نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال دوازدهم، شماره ۴۶، تابستان ۱۳۹۶ / صفحات: ۹۲-۷۹

بررسی تغییرات میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، قندهای محلول، ترکیبات فلاونوئیدی و آنتوسیانینی در دو گیاه هالوفیت *Salsola dendroides* Pall. و *Limonium reniforme* (Girard) Lincz. در فصول مختلف

سپیده بخشی، حسین عباسپور*، سکینه سعیدی‌سار

گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

تاریخ دریافت:۹۶/۲/۱٤ تاریخ پذیرش:۹۶/۶/۲۵

چکیده

در گیاهان مکانیسم‌های بیوشیمیایی و مولکولی متعددی برای مقابله با تنش شوری ایجاد شده است که می‌توان به تغییر محتوای اسمولیت‌ها، افزایش میزان ترکیبات فنلی و حمایت از فعالیت فتوسنتزی اشاره کرد. این مکانیسم‌ها منجر به محصولات و فرایندهایی می‌گردد که تحمل به شوری را بهبود می‌بخشند. لذا نظر به اینکه کار تحقیقاتی قابل توجهی در زمینه مکانیسم‌های مقاومتی گونه‌های *Salsola dendroides* pall و *Limonium reniforme* (Girard)Lincz. انجام نشده است، برای پی بردن به مکانیسم فیزیولوژیکی بردباری این گیاهان تحت تنش اعمال شده به صورت طبیعی در فصول مختلف برخی از تغییرات فیزیولوژیکی گیاهان فوق مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور، گونه‌های مورد مطالعه از منطقه اینچه‌برون واقع در شمال گرگان به صورت کاملاً تصادفی با چهار تکرار در سه فصل بهار، تابستان و پاییز جمع‌آوری شدند. نتایج نشان داد که با افزایش دما و شوری در فصل تابستان محتوای رنگیزهای کلروفیلی در هر دو گونه به صورت معنی‌داری کاهش یافت. میزان قندهای محلول در اندام هوایی وریشه گیاه *S. dendroides* در فصل بهار نسبت به دو فصل دیگر و در گیاه *L. reniforme* در فصل تابستان نسبت به فصل بهار افزایش معنی‌داری داشت. در تابستان نیز میزان ترکیبات فلاونوئیدی در اندام هوایی و ریشه گیاهان مورد مطالعه به صورت معنی‌داری در مقایسه با سایر فصول افزایش نشان داد. میزان آنتوسیانینی نیز به صورت معنی‌داری با تغییر فصل تغییر یافت، به‌طوری‌که بیشترین میزان تجمع آنتوسیانین‌ها در اندام هوایی و ریشه گیاه *S. dendroides* در فصل پاییز و در گیاه *L. reniforme* در فصل تابستان مشاهده شد که اغلب این تغییرات در ارتباط با فعالسازی فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی که به گیاه امکان سازگاری تحت شرایط شوری را می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: تغییرات فصلی، تنش، شوری، مکانیسم بردباری، هالوفیت

مقدمه

شوری به‌عنوان یک فاکتور مهم، تولیدات زراعی را در مناطق خشک و نیمه خشک جهان تحت تاثیر قرار می‌دهد و موجب کاهش ارزش و بهره‌وری از زمین‌ها می‌شود (Munns, 2002). هالوفیت‌ها گروهی از گیاهان سازگار با محیط و خاک‌های شور هستند و می‌توانند نمک لایه خاکی را که در آن رشد می‌کنند در خود انباشته و آن را از خاک بزدایند و این کار را با کمک انتقال یون‌ها در واکوئل‌ها و سنتز ترکیبات اسموتیک که مانع از دست رفتن آب گیاه از بافت‌ها می‌شود، انجام می‌دهند (Koyroetal, 2011). این ترکیبات که محلول‌های سازگار نامیده می‌شوند، به

*نویسنده مسئول: abbaspour75@yahoo.com

طور عمده شامل آمینو اسیدها و قندهای محلول می‌باشد. تجمع قندهای محلول واکنش سریع نسبت به تغییرات میزان محتوی نسبی آب و پتانسیل آب برگها می‌باشد. در واقع سازگاری گونه‌های گیاهی در برابر غلظت بالای نمک خاک بوسیله پایین آوردن پتانسیل اسمزی بافت‌ها و تجمع این ترکیبات اسموتیکی انجام می‌گیرد (Jaleel et al., 2008; Zhu, 2002).Walker و همکاران (۲۰۰۸) بیان نمودند که تجمع سطوح بالای ترکیبات آلی در گیاهان با میزان خشکی آب و هوا و شرایط تنش زای محیطی بستگی دارد و تغییرات کربوهیدرات‌ها به دلیل ارتباط مستقیم با فرایندهای فیزیولوژیکی اهمیت خاصی دارند و در میان کربوهیدرات‌های محلول، ساکارز و فروکتوز در سازگاری به تنش نقش مهمی را ایفا می‌کنند. فتوسنتز یکی از مهمترین فرایندهای که تحت تنش نمک کاهش می‌یابد. کاهش فعالیت فتوسنتز تحت شرایط تنش به علت محدودیت‌های روزنه‌ای یا غیرروزنه‌ای است که به واسطه استرس القا می‌شود (Rahman et al., 2010; Saibo et al., 2009). مشخص شده است که استرس شوری مثل سایر استرس‌های غیرزیستی می‌تواند به‌طور معنی‌داری هم بر روی تنظیم روزنه‌ای و هم غیرروزنه‌ای فتوسنتز تاثیر گذار باشد (Saibo et al., 2009). روزنه‌ها مدخل از دست دادن آب و جذب CO_2 هستند و در شرایط تنشی سلول‌های روزنه در پاسخ به سیگنال‌های دریافتی از ریشه با کاهش فشار تورگور و فشار بخار اتمسفر بسته می‌شوند. لذا کاهش در فتوسنتز باعث مهار هدایت مزوفیلی و بسته شدن روزنه‌ها در جهت مدیریت تنش می‌گردد (Flexas et al., 2004; Chaves et al., 2009).

کلروفیل یکی از اجزای اصلی کلروپلاست برای فتوسنتز می‌باشد و میزان فتوسنتز با حجم کلروفیل نسبت مستقیم و مثبت دارد (Anjum et al., 2011). کاهش محتوای کلروفیل تحت شرایط تنش مانند خشکی و شوری به‌عنوان یک نشان بارز تنش اکسیداتیو در نظر گرفته شده است و ممکن است این کاهش در نتیجه فتواکسیداسیون رنگدانه و تخریب کلروفیل باشد (Farooq et al., 2009). تعیین ظرفیت بردباری به شوری از طریق ارزیابی و سنجش تولید بیومس و تعیین محتوای کلروفیل قابل تشخیص می‌باشد (Jenkins et al., 2010). تغییر شرایط محیطی مثل شوری با افزایش تولید ROS (گونه‌های اکسیژن فعال) منجر به تخریبات اکسیداتیو در گیاه می‌شود (Bhattacharjee, 2008; Imlay, 2008). ترکیبات فنلی از مهارکنندگان قوی تنش اکسایشی هستند و در همکاری با پراکسیدازها در جمع‌آوری یا حذف پراکسید هیدروژن شرکت می‌کنند (Kovacik et al., 2009). مطالعات نشان داده است که ترکیبات فنلی مانند فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها در شرایط تنش می‌توانند به عنوان یک سیگنال عمل نمایند که این امر منجر به راه اندازی زنجیره‌ای از واکنش‌های دیگر می‌شود و در نهایت افزایش تحمل به تنش را موجب می‌گردد (Anderson and Jordheim, 2006). مشخص شده است که عوامل متعددی می‌تواند تولید ترکیبات ثانویه مانند فنل‌ها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها را تحت تاثیر قرار دهد. نوع گونه، مرحله رشد و نموی، شرایط فصلی خاص، میزان دسترسی به مواد غذایی معدنی و شرایط تنش‌زا از جمله این عوامل می‌باشند (Verpoort et al., 2002).

نظر به اینکه کار تحقیقات قابل توجهی در زمینه مکانیسم‌های مقاومتی گیاهان *Salsola dendroides* pall. از تیره کنوپودیاسه و *Limoniu mreniforme* (Girard) Lincz. از تیره پلومباژیناسه در منطقه مورد مطالعه انجام نشده است، لذا هدف از این پژوهش پی بردن به برخی از مکانیسم فیزیولوژیکی بردباری گیاهان فوق مانند تغییرات میزان رنگیزه‌های

فتوسنتزی، قندهای محلول، فلاونوئید و آنتوسیانین در فصول مختلف می‌باشد.

مواد و روش‌ها

گیاهان مورد مطالعه از منطقه اینچه برون واقع در شمال گرگان در عرض جغرافیایی ′۲۷°۳۷ شمالی و طول جغرافیایی ′۴۳°۵۴ شرقی و ارتفاع ۷ متر از سطح آب‌های آزاد به‌صورت کاملاً تصادفی با چهار تکرار در سه فصل بهار، تابستان، پاییز جمع‌آوری شدند. سپس به‌منظور اندازه‌گیری پارامترهای موردنظر (رنگیزه‌های فتوسنتزی، قندهای محلول، فلاونوئید و آنتوسیانین) به آزمایشگاه منتقل شدند.

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی: به‌منظور استخراج کلروفیل ابتدا ۰/۵ گرم از بافت برگ تازه را خرد کرده و در داخل لوله آزمایش ریخته سپس ۱۰ سی‌سی دی متیل سولفوکسید اسید خالص به آن اضافه کرده و بعد به مدت سه ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا رنگیزه‌ها استخراج و بافت برگی کاملا بی رنگ گردد. سپس بعد از صاف کردن نمونه‌ها با کاغذ صافی واتمن، یک میلی‌لیتر از محلول صاف شده را برداشته و به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده و سپس میزان جذب محلول بدست آمده توسط دستگاه اسپکتروفتومتری مدل (UNICO, UV/VIS, 2800, USA) در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. مقدار کلروفیل a، b و کل با استفاده از فرمول‌های زیر بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه محاسبه شد (Barnes et al., 1992).

$$\text{Chl a (mg/g.F.w)} = 12.7(A663) - 2.69(A645) \times V/1000 \times W$$

$$\text{Chl b (mg/g.F.w)} = 22.9(A645) - 4.68(A663) \times V/1000 \times W$$

$$\text{Chl total (mg/g.F.w)} = 20.2(A645) + 8.02(A663) \times V/ 1000 \times W$$

در این فرمول A: طول موج، V: حجم محلول نهایی و W: وزن نمونه است.

سنجش قندهای محلول: جهت سنجش قندهای محلول به ۰/۱ گرم پودر خشک اندام هوایی و ریشه گیاهان مورد مطالعه، ۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲/۵ نرمال افزوده شد و سپس برای هیدرولیز شدن کامل، نمونه‌ها به‌مدت ۳ ساعت در حمام آبگرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. در مرحله بعد خنثی کردن نمونه‌ها با کربنات سدیم تا زمانی که حالت جوش آن متوقف شود انجام گردید. سپس حجم نمونه‌ها با آب مقطر به ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد و در مرحله بعد نمونه‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه در دور ۳۵۰۰g سانتریفیوژ شدند. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از بخش بالایی محلول برداشته و حجم نمونه‌ها با آب مقطر به ۱ میلی‌لیتر رسانده شد. ۴ میلی‌لیتر معرف آنترون به تمام لوله‌ها افزوده شد. لوله‌ها به‌مدت ۸ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفتند. میزان جذب هر یک از نمونه‌ها پس از سرد شدن در طول موج ۶۳۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه مقدار قندهای محلول نمونه‌های مورد نظر از منحنی استاندارد گلوکز با غلظت‌های مختلف استفاده گردید. نمونه فاقد گلوکز به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد و در نهایت داده‌ها بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گیاه بیان شدند (Sadasivam and Manickam, 1992).

سنجش میزان فلاونوئیدها: جهت استخراج عصاره به ۱ گرم نمونه پودر خشک گیاهی، ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد اضافه نموده و مخلوط به‌مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار داده شد و توسط کاغذ صافی صاف شد. سپس عصاره حاصل برای سنجش میزان فلاونوئیدها مورد استفاده قرار گرفت. اندازه‌گیری فلاونوئید بر اساس روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم انجام شد. طبق این روش ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره متانولی حاصل با ۱/۵ میلی لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب

مقطر مخلوط گردیده و به‌مدت نیم ساعت در تاریکی قرار داده شد. پس از گذشت نیم ساعت جذب آن‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت گردید. از غلظت‌های مختلف کوئرسیتین ۱۰۰-۱۲,۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر در متانول جهت رسم منحنی استاندارد استفاده شد و میزان فلاونوئیدها معادل میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم پودر خشک گیاه محاسبه و تعیین شد (Chang et al., 2002).

سنجش میزان آنتوسیانین‌ها: جهت سنجش آنتوسیانین، ۰/۲ گرم ازاندام هوایی وریشه گیاهان مورد مطالعه با ۳ میلی‌لیتر متانول اسیدی (۹۹ میلی‌لیتر متانول و ۱ میلی‌لیتر اسید کلریدریک) ساییده شد. سپس عصاره حاصل به‌مدت ۱۵ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰g سانتریفوژ گردید. محلول رویی به مدت یک شب در تاریکی قرارداده شد و جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۵۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه‌ی غلظت آنتوسیانین‌ها، از ضریب خاموشی $\varepsilon=3300\ mM^{-1}cm^{-1}$ استفاده شد. در نهایت میزان آنتوسیانین بر حسب میکرومول در گرم وزن تربیان گردید (Masukasu et al., 2003).

داده‌های حاصل از آزمایش از طریق نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها بوسیله آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح $P<0/05$ انجام پذیرفت و رسم شکل‌ها و معادله‌های مربوط از طریق نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

نتایج

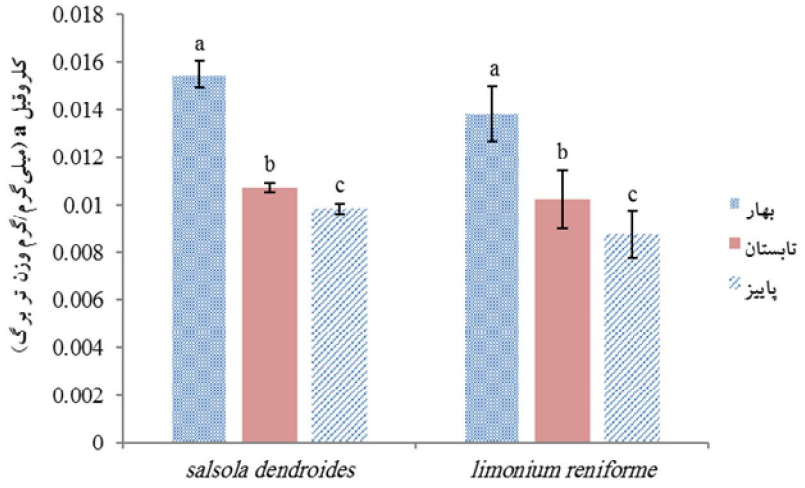
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تاثیر فصل بر محتوای کلروفیل a، b و کل در سطح احتمال ۱ درصد اثر معنی‌داری داشت. نوع گونه و اثر متقابل فصل× گونه نیز بر میزان کلروفیل کل داری اثر معنی‌دار در سطح ۱ درصد و بر میزان کلروفیل a وb فاقد اثر معنی‌دار بود (جدول ۱).

جدول ۱: تجزیه واریانس اثر فصل و گونه و تاثیر متقابل آنها بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی

منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل
فصل	۲	۶,۳۷**	۰,۰۰**	۰,۰۰**
گونه	۱	۶,۸۱^{ns}	۱,۸۸^{ns}	۸,۳۴**
فصل×گونه	۲	۶,۶۳^{ns}	۲,۱۷^{ns}	۱,۴۴**
خطای آزمایشی	۱۸	۳,۳۱	۱,۰۷	۶,۷۸
ضریب تغییرات (٪)		۰,۶۱۰	۰,۶۲۴	۰,۹۶۵

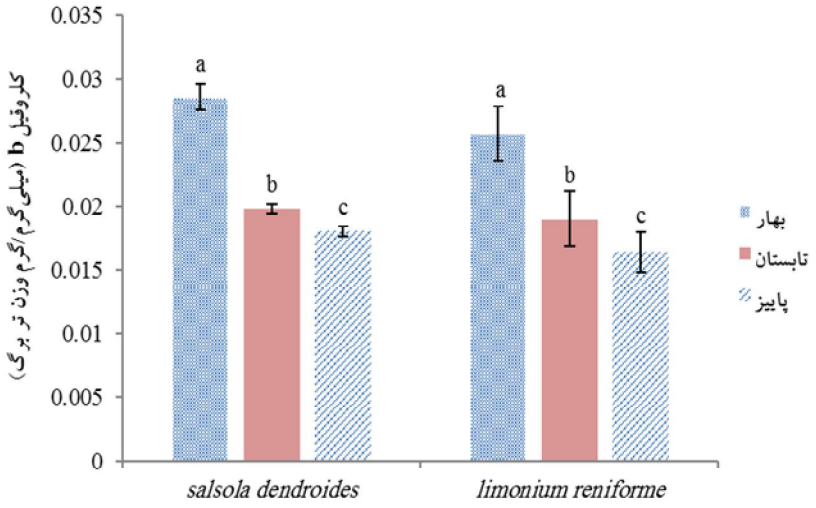
علامت‌های **، * و ^{ns}به‌ترتیب به مفهوم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۱، ۵ درصد و عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشند

در مقایسه تغییرات میزان رنگیزه‌های کلروفیلی بین فصول مختلف مشاهده می‌شود که در هر دو گونه*Salsola dendroides* و *Limonium reniforme* بیشترین میزان کلروفیل a مربوط به فصل بهار و کمترین میزان مربوط به فصل پاییز می‌باشد که بین فصول مختلف از لحاظ میزان کلروفیل a نتایج تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال $P<0/05$ نشان می‌دهد (شکل ۱).



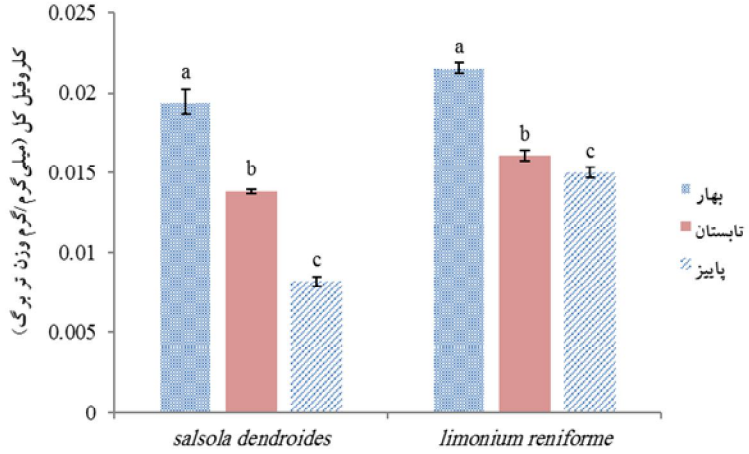
شکل ۱: میزان کلروفیل aدر اندام هوایی دو گونه *S. dendroides* و *L. reniforme* تحت تاثیر فصول مختلف

در گیاهان مورد مطالعه بالاترین میزان کلروفیل b در فصل بهار و کمترین میزان در فصل پاییز مشاهده شد که این اختلاف در سطح احتمال P<۰/۰۵ معنی‌دار بود (شکل ۲).



شکل ۲: میزان کلروفیل b در اندام هوایی دو گونه *S. dendroides* و *L. reniforme* تحت تاثیر فصول مختلف

در گیاهان فوق میزان کلروفیل کل در فصل بهار به‌صورت معنی‌داری افزایش و در فصل پاییز به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت که در گیاه *L. reniforme* محتوای کلروفیل کل در سه فصل مورد مطالعه بیشتر از گیاه *S. dendroides* بود (شکل ۳).



شکل ۳: میزان کلروفیل کل در اندام هوایی دو گونه *S. dendroides* و *L. reniforme* تحت تاثیر فصول مختلف

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تاثیر فصل بر تمام فاکتورها (قندهای محلول، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌های اندام هوایی و ریشه) در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. نوع گونه هم بر میزان قندهای محلول، آنتوسیانین اندام هوایی و ریشه و فلاونوئیدها اندام هوایی در سطح ادرصد و بر میزان فلاونوئیدها ریشه در سطح ۵ درصد اثر معنی‌داری داشت. اثر متقابل فصل × گونه نیز بر میزان قندهای محلول و آنتوسیانین اندام هوایی و ریشه در سطح ۱ درصد و بر میزان فلاونوئیدها ریشه در سطح ۵ درصد اما بر میزان فلاونوئید اندام هوایی فاقد اثر معنی‌دار بود (جدول ۲).

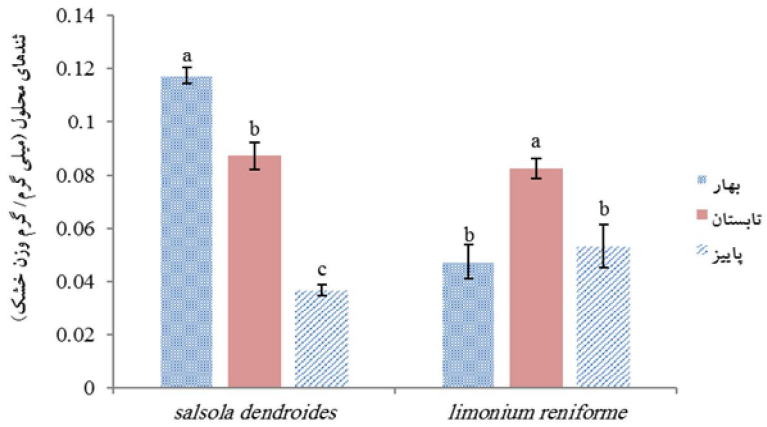
جدول ۲: تجزیه واریانس اثر فصل و گونه و تاثیر متقابل آنها بر میزان قندهای محلول، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها در اندام هوایی و ریشه گیاه *S. dendroides* و *L. reniforme*

منابع تغییر	درجه آزادی	قندهای محلول ریشه	قندهای محلول اندام هوایی	فلاونوئیدهای اندام هوایی	فلاونوئیدهای ریشه	آنتوسیانین‌های اندام هوایی	آنتوسیانین‌های ریشه
فصل	۲	۰,۰۰۴**	۰,۰۰**	۳۲,۱۲**	۹,۹۷**	۰,۲۹۵**	۰,۰۵۷**
گونه	۱	۰,۰۰۲**	۰,۰۰۱**	۱۷,۴۷**	۵,۱۱*	۰,۴۳۱**	۰,۰۵۴**
فصل×گونه	۲	۰,۰۰۴**	۰,۰۰۲**	۱,۰۷^{ns}	۲,۷۹*	۰,۲۰۳**	۰,۰۶۳**
خطای آزمایشی	۱۸	۰,۰۰	۱,۶۴	۰,۸۰۹	۰,۷۹	۰,۰۰۳	۰,۰۰۱
ضریب‌تغییرات(درصد)		۰,۸۷۹	۰,۹۳۹	۰,۸۱۱	۰,۵۹۳	۰,۹۴۷	۰,۹۱۷

علامت‌های **، * و ^{ns} به‌ترتیب به مفهوم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۱، ۵ درصد و عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

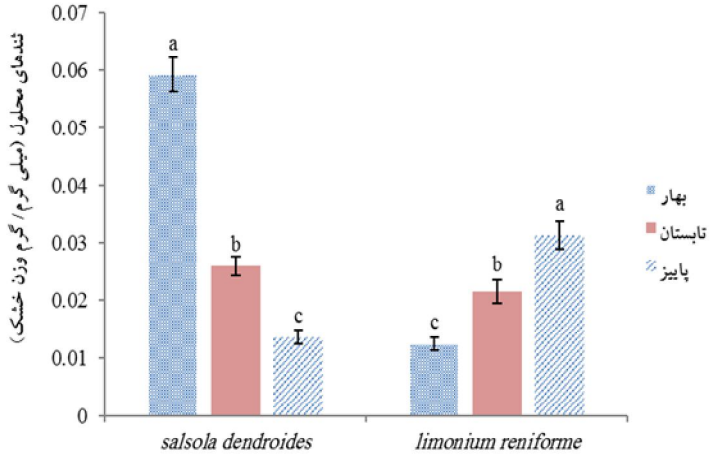
بیشترین میزان قندهای محلول در اندام هوایی گیاه *S. dendroides* در فصل بهار و کمترین میزان در فصل پاییز مشاهده گشت که در سطح احتمال $p<۰/۰۵$ اختلاف بین فصول معنی‌دار بود. همچنین میزان قندهای محلول در اندام هوایی گیاه *L. reniforme* در فصل تابستان افزایش و در فصل بهار کاهش نشان داد که بین دو فصل بهار و پاییز در

محتوای قندهای محلول تفاوت معنی‌داری به لحاظ آماری مشاهده نشد (شکل ۴).



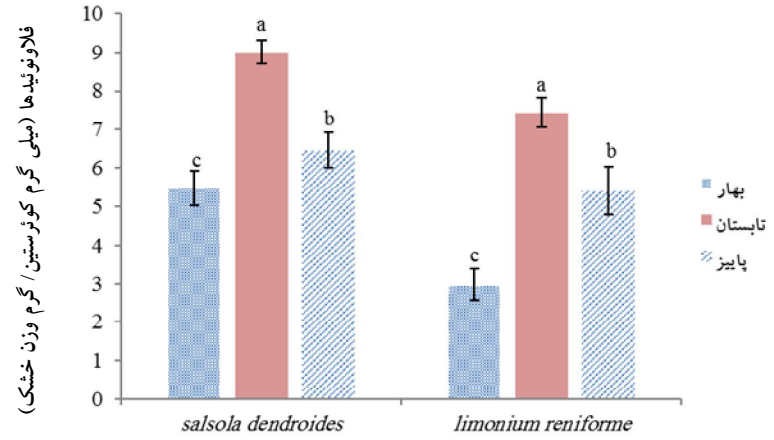
شکل ٤: میزان قندهای محلول در اندام هوایی دو گونه *S. dendroides* و *L. reniforme* تحت تاثیر فصول مختلف.

در گیاه *S. dendroides* بیشترین میزان قندهای محلول ریشه متعلق به فصل بهار و کمترین میزان متعلق به فصل پاییز است. بین فصول مختلف تفاوت معنی‌داری به لحاظ آماری مشاهده شد و در گیاه *L. reniforme* بیشترین میزان قندهای محلول ریشه متعلق به فصل پاییز و کمترین میزان متعلق به فصل بهار می‌باشد که بین فصول مختلف در محتوای قندهای محلول ریشه تفاوت معنی‌داری به لحاظ آماری مشاهده گشت (شکل ۵).



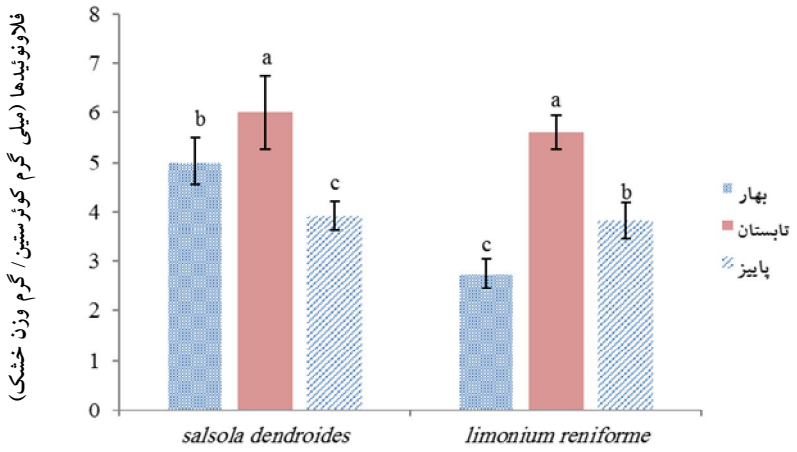
شکل ۵: میزان قندهای محلول در ریشه دو گونه *S. dendroides* و *L. reniforme* تحت تاثیر فصول مختلف

بالاترین میزان فلاونوئیدها در اندام هوایی گیاه *S. dendroides* و *L. reniforme* در فصل تابستان و کمترین میزان در فصل بهار مشاهده شد که این اختلاف بین فصول از لحاظ آماری معنی‌دار بود (شکل ۶).



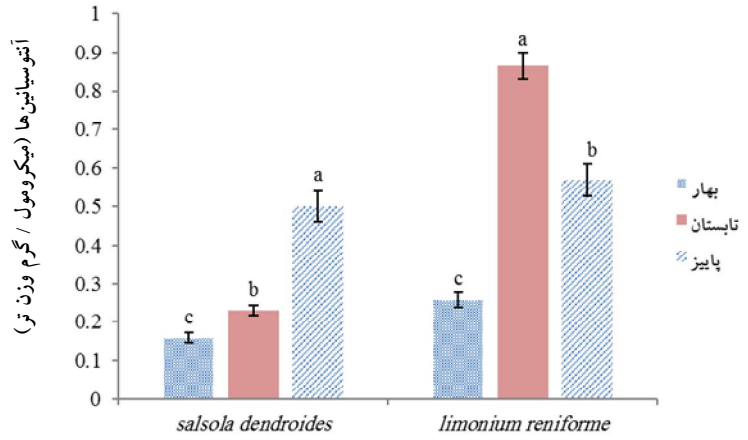
شکل ٦: میزان فلاونوئیدها در اندام هوایی دو گونه *S. dendroides* و *L. reniforme* تحت تاثیر فصول مختلف

در دو گیاه *S. dendroides* و *L. reniforme* بیشترین میزان فلاونوئید ریشه در فصل تابستان مشاهده گشت. کمترین میزان فلاونوئیدها ریشه در گیاه *S. dendroides* در فصل پاییز و در گیاه *L. reniforme* در فصل بهار مشاهده شد که نتایج بدست آمده از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری را بین فصول مختلف نشان می‌دهد (شکل ۷).



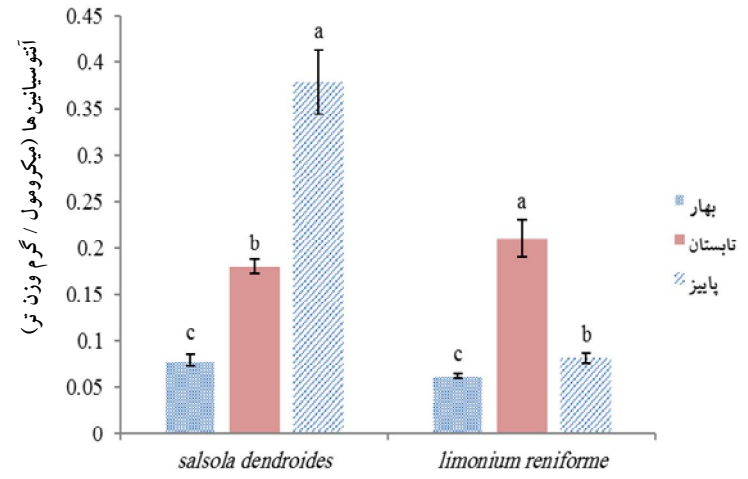
شکل ۷: میزان فلاونوئیدها در ریشه دو گونه *S. dendroides* و *L. reniforme* تحت تاثیر فصول مختلف

در گیاه *S.dendroides* میزان آنتوسیانین اندام هوایی در فصل پاییز افزایش و در فصل بهار کاهش یافت و در گیاه *L.reniforme* میزان آنتوسیانین‌های اندام هوایی در فصل تابستان افزایش و در فصل بهار کاهش نشان داد که این افزایش و کاهش در میزان آنتوسیانین‌ها بین فصول مختلف در سطح احتمال $p<۰/۰۵$ معنی‌دار بود (شکل ۸).



شکل ۸: میزان آنتوسیانین‌ها در اندام هوایی دو گونه *S. dendroides* و *L. reniforme* تحت تاثیر فصول مختلف

بیشترین میزان آنتوسیانین‌های ریشه در گیاه *S.dendroides* متعلق به فصل پاییز و در گیاه *L.reniforme* متعلق به فصل تابستان و کمترین میزان آنتوسیانین‌های ریشه در هر دو گیاه در فصل بهار مشاهده شد که این اختلاف بین فصول از لحاظ آماری معنی‌دار بود (شکل ۹).



شکل ۹: میزان آنتوسیانین‌ها در ریشه دو گونه *S. dendroides* و *L. reniforme* تحت تاثیر فصول مختلف

بحث

تنش‌های محیطی روی انواع رنگیزه‌های فتوسنتزی، فتوسیستم‌ها، ترکیبات سیستم انتقال الکترون و فعالیت آنزیم‌های درگیر در مکانیسم فتوسنتز تاثیر می‌گذارند (Ashraf and Harris, 2013). شوری نه تنها باعث تخریب پیگمان‌های فتوسنتزی می‌شود، بلکه سبب تخریب غشاهای تیلاکوئیدی نیز می‌گردد. لذا ظرفیت فتوسنتزی گیاه کاهش می‌یابد (Kannan and Kulandaivelu, 2011; Huseynova et al., 2009). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که محتوای رنگیزه‌های کلروفیلی در گیاهان مورد مطالعه با تغییر دما و شوری طی فصول مختلف تغییر می‌یابد، به طوری‌که با افزایش خشکی و شوری از فصل بهار به تابستان محتوای رنگیزه‌های کلروفیلی در دو گونه فوق کاهش نشان داد که نتیجه مطالعه حاضر با تحقیق Gehlotو همکاران (۲۰۱۲) بر روی گیاه *Withania*

*coagulons*که نشان دادند محتوای کلروفیل کل در فصل تابستان کاهش می‌یابد. همچنین با تحقیق Morsyو همکاران (۲۰۰۸) که گزارش کردند میزان کلروفیلa, b و کل در سه گیاه گزروفیت *Artemisia monosperma*، *Thymelia hirsute* و *Cornulaca monocantha* در طول دوره خشک تابستان کاهش می‌یابد مطابقت دارد. کاهش محتوای کلروفیل پدیده‌ای است که عموماً موقع تنش مشاهده می‌شود (Mafakheri et al., 2010; Dinet al., 2011). تغییراتی که توسط شوری در کلروفیل برگ ایجاد می‌شود می‌تواند به علت اختلال در بیوسنتز یا تسریع در تجزیه رنگیزه باشد (Eckardt, 2009).

Mishra و Gupta (۲۰۱۰) بیان کردند رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان تحت شرایط محیطی مختلف ممکن است یکی از پارامترهای مهم برای سازگاری باشند و به نظر می‌رسد اثر فاکتورهای فصلی بویژه بارش و دما بر سنتز کلروفیل از ویژگی‌های منحصر به فرد گونه‌ها است. نور نیز نقش مهمی را در محتوای کلروفیل با تغییر غلظت رنگدانه به دلیل شرایط مختلف آب و هوایی ایفا می‌کند و باعث افزایش و کاهش در محتوای آن می‌گردد (Devmalkar, 2014). نتایج پژوهش حاضر در ارتباط با افزایش تجمع قندهای محلول در فصل بهار در اندام هوایی و ریشه گیاه *S. dendroides* با تحقیق Teimouri و همکاران (۲۰۱۴) بر روی گیاه هالوفیت *Frankenia hirsuta* L. که نشان دادند میزان قندهای محلول در اندام هوایی و ریشه گونه *F.hirsuta* در فصل بهار در مقایسه با تابستان دارای بالاترین مقدار است مطابقت دارد. Mosely Arany و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعات خود روی سه گیاه هالوفیت *Tamarix ramosissima*، *Halostachys belangeriana*، *Atriplex lentiformis* در شرایط شوری طبیعی در دو فصل تابستان و زمستان در یافتند که در همه گونه‌های مورد مطالعه میزان تجمع قندهای محلول در فصل تابستان در مقاسیه با فصل زمستان به این دلیل که گونه‌های فوق با تنش خشکی و شوری روبرو می‌شوند افزایش می‌یابد. همچنین Ghorbanli و همکاران (۲۰۱۵) نیز در بررسی تغییرات فصلی کربوهیدرات‌های محلول (بهار و تابستان) روی چهار گیاه هالوفیت *Suaeda arcuata* Bunge، *Tamarix leptopetala* Bunge، *Salsola turcomanica* Litwin و *Cressa cretica* L. غلظت بالاتری از کربوهیدرات‌ها را در فصل تابستان نسبت به فصل بهار در اندام هوایی و ریشه همه گونه‌ها مشاهده نمودند که نتایج ذکر شده با مطالعه حاضر که نشان داد میزان قندهای محلول دراندام هوایی و ریشه گونه *L.reniforme* در فصل تابستان به‌صورت معنی‌داری نسبت به فصل بهار افزایش یافته است مطابقت دارد. قندهای محلول دسته دیگری از محافظت کننده‌های اسمزی هستند و در مکانیسم سازگاری به تنش شوری در گیاهان موثرند. تجمع قندهای محلول تحت تنش شوری نقش این قندها را به عنوان اسموپروتکتان که باعث پایداری غشاء سلولی و حفظ فشار تورژسانس می‌شود را حمایت می‌کند (Lineberger et al., 1980; Jouve et al., 2004). Cumbes و Smirnoff (۱۹۸۹) بیان کردند کربوهیدرات‌ها علاوه بر اینکه به‌عنوان محافظ اسمزی عمل می‌کنند، ممکن است با ماکرومولکول‌های سلولی مثل آنزیم‌ها برهم‌کنش دهند و باعث پایداری ساختار و عملکرد ماکرومولکول‌ها شوند.

با توجه به نتایج به‌دست آمده میزان فلاونوئیدها در اندام هوایی و ریشه گونه‌های مورد مطالعه در فصل تابستان نسبت به فصول دیگر به‌صورت معنی‌داری بیشتر بود. مطالعات Fardus و همکاران (۲۰۱۴) در بررسی تغییرات فصلی (بهار، تابستان، پاییز و زمستان) میزان ترکیبات فنلی مانند فلاونوئیدها در گیاه *Oenothera biensis* نشان دادند که میزان فلاونوئیدها با تغییر فصول تغییر یافت، به طوری‌که

بیشترین میزان آن در فصل تابستان مشاهده شد همچنین Kheira و همکاران (۲۰۱۵) بالاترین میزان فلاونوئیدها را در گیاه *Ballota hirsuta* Benth. در فصل تابستان مشاهده کردند که این نتایج با تحقیقات حاصله در این آزمایش مطابقت دارد. فلاونوئیدها یک گروه از متابولیت‌های ثانویه پلی فنلی گیاه مشتق از مسیر فنیل پروپانوئید می‌باشند که نقش اصلی را در پاسخ‌های گیاه به شرایط محیطی به خصوص در طی استرس‌های زیستی و غیرزیستی بازی می‌کنند. گزارش شده است فلاونوئیدها نقش آنتی‌اکسیدانی دارند و با حذف رادیکال‌های آزاد باعث حفاظت سلولی می‌شوند (Rice-Evans et al.,1997). Kheira و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند که بعضی از فاکتورها مانند شرایط زیست محیطی، فصل رشد و فصل برداشت در محتوای متابولیت‌های ثانویه در گیاهان تاثیر می‌گذارد و باعث افزایش یا کاهش آن می‌گردد. انباشتگی متابولیت‌های ثانویه به‌عنوان یک مکانیسم دفاعی در گیاهان شناخته شده و گیاهان می‌توانند به تنش با تغییر در متابولیسم سلولی خود بوسیله مکانیسم‌های دفاعی مختلف پاسخ دهند و سازگار شوند (El-Tayeb, 2005).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که گونه‌های مورد مطالعه در فصل‌های مختلف میزان متفاوتی از تجمع آنتوسیانین‌ها را دارند، به طوری‌که بیشترین میزان تجمع آنتوسیانین‌ها در اندام هوایی و ریشه گونه *S. dendroides* در فصل پاییز و در گونه *L.reniforme* در فصل تابستان که دارای حداکثر دما، خشکی، شوری و حداقل بارندگی بود مشاهده شد. نتایج حاصل از این مطالعه با نتیجه‌ای که Rezai-keneti و Ghorbanli (۲۰۱۵) از بررسی تغییرات فصلی (بهار و پاییز) آنتوسیانین در دو گیاه هالوفیت *Frankenia hirsuta* و *Climacoptera turcomanica* گرفتند که نشان دادند در مقایسه بین دو فصل برداشت مقدار آنتوسیانین‌ها در هر دو گیاه در فصل پاییز نسبت به فصل بهار به‌صورت معنی‌داری افزایش می‌یابد. همچنین با تحقیق Gonzalez-Salvatierra و همکاران (۲۰۱۰) که مشاهده کردند میزان آنتوسیانین‌ها در دو گیاه *Tillandsia brachycaulos* و *Bromelia karatas* در طول فصل خشک همزمان با افزایش نور و دما به حد ماکزیمم می‌رسد مطابقت دارد. آنتوسیانین‌ها بخش مهمی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی و از خانواده ترکیبات فلاونوئیدی هستند که متعلق به خانواده بزرگ آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشند (Quideau et al., 2011). مطابق نظر Chaker-Scott (۱۹۹۹) تولید و تجمع آنتوسیانین‌ها در ریشه، ساقه به‌ویژه بافت‌های برگی می‌تواند موجب افزایش مقاومت گیاه به برخی از تنش‌های محیطی شود. آنتوسیانین‌ها از طریق مهار رادیکال‌های آزاد نقش قابل توجهی را در سازگاری به شوری بازی می‌کنند (Gould, 2004). القا آنتوسیانین‌ها ممکن است توسط مراحل نمو یا شرایط محیطی نظیر نور، دما تغییر کند (Shichijo et al., 1993). محققان معتقدند آنتوسیانین‌ها نقش حفاظت کننده در برابر نور دارند و جلوی اکسیداسیون نوری و آسیب ناشی از اشعه UVB را می‌گیرند (Chaker-Scott, 1999).

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این تحقیق نشان داد در گیاهان مورد مطالعه میزان رنگیزه‌های کلروفیلی، قندهای محلول و آنتی اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها با تغییر فصل تغییر می‌یابد، به‌طوری‌که این گیاهان بوسیله مکانیسم‌های دفاعی مختلف مانند افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌هایی نظیر فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و تجمع ترکیبات اسمزی مانند قندها به سطوح مختلف شوری در طی فصول مختلف سال پاسخ می‌دهند و سازگار می‌شوند.

Refrences

Anderson, O.M. and Jordheim, M. (2006). The anthocyanins. In: Flavonoids: Chemistry, biochemistry and applications. CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton. 471–551.

Anjum, S.A., Xie, X, Wang, L., Saleem, M.F., Man, C. and Lei, W. (2011). Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. African Journal of Agricultural Research. 6(9): 2026-2032.

Ashraf, M. and Harris, P.J.C. (2013). Photosynthesis under stressful environments. Photosynthetica. 51 (2): 163-190.

Barnes, J.D., Balaguer, L., Manrique, E., Elvira, S. and Davison, A.W. (1992). A reappraisal of the use of DMSO for the extraction and determination of chlorophyll a and b in lichens and higher plants. Environmental and Experimental Botany. 32(2): 85-90.

Bhattacharjee, S. (2008). Calcium-dependent signaling pathway in the heat induced oxidative injury in *Amaranthus lividus* L. Biologia Plantarum.52: 137-140.

Chalker-Scott, L. (1999). Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. Photochemistry and Photobiology. 70(1): 1-9.

Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M. and Chern, J.Ch. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis. 10(3): 178-182.

Chaves, M.M., Flexas, J. and Pinheiro, C. (2009). Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. Annals of Botany. 103: 551–560.

Devmalkar, V.S., Murumkar, C.V., Salunkhe, S.M. and Chavan, S.J. (2014). Studies on pigment chlorophyll isolation and estimation of different bryophytes for their biochemical properties. Journal of Natural Product and Plant Resources. 4 (2): 56-61

Din, J., Khan, S.U., Ali, I. and Gurmani, A.R. (2011). Physiological and agronomic response of canola varieties to drought stress. Journal of Animal and Plant Sciences. 21(1): 78-82

Eckardt, N.A. (2009). A new chlorophyll degradation pathway. Plant Cell. 21: 700

El-Tayeb, M.A. (2005). Response of barley grain to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regulation. 42: 215-224.

Fardus, S., Wahid, A., Javed, F. and Sadia, B. (2014). Changes in leaf phenolics concentrations determine the survival of evening primrose (*Oenothera biensis*) in various seasons. International Journal of Agriculture and Biology.16: 819-824

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra, S.M.A. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agronomy for Sustainable Development. 29: 185-212

Flexas, J., Bota, J., Loreto, F., Cornic, G. and Sharkey, T.D.(2004). Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. Journal of Plant Biology. 6: 269-279.

Gehlot, M., Kasera, P. and Hussain, Sh. (2012). Seasonal variations in phytochemical parameters of *Withania coagulans*.Annals of Arid Zone. 51(1): 43-45.

Ghorbanli, M., Dasturani, M., Bonyadi, R. and Allahverdi Mamaghani, B. (2015). Effects seasonal changes of antioxidant enzymes activities, water and osmolyte in four halophyte species. Iranian Journal of Plant Physiology. 5 (2): 1297-1309.

Gonza´lez-Salvatierra, C., Andrade, J. L., Escalante-Erosa, F., Garcı´a-Sosa, K. and Pen -Rodrı´guez, L.M. (2010.). Antioxidant content in two CAM bromeliad species as a response to seasonal light changes in a tropical dry deciduous forest. Journal of Plant Physiology. 167(10):792-799

Gould, K. (2004). Nature's Swiss Army Knife: The diverse protective roles of anthocyanins in leaves. Journal of Biomedicine and Biotechnology. 5: 314–320.

Gupta, C. and Mishra, V. (2010). Effect of seasonal variation in photosynthetic pigments of few medicinal plants species of Jhansi. International Journal of Plant Sciences.5 (2): 676-678.

Huseynova, I.M., Suleymanov, S.Y., Rustamova, S.M. and Aliyev, J.A. (2009). Drought-induced changes in photosynthetic membranes of two wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. Biochemistry. 74(8):903-909.

Imlay, J.A. (2008). Cellular defenses against superoxide and hydrogen peroxide. Annual Review of Biochemistry.77: 755–776.

Jaleel, C.A., Kishorekumar, P., Manivannan, A., Sankar, B., Gomathinayagam, M. and Panneerselvam, R. (2008). Salt stress mitigationby calcium chloride in Phyllanthusamarus. Acta Botanica Croatica. 67: 53-62.

Jenkins, S., Edward, G., Lennard, B. and Rengel, Z. (2010). Impacts of waterlogging and salinity on Puccinellia (*Puccinellia ciliate*) and wheat grass (*Thinopgru mponticum*) zonation on salt land with a shallow-water table, plant growth and Na+ and K+ concentrations in the leaves. Plant Soil. 329: 91-104.

Jouve, L., Hoffmann, L. and Hausman, J.F. (2004) .Polyamine, carbohydrate, and proline content changes during salt stress exposure of Aspen (*Populus tremula* L.): involvement of oxidation and osmoregulation metabolism. Plant Biology. 6(1): 74-80.

Kannan, N.D. and Kulandaivelu, G. (2011). Drought induced changes in physiological, biochemical and phytochemical properties of *Withania somnifera* Dun. Journal of Medicinal Plants Research. 5(16): 3929-3935.

Kheira, K., benchaben, H., adiba, B.D, Nadira, A. and Abbassia, A. (2015). Seasonal variations of ballotahirsutabenth flavonoids of tessala mount of the prefecture of SidiBel-Abbes (Western Algeria). Biochemistry and Molecular Biology Letters. 1(1): 001-006.

Kovacik, J., Klejdus, B., Hedbavny, J., Stork, F. and Backor, M. (2009). Comparison of cadmium and copper effect on phenolic metabolism, mineral nutrients and stress-related parameters in Matricaria chamomilla plants. Plant and Soil. 320: 231-242.

Koyro, H.W., Khan, M. A. and Lieth, H. (2011). Halophytic crops: a resource for the future to reduce the water crisis?" Emirates Journal of Food and Agriculture. 23(1): 1–16.

Lineberger, D.R. and Steponkus, P. (1980). Cryoprotection by glucose, sucrose and raffinose to chloroplast thylakoids. Plant Physiology. 65(2): 298-304.

Mafakheri, A., Siosemardeh, A., Bahramnejad, B., Struik, P.C. and Sohrabi, E. (2010). Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. Australian Journal of Crop Science. 4(8): 580-585.

Masukasu, H., Karin, O. and Kyoto, H. (2003). Enhancement of anthocyanin biosynthesis by sugar in radish (*Raphanus sativus*) hypocotyls. Plant Science. 164(2): 259 - 265.

Morsy, A.A., Youssef, A.M., Mosallam, H.A.M. and Hashem, A.M. (2008). Assessment of selected species along Al-Alamein-Alexandria international desert road, Egypt. Journal of Applied Sciences Research. 4(10): 1276-1284.

MoselyArany, A., Hakimzadeh, M.A. and Ghobadpour, R. (2013). Comparison of changes in proline, soluble sugar and ion content of *Atriplex lentiformis*, *Halostachys belangeriana* and *Tamarix rammossma* over various times and natural salinity conditions. Iranian Scientific Association of Desert Management and Control. 2: 59-68

Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell and Environment. 25(2): 239-250.

Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C. and Pouységu, L. (2011). Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities and synthesis. Angewandte Chemie International Edition. 50(3): 586–621.

Rahnama, A., Poustini, K., Tavakkol-Afshari, R. and Tavakoli, A. (2010). Growth and stomatal responses of bread wheat genotypes in tolerance to salt stress. International Journal of Biological Sciences. 6: 216-221.

Rezai-keneti, H. and Ghorbanli, M. (2015). Study of variation phytochemical and

antioxidant activityof *Frankenia hirsuta* Desf. and *Climacopte raturcomanica* (Litw.) Aerial parts under harvest seasonin Sofikom regions of Golestan province. Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research. 10(40): 51-61.

Rice-Evans, C., Miller, N. and Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends in Plant Science. 2(4): 152–159.

Sadasivam, S., and Manickam A. (1992). In: Biochemical methods for agricultural sciences, Wiley Eastern Limitetd. New Delhi. pp. 193-194.

Saibo, N.J.M., Lourenço, T. and Oliveira, M.M. (2009). Transcription factors and regulation of photosynthetic and related metabolism under environmental stresses. Annals of Botany. 103: 609-623.

Shichijo, C., Hamada, T., Hiraoka, M., Johnson, C. B. and Hashimoto, T. (1993). Enhancement of red-light-induced anthocyanin synthesis in sorghum first internodes by moderate low temperature given in the pre-irradiation culture period. Planta an International Journal of Plant Biology.191(2):238-245.

Smirnoff, N. and Cumbes, Q.T. (1989). Hydroxyl radicals scavenging activity of compatible isolates. Phytochemistry. 28: 1057–1060.

Teimouri, Z. Ghorbanli, M. and Satei, A. (2014). Comparison the contents of proline, glycine betaine, soluble sugar and antioxidant enzyme activity in two Halophyte species *Suaeda altissima* Pall and *Frankenia hirsute* L. in two different seasons. Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research. 9 (36):34-46.

Verpoorte, R., Contin, A. and Memelink, J. (2002). Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. Phytochemistry. 1: 13–25.

Walker, D.J., Romero, P., De Hoyos, A. and Correal, E. (2008). Seasonal changes in cold tolerance, water relations and accumulation of cations and compatible solutes in *Atriplex halimus* L. Journal Environmental and Experimental Botany. 64: 217–224.

Zhu, J.K. (2002). Salt and drought stress signal transduction in plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology.53: 247-273.