنوان حفاظت‌کننده غشا عمل کرده باشد (نژاد علیمرادی و منوچهری کلاتری، ۱۳۸۷). گزارش‌های متعددی مبنی بر وجود همبستگی میان تجمع پرولین و سازش به تنش اسمزی در گیاهان یاد شده است (Kiyosue et al., 1996). گیاهان اسمولیت‌های آلی مانند پرولین، بتائین، پلی‌اول‌ها، الکل‌های قندی و قندهای محلول را انباشته می‌کنند تا تنش اسمزی را تحمل کنند. این محلول‌ها با سازگاری اسمزی، سم‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن و تثبیت ساختار چهارم پروتئین‌ها گیاهان را حمایت می‌کنند (Chinnusamy et al., 2006). پرولین در بسیاری از گیاهان در تنش‌های محیطی مانند خشکی، شوری، دمای بالا، یخ زدگی، پرتو فرابنفش و فلزات سنگین تجمع یافته و ساختار غشا و پروتئین‌ها را تثبیت نموده، به عنوان یک ماده اسمزی ساز، ساختارهای درون سلول را محافظت می‌کند (نژاد علیمرادی و منوچهری کلاتری، ۱۳۸۷). پرولین در مقایسه با سایر اسمولیت‌های متداول به ویژه قندهای معمولی و الکلی، از کارآیی بالاتری برای حفاظت در برابر تنش برخوردار است و با اثر مستقیم در ثبات بخشیدن به ماکرومولکول‌ها و لایه‌های آبدگری آنها و نیز به علت ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی خود، به طور غیر مستقیم اثر حفاظتی نشان می‌دهد (Delauney and Verma, 1993). در مجموع، نتایج حاصل نشان داد که تنش شوری تأثیر شدیدی بر جوانه‌زنی و محتوای پرولین در گونه‌های اسپرس دارد.

گونه *O. vicifolia* در مقایسه با سایر گونه‌های مورد مطالعه، افزایش شدت رنگ نوار مشاهده شد که گویای افزایش سنتز این پروتئین در این گونه تتراپلوئید در مقایسه با دو گونه دیگر دیپلوئید است. Meratan و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه اثر شوری بر شاخص‌های رشد و فعالیت آنزیمی سه گونه *Acanthophyllum* با سطوح پلوئیدی مختلف نشان دادند که علی‌رغم عدم حضور پروتئین ۶۰ کیلودالتونی در گونه دیپلوئید *A. glandulosum*، بیان این پروتئین در گونه‌های تتراپلوئید و هگزاپلوئید تحت اثر شوری القا می‌شود. نتایج حاصل از پژوهش حاضر نیز نشان داد که تنش شوری باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز می‌شود. در تأیید نتایج این پژوهش، Jia و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کرده‌اند که تیمار گیاهان نخودفرنگی با کلرید سدیم باعث کاهش درخور توجه بیان ژن مربوط به ۴ ایزوزیم پراکسیداز می‌شود. به علاوه کلرید سدیم باعث کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز و افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان آرابیدوپسیس می‌شود (کیامقدم و باقریه نجار، ۱۳۸۸). با توجه به نقش ترکیبات و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مختلف در سازگاری و یا مقاومت در برابر تنش شوری، به نظر می‌رسد که در گیاهان مورد مطالعه ممکن است آنزیم‌ها یا ترکیبات آنتی‌اکسیدان دیگری مؤثرتر باشند. در مجموع با توجه به نتایج مطالعه آنزیمی و پروتئینی به نظر می‌رسد که گونه *O. subnitens* نسبت به تنش شوری بیش از دو گونه دیگر واکنش نشان داده و از حساسیت بیشتری برخوردار است.

منابع

- یافته *Atrec Q14A* تحت تنش شوری. مجله پژوهش‌های تولید گیاهی ۱۶(۱): ۱۱۵-۱۳۲.
- مجیدی، م. م.، جزایری، م. ر. و محمدی‌نژاد، ق. (۱۳۸۸) اثر شوری بر جوانه‌زنی و انباشت یون‌ها در توده‌های اسپرس زراعی. مجله تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران ۱۷(۲): ۲۵۶-۲۶۹.
- نژاد علیم‌رادی، ح.، و منوچهری کلاتتری، خ. (۱۳۸۷) بررسی اثر پیش تیمار پرتو فرابنفش بر جوانه‌زنی بذر و برخی از پارامترهای بیوشیمیایی دو رقم گندم (*Triticum aestivum* L.) تحت تنش شوری. مجله علمی پژوهشی دانشگاه اصفهان ۳۵(۶): ۸۹-۱۰۲.
- Abd El-baky, H., Hana, M., Amal, A. and Hussein, M. M. (2003) Influence of salinity on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and electrophoretic patterns of protein and isozymes in leaves of some Onion cultivars. *Asian Journal of Plant Science* 2: 1220-1227.
- Aiazzi, M. T., Carpane, P. D., Arguello, J. A. and Piotto, B. (2004) Salt tolerance at the germination stage of *Atriplex cordobensis* from different provinces. *Seed Science and Technology* 32: 43-52.
- Ashraf, M. (1994) Breeding for salinity tolerance in plants. *Critical Review of Plant Science* 13: 17-42.
- Ashraf, M. and Harris, P. J. C. (2004) Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science* 160: 3-16.
- Atak, C., Celik, O., Olgun, A., Alikamanoglu, S. and Rzakoulieva, A. (2007) Effect of magnetic field on peroxidase activities of soybean tissue culture. *Biotechnology* 2: 21-25.
- Bates, L. S., Waldran, R. P. and Tear, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water studies. *Plant and Soil* 39: 205-208.
- آذرینوند، ح.، احمدی، ز. و ناصری، ح. (۱۳۸۳) بررسی اثر فاکتور شوری بر جوانه‌زنی دو گونه مرتعی *Artemisia spicigera* و *fragrans*. مجله بیابان ۹(۲): ۳۰۷-۳۱۵.
- کریمی، ق.، حیدری شریف‌آباد، ح. و عصاره، م. ح. (۱۳۸۳) اثرات تنش شوری بر جوانه‌زنی، استقرار گیاهچه و محتوای پرولین در گونه مرتعی *Atriplex verrucifera*. فصلنامه علمی و پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران ۱۲(۴): ۴۱۹-۴۳۲.
- کیامقدم، م.، باقریه نجار، م. (۱۳۸۸) بررسی برخی از پارامترهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در گیاهان جهش
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilization the principle of protein-dye binding. *Anal. of Biochemistry* 72: 348-354.
- Chinnusamy, V., Zhu, J. and Zhu, J. K. (2006) Salt stress signaling and mechanisms of plant salt tolerance. *Genetic Engineering* 27: 141-177.
- Delauney, A. J. and Verma, D. P. S. (1993) Proline biosynthesis and osmoregulation in *Plant Journal* 4: 215-223.
- Ejazrasll, A. W. and Rehman, A. (1997) Germination response of sensitive and tolerant sugarcane lines to sodium chloride. *Seed Science Technology* 25: 465-471.
- El-Farash, E. M., El-Enamy, A. E. and Mazen, A. (1993) Influence of genotype and NaCl on the levels of growth, proteins, proline, free amino acids, viability and protein regulation in tomato callus cultures. *Physiologia Plantarum* 4: 345-352.
- Ericson, M. C. and Alfinito, S. H. (1984) Proteins produced during salt stress in tobacco cell cultures. *Plant Physiology* 74: 506-509.
- Flowers, T. J. and Yeo, A. R. (1995) Breeding

- for salinity resistance in crop plants: where next? *Australian Journal of Plant Physiology* 22: 875-884.
- Gale, J. (1970) Growth of *Atriplex halimus* L. in sodium chloride salinated cultured solution as effected by the relative humidity of the air. *Australian Journal of Biological Science* 23: 947-952.
- Gorham, J. (1996) Mechanisms of salt tolerance of halophytes. In: *Plant cellular and molecular responses to high salinity* (eds. Allah, R. C., Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K. and Bohnert, H. J.) 51: 463-499. *Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology*. New York.
- Hames, B. D. and Rickwood, D. (1981) *Gel electrophoresis of proteins: a practical approach*. IRL Press, Washington DC.
- Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K. and Bohnert, H. J. (2000) Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology* 51: 463-499.
- Hua, X. J., Van De Cotte, B., Montagu, M. V., and Verbruggen, N. (1997) Developmental regulation of pyroline-5-carboxylate reductase gene expression in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 114: 1215-1224.
- Huang, J. and Remann, R. E. (1995) Salt tolerance of *Hordeum* and *Brassica* species during germination and early seedling growth. *Canadian Journal of Plant Science* 75: 815-819.
- Jia, W., Wang, Y., Zhang, S. and Zhang, J. (2002) Salt stress-induced ABA accumulation is more sensitively triggered in roots than in shoots. *Journal of Experimental Botany* 53: 2201-2206.
- Joshi, A. J., Mali, B. S. and Hinglajia, H. (2004) Salt tolerance at germination and early growth of two forage grasses growing in marshy habitats. *Environmental and Experimental Botany* 5: 154-160.
- Kiyosue, T., Yoshida, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. (1996) A nuclear gene encoding mitochondrial proline metabolism, is upregulated by proline but downregulated by dehydration in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* 8: 1323-1335.
- Levitte, J. (1980) Responses of plants to environmental stresses. 2nd Ed, Academic Press, New York.
- Liu, W., Fang, J., Zhu, W. M., and Gaq, P. J. (1999) Isolation, purification and properties of the peroxidase from the hull of *Glycine max* var hhz. *Science of Food and Agriculture* 79: 779-785.
- Lock, J. M. and Simpson, K. (1991) *Legumes of West Asia*, Royal Botanic Gardens, Kew.
- Lutts, S., Majerus, V. and Kinet, J. M. (1999) NaCl effect on proline metabolism in rice seedlings. *Physiologia Plantarum* 105: 450-458
- Mabberley, D. J. (1997) *The plant book: a portable dictionary of the vascular plants*, 2nd Ed, Cambridge University Press, Cambridge.
- Magurie, J. D. (1962) Speed of germination-aid in selection and evaluation for seed vigor. *Crop Science* 2: 176-177.
- Maslenkova, L. T., Miteva, T. S. and Popoval, P. (1999) Changes in the polypeptide patterns of barley seedling exposed to jasmonic acid and salinity. *Plant Physiology* 98: 700-707.
- Meneguzzo, S., Navari-Izz, F. and Izzo, R. (2000) NaCl effects on water relations and accumulation of mineral nutrients in shoots, roots and cell sap of wheat seedling. *Journal of Plant Physiology* 156: 711-716.
- Meratan, A. A., Ghaffari, S. M. and Niknam, V. (2008) Effects of salinity on growth, proteins and antioxidant enzymes in three *Acanthophyllum* species of different ploidy level. *Journal of Science and Technology* 33: 1-8.
- Mohammadi, M. and Kazemi, H. (2002) Changes in peroxidase and polyphenol oxidase activities in susceptible and resistance wheat heads inoculated with *fusarium graminearum* and induced

- resistance. *Plant Science* 162: 491-498.
- Munns, R. (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell and Environment* 25: 239-250.
- Naidoo, G. and Naidoo, Y. (2001) Effects of salinity and nitrogen on growth, ion relations and proline accumulation in *Triglochin bulbosa*. *Wetlands Ecology and Management* 9: 491-497.
- Nakashima, K., Satoh, R., Kiyosue, T., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. (1998) A gene encoding proline dehydrogenase is not only induced by proline and hypoosmolality but is also developmentally regulated in the reproductive organs of organs of *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 118: 1233-1241.
- Neumann, P. (1997) Salinity resistance and plant growth revisited. *Plant Cell and Environment* 20: 1193-1198.
- Pareek-Singla, S. L. and Grover, A. (1997) Salt responsive proteins/genes in crop plants. In: *Strategies for improving salt tolerance in higher plants* (eds. Jaiwal, P. K., Singh, R. P. and Gulati, A.) 365-391 Oxford and IBH Publishing Co., New Delhi.
- Raymond, J., Pakariyathan, N. and Azanza, J. L. (1993) Purification and some properties of polyphenoloxiases from sunflowers seeds. *Phytochemistry* 34: 927-931.
- Rechinger, K. H. (ed) (1984) *Onobrychis*. In: *Flora Iranica* 157: 449-459. Akademische Druck-U Verlagsanstalt, Graz.
- Schloss, P., Walter, C., Mader, M. (1987) Basic peroxidases in isolated vacuoles of *Nicotiana tabacum* L. *Planta* 170: 225-229.
- Shannon, M. (1997) Adaption of plants to salinity. *Advances in Agronomy Journal* 60: 75-120.
- Singh, N. K., Bracken, C. A., Hasegawa, P. M., Handa, A. K., Buckel, S., Hermodson, M. A., Pfankoch, F., Regnier, F. E. and Bressan, R. A. (1987) Characterization of osmotin, a thaumatin-like protein associated with osmotic adjustment in plant cells. *Plant Physiology* 85: 529-536.
- Sudhakar, P. R., Reddy, M. P. and Veeranjanyulu, K. (1993) Effect of salt stress on the enzymes of proline synthesis and oxidation in green seedling. *Journal of Plant Physiology* 141: 621-623.
- Zapata, P. J. and Serrano, M. (2004) Polyamines and ethylene changes during germination of different plant species under salinity. *Plant Science* 167: 781-788.
- Zhu, J. K. (2001) Over expression of a delta pyrpline-5-carbohydrate synthetase gene and analysis of tolerance of water and salt stress in transgenic rice. *Trends in Plant Science* 6: 66-72.

مطالعه تکوینی فراساختار سلول‌های کلاهک در ریشه گیاه نخود (*Pisum sativum* L.)

علی موافقی *

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

چکیده

سلول‌های کلاهک ریشه در گونه‌های گیاهی، تغییرات تکوینی متفاوتی را متحمل می‌شوند. در این پژوهش، تغییرات تکوینی فراساختار سلول‌های کلاهک ریشه گیاه نخود (*Pisum sativum* L.) مطالعه شد. بدین منظور، نوک ریشه‌های دانه‌رست‌های سه روزه در ماده تثبیت‌کننده نخستین حاوی 5 w/v درصد پارافرم آلدئید و 2 v/v درصد گلو تار آلدئید در بافر فسفات 100 mM و تثبیت‌کننده ثانویه تتراکسید اسمیوم 1 v/v درصد در همان بافر تثبیت شد. پس از آغشته‌سازی با استفاده از رزین لندن سفید برش‌هایی با ضخامت 60 nm نانومتر تهیه و با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری مطالعه شدند. در این گونه، سلول‌های بخش مرکزی کلاهک یا کلوملا در زیر ناحیه مرستمی با دارا بودن ویژگی‌های متعارف مربوط به استاتوسیت‌ها مشخص می‌شوند. در این سلول‌ها، وجود هسته بزرگ در قطب فوقانی و غشاهای شبکه آندوپلاسمی و آمیلوپلاست‌های فراوان در قطب تحتانی سلول جلب توجه می‌کند. با افزایش سن این سلول‌ها که با نزدیک شدن به ناحیه پیرامونی کلاهک مشخص می‌شود، ساختار آنها در جهت ترشح تخصص‌یابی پیدا می‌کند. با افزایش اندازه سلول‌ها، نسبت نوکلئوپلاسمی کاهش می‌یابد و تعداد دیکتیوزوم‌های گلژی و غشاهای شبکه آندوپلاسمی با ساختار توپولی-وزیکولی به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد. به تدریج، اندامک‌های موجود در سیتوپلاسم به نواحی پیرامونی رانده می‌شوند و یک بخش عاری از اندامک در قطب فوقانی شکل می‌گیرد. سپس تعدادی از غشاهای شبکه آندوپلاسمی در اطراف منطقه عاری از اندامک، برای تشکیل واکوئل سازمان می‌یابند. به این صورت شبکه آندوپلاسمی را می‌توان به عنوان منشأ واکوئل در سلول‌های کلاهک ریشه نخود معرفی نمود. رشد دستگاه واکوئلی در این سلول‌ها در مراحل نهایی تکوینی انجام می‌گیرد و سلول‌ها در نهایت از کلاهک جدامی شوند.

واژه‌های کلیدی: استاتوسیت، شبکه آندوپلاسمی، کلاهک ریشه، مطالعه تکوینی، واکوئل

مقدمه

مریستم رأسی، در پاسخ ریشه به نیروی جاذبه یا ژئوتروپیسم و همچنین، تسهیل حرکت ریشه در خاک با تولید و ترشح موسیلاژ نقش دارد (Barlow, 2003).

کلاهک ریشه در بخش انتهایی ریشه‌های اصلی و فرعی قرار می‌گیرد و علاوه بر محافظت فیزیکی

با این که کلاهک در بیشتر گیاهان عالی اندازه کوچکی دارد و فقط از چند لایه سلولی تشکیل شده است، اما تخصص‌یابی فراساختاری و عملکردی در خور توجهی در میان سلول‌های آن دیده می‌شود.

سلول‌های حساس به نیروی جاذبه، که به نام استاتوسیت (statocyte) نیز معرفی می‌شوند، مستقیماً از سلول‌های مریستمی منشأ می‌گیرند و معمولاً در لایه‌های بالایی بخش مرکزی کلاهک یا کلوملا (columella) در زیر ناحیه مریستمی قرار دارند (Driss-Ecole *et al.*, 2003). در این سلول‌ها هسته نسبتاً درشت در بخش فوقانی و شبکه آندوپلاسمی در بخش پیرامونی سلول (به ویژه در قطب تحتانی) قرار دارند. استاتوسیت‌ها فاقد واکوئل مرکزی هستند و ریزرشته‌ها (microfilaments) و ریزلوله‌ها (microtubules) با تراکم زیادی در بخش مرکزی و تحتانی سلول پراکنده‌اند. استاتوسیت‌ها دارای اندامک‌های نسبتاً درشتی به نام استاتولیت (statolith) هستند که به سمت نیروی جاذبه تغییر مکان می‌دهند. در گیاهان عالی آمیلوپلاست‌های غنی از نشاسته و نسبتاً درشت به عنوان استاتولیت در دریافت نیروی جاذبه دخالت دارند (Stanga *et al.*, 2011). در برخی گیاهان پست نیز وزیکول‌ها و دانه‌های غنی از مواد معدنی به عنوان استاتولیت معرفی شده‌اند (Blancaflor and Masson, 2003). با این که نقش استاتولیت‌ها در پذیرش نیروی جاذبه کاملاً مورد پذیرش است، در مورد مکانیسم عمل آنها هنوز اتفاق نظر حاصل نشده است. به نظر می‌رسد که استاتولیت‌ها به کمک عناصر اسکلت سلولی یعنی ریزرشته‌ها و ریزلوله‌ها انتقال پیام به سایر بخش‌های سلول را بر عهده دارند (Palmieri

and Kiss, 2005; Nakamura *et al.*, 2011) در این ارتباط، باز شدن کانال‌های کلسیم شبکه آندوپلاسمی و در نتیجه فعال‌سازی کالمودولین (calmodulin) به عنوان یکی از آثار حرکت استاتولیت‌ها گزارش شده است (Hayatsu *et al.*, 2012). گزارش‌هایی نیز در زمینه فعال‌سازی پذیرنده‌های موجود در غشای پلاسمایی وجود دارد (Yoder *et al.*, 2001).

سلول‌های ترشح‌کننده موسیلاژ موقعیت سطحی تری دارند و در لایه‌های بیرونی کلاهک قرار می‌گیرند. طی تمایز یابی، استاتوسیت‌ها با تغییرات فراساختاری قابل ملاحظه‌ای نظیر افزایش تعداد اجسام گلژی، تشکیل واکوئل مرکزی و کاهش پلاست‌ها به این سلول‌ها تبدیل می‌شوند (Iijima *et al.*, 2008). در سلول‌های ترشحی کلاهک نقش فعال دیکتیوزوم‌ها در ترشح گرانولوکترین با تولید وزیکول‌های حاوی پلی ساکاریدهای موسیلاژی در اکثر ریشه‌ها، به ویژه در ریشه گیاهان تک‌لپه نظیر ذرت، گزارش شده است (Pimpl *et al.*, 2000; Iijima *et al.*, 2004). تبدیل استاتوسیت‌ها به سلول‌های ترشحی احتمالاً یک فرآیند تمایزی وابسته به سن و موقعیت سلول‌هاست که در آن فاصله زمانی و مکانی از ناحیه مریستمی دارای نقش است. با این حال، گزارش‌ها نشان داده‌اند که در بین گونه‌های گیاهی مراحل تمایز سلول‌های ترشحی در کلاهک دارای تفاوت‌هایی هستند (Moore and McClelen, 1985; Kordyum *et al.*, 1999; Rost, 2011). برای مثال، تعداد لایه‌های سلولی کلاهک، سرعت تمایز سلول‌ها و همچنین، منشأ اندامک‌های سلول‌های ترشحی در میان گونه‌های مطالعه شده متفاوت است.

۱۲ ساعت در آب مقطر و پس از آن روی کاغذ صافی استریل مرطوب قرار گرفتند. پس از جوانه‌زنی بذرها در دمای آزمایشگاه، نوک ریشه‌های دانه‌رست‌های ۳ روزه به طول ۲ میلی‌متر بریده شد و نمونه‌ها که دارای کلاهک در انتهای خود بودند، در درون محلول تثبیت‌کننده نخستین حاوی ۱/۵ w/v درصد پارافرم‌آلدئید و ۲ v/v درصد گلو تار آلدئید در بافر فسفات ۱۰۰ mM با اسیدیت ۷ به مدت ۴ ساعت غوطه‌ور شدند. قطعات ریشه تثبیت شده، ۳ بار به مدت ۱۰ دقیقه توسط بافر فسفات شستشو شدند و سپس درون تثبیت‌کننده ثانویه به مدت ۲ ساعت توسط محلول تتراکسید اسمیوم ۱ v/v درصد در بافر فسفات انجام شد. پس از شستشوی نمونه‌ها، آب‌گیری آنها توسط محلول‌های اتانول با غلظت‌های فزاینده (۲۵ تا ۱۰۰ درصد) انجام شد. آغشته‌سازی با استفاده از رزین لندن سفید (London Resin White: LR White) انجام شد و قالب‌گیری نمونه‌ها به مدت ۲۲ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد در شرایط خلأ ادامه یافت (Robinson *et al.*, 1995).

تهیه برش‌های طولی با ضخامت ۶۰ نانومتر با استفاده از میکروتوم Leica و تیغ الماس انجام شد. نمونه‌ها بر روی گریدهای نیکل دارای یک لایه فرم‌وار پوشش داده شده با کربن، جمع‌آوری شدند و رنگ‌آمیزی برش‌ها با استفاده از محلول‌های سیترات سرب و اورانیل استات ۲ w/v درصد هر یک به مدت ۵ دقیقه انجام شد. پس از شستشوی مکرر با آب مقطر و خشک شدن نمونه‌ها در دمای آزمایشگاه، مشاهده آنها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) (LEO 906, Germany) با ولتاژ ۸۰ kV در آزمایشگاه میکروسکوپ الکترونی

برخلاف بسیاری از بافت‌های گیاهی، سلول‌های کلاهک ریشه به علت تماس فیزیکی مستقیم با ذرات خاک طول عمر کوتاهی دارند و مدت کوتاهی پس از بلوغ می‌میرند و از سطح آن جدا می‌شوند. از این رو، در بیشتر گیاهان پس از گذشت یک تا چند روز ساختار کلاهک کاملاً تجدید می‌شود. با توجه به طول عمر کوتاه سلول‌ها و از سوی دیگر تخصص‌یابی درخور توجه در لایه‌های مختلف سلولی، کلاهک ریشه برای بررسی برخی ویژگی‌های فراساختاری سلول‌ها نظیر بررسی منشأ و همچنین، تغییر و تحول رشد و نمو اندامک‌ها مناسب است. گیاهان تیره بقولات به علت دارا بودن ریشه‌چه نسبتاً درشت برای مطالعات ساختاری و فراساختاری کلاهک مناسب به نظر می‌رسند. با این حال، تاکنون مطالعات فراساختاری محدودی در زمینه منشأ اندامک‌ها در کلاهک ریشه‌های اعضای این تیره انجام شده است. از سوی دیگر، مطالعات روی بافت‌های گونه‌هایی از این تیره نظیر ماش و عدس نشان داده است که تفاوت‌هایی در تولید اندامک‌هایی نظیر واکوئل طی نمو سلول‌ها وجود دارد (Mesquita, 1969; Amelunxen and Heinze, 1984). از این رو، در پژوهش حاضر، فراساختار سلول‌های رأسی کلاهک ریشه دانه‌رست‌های نخود به عنوان یکی از مهم‌ترین اعضای تیره بقولات مطالعه شده است. گسترش اندامک‌ها طی تمایز یابی سلول‌های ترشحی و به ویژه نحوه شکل‌گیری دستگاه واکوئلی از غشاهای شبکه آندوپلاسمی در این سلول‌ها بحث و بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

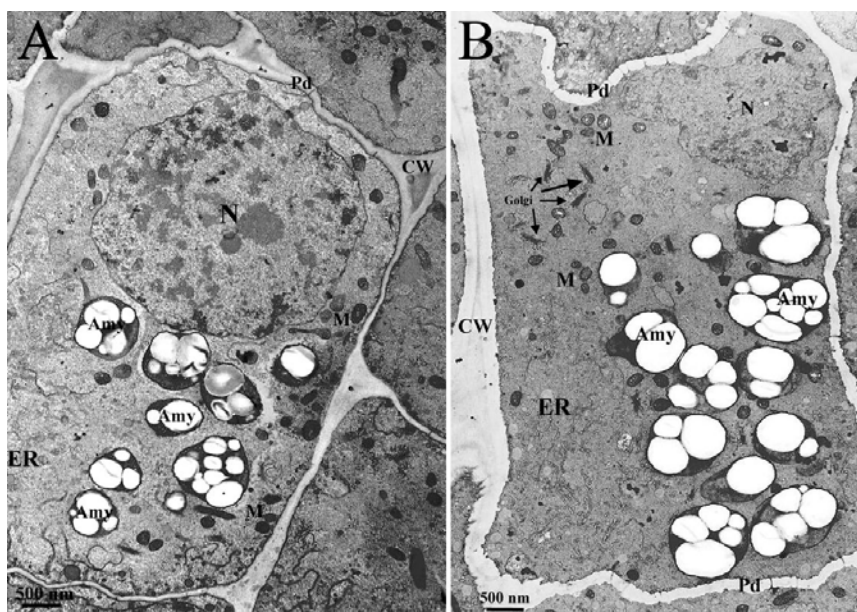
بذرهای گیاه نخود (*Pisum sativum* L.) به مدت

سلول‌های این منطقه با دارا بودن ویژگی‌های مربوط به سلول‌های جوان به همراه ویژگی‌های شناخته شده مربوط به استاتوسیت‌ها مشخص می‌شوند. سلول‌ها دارای هسته‌ای درشت در قطب نزدیک یا فوقانی، دیواره‌های سلولی نازک و پلاسمودسماتای متعدد هستند. آمیلوپلاست‌های فراوان در قطب دور یا تحتانی سلول دیده می‌شوند. میتوکندری‌ها با تعداد زیاد، دیکتیوزوم‌های گلژی و غشاهای شبکه آندوپلاسمی در تمام بخش‌های سلول به چشم می‌خورند، اما به علت تراکم سیتوپلاسم در قطب دور این اندامک‌ها در این ناحیه بیشتر جلب نظر می‌کنند (شکل ۱A).

دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام شد. با توجه به این که برش‌ها به طور طولی تهیه شدند و در برگیرنده همه سلول‌های ناحیه کلاهک بودند، برای تشخیص لایه‌های مختلف کلاهک، ناحیه مرستمی به عنوان محل پیدایش سلول‌ها و پیرامونی‌ترین لایه به عنوان مسن‌ترین بخش، مد نظر قرار گرفت.

نتایج

سلول‌های کلاهک ریشه در دانه‌رست‌های نخود از حدود ۸ تا ۱۰ لایه سلولی تشکیل شده‌اند. از لایه سوم و چهارم زیر ناحیه مرستمی، ویژگی‌های فراساختاری سلول‌های بخش مرکزی یا کلوملا قابل تشخیص است.



شکل ۱- فراساختار سلول‌های کلاهک ریشه. (A) یک سلول کلاهک جوان در لایه سوم ناحیه مرکزی (کلوملا) با هسته درشت در قطب فوقانی و آمیلوپلاست‌ها در قطب تحتانی؛ (B) سلول مسن‌تر در لایه‌های پایینی ناحیه مرکزی (کلوملا) با نسبت نوکلئوپلاسمیک کمتر و شبکه آندوپلاسمی و دیکتیوزوم‌های در حال گسترش. Amy: آمیلوپلاست؛ CW: دیواره سلولی؛ ER: شبکه آندوپلاسمی؛ M: میتوکندری؛ N: هسته؛ Pd: پلاسمودسماتا.

کلاهک مشخص می‌شوند، برخی ویژگی‌های دیگر در آنها ظاهر می‌شود، اندازه سلول‌ها بزرگ‌تر می‌شود

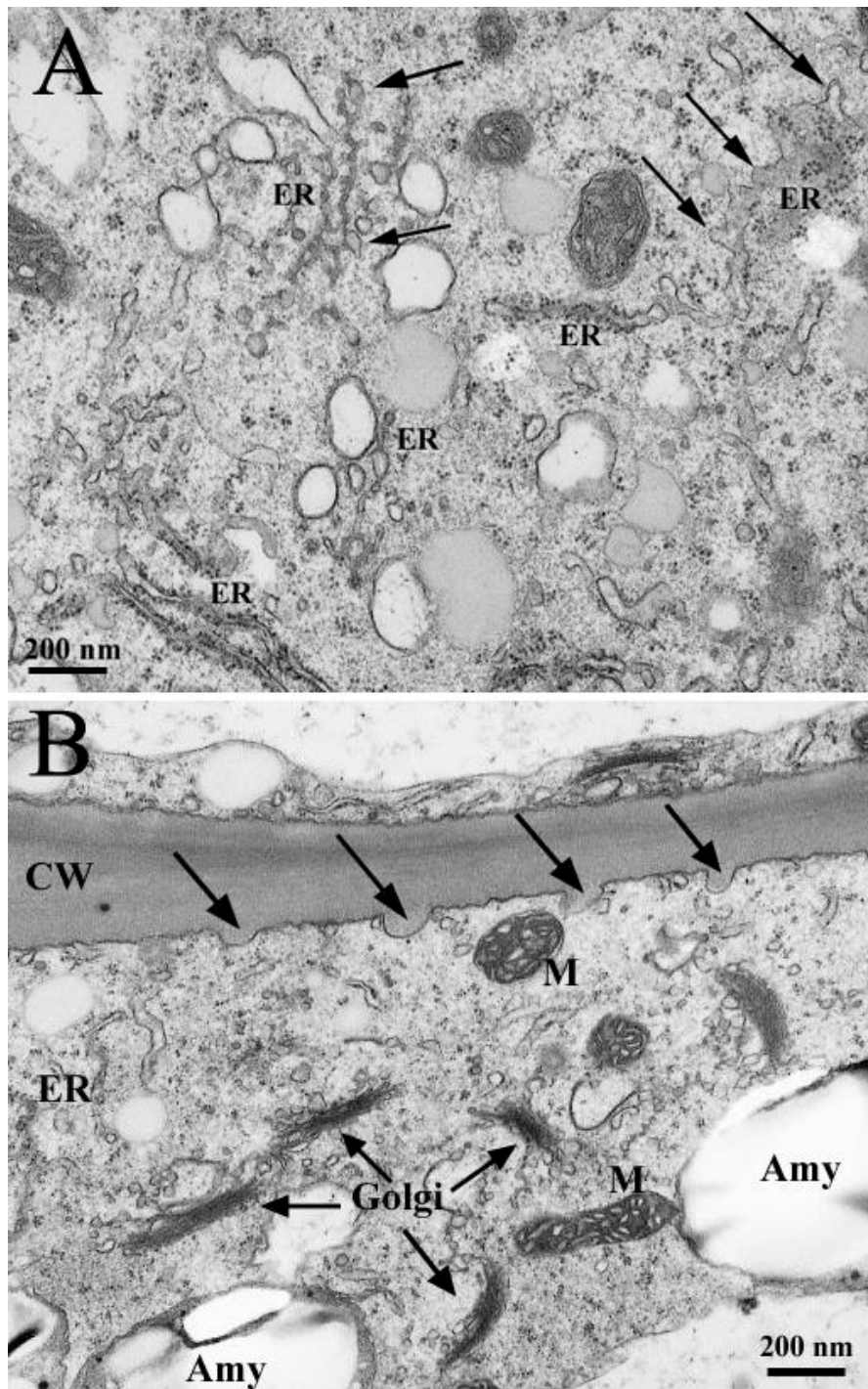
با افزایش سن این سلول‌ها که با فاصله گرفتن آنها از ناحیه مرستمی و نزدیک شدن به ناحیه پیرامونی

تدریج به نواحی پیرامونی رانده می‌شوند و یک بخش عاری از اندامک شکل می‌گیرد (شکل ۳A). تعداد بسیار محدودی از اندامک‌ها نظیر برخی میتوکنندری‌ها و دیکتیوزوم‌ها ممکن است در این منطقه مشاهده شوند که طی مراحل بعدی تکوینی به طور کامل از این منطقه خارج می‌شوند. با پیشرفت نمو سلول‌ها به منظور ترشح، غشاهایی با لومن مشخص در بخش‌های پیرامونی منطقه عاری از اندامک آرایش پیدا می‌یابند که به نظر می‌رسد برای تشکیل واکوئل سازمان می‌یابند. این ساختارهای غشایی به تدریج به هم نزدیک می‌شوند و فضای لومن این غشاها عریض‌تر می‌شود. به این صورت با مسن‌تر شدن آنها تشکیل واکوئل درشت مرکزی به طور از نو (*de novo*) قابل مشاهده است. منطقه عاری از اندامک در ناحیه فوقانی سلول‌ها یعنی قطب فوقانی مشاهده می‌شود و در قطب تحتانی غشاهای شبکه آندوپلاسمی توسعه می‌یابند (شکل ۳B).

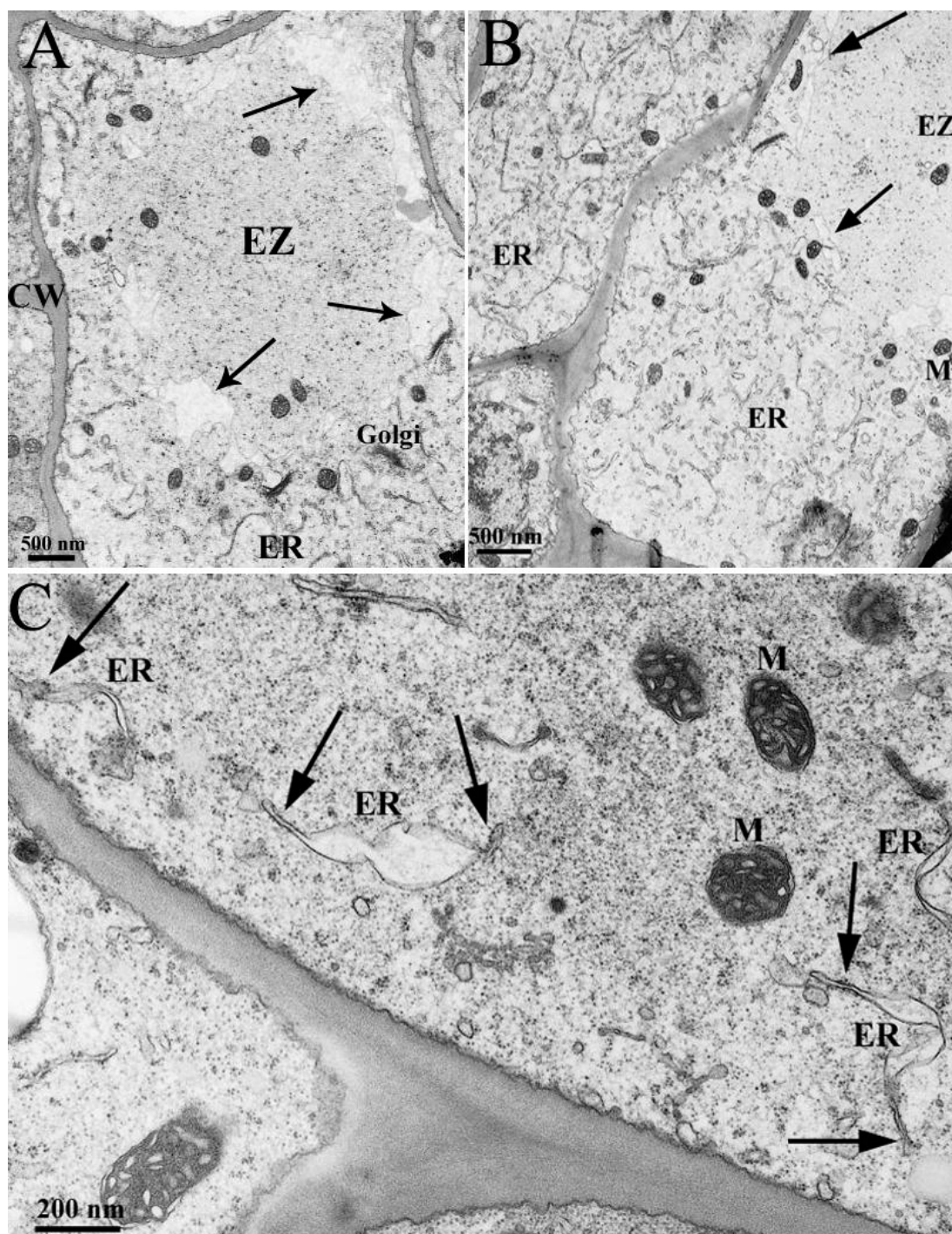
بررسی دقیق برخی از غشاهای اطراف منطقه عاری از اندامک، وجود ریبوزوم‌ها را روی این غشاها و در کناره‌های آنها، در محلی که لومن عریض نشده است، تأیید نمود (شکل ۳C). به این صورت، شبکه آندوپلاسمی را می‌توان به عنوان منشأ غشاهای آرایش یافته در اطراف منطقه عاری از اندامک در سلول‌های کلاهک نخود معرفی نمود. واکوئل تشکیل شده به تدریج به رشد خود ادامه می‌دهد و با کامل شدن رشد سلول‌ها و رسیدن به نواحی پیرامونی کلاهک بخش عمده سلول را به خود اختصاص می‌دهد (شکل ۴). پس از این مرحله، که آخرین مرحله تکوینی است، سلول‌ها از کلاهک جدا می‌شوند.

و نسبت نوکلئوپلاسمی کاهش می‌یابد که نشان‌دهنده افزایش تخصص‌یابی و دور شدن از ویژگی‌های مریستمی است. اندازه آمیلوپلاست‌ها، تعداد دیکتیوزوم‌های گلژی و ضخامت دیواره سلولی به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد، اما در درون آنها نیز واکوئل به چشم نمی‌خورد (شکل ۱B). شبکه آندوپلاسمی با ساختار توبولی-وزیکولی نیز در قطب تحتانی سلول به تدریج گسترش خود را آغاز می‌کند. تولید وزیکول‌ها در اطراف غشاهای شبکه آندوپلاسمی در میکروگراف‌های تهیه شده قابل مشاهده است. ساختارهای ترشحی اطراف شبکه آندوپلاسمی از نقطه نظر چگالی الکترونی متفاوتند و برخی دارای محتوای کاملاً روشن و برخی دیگر به طور مشابه با وزیکول‌های گلژی که در بیوسنتز دیواره دخالت می‌کنند، دارای محتوای تیره‌تر هستند (شکل ۲A). افزایش تعداد دیکتیوزوم‌های گلژی با وزیکول‌های فراوان در اطراف خود مشخصاً به منظور دخالت در افزایش اندازه و ضخامت دیواره سلولی صورت می‌گیرد. غشای پلاسمایی با ساختاری موج‌ج که گویای پیوستن وزیکول‌های ترشحی به این ساختار است، تأییدی بر این مدعا است. در برخی از قسمت‌های غشای پلاسمایی افزوده شدن مواد دیواره‌ای توسط وزیکول‌ها به طور مشخص قابل مشاهده است (شکل ۲B).

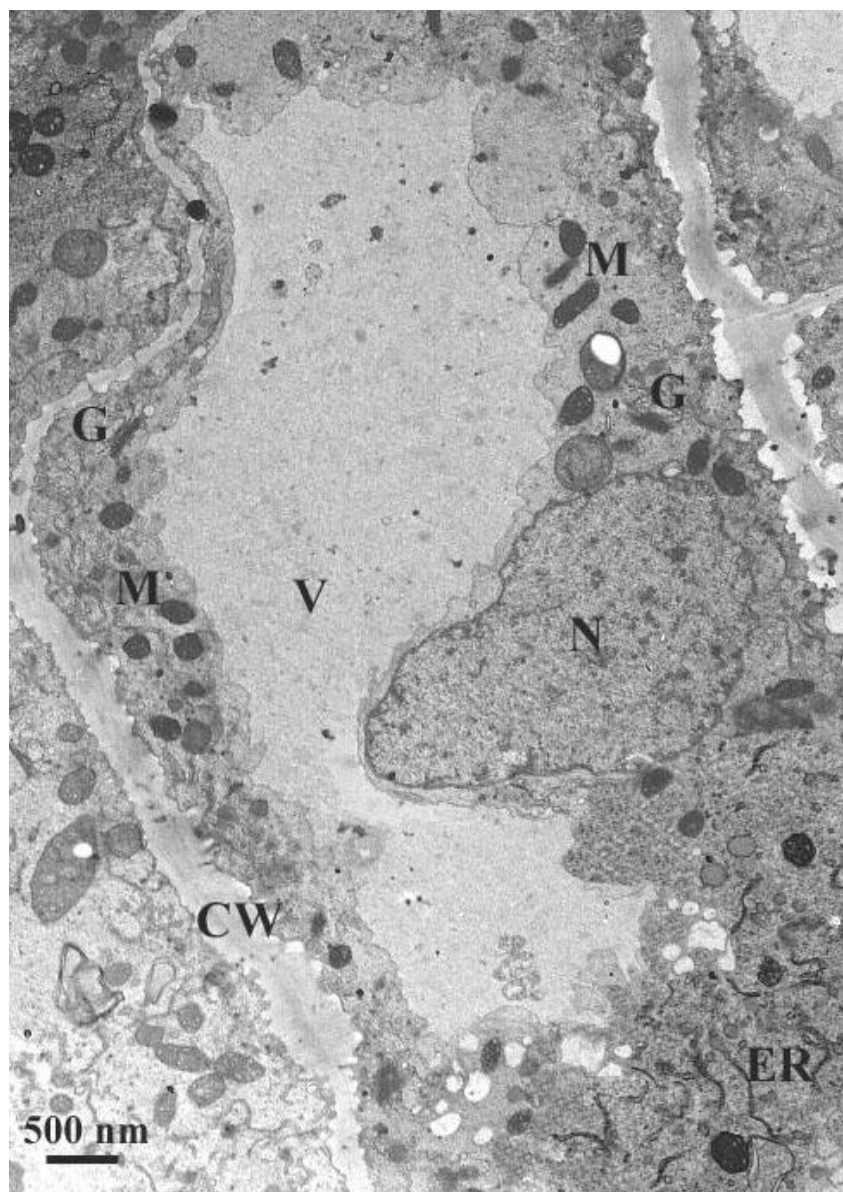
از لایه ششم زیر مریستم به سمت پیرامون، تغییرات بیشتری در سلول‌ها مشاهده می‌شود که در ارتباط با مسن‌تر شدن سلول‌ها و همچنین، تخصص‌یابی آنها برای ترشح است. یکی از مشخص‌ترین تغییرات سلول این است که اندامک‌های موجود در سیتوپلاسم به



شکل ۲- تولید وزیکول‌های ترشحی در سلول‌های کلاهک ریشه. (A) وزیکول‌های در حال تشکیل روی غشاهای شبکه آندوپلاسمی (با پیکان نشان داده شده است)؛ (B) دیکتیوزوم‌های فراوان در مجاورت غشای پلاسمایی. ملحق شدن وزیکول‌های ترشحی به غشای پلاسمایی مشخص است. Amy: آمیلوپلاست؛ CW: دیواره سلولی؛ ER: شبکه آندوپلاسمی؛ M: میتوکندری.



شکل ۳- دخالت غشاهای منشأ گرفته از شبکه آندوپلاسمی در تشکیل واکوئل در سلول‌های ترشحی کلاهک. (A) احاطه شدن منطقه عاری از اندامک توسط تعدادی از غشاها با لومن مشخص (پیکان‌ها)؛ (B) گسترش شبکه آندوپلاسمی در بخش تحتانی سلول‌ها؛ (C) ریبوزوم‌ها روی غشاهای اطراف بخش عاری از اندامک. CW: دیواره سلولی؛ ER: شبکه آندوپلاسمی؛ EZ: منطقه عاری از اندامک؛ M: میتوکندری.



شکل ۴- یک سلول ناحیه پیرامونی کلاهک با واکوئل درشت مرکزی در حال رشد. CW: دیواره سلولی؛ ER: شبکه آندوپلاسمی؛ G: گلژی؛ M: میتوکندری؛ N: هسته؛ V: واکوئل.

بحث

مثال، می‌توان به وجود هسته‌ای نسبتاً درشت در قطب نزدیک، دیواره‌های سلولی نازک دارای پلاسمودسماتای متعدد و آمیلوپلاست‌های فراوان در قطب دور اشاره کرد. با این وجود، تفاوت مهم، متفاوت بودن محل تراکم شبکه آندوپلاسمی و استاتولیت‌هاست. به بیان دیگر، برخلاف آنچه که برای برخی گونه‌های

برخی ویژگی‌های فراساختاری مشاهده شده در مورد سلول‌های ستونک مرکزی کلاهک ریشه گیاهک نخود قابل مقایسه با گزارش‌های پیشین در سایر گونه‌های گیاهی است (Driss-Friedrich and Sievers, 1985؛ Arnaud *et al.*, 2010؛ Ecole *et al.*, 2003).

شکل می‌گیرد. همچنین، گزارش‌هایی در ارتباط با دخالت ساختارهای مجتمع از دستگاه گلژی، شبکه آندوپلاسمی و لیزوزوم‌ها (GERL)، در پیدایش واکوئل وجود دارد (Marty, 1978; Davies *et al.*, 1992). با این حال، در برخی مطالعات نیز شبکه آندوپلاسمی به عنوان منشأ منحصر به فرد واکوئل در نظر گرفته شده است (Amelunxen and Heinze, 1984; Robinson *et al.*, 1995). بنابراین، به نظر می‌رسد در سلول‌های متفاوت گیاهی (حتی بسته به نوع واکوئل) منشأ واکوئل می‌تواند متفاوت باشد (Paris *et al.*, 1996; Marty, 1999; Zouhar and Rojo, 2009). یافته‌های پژوهش حاضر، به طور کاملاً مشخص پیدایش واکوئل را از شبکه آندوپلاسمی در سلول‌های کلاهک ریشه نخود نشان می‌دهد که می‌تواند به عنوان یکی از مکانیسم‌های مطرح شده در نظر گرفته شود. با این حال، مکانیسم پیدایش واکوئل از شبکه آندوپلاسمی در سلول‌های کلاهک ریشه نخود متفاوت از نحوه پیدایش آن در کلاهک ریشه سایر گیاهان تیره بقولات نظیر باقلای مصری سفید (*Lupinus albus* L.) است. در سلول‌های کلاهک ماش تورم قابل ملاحظه لومن شبکه آندوپلاسمی به تشکیل ساختارهای واکوئلی متعدد و درشت منجر می‌شود که قبل از الحاق به همدیگر تا مدتی ارتباط خود را با شبکه آندوپلاسمی حفظ می‌کنند (Mesquita, 1969). شکل‌گیری واکوئل در ریشه نخود با یکی از مکانیسم‌های پیدایش آن در پوسته دانه عدس همخوانی بیشتری دارد (Amelunxen and Heinze, 1984). در این مکانیسم، غشاهای منشأ گرفته از شبکه آندوپلاسمی به هم متصل می‌شوند و به تدریج سیتوپلاسم را از منطقه عاری از اندامک بیرون می‌رانند.

گیاهی نظیر تره تیزک (*Lepidium sativum* L.)، ذرت (*Zea Mays*) و آرابیدوپسیس (*Arabidopsis*) گزارش شده است (Morre, 1986; Sievers *et al.*, 2002; Leitz *et al.*, 2009). شبکه آندوپلاسمی در این گیاه در اطراف استاتولیت‌ها تجمع نمی‌یابد و محل گسترش مجزا و تفکیک شده‌ای را نشان می‌دهد (شکل‌های ۱-۳ و ۲-۳). به این صورت نمی‌توان در سلول‌های مورد مطالعه وظیفه ایجاد بستر برای ته‌نشین شدن استاتولیت‌ها را برای شبکه آندوپلاسمی قایل شد. غشاهای شبکه آندوپلاسمی در سلول‌های مورد مطالعه دارای ساختار وزیکولی-توبولی هستند که متفاوت از شکل سیسترنال گزارش شده برای سلول‌های کلاهک ریشه برخی گیاهان نظیر تره تیزک است (Sievers *et al.*, 2002). این ساختار همسوی با گسترش مکانی متفاوت آنها در مقایسه با استاتولیت‌هاست که پیش از این، به آن اشاره شد. بنابراین، می‌توان گفت که شبکه آندوپلاسمی موجود در استاتوسیت‌های کلاهک ریشه نخود به طور هماهنگ با دیکتیوزوم‌های گلژی در عمل ترشح شرکت می‌نماید. تراکم قابل ملاحظه ساختارهای وزیکولی در اطراف غشاهای شبکه آندوپلاسمی، این مطلب را تأیید می‌کند. از طرف دیگر می‌توان گفت که شبکه آندوپلاسمی منشأ دستگاه واکوئلی در سلول‌های مورد مطالعه است. در برخی مطالعات روی منشأ دستگاه واکوئلی در سلول‌های گیاهی، ساختارهای خاصی به نام پیش‌واکوئل (*provacuole*) را منشأ تشکیل واکوئل ذکر کرده‌اند (Marty 1997; Zouhar and Rojo, 2009). در این حالت، بخش‌هایی از سیتوپلاسم به آرامی توسط ساختارهای پیش‌واکوئلی در بر گرفته می‌شوند و پس از اتوفازی، واکوئل مرکزی از اتصال و رشد این ساختارها

در این حالت غشاهای شبکه آندوپلاسمی دارای ساختار ظریف تر با لومن کمتر گسترش یافته هستند که تا مدت زمان نسبتاً طولانی استقلال ساختاری خود را در اطراف منطقه عاری از اندامک حفظ می‌کنند. از این رو می‌توان گفت که گرچه شبکه آندوپلاسمی منشأ اصلی واکوئل رویشی در سلول‌های گیاهی است، اما مکانیسم‌های متفاوتی در بافت‌های گونه‌های مختلف برای تولید آن وجود دارد.

با توجه به این که واکوئل‌های سلول‌های گیاهی اندامک‌هایی با عملکردهای متعدد هستند و در سلول‌های بالغ و پیر گسترش بیشتری نشان می‌دهند

(Marty, 1997, 1999)، رشد دستگاه واکوئلی را در این سلول‌ها می‌توان به عنوان رسیدن سلول به مراحل نهایی تکوینی در نظر گرفت. به نظر می‌رسد با رشد واکوئل و پیرتر شدن سلول‌ها نسبتاً از تراکم شبکه آندوپلاسمی در قطب تحتانی سلول کاسته می‌شود و فعالیت ترشحی آن علی‌رغم ادامه یافتن تا حدود زیادی تضعیف می‌شود. این سلول‌ها در نهایت، از سطح کلاهک جدا می‌شوند و سلول‌های جوان تر و فعال از نظر ترشحی جایگزین آنها می‌شوند (Arnaud *et al.*, 2010).

and during germination. *European Journal of Cell Biology* 36: 18-24.

Hayatsu, M., Ono, M., Hamamoto, C. and Suzuki, S. (2012) Cytochemical and electron probe X-ray microanalysis studies on the distribution change of intracellular calcium in columella cells of soybean roots under simulated microgravity. *Journal of Electron Microscopy* 61: 57-69.

Iijima, M., Higuchi, T. and Barlow, P. W. (2004) Contribution of root cap mucilage and presence of an intact root cap in maize (*Zea mays*) to the reduction of soil mechanical impedance. *Annals of Botany* 94: 473-477.

Iijima, M., Morita, S. and Barlow, P. W. (2008) Structure and function of the root cap. *Plant Production Science* 11: 17-27.

Kordyum, E. L., Martin, G. I., Zaslavsky, V. A., Jiao, S., Hilaire, E. and Guikema, J. A. (1999) DNA content and differentiation of root apical cells of *Brassica rapa* plants grown in microgravity. *Journal of Gravitational Physiology* 6: 119-120.

Leitz, G., Kang, B. H., Schoenwaelder, M. E. and Staehelin, L. A. (2009) Statolith sedimentation kinetics and force

منابع

- Amelunxen, F. and Heinze, U. (1984) On the development of the vacuole in the testa cells of *Linum* seeds. *European Journal of Cell Biology* 35: 343-354.
- Arnaud, C., Bonnot, C., Desnos, T. and Nussaume, L. (2010) The root cap at the forefront. *Comptes Rendus Biologies* 333: 335-343.
- Barlow, P. W. (2003) The root cap: cell dynamics, cell differentiation and cap Function. *Journal of Plant Growth Regulation* 21: 261-286.
- Blancaflor, E. B. and Masson, P. H. (2003) Plant gravitropism. unraveling the ups and downs of a complex process. *Plant Physiology* 133: 1677-1690.
- Davies, K. L., Davies, M. S. and Francis, D. (1992) Vacuolar development in the root meristem of *Festuca rubra* L. *New Phytologist* 121: 581-585.
- Driss-Ecole, D., Lefranc, A. and Perbal, G. (2003) A polarized cell: the root statocyte. *Physiologia Plantarum* 118: 305-312.
- Friedrich, U. and Sievers, A. (1985) Ontogeny of cell polarity in root statocytes of *Lepidium sativum* L. in developing embryo

- transduction to the cortical endoplasmic reticulum in gravity-sensing *Arabidopsis* columella cells. *Plant Cell* 21: 843-860.
- Marty, F. (1978) Cytochemical studies on GERL, provacuoles, and vacuoles in root meristematic cells of *Euphorbia*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 75: 852-856.
- Marty, F. (1997) The biogenesis of vacuoles: insights from microscopy. In: *Advances in botanical research: the plant vacuole* (eds. Leigh, R. A. and Sanders, D.) 1-42. Academic Press, London.
- Marty, F. (1999) Plant vacuoles. *Plant Cell* 11: 587-600.
- Mesquita, J. F. (1969) Electron microscope study of the origin and development of the vacuoles in root-tip cells of *Lupinus albus*. *Journal of Ultrastructure Research* 26: 242-250.
- Morre, R. (1986) A morphometric analysis of the redistribution of organelles in collumella cells of horizontally oriented roots of *Zea mays*. *Annals of Botany* 57: 119-131.
- Moore, R. and McClelen, C. E. (1985) Changes in the distribution of plastids and endoplasmic reticulum during cellular differentiation in root caps of *Zea mays*. *Annals of Botany* 56: 73-81.
- Nakamura, M., Toyota, M., Tasaka, M. and Morita, M. T. (2011) An *Arabidopsis* E3 ligase, SHOOT GRAVITROPISM9, modulates the interaction between statoliths and F-actin in gravity sensing. *Plant Cell* 23: 1830-1848.
- Palmieri, M. and Kiss, J. Z. (2005) Disruption of the F-actin cytoskeleton limits statolith movement in *Arabidopsis* hypocotyls. *Journal of Experimental Botany* 56: 2539-2550.
- Paris, N., Stanley, C. M., Jones, R. L. and Rogers, J. C. (1996) Plant cells contain two functionally distinct vacuolar compartments. *Cell* 85: 563-572.
- Pimpl, P., Movafeghi, A., Caughlan, S., Denecke, J., Hillmer, S. and Robinson, D. G. (2000) *In situ* localization and *in vitro* induction of plant COPI-coated vesicles. *Plant Cell* 12: 2219-2236.
- Robinson, D. G., Hoh, B., Hinz, G. and Jeong, B. K. (1995) One vacuole or two vacuoles: do protein storage vacuoles arise *de novo* during pea cotyledon development? *Journal of Plant Physiology* 145: 654-664.
- Rost, T. L. (2011) The organization of roots of dicotyledonous plants and the positions of control points. *Annals of Botany* 107: 1213-1222.
- Sievers, A., Braun, M. and Monshausen, G. B. (2002) The root cap: structure and function. In: *Plant roots: the hidden half* (eds. Waisel, Y., Eshel, A., and Kafkafi U.) 51-75. Marcel Dekker Inc, New York.
- Stanga, J., Strohm, A. and Masson, P. H. (2011) Studying starch content and sedimentation of amyloplast statoliths in *Arabidopsis* roots. *Methods in Molecular Biology* 774: 103-111.
- Yoder, T. L., Zheng, H. Q., Todd, P. and Staehelin, L. A. (2001) Amyloplast sedimentation dynamics in maize columella cells support a new model for the gravity-sensing apparatus of roots. *Plant Physiology* 125: 1045-1060.
- Zouhar, J. and Rojo, E. (2009) Plant vacuoles: where did they come from and where are they heading? *Current Opinion in Plant Biology* 12: 677-684.

مطالعه اثر پایه و رقم در فعالیت آنزیم PAL، تولید ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در گل، برگ و میوه گیاه پسته (*Pistacia vera* L.)

نازی نادرزاد^{۱*}، علی احمدی مقدم^۱، سید جواد حسینی فرد^۲ و شهرام پورسیدی^۳

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

^۲ بخش تحقیقات آبیاری و تغذیه، مؤسسه تحقیقات پسته کشور، رفسنجان، ایران

^۳ بخش مهندسی زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

چکیده

در این تحقیق، نمونه برداری از برگ، گل، پوست میوه (در زمان رسیدگی) و مغز دانه با همکاری مرکز تحقیقات پسته از دو پایه اهلی و موتیکا و سه رقم احمد آقایی، اوحدی، کله قوچی انجام شد و نمونه‌ها از نظر فعالیت آنزیم PAL، ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانین‌ها برای تعیین شاخص‌ترین پایه و رقم بررسی شدند. افزایش فعالیت آنزیم PAL، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها و همچنین، همبستگی مثبت بین فعالیت آنزیم و ترکیبات موجود در برگ‌ها و گل‌های پایه موتیکا-احمد آقایی، اثر متقابل این پایه و رقم و مقاومت بیشتر آن نسبت به پایه و رقم‌های دیگر، در تنش‌های محیطی نشان داد. فعالیت آنزیم PAL و محتوای کل فنلی با رسیدگی میوه در نمونه‌ها کاهش یافت، اما سطح بالای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در پوست میوه پسته پتانسیل حفاظتی پوست را در برابر اشعه ماوراءبنفش و آفات نشان می‌دهد که در پایه موتیکا-احمد آقایی بیشترین مقدار آن مشاهده شد. وجود ترکیبات فنلی در مغز دانه به فعالیت PAL بستگی دارد. نتایج، وجود برخی ترکیبات فعال زیستی را در مغز پسته نشان می‌دهد که بیشترین مقدار متعلق به پایه موتیکا-احمد آقایی است. به نظر می‌رسد نوع پایه در محتوای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در مغز پسته مؤثر است.

واژه‌های کلیدی: پایه، پسته، ترکیبات فنلی، تنش محیطی، رقم، فعالیت آنزیم PAL

مقدمه

که در بافت‌های گیاهی به وفور یافت می‌شوند. آنزیم

فنیل آلانین آمونیلایاز (PAL) آغازگر مسیر فنیل

پروپانوئید است که L-فنیل آلانین را با دامیناسیون به

ترانس سینامیک اسید تبدیل می‌کند. این، مسیر اصلی

فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، تانن‌ها، هیدروکسی

سینامیک استرها و لیگنین‌ها از ترکیبات فنلی و جزو

متابولیت‌های ثانویه حاصل از مسیر فنیل پروپانوئید هستند

Ivancheva, 2005). ترکیبات فنلی دارای ویژگی آنتی‌اکسیدانی هستند که با جمع‌آوری و احیای گونه‌های فعال اکسیژن از اکسیداسیون متابولیت‌های حیاتی سلول پیشگیری کرده، مانع بروز تنش اکسیداتیو در سلول‌های گیاه می‌شوند (Rice-Evans *et al.*, 1997; Myung-Min *et al.*, 2009).

پسته، گیاهی است که در شرایط آب و هوای گرم و خشک و نیمه‌کویری ایران به خوبی رشد می‌کند و در مقابل خشکی هوا و کم‌آبی مقاوم است. در ایران ارقام متفاوت پسته وجود دارد که از مهم‌ترین آنها می‌توان به اکبری، کله‌قوچی، احمد آقایی، اوحدی و شاه‌پسند اشاره نمود (شیبانی، ۱۳۷۳). در مناطق پسته‌کاری ایران از سه گونه پسته اهلی، بنه و خنجک به عنوان پایه استفاده می‌شود. این که آیا پایه‌های مختلف در رشد، وضعیت جذب عناصر، مقاومت به شوری و تولید میوه پیوندک را تحت تأثیر قرار می‌دهد یا نه، مسأله انتخاب پایه را به یکی از مهم‌ترین مسائل برای احداث باغ پسته تبدیل نموده است (شیبانی، ۱۳۷۳؛ فرگوسن، ۱۳۷۸). بررسی‌های انجام گرفته در گیاه پسته نشان داده است که پایه‌های مختلف در رشد، وضعیت جذب عناصر، عملکرد، مقاومت به شوری، سرما، تولید میوه پیوندک تأثیر دارند (Kaksa *et al.*, 2002). همچنین، مطالعات پیشین نشان داده‌اند که در پوست میوه پسته ترکیبات فنلی وجود دارد (Goli *et al.*, 2005). ویژگی‌های پایه‌های مختلف می‌تواند در بازده پایه برای ساخت بیشتر هورمون‌های تنشی، پروتئین‌ها و برخی ترکیبات خاص (ترکیبات فنلی) برای مقاومت به تنش‌های محیطی، مؤثر باشد (Satisha *et al.*, 2007). بنابراین، با توجه به اهمیت پایه در تولید

بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در سلول است. این آنزیم کلیدی در تشکیل ترکیبات فنلی (یکی از مکانیسم‌های دفاعی غیر آنزیمی در گیاهان) نقش اساسی داشته، به عنوان یکی از شاخص‌های حساس به تغییرات محیطی و همچنین، یکی از نشانگرهای بیوشیمیایی دفاعی گیاه در برابر تنش‌های محیطی مطرح می‌شود (Boudet, 2007; Vogt, 2010). ترکیبات فنلی در شرایط مطلوب محیطی نیز در سلول‌های گیاهی سنتز می‌شوند، با وجود این، تنش‌های محیطی مختلف مقدار آنها را در سلول تغییر می‌دهند (Kliebenstein, 2004). این ترکیبات از شواهد فیزیولوژیک ارزشمند در تعیین اختلاف واریته‌های مختلف به شمار می‌روند و استفاده از روش‌های بیوشیمیایی در تشخیص تفاوت ژنتیکی رقم‌ها، نقش کلیدی این ترکیبات را در اثر متقابل گیاه و محیط نشان می‌دهد (Tattini *et al.*, 2006). فلاونوئیدها گروه بزرگی از ترکیبات فنلی موجود در گیاهان هستند که در تنش‌های محیطی با افزایش فعالیت آنزیم PAL تولید آنها افزایش می‌یابد (Myung-Min *et al.*, 2009). این ترکیبات با اسکلت ساختمانی اصلی C6-C3-C6 و ایجاد متیلاسیون، گلیکوزیلاسیون و آسیلاسیون گروه‌های متنوع زیادی از جمله چالکون‌ها، فلاون‌ها، فلاونول‌ها، آنتوسیانین‌ها و ... تولید می‌کنند. تشکیل حلقه A و C در ساختمان فلاونوئیدها توسط آنزیم کلیدی چالکون‌سنتاز (CHS) و چالکون ایزومراز (CHI) انجام می‌شود. همچنین، آنزیم دی‌هیدرو فلاونول-ردوکتاز (DFR) واکنش تشکیل آنتوسیانین‌ها را از فلاونول‌ها ایجاد می‌کند (Vogt, 2010). مطالعات انجام شده نقش اکوفیزیولوژی این ترکیبات را در حفاظت از گیاهان در برابر تنش‌های محیطی نشان می‌دهد (Nicolva and

شهریور ماه) و مغز میوه (اواخر شهریور ماه) و در زمان برداشت محصول) انجام شد. نمونه‌های گیاهی به قطعات ریز خرد و پس از منجمد کردن در نیتروژن مایع در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند تا در مراحل بعدی استفاده شوند.

سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز (PAL) (EC 4.3.1.5).

سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز با استفاده از سینامیک اسید تولید شده با روش Wang و همکاران (۲۰۰۶) و بر اساس غلظت و میزان سینامیک اسید تولید شده انجام شد. بدین منظور ۳۰۰ میلی گرم از بافت تر نمونه‌ها با ۶/۵ میلی لیتر بافر تریس HCl⁻ (اسیدیته ۸/۸، ۵۰ میلی مولار) حاوی بتا مرکاپتواتانول (۱۵ میلی مولار) در هاون سرد شده ساییده شد. عصاره به دست آمده با دور ۵۰۰۰g به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ (Eppendorf 5804R Germany) شد. محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده شد. در این روش، از فنیل آلانین به عنوان سوبسترای آنزیمی استفاده و فعالیت آنزیم PAL بر اساس سرعت تشکیل سینامیک اسید تعیین شد. در لوله آزمایش یک میلی لیتری از بافر استخراج به همراه ۰/۵ میلی لیتر L-فنیل آلانین (۱۰ میلی مولار)، ۰/۴ میلی لیتر آب دو بار تقطیر و یک میلی لیتر عصاره آنزیمی مخلوط و به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری شد. واکنش با اضافه کردن ۰/۵ میلی لیتر کلریدریک اسید (۶ مولار) پایان یافت. محصول به وجود آمده با ۱۵ میلی لیتر اتیل استات استخراج و سپس اتیل استات بخار شد. ماده جامد باقیمانده در ۳ میلی لیتر هیدروکسید سدیم (۰/۰۵ مولار) حل شد و غلظت سینامیک اسید با اندازه گیری میزان جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر و با استفاده از

محصول و مقاومت نسبی گیاه پسته در برابر تنش‌های محیطی و همچنین، اهمیت فعالیت آنزیم PAL و ترکیبات فنلی در ایجاد مقاومت گیاهان به تنش‌ها، هدف این پژوهش، بررسی میزان فعالیت آنزیم PAL و تولید ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانینی به عنوان ترکیبات مهم آنتی‌اکسیدانی در سه رقم تجاری (اوحدی، کله قوچی و احمد آقایی) روی دو پایه (اهلی و موتیکا) و مقایسه پایه‌ها در تولید ترکیبات مورد نظر در گل، برگ و پوست میوه رقم‌ها و معرفی بهترین پایه و رقم از نظر تولید این ترکیبات در ایجاد مقاومت به تنش‌های محیطی است. به علاوه، با توجه به اهمیت تجاری و اقتصادی مغز پسته و تأثیر پایه در کیفیت مغز و نقش ترکیبات فنلی (ترکیبات فعال زیستی) مغز پسته در تغذیه انسان، بررسی این ترکیبات در مغز ارقام و پایه‌های مختلف پسته ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها

برای انجام پژوهش، از قطعه باغ پسته‌ای در ایستگاه شماره ۲ مؤسسه تحقیقات پسته کشور واقع در رفسنجان استفاده شد. در این قطعه ارقام تجاری شامل احمد آقایی (*P. vera* cv. Ahmadaghai)، اوحدی (*P. vera* cv. Ohadi) و کله قوچی (*P. vera* cv. Kallehghuchi) پسته روی دپایه مختلف شامل پایه اهلی (*P. vera* cv. Badami riz) و بنه (*P. atlantica* sub sp. *mutica*) پیوند شده است. سن درختان در زمان نمونه برداری حدود ۱۵ سال بود. فاصله درختان روی ردیف ۴ متر و فاصله بین ردیف درختان ۷ متر بود. نمونه برداری از گل (در فروردین ماه)، برگ (در تیر ماه)، پوست میوه در سه مرحله پوست سبز (تیر ماه)، پوست سبز قرمز (مرداد ماه)، پوست قرمز (اوایل

به ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رویی ۷۵۰ میکرولیتر معرف فولین افزوده، مخلوط حاصل به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس ۷۵۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۶ درصد به آن اضافه شد. پس از ۹۰ دقیقه، جذب هر نمونه در طول موج ۷۲۵ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت ترکیبات فنلی کل با استفاده از گالیک اسید منحنی استاندارد رسم شد و غلظت ترکیبات فنلی بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر گزارش شد.

سنجش فلاونوئیدهای کل

سنجش فلاونوئیدهای کل با روش آلومینیوم کلرید کالریمتری Zhishen و همکاران (۱۹۹۹) انجام شد. ۰/۱ گرم از نمونه‌های گیاهی در ۱۰ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد به خوبی ساییده، عصاره حاصل در دور ۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد. محلول رویی برای آزمایش‌های بعدی استفاده شد. ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره با آب مقطر به حجم ۵ میلی لیتر رسانیده شد. ۳۰۰ میکرولیتر سدیم نیتريت ۵ درصد پس از ۵ دقیقه، ۶۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد به محلول اضافه شد. پس از ۶ دقیقه ۲ میلی لیتر هیدروکسید سدیم یک مولار به همراه ۲ میلی لیتر آب مقطر به محلول اضافه شد. شدت جذب محلول در طول موج ۵۱۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت فلاونوئیدهای کل با استفاده از روتین منحنی استاندارد رسم شد و غلظت فلاونوئیدها بر حسب میلی گرم روتین (کوئرستین ۳-روتینوزید) در ۱۰۰ گرم وزن تر ارایه شد.

سنجش آنتوسیانین

از روش Wagner (۱۹۷۹) برای اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین نمونه‌ها استفاده شد. ۰/۱ گرم از نمونه گیاهی را در هاون چینی با ۱۰ میلی لیتر متانول اسیدی

فرمول $A = \varepsilon bc$ به دست آمد و ضریب خاموشی معادل $9500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ در نظر گرفته شد. یک واحد از فعالیت PAL معادل یک میکرومول از سینامیک اسید تولید شده در یک دقیقه است.

سنجش مقدار پروتئین

برای سنجش مقدار پروتئین، ابتدا پروتئین‌ها از نمونه‌های گیاهی در دمای صفر تا ۴ درجه سانتیگراد استخراج شدند. به این منظور یک گرم بافت تر در یک هاون چینی محتوای ۳ میلی لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با اسیدیته ۷/۲ ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ یخچال‌دار در ۱۴۰۰g و دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار گرفت. از محلول رویی برای سنجش پروتئین استفاده شد. سنجش مقدار پروتئین با روش Bradford (۱۹۷۶) انجام شد. به این منظور، به لوله‌های آزمایش مقدار ۰/۱ میلی لیتر عصاره پروتئینی و ۵ میلی لیتر معرف بیوره افزوده، سریعاً مخلوط شد. پس از ۲ دقیقه و پیش از یک ساعت جذب آنها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد و غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد آلومن گاوی محاسبه و بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد.

سنجش ترکیبات فنلی کل

سنجش محتوای ترکیبات فنلی کل با روش Velioğlu و همکاران (۱۹۹۸) انجام شد. ۰/۱ گرم از نمونه‌ها با ۵ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد حاوی کلریدریک اسید یک درصد ساییده، به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق روی شیکر عصاره‌گیری کامل شد. سپس، مخلوط حاصل در ۳۰۰۰g سانتریفیوژ و از محلول رویی برای تعیین ترکیبات فنلی کل استفاده شد.

مقایسه میانگین های اثر متقابل پایه و رقم بر ترکیبات فنلی کل، بیانگر این است که در سطح احتمال ۱ درصد مقدار این ترکیبات در گل های موتیکا-احمد آقایی و اهلی-اوحدی به بیشترین میزان خود رسید، در حالی که بیشترین مقدار ترکیبات فنلی کل برگ در موتیکا-احمد آقایی و در اهلی-کله قوچی تولید شده است. به بیان دیگر، بالاترین مقدار این ترکیبات در برگ ها و گل های پایه موتیکا و رقم احمد آقایی نسبت به سایر پایه ها و رقم ها مشاهده شد (شکل ۱).

مقایسه میانگین های اثر متقابل پایه و رقم بر ترکیبات فلاونوئیدی نشان داد که در سطح احتمال ۱ درصد بیشترین مقدار فلاونوئید کل در گل های اهلی-اوحدی و در برگ های موتیکا-احمد آقایی وجود دارد. همچنین، مقایسه میانگین های اثر متقابل پایه و رقم در محتوای آنتوسیانین در برگ ها و گل ها حکایت از وجود بیشترین مقدار آن در پایه اهلی و رقم اوحدی داشت (شکل ۲).

بررسی ضرایب همبستگی صفات مورد مطالعه نشان داد که در گل، همبستگی مثبت بین فعالیت آنزیم PAL و ترکیبات فنلی کل با ضریب $(r=0/96^{**})$ و فعالیت آنزیم PAL و فلاونوئیدها با ضریب $(r=0/98^{**})$ وجود دارد. همچنین، در برگ همبستگی مثبت بین فعالیت آنزیم PAL و ترکیبات فنلی کل با ضریب $(r=0/97^{**})$ و فعالیت آنزیم PAL و فلاونوئیدها با ضرایب $(r=0/94^{**})$ دیده شد. اگر چه همبستگی بین محتوای آنتوسیانین و فعالیت PAL در پایه موتیکا منفی $(r=0/98^{**})$ و در پایه اهلی مثبت $(r=0/95^{**})$ بود.

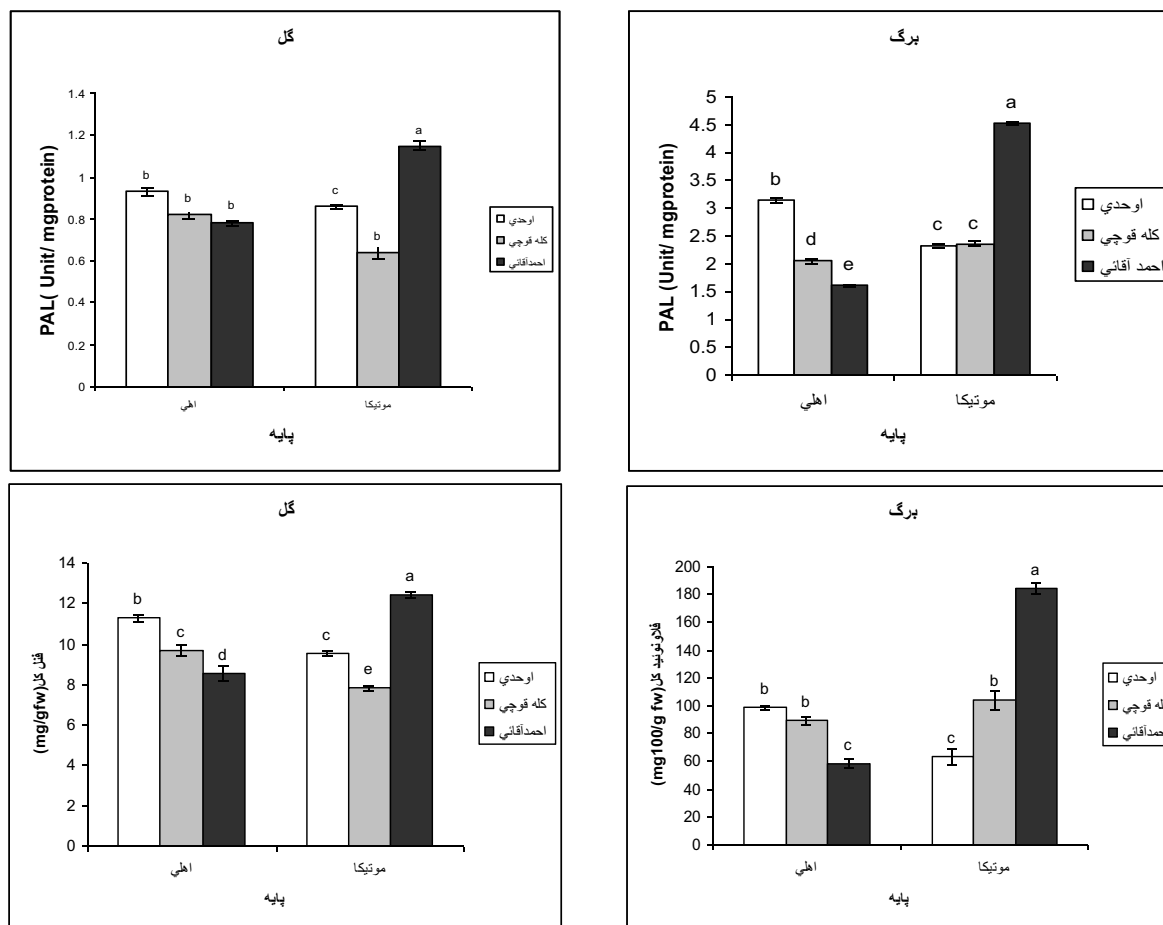
(متانول خالص و کلریدریک اسید خالص به نسبت حجمی ۱:۹۹) کاملاً ساییده و عصاره در لوله های آزمایش سرپیچ دار ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرار گرفت. سپس، به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰g سانتریفیوژ و جذب محلول بالایی در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه گیری شد. محاسبه غلظت با استفاده از فرمول $A=\epsilon bc$ و ضریب خاموشی $M^{-1}cm^{-1}$ ۳۳۰۰۰ انجام و نتایج بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر ارایه شد.

تحلیل داده ها

بررسی پایه و رقم و اثر متقابل آنها روی صفات مورد مطالعه در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۳ تکرار و به صورت اسپلیت پلات (split plot) انجام شد. در این پژوهش، رقم به عنوان عامل اصلی و پایه به عنوان عامل فرعی انتخاب شد. تحلیل داده ها با نرم افزار SPSS نسخه ۱۲ انجام شد و میانگین های حاصل با استفاده از آزمون دانکن با اطمینان ۹۵ و ۹۹ درصد مقایسه و نمودارها با نرم افزار Excel رسم شد.

نتایج

مقایسه میانگین های اثر متقابل پایه و رقم بر فعالیت آنزیم PAL نشان داد که در سطح احتمال ۱ درصد بیشترین مقدار این آنزیم در گل های موتیکا-احمد آقایی تولید شده است. گر چه فعالیت این آنزیم در گل های سه رقم مورد مطالعه در پایه اهلی تفاوت معنی داری نشان نداد. در حالی که فعالیت این آنزیم در برگ های موتیکا-احمد آقایی و اهلی-اوحدی بیشترین مقدار بود (شکل ۱).



شکل ۱-فعالیت آنزیم PAL و ترکیبات فنلی کل در گل و برگ دو پایه و سه رقم اوحدی، کله قوچی و احمد آقایی. مقادیر میانگین ۳ تکرار \pm SE. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح $P \leq 0.01$ است.

سیر نزولی این صفت در هر سه مرحله، مقادیر متفاوتی از آن در دو پایه مورد مطالعه وجود داشت. به علاوه، بررسی محتوای آنتوسیانین سیر صعودی مقادیر این صفت را به ترتیب از مرحله سبز تا قرمز نشان داد که بیشترین مقدار آن متعلق به اهلی-اوحدی بود (جدول‌های ۱، ۲ و ۳).

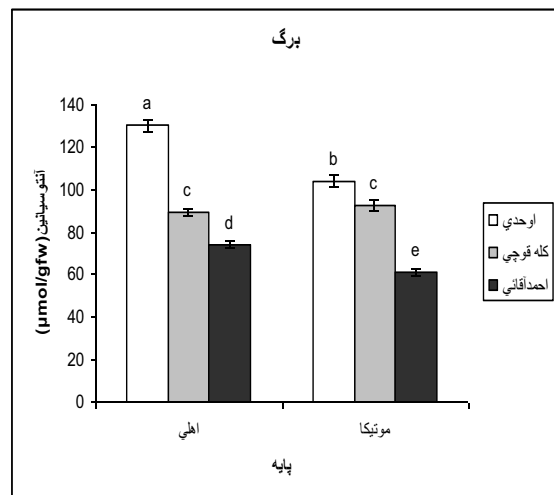
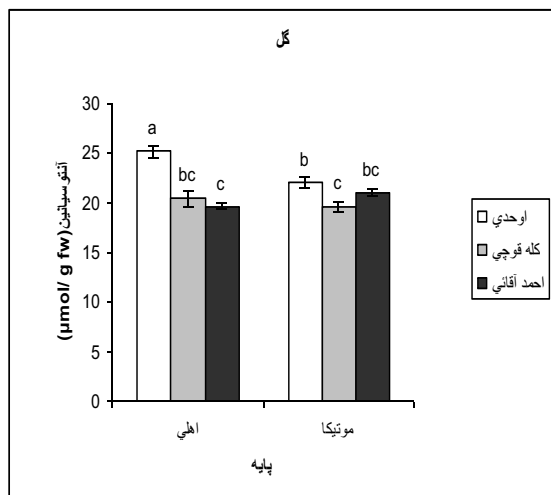
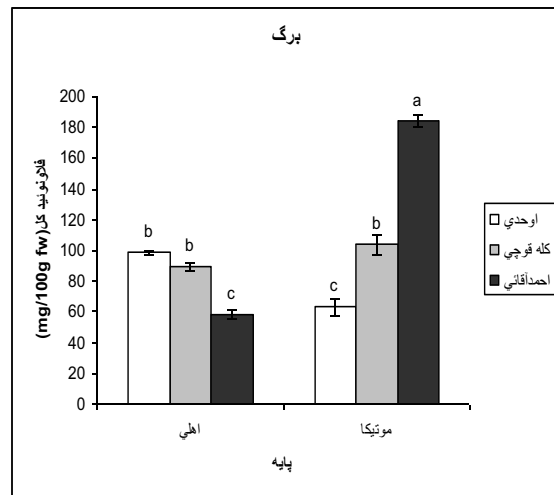
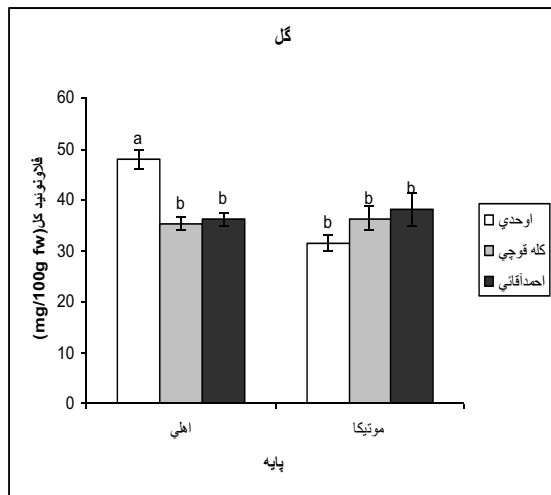
مقایسه میانگین‌های اثر متقابل پایه و رقم بر فعالیت آنزیم PAL، ترکیبات فنلی کل، فلاونوئیدهای کل و آنتوسیانین نشان داد که در سطح احتمال ۱ درصد بیشترین مقدار در فعالیت آنزیم PAL، ترکیبات فنلی کل در مغز دانه موتیکا-احمد آقایی وجود داشت که حکایت از

مقایسه میانگین‌های اثر متقابل پایه و رقم بر فعالیت آنزیم PAL و ترکیبات فنلی کل در پوست میوه (سه مرحله: پوست سبز، پوست سبز-قرمز، پوست قرمز) و مغز دانه نشان داد که در سطح احتمال ۱ درصد در هر مرحله بیشترین میزان فعالیت آنزیم و ترکیبات فوق به موتیکا-احمد آقایی و اهلی-اوحدی تعلق داشت و حکایت از سیر نزولی مقادیر فعالیت آنزیم PAL و ترکیبات فنلی کل به ترتیب از مرحله پوست سبز (جدول ۱)، پوست سبز-قرمز (جدول ۲) و پوست قرمز (جدول ۳) در طول دوره رسیدگی میوه داشت.

بررسی فلاونوئیدها در پوست نشان داد علی‌رغم

فلاونوئیدی در مغز دانه متعلق به موتیکا-احمد آقایی و اهلی-کله قوچی بود و بیشترین مقدار محتوای آنتوسیانینی در اهلی-اوحدی به دست آمد (جدول ۴).

وجود بیشترین مقدار این ترکیبات در موتیکا-احمد آقایی داشت و پایه اهلی و رقم اوحدی در رتبه پس از آن قرار گرفت (جدول ۴). همچنین، بیشترین مقدار ترکیبات



شکل ۲- ترکیبات فلاونوئیدی کل، محتوای آنتوسیانین در دو پایه و سه رقم اوحدی، کله قوچی و احمد آقایی. مقادیر میانگین \pm تکرار ۳ SE حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح $P \leq 0.01$ است

بحث

خاستگاه ژنتیکی متفاوت روی الگوهای آیزوزیمی آنزیم‌های موجود در تنش اکسیداتیو در پیوندهای گیاه هوآ (*Hevea sp.*) نقش دارند. گزارش‌ها گویای آن است که پایه‌های متفاوت عناصر ویژه‌ای را ترجیح می‌دهند که می‌توانند در ساخت ترکیبات ویژه در انواع تنش‌ها مؤثر باشد به طوری که عناصر غذایی کم مصرف

مطالعات نشان می‌دهد در گیاهان پایه و پیوند آسیب اکسیداتیو کمتر و سطح پایین ROS ناشی از وجود ترکیبات و آنزیم‌هایی با خاصیت خورندگی ROS است (Martínez-Ballesta *et al.*, 2010). Sobhana و همکاران (۲۰۰۰) مشاهده کرده‌اند که پایه‌هایی با

Cheng و همکاران (۲۰۰۵) نشان داده‌اند که آنزیم PAL در تشکیل فلاونوئیدها اثر مستقیم دارد و طول موج‌های بلند نور فعالیت PAL و CHS (نخستین آنزیم در مسیر بیوسنتزی فلاونوئیدها) و تجمع فلاونوئیدها را افزایش می‌دهد. همچنین، گیاهان جهش‌یافته‌ای که فاقد ژن‌های آنزیم CHS هستند قادر به تجمع فلاونوئیدها نبوده، نسبت به تنش اکسیداتیو حساس هستند (Shao *et al.*, 2007). در این مطالعه، وجود بیشترین میزان فعالیت PAL و فلاونوئید کل و همچنین همبستگی مثبت بین فعالیت این آنزیم و فلاونوئید کل در برگ‌های پایه موتیکا-احمد آقایی نسبت به پایه اهلی و رقم‌های مورد مطالعه نشان داد، بر اساس وجود فرضیه عمل حفاظتی فلاونوئیدها در برابر تنش‌ها و نقش آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات در افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌ها (Shao *et al.*, 2007)، به نظر می‌رسد تجمع فلاونوئیدها در برگ‌های پایه موتیکا-احمد آقایی نسبت به گیاهان دیگر می‌تواند به مقاومت بیشتر این گیاه در برابر تنش‌ها کمک کند. Rodríguez و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کرده‌اند در گوجه گیلاسی افزایش ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و ظرفیت القا مقاومت پایه نسبت به تنش‌ها، به ژنوتیپ اندام‌های هوایی بستگی دارد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد پایه اهلی-اوحدی از نظر مقدار ترکیبات فنلی و فعالیت PAL در گل و برگ پس از پایه موتیکا-احمد آقایی در رتبه دوم قرار دارد و فقط در مقدار فلاونوئیدهای گل در پایه اهلی-اوحدی بیشترین مقدار را نشان داد که به نظر می‌رسد در این گیاه افزایش مقدار فلاونوئیدها می‌تواند به ژنوتیپ رقم مرتبط باشد.

به صورت کوفاکتور در ساختن ترکیبات بیوشیمیایی مانند آنزیم‌های گوناگون، هورمون‌های گیاهی، پروتئین‌ها و به ویژه ترکیبات فنلی در گیاهان شرکت می‌کنند (Sobhana *et al.*, 2000; Satisha *et al.*, 2007) و He (2007) و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند اختلاف در ژنوتیپ پایه و نوع آن در مقاومت گیاه به تنش محیطی مؤثر است. به علاوه، گزارش‌ها همبستگی بین فعالیت آنزیم PAL و تجمع ترکیبات فنلی در برگ‌های هیبرید گیاه ذرت در تنش خشکی و فعالیت دفاعی این ژنوتیپ را در مقاومت به خشکی نشان می‌دهد (Hura *et al.*, 2008). در این تحقیق فعالیت بالای آنزیم PAL و ترکیبات فنلی و همچنین همبستگی مثبت بین فعالیت این آنزیم و فنل کل در برگ‌ها و گل‌های پایه موتیکا-احمد آقایی نسبت به پایه اهلی و دیگر رقم‌ها می‌تواند اثر متقابل این پایه و رقم در مقاومت بیشتر در برابر تنش‌های محیطی نسبت به پایه اهلی و رقم‌های دیگر را آشکار سازد. Orazem و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند ژنوتیپ پایه در تولید مقدار و نوع ترکیبات فنلی مؤثر است. همچنین، گزارش‌ها نشان می‌دهد که ترکیبات فنلی در مهار و کاهش اتواکسیداسیون لیپیدها و خاموش کردن اکسیژن یکتایی، به عنوان آنتی‌اکسیدان ضروری برای دفاع در برابر گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) عمل می‌نمایند (Ksouri *et al.*, 2007). بر اساس نتایج موجود به نظر می‌رسد مقاومت بیشتر پایه موتیکا-احمد آقایی با افزایش فعالیت سطح PAL و ترکیبات فنلی کل که به عنوان آنتی‌اکسیدان ضروری برای حفاظت در برابر ROS است، می‌تواند با تفاوت ژنتیکی دو پایه مشخص شود.

جدول ۱- مقادیر میانگین صفات مورد مطالعه با ۳ تکرار \pm SE در پوست سبز پسته (تیر ماه). حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح $P \leq 0.01$ است.

پایه - رقم	PAL (U/mg protein)	ترکیبات فنلی (mg/gfw)	فلاونوئید کل (mg/100gfw)	آنتوسیانین (μ mol/gfw)
موتیکا-اوحدی	۱/۸۶ \pm ۰/۰۲ ^b	۲۸/۶۸ \pm ۰/۳۲ ^c	۳۸/۹۰ \pm ۰/۱ ^a	۷/۰۵ \pm ۰/۱۳ ^b
موتیکا-کله قوچی	۲/۱۵ \pm ۰/۰۲ ^a	۲۹/۴ \pm ۰/۶ ^c	۳۲/۸۷ \pm ۰/۱۶ ^c	۷/۲۷ \pm ۰/۱ ^a
موتیکا-احمد آقایی	۲/۳۱ \pm ۰/۰۵ ^a	۳۹/۱۲ \pm ۰/۲۸ ^a	۳۰/۳۳ \pm ۰/۱۴ ^d	۶/۵۱ \pm ۰/۰۷ ^c
اهلی-اوحدی	۱/۸۲ \pm ۰/۰۵ ^b	۳۶/۱۳ \pm ۰/۲۸ ^b	۳۶/۲۰ \pm ۰/۱۹ ^b	۷/۶۶ \pm ۰/۰۲ ^a
اهلی-کله قوچی	۱/۵۶ \pm ۰/۰۱ ^c	۲۹/۸۲ \pm ۰/۲۱ ^c	۳۲/۶۷ \pm ۰/۲۵ ^c	۷/۳۵ \pm ۰/۰۵ ^{ab}
اهلی-احمد آقایی	۱/۳۸ \pm ۰/۰۳ ^d	۲۸/۸۶ \pm ۰/۳۲ ^c	۳۵/۶۸ \pm ۰/۱۶ ^b	۶/۱۰ \pm ۰/۰۷ ^d

جدول ۲- مقادیر، میانگین صفات مورد مطالعه با ۳ تکرار \pm SE در پوست سبز قرمز پسته (مرداد ماه). حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح $P \leq 0.01$ است.

پایه - رقم	PAL (U/mg protein)	ترکیبات فنلی (mg/gfw)	فلاونوئید کل (mg/100gfw)	آنتوسیانین (μ mol/gfw)
موتیکا-اوحدی	۱/۷۴ \pm ۰/۰۲ ^a	۲۶/۸۶ \pm ۰/۳۲ ^b	۳۰/۹۰ \pm ۰/۱۴ ^c	۱۷/۰۵ \pm ۰/۱۳ ^d
موتیکا-کله قوچی	۱/۴۳ \pm ۰/۰۳ ^b	۲۴/۲ \pm ۰/۳۱ ^c	۳۴/۹۷ \pm ۰/۱۶ ^b	۱۷/۷۵ \pm ۰/۱ ^c
موتیکا-احمد آقایی	۱/۷۹ \pm ۰/۰۵ ^a	۲۹/۳۲ \pm ۰/۳۸ ^a	۲۸/۳۰ \pm ۰/۱۴ ^e	۱۶/۶۵ \pm ۰/۱۶ ^e
اهلی-اوحدی	۱/۵۸ \pm ۰/۰۳ ^c	۲۴/۴۸ \pm ۰/۲۲ ^c	۲۸/۱۲ \pm ۰/۳۲ ^e	۲۰/۲۴ \pm ۰/۱۴ ^a
اهلی-کله قوچی	۱/۴۵ \pm ۰/۰۳ ^b	۲۴/۲۱ \pm ۰/۲۳ ^c	۳۱/۰۲ \pm ۰/۲۱ ^d	۱۸/۸۲ \pm ۰/۱۵ ^b
اهلی-احمد آقایی	۱/۲۸ \pm ۰/۰۱ ^d	۱۸/۷۱ \pm ۰/۱۸ ^d	۳۹/۴۱ \pm ۰/۲۴ ^a	۱۷/۷۳ \pm ۰/۱ ^c

جدول ۳- مقادیر، میانگین صفات مورد مطالعه با ۳ تکرار \pm SE در پوست قرمز پسته (اوایل شهریور ماه). حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح $P \leq 0.01$ است.

پایه - رقم	PAL (U/mg protein)	ترکیبات فنلی (mg/gfw)	فلاونوئید کل (mg/100gfw)	آنتوسیانین (μ mol/gfw)
موتیکا-اوحدی	۱/۵۲ \pm ۰/۰۳ ^b	۲۴/۷۸ \pm ۰/۱۷ ^a	۱۹/۸۹ \pm ۰/۱۲ ^f	۳۵/۸۷ \pm ۰/۳۸ ^a
موتیکا-کله قوچی	۱/۴۲ \pm ۰/۰۵ ^c	۲۳/۱۷ \pm ۰/۳ ^b	۲۲/۵۰ \pm ۰/۱۵ ^d	۲۲/۲۳ \pm ۰/۱۴ ^d
موتیکا-احمد آقایی	۱/۶۷ \pm ۰/۰۲ ^a	۲۴/۶۴ \pm ۰/۳۴ ^a	۵۲/۴۰ \pm ۰/۵۱ ^a	۲۱/۳۷ \pm ۰/۱۲ ^e
اهلی-اوحدی	۱/۴۶ \pm ۰/۰۲ ^c	۲۲/۷۵ \pm ۰/۲۴ ^c	۲۱/۳۰ \pm ۰/۳۱ ^e	۲۹/۵۶ \pm ۰/۲۰ ^b
اهلی-کله قوچی	۱/۳۴ \pm ۰/۰۳ ^d	۲۰/۷۱ \pm ۰/۱۱ ^d	۳۰/۵۷ \pm ۰/۲۷ ^c	۲۴/۸۵ \pm ۰/۱۴ ^c
اهلی-احمد آقایی	۱/۱۲ \pm ۰/۰۱ ^e	۱۵/۰۷ \pm ۰/۱۵ ^e	۳۸/۲۸ \pm ۰/۱۵ ^b	۱۹/۶۶ \pm ۰/۱۹ ^f

جدول ۴- مقادیر، میانگین صفات مورد مطالعه با ۳ تکرار \pm SE در دانه (اواخر شهریور ماه). حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دارد در سطح $P \leq 0.01$ است.

پایه-رقم	PAL (U/mg protein)	ترکیبات فنلی (mg/gfw)	فلاونوئید کل (mg/100gfw)	آنتوسیانین ($\mu\text{mol/gfw}$)
موتیکا-اوحدی	0.91 ± 0.04^a	3.40 ± 0.01^a	12.34 ± 0.04^d	7.34 ± 0.08^a
موتیکا-کله‌قوچی	0.81 ± 0.03^b	1.88 ± 0.05^d	12.98 ± 0.01^c	5.44 ± 0.07^d
موتیکا-احمد آقایی	0.93 ± 0.04^a	3.44 ± 0.02^a	15.24 ± 0.05^a	6.22 ± 0.05^{bc}
اهلی-اوحدی	0.92 ± 0.02^a	2.96 ± 0.03^b	13.72 ± 0.05^b	7.66 ± 0.01^a
اهلی-کله‌قوچی	0.84 ± 0.01^b	2.91 ± 0.08^b	12.24 ± 0.04^d	6.50 ± 0.10^b
اهلی-احمد آقایی	0.46 ± 0.01^c	2.37 ± 0.08^c	10.23 ± 0.01^e	5.94 ± 0.11^c

گزارش‌های متعدد نشان می‌دهد که گرچه فعالیت PAL برای ساختن آنتوسیانین‌ها الزامی است، اما در مسیر بیوسنتز سینامیک اسید ممکن است به ترکیبات فنلی دیگر نظیر فلاونوئیدها، تانن‌ها و ... تبدیل شود (Lister *et al.*, 1996). همچنین، در گیاه سیب آنتوسیانین‌ها به طور غیر وابسته به فعالیت PAL می‌توانند تجمع یابند و محتوای آنتوسیانین و ترکیبات فنلی به ژنوتیپ گیاه وابسته است (Hamouz *et al.*, 2007; Feng *et al.*, 2008). نتایج این بررسی همبستگی منفی بین فعالیت PAL و محتوای آنتوسیانین در برگ‌ها و گل‌های پایه موتیکا-احمد آقایی را نشان داد که به نظر می‌رسد آنزیم PAL در تشکیل ترکیبات فنلی در پایه موتیکا-احمد آقایی تأثیر بیشتری تا تشکیل آنتوسیانین‌ها دارد و این آنزیم به تنهایی قادر به تشکیل ترکیبات آنتوسیانینی نخواهد بود. همچنین، شایان ذکر است همبستگی مثبت بین آنتوسیانین و فعالیت آنزیم PAL در پایه اهلی-اوحدی، نشان‌دهنده نقش آنتی‌اکسیدانی آنتوسیانین‌ها در تنش‌های محیطی و در این پایه و پیوند است.

گزارش شده است آنزیم PAL در بیوسنتز ترکیبات فنلی میوه‌ها نقش کلیدی داشته، در مراحل نخستین رشد

باعث تجمع این ترکیبات در این اندام می‌شود. فعالیت این آنزیم و ایجاد ترکیبات فنلی در پوست میوه بیش از سایر قسمت‌های داخلی میوه گزارش شده است (Montero *et al.*, 1996). طی مراحل رسیدگی میوه فعالیت آنزیم PAL و محتوای ترکیبات فنلی کل به تدریج کاهش می‌یابد که این کاهش بستگی به تغییرات آنزیمی و شیمیایی موجود در مراحل رشد و نمو در اندام مورد نظر دارد (Ding *et al.*, 2001; Remorini *et al.*, 2008). بررسی‌های دیگر نشان داده است که نوع پایه نقش مهمی در محتوای پلی‌فنلی در میوه هلو (Kubota *et al.*, 2001) و گیلاس (Jakobek *et al.*, 2009) دارد. در نتایج حاصل از این پژوهش مشاهده شد که بیشترین فعالیت آنزیم PAL و ترکیبات فنلی در پوست میوه پایه موتیکا-احمد آقایی وجود دارد. بررسی میوه پسته در رقم‌ها و دو پایه مورد مطالعه نشان داد که مراحل رسیدگی میوه در فعالیت آنزیم PAL، محتوای کل فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانینی مؤثر است. فعالیت این آنزیم و محتوای کل فنلی با رسیدگی میوه در هر سه رقم و دو پایه کاهش یافت. Arcas و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کرده‌اند وجود غلظت بالای

فلاونوئیدها در برخی تنش‌ها غیر القایی است و می‌تواند ناشی از هیدرولیز حالت‌های الحاقی این ترکیبات و یا تشکیل آنها از مسیرهای غیر معمول باشد (Michalak, 2006; Parry *et al.*, 1994). در بررسی نتایج حاصل از این تحقیق به نظر می‌رسد، اگر چه در پوست پسته در مراحل مختلف و در رقم‌های متفاوت هماهنگی بین تشکیل ترکیبات فنلی و فعالیت PAL دیده شد، ولی در برخی از آنها به طور مثال در پایه اهلی - احمد آقایی (پوست سبز و قرمز)، افزایش ترکیبات فلاونوئیدی علی‌رغم کاهش در حوضچه ترکیبات فنلی می‌تواند به علت تشکیل فلاونوئیدها از مسیرهای دیگر یا تبدیل ترکیبات فنلی توسط آنزیم‌های انتهایی مسیر به فلاونوئیدها و تجزیه شکل‌های غیر فعال فلاونوئیدی به شکل‌های فعال باشد. همچنین، با بررسی نتایج به نظر می‌رسد با مقایسه دو پایه موتیکا، اهلی و رقم احمد آقایی اختلاف در فعالیت آنزیم PAL در دو پایه مورد مطالعه دور از انتظار نیست و همبستگی بین فعالیت این آنزیم و ترکیبات فنلی هم وجود دارد. ولی تغییر در مقدار ترکیبات فلاونوئیدی و آنتوسیانینی در دو پایه را با فعالیت آنزیم‌های مختلف در انتهای مسیر بیوسنتزی و تشکیل اشکال مختلف ترکیبات توجه کرد که به تفاوت منشأ ژنتیکی پایه‌ها ارتباط دارد و پژوهش‌های دیگری را می‌طلبد.

بررسی‌های دیگر، وجود ترکیبات فنلی (فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها) در مغز پسته و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات را گزارش کرده است (Silva *et al.*, 2007; Ballistreri *et al.*, 2009). همچنین، بررسی‌ها نشان داده است که پایه در محتوای ترکیبات فنلی و کیفیت میوه گیلاس (Martínez-Ballesta *et al.*, 2010) و محتوای غذایی مغز پسته

ترکیبات فنلی در پوست میوه سد مناسبی برای دفع حمله آفت‌هاست. مقادیر پایین آفلاتوکسین در مغز پسته دانه‌های دارای پوست در مقایسه با دانه‌های پوست کنده شده، احتمالاً نتیجه اثر بازدارندگی پوست در حمله آفلاتوکسین است (Doster and Michailides, 1995). همچنین، گزارش‌ها گویای آن است که فلاونوئیدها در لایه اپیدرمی می‌توانند همانند یک لایه ممانعت‌کننده در برابر تشعشعات مضر خورشید عمل کنند (Reyes-Carmona *et al.*, 2005). گزارش‌های متعدد وجود ترکیبات فنلی را در پوست پسته و مقدار بالای این ترکیب در پوست نسبت به دانه را نشان می‌دهد (Tomaino *et al.*, 2010). نتایج حاصل از تحقیق، وجود سطح بالای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی را در پوست میوه پسته نشان می‌دهد که به نظر می‌رسد در این پایه و رقم نسبت به دیگر گیاهان مورد مطالعه، پوست میوه پسته با داشتن ترکیبات فنلی به عنوان لایه حفاظتی در برابر اشعه UV و حمله آفات گیاهی پتانسیل حفاظتی بیشتری را دارد.

Orazem و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند با افزایش رشد و نمو میوه، مقدار فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها نیز افزایش می‌یابد که افزایش و تغییر در میزان محتوای آنتوسیانینی به نوع رقم، مراحل بلوغ و همچنین، منشأ ژنتیکی پایه یا به عبارتی قدرت پایه بستگی دارد. به نظر می‌رسد، افزایش محتوای آنتوسیانینی پوست در پایه موتیکا - احمد آقایی و پایه اهلی - اوحدی با رسیدگی میوه، نشانگر تغییرات بیوشیمیایی و آنزیمی در مراحل رسیدگی میوه است که با وجود بیشترین محتوای آنتوسیانینی در پایه اهلی - اوحدی، با ویژگی‌های ژنتیکی رقم می‌تواند توجه شود.

گزارش‌های موجود بیان می‌کند که افزایش غلظت

پایه می‌تواند در ایجاد مقاومت به تنش‌های محیطی مؤثر باشد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد پایه موتیکا-احمد آقایی دارای مقادیر بالای فعالیت PAL، ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی در برگ و گل است و می‌تواند به عنوان پایه مقاوم در تنش‌های محیطی معرفی شود. بررسی میوه پسته و به ویژه مغز آن که از نظر تجاری اهمیت دارد، نشان داد وجود مقادیر بالای ترکیبات فنلی در پوست در جلوگیری از حمله قارچ‌ها و عوامل بیماری‌زا به مغز پسته در این پایه نقش دارد. به علاوه، نقش پایه در تشکیل مقادیر بالای ترکیبات فنلی (ترکیبات فعال زیستی) مغز، کیفیت مغز و در نتیجه اهمیت آن در تغذیه انسان شایان ذکر است.

سپاسگزاری

نویسندگان این پژوهش، از مسئولان مرکز تحقیقات پسته کشور به علت همکاری در اجرای این تحقیق سپاسگزاری می‌نمایند.

درویشیان، م. انتشارات مؤسسه فرهنگی نشر آیدگان، تهران.

Arcas, M. C., Botia, J. M., Ortuno, A. M. and Del Rio, J. A. (2000) UV irradiation alters the levels of flavonoids involved in the defence mechanism of *Citrus aurantium* fruits against *Penicillium digitatum*. European Journal of Plant Pathology 106: 617-622.

Ballistreri, G., Arena, E. and Fallico, B. (2009) Influence of ripeness and drying process on the polyphenols and tocopherols of *Pistacia vera* L. Molecules 14: 4358-4369.

Boudet, A. M. (2007) Evolution and current

(Tavallali and Rahemi, 2007) تأثیر بسزایی دارد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که مقدار PAL و ترکیبات فنلی مغز پسته در زمان برداشت نسبت به پوست میوه کمتر است که در پایه موتیکا-احمد آقایی بیشترین مقدار وجود داشت، به نظر می‌رسد، وجود غلظت نهایی ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانینی در مغز دانه به فعالیت PAL بستگی دارد و این آنزیم ممکن است در ضمن بلوغ دانه در مراحل رشد و نمو درگیر باشد. همچنین، نتایج به دست آمده وجود ترکیبات فعال زیستی را در مغز پسته نشان داد که بیشترین مقدار متعلق به پایه موتیکا-احمد آقایی است. به نظر می‌رسد نوع پایه در محتوای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در مغز پسته نقش بسزایی دارد.

جمع‌بندی

تأثیر پایه‌های متفاوت در تشکیل ترکیبات شیمیایی در اندام‌های گیاه پسته اهمیت دارد. نوع و منشأ ژنتیکی

منابع

شیبانی، ا. (۱۳۷۳) پسته و تولید آن در ایران. انتشارات مؤسسه تحقیقات پسته ایران. رفسنجان.

فرگوسن، ل. (۱۳۷۸) کشت و تولید پسته. ترجمه status of research in phenolic compounds. Phytochemistry 68: 2722-2735.

Bradford, M. M. (1976) 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.

Cheng, S. Y., Wang, Y., Liu, W. H., Du, H. W. and Chen, K. S. (2005) Effects of plant growth regulators on phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activities in leaves of *Ginkgo biloba*. Journal Plant Resources

- Environment 14: 20-22.
- Ding, C. K., Chachin, K., Ueda, Y., Imahori, Y. and Wang, C. Y. (2001) Metabolism of phenolic compounds during loquat fruit development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 2882-2888.
- Doster, M. A. and Michailides, T. J. (1995) The relationship between date of hull splitting and decay of pistachio nuts by *Aspergillus* species. *Journal of Plant Disease* 79: 766-769.
- Feng, S. Q., Chen, X. S., Zhang, C. Y., Liu, X. J., Liu, Z. C., Wang, H. B. and Zhou, C. H. (2008) Relationship between anthocyanin biosynthesis and related enzymes activity in *Pyrus pyrifolia* mantianhong and its bud sports aoguan. *Agricultural Science in China* 7: 1318-1323.
- Goli, A. H., Barzegar, M. and Sahari, M. (2005) Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistacia vera* L.) hull extracts. *Food Chemistry* 92: 521-52.
- Hamouz, K., Lachman, J., Cepl, J., Dvorak, P., Pivec, V. and Prasilova, M. (2007) Site conditions and genotype influence polyphenol content in potatoes. *Horticulture of Science (Prague)* 34: 132-137.
- He, Y., Zhu, Z., Yang, J., Ni, X. and Zhu, B. (2009) Grafting increases the salt tolerance of tomato by improvement of photosynthesis and enhancement of antioxidant enzymes activity. *Environmental and Experimental Botany* 66: 270-278.
- Hura, T., Hura, K. and Grzesia, S. (2008) Contents of total phenolics and ferulic acid and PAL activity during water potential changes in leaves of maize single-cross hybrids of different drought tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science* 194: 104-112.
- Jakobek, L., Šeruga, M., Voća, S., Šindrak, Z. and Dobričević, N. (2009) Flavonol and phenolic acid composition of sweet cherries (cv. Lapins) produced on six different vegetative rootstocks. *Scientia Horticulturae* 123: 23-28.
- Kaska, N., Nikpeyma, Y. and Kafkas, S. (2002) Interactions between Pistachio rootstock and cultivar in K. Maras/ Turkey, Preliminary results. *Acta Horticulture* 591: 67-71.
- Kliebenstein, D. J. (2004) Secondary metabolites and plant/environment interactions: a view through *Arabidopsis thaliana* tinged glasses. *Plant Cell and Environment* 27: 675-684.
- Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, M., Grignon, C. and Abdelly, C. (2007) Salinity effect on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiology and Biochemistry* 45: 244-248.
- Kubota, N., Yakushiji, H., Nishiyama, N., Mimura, H. and Shimamura, K. (2001) Phenolic contents and L-Phenylalanin Ammonia Lyase activity in Peach fruit as affected by rootstocks. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 70: 151-156.
- Lister, C. E., Lancaster, J. E. and Walker, J. R. (1996) Developmental Changes in enzymes biosynthesis in the skins of red and of flavonoid green apple cultivars. *Journal of the Science of food and Agriculture* 71: 313-330.
- Martínez-Ballesta, M. C., Alcaraz-López, C., Muries, B., Mota-Cadenas, C. and Carvajal, M. (2010) Physiological aspects of rootstock-scion interactions. *Scientia Horticulturae* 127: 112-118.
- Michalak, A. (2006) Phenolic Compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environmental Studies* 4: 523-530.
- Montero, T. M., Molla, E. M., Esteban, R. M. and Lopez-Andreu, F. J. (1996) Quality attributes of strawberry during ripening. *Scientia Horticulturae* 65: 239-250.
- Myung-Min, H., Trick, H. N. and Rajasheka, E. B. (2009) Secondary metabolism and antioxidant are involved in environmental adaptation and stress tolerance in lettuce. *Journal of Plant Physiology* 166: 180-191.

- Nikolva, M. T. and Ivancheva S. T. (2005) Quantitative flavonoid variation of *Artemisa vulgaris* and *veronica chamaedry* in relation altitude and pollution environmental. *Acta Biologica Szegediensis* 49: 29-39.
- Orazem, P., Stampar, F. and Hudina, M. (2011) Quality analysis of 'Redhaven' peach fruit grafted on 11 rootstocks of different genetic origin in a replant soil. *Food Chemistry* 124: 1691-1698.
- Parry, A. D., Tiller, S. A. and Edward, R. (1994) The effects of heavy metals and root immersion on isoflavonoid metabolism in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant Physiology* 106: 195-203.
- Remorini, D., Tavarini, S., Degl'Innocenti, E., Loreti, F., Massai, R. and Guidi, L. (2008) Effect of rootstock and harvesting time on the nutritional quality of peel and flesh of peach fruits. *Food Chemistry* 110: 361-367.
- Reyes-Carmona, J., Yousef, G. G., Martinez-Peniche, R. A. and Lila, M. A. (2005) Antioxidant capacity of fruit extracts of Blackberry (*Rubus* sp.) produced in different climatic regions. *Journal of Food Science* 70: 497-503.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. and Paganga, G. (1997) Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Science* 2: 152-159.
- Rodríguez, E. S, Manuel Ruiz, J., Ferreres, F. and Moreno, D. A. (2011) Phenolic metabolism in grafted versus nongrafted Cherry Tomatoes under the influence of water stress. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 59: 8839-8846.
- Satisha, J., Ramteke, S. D. and Karibasappa, G. S. (2007) Physiological and Biochemical characterisation of Grape rootstocks. *South African Journal Enology Viticulture* 28: 163-168.
- Shao, L., Shu, Z., Sun, S. H., Peng, C. H., Wang, X. and Lin, Z. H. (2007) Antioxidation of anthocyanins in photosynthesis under high temperature stress. *Journal Integrate of Plant Biology* 49: 1341-1351.
- Silva, E. M., Souza, J. N., Rogez, H., Rees, J. S. and Larondelle, Y. (2007) Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food Chemistry* 101: 1012-1018.
- Sobhana, P., Thomsa, M., Krishnakumar, R. and Jacob, J. (2000) Can there be possible genetic conflict between genetically divergent rootstocks and scions in bud grafted plants? National Symposium on Recent Trends in Plant Science Research, University of Kerala, Trivandrum, India.
- Tattini, M., Remorini, D., Pinelli, P., Agati, G., Sarasini, E., Traversi, M. L. and Massai, R. (2006) Morpho-anatomical, physiological and biochemical adjustment in response to ozone salinity stress and high solar radiation in two Mediterranean evergreen shrubs, *Myrtus communis* and *Pistacia lentiscus*. *New phytologist* 170: 779-794.
- Tavallali, V. and Rahemi, M. (2007) Effects of rootstock on nutrient acquisition by leaf, kernel and quality of pistachio (*Pistacia vera* L.). *American-Eurasian Journal Agricultural and Environmental Science* 2: 240-246.
- Tomaino, A., Martorana, M., Arcoraci, T., Momteleone, D., Givoinazzo, C. and Saija, A. (2010) Antioxidant activity and phenolic profile of pistachio (*Pistacia vera* L., variety Bronte) seeds and skins. *Biochimie* 92(9): 1115-1122.
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L. and Oomah, B. D. (1998) Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 4113-4117.
- Vogt, T. (2010) Phenylpropanoid biosynthesis. *Molecular Plant* 3: 2-20.
- Wagner, G. J. (1979) Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars free amino acids, and anthocyanins in protoplast. *Plant Physiology* 64: 88-93.

- Wang, J. W., Zheng, L. P., Wu, J. Y. and Tan, R. X. (2006) Involvement of nitric oxide in oxidative burst phenylalanine ammonia-lyase activation and taxol production induced by low-energy ultrasound in *Taxus yunnanensis* cell suspension cultures. *Nitric Oxide Biology and Chemistry* 15: 351-358.
- Zhishen, J., Mengcheng, T. and Jianming, W. (1999) The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry* 64: 555-559.

تأثیر تنش خشکی بر رشد و سیستم آنتی‌اکسیدان در سه رقم نخود

مریم نصرافشانی*

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

چکیده

کمبود آب از تنش‌های مهم غیر زیستی است که رشد گیاه و تولید محصول را به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد. در این مطالعه، تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، شاخص‌های رشد، میزان پرولین و H_2O_2 و همچنین، سرعت پراکسیداسیون لیپیدها در بافت‌های ساقه و ریشه سه رقم نخود (بیونج، جم و آرمان) تحت شرایط تنش خشکی بررسی شد. وزن خشک ساقه و ریشه تحت تنش خشکی در سه رقم نخود مورد بررسی کاهش معنی‌داری نشان داد، ولی میزان کاهش در رقم جم در مقایسه با دو رقم دیگر به طور معنی‌داری بالاتر بود. تنش خشکی همچنین باعث تغییرات در خور توجهی در غلظت پرولین، مالون‌دی‌آلدئید و H_2O_2 ساقه در سه رقم نخود مورد بررسی شد که بسته به نوع رقم نخود متفاوت بود. فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز، گلوکاتیون ردوکتاز و کاتالاز بافت ساقه در رقم‌های بیونج و آرمان افزایش معنی‌داری را در مقایسه با رقم جم نشان دادند. فعالیت بیشتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در رقم‌های بیونج و آرمان باعث شد که در این رقم‌ها آسیب‌های اکسیداتیو به لیپیدهای غشا تحت تنش خشکی در مقایسه با رقم جم کاهش یابد. به این ترتیب، بر اساس نتایج این مطالعه می‌توان نتیجه‌گیری کرد که: رقم‌های بیونج و آرمان به تنش خشکی مقاوم هستند ولی رقم جم حساس به تنش خشکی است؛ مقاومت رقم‌های بیونج و آرمان به تنش خشکی با ظرفیت افزایش یافته سیستم آنتی‌اکسیدان برای حذف گونه‌های فعال اکسیژن و جلوگیری از پراکسیداسیون غشا مرتبط است.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، نخود، تنش خشکی، تنش اکسیداتیو

مقدمه

Ahmed *et al.*, 2009). در سال‌های اخیر، به علت

تغییرات در شرایط آب و هوایی و نیز افزایش سطح CO_2 اتمسفری، تنش خشکی بسیار شدیدتر شده است. به این ترتیب شناسایی واریته‌های گیاهی مقاوم به تنش خشکی یک ضرورت است. بررسی مکانیسم‌هایی که گیاهان را

خشکی یکی از مهمترین تنش‌های محیطی است که مراحل مختلف رشد و نمو گیاه مانند مرحله جوانه‌زنی، استقرار گیاهچه و تولید محصول را در سرتاسر جهان تحت تأثیر قرار می‌دهد (Ben *et al.*, 2007; Bacelar *et al.*, 2007)

آلفاتوکوفرول و گلوتاتیون احیاء شده (GSH) و همچنین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز و گایاکول پراکسیداز است (Xu *et al.*, 2008).

پاسخ آنتی‌اکسیدانی، فرآیندی مهم برای محافظت گیاهان در مقابل آسیب‌های اکسیداتیوی است که در اثر طیف وسیعی از تنش‌های محیطی شامل شوری، خشکی، فلزات سنگین و سرما ایجاد می‌شود (Mittler *et al.*, 2004). مقاومت به تنش خشکی در گیاهان با توانایی به دام انداختن ROS و کاهش دادن آثار مضرشان مرتبط است. ارتباط بین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و بالا رفتن مقاومت گونه‌های گیاهی تحت تنش‌های محیطی در چندین گونه گیاهی مانند برنج (Guo *et al.*, 2006) تأیید شده است.

نخود از منابع مهم پروتئین گیاهی است که در بیشتر نقاط جهان از نظر غذایی با ارزش است. ریشه نخود همچنین به واسطه توانایی در تثبیت نیتروژن اتمسفری از طریق همزیستی با ریزوبیوم‌ها اهمیت دارد و جایگاه خاصی را در تناوب زراعی آن با سایر محصولات زراعی از جمله غلات داراست (Herridge *et al.*, 1995). این محصول عمدتاً تحت شرایط دیم کشت می‌شود. نخود به عنوان سومین محصول در بین حبوبات جهان است و در ایران نیز از مهمترین حبوبات به شمار می‌رود. ایران از نظر سطح زیر کشت این محصول چهارمین رتبه را پس از هند، پاکستان و ترکیه به خود اختصاص داده است (Sabaghpour *et al.*, 2006). عملکرد گیاه نخود ۳۵۸ کیلوگرم در هکتار است که نسبت به میانگین عملکرد جهانی و کشورهای مهم تولید کننده نخود بسیار پایین است به طوری که کمتر

قادر می‌سازد تا با تنش خشکی سازش پیدا کنند و رشدشان را تحت آن شرایط حفظ نمایند، در نهایت می‌تواند در انتخاب گیاهان مقاوم به تنش برای کشت در مناطق خشک و نیمه خشک کمک کند.

در اثر تنش خشکی، فعالیت‌های فتوشیمیایی گیاه بازداشته می‌شود، محتوای کلروفیلی برگ تغییر می‌کند و فعالیت آنزیم‌های چرخه کالوین در فرآیند فتوسنتز کاهش می‌یابد (Monakhova and Chernyadev, 2002). در تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی، کاهش در تولید محصول تحت شرایط تنش خشکی غالباً به کاهش در ظرفیت فتوسنتزی مربوط است (Bacelar *et al.*, 2007). تنش خشکی همچنین تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مانند پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، رادیکال‌های سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$) و هیدروکسیل (OH^{\cdot}) را افزایش می‌دهد که تجمع‌شان در سلول می‌تواند به تنش اکسیداتیو منجر شود (Mittler, 2002). در غیاب هر گونه مکانیسم حفاظتی، ROS می‌تواند از طریق آسیب اکسیداتیو به لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک متابولیسم طبیعی سلول را مختل کرده، به غشا سلولی آسیب رساند که در نهایت، موجب مرگ سلولی می‌شود (Ozkur *et al.*, 2009). گیاهان دارای سیستم آنتی‌اکسیدانی هستند که تولید اضافی گونه‌های فعال اکسیژن را تحت شرایط تنش کنترل می‌کند و بنابراین، آنها را در مقابل آثار مضر گونه‌های فعال اکسیژن محافظت می‌کند و از سوی دیگر، سطح مناسبی از ROS را برای رشد و مسیر انتقال پیام حفظ می‌کند (Mittler *et al.*, 2004). این سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان شامل آنتی‌اکسیدان‌هایی با وزن مولکولی پایین مانند بتاکاروتن‌ها، آسکوربیک اسید،

۵۰ درصد هو گلند آبیاری شدند (Hoagland and Arnon, 1950) و برای ۴ هفته در شرایط تنظیم شده (۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، ۲۵ درجه سانتیگراد در روز و ۱۸ درجه سانتیگراد شب، ۷۰ درصد رطوبت نسبی) نگهداری شدند.

پس از ۴ هفته رشد گیاهان در شرایط کنترل شده به منظور القای تنش خشکی با پتانسیل اسمزی ۰/۵- و ۱- مگاپاسگال از روش Michel و Kaufmann (۱۹۷۳) و برای ایجاد پتانسیل اسمزی صفر (شاهد) از آب مقطر استفاده شد. گیاهان ۱۵ روز پس از آغاز تنش خشکی همراه با شاهد در همان روز برداشت شدند.

۰/۱ گرم بافت تازه ریشه و ساقه در یک هاون چینی سرد با ۱/۵ میلی لیتر بافر استخراجی سرد شامل ۵۰ میلی مولار بافر فسفات پتاسیم با اسیدیته ۷، ۰/۱ میلی مولار EDTA (اتیلن دی آمین تترااستیک اسید)، ۱ میلی مولار PMSF (فنیل متیل سولفونیل فلوراید) به عنوان بازدارنده پروتئاز و ۱۰ درصد PVP (W/W) (پلی وینیل پیرولیدون) ساییده و به مدت ۲۰ دقیقه با ۱۵۰۰۰ g در دمای صفر تا ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شد. عصاره حاصل برای تخمین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و میزان کل پروتئین‌های محلول استفاده شد. میزان کل پروتئین‌های محلول طبق روش برادفورد (Bradford, 1976) با استفاده از سرم آلبومین گاوی به عنوان استاندارد اندازه گیری شد.

فعالیت کاتالاز (CAT; EC 1.11.1.6) بر اساس کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به واسطه کاتابولیزه شدن H_2O_2 طبق روش پیشنهاد شده توسط Aebi (۱۹۸۴) اندازه گیری شد. فعالیت آنزیم بر حسب میکرومولار H_2O_2 در دقیقه در هر میلی گرم پروتئین و

از نصف میانگین جهانی است. عوامل مختلفی در پایین بودن عملکرد نخود در ایران مؤثر هستند که مهمترین آن فقدان بارندگی کافی در طی رشد و نمو است (Sabaghpour et al., 2006). گزارش‌ها نشان می‌دهد که رقم‌های مقاوم به تنش‌های محیطی می‌توانند از طریق القا کردن سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی با تنش‌های محیطی مقابله کنند. بنابراین، بین سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و تحمل شرایط تنش ارتباط وجود دارد (Demiral and Türkan, 2004). به هر حال، اطلاعات در ارتباط با پاسخ آنتی‌اکسیدان ریشه و ساقه نخود تحت شرایط تنش خشکی و ارتباط آن با میزان نسبی مقاومت به تنش محدود است. شناسایی مکانیسم‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک که در مقاومت به تنش خشکی دخالت دارند، می‌تواند به انتخاب رقم‌های مقاوم به خشکی کمک کند. در این مطالعه، پاسخ شاخص‌های رشد، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، غلظت پرولین، پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و غلظت H_2O_2 به تنش خشکی اعمال شده توسط PEG 6000 در سه رقم نخود بررسی شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش روی سه رقم نخود (بیونج، آرمان و جم) تهیه شده از مرکز دیم ایران در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در شرایط گلخانه انجام شد. سطح بذرها با اتانول ۸۰ درصد برای ۳۰ ثانیه و هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به مدت ۲ دقیقه ضدعفونی و ۱۰ مرتبه با آب مقطر استریل شستشو شد و در گلدان حاوی پرلیت کشت شد. به منظور حفظ ظرفیت نگهداری آب خاک تا نزدیک ظرفیت مزرعه گیاهان هر روز با محلول غذایی

اندازه‌گیری پرولین

میزان پرولین بر اساس روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و مقدار پرولین در هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد.

تحلیل داده‌ها

برای تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد. مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح آماری ۵ درصد ($P \leq 0.05$) و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

تأثیر تنش خشکی بر شاخص‌های رشد

برای بررسی پاسخ شاخص‌های رشد سه رقم نخود (بیونج، جم و آرمان) به تنش خشکی، گیاهان نخود به مدت ۱۵ روز در معرض دو سطح تنش اسمزی (۰/۵- و ۱- مگاپاسگال) قرار گرفتند. نتایج مربوط به تأثیر تنش خشکی بر وزن خشک ساقه، ریشه و وزن خشک کل گیاه در جدول ۱ نشان داده شده است. بر اساس نتایج، تحت تنش خشکی وزن خشک ساقه، ریشه و همچنین، وزن خشک کل گیاه در سه رقم نخود آزمایش شده به میزان معنی‌داری کاهش نشان داد، به طوری که در پتانسیل‌های اسمزی ۰/۵- و ۱- مگاپاسگال، وزن خشک کل گیاه برای رقم بیونج به ترتیب ۱۱ و ۲۰ درصد، برای رقم جم به ترتیب ۲۸ و ۵۱ درصد و برای رقم آرمان به ترتیب ۱۶ و ۳۳ درصد کاهش نشان داد. پاسخ وزن خشک ساقه و ریشه به تنش خشکی اعمال شده بسته به نوع رقم نخود مورد آزمایش متفاوت بود. میزان کاهش وزن خشک ساقه پس از اعمال ۰/۵- و ۱- مگاپاسگال تنش خشکی در

ضریب خاموشی $0.036 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ گزارش شد. فعالیت آسکوربات پراکسیداز (APX; EC 1.11.1.11) بر اساس روش Asada و Nakano (۱۹۸۱) اندازه‌گیری شد و فعالیت آنزیم بر حسب میکرومول آسکوربات در دقیقه در هر میلی‌گرم پروتئین با استفاده از ضریب خاموشی آسکوربات $2/8 \text{ mM}^{-1} \text{ Cm}^{-1}$ محاسبه شد. فعالیت آنزیم گلو تاتیون ردوکتاز (GR; EC1.8.5.1) توسط کاهش در جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر به واسطه اکسیداسیون NADPH اندازه‌گیری شد (Dalton *et al.*, 1986). فعالیت این آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی $6/2 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ محاسبه شد و فعالیت آنزیم بر حسب میکرومولار NADPH در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین گزارش شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD; EC1.11.17) در طول موج ۴۷۰ نانومتر توسط توانایی آن برای تبدیل گایاکول به تتراکایاکول به صورت افزایش در جذب اندازه‌گیری شد (Bergmeyer, 1974).

سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدها

میزان آسیب غشا توسط اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) به عنوان محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدهای غشا تخمین زده شد. غلظت مالون‌دی‌آلدئید طبق روش واکنش تیوباربتوریک اسید (TBA) اندازه‌گیری شد (Dhindsa and Matowe, 1981).

سنجش پراکسید هیدروژن (H_2O_2)

میزان پراکسید هیدروژن به روش اسپکتروفتومتری پس از واکنش با یدید پتاسیم (KI) در طول موج ۳۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و غلظت‌های مختلف H_2O_2 برای تهیه منحنی استاندارد استفاده شد (Alexieva *et al.* 2001).

بیشترین کاهش در وزن خشک ریشه به رقم جم مربوط بود. نسبت ریشه به ساقه در رقم‌های بیونج و آرمان تحت تنش خشکی به میزان معنی‌داری از این نسبت در گیاه شاهد بیشتر بود، با وجود این، در رقم جم تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر نسبت ریشه به ساقه نداشت.

رقم بیونج به ترتیب ۱۷ و ۲۶ درصد، در رقم آرمان ۲۰ و ۳۷ درصد و در رقم جم به ترتیب ۲۷ و ۵۰ درصد تخمین زده شد. نتایج نشان داد که وزن خشک ریشه در پتانسیل‌های اسمزی ۰/۵- و ۱- مگاپاسگال در سه رقم نخود مورد مطالعه کاهش پیدا کرد، در حالی که

جدول ۱- تأثیر تنش خشکی بر وزن خشک ساقه (گرم در هر گیاه)، وزن خشک ریشه (گرم در هر گیاه)، نسبت وزن خشک ریشه به ساقه و وزن خشک کل گیاه (گرم در هر گیاه) در سه رقم نخود. مقادیر، میانگین ۳ تکرار است. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح $P < 0.05$ است.

رقم	تیمار	وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه	وزن خشک ریشه به ساقه	وزن خشک کل گیاه
	شاهد	۱/۷۵ ^a	۱/۳۹ ^a	۰/۷۹ ^b	۳/۱۴ ^a
بیونج	-۰/۵ Mpa	۱/۴۵ ^b	۱/۳۲ ^a	۰/۹۱ ^a	۲/۷۷ ^b
	-۱ Mpa	۱/۲۸ ^c	۱/۲۲ ^b	۰/۹۵ ^a	۲/۵ ^c
	شاهد	۰/۸۱ ^e	۰/۴۴ ^d	۰/۵۴ ^c	۱/۲۵ ^f
جم	-۰/۵ Mpa	۰/۵۹ ^f	۰/۳۱ ^e	۰/۵۲ ^c	۰/۹۰ ^h
	-۱ Mpa	۰/۴۰ ^g	۰/۲۱ ^f	۰/۵۲ ^c	۰/۶۱ ⁱ
	شاهد	۱/۳ ^c	۰/۵۵ ^c	۰/۴۲ ^d	۱/۸۵ ^d
آرمان	-۰/۵ Mpa	۱/۰۴ ^d	۰/۵۰ ^c	۰/۴۸ ^{cd}	۱/۵۴ ^e
	-۱ Mpa	۰/۸۱ ^e	۰/۴۳ ^d	۰/۵۳ ^c	۱/۲۴ ^g

در رقم جم در مقایسه با دو رقم دیگر به میزان معنی‌داری بیشتر بود (جدول ۲ الف). تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر میزان MDA ریشه در سه رقم نخود مورد بررسی نداشت (جدول ۲ ب). میزان پروتئین‌های محلول در سه رقم نخود مورد بررسی تحت تنش خشکی در مقایسه با شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد، ولی میزان کاهش در رقم جم در مقایسه با دو رقم دیگر به میزان درخور توجهی بیشتر بود (جدول ۲ الف). در مقابل، تنش خشکی میزان پروتئین محلول ریشه را تنها در رقم جم به میزان معنی‌داری کاهش داد (جدول ۲ ب). نتایج مربوط به اندازه‌گیری تغییرات در میزان پروتئین ساقه و ریشه در سه رقم نخود تحت شرایط پتانسیل اسمزی ۰/۵- و ۱- مگاپاسگال نشان داد

تأثیر تنش خشکی بر پروتئین‌های محلول، میزان پروتئین، سطح H_2O_2 و پراکسیداسیون لیپیدهای غشا
غلظت پروتئین، H_2O_2 و پروتئین‌های محلول و همچنین، میزان پراکسیداسیون لیپیدها در رقم‌های بیونج، جم و آرمان تحت تنش خشکی و گیاهان شاهد در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که میزان MDA به عنوان شاخصی برای تعیین پراکسیداسیون لیپیدهای غشا در ساقه سه رقم نخود مورد بررسی تحت ۰/۵- و ۱- مگاپاسگال تنش خشکی در مقایسه با میزان آن در گیاه شاهد به میزان معنی‌داری افزایش پیدا می‌کند، در حالی که میزان MDA تجمع یافته در ساقه تحت تنش خشکی بین سه رقم نخود تفاوت وجود داشت به نحوی که میزان تجمع MDA

به نوع رقم نخود متفاوت بود. در رقم‌های بیونیچ و آرمان، اعمال ۰/۵- مگاپاسگال تنش خشکی باعث تغییر معنی‌داری در میزان H_2O_2 نشد، در حالی که به دنبال تشدید تنش (۱- مگاپاسگال) افزایش معنی‌داری در سطوح H_2O_2 مشاهده شد که میزان آن در رقم آرمان به میزان در خور توجهی از رقم بیونیچ بیشتر بود. در رقم جم، هر دو سطح تنش خشکی اعمال شده باعث افزایش معنی‌داری در غلظت H_2O_2 ساقه شد (جدول ۲).

که تنش خشکی تجمع در خور توجهی از پرولین را در ریشه و ساقه القا می‌کند که میزان این تجمع در بافت‌های ساقه رقم بیونیچ و آرمان به میزان معنی‌داری در مقایسه با میزان تجمع آن در رقم جم بیشتر بود. در مقابل، اگرچه تنش خشکی باعث افزایش معنی‌داری در محتوای پرولین ریشه در سه رقم تحت بررسی شد، با وجود این، اختلافی در میزان پرولین تجمع یافته در میان رقم‌های مورد بررسی مشاهده نشد (جدول ۲). تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی بر غلظت H_2O_2 ساقه بسته

جدول ۲- تأثیر تنش خشکی بر غلظت پروتئین محلول ($mg \cdot ml^{-1}$)، پرولین ($\mu mol \cdot g^{-1} FW$)، H_2O_2 ($nmol \cdot g^{-1} FW$) مالون‌دی‌آلدئید (MDA) ساقه (الف) و ریشه (ب) در سه رقم نخود. مقادیر، میانگین ۳ تکرار است. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح $P < 0.05$ است. (الف)

رقم	تیمار	پروتئین محلول	پرولین	H_2O_2	MDA
بیونیچ	شاهد	۱۰ ^a	۹/۸ ^e	۴/۸ ^g	۹/۲۳ ^d
	-۰/۵ Mpa	۹/۴۸ ^{ab}	۴۰/۷ ^c	۶/۵ ^{fg}	۲۳ ^c
	-۱ Mpa	۷/۸۷ ^{cd}	۸۵/۳ ^a	۱۸ ^c	۳۷/۴ ^b
جم	شاهد	۶/۹۴ ^d	۷/۸ ^e	۷/۳ ^{ef}	۹ ^d
	-۰/۵ Mpa	۴/۴۳ ^f	۱۹/۲ ^e	۱۹/۲ ^c	۲۰/۹ ^c
	-۱ Mpa	۳/۱۶ ^g	۳۴/۴ ^d	۳۵/۹ ^a	۳۹/۲ ^b
آرمان	شاهد	۹/۴۸ ^{ab}	۸/۷ ^e	۹ ^{de}	۹/۵ ^d
	-۰/۵ Mpa	۸/۸۳ ^{bc}	۳۱/۲ ^d	۱۰/۴ ^d	۴۱/۸ ^b
	-۱ Mpa	۵/۹۴ ^e	۶۴/۵ ^b	۲۷/۳ ^b	۶۰ ^a
(ب)					
رقم	تیمار	پروتئین محلول	پرولین	H_2O_2	MDA
بیونیچ	شاهد	۵/۴۳ ^a	۵/۹ ^{bc}	۱۳/۳ ^{bc}	۶/۷ ^{cd}
	-۰/۵ Mpa	۵/۵ ^a	۶/۶ ^{bc}	۱۴/۱۳ ^{bc}	۷/۲۴ ^{bcd}
	-۱ Mpa	۵/۵ ^a	۱۶/۲ ^a	۱۲/۹۶ ^c	۶/۶۳ ^{cd}
جم	شاهد	۴/۵۸ ^b	۵/۶ ^{bc}	۱۶/۶۳ ^a	۶ ^d
	-۰/۵ Mpa	۳/۰۶ ^c	۵/۵ ^{bc}	۱۶/۱۳ ^a	۶/۶ ^{cd}
	-۱ Mpa	۲/۲۵ ^d	۱۶/۸ ^a	۱۴/۹۶ ^{ab}	۷/۲۳ ^{bcd}
آرمان	شاهد	۵/۷۳ ^a	۶/۹ ^{bc}	۱۳/۳ ^{bc}	۷/۷۹ ^{abc}
	-۰/۵ Mpa	۵/۲ ^{ab}	۷/۶ ^b	۱۳/۵ ^{bc}	۸/۷ ^a
	-۱ Mpa	۵/۰۸ ^{ab}	۱۶/۲ ^a	۱۳/۳۶ ^{bc}	۸/۲ ^{ab}

تأثیر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

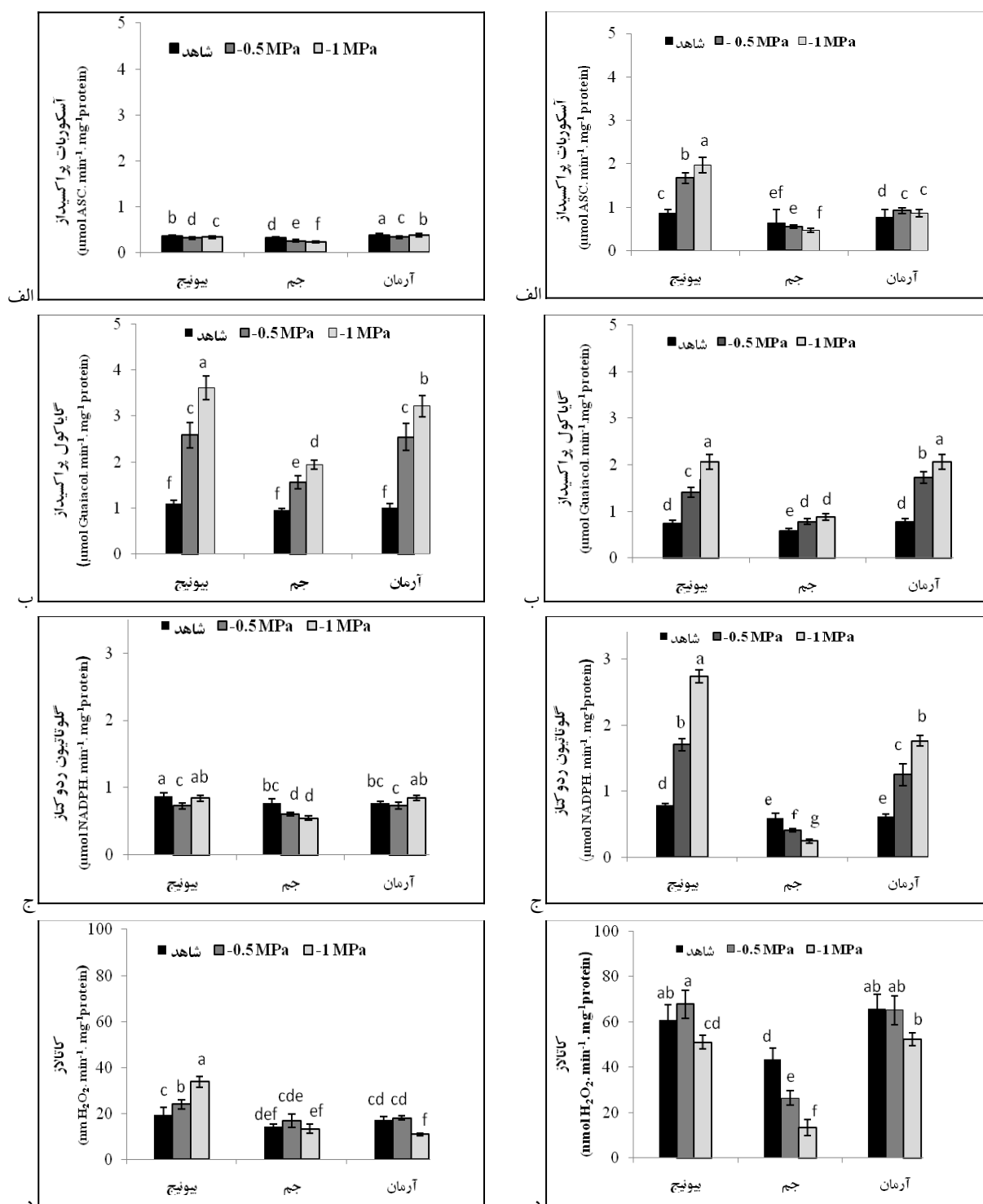
به منظور بررسی پاسخ سیستم آنتی‌اکسیدانی سه رقم نخود مورد بررسی به تنش خشکی، فعالیت آنزیم‌های APX، POD، GR و CAT در ریشه و ساقه بررسی شد (شکل‌های ۱ و ۲). میزان فعالیت آنزیم APX ساقه در رقم‌های آرمان و بیونج تحت تنش خشکی افزایش معنی‌داری را در مقایسه با میزان آن در شاهد نشان داد، به طوری که پس از اعمال ۰/۵- و ۱- مگاپاسگال تنش خشکی، سطح فعالیت این آنزیم در رقم بیونج به ترتیب ۱۹۲ و ۲۲۶ درصد و در رقم آرمان در هر دو سطح خشکی تقریباً ۱۱۵ درصد افزایش نشان داد (شکل ۱ الف). در سطح ۰/۵- مگاپاسگال تنش خشکی، فعالیت آنزیم APX ریشه در رقم‌های بیونج، جم و آرمان اختلاف معنی‌داری با شاهد نشان نداد، ولی با تشدید تنش خشکی (۱- مگاپاسگال) فعالیت این آنزیم در رقم‌های بیونج و جم افزایش معنی‌داری را در مقایسه با شاهد نشان داد (شکل ۲ الف).

در هر دو سطح تنش اسمزی، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD) ریشه و ساقه در سه رقم مورد بررسی به میزان درخور توجهی افزایش نشان داد، با وجود این، بیشترین فعالیت آنزیم در رقم‌های آرمان و بیونج مشاهده شد (شکل‌های ۱ ب، ۲ ب).

پاسخ آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز (GR) به شرایط تنش خشکی در سه رقم نخود مورد بررسی کاملاً متفاوت بود. در بیونج و آرمان، فعالیت GR در ساقه پس از اعمال ۰/۵- مگاپاسگال تنش خشکی به ترتیب ۲۱۸ و ۲۰۰ درصد افزایش نشان داد و با تشدید تنش خشکی (۱- مگاپاسگال) فعالیت این آنزیم به ترتیب ۳۴۵ و ۲۹۸ درصد افزایش پیدا کرد (شکل ۱ ج). به هر

حال، فعالیت این آنزیم در رقم جم پس از اعمال ۰/۵- و ۱- مگاپاسگال تنش خشکی کاهش یافت. از طرف دیگر، فعالیت GR ریشه در رقم بیونج تحت ۰/۵- مگاپاسگال تنش خشکی کاهش نشان داد، در حالی که در ۱- مگاپاسگال تنش خشکی فعالیت این آنزیم افزایش پیدا کرد. در رقم جم فعالیت آنزیم GR ریشه تحت هر دو سطح تنش خشکی تفاوت معنی‌داری را با فعالیت آن در شاهد نشان نداد و در رقم جم نیز کاهش در فعالیت این آنزیم در ریشه در هر دو سطح تنش خشکی مشاهده شد (شکل ۲ ج).

در رقم‌های بیونج و آرمان، فعالیت آنزیم CAT ساقه تحت ۰/۵- مگاپاسگال تنش خشکی تغییر درخور توجهی نشان نداد، در حالی که با اعمال خشکی شدیدتر (۱- مگاپاسگال)، فعالیت این آنزیم کاهش معنی‌داری را نسبت به فعالیت آن در گیاه شاهد در هر دو رقم نشان داد. از طرف دیگر، هر دو سطح تنش خشکی اعمال شده (۰/۵- و ۱- مگاپاسگال) به طور معنی‌داری باعث کاهش فعالیت آنزیم CAT در رقم جم نسبت به شاهد شد (شکل ۱ د). پاسخ فعالیت CAT ریشه به تنش خشکی بسته به نوع رقم نخود متفاوت بود. در رقم بیونج، فعالیت کاتالاز تحت ۰/۵- و ۱- مگاپاسگال تنش خشکی در مقایسه با فعالیت آن در گیاه شاهد افزایش نشان داد که از نظر آماری معنی‌دار بود، در حالی که در آرمان اعمال ۰/۵- مگاپاسگال تنش خشکی تأثیری بر فعالیت آنزیم نداشت، در حالی که در ۱- مگاپاسگال تنش خشکی فعالیت آنزیم به طور معنی‌داری افزایش یافت. در رقم جم، فعالیت آنزیم CAT ریشه تحت ۰/۵- و ۱- مگاپاسگال تنش خشکی تأثیری بر فعالیت آنزیم نداشت (شکل ۲ ج).



شکل ۲- فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز (الف)، گایاکول پراکسیداز (ب)، گلوٹاتیون ردوکتاز (ج) و کاتالاز (د) در ریشه سه رقم نخود تحت ۰/۵- و ۱- مگاپاسگال تنش خشکی اعمال شده توسط PEG 6000 برای ۱۵ روز. مقادیر، میانگین ۳ تکرار است. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح $P < 0.05$ است.

شکل ۱- فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز (الف)، گایاکول پراکسیداز (ب)، گلوٹاتیون ردوکتاز (ج) و کاتالاز (د) در ساقه سه رقم نخود تحت ۰/۵- و ۱- مگاپاسگال تنش خشکی اعمال شده توسط PEG 6000 برای ۱۵ روز. مقادیر، میانگین ۳ تکرار است. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح $P < 0.05$ است.

بحث

تنش خشکی یکی از عوامل اصلی کاهش محصول در گیاهان است. در حال حاضر به علت توسعه مناطق خشک و نیمه خشک و همچنین، محدود بودن منابع آبی شناسایی و انتخاب رقم‌های گیاهی مقاوم به تنش کم آبی برای به کمینه رساندن مشکلات آینده جهان برای تأمین مواد غذایی الزامی است. برای دستیابی به این هدف، تعیین درجه مقاومت گونه‌های گیاهی به تنش خشکی و همچنین، شناخت مکانیسم‌های دخیل برای بقا گیاهان تحت شرایط خشک و نیمه خشک ضروری است (Rahnama and Ebrahimzadeh 2005). تنوع در میزان تولید بیوماس ریشه و ساقه تحت شرایط تنش در بین رقم‌های مختلف گیاهی نشان داده است که رقم گیاهی عامل مهمی در تعیین میزان مقاومت به شرایط تنش است (Hossein Boldaji *et al.*, 2012).

نتایج این مطالعه نشان داد که میزان وزن خشک ساقه، ریشه و همچنین، وزن خشک کل گیاه تحت تنش خشکی اعمال شده توسط PEG 6000 در سه رقم نخود مورد بررسی به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. کاهش مشاهده شده در شاخص‌های رشدی ممکن است نتیجه کاهش سرعت فتوسنتز تحت تنش خشکی باشد که می‌تواند به بسته شدن روزنه‌ها یا کاهش سطح برگ در پاسخ به تنش خشکی نسبت داده شود. در بین سه رقم بررسی شده، بیشترین کاهش در میزان وزن خشک ساقه و ریشه تحت تیمارهای ۰/۵- و ۱- مگاپاسگال تنش اسمزی در رقم جم مشاهده شد و از آنجا که میزان مقاوم بودن رقم‌های گیاهی بر اساس میزان تولید بیوماس تحت شرایط تنش در مقابل شرایط شاهد ارزیابی می‌شود، به این ترتیب رقم جم به عنوان

رقم حساس به تنش خشکی و رقم‌های بیونیچ و آرمان به عنوان رقم‌های مقاوم به خشکی در نظر گرفته شدند. رقم بیونیچ در مطالعه دیگری نیز به عنوان رقم مقاوم به تنش خشکی تأیید شده است (Mafakheri *et al.*, 2011). تأثیر رقم گیاهی روی مقاومت گیاه به شرایط تنش در سایر گونه‌های گیاهی مانند یونجه (Hossein Boldaji *et al.*, 2012) نیز تأیید شده است. نتایج این مطالعه همچنین نشان داد که در رقم‌های بیونیچ و آرمان وزن خشک ساقه تحت تنش خشکی بیشتر از وزن خشک ریشه کاهش پیدا کرد، به طوری که نسبت ریشه به ساقه در گیاهان تحت تنش خشکی به میزان معنی‌داری از گیاهان شاهد بیشتر بود. به این ترتیب می‌توان پیشنهاد کرد که افزایش در وزن خشک ریشه به ساقه در رقم‌های بیونیچ و آرمان می‌تواند به توسعه یافتن بیشتر سیستم ریشه در این رقم‌ها تحت شرایط تنش مربوط باشد که به جذب آب کمک می‌کند.

پرولین از طریق مکانیسم‌های مختلف شامل تنظیم وضعیت اسمزی، سم‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن و ثبات آنزیم‌ها یا پروتئین‌ها، گیاهان را در مقابل تنش‌های محیطی محافظت می‌کند. در برخی از گیاهان ثابت شده است که تغییرات میزان پرولین با توانایی آنها برای تحمل یا سازش به شرایط تنش مرتبط است و می‌تواند به عنوان شاخصی برای انتخاب گیاهان مقاوم به تنش استفاده شود (Niknam *et al.*, 2006). در مقابل، گزارش‌هایی وجود دارد که بیان می‌کند پرولین نمی‌تواند به عنوان یک شاخص معتبر برای انتخاب گونه‌های گیاهی مقاوم به شرایط تنش استفاده شود (Yazici *et al.*, 2007). بر اساس نتایج این مطالعه، تنش خشکی تجمع پرولین را در ساقه در سه رقم نخود

پروتئین‌ها و DNA آسیب وارد کند و از فرآیند فتوسنتز و فعالیت آنزیم‌های دیگر جلوگیری کند (Gupta and Gupta, 2005). چندین آنزیم سطوح H_2O_2 را درون سلول تنظیم می‌کنند که مهم‌ترین آنها کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز (گایاکول پراکسیداز) است.

آنزیم POD نقش کلیدی در سم‌زدایی H_2O_2 حذف مالون‌دی‌آلدئید که باعث پراکسیداسیون غشا می‌شود و حفظ ثبات و پایداری دیواره سلولی بازی می‌کند (Hojati *et al.*, 2011). نتایج این مطالعه نشان داد که فعالیت آنزیم POD ساقه و ریشه در سه رقم نخود مورد آزمایش تحت تنش خشکی به طور درخور توجهی در مقایسه با شاهد افزایش پیدا کرد، با وجود این، آنزیم POD فعالیت بیشتری را در رقم‌های بیونیچ و آرمان نسبت به رقم جم نشان داد که نشان‌دهنده ظرفیت بالاتر برای به دام انداختن ROS در این دو رقم نخود است و بنابراین، آسیب به لیپیدهای غشا پلاسمايي تحت تنش خشکی در این دو رقم کمتر است. نتایج حاصل از مطالعه روی رقم مقاوم و حساس برنج به تنش شوری نیز نشان داده است که تحت تنش شوری سطح فعالیت آنزیم POD در رقم مقاوم به شوری نسبت به رقم حساس به شوری به میزان بیشتری افزایش نشان می‌دهد (Khan and Panda, 2008).

در رقم حساس جم، فعالیت CAT ساقه در هر دو سطح تنش خشکی (۰/۵- و ۱- مگاپاسگال) کاهش معنی‌داری نشان داد که این کاهش در مقایسه با کاهش فعالیت این آنزیم در رقم‌های بیونیچ و آرمان تحت تنش ۱- مگاپاسگال به میزان درخور توجهی بالاتر بود. توانایی کاهش یافته برای به دام انداختن H_2O_2 توسط

مورد بررسی الفا کرد، البته میزان تجمع در رقم جم در مقایسه با دو رقم دیگر به میزان درخور توجهی پایین‌تر بود. تجمع پرولین در پاسخ به تنش‌ها در میان گونه‌های گیاهی گزارش شده است.

یکی از تغییرات بیوشیمیایی که در گیاهان تحت شرایط تنش خشکی اتفاق می‌افتد، تجمع ROS است. در گزارش‌های متعددی بیان شده است که تنش خشکی میزان تولید ROS را افزایش می‌دهد (Foyer and Noctor, 2003). سلول‌های گیاهی قادرند از طریق القا سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بر شرایط تنش اکسیداتیو ایجاد شده تحت تنش غلبه کنند (Alscher *et al.*, 2002). بنابراین، توانایی برای به دام انداختن گونه‌های فعال اکسیژن یک راهکار سازشی در گیاهان است که گونه‌های گیاهی از آن برای مقابله با تنش اکسیداتیو استفاده می‌کنند (Foyer and Noctor, 2003). مقاومت گیاه به تنش‌های مختلف محیطی ممکن است با سطح فعالیت آنزیم‌های مسؤول به دام انداختن رادیکال‌های آزاد اکسیژن مرتبط باشد (Mckersie *et al.*, 1996). پاسخ آنتی‌اکسیدان‌ها به کمبود آب، به شدت تنش و نوع گونه گیاهی بستگی دارد. گونه‌های گیاهی مقاوم معمولاً ظرفیت حفاظتی کارآمدتری در مقابل تنش اکسیداتیو القا شده توسط تنش کم آبی دارند که می‌تواند از طریق بالا بردن میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان افزایش پیدا کند (Hossein Boldaji *et al.*, 2012). H_2O_2 یک ترکیب سمی برای سلول‌هاست و باید به سرعت توسط سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی به آب و اکسیژن تبدیل شود (Guo *et al.*, 2006) در غیر این صورت می‌تواند از طریق پراکسیداسیون لیپیدها به غشا سلولی، ساختمان

آسکوربات پراکسیداز از طریق سیکل آسکوربات - گلو تاتیون باعث متابولیزه شدن H_2O_2 می‌شود. در سه رقم نخود مورد بررسی، فعالیت APX ساقه در مقایسه با میزان فعالیت آن در ریشه تحت هر دو شرایط شاهد و تنش بیشتر بود. تنش خشکی باعث افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم APX ساقه در رقم‌های آرمان و بیونج شد، ولی سطح افزایش در بیونج در مقایسه با رقم آرمان به میزان در خور توجهی بیشتر بود. به این ترتیب القای فعالیت APX در این دو رقم توسط تنش خشکی با کارایی بالاتر مکانیسم دفاع آنتی‌اکسیدانی در این دو رقم تحت تنش خشکی مرتبط است. در مقابل، فعالیت آنزیم APX در رقم جم تحت ۱- مگاپاسگال تنش خشکی در مقایسه با شاهد کاهش نشان داد و به این ترتیب می‌توان پیشنهاد کرد که حساسیت رقم جم به تنش خشکی می‌تواند تا حدودی به واسطه ظرفیت پایین تر این رقم در به دام انداختن ROS باشد که صدمه به این رقم را تحت تنش خشکی افزایش می‌دهد. در مطالعه مشابهی گزارش شده است که رقم مقاوم به خشکی گندم فعالیت بالاتری از APX را در مقایسه با رقم حساس به خشکی گندم تحت شرایط شدید تنش خشکی نشان می‌دهد (Khanna-Chopra and Selote, 2007).

نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان H_2O_2 نشان داد که در رقم‌های بیونج و آرمان غلظت H_2O_2 ساقه در سطح ۰/۵- مگاپاسگال تنش خشکی تغییری پیدا نکرد، در حالی که با تشدید تنش (۱- مگاپاسگال) غلظت آن به میزان معنی‌داری افزایش پیدا کرد که ممکن است با کاهش در فعالیت آنزیم CAT در این سطح خشکی مرتبط باشد. به علت این که CAT مسؤوّل حذف بخش

CAT در سه رقم نخود، باعث تجمع ROS و بنابراین، پراکسیداسیون لیپیدهای سیستم غشایی و آسیب اکسیداتیو می‌شود. نظر به این که سطح فعالیت CAT در رقم جم در مقایسه با دو رقم دیگر به میزان بالاتری کاهش نشان داد، بنابراین تجمع ROS در این رقم بیشتر است و احتمالاً آسیب اکسیداتیو نیز شدیدتر است. غیرفعال شدن CAT تحت تنش اسمزی ممکن است به واسطه بازداشته شدن سنتز آنزیم یا غیرفعال شدن آنزیم توسط اکسیژن منفرد، پراکسید و هیدروکسیل باشد (Hosseini Boldaji *et al.*, 2012).

GR نیز نقش کلیدی در تنش اکسیداتیو بازی می‌کند. این آنزیم مسؤوّل تبدیل گلو تاتیون اکسید شده (GSSG) به گلو تاتیون احیاء شده (GSH) و حفظ نسبت بالای GSH به GSSG است. در مطالعه‌ای افزایش در سطح فعالیت آنزیم GR در برگ‌های چغندر قند تحت تنش شوری گزارش شده است که ممکن است با میزان توانایی گیاه برای مقاومت به تنش شوری ارتباط نزدیکی داشته باشد (Bor *et al.*, 2003). نتایج این مطالعه نشان داد که با اعمال تنش خشکی فعالیت آنزیم GR ساقه در رقم‌های بیونج و آرمان به میزان معنی‌داری نسبت به فعالیت آن در شاهد افزایش پیدا کرد، در صورتی که در رقم جم، تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم GR در ساقه شد. به این ترتیب می‌توان پیشنهاد کرد که کاهش فعالیت GR تحت تنش خشکی باعث حساسیت بیشتر رقم جم به تنش خشکی می‌شود. در مطالعه دیگری نیز نشان داده شد که در رقم حساس به شوری برنج فعالیت آنزیم GR تحت تنش شوری کاهش بیشتری را نسبت به رقم مقاوم به شوری نشان می‌دهد (Khan and Panda, 2008).

توجهی بیشتر بود که نشان‌دهنده سرعت بالاتر پراکسیداسیون لیپیدها در این رقم تحت تنش خشکی است. میزان پایین MDA مشاهده شده در رقم‌های آرمان و بیونج نشان می‌دهد که این دو رقم تحت تنش خشکی کمتر در معرض پراکسیداسیون لیپیدها قرار گرفته و به این ترتیب پراکسیداسیون کمتر لیپیدها یکی از علت‌های مقاومت این دو رقم به تنش خشکی است. گزارش‌هایی نیز وجود دارد که نشان می‌دهد در رقم حساس به تنش شوری برنج، میزان تجمع MDA در مقایسه با رقم مقاوم به خشکی بیشتر بود (Khanna-Chopra and Selote, 2007).

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که تنش خشکی، شاخص‌های رشدی را در رقم‌های بیونج، آرمان و جم به میزان درخور توجهی تحت تأثیر قرار می‌دهد. با این وجود، تنوع در حساسیت به تنش خشکی در بین رقم‌های نخود مورد مطالعه مشاهده شد. رقم‌های بیونج و آرمان به ترتیب مقاوم‌ترین رقم‌های مقاوم به خشکی در بین رقم‌های مورد مطالعه در نظر گرفته شدند به علت این که این دو رقم سطح بالایی از تولید بیوماس را تحت تنش خشکی حفظ می‌کنند. از سوی دیگر، نتایج این مطالعه تأیید کرد که تفاوت بین رقم‌ها برای تحمل تنش خشکی با ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی مرتبط است. رقم‌های بیونج و آرمان به ترتیب مکانیسم‌های حفاظتی کارآمدتری در مقابل آسیب‌اکسیداتیو تحت تنش خشکی نشان دادند و بنابراین، به عنوان رقم‌های مقاوم به تنش خشکی برای مناطق خشک پیشنهاد می‌شوند.

عظیمی از H_2O_2 است (Eyidogan and Tufan öz, 2007). به هر حال، احتمالاً به علت این که فعالیت آنزیم‌های APX و POD ساقه در رقم بیونج تحت شرایط تنش خشکی بیشتر از فعالیت آنها در رقم آرمان افزایش پیدا کرد، بنابراین، میزان H_2O_2 در رقم بیونج در مقایسه با رقم آرمان پایین‌تر است. در رقم حساس به خشکی جم، میزان H_2O_2 در هر دو سطح خشکی اعمال شده در مقایسه با شاهد افزایش نشان داد که به کاهش در فعالیت آنزیم کاتالاز و عدم فعالیت کافی آنزیم‌های دخیل در حذف H_2O_2 تحت تنش خشکی مربوط می‌شود.

گزارش‌ها نشان می‌دهد که آسیب به غشا تحت تنش‌های خشکی با افزایش در میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن مرتبط است و بنابراین، ثبات غشاهای زیستی دال بر مقاومت به تنش خشکی است. تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن تحت تنش خشکی باعث اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع دارای چندین پیوند دوگانه در غشا پلاسمایی و ایجاد مالون‌دی‌آلدئید (MDA) می‌شود. پراکسیداسیون لیپیدها به عنوان تولید میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) اندازه‌گیری شد. پراکسیداسیون لیپیدهای غشارا می‌توان به عنوان نشانه‌ای از آسیب‌اکسیداتیو در نظر گرفت و اغلب از آن به عنوان شاخصی برای تعیین میزان آسیب وارده به غشا تحت تنش استفاده می‌شود (Khan and Panda, 2008). در این پژوهش، میزان MDA در سه رقم نخود مورد بررسی تحت تنش خشکی در مقایسه با شاهد افزایش نشان داد، در حالی که میزان تجمع MDA در رقم جم در مقایسه با دو رقم دیگر به میزان درخور

منابع

- Aebi, H. (1984) Catalase *in vitro*. Methods in Enzymology 105: 121-126.
- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S. and Karanov, E. (2001) The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. Plant Cell Environmental 24: 1337-1344.
- Alscher, R. G., Erturk, N. and Heath, L. S. (2002) Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress. Journal of Experimental Botany 53: 1331-1341.
- Bacelar, E. A., Santaos, D. L., Moutinho-Pereira, J. M., Lopes, J. I., Goncalves, B. C., Ferreira, T. C. and Correia, C. M. (2007) Physiological behavior, oxidative damage and antioxidative protection of olive trees grown under different irrigation regimes. Plant Soil 292: 1-12.
- Bates, L. S., Waldre, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil 39: 205-207.
- Ben Ahmed, C., Ben Rouina, B., Sensoy, S., Boukhris, M. and Ben Abdallah, F. (2009) Changes in gas exchange, proline accumulation and antioxidative enzyme activities in three olive cultivars under contrasting water availability regimes. Environmental and Experimental Botany 67: 345-352.
- Bergmeyer, H. U. (1974) Methods of enzymatic analysis 1 and 2nd Ed, Academic Press, New York.
- Bor, M., Ozdemir, F. and Turkan, I. (2003) The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. Plant Sciences 164: 77-84.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.
- Dalton, D. A., Russell, S. A., Hanus, F. J., Pascoe, G. A. and Evans, H. J. (1986) Enzymatic reactions of ascorbate and glutathione that prevent peroxide damage in soybean root nodules. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United State of America 83: 3811-3815.
- Demiral, T. and Türkan, I. (2004) Does exogenous glycine betaine affect antioxidative system of rice seedlings under NaCl treatment? Journal of Plant Physiology 161: 1089-1100.
- Dhindsa, R. and Matowe, W. (1981) Drought tolerance in two mosses: correlated with enzymatic defense against lipid peroxidation. Journal of Experimental Botany 32: 79-91.
- Eyidogan, F. and Tufan öz, M. (2007) Effect of salinity on antioxidant responses of chickpea seedlings. Acta Physiologia Plantarum 29: 485-493.
- Foyer, C. and Noctor, G. (2003) Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. Physiologia Plantarum 119: 355-364.
- Guo, Z., Ouw Lu, S. and Zhong, Q. (2006) Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. Plant Physiology and Biochemistry 44: 828-836.
- Gupta, S. and Gupta, N. K. (2005) High temperature induced antioxidative defense mechanism in contrasting wheat seedlings. Indian Journal of Plant Physiology 10: 73-75.
- Herridge, D. F., Marcellos, H., Felton, W. L. and Turner, G. L. (1995) Chickpea increases soil-N fertility in cereal systems through nitrate sparing and N₂ fixation. Soil Biology and Biochemistry 27: 545-51.
- Hoagland, D. R. and Arnon, D. I. (1950) The water-culture method for growing plants without soil. California Agricultural Experiment Station Circular 347: 1-32.

- Hojati, M., Modarres-Sanavy, A. M. M., Karimi, M. and Ghanati, F. (2011) Responses of growth and antioxidant systems in *Carthamus tinctorius* L. under water deficit stress. *Acta Physiologia Plantarum* 33: 105-112.
- Hosseini Boldaji, S. A., Khavari-Nejad, R. A., Hassan Sajedi, R., Fahimi, H., Saadatmand, S. (2012) Water availability effects on antioxidant enzyme activities lipid peroxidation, and reducing sugar contents of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Acta Physiologia Plantarum* 34: 1177-1186.
- Khan M. H. and Panda S. K. (2008) Alternations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinity stress. *Acta Physiologia Plantarum* 30: 81-89.
- Khanna-Chopra, R. and Selote D. S. (2007) Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than -susceptible wheat cultivar under field conditions. *Environmental and Experimental Botany* 60: 276-283.
- Mafakheri, A., Siosemardeh, A., Bahramnejad, B., Struik, P. C. and Sohrabi Y. (2011) Effect of drought stress and subsequent recovery on protein, carbohydrate contents, catalase and peroxidase activities in three chickpea (*Cicer arietinum*) cultivars. *Australian Journal of Crop Science* 5 (10): 1225-1260
- Mckersie, B. D., Bowley, S. R., Harjanto, E. and Leprince, O. (1996) Water-deficit tolerance and field performance of transgenic alfalfa overexpressing superoxide dismutase. *Plant Physiology* 111: 1177-1181.
- Michel, B. E. and Kaufmann, M. R. (1973) The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology* 51: 914-916.
- Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7: 405-410.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. and Vanbreusegem, F. (2004) Reactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Science* 9: 490-498.
- Monakhova, O. F. and Chernyadev, I. I. (2002) Protective role of kartolin-4 in wheat plants exposed to soil drought. *Applied Environmental Microbiology* 38: 373-380.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology* 22: 867-880.
- Niknam, V., Razavi, N., Ebrahimzadeh, H. and Sharifzadeh, B. (2006) Effect of NaCl on biomass, protein and proline contents and antioxidant enzymes in seedlings and calli of two *Trigonella* Species. *Biologia Plantarum*. 50 (4): 591-596.
- Ozkur, O., Ozdemir, F., Bor, M. and Turkan I. (2009) Physicochemical and antioxidant responses of the perennial xerophyte *Capparis ovata* Desf to drought. *Environmental and Experimental Botany* 66: 487-492.
- Rahnama, H. and Ebrahimzadeh, H. (2005) The effect of NaCl on antioxidant enzyme activities in potato seedling. *Biologia Plantarum* 49 (1): 93-97.
- Sabaghpour, S. H., Mahmodi, A. A., Saeed, A., Kamel, M. and Malhotra R. S. (2006) Study on chickpea drought tolerance lines under dryland condition of Iran. *Indian Journal of Crop Science* 1 (1-2): 70-73.
- Xu, P. L., Guo, Y. K., Bai, J. G., Shang, L. and Wang, X. J. (2008) Effects of long-term chilling on ultrastructure and antioxidant activity in leaves of two cucumber cultivars under low light. *Physiologia Plantarum* 132: 467-478.
- Yazici, I., Turkan, F., Sekmen, A. H. and Demiral, T. (2007) Salinity tolerance of purslane (*Portulaca oleracea* L.) is achieved by enhanced antioxidative system, lower level of lipid peroxidation and proline accumulation. *Environmental and Experimental Botany* 61(1): 49-57.

Effect of dry stress on growth and antioxidant system in three chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars

Maryam Nasr Esfahani *

Department of Biology, Faculty of Sciences, Lorestan University, Khoram abad, Iran

Abstract

Water deficit is one of the major abiotic stresses which adversely affects plant growth and crop yield. In this study, the changes in the activity of antioxidant enzymes, growth parameters, proline and H₂O₂ contents and the rate of lipids peroxidation in terms of malondialdehyde in shoot and root tissues of three chickpea cultivars (Bivanij, Jam and Arman) under dry stress were investigated. Compared to the controls, dry stress resulted in the reduction of dry weights of the shoot and the root tissues in the studied three chickpea cultivars while magnitude of decrease was greater in jam cultivar comparee to the other two cultivars. Dry stress caused significant changes in proline, and Malondialdehyde (MDA) levels in shoot tissues in the studied cultivars. Bivanij and Arman cultivars also showed higher activities of ascorbate peroxidase, proxidase, catalase and glutathione reductase in the shoot tissues in comparison with jam. These higher antioxidant activities may help the tolerant cultivars to decrease oxidative damages of dry stress to membrane lipids as compared with sensitive cultivar. On the basis of results of this study, it can be concluded that: (1) Bivanij and Arman were tolerant but Jam was sensitive to dry stress (2) dry tolerance of Bivanij and Arman cultivars might be closely related to the increased capacity of the antioxidative system to scavenge reactive oxygen species and thus suppress lipid peroxidation under dry stress.

Key words : Antioxidant enzymes, Chickpea, Dry stress, Oxidative stress

Study of the rootstock and cultivar effect in PAL activity, production of phenolic and flavonoid compounds on flower, leaf and fruit in Pistachio (*Pistacia vera* L.)

Nazi Nadernejad^{1*}, Ali Ahmadimoghadam¹, Javad Hossyinfard² and Shahram Poorseyedi³

¹ Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran

² Department of Nutrition and Irrigation, Institute Pistachio Research, Iran

³ Department of Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran

Abstract

This study was carried out to assess and compare three pistachio cultivars (Ahmadaghahi, Ohadi and Kallehghuchi) on two rootstock (Mutica, Ahli) in relation to PAL activity, phenolic, flavonoid and anthocyanin in leaves, flowers, fruits and selection of the most suitable and compatible rootstock and scion in order to obtain resistance to environmental stresses. The results showed increased PAL activity, total phenolic and flavonoids and also positive correlation was observed between PAL activity and the existing compounds on leaves and flowers in Mutica-Ahmadaghahi, that showed a better resistance this than the others in environmental stresses. PAL activity and total phenolic in fruits of pistachio suffered a decreased when the maturation processes began. The hulls of the pistachio fruits, contained high level of phenolic compounds, (especially in Mutica-Ahmadaghahi) which may function as a protective layer and protective chemical against ultraviolet radiation and pathogen. The final concentration of phenolic compounds and flavonoids and antocyanins in the kernel, depended on the PAL activity in kernel's cultivar. Our results indicated the presence of a number of bioactive compounds in kernel and the highest amount belonged to Mutica-Ahmadaghahi. The results of this study showed that rootstock may affect the antioxidant compound in kernel in pistachio tree.

Key words: Rootstock, Pistachio, Phenolic compounds, Environmental stress, Cultivar, PAL activity

* Corresponding Author: nnademejad@uk.ac.ir

The ontogenic study of the ultrastructure in root cap cells of pea plant (*Pisum sativum* L.)

Ali Movafeghi *

Department of Plant Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Abstract

Root cap cells of plant species undergo different developmental changes. In the present study, the ontogeny of the root cap cells of *Pisum sativum* L. was studied. The root tips of 3-day-old seedlings were immersed in primary fixative containing 1.5% (w/v) paraformaldehyde and 2% (v/v) glutaraldehyde in 100 mM phosphate buffer prior to being transferred to a secondary fixative containing 1% (w/v) osmium tetroxide. The fixed materials were embedded in London white resin and 60 nm thick sections were studied using a transmission electron microscope (TEM). The cells of columella were evident under the meristem zone by showing characteristics typical of statocytes. In these cells, a large nucleus occupied a position at the proximal cell pole, whereas the plentiful amyloplasts and endoplasmic reticulum were placed at the distal cell pole. The cells differentiated to the secretory cells as they were shifted to the peripheral side of the root cap. The cells became larger and their nucleoplasmic ratio was reduced. Concurrently, the quantity of membranes of vesicular-tubular endoplasmic reticulum and Golgi dictyosomes increased. Consequently, all of the organelles were moved to the peripheral sides of the cytoplasm and an organelle-free zone in the upper side of the cells was formed. In the next step, a number of endoplasmic reticulum membranes surrounded the organelle-free zone in order to form the central vacuole. Therefore, endoplasmic reticulum could be considered as the origin of vacuole in the root cap cells of *Pisum sativum*. The growth of vacuole was the last ontogenetic stage in the cells, which finally sloughed off from the root cap.

Key words : Statocytes, Endoplasmic reticulum, Root cap, Ontogeny, Vacuole

* Corresponding Author: movafeghi@tabrizu.ac.ir

Effect of salinity on some growth parameters in three *Onobrychis* species (Fabaceae) in Iran

Roya Karamian * and Seddigheh Ataei Barazandeh

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

Abstract

Onobrychis is one of the important forage legume, which most of its wild species grow in Iran. In order to study of the effect of different salinity levels on percentage and rate of seed germination and also fresh and dry weights of seedlings in 3 *Onobrychis* species (*O. subnitens*, *O. viciifolia* and *O. melanotricha*), an experiment was carried out in three replicates using a factorial design with 5 treatments including 0 (control), 50, 100, 200 and 400 Mm NaCl. Results showed that as salinity increased, germination rate decreased in all species and was completely stopped in 400 mM NaCl. Results from mean comparison of fresh and dry weights of seedlings under salt stress showed that these parameters declined until 200 mM NaCl and there was a significant difference between different salinity levels. Results from quantitative and qualitative studies of proteins indicated that salt stress decreased peroxidase and polyphenol oxidase activities, but increased total protein content. In addition, free proline content increased in response to salinity stress in the studied species, which was used for osmotic regulation.

Key words : Antioxidant enzymes, *Onobrychis*, Proline, Salinity stress, Seed germination

* Corresponding Author: r_karamian@basu.ac.ir

Physiologic responses of suspension-cultured parsley cells to static magnetic field

Elham Rajabbeigi¹, Faezeh Ghanati^{1*} and Parviz Abdolmaleki²

¹ Department of Plant Biology, Faculty of Biological Science, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

² Department of Biophysics, Faculty of Biological Science, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Abstract

Magnetic field is an environmental factor for living organisms which affects biological processes in different ways. Living cells contain electrical charges which are produced by free ions or radicals. Magnetic fields can influence cells via interaction with ions and especially ferromagnetic materials, like iron. In this study, parsley or *Petroselinum crispum* cells were treated by static magnetic field (30 mT, for 4 hours) and the total content of iron, ferritin and the activity of ascorbate peroxidase, superoxide dismutase and catalase were assayed. Results showed a significant decrease in the total iron content and it was followed by a decrease in ferritin content. Ascorbate peroxidase activity was reduced. It could be resulted by decrease of iron as a structural element. However, superoxide dismutase and catalase activity increased in response to magnetic field compared to the control cells. It seemed that catalase activities increased scavenge H₂O₂ produced by increasing superoxide dismutase activity.

Key words: Ascorbate peroxidase, Iron, Superoxide dismutase, Ferritin, Catalase, Magnetic field

* Corresponding Author: ghangia@modares.ac.ir

A study of the flora and determination of life forms of plants in Galali iron mine

**Behrouz Eshghi Malayeri¹, Mahtab Asgari Nematian^{2*}, Fati me h Kaze me ini³
and Mohammad Mehdi Dehshiri³**

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

² Department of Biology, Payame Noor University, 19395-4697 Tehran, I. R. of Iran

³ Department of Biology, Islamic Azad University, Boroujerd Branch, Boroujerd, Iran

Abstract

In this survey, a floristic study was carried out in Galali iron mine. Galali mine is located in 58 Km northwest Hamedan, frontier Hamedan, Kermanshah, Sanandaj and at 47' 54' longitude and 34' 59' latitude. The method of plant collection in this region was classical method of regional floristic studies. Collecting plants were recognized and determined as families, genera and species by using of taxonomic method and required references. The collecting samples in this study were preserved in Herbarium of Bu-Ali Sina university. The life form of plant species was determined by Raunkier's method. This survey showed that in Galali iron mine, there were 36 families, 116 genera and 147 species and sub species units. Asteraceae, Brassicaceae, Poaceae, Fabaceae and Lamiaceae families had the most frequency. The life forms of plants included: phanerophytes (1%), cryptophytes (5%), hemicryptophytes (49%), chamaephytes (6%) and ,therophytes (39%). The highest geographical distribution was Irano-Turanian.

Key words: Chorotype, Life form, Flora, Galali mine

* Corresponding Author: mahtabasgari@pnu.ac.ir

Morphological and developmental study of *Alhagi pseudoalhagi* (M. B.) Desv. flower and anatomical features

Zahra Hashemi and Farkhondeh Rezanejad *

Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran

Abstract

In this study, flowers of *Alhagi pseudoalhagi* were structurally investigated with respect to cell-tissue manners in several developmental stages. Flowers had synsepalous calyx, papilionoid corolla and dark color wings with outstanding epidermal cells, attached keels which made closed corolla with vexillum, diadelphous and heteromorphy androecium. None of the organs had protective or secretory hairs. Anther characters were: tetrasporange, extrorse, longitudinal dehiscence, four wall layers (dicotyledonous) and secretory tapetum. Epidermal and subepidermal layers of calyx, corolla, ovary and attaching tissue of anther had phenolic (tanin) and fatty based materials. Gynoecium was monocarpellate and epigynous, with anatropous and crassinucellate ovules, open style and disk shaped stigma. After meiosis cytokinesis was simultaneous. When microspores were in mature stage embryo sac had not yet passed mitosis and nucleus were not made totally.

Key words: *Alhagi pseudoalhagi*, Papilionoid flower, Phenolic materials (tanin), Microsporogenesis

Effects of sodium chloride and salicylic acid on some photosynthetic parameters and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) plants

Naghme Momeni¹, Mohammad Javad Arvin², Gholamreza Khagoei negad¹, Batoul Keramat³ and Fatemeh Daneshmand^{4*}

¹ Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran

² Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran

³ Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran

⁴ Department of Biology, Payame Noor University, 19395-4697 Tehran, I. R. of Iran

Abstract

Salinity is a common abiotic stress that affects plant growth and development as well as crop production in most parts of the world. To study the effects of salt stress and salicylic acid pretreatments on the growth parameters, photosynthetic pigments, photochemical efficiency of photosystem II including: quantum yield of PS II (Φ PSII), maximum quantum yield of PS II (F_v/F_m) and non-photochemical quenching (NPQ) and mineral nutrients (Na^+ , K^+ , N, P, Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe, Zn^{2+} , Mn, Cu and B) of *Zea mays* L. (KSC704) a factorial experiment was conducted in completely randomized design (salinity in tow levels and salicylic acid in three levels) with 5 replicates. Salt stress reduced growth parameters and photosynthetic pigments (chl a, b and total), carotenoids, quantum yield of PS II (Φ PSII), maximum quantum yield of PS II (F_v/F_m) and increased non-photochemical quenching (NPQ). Moreover, salt stress affected mineral elements in the leaves of the plants. Salinity decreased the amounts of K^+ and Cu and increased Na^+ , P, Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe, Zn^{2+} , Mn and B but the contents of N and Ca^{2+} were not affected by salinity. SA pretreatment increased photosynthetic pigments and carotenoids, quantum yield of PS II (Φ PSII), maximum quantum yield of PS II (F_v/F_m) and decreased non-photochemical quenching (NPQ). SA application changed the absorption and translocation of mineral elements in the leaves and specifically decreased Na content. Positive effects of SA pretreatment appeared in reduction of salt stress and improving the plants growth.

Key words: Salt stress, Salicylic acid, Photochemical efficiency of photosystem II, Maize

* Corresponding Author: f.daneshmand@yahoo.com

Optimization of conditions suitable for bean (*Phaseolus vulgaris* L.) regeneration

Mahnaz Karami, Mohammad Bagher Bagherieh-Najjar^{1*} and Mahnaz Aghdasi

Department of Biology, Faculty of Sciences, Golestan University, Gorgan, Iran

Abstract

Common bean belongs to *Fabaceae* and the subfamily of Lotoideae. It is the most important species of the grain family with noticeable economic importance in human's nutrition. Regeneration from tissue culture is one of the most suitable and effective procedures for preservation and reproduction of the plants. In this investigation, induction of callus, shoot and root has been studied in common bean (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Goli) under different concentrations of α -Naphthaleneacetic acid and Benzyl amino purine. First, the seeds were surface sterilized and transferred to suitable medium to achieve sterile seedlings. After 10 days, explants (hypocotyl, root and leaf) from sterile seedlings were tested in 25 various hormone treatments. For induction of organogenesis, explants were transferred to solid Morashige and Skoog medium supplemented with 30 g/lit sucrose, B5 vitamins and different concentrations of α -Naphthaleneacetic acid (0, 0.1, 0.2, 0.4 and 0.8 mg/lit) and Benzyl amino purine (0, 0.5, 1, 2 and 4 mg/lit). Our data showed callus induction achieved in combination of two hormones: (0.4 mg/lit α -Naphthaleneacetic acid and 2 mg/lit Benzyl amino purine). Induction of shoot increased with increasing concentrations of Benzyl amino purine to 2 mg/lit and then decreased. Induction of roots increased with increasing α -Naphthaleneacetic acid concentrations. Furthermore, the level of internal auxin in common bean was high because the explants rooted in the minimum concentration of α -Naphthaleneacetic acid. Subsequently, complete seedlings were transferred to the soil for further investigations.

Key words: α -Naphthaleneacetic acid, Benzyl amino purine, Tissue culture, *Phaseolus vulgaris*

* Corresponding Author: mb.bagherieh@gu.ac.ir

Journal of Plant Biology
5th Year, No. 15, Spring 2013
ISSN (Print): 2008-8264
ISSN (Online): 2322-2204

Contents

- **Optimization of conditions suitable for bean (*Phaseolus vulgaris* L.) regeneration** 1
Mahnaz Karami, Mohammad Bagher Bagherieh-Najjar and Mahnaz Aghdasi
- **Effects of sodium chloride and salicylic acid on some photosynthetic parameters and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) plants** 2
Naghme Momeni, Mohammad Javad Arvin, Gholamreza Khagoei negad, Batoul Keramat and Fatemeh Daneshmand
- **Morphological and developmental study of *Alhagi pseudoalhagi* (M. B.) Desv. flower and anatomical features** 3
Zahra Hashemi and Farkhondeh Rezanejad
- **A study of the flora and determination of life forms of plants in Galali iron mine** 4
Behrouz Eshghi Malayeri, Mahtab Asgari Nematian, Fatemeh Kazemeini and Mohammad Mehdi Dehshiri
- **Physiologic responses of suspension-cultured parsley cells to static magnetic field** 5
Elham Rajabbeigi, Faezeh Ghanati and Parviz Abdolmaleki
- **Effect of salinity on some growth parameters in three *Onobrychis* species (Fabaceae) in Iran** 6
Roya Karamian and Seddigheh Ataei Barazandeh
- **The ontogenic study of the ultrastructure in root cap cells of pea plant (*Pisum sativum* L.)** 7
Ali Movafeghi
- **Study of the rootstock and cultivar effect in PAL activity, production of phenolic and flavonoid compounds on flower, leaf and fruit in Pistachio (*Pistacia vera* L.)** 8
Nazi Nademejad, Ali Ahmadimoghadam, Javad Hossyinifard and Shahram Poorseyedi
- **Effect of dry stress on growth and antioxidant system in three chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars** 9
Maryam Nasr Esfahani

Referees committee (5th Year, No. 15, Spring 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. Mahnaz Aghdasi	Mazandaran Agricultural and Natural Resources Research Center
Dr. Mohammadreza Amirjani	University of Arak
Dr. Nader Chaparzadeh	Azərbaycan University of Tarbiat Moallem
Dr. Abdolkarim Chehregani rad	Bu-Ali Sina University
Dr. Ali akbar Ehsanpour	University of Isfahan
Dr. Ezatollah Esfandiari	University of Maragheh
Dr. Sedigheh Es mailzadeh Bahabadi	University of Zabol
Dr. Faezeh Ghanati	Tarbiat Modares University
Dr. Majid Ghorbani Nahooji	Institute of Medicinal Plants (ACECR)
Dr. Roya Karamian	Bu-Ali Sina University
Dr. Farah Karimi	Shahed University
Dr. Seyed Mohammad Maassoumi	Razi University
Dr. Alireza Naqinejad	University of Mazandaran
Dr. Latifeh Pourakbar	University of Urmia
Dr. Mina Rabie	Payame Noor University
Dr. Roya Razavizadeh	Payame Noor University
Dr. Leila Shabani	University of Shahrekord

Journal of Plant Biology (Scientific Research Journal)

5th Year, No. 15, Spring 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: Spring 2013

Journal of Plant Biology

5th Year, No. 15, Spring 2013

Published by
University of Isfahan Research Center