[DOI: 10.22052/deej.2018.7.25.39]
Downloaded from deej.kashanu.ac.ir at 23:35 +0430 on Tuesday June 15th 2021

مجله علمی‌پژوهشی مهندسی اکوسیستم بیابان
سال هشتم، شماره بیست‌وپنجم، زمستان ۱۳۹۸، صفحه ۱۳ـ۲۶

تغییرات متابولیتی و یونی در برگ‌های گیاه اسفندک (*Zygophyllum fabago* L.) تحت‌تأثیر افزایش سن

نادر چاپارزاده[1*]، نیره عبادی[2]، کمال‌الدین دیلمقانی[3]، لیلا زرندی میاندوآب[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۴/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۱۷

چکیده

در این تحقیق، تغییرات متابولیتی و یونی که با افزایش سن برگ در گیاه اسفندک اتفاق می‌افتد بررسی شدند. برای مطالعهٔ این تغییرات، ۵ نمونه برگی از رأس به سمت پایه شماره‌گذاری شدند که مرحلهٔ جوانی تا بلوغ برگی را نشان می‌دهند، مورد سنجش قرار گرفتند. به هنگام بلوغ علاوه بر تفاوت‌های ظاهری، برخی نشانگرهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نیز تغییر می‌یابند. این بررسی‌ها بر پایهٔ طرح آماری کاملاً تصادفی و تجزیهٔ آماری داده‌ها به‌وسیلهٔ نرم‌افزار SPSS16 صورت پذیرفت. نتایج نشان داد که افزایش سن برگ سبب کاهش غلظت رنگدانه‌های فتوسنتزی می‌شود. همچنین میزان پروتئین، قندهای محلول و پرولین روند کاهشی منظم و معنی‌داری در بین موقعیت‌های برگ از رأس ساقه را نشان داد. یون‌های منیزیم، سدیم، پتاسیم و فسفر در برگ‌های اولیه از رأس ساقه و یون کلسیم در اندام‌های مسن بیشترین مقدار را نشان دادند. به نظر می‌رسد اسفندک با ایجاد تعادل در بیوسنتز و تجزیهٔ رنگدانه‌ها به‌خوبی توانسته است سیستم فتوسنتزی خود را در محیط دشوار رشدش حفظ کند. بالا بودن محتوای متابولیت‌ها و یون‌های مهم در برگ‌های جوان نشان‌دهندهٔ بسیج عوامل در حفاظت از برگ‌های حساس این گیاه است. بنابراین اسفندک تمام مشخصه‌های لازم برای کشت و پرورش در نواحی بیابانی بدون کاهش عملکرد را دارد.

واژه‌های کلیدی: اسفندک، سن برگ، نشانگرهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، رنگدانه‌های فتوسنتزی، پرولین.

۱. استاد گروه زیست‌شناسی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، nchapar@azaruniv.ac.ir
۲. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه زیست‌شناسی علوم گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرند
۳. استادیار گروه زیست‌شناسی علوم گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرند
۴. استادیار گروه زیست‌شناسی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

DOI: 10.22052/deej.2018.7.25.39

[DOI: 10.22052/deej.2018.7.25.39]
Downloaded from deej.kashanu.ac.ir at 23:35 +0430 on Tuesday June 15th 2021

مقدمه

گیاه *Zygophyllum fabago* L. (اسفندک) یک گیاه علفی C3 با توزیع گسترده، متحمل به شوری و مقاوم به خشکی، بومی آسیا و خاورمیانه است (خان[1] و همکاران، ۲۰۱۴). گیاهان این تیره به شکل درخت و درختچه، عمدتاً محدود به مناطق خشک و نیمه‌خشک هستند و در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری به‌طور ناهمگن پخش شده‌اند (حسین[2] و همکاران، ۲۰۱۱). اسفندک بومی بیابان‌های سوریه است ولی امروزه در اغلب کشورهای مجاور مدیترانه می‌روید (لوفور[3] و همکاران، ۲۰۰۵). اغلب به‌عنوان گیاه پیشرو در مراحل آغاز توالی اکوسیستم‌ها، شروع به تسخیر پهنه‌های جدید می‌کند؛ به‌ویژه در مناطقی که سایر گیاهان قادر به رویش و بقا نیستند.

به دو دلیل عمده، مطالعهٔ رفتار فیزیولوژیک اسفندک در محیط طبیعی رویش آن اهمیت بسزایی دارد. دلیل اول اینکه گونه‌های مختلف این گیاه اغلب برای تعلیف دام و یا تهیهٔ سوخت مورد استفاده قرار نمی‌گیرند، درحالی‌که همهٔ بخش‌های گیاه (برگ، ساقه، ریشه و میوه) ارزش دارویی چشمگیری دارند (ژو[4] و همکاران، ۲۰۰۶). اسفندک در طب سنتی در تهیه داروهای ضد روماتیسمی، نقرس و فشار خون بالا مورد استفاده قرار می‌گیرد (باتانونی[5] و همکاران، ۱۹۹۹). ترکیبات دارویی متنوعی همچون زیگوفیلین، اسید کینوویک، آلکالوئیدها، ساپونین‌ها، فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی با فعالیت آنتی‌باکتریال در گونه‌های مختلف اسفندک وجود دارد (عبدالرحیم و همکاران، ۲۰۱۶). بنابراین، تولید انبوه اسفندک در مقیاس وسیع (کشت تجاری) به‌خصوص در مناطقی که برای سیستم‌های کشاورزی سنتی مناسب نیستند، می‌تواند مورد توجه قرار گیرد. به‌دلیل وضعیت نامساعد شوری و خشکی محیط در بیابان‌های ایران، شناسایی و پرورش گیاهان مقاومی مانند اسفندک بسیار ارزشمند خواهد بود است (امین[6] و همکاران، ۲۰۱۳).

دلیل دوم، اولویت بازیابی، بهبود و حفاظت از خاک در محیط‌های بیابانی است که منجر به پایداری و توزیع جمعیت حیاتی چنین اکوسیستم‌هایی خواهد شد. انتخاب و معرفی گونه‌های مناسب برای بازیابی مهم است. گیاهان چندساله درختچه‌ای نظیر اسفندک عموماً به‌عنوان مهم‌ترین گونه‌های مناسب در پایداری و بازسازی اکوسیستم‌های بیابانی به شمار می‌روند؛ زیرا گیاهان علفی و درختان نخواهند توانست شرایط سخت بیابان را تحمل کنند (کیان[7] و همکاران، ۲۰۰۸).

درک مکانیسم بردباری اسفندک مستلزم شناخت انعطاف‌پذیری متابولیسم آن در رویشگاه‌های طبیعی است. تغییرات وابسته به سن در برگ‌های اسفندک ممکن است در نگهداری ظرفیت فتوسنتزی و توان بالای گیاه در شرایط نامناسب مؤثر باشد. ویژگی‌های فیزیولوژیکی برگ‌ها به سن و موقعیت آن‌ها روی ساقه بستگی دارد. واکنش گیاهان به عوامل محیطی به ویژگی‌های ساختاری و فیزیولوژیکی آن‌ها در مراحل مختلف رشد و نمو بستگی دارد و در این میان پاسخ‌برگ‌ها به محیط با سن و موقعیت آن‌ها روی ساقه مرتبط است (برینگه[8] و همکاران، ۲۰۰۶). مطالعهٔ عوامل متعددی که متناسب با افزایش سن برگ تغییر می‌کنند، در سال‌های اخیر مورد توجه بوده است. مطالعات مشابهی روی تنباکو (پاریدا و داس[9]، ۲۰۰۵)، آفتابگردان (سایرام[10] و همکاران، ۲۰۰۳)، کلم (لفسرود[11] و همکاران، ۲۰۰۷) و چند گونهٔ درختی نیز صورت گرفته است. این مطالعات می‌توانند تمامی مراحل، از تشکیل برگ تا پیری و یا در حالت کلی انتوژنی برگ را شامل شوند.

پیری برگ به‌دلیل اینکه طول دورهٔ ساخت مواد غذایی را در گیاهان تعیین می‌کند، یکی از عوامل تعیین‌کنندهٔ میزان عملکرد گیاهان است. اگرچه در بیشتر گونه‌ها پیری ناشی از افزایش سن است، عوامل درونی گیاه مانند تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و عوامل بیرونی مانند شدت نور و دما نیز

1. Khan
2. Hussein
3. Lefèvre
4. Zhou
5. Batanouny
6. Amin
7. Qian
8. Bringe
9. Parida & Das
10. Sairam
11. Lefsrud

[DOI: 10.22052/deej.2018.7.25.39]
Downloaded from deej.kashanu.ac.ir at 23:35 +0430 on Tuesday June 15th 2021

می‌توانند بر آغاز پیری و پیشرفت آن اثر داشته باشند. فرایند پیری در سطح مولکولی، سلولی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی بسیار هماهنگ عمل می‌کند و با تغییرات ویژه در ساختمان سلول، افزایش تشکیل رادیکال‌های فعال اکسیژن، افزایش پراکسیداسیون لیپیدی، افزایش آسیب غشایی، کاهش کلروفیل و کاروتنوئیدها همراه است که در نهایت منجر به کاهش توان و میزان فتوسنتز می‌شود (امینی و حداد، ۲۰۱۳).

طی بلوغ برگی تغییرات اساسی در کمیت و کیفیت نشانگرهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی رخ می‌دهد. به‌دلیل اهمیت رنگدانه‌ها در فعالیت برگ، مطالعهٔ محتوای رنگدانه‌ای می‌تواند دید روشنی دربارهٔ فعالیت فیزیولوژیکی برگ فراهم نماید (سیمز و گامون[1]، ۲۰۰۲). رنگدانه‌های گیاهی مانند کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها از نشانگرهای فیزیولوژیکی افزایش سن برگ‌ها بوده و همراه با نمو برگ و کلروپلاست‌ها، بیوسنتز آن‌ها نیز به‌منظور حفظ و افزایش کارایی فتوسنتز افزایش می‌یابد. میزان کاروتنوئیدهای برگ‌ها نشانهٔ مستقیم حفاظت فتوسیستم‌ها از تابش‌های با شدت نورِ فراوان است (چاپارزاده[2] و همکاران، ۲۰۱۳). بلوغ یا پیری انتوژنی با میزان کلروفیل برگ‌ها در ارتباط است و عموماً تا رسیدن به این مرحله یک روند افزایشی نشان می‌دهد (سواهیر[3] و همکاران، ۲۰۰۴). سن برگ و محل برگ بر توانایی فتوسنتزی و تبادلات گازی هم اثر دارد. اغلب این توانایی حالت خطی و یکنواختی از کاهش را بعد از باز شدن برگ نشان می‌دهد (زی و لو[4]، ۲۰۰۳). بعد از مرحلهٔ بلوغ، برگ‌ها به مرحلهٔ پیری می‌رسند.

در یک گیاه، کمیت و کیفیت متابولیت‌های برگ‌های جوان و برگ‌های بالغ متفاوت است و گیاهان از طریق ایجاد تعادل و توازن بین متابولیت‌های مختلف، فعالیت دستگاه فتوسنتزی خود را از گزند فاکتورهای خارجی یا تغییرات محیطی در امان نگه می‌دارند، که نتیجهٔ آن اغلب به‌صورت محافظت بهتر برگ‌های جوان نسبت به برگ‌های پیر مشاهده می‌شود (ریچ[5] و همکاران، ۲۰۰۴). دو متابولیت اولیهٔ پروتئین و قند از مهم‌ترین عوامل متابولیسمی هستند که میزان بیوسنتز و انباشتگی آن‌ها در ارتباط مستقیم با وضعیت اندام حاوی آن‌هاست. یک برگ جوان برای تکمیل ظرفیت فتوسنتزی خود نیازمند افزایش پروتئین‌های دخیل در این واکنش‌ها نظیر پروتئین‌های کمپلکس‌های جمع‌آوری‌کنندهٔ نور در فتوسیستم‌های ۱ و ۲، آنزیم‌های مسیرهای بیوسنتزی و... است. در بافت‌های فعال فتوسنتزی گونه‌های C3 ریبولوز ۱و۵ بیس فسفات‌کربوکسیلاز/ اکسیژناز (روبیسکو) بیش از ۵۰درصد محتوای پروتئینی سلول را تشکیل می‌دهد. با تعیین محتوای پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک برگ‌ها می‌توان زمان شروع پیری را تعیین کرد؛ زیرا زمان آغاز تخریب آن‌ها می‌تواند یکی از نشانگرهای آغاز پیری برگ باشد (فلر و فیشر[6]، ۱۹۹۴).

اسیدهای‌آمینه نیز از متابولیت‌های عمدهٔ دارای کربن و نیتروژن هستند (کابلو[7] و همکاران، ۲۰۰۶). بیوسنتز اسیدهای‌آمینه به‌صورت نموی تنظیم و در بخش‌های جوان گیاه فعال است. محتوای اسیدهای‌آمینه بسته به شرایط فیزیولوژیکی، ژنتیکی و محیطی مانند شدت‌های تابشی نوری مختلف تغییر می‌کند (روح‌اله[8] و همکاران، ۲۰۰۳). پرولین از جمله اسیدهای‌آمینه‌ای است که در پاسخ به شرایط تنش‌های محیطی تجمع یافته و دارای عملکردهای ویژه‌ای می‌باشد. این اسیدآمینه با تجمع در برگ‌ها از واسرشته شدن پروتئین‌ها جلوگیری می‌کند. همچنین از طریق میانکنش با فسفولیپیدهای غشایی باعث حفظ پایداری غشاها شده و به‌عنوان جمع‌کنندهٔ هیدروکسیل‌ها یا به‌عنوان ذخیره‌ای از ترکیبات نیتروژنی در سلول‌ها عمل می‌کند (توماس و جیمز[9]، ۱۹۹۳).

رشد و نمو گیاه وابسته به فرایندهایی است که با تولید، انتقال و استفاده از فرآورده‌های فتوسنتزی ارتباط دارند. برگ جوان به سرعت رشد می‌کند، نیتروژن و کربن را از

1. Sims & Gamon
2. Chaparzadeh
3. Cevahir
4. Xie & Luo
5. Reich
6. Feller & Fischer
7. Cabello
8. Ruuhola
9. Thomas & James

[DOI: 10.22052/deej.2018.7.25.39]
Downloaded from deej.kashanu.ac.ir at 23:35 +0430 on Tuesday June 15th 2021

بخش‌های دیگر گیاه کسب و سنتز پروتئین را شدت می‌بخشد. این حالت تا زمانی ادامه می‌یابد که برگ بتواند ظرفیت کامل برای انجام فتوسنتز را پیدا کند. در حقیقت با بلوغ دستگاه فتوسنتزی، برگ به مخزنی از کربوهیدرات‌ها تبدیل می‌شود (درتینگر[1] و همکاران، ۲۰۰۳).

مرحلهٔ بلوغ تأثیر مهمی روی نحوهٔ جذب، انتقال و انباشتگی مواد معدنی گیاه دارد. با افزایش سن گیاه سطح مواد معدنی آن‌ها تغییر می‌یابد. تغییر در محتوای سدیم و پتاسیم نقش بسزایی در تعیین راهکار مقابله با شرایط سخت محیطی دارد که گیاه شورپسند در آن می‌روید. میزان کلسیم با افزایش سن گیاه افزایش می‌یابد، درحالی‌که مقدار فسفر با افزایش سن گیاه کاهش می‌یابد که همراه با بالغ شدن گیاه است. به عبارت بهتر مقدار فسفر در برگ‌های جوان زیاد است در صورتی که در برگ‌های پیر مقدار کلسیم بیشتر است (راهداری[2]، ۲۰۱۱). منیزیم نیز به‌عنوان یک عنصر غیرمتحرک و مفید در تحمل تنش، با افزایش سن افزایش محتوای نسبی در اندام‌های هوایی گیاهان متحمل نشان می‌دهد (عظیمی‌گندمانی[3] و همکاران، ۲۰۰۹).

این پژوهش با هدف بررسی تغییرات محتوای متابولیت‌های اولیه، رنگدانه‌های فتوسنتزی و عناصر غذایی وابسته به سن در برگ گیاه اسفندک انجام گرفت تا بتوان تصویری از مکانیسم‌های فیزیولوژیکی مؤثر در مقاومت این گیاه به شرایط سخت ترسیم شود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، برگ‌های گیاه اسفندک به‌عنوان نمونه‌های مدنظر انتخاب شدند. برای بررسی رفتارهای طبیعی گیاهان در محیط رشد طبیعی آن‌ها، برگ‌های اسفندک در ساعت ۷ صبح جمع‌آوری شدند. در این گیاهان، شاخه‌های جوانی که هنوز وارد مرحلهٔ گل‌دهی نشده بودند انتخاب و برگ‌های متقابل آن‌ها از رأس به‌عنوان جوان‌ترین برگ (برگ شمارهٔ ۱) انتخاب شدند و با رفتن به سمت پایه و گذشت زمان، سن برگ افزایش می‌یابد که به‌ترتیب به‌سمت پایهٔ برگ‌های شمارهٔ ۲، ۳، ۴ ، ۵ نمونه‌برداری شدند. پس از جمع‌آوری تعداد کافی از برگ‌ها در ظروف دربسته به فریزر آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه وزن تر هر برگ به‌وسیلهٔ ترازوی حساس دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. برگ‌ها در داخل پلیت در دستگاه آون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شدند و بعد از سپری شدن این مدت وزن خشک برگ‌ها با ترازوی حساس دیجیتالی اندازه‌گیری شدند. تعدادی از برگ‌های تازه نیز برای سنجش پرولین، پروتئین‌های محلول کل و رنگدانه‌های فتوسنتزی در فریزر ۲۰- نگهداری شدند.

سنجش رنگدانه‌های فتوسنتزی: پس از اندازه‌گیری وزن تر و سابیدن هر نمونهٔ برگی در ظرف شیشه‌ای درب‌دار حاوی ۵ میلی‌لیتر استون در یخچال (تاریکی) به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شد. سپس با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر CECIL مدل ۲۰۴۱ مقدار جذب نوری عصاره‌های رنگیزه‌ای در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شدند (لیچتنتالر[4]، ۱۹۸۷). گزارش نهایی مقادیر کلروفیل *a*، *b* و کاروتنوئیدها برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بیان شده است.

سنجش محتوای پروتئین‌های محلول کل: ۰/۴ گرم از نمونهٔ تر گیاهی در ۵ میلی‌لیتر بافر تریس–گلیسین در داخل یخ در هاون چینی سابیده شد. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۶۶۰ nm توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (مک‌میلان و مک‌کلندون[5]، ۱۹۸۳). با در دست داشتن وزن تر نمونه‌ها و با استفاده از منحنی استاندارد سرم آلبومین گاوی (BSA) مقدار نهایی پروتئین‌های محلول کل برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ گزارش شد.

سنجش محتوای پرولین: ۰/۲ گرم از بافت برگی تر با ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوسالیسیلیک ۳٪ همگن و بعد از سانتریفیوژ (۱۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه) مقادیری از مایع رویی با اسیدنین هیدرین و اسیداستیک خالص مخلوط و مدتی در بن‌ماری جوشان قرار گرفت.

1. Dertinger
2. Rahdari
3. Azimi Gandomani
4. Lichthentaler
5. McMillen & McClendon

[DOI: 10.22052/deej.2018.7.25.39]
Downloaded from deej.kashanu.ac.ir at 23:35 +0430 on Tuesday June 15th 2021

بلافاصله بعد از توقف واکنش در آب یخ با اضافه کردن تولوئن و انتقال پرولین به فاز رنگی تولوئنی جذب آن‌ها در طول موج ۵۲۰nm تعیین شد (باتیس[1] و همکاران، ۱۹۷۳). با رسم منحنی استاندارد از پرولین مقدار آن بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ گزارش شد.

سنجش میزان کربوهیدرات محلول: ۰/۱ گرم نمونهٔ خشک گیاهی با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰٪ همگن و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد جوشانده شد. بعد از سرد شدن، عصارهٔ صاف و حجم محلول با آب مقطر به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. روی محلول ۲/۵ میلی‌لیتر هیدروکسیدباریم $Ba(OH)_2$ ۰/۳ نرمال و همچنین ۲/۵ میلی‌لیتر سولفات‌روی ($ZnSO_4$) ۵٪ اضافه شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه با ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس محلول رویی حاوی قندهای محلول از رسوب جدا شد و به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. در مرحلهٔ بعد، ۲ میلی‌لیتر از عصارهٔ قند محلول برداشته و روی آن ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ به همراه ۱ میلی‌لیتر فنل ۵٪ ریخته شد. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه، محتوایات لولهٔ آزمایش به مدت ۱ـ۲ دقیقه با ورتکس تکان داده و سپس جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۴۸۵ nm توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (شلیگل[2]، ۱۹۸۶). در نهایت با استفاده از منحنی استاندارد از گلوکز مقدار کربوهیدرات‌های محلول بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ گزارش شد.

سنجش محتوای عناصر: برای اندازه‌گیری عناصر کلسیم، منیزیم، سدیم، پتاسیم و فسفر، ۱ گرم از نمونه خشک گیاهی به مدت ۴ ساعت در دمای ۶۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد در کورهٔ الکتریکی سوزانده و به خاکستر تبدیل شد. بعد از سرد شدن ۱ میلی‌لیتر اسید کلریدریک نرمال برای حل کردن خاکستر اضافه و در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. از محلول به‌دست‌آمده برای اندازه‌گیری عناصر یادشده استفاده شد (دوی[3]، ۲۰۰۵).

سنجش محتوای کلسیم و منیزیم: میزان غلظت یون‌های کلسیم و منیزیم با روش کمپلکسومتری و با استفاده از معرف‌های رنگی موروکسید و اریوکروم سیاه تعیین شد (پریرا[4] و همکاران، ۲۰۱۱). پس از محاسبات، مقادیر این عناصر برحسب میلی‌گرم بر گرم مادهٔ خشک به دست آمد.

سنجش محتوای سدیم و پتاسیم: غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم در محلول خاکستر گیاه با استفاده از دستگاه فلیم‌فتومتر Sherwood مدل ۴۱۰ برحسب ppm اندازه‌گیری و سپس مقادیر عناصر مذکور برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک محاسبه شد (گلوهیچ[5] و همکاران، ۲۰۰۹).

سنجش محتوای فسفر: ۱ میلی‌لیتر از محلول خاکستر گیاه با ۳ میلی‌لیتر معرف مولیبدات – وانادات زرد در لولهٔ آزمایش ریخته و با ورتکس به مدت ۱۰ ثانیه هم زده شد. سپس ۶ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد. پس از نیم ساعت جذب نوری محلول‌های تهیه‌شده در طول موج ۴۵۰ nm به‌وسیلهٔ دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. سپس مقدار فسفر بر اساس منحنی استاندارد فسفر و محاسبات مربوط برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک محاسبه شد (کیتسون و ملون[6]، ۱۹۴۴).

بررسی آماری: هریک از سنجش‌ها برای هر نمونه ۳ بار تکرار و داده‌های حاصل از اندازه‌گیری پارامترها و سنجش عناصر با استفاده از نرم‌افزار SPSS16 و به روش تجزیهٔ واریانس یک‌طرفه با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵درصد آنالیز شدند. شکل‌ها با نرم‌افزار Excel ۲۰۱۳ رسم شدند.

نتایج

محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی: بر اساس جدول (۱) مقادیر همهٔ رنگدانه‌های اصلی کلروفیل *a*، *b* و کلروفیل کل با افزایش سن و فاصله گرفتن آن‌ها از رأس شاخه روند کاهشی منظم و معنی‌داری را نشان می‌دهد. این روند کاهشی دربارهٔ رنگدانه کمکی کاروتنوئید نیز صادق است که به ثبات نسبی نسبت کاروتنوئیدها به کلروفیل منجر شده است.

1. Bates
2. Sheligl
3. Devi
4. Pereira
5. Gluhić
6. Kitson & Mellon

[DOI: 10.22052/deej.2018.7.25.39]
Downloaded from deej.kashanu.ac.ir at 23:35 +0430 on Tuesday June 15th 2021

چنان‌که از داده‌های جدول (۱) مشخص می‌شود تغییرات این نسبت در برگ‌های با موقعیت متفاوت روی ساقه معنی‌دار نیست.

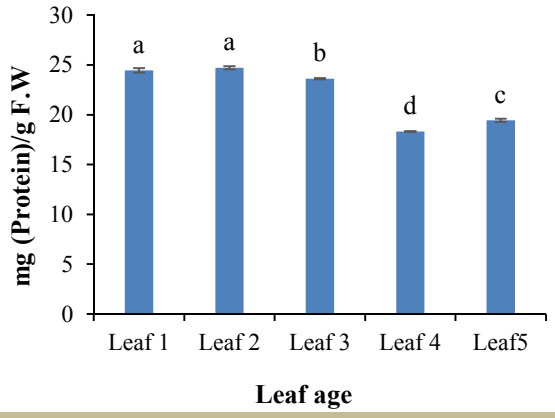
جدول (۱): تأثیر سن برگ بر محتوای کلروفیل و کاروتنوئید (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) (میانگین ۳ تکرار ± انحراف از معیار) و نسبت‌های آن‌ها

Table (1): The effect of leaf age on chlorophyll, carotenoid content and their ratio in *Z . fabago*

برگ	کلروفیل *a*	کلروفیل *b*	کلروفیل *کل*	کاروتنوئیدها	نسبت کاروتنوئیدها به کلروفیل
۱	۱/۰۸۸ a ± ۰/۰۳۱	۰/۴۰۷ ab ± ۰/۰۲۹	۱/۴۸۶ a ±۰/۰۷۱	۰/۰۴۷ ab ±۰/۰۰۱	۰/۰۳۱ a ±۰/۰۰۲
۲	۱/۰۰۸ a ± ۰/۰۵۷	۰/۴۵۰ a ± ۰/۰۴۰	۱/۴۶۲ a ±۰/۰۹۷	۰/۰۵۱ a ± ۰/۰۰۴	۰/۰۳۴ a ±۰/۰۰۰۹
۳	۰/۷۳۹ b ± ۰/۰۴۴	۰/۴۱۵ ab ± ۰/۰۳۱	۱/۱۱۵ b ± ۰/۰۲۳	۰/۰۳۴ c ±۰/۰۰۲	۰/۰۳۱ a ±۰/۰۰۱
۴	۰/۷۷۷ b ±۰/۰۶۶	۰/۰۳۲۸ bc ±۰/۰۲۲	۱/۱۰۲ b ± ۰/۰۸۶	۰/۰۳۸ bc ±۰/۰۰۱	۰/۰۳۵ a ±۰/۰۰۱
۵	۰/۷۹۱ b ±۰/۰۷۸	۰/۲۸۹ c ±۰/۰۲۷	۱/۰۸۲ b ±۰/۱۰۵	۰/۰۳۹ bc ±۰/۰۰۳	۰/۰۳۶ a ±۰/۰۰۰۸

حروف یکسان در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ است.

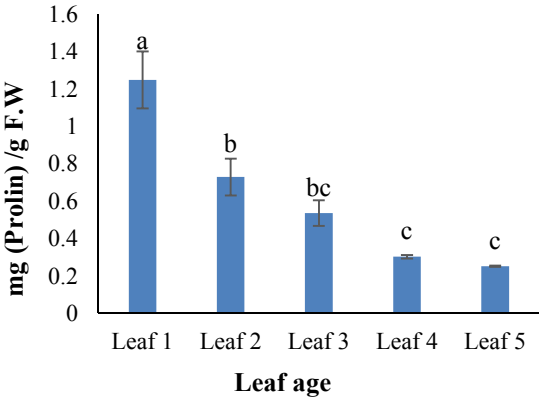
محتوای پروتئین‌های محلول کل: مطابق شکل (۱)، موقعیت برگ‌های ۱ و ۲ از رأس ساقه بیشترین و موقعیت برگ ۴ کمترین مقدار پروتئین‌های محلول کل را به‌طور معنی‌داری به خود اختصاص داده‌اند. کاهش منظم مقدار پروتئین با افزایش سن برگ مشهود است.



شکل (۱): تأثیر سن برگ بر محتوای پروتئین‌های کل محلول در اسفندک (میانگین ۳ تکرار± انحراف از معیار). حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ است.

Figure (1): the effect of leaf age on total soluble proteins content in Z. fabago (mean 3 rep± SE)

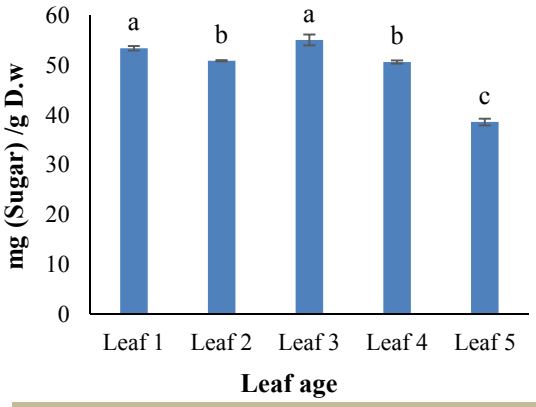
محتوای پرولین: بر اساس شکل (۲)، مقدار پرولین از برگ ۱ تا برگ ۴ با افزایش سن کاهش معنی‌داری را نشان داد. نتایج حاصل نشان داد که هر چقدر موقعیت برگ‌ها از رأس ساقه در این گیاه افزایش می‌یابد، از میزان پرولین برگ کاسته می‌شود.



شکل (۲): تأثیر سن برگ بر محتوای پرولین در اسفندک (میانگین ۳ تکرار±انحراف از معیار). حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

Figure (2): the effect of leaf age on proline content in Z. fabago (mean 3 rep± SE)

محتوای کربوهیدرات محلول: طبق شکل (۳) مقدار بیشتر کربوهیدارت در موقعیت برگ‌های ۱ و ۳ از رأس ساقه و کمترین مقدار در برگ ۵ از موقعیت رأس ساقه به‌طور معنی‌داری مشاهده شد. نتایج حاصل از قندهای محلول نشان می‌دهد که با افزایش موقعیت برگ‌ها از رأس ساقه مقدار قندهای محلول در گیاه *Z.fabago* تا حدودی کاهش می‌یابد.

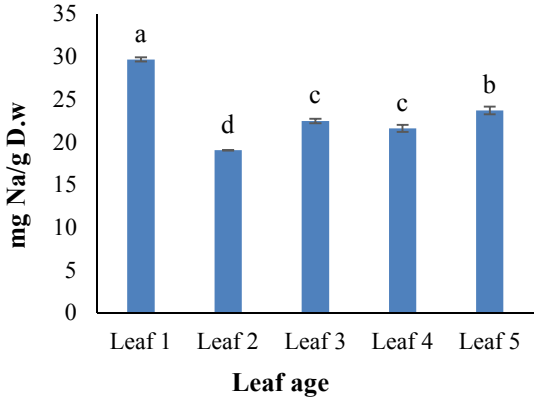


شکل (۳): تأثیر سن برگ بر محتوای کربوهیدرات محلول اسفندک (میانگین ۳ تکرار±انحراف از معیار). حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

Figure (3): the effect of leaf age on soluble sugers content in Z. fabago (mean 3 rep± SE)

[DOI: 10.22052/deej.2018.7.25.39]
Downloaded from deej.kashanu.ac.ir at 23:35 +0430 on Tuesday June 15th 2021

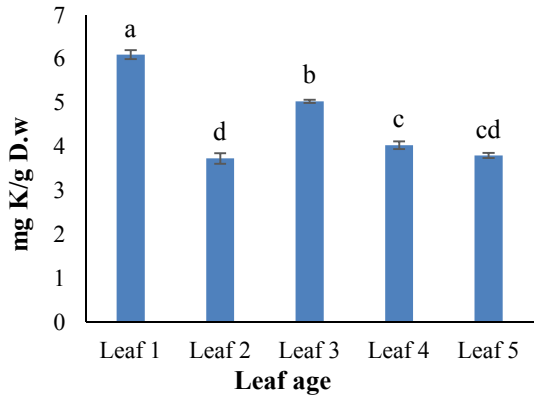
محتوای سدیم: طبق شکل (۴) بیشترین مقدار سدیم در موقعیت برگ ۱ از رأس ساقه و کمترین مقدار در موقعیت برگ ۲ به‌طور معنی‌داری مشاهده شد.



شکل (۴): تأثیر سن برگ بر محتوای سدیم اسفندک (میانگین ۳ تکرار± انحراف از معیار). حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

Figure (4): the effect of leaf age on Na content in Z. fabago (mean 3 rep± SE)

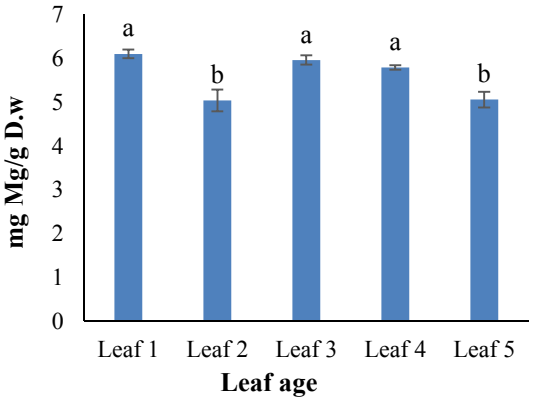
محتوای پتاسیم: طبق شکل (۵) بیشترین مقدار پتاسیم در موقعیت برگ ۱ از رأس ساقه و کمترین مقدار در موقعیت برگ ۲ به‌طور معنی‌داری مشاهده شد.



شکل (۵): تأثیر سن برگ بر محتوای پتاسیم اسفندک (میانگین ۳ تکرار± انحراف از معیار). حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

Figure (5): the effect of leaf age on K content in Z. fabago (mean 3 rep± SE)

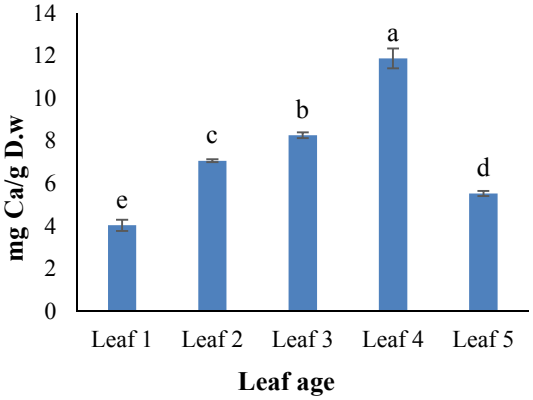
محتوای منیزیم: طبق شکل (۶) مقدار منیزیم در موقعیت برگ‌های ۱، ۳ و ۴ از رأس ساقه بیشترین و در موقعیت برگ ۲ و ۵ کمترین مقدار معنی‌داری را نشان داد.



شکل (۶): تأثیر سن برگ بر محتوای منیزیم اسفندک (میانگین ۳ تکرار± انحراف از معیار). حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

Figure (6): the effect of leaf age on Mg content in Z .fabago (mean 3 rep± SE)

محتوای کلسیم: بر اساس شکل (۷) بیشترین و کمترین مقدار کلسیم در موقعیت‌های برگ های ۴ و ۱ به‌طور معنی‌دار دیده شده است.

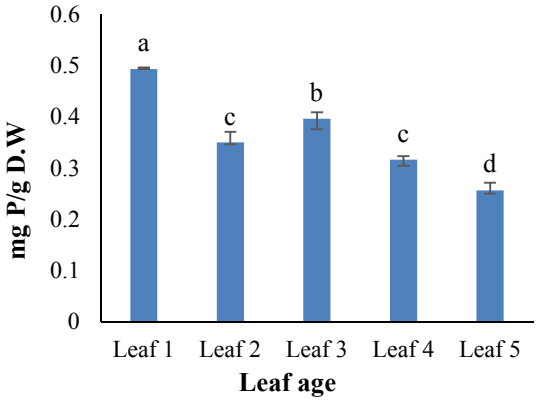


شکل (۷): تأثیر سن برگ بر محتوای کلسیم اسفندک (میانگین ۳ تکرار± انحراف از معیار). حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

Figure (7): the effect of leaf age on Ca content in Z. fabago (mean 3 rep± SE)

محتوای فسفر: مطابق شکل (۸) مقدار فسفر از برگ ۱ تا برگ ۴ با افزایش سن برگ کاهش معنی‌داری را نشان داده است.

[DOI: 10.22052/deej.2018.7.25.39]
Downloaded from deej.kashanu.ac.ir at 23:35 +0430 on Tuesday June 15th 2021



شکل (۸): تأثیر سن برگ بر محتوای فسفر اسفندک (میانگین ۳ تکرار± انحراف از معیار). حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

Figure (2): the effect of leaf age on P content in Z. fabago (mean 3 rep± SE)

بحث و نتیجه‌گیری

محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی: متناسب با سن و موقعیت برگ روی شاخه، سطح برگ به‌تدریج افزایش یافته و همراه با آن تغییرات بیوشیمیایی برای تولید کلروپلاست‌های کاملاً نمویافته انجام می‌شود. طبق جدول (۱) بیشترین میزان کلروفیل کل مربوط به برگ‌های اولیه از رأس ساقه است که احتمالاً فعالیت فتوسنتزی بیشتر را نشان خواهند داد و کمترین میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی در برگ‌های ۳، ۴ و ۵ نشانگر فعالیت کمتر فتوسنتزی است. احتمالاً فعالیت فتوسنتزی با افزایش سن برگ‌ها از رأس ساقه به‌سبب کاهش غلظت رنگدانه‌های فتوسنتزی کم شده است. میزان کلروفیل کل از برگ یک تا برگ ششم از رأس ساقه در گیاه *Mentha pulegium* L. افزایش یافته و به حداکثر مقدار خود می‌رسد و سپس روند کاهش آغاز می‌شود (کاندان و تارهان[1]، ۲۰۰۳) و در سیب‌زمینی (پویاتی[2] و همکاران، ۲۰۰۹) و آفتابگردان (سایرام و همکاران، ۲۰۰۳) نیز نتایج مشابهی گزارش شده است. چاپارزاده و همکاران، میزان کلروفیل کل در برگ شمارهٔ اول، *Rosa hybrid* را به بیشترین غلظت گزارش کردند (چاپارزاده و همکاران، ۲۰۱۳). مطالعهٔ برگ‌های کلم در سنین مختلف نیز افزایش میزان کلروفیل *a* و *b* را تا رسیدن به مرحلهٔ بلوغ نشان داد (لفسرود و همکاران، ۲۰۰۷). مطالعهٔ کلروفیل *a* در *Rosa hybrid* L.، افزایش معنی‌دار وابسته به سن از برگ ۱ تا برگ ۳ داشته ولی بین برگ‌های ۳ و ۴ تفاوت غیرمعنی‌دار بوده است. دربارهٔ *Z . fabago* به نظر می‌رسد بالا بودن مقدار کلروفیل *a* در برگ‌های جوان به‌دلیل تکوین بیشتر کلروپلاست‌ها در این برگ‌ها باشد. در مطالعهٔ کلروفیل *b* در *R. hybrid* L. نیز اظهار کردند که برگ شمارهٔ ۱ بیشترین و برگ شمارهٔ ۴ کمترین غلظت کلروفیل *b* را به خود اختصاص دادند که در *Z . fabago* نیز طبق جدول (۱) تا حدودی چنین تغییری مشاهده شده است. به تبع تغییرات غلظت کلروفیل *a* و *b*، کلروفیل کل نیز با افزایش سن برگ کاهش منظم و معنی‌داری را نشان می‌دهد.

نتایج حاصل از سنجش محتوای کاروتنوئیدها نیز حاکی از کاهش منظم و ملایم آن با افزایش سن برگ است. وظیفهٔ این رنگدانه‌های کمکی، جذب نور و محافظت از آسیب نور مازاد به دستگاه فتوسنتزی است. ظرفیت تثبیت کربن در برگ‌های جوان تا رسیدن به مرحلهٔ بلوغ پایین است. بنابراین این برگ‌ها در مواجهه با پرتوهای با انرژی بالا فقط کسری از انرژی دریافت‌شده را می‌توانند در واکنش‌های فتوشیمیایی استفاده کنند و مقدار و فعالیت بیشتر کاروتنوئیدها در موقعیت‌های برگ‌های اولیه نسبت به برگ‌های دورتر و پیرتر ضروری است (جیانگ[3] و همکاران، ۲۰۰۵). از سوی دیگر، کاروتنوئیدها از اجزای کلیدی و مهم سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاهان هستند. سلول‌های گیاهی به تخریب اکسیداتیو بسیار حساس‌اند. تنش اکسیداتیو ایجادشده در اثر تنش‌های محیطی در بافت‌های گیاهی توسط فعالیت کاروتنوئید کاهش می‌یابد و باعث کاهش رادیکال‌های آزاد تولیدشده در برگ شده و از این طریق آسیب مراکز واکنشی و غشاها کاهش می‌یابد. از طرفی کاروتنوئیدها از جمله سیستم‌های دفاعی هستند که به‌تدریج و با بلوغ برگ، جایگزین سیستم دفاعی آنتوسیانینی برگ جوان می‌شوند. کاهش میزان کاروتنوئیدها بعد از بلوغ برگی احتمال تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن را افزایش می‌دهد (کاندان و تارهان، ۲۰۰۳). در آفتابگردان، افزایش

1. Candan & Tarhan
2. Poiatti
3. Jiang

[DOI: 10.22052/deej.2018.7.25.39]
Downloaded from deej.kashanu.ac.ir at 23:35 +0430 on Tuesday June 15th 2021

میزان کاروتنوئیدها از برگ جوان تا برگ بالغ گزارش شده است (سایرام و همکاران، ۲۰۰۳). به نظر می‌رسد در *Z.fabago* مقدار کاروتنوئیدها که نقش بازدارندگی نوری دارند و با خاموش‌سازی نور مازاد جذب‌شده توسط کلروفیل از طریق چرخهٔ گزانتوفیل مانع از اکسیداسیون نوری و آسیب به دستگاه فتوسنتزی می‌شوند، در برگ‌های اولیه بیشتر است.

محتوای پروتئین‌های محلول کل: کاهش منظم محتوای پروتئین برگ‌ها با افزایش سن برگ (شکل ۱) ممکن است در ارتباط با مکانیسم‌های مقاومت اسفندک باشد. گیاهان از طریق مسیرهای علامتی مختلف که منجر به تولید تعدادی از ترکیبات پروتئینی و غیرپروتئینی دفاعی می‌شوند با تنش‌های محیطی مقابله می‌کنند. پروتئین‌ها نقش مهمی در دفاع گیاه به‌واسطهٔ آنزیم‌های مختلف دفاعی و ترکیبات غیرآنزیمی بازی می‌کنند. تغییر محتوای پروتئین‌ها طی تنش‌های محیطی می‌تواند به‌علت سنتز آنزیم‌های دفاعی یا دیگر ترکیبات پروتئینی یا کاهش فعالیت آنزیم پروتئاز باشد (وار[1] و همکاران، ۲۰۱۱). در بررسی انجام‌شده روی برگ‌های تنباکو در سنین مختلف، افزایش میزان پروتئین‌ها تا حدود ۲۰ روزگی که به‌عنوان زمان بلوغ برگی در نظر گرفته شده مشاهده شده است و با آغاز روند پیری میزان پروتئین‌ها کاهش می‌یابد. به نظر می‌رسد حجم عمدهٔ این کاهش مربوط به تخریب روبیسکو باشد؛ زیرا این آنزیم به‌تنهایی شامل بیش از ۵۰درصد محتوای پروتئینی سلول است (اوهه[2] و همکاران، ۲۰۰۵). در یک بررسی دیگر که روی آفتابگردان *Heliantus annuus* L. در مرحلهٔ پیش از گل‌دهی انجام شده، کاهش تدریجی پروتئین‌ها از جوان‌ترین برگ تا پیرترین برگ از برگ‌های رأسی به سمت برگ‌های پایه مشاهده شده که نشانگر بالا بودن نرخ تخریب پروتئین‌ها در همهٔ این مراحل است (سایرام و همکاران، ۲۰۰۳). کیتاجیما[3] و همکارانش کاهش فتوسنتز و کاهش میزان mRNA مسئول بیوسنتز روبیسکو را با افزایش سن برگ گزارش کرده‌اند (کیتاجیما و همکاران ۲۰۰۲).

محتوای پرولین: بر اساس شکل (۲)، مقدار پرولین با افزایش سن کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد هر چقدر موقعیت برگ‌ها از رأس ساقه در این گیاه افزایش می‌یابد از میزان پرولین برگ کاسته می‌شود. پرولین به‌عنوان یک اسیدآمینه علامتی/ تنظیمی در نظر گرفته می‌شود که می‌تواند چندین مکانیسم مولکولی و یا فیزیولوژیکی را فعال کند. نقش پرولین تحت تنش اکسیداتیو، پایدار کردن کمپلکس‌های پروتئینی، تنظیم pH سیتوزولی و به‌عنوان جاروب‌کنندهٔ رادیکال‌های آزاد اکسیژن است. پرولین محافظت‌کنندهٔ اسمزی است که به پایداری غشا طی تنش کمک می‌کند (اشرف و فولاد[4]، ۲۰۰۷). میزان بالای این اسیدآمینه در جوانه‌ها و برگ‌های جوان گیاه *Betula pubescens* Ehrh. مربوط به دمای کم در طی ساعات شب است (روح‌اله و همکاران، ۲۰۰۳). در گیاه *Brassica juncea* L. از رأس ساقه از برگ ۱ تا برگ ۴ کاهش مقدار پرولین مشاهده شده که این کاهش به تفاوت سن فیزیولوژیکی برگ‌ها و میزان مواجه آن‌ها با نور خورشید نسبت داده شده است. برگ اول جوان‌ترین برگ بوده و بیشترین نور را در مقایسه با سایر برگ‌ها دریافت می‌کند. در این گیاه میزان فعالیت آنزیم پیرولین ۵-کربوکسیلاز ردوکتاز (P5C) که آنزیم کاتالیزکنندهٔ مرحلهٔ نهایی بیوسنتز پرولین است، کاهش نشان می‌دهد (مادان[5] و همکاران، ۱۹۹۴). به این ترتیب احتمال دارد مقدار بالای پرولین برگ‌های جوان به سن فیزیولوژیکی و حساسیت آن‌ها در مقابل نور در طی روز و دمای کم ساعات شب باشد.

محتوای کربوهیدرات محلول: نتایج حاصل دربارهٔ قندهای محلول نشان می‌دهد که با افزایش موقعیت برگ‌ها از رأس ساقه مقدار قندهای محلول در گیاه *Z.fabago* تا حدودی کاهش می‌یابد (شکل ۳). محل تولید کربوهیدرات‌ها برگ‌های بالغ فتوسنتزی (منبع) است که کربوهیدرات‌ها را به میزان بیش از نیاز خود تولید می‌کنند. اندام‌های غیرفتوسنتزی مانند ریشه‌ها و برگ‌های جوان در حال رشد (مقصد) که قادر به تأمین مواد مورد نیاز خود برای رشد نیستند، برای نمو

1. War
2. Ohe
3. Kitajima
4. Ashraf & Foolad
5. Madan

[DOI: 10.22052/deej.2018.7.25.39]
Downloaded from deej.kashanu.ac.ir at 23:35 +0430 on Tuesday June 15th 2021

طبیعی خود نیازمند واردات کربوهیدرات‌ها هستند (فیوچت[1] همکاران، ۲۰۰۴). نوسانات قندها می‌تواند به‌علت تغییرات در همگون‌سازی CO_2 و همچنین مربوط به فعال شدن پس‌ترجمه‌ای و افزایش بیان آنزیم‌های ساکارزستاز و مهار آنزیم‌های چرخهٔ کالوین در شرایط تنش باشد. در *Z. fabago*، برگ جوان در حال نمو به‌دلیل عدم بلوغ دستگاه فتوسنتزی قادر به تولید کربوهیدرات‌های لازم نیست، در نتیجه برای رشد و تولید متابولیت‌های مورد نیاز از برگ‌های بالغ کربوهیدرات‌ها را وارد می‌کند. بخشی از این مقدار زیاد کربوهیدرات‌ها می‌تواند به‌دلیل برداشت صبح هنگام نمونه‌های برگی باشد؛ زیرا طی ساعات شب نشاستهٔ ذخیره‌شده در برگ‌های بالغ به حالت محلول درآمده و به بافت‌های در حال رشد منتقل می‌شود. با افزایش سن و فعالیت فتوسنتزی برگ‌ها، واردات کربوهیدرات‌ها کاهش و با رسیدن به مرحلهٔ بلوغ، برگ بالغ خود به‌عنوان صادرکنندهٔ کربوهیدرات‌ها محسوب خواهد شد.

محتوای سدیم: طبق شکل (۴) بیشترین مقدار سدیم در موقعیت برگ ۱ از رأس ساقه و کمترین مقدار در موقعیت برگ ۲ به‌طور معنی‌داری مشاهده شد. عناصر مغذی گیاه نقش مهمی در تعیین متحمل بودن گیاه به تنش‌های محیطی دارند؛ زیرا اکثر تنش‌های محیطی اثرات مشابهی از طریق تأثیرگذاری بر آب قابل دسترس گیاه دارند (هو و اشمیت‌هالر[2]، ۲۰۰۵). یون سدیم جایگزین پتاسیم در بعضی واکنش‌های بیوشیمیایی از نظر اسمزی می‌شود. امروزه این حقیقت به‌خوبی شناخته شده است که سدیم اثرات سمی بر گیاه دارد که فعالیت بسیاری از متابولیسم‌ها را مختل می‌نماید و واریته‌هایی که توانایی حفظ این عنصر را در ریشه دارند به‌عنوان گیاهان متحمل به شمار می‌روند (اکرم و همکاران، ۲۰۰۷). از جمله عناصری که هنگام اعمال تنش محیطی در گیاهان تجمع پیدا می‌کند، یون سدیم است که می‌تواند منجر به درهم‌گسیختگی سیالیت غشایی و مهار انتقال یون‌های عناصر غذایی از ریشه به اندام‌های هوایی شود. به نظر می‌رسد *Z. fabago* با جذب سدیم از خاک و انتقال به برگ‌های جوان درصدد کمک به حفظ تورگور سلول‌ها و جذب آب باشد و سدیم در این گیاه، نقش یک اسمولیت را بازی می‌کند (چاپارزاده و همکاران، ۲۰۱۷).

محتوای پتاسیم: با توجه به داده‌های شکل (۵) بیشترین مقدار پتاسیم در موقعیت برگ ۱ از رأس ساقه و کمترین مقدار در موقعیت برگ ۲ به‌طور معنی‌داری مشاهده شد. پاسخ گیاهان به شرایط محیطی در سطوح موفولوژیکی، آناتومی، سلولی و مولکولی متفاوت است و در مقیاس سلولی، گیاه آثار مضر تنش را با افزایش متابولیسم و تنظیم پتانسیل اسمزی از طریق تجمع مواد آلی و معدنی در سلول‌های خود کاهش می‌دهد و فشار تورژسانس سلول خود را منظم می‌کند. این روش از طریق جذب یون‌های معدنی توسط گیاه از محیط خارجی مانند افزایش میزان تجمع پتاسیم و یا سدیم در اندام‌های هوایی و یا از طریق سنتز زیاد مواد حل‌شونده سازگار که به‌عنوان اسمولیت عمل می‌کنند، صورت می‌گیرد (راهداری، ۲۰۱۱). یون پتاسیم می‌تواند با فشار تورگر اثر تنش‌ها را کاهش دهد. پتاسیم میزان مواد فتوسنتزی را افزایش داده و میزان انتقال مواد فتوسنتزی از منبع به مخزن را کنترل می‌کند. پتاسیم عنصر متحرکی است و به همین دلیل مقادیر بیشتر در برگ‌هایی مشاهده می‌شود که از نظر متابولیسمی فعال‌تر و در حال بیوسنتز ترکیبات مورد نیاز رشد می‌باشند. به نظر می‌رسد *Z. fabago* با جذب و انتقال زیاد پتاسیم به برگ‌های جوان درصدد حل مشکل جذب آب و حفظ تورگور باشد ولی اهمیت سدیم در این مورد بسیار بیشتر است.

محتوای منیزیم: مقدار منیزیم در موقعیت برگ‌های ۱، ۳ و ۴ از رأس ساقه بیشتر و در موقعیت برگ ۲ و ۵ کمتر بود (شکل ۶). منیزیم به‌عنوان اتم مرکزی کلروفیل نقش مهمی در بیوسنتز آن و از این طریق بر فتوسنتز دارد، همچنین برای تجمع زیرواحدهای ریبوزوم و سنتز ATP مورد نیاز است (لین و نوبل[3]، ۱۹۷۱). در شرایط کمبود منیزیم، به‌سبب تجمع مواد فتوسنتزی در برگ‌ها فعالیت کربوکسیلازی آنزیم روبیسکو به‌سمت فعالیت اکسیژنازی تغییر می‌کند و موجب

1. Feucht
2. Hu & Schmidhalter
3. Lin & Nobel

[DOI: 10.22052/deej.2018.7.25.39]
Downloaded from deej.kashanu.ac.ir at 23:35 +0430 on Tuesday June 15th 2021

شکل‌گیری رادیکال‌های سوپراکسید می‌شود (چاکماک و مارشنر[1]، ۱۹۹۲). در این پژوهش تجمع منیزیم در برگ‌ها تقریباً یکسان است که احتمالاً به‌علت عدم تحرک منیزیم پس از قرارگیری در جایگاه درون‌مولکولی کلروفیل و دیوارهٔ سلولی است.

محتوای کلسیم: بر اساس شکل (۷) مقدار کلسیم روند افزایش نسبی با توجه به سن برگ داشت. کلسیم به‌عنوان کلید پیام بیوشیمیایی عمل می‌کند و می‌تواند گیاه را در برابر تنش‌ها متحمل‌تر سازد. نتایج مطالعه در واریته‌های کلزا نشان داد که غلظت کلسیم به هنگام تنش شوری در این واریته‌ها افزایش می‌یابد (عظیمی‌گندمانی و همکاران، ۲۰۰۹). مارون[2] و همکارانش در سال ۲۰۰۸ با مطالعه روی پاپیلوس نتایج مشابهی با نتایج ما گزارش کردند. این محققان معتقدند که کاهش سطح ویژهٔ برگ در طی پیری با ضخیم شدن کوتیکول و تکوین دیوارهٔ سلولی ثانویه و نیز با جذب و نگهداری کلسیم و سایر عناصر معدنی ارتباط دارد. سن فیزیولوژیک یک گیاه و یا بخشی از آن عامل دیگری است که بر غلظت عناصر ضروری موجود درگیاه اثر می‌گذارد. بدین صورت که با افزایش سن گیاهان و یا اندام‌های آن‌ها کاهشی به نسبت آشکار در غلظت بیشتر عناصر ضروری معدنی (به‌جز کلسیم) دیده می‌شود. بنابراین، میزان بهینهٔ عناصر ضروری معدنی در گیاهان پیر پایین‌تر از گیاهان جوان است. در نتیجه غلظت عناصری مانند کلسیم با افزایش سن برگ گیاه افزایش می‌یابد (اودلینگ[3] و همکاران، ۲۰۰۷) که با نتایج حاصل از این پژوهش تا حدودی مطابقت دارد.

محتوای فسفر: با توجه به شکل (۸) مقدار فسفر از برگ ۱ تا برگ ۴ با افزایش سن برگ کاهش معنی‌داری را نشان داده است. فسفر دومین عنصر غذایی مورد نیاز در گیاهان است و از اجزای تشکیل‌دهندهٔ نوکلئیک‌اسیدها، قندهای فسفریله، چربی‌ها و پروتئین‌هاست که همهٔ فرایندهای حیات را کنترل می‌کنند. به‌طور معمول از آنجا که فسفات قابل جذب در خاک کم است، گیاهان سازگاری‌های ویژه‌ای را توسعه داده‌اند تا دریافت میزان فسفات کم در خاک را با کمک ناقل‌های متعدد دارای توانایی جذب بالا افزایش دهند (راگوتاما و کارتی‌کیان[4]، ۲۰۰۵). کمبود فسفر، میزان فتوسنتز را در برگ‌های گیاه سویا کاهش می‌دهد (لائور[5] و همکاران، ۱۹۸۹). در طی پیری مواد غذایی مانند فسفر و نیتروژن و عناصر فلزی که در برگ‌ها جمع‌آوری شده بودند به برگ‌های جوان و دانه‌های در حال رشد منتقل یا برای فصل رشد بعدی ذخیره می‌شوند. نتایج حاصل از مطالعه در برگ *Dactylis glomersata* L. نشان داد که با افزایش سن گیاه، میزان فسفر کاهش یافته است که محققان معتقدند با کاهش تراکم جریان فوتون مقدار عناصری مانند منیزیم، پتاسیم و فسفر در برگ‌های اولیه افزایش می‌یابد که این ناشی از تولید کمتر مادهٔ خشک و یا مقدار آب بیشتر است. همان طور که پیش‌تر گفته شد، مرحلهٔ بلوغ تأثیر مهمی روی غلظت مواد معدنی گیاه دارد و یکی از مهم‌ترین این تأثیرات کاهش زیاد فسفر همراه با بالغ شدن گیاه است. در مطالعهٔ راهداری (۲۰۱۱) روی شنبلیله، مقدار فسفر در برگ‌های جوان زیاد و مقدار بیشتر کلسیم در برگ‌های پیر گزارش شده است که با نتایج ما مطابقت دارد.

با توجه به اینکه رویشگاه طبیعی اسفندک از نظر شوری، خشکی، میزان نور و اختلاف دمای روز و شب از محیط‌های بسیار دشوار جهت رشد و رویش اغلب گیاهان به شمار می‌رود و در واقع این گیاه تحت تنش روزمره است، می‌توان چنین ارزیابی کرد که این شرایط محیطی بر ویژگی‌های ساختاری، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی برگ از قبیل میزان عناصر، ضخامت پهنک برگ و رنگدانه‌های فتوسنتزی تأثیر می‌گذارد. به‌طور کلی، اندام‌های جوان نسبتاً سرشار از پتاسیم و نیتروژن و فسفرند، در صورتی که اندام‌های مسن کلسیم فراوان دارند؛ زیرا وقتی برگ‌ها پیر می‌شوند پتاسیم خود را از دست می‌دهند و رفته رفته کلسیم جای آن را می‌گیرد. به‌عبارت بهتر عناصری که به‌خصوص در رشد دخالت دارند در مرحلهٔ پیری و قبل از سقوط از برگ تخلیه می‌شوند. غلظت رنگدانه‌های اصلی و کمکی فتوسنتزی در موقعیت برگ‌های اولیه از رأس ساقه در این گیاه بیشتر بوده که سیستم فتوسنتزی را از آسیب ناشی از پرتوهای نوری شدید محافظت

1. Cakmak & Marschner
2. Marron
3. Uddling
4. Raghothama & Karthikeyan
5. Lauer

[DOI: 10.22052/deej.2018.7.25.39]
Downloaded from deej.kashanu.ac.ir at 23:35 +0430 on Tuesday June 15th 2021

می‌کند. یعنی برگ‌های جوان تازه پدیدار شده که حساسیت بالایی دارند، به این وسیله از تنش‌های محیطی مصون می‌مانند. در ادامه با بلوغ برگ از میزان این ترکیبات کاسته شده و در عین اینکه مکانیسم‌های جایگزین شکل می‌گیرند، نیاز برگ به چنین مکانیسم‌های حفاظتی کاسته می‌شود.

منابع

1. Abd El Raheim, M., Alam, A., Nour, YS., Radwan, AM., 2016. Evaluation of Antimicrobial and Antioxidant activities of Matricaria recutita, Ricinus communis and Zygophyllum coccineum Extracts. Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences 5: 3-30.
2. Akram, M., Malik, M.A., Ashraf, M.Y., Saleem, M.F., Hussain, M., 2007. Competitive seedling growth and k+/na+ ratio in different maize (zea mays L.) hybrids under salinity stress. Pakistan Journal of Botany 39: 2553-2563.
3. Amin, S.A., Al-Taisan, W.A., Karam, M.A., Gawad, M.E.A., 2013. Impact of salinity on seed germination and protein content in Zygophyllum coccineum L. and Peganum harmala L. Egyptian Journal of Botany 53: 11-22.
4. Amini, Z., Haddad, R., 2013. Role of photosynthetic pigments and antioxidant enzymes against oxidative stress. Veterinary Journal 81: 383-386.
5. Ashraf, M., Foolad, M., 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and experimental botany 59: 206-216.
6. Azimi Gandomani, M.F., Dehdari, H., Movahhedi, A., Dehnavi, M., Alinaghizadeh, M., 2009. Evaluation of the effect of salinity stress on ion accumulation, quantitative and qualitative yield of spring rapeseed cultivars. Environmental Stresses in Crop Sciences 1 (1): 27-37.
7. Batanouny, K., Tabl, S., Shabana, H., Soliman, F., 1999. Wild medicinal plants in Egypt: an inventory to support conservation and sustainable use. Academy of Scientific Research and Technology (Egypt) & IUCN. Unpublished Report: [List of some native medicinal plants in Egypt.
8. Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and soil 39: 205-207.
9. Bringe, K., Schumacher, C.F., Schmitz-Eiberger, M., Steiner, U., Oerke, E-C., 2006. Ontogenetic variation in chemical and physical characteristics of adaxial apple leaf surfaces. Phytochemistry 67: 161-170.
10. Cabello, P., Agüera, E., De La Haba, P., 2006. Metabolic changes during natural ageing in sunflower (Helianthus annuus) leaves: expression and activity of glutamine synthetase isoforms are regulated differently during senescence. Physiologia Plantarum 128: 175-185.
11. Cakmak, I., Marschner, H., 1992. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves. Plant physiology 98: 1222-1227.
12. Candan, N., Tarhan, L., 2003. Changes in chlorophyll-carotenoid contents, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in Zn-stressed Mentha pulegium. Turkish Journal of Chemistry 27: 21-30.
13. Cevahir, G., Yentur, S., Yazgan, M., Unal, M., Yilmazer, N., 2004. Peroxidase activity in relation to anthocyanin and chlorophyll content in juvenile and adult leaves of" mini-star" Gazania splendens. Pakistan Journal of Botany 36: 603-610.
14. Chaparzadeh, N., Rahimpour, L., Dolati, M., Barzgar, A., 2013. Age dependent changes of pigments in Rosa hybrida. Journal of plant research (iranian journal of biology). 26(3): 281- 289.
15. Chaparzadeh, N., Saeedifar, R., Zarandi-Miandoab, L., Pazhang, M., 2017. Effect of nitric oxide on antioxidative responses under salinity conditions in Zygophyllum fabago L. (Zygophyllaceae). Nova Biologica Reperta. 4(2): 155-165.
16. Dertinger, U., Schaz, U., Schulze, E.D., 2003. Age‐dependence of the antioxidative system in tobacco with enhanced glutathione reductase activity or senescence‐induced production of cytokinins. Physiologia Plantarum 119: 19-29.
17. Devi, S., 2005. Analytical Procedures in Soil Science and Agricultural Chemistry. Agrotech Publishing Academy.
18. Feller, U., Fischer, A., 1994. Nitrogen metabolism in senescing leaves. Critical Reviews in Plant Sciences 13: 241-273.
19. Feucht, W., Treutter, D., Polster, J., 2004. Flavanol binding of nuclei from tree species. Plant cell reports 22: 430-436.
20. Gluhić D, Herak Ćustić M, Petek M, Čoga L, Slunjski S, Sinčić M. 2009. The content of Mg, K and Ca ions in vine leaf under foliar application of magnesium on calcareous soils. Agriculturae Conspectus Scientificus 74: 81-84.
21. Hu Y, Schmidhalter U. 2005. Drought and salinity: a comparison of their effects on mineral nutrition of plants. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 168: 541-549.
22. Hussein, S.R., Marzouk, M.M., Ibrahim, L.F., Kawashty, S.A., Saleh, N.A., 2011. Flavonoids of Zygophyllum album L. and Zygophyllum simplex L. (Zygophyllaceae). Biochemical Systematics and Ecology 39: 778-780.
23. Jiang, C-D., Li, P-M., Gao, H-Y., Zou, Q, Jiang, G-M., Li, L-H. 2005. Enhanced photoprotection at the early stages of leaf expansion in field-grown soybean plants. Plant science 168: 911-919.
24. Khan, S.S., Khan, A., Khan, A., Wadood, A., Farooq, U., et al. 2014. Urease inhibitory activity of

[DOI: 10.22052/deej.2018.7.25.39]
Downloaded from deej.kashanu.ac.ir at 23:35 +0430 on Tuesday June 15th 2021

ursane type sulfated saponins from the aerial parts of Zygophyllum fabago Linn. Phytomedicine 21: 379-382.

25. Kitajima, K., Mulkey, S.S., Samaniego, M., Joseph Wright, S., 2002. Decline of photosynthetic capacity with leaf age and position in two tropical pioneer tree species. American Journal of Botany 89:1925-1932.
26. Kitson, R.E., Mellon, M.G., 1944 .Colorimetric determination of phosphorus as molybdivanadophosphoric acid. Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition 16: 379-383.
27. Lauer, M.J., Blevins, D.G., Sierzputowska-Gracz, H., 1989. 31P-nuclear magnetic resonance determination of phosphate compartmentation in leaves of reproductive soybeans (Glycine max L.) as affected by phosphate nutrition. Plant Physiology 89: 1331-1336.
28. Lefèvre, I., Corréal, E., Lutts, S., 2005. Cadmium tolerance and accumulation in the noxious weed Zygophyllum fabago. Canadian Journal of Botany. 83(12): 1655-1662.
29. Lefsrud, M., Kopsell, D., Wenzel, A., Sheehan, J., 2007. Changes in kale (Brassica oleracea L. var. acephala) carotenoid and chlorophyll pigment concentrations during leaf ontogeny. Scientia Horticulturae 112: 136-141.
30. Lichthentaler, H., 1987. Chlorophyll and carotenoids-pigments of photosynthetic biomembranes,-In: Colowick, SP., Kaplan, NO (ed): Methods in Enzymology, Vol, 148. Academic Press, Sandiego-New York-Berkcley-Boston–London–Sydney–Tokyo–Toronto.
31. Lin, D.C., Nobel, P.S., 1971. Control of photosynthesis by Mg^{2+}. Archives of biochemistry and biophysics 145: 622-632.
32. Madan, S., Nainawatee, H., Jain, S., Jain, R., Malik, M., Chowdhury, J., 1994. Leaf position-dependent changes in proline, pyrroline-5-carboxylate reductase activity and water relations under salt-stress in genetically stable salt-tolerant somaclones of Brassica juncea L. Plant and soil 163: 151-156.
33. Marron, N., Brignolas, F., Delmotte, F.M., Dreyer, E., 2008. Modulation of leaf physiology by age and in response to abiotic constraints in young cuttings of two Populus deltoides times P. nigra genotypes. Annals of forest science 65: 1-8.
34. McMillen, G.G., McClendon, J.H., 1983. Dependence of photosynthetic rates on leaf density thickness in deciduous woody plants grown in sun and shade. Plant Physiology 72: 674-678.
35. Ohe, M., Rapolu, M., Mieda, T., Miyagawa, Y., Yabuta, Y., et al. 2005. Decline in leaf photooxidative-stress tolerance with age in tobacco. Plant science 168: 1487-1493.
36. Parida, A.K., Das, A.B., 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicology and environmental safety 60: 324-349.
37. Pereira, C.M., Neiverth, C.A., Maeda, S., Guiotoku, M., Franciscon, L., 2011. Complexometric titration with potenciometric indicator to determination of calcium and magnesium in soil extracts. Revista Brasileira de Ciência do Solo 35: 1331-1336.
38. Poiatti, V.A., Dalmas, F.R., Astarita, L.V., 2009. Defense mechanisms of Solanum tuberosum L. in response to attack by plant-pathogenic bacteria. Biological Research 42: 205-215.
39. Qian, Y., Wu, Z., Zhao, R., Zhang, L., 2008. Vegetation patterns and species environment relationships in the Gurbantunggut Desert of China. Journal of Geographical Sciences 18: 400-414.
40. Raghothama, K., Karthikeyan, A., 2005. Phosphate acquisition. Plant and Soil 274: 37-49.
41. Rahdari, P., 2011. Studying effect of mineral elements shortage (nitrogen, phosphorous, potassium, magnesium and calcium) on some physiological and growth factors in fenugreek (Trigonella foenum graceum). Greener Journal of Biological Sciences. 3 (1): 48-45.
42. Reich, A., Holbrook, N.M., Ewel, J.J., 2004. Developmental and physiological correlates of leaf size in Hyeronima alchorneoides (Euphorbiaceae). American Journal of Botany 91: 582-589.
43. Ruuhola, T., Ossipov, V., Lempa, K., Haukioja, E., 2003. Amino acids during development of mountain birch leaves. Chemoecology 13: 95-101.
44. Sairam, R., Singh, D., Srivastava, G., 2003. Changes in activities of antioxidant enzymes in sunflower leaves of different ages. Biologia Plantarum 47: 61-66.
45. Sheligl, H., 1986. Die verwertung orgngischer souren durch chlorella lincht. Planta Journal: 47-51.
46. Sims, D.A., Gamon JA. 2002. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. Remote sensing of environment 81: 337-354.
47. Thomas, H., James, A., 1993. Freezing tolerance and solute changes in contrasting genotypes of Lolium perenne L. acclimated to cold and drought. Annals of Botany 72: 249-254.
48. Uddling J, Gelang-Alfredsson J, Piikki K, Pleijel H. 2007. Evaluating the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter readings. Photosynthesis research 91: 37-46.
49. War, A.R., Paulraj, M.G., War, M.Y., Ignacimuthu, S., 2011. Role of salicylic acid in induction of plant defense system in chickpea (Cicer arietinum L.). Plant signaling & behavior 6: 1787-1792.
50. Xie, S., Luo, X., 2003. Effect of leaf position and age on anatomical structure, photosynthesis, stomatal conductance and transpiration of Asian pear. Botanical Bulletin of Academia Sinica 44.
51. Zhou, X., Zhou, Z., Wu, C., 2006. The research of the breeding characters of Zygophyllum xanthoxylum. Pratacultural Science 23: 38-41.

[DOI: 10.22052/deej.2018.7.25.39]
Downloaded from deej.kashanu.ac.ir at 23:35 +0430 on Tuesday June 15th 2021

Metabolic and Ionic Changes in Leaves of *Zygophyllum fabago* L. Depending on Age

Nader Chaparzadeh[1]*, Nayere Ebadi[2], Kamaleddin Dilmaghani[3], Leila Zarandi-Miandoab[4]

Received: 01/07/2019 Accepted: 07/01/2020

Expanded abstracts

Introduction: *Zygophyllum fabago* L. is a C_3 type plant and tolerant to drought with a widespread distribution in arid and semi-arid regions. For two reasons, the study of the physiological behavior of the *Z. fabago* in its natural environment is important. First, various species of *Zygophyllum* are often not used for animal feeding or fuel preparation, while all parts of the plant (leaf, stem, root and fruit) have a high drug value. Commercial cultivation of *Z. fabago* in areas that are not suitable for traditional agricultural systems, like Iran deserts, can be considered. Second, priority of recovery, improvement and protection of soil in desert environments, which will lead to the sustainability and distribution of the vital population of such ecosystems. Selection and introduction of appropriate species for retrieval have great important. *Z. fabago* shrubs are considered as the most important species in the sustainability and regeneration of desert ecosystems. Understanding the tolerance mechanism of *Z. fabago* requires study of the flexibility of its metabolism in natural habitats. Age-dependent biochemical variations in leaves may be effective in survival of plant under inappropriate conditions. The responses of plants to environmental factors come from their structural and physiological characteristics of leaves at different stages of development. In this study, metabolic and ionic changes during increasing of leaf ages in the *Z. fabago* plant were studied.

Materials and methods: To study of metabolic and ionic changes, five leaf samples, showing the young stage to the maturity, were numbered from apex to base. During maturation, a series of apparent differences and physiological and biochemical changes were occurred in leaves. The pigments, total soluble proteins content and proline concentration were measured according to Lichtenthaler, McMillen and McClendon and Bates methods, respectively. The phenol-sulfuric acid method was applied to determine total carbohydrates. Plant ashes were used to measure the elements. Complexometric titration was used to evaluate the total calcium and magnesium content of tissues. Sodium and potassium of tissues were analyzed with flame photometery method. Colorimetric determination of phosphorus fulfilled by phosphomolybdate method. The research was done on a completely randomized design with three replications. The data were analyzed using SPSS 16 software and comparison of the mean with Duncan test.

Result: The results showed that as the age of leaves increased, a reduction was observed in concentration of photosynthetic pigments. The values of chlorophyll *a* and *b* and total chlorophyll show a regular and significant decrease with increasing age. This decrease is occurred also about carotenoids, which leads to a relative stability of the ratio of carotenoids to chlorophyll. The data changes in this ratio are not significant in leaves with different positions on the stem. Also, the amount of total soluble protein, soluble sugars and proline showed a regular and significant reduction in leaf positions from apex to base of the stem. The magnesium, sodium, potassium and phosphorus concentrations were the highest in the young leaves.

Discussion and Conclusion: In this research, we observed different trends in changing of some biochemical and physiological characteristics *Zygophyllum fabago* plant during leaf aging. Developmental stage strongly influences the morphological, biochemical and physiological characteristics of the leaves. Generally, younger leaves are relatively rich in potassium, nitrogen and phosphorus, while older organs are calcium abundant; because when the leaves become old they lose mobile elements. Elements that are particularly involved in growth are evacuated at the stage of aging and before falling out of the leaf. The concentrations of photosynthetic pigments in the young leaves were highest, which lead to high light harvesting and hence, growth of plants. Newly emerged young leaves that are sensitive to environment conditions become immune by elevated gross primary production. As has been observed, aging tends to reduce the amount of soluble proteins sugars. While the effect of increasing leaf age reflects the same increased metabolites mobilization trend. Therefore, the results indicate that metabolites accumulation in the young leaves of *Zygophyllum fabago* during development of leaves is a necessary mechanism to plant survives according to leaf function sensitivity to environmental conditions.

Keywords: *Zygophyllum fabago* L., Leaf Age, Metabolic and ionic Markers, Photosynthetic pigments, Proline.

1. Professor, Biology Dept., Azarbaijan Shahid Madani University; nchapar@azaruniv.ac.ir
2. MSc. Graduated, Plant Biology Dept., Marand Branch-Azad Islamic University
3. Associate Professor, Plant Biology Dept., Marand Branch-Azad Islamic University
4. Associate Professor, Biology Dept., Azarbaijan Shahid Madani University
DOI: 10.22052/deej.2018.7.25.39