Iranian Journal of Biological Sciences.2022; 17(1):31-47

Original Article

Iranian Journal of Biological Sciences

https://zisti.iauvaramin.ac.ir

Interaction effects of different amounts of zinc(Zn) and boron(B) on growth and antioxidative enzymes activity in lettuce (Lactuca sativa L. cv. Paris Island) plant

Behtash F1,, Fakhr Razi H2, Hasanbarani M3,*,*

1. Assistant of professor , Department of Horticultural science Faculty of Agriculture, University of Maragheh,East Azarbaijan,Iran.
2. Student, Maragheh Agriculture School, East Azarbaijan,Iran.
3. Ph.D Graduate, Plant systematic, Science and Research, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Research greenhouse of Maragheh Agriculture Faculty

Article Info

Article History:
Received 7.14.2022
Revised 8.22.2022
Accept 9.1.2022
Online 9.23.2022

KeyWords:
Boron toxicity
Micro elements
Enzymatic activity
Hoagland›s nutrient solution
Hydroponic

***Corresponding author:**
E-mail address
behtash@maragheh.ac.ir
Hadifa.93@gmail.com
Mh_plantbiology@yahoo.com

Abstract

Introduction: One of the principle factors influencing the plant›s growth parameters and yield is nutrition with micro elements. Boron (B) and Zinc(Zn) are dominant micro-nutrients directly or indirectly affect the plants biochemical potential and hence the yield of plants.
Aim: The goals of this study were the interaction effects of different amounts of Zinc and Boron in nutrient solution on yield, Chlorophyll content, prolin concentration and antioxidative enzymes activities in lettuce plant.
Materials and methods: In the present experiment, we aimed to study the effects of Zn and B on some growth attributes and quality of Lactuca sativa L. cv. ‹paris island›. The experiment was conducted at the Research Greenhouse of the University of Maragheh as factorial based on CRBD with Zn (0, 5 and 10 mg L-1) from ZnSO4.7H2O and B from H3BO3 at three levels (0, 2 and 4 mg L-1) with three replications.
Results: The results showed that with increasing Zn concentrations in the nutrient solution, the fresh weight, dry weight, chlorophyll SPAD chlorophyll a and b content, total chlorophylls content, carotenoids amount, soluble proteins concentration and Zn concentration were significantly increased in the lettuce leaf tissue ($p \leq 0.01$).
Conclusion: Furthermore, with increasing boron in nutrient solution, the concentrations of proline and MDA significantly increased. GPX, CAT and APX activities in the leaf tissue were significantly influence and increased with increasing of boron in nutrient solution. The interaction effects between Zn and B were significant and Zn decreased the toxicity effects of B in lettuce plants. In this study for decrease of toxicity effects of boron, we recommend the application of 5 mg L-1 zinc in nutrient solution.

Cite this article: Behtash F* , Fakhr Razi H, Hasanbarani M*. Interaction effects of different amounts of zinc(Zn) and boron(B) on growth and antioxidative enzymes activity in lettuce(Lactuca sativa L. cv. Paris Island) plant. Iranian Journal of Biological Sceinces. 2022; 17(1): 31-47

http://dx.doi.org/10.30495/zisti.2022.1963256.1128 DOR 20.1001.1.17354226.1401.17.1.4.4
Publisher: Islamic Azad University of Varamin – Pishva branch Print ISSN: 1735-4226 Online ISSN: 1727-459X
This is an open access article under the: https://creativecommons.org/license/by-nc/4.0/

مقاله تحقیقی
دانش زیستی ایران
https://zisti.iauvaramin.ac.ir

اثرات متقابل مقادیر مختلف روی(Zn) و بور (B) در محلول‌غذایی بر رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیداتیو در گیاه کاهو (Lactuca sativa L.) رقم Paris Island

فرهاد بهتاش *۱، سید هادی فخر قاضی۲ ،معصومه حسن بارانی *۳

۱. استادیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه، آذربایجان شرقی، ایران
۲. دانشجو آموزشکده کشاورزی مراغه، آذربایجان شرقی، ایران.
۳. دکتری تخصصی سیستماتیک گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات، تهران، ایران.

محل انجام تحقیق: گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله
دریافت ۱۴۰۱/۴/۲۳
بازنگری ۱۴۰۱/۵/۳۱
پذیرش ۱۴۰۱/۶/۱۰
نمایه ۱۴۰۱/۶/۲۹

کلمات کلیدی
سمیت بور
عناصر کم‌مصرف
فعالیت‌های آنزیمی
هوگلند
هیدروپونیک

* نویسنده مسؤل
behtash@maragheh.ac.ir
Hadifa.93@gmail.com
Mh_plantbiology@yahoo.com

چکیده

مقدمه: از عوامل موثر بر افزایش عملکرد به ویژه در محیط‌های کنترل شده، تغذیه گیاهان با عناصر کم مصرف می‌باشد. بور (B) و روی (Zn) از عناصر مهم در واکنش‌های بیوشیمیایی گیاه هستند که می‌توانند به طور مستقیم و غیرمستقیم سبب افزایش عملکرد محصولات شوند.

هدف: در این پژوهش به منظور بررسی اثرات سطوح مختلف عناصر روی(Zn) و بور (B) بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه کاهو (Lactuca sativa L.) رقم paris island می‌باشد.

مواد و روش ها: آزمایش در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی مراغه به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو فاکتور روی(Zn) در سه سطح صفر، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر از منبع سولفات روی (ZnSO٤,٧H٢O) و بور (B) در سه سطح صفر، ۲ و ٤ میلی‌گرم در لیتر از منبع اسیدبوریک (H٣BO٣) در سه تکرار، به روش هیدروپونیک انجام گردید. اهداف این پژوهش شامل بررسی اثرات متقابل غلظتهای مختلف روی(Zn) و بور (B) در محلول غذایی بر رشد، میزان کلروفیل، پرولین و فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیداتیو بودند.

نتایج: نتایج نشان دادند که با افزایش غلظت روی(Zn) در محلول غذائی، صفات رشدی از جمله وزن تر، وزن خشک، شاخص کلروفیل، کلروفیل a و b، کلروفیل کل میزان کاروتنوئید، غلظت پروتئین محلول کل و غلظت عنصر روی در برگ کاهو به صورت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد افزایش یافتند. همچنین با افزایش مقدار بور (B) در محلول غذائی، مقادیر پرولین، مالون دی آلدئید (MDA)، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیداتیو از جمله گایاکول پراکسیداز (GPX)، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX) و همچنین غلظت عنصر بور (B) در برگ کاهو به صورت معنی‌دار افزایش یافتند که افزودن روی (Zn) در غلظت‌های بالای بور (B)، با اثر متقابل خود باعث کاهش این مقادیر گردید.

نتیجه‌گیری: پیشنهاد میشود با توجه به اینکه اثرات معنی‌داری در کاهش سمیت بور (B) با افزودن روی (Zn) مشاهده می‌شود، بنابراین از عنصر روی(Zn) به عنوان کاهش دهنده سمیت بور (B) استفاده گردد. توصیه می‌گردد که جهت کاهش میزان سمیت بور (B)، به مقدار ۵ میلی گرم در لیتر عنصر روی (Zn) در محلول غذایی استفاده گردد.

شیوه آدرس‌دهی این مقاله : بهتاش ف*، فخر قاضی ه ،حسن بارانی م*. اثرات متقابل مقادیر مختلف روی(Zn) و بور(B) در محلول‌غذایی بر رشد و فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیداتیو در گیاه کاهو (Lactuca sativa L.)رقم Paris Island. مجله دانش زیستی ایران. ۱۴۰۱؛ ۱۷(۱): ۳۱-۴۷
DOR 20.1001.1.17354226.1401.17.1.4.4
http://dx.doi.org/10.30495/zisti.2022.1963256.1128
ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین - پیشوا شاپا چاپی: ۱۷۳۵-٤۲۲٦ شاپا الکترونیکی: ۲۷۱۷-٤٥٩X
نویسندگان: © حق مؤلف

مقدمه:

کاهو (Lactuca sativa L.) گیاهی یکساله از خانواده مرکبان و یکی از سبزی‌های برگی فصل خنک است که در سال‌های اخیر توجه خاصی به کشت آن معطوف شده است. میزان تولید سالانه کاهو در ایران در سال ۲۰۲۰ میلادی مقدار ۴۳ هزار تن برآورد شده است (۱). با توجه به اینکه دو سوم از جمعیت جهان در معرض خطر کمبود در یک یا چندین عنصر معدنی می‌باشند، لذا کمبود عناصر ریز مغذی به عنوان یکی از جدی‌ترین کمبود در رژیم غذائی و جدی‌ترین چالش برای بشریت به ویژه در کشورهای در حال توسعه می‌باشند و عناصر معدنی اغلب در رژیم‌های غذائی انسان فاقد آهن(Fe) و روی (Zn) می‌باشند (۲). روی (Zn) فلز ضروری برای سوخت و ساز در گیاهان، حیوانات و انسان‌ها می‌باشد که در فعالیت بیش از ۲۰۰ آنزیم نقش دارد (۳). با توجه به تحرک کم روی (Zn) در خاک و ناتوانی جذب توسط گیاه در خاک‌های آهکی مناطق خشک و نیمه‌خشک، کمبود عنصر روی، یک مشکل گسترده می‌باشد (٤). عنصر روی (Zn)، دست کم به چهار آنزیم گیاهی (الکل دی هیدروژناز، سوپر اکسید دیسموتاز، کربنیک آنهیدراز و RNA-پلی مراز) پیوند می‌یابد (٥). بور (B) از گروه شبه فلزات بوده و رفتاری بین فلزات و غیرفلزات دارد. میزان بور (B) در خاک‌ها متفاوت و از ۲ تا ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و یا حتی بیشتر متغیر است. این عنصر در خاک به صورت برات‌های کلسیم و سدیم یافت می‌شود. آب‌های مناطق خشک نیز در حدود دو میلی‌گرم در لیتر حاوی بور (B) می‌باشند. در خاک‌های دارای بافت سبک، بور (B) در اثر بارندگی یا آبیاری شسته شده و از دسترس گیاه خارج می‌شود. همچنین در pH بالاتر از هشت و در خاک‌های آهکی، میزان جذب بور (B) به مقدار زیادی کاهش می‌یابد. اگرچه غلظت بور (B) در خاک‌های آهکی بیش از خاک‌های اسیدی است، ولی به علت واکنش متقابل بین کلسیم و بور (B)، جذب این عنصر در خاک‌های آهکی به دشواری صورت می‌پذیرد (٦). اهداف مورد نظر در این پژوهش عبارتند از: بررسی اثرات غلظت‌های مختلف روی (Zn) و بور (B) بر وزن گیاه و برخی خصوصیات فیزیولوژیکی‌اندام‌های هوایی گیاه کاهو، بررسی تأثیرات روی (Zn) در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیداتیو، که به عنوان بخش ساختاری و کاتالیزور عمل می‌کند و نیز تعیین غلظت سمی عنصر بور (B) در صورت وجود اثرات سمی و خاصیت کاهش این سمیت توسط روی (Zn). جهت بررسی مواردی از جمله تأثیر کاربرد روی (Zn) بر افزایش وزن گیاه کاهو، بررسی اثرات متقابل روی و بور در غلظت عناصر ریز مغذی، تأثیرات روی (Zn) بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیداتیو، بررسی اثرات افزایش میزان عنصر بور (B) در محیط رشد گیاه و ایجاد سمیت در گیاه کاهو، انجام چنین تحقیقاتی ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها:

در این آزمایش برای بررسی اثرات متقابل روی (Zn) و بور (B) بر ویژگی‌های رویشی و فیزیولوژیکی گیاه کاهو (Lactuca sativa L.) از بذر کاهوی رقم Paris island استفاده گردید و در گلخانه تحقیقاتی دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه مراغه، این پژوهش انجام شد و در گلخانه از گلدان‌های پلاستیکی ۱۲ لیتری به عنوان ظروف کاشت و از ماسه به عنوان بستر کاشت استفاده گردید. در این آزمایش گلدان‌هایی با قطر دهانهٔ ۲۵ سانتی‌متر را با ماسه پر و شستشو داده شد. در اولین آبیاری، گلدان‌ها با قارچ‌کش بنومیل با غلظت ۵۰۰ ppm به جهت از بین بردن قارچ‌های بیماری‌زا و حشره‌کش استامی‌پراید با غلظت ۲۵۰ ppm برای از بین بردن آفات استفاده شد. در هرگلدان ٤ عدد بذر کشت شد. به دلیل احتمال عدم جوانه‌زنی همه بذور، در ظروف کاشت بذور اضافی جهت نشاء کاری، کشت گردید. دمای محیط در طی روز حدود ۲±۲۰ و در شب ۲±۱۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی، در حدود ٦۰ درصد تنظیم شد. محلول غذایی مورد استفاده محلول هوگلند اصلاح شده (۷) بود. pH محلول‌غذایی ٦/٥ و هدایت الکتریکی (EC) ۱/٥٥ دسی زیمنس بر متر بود که توسط دستگاه سنجش هدایت الکتریکی ساخت شرکت Aqua lytic مدل AL۱۰conاندازه‌گیری گردید. محلول‌غذایی پس از تهیه به صورت دستی به پای گیاهان درون بسترهای کشت اضافه شدند.

جدول ۱- ترکیب و غلظت نمک‌ها در محلول هوگلند اصلاح شده(Coolang و همکاران، ۲۰۰۴)

نوع نمک	غلظت (g/l)	نوع نمک	غلظت (mg/l)
۲,۲H۲O(Ca(No۳	۰/۴۷	H۳BO۳	۲/۸۶
KNO۳	۰/۳	Mncl۲,۴H۲O	۱/۸۱
MgSO۴,۷H۲O	۰/۲۵	ZnSO۴,۷H۲O	۰/۲۲
NH۴H۲PO۴	۰/۰۶	NaMoO۴,۲H۲O	۰/۰۲
FeEDTA	۰/۱	CuSO۴,۵H۲O	۰/۰۸

به منظور بررسی اثرات غلظت‌های مختلف روی (Zn) و بور (B) بر روی گیاه کاهو، در بهار سال ۱۳۹۶ آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با فاکتور روی (Zn) در سه سطح صفر، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر از منبع سولفات روی (ZnSO۴,۷H۲O) و فاکتور بور (B) از منبع اسیدبوریک (H۳BO۳) در سه سطح صفر، ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر در سه تکرار در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه انجام شد. لازم به یادآوری است که تیمارهای اعمال شده، افزون بر مقادیر موجود در محلول غذایی هوگلند است و تیمار شاهد مقادیر موجود در محلول غذایی را دارا می‌باشد. فاکتورهای مورد نظر به محلول‌غذائی مورد استفاده افزوده شدند. در مورد تیمار شاهد فقط از محلول هوگلند استفاده شد و در سایر تیمارها مقادیر یاد شده بور (B) و روی(Zn) به محلول‌هوگلند اضافه شدند، لذا تیمارهای صفر شامل مقادیر پایه روی (Zn) و بور (B) در محلول هوگلند می‌باشند.

اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیلa و b، کلروفیل کل و کاروتنوئید)

اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی‌اندام هوایی گیاهان شامل کلروفیل a و b، کلروفیل کل و کاروتنوئید با استفاده از روش ارائه شده آرنون (۸) انجام شد. مادهٔ تر گیاهی (۰/۵ گرم) به همراه ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد، درون هاون چینی سائیده شد و نهایتاً عصاره همگنی به دست آمد. جذب محلول روشناور توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UV- ۱۸۰۰, Shimadzu, Japan.) در سه طول موج ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر قرائت شد. غلظت کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید (C_{x+c}) با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید:

$$C_a \text{ (mg/g F.W)} = [۱۲,۷(A۶۶۳) - ۲,۷۹(A۶۴۵)]$$
$$C_b \text{ (mg/g F.W)} = [۲۱,۵۰ (A۶۴۵) - ۵,۱۰(A۶۶۳)]$$
$$C_{x+c} \text{ (mg/g F.W)} = [۱۰۰۰(A۴۷۰) - ۱,۸۲C_a - ۸۵,۰۲C_b] / ۱۹۸$$

اندازه‌گیری غلظت پرولین

اسیدآمینه پرولین با استفاده از روش Bates و همکاران (۹)اندازه‌گیری شد. در این روش مقدار (۰/۵ گرم) از برگ گیاه در هاون چینی و با افزودن ۱۰ میلی‌لیتر محلول سالسیلیک‌اسید ۳٪ سائیده شد تا عصاره همگنی حاصل شود. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شده و محلول روشناور حاصل از سانتریفیوژ جهت‌اندازه‌گیری پرولین مورد استفاده قرار گرفت. مخلوط واکنش شامل ۲ میلی‌لیتر از محلول روشناور ، ۲ میلی‌لیتر نین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک گلایسیال تهیه شده و به مدت یک ساعت در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت. جهت اتمام واکنش، نمونه‌ها در حمام یخ قرار گرفته و در ادامه مخلوط واکنش با استفاده ۴ میلی‌لیتر تولوئن مورد استخراج قرار گرفت. با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتراندازه‌گیری شد. محلول شاهد شامل تولوئن خالص بود.

اندازه‌گیری غلظت ترکیب مالون‌دی‌آلدهید (MDA)

اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدهید به عنوان محصول پراکسیداسیون لیپیدها به روش Heath و Packer (۱۰) انجام شد. ۰/۵ گرم از برگ با ۱/۵ میلی‌لیتر TCA ۰/۱٪ (Tricholoroacetic acid) درهاون چینی ساییده شد. همگن‌های حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ rpm در

دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. به ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول روشناور ، یک میلی‌لیتر محلول ۰/۵٪ تیوباربیتوریک اسید (TBA) اضافه شد. مخلوط واکنش به مدت ۳۰ دقیقه درون بن ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. بعد از اتمام مدت زمان مذکور، بلافاصله نمونه‌ها درون حمام یخ قرار گرفتند تا واکنش خاتمه یابد. پس از سانتریفیوژ نمونه‌ها در ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه، جذب محلول روشناور حاصل از سانتریفیوژ در سه طول موج ٤٤۰، ٥۳۲ و ٦۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

ضریب خاموشی $Mm^{-1}\ Cm^{-1}$ ۱۱۵۵ نیز در محاسبه غلظت MDA لحاظ گردید. برای تهیه عصاره گیاهی جهت اندازه‌گیری پروتئین کل و میزان فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو، ۰/۵ گرم ازاندام برگ با سه میلی‌لیتر بافر فسفات‌پتاسیم ۵۰ mM (pH=۷) حاوی پلی وینیل پیرولیدون (PVP) ۱٪ (w/v) در هاون سائیده و سپس ورتکس شد. عصاره حاصل، به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ rpm در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. محلول روشناور برای‌اندازه‌گیری میزان پروتئین‌کل و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و گایاکول پراکسیداز (GPX) استفاده شد. فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) به روش Cakmak و Horst(۱۱)اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۷۵۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۱۰۰ میکرو لیتر H_2O_2 (۷۰ میلی‌مولار)، ۷۵۰ میکرولیتر گایاکول (۱۰ میلی‌مولار) و عصاره پروتئینی خام بود. فعالیت آنزیم GPX در طول موج ٤۷۰ نانومتراندازه‌گیری شد.

ضریب خاموشی معادل $Mm^{-1}\ Cm^{-1}$ ۲٦/٦ در محاسبه فعالیت آنزیم در نظر گرفته شد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) با روش Chen و Asada (۱۲)اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۲۰۰ میکرولیتر آسکوربات (۲ mM)، ۷۵۰ میکرولیتر بافر فسفات‌پتاسیم (۱۰۰ mM)، ۲۰۰ میکرولیتر پراکسیدهیدروژن (۲ mM) و عصاره گیاهی بود. واکنش با اضافه نمودن H_2O_2 به مخلوط مورد نظر آغاز شد و فعالیت آنزیم به دلیل مصرف پراکسیدهیدروژن (H_2O_2)، با کاهش جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتراندازه‌گیری شد. ضریب خاموشی $Mm^{-1}\ Cm^{-1}$ ۲/۸ نیز در محاسبه غلظت APX لحاظ گردید.

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

فعالیت آنزیم کاتالاز با روش معرفی شده Mishra و همکاران (۱۷)اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۷۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۷۵۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن (H_2O_2) ۷۰ میلی‌مولار و عصاره گیاهی بود. واکنش با اضافه نمودن H_2O_2 به مخلوط مورد نظر آغاز شده و فعالیت آنزیم به دلیل مصرف پراکسید هیدروژن (H_2O_2) با کاهش جذب در طول موج ۲٤۰ نانومتراندازه‌گیری شد. ضریب خاموشی معادل $Mm^{-1}\ Cm^{-1}$ ۳۹/٤ در محاسبه آنزیم در نظر گرفته شد.

اندازه‌گیری غلظت پروتئین محلول کل

میزان پروتئین محلول کل به روش Bradford(۱٤)اندازه‌گیری شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ٥۹٥ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتراندازه‌گیری شد. آلبومن سرم گاوی (BSA) جهت ترسیم منحنی استاندارد مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه‌گیری شاخص کلروفیل برگ

دستگاه کلروفیل‌متر SPAD – ۵۰۲-Minolta جهت اندازه‌گیری میزان سبزینگی یا به‌عبارتی محتوای نسبی کلروفیل برگ‌ها مورد استفاده قرار گرفت. به طور تصادفی از هر واحد آزمایشی یك گیاه برداشت گردید. پس از جدا نمودن قسمت هوایی گیاه ازاندام زیر زمینی، وزن تر برای کلیه تیمارها اندازه‌گیری شد، سپس نمونه‌ها را درون پاکت کاغذی قرار داده و به مدت ٤۸ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد در دستگاه خشك‌کن قرار داده شد تا وزن خشك آن‌ها تعیین شود(۱٥). اندازه‌گیری وزن تر و خشك به وسیله ترازوی دیجیتالی (Sartorius, Basic, Germany) با دقت ۰/۱ گرم انجام گرفت. هضم نمونه‌ها برای تعیین غلظت روی (Zn): نمونه‌های گیاهی به روش هضم نمونه تر Dong و همکاران (۱٥) و به ترتیب زیر انجام گرفت ۱ گرم از نمونه برگ خشك با ترازوی حساس دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ گرم‌اندازه‌گیری شد. مواد گیاهی توزین شده با دقت به لوله‌های هضم منتقل گردیدند. سپس ۱۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ (٦٥ درصد) به هر لوله اضافه شد. نمونه‌ها تا روز بعد بدون اعمال هیچ دمایی رها شدند. در روز بعد نمونه‌ها به مدت ۵ ساعت در دمای ۱۰۰ سانتی گراد حرارت داده شدند. نشانه اتمام هضم، به دست آمدن مایع زلال زرد بود. سپس لوله‌ها از روی اجاق هضم برداشته شده و در جا لوله‌ای قرار گرفتند تا خنك شوند. پس از اینکه نمونه‌های برگ به وسیله اسید نیتریك غلیظ هضم شدند، عصارهٔ حاصل توسط کاغذ واتمن

شماره ۴۲ صاف گردید و توسط آب مقطر در بالن ژوژه‌ها به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شدند. برای تعیین غلظت عنصر روی (Zn) در نمونه‌های گیاهی از دستگاه جذب اتمی (AA۶۳۰۰,Shimadzu, Japan) استفاده گردید.

تعیین غلظت بور (B)

بور به روش Wolf(۱۶)اندازه گیری شد. ابتدا ۱ گرم مادهٔ گیاهی خشک و پودر شده در بوته چینی ریخته و در کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت قرار داده شد. پس از خاکستر شدن نمونه‌ها، ۵ یا ۶ قطره آب مقطر اضافه شده و به دنبال آن ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۰/۳۶ نرمال به آن اضافه شود. این محلول به مدت یک ساعت در دمای آزمایشگاه قرار گرفته و چند بار با یک میله بهم زده و در ادامه صاف شد.

تهیه محلول بافر بور

۲۵۰ گرم استات آمونیوم و ۱۵ گرم نمک دی سدیم اتیلن دی آمین ترا استیک اسید(Na_2-EDTA) در ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل نموده و سپس ۱۲۵ میلی‌لیتر استیک اسید به آن اضافه شود.

تهیه محلول معرف Azomethine-H

۰/۴۵ گرم ماده Azomethine-H در ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول L- آسکوربیک‌اسید ۱ درصد حل گردد. ۰/۱۱۴۳ گرم اسید بوریک در آب مقطر حل شده و به حجم ۱ لیتر رسانده و از این محلول پایه، غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵ میلی‌گرم بور (B) در لیتر تهیه گردد.

اندازه‌گیری بور (B)

ابتدا ۱ میلی‌لیتر از محلول‌های استاندارد برداشته و به داخل لوله‌های پلاستیکی ۱۰ میلی‌لیتر ریخته می‌شود. سپس ۲ میلی‌لیتر محلول بافر اضافه نموده و به دقت تکان داده شود. در مرحله بعد، ۲ میلی‌لیتر محلول بافر اضافه نموده و به دقت تکان داده شود. در مرحله بعد، ۲ میلی‌لیتر معرف Azomethine-H اضافه شده و به هم زده شد. پس از گذشت ۳۰ دقیقه رنگ حاصل در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید و با استفاده از نمودار محلول استاندارد مقدار بور (B) محاسبه گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزارهای MSTAT-C و SPSS انجام شد. آزمون چند دامنه‌ای دانکن به منظور بررسی مقایسه میانگین تیمارها صورت گرفت. تمام نتایج گزارش شده در این تحقیق درسطح احتمال ۱٪ انجام گرفته است.

نتایج و بحث:

نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲)، نشان دادند که اثر متقابل تیمارهای روی (Zn) و بور (B)، بر صفات رشدی مانند وزن تر، وزن خشک، میزان کلروفیل a و b، کلروفیل کل و کاروتنوئید در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود.

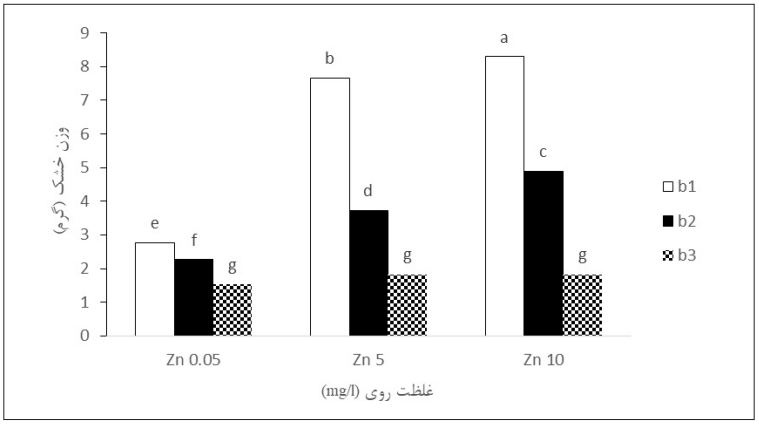
جدول ۲- تجزیه واریانس تیمار با روی(Zn) و بور(B) بر شاخص‌های رشدی کاهو.

	میانگین مربعات							
منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن تر	وزن خشک	شاخص کلروفیل	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید
روی	۲	۲۷۸۱/۸**	۱۹/۹**	۱۵۳/۸**	۲۰۴/۱**	۴۲**	۴۶۹/۵**	۱۰۷/۴**
بور	۲	۶۵۵۵/۲**	۴۶/۲**	۱۴۴/۹**	۱۶۷/۱**	۱۱**	۲۳۹**	۵۴/۳**
روی×بور	۴	۹۴۰/۹**	۶/۵**	۲/۷ns	۹/۵**	۲/۸**	۲۸/۳**	۲/۸**
خطا	۱۶	۴/۷	۰/۰۳	۳	۱	۰/۱	۲/۵	۰/۴
ضریب تغییرات (درصد)	۴/۸	۴/۶	۴/۵	۳/۷	۳/۸	۴/۲	۶/۷	

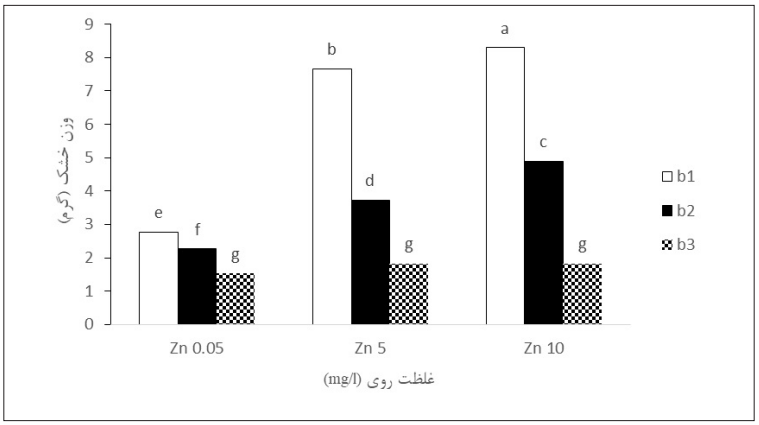
ns غیر معنی‌دار و ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱درصد و * معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد

نتایج حاصل از مقایسهٔ میانگین داده‌ها نشان دادند که با افزایش میزان بور (B) در محلول غذائی، وزن تر و خشک به صورت معنی‌دار کاهش یافتند. همچنین نتایج مقایسهٔ میانگین داده‌ها نشان دادند که با افزایش غلظت روی (Zn) در محلول غذایی، وزن تر و خشک گیاهان به صورت معنی‌داری افزایش یافتند (شکلهای ۱ و ۲). اثرات متقابل روی (Zn) و بور (B) در وزن تر و خشک گیاه کاهو معنی‌دار بودند (جدول ۱) و مقایسهٔ میانگین داده‌ها نشان داد که افزایش مصرف روی (Zn) در محلول غذایی باعث جبران کاهش وزن تر و وزن خشک توسط افزایش بور (B) در محلول غذایی گردید (شکلهای ۱ و ۲). بیشترین وزن تر و خشک بوته در تیمار روی (Zn) با غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر بدون افزایش در مصرف

بور (B) در محلول غذایی، حاصل شد. همچنین کمترین وزن تر و خشک بوته نیز در تیمار بور (B) با غلظت ٤ میلی‌گرم در لیتر محلول غذایی مشاهده گردید که حتی افزودن روی(Zn) در سطوح بالاتر به این تیمار، نتوانست تأثیر سمیت بور را جبران کند (شکلهای ۱ و ۲).



شکل ۱- اثر متقابل روی(Zn) و بور(B) بر وزن تر گیاه کاهو.

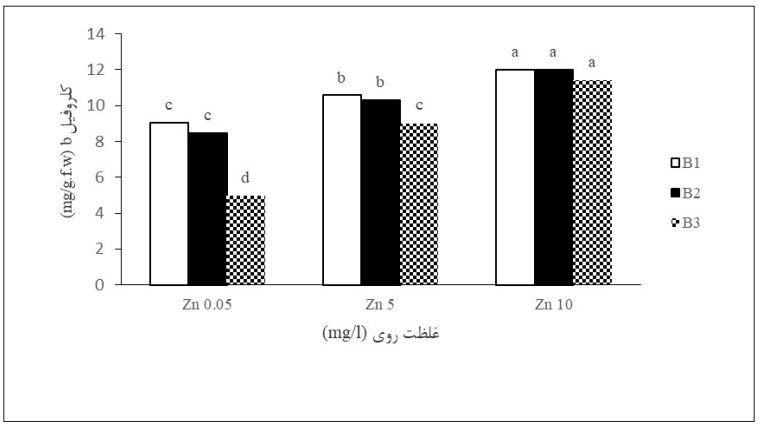


شکل ۲- اثر متقابل روی (Zn) و بور (B) بر وزن خشک گیاه کاهو.

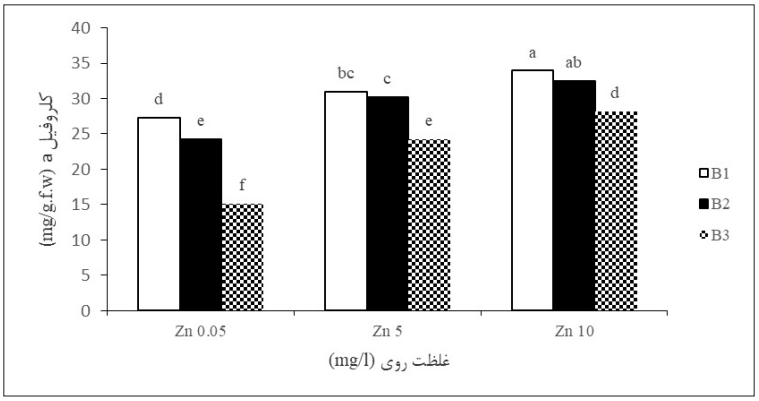
نتایج حاصل از این پژوهش نشان دادند که روی(Zn)، با افزایش میزان کلروفیل و در نتیجه افزایش فتوسنتز گیاه، باعث افزایش وزن تر و خشک گیاه می‌شود، همچنین روی(Zn) در کاهش اثرات منفی غلظت‌های بالای بور(B) هم نقش دارد. روی (Zn) یک عنصر ریز مغذی مهم برای رشد و نمو گیاهان محسوب می‌شود. روی(Zn) برای رشد و انجام اعمال فیزیولوژیکی گیاهان ضروری است و یکی از مهمترین تنش‌های عناصر ریز مغذی، کمبود Zn می‌باشد که رشد وعملکرد گیاهان را کاهش می‌دهد)۵). عنصر Zn در چندین سیستم آنزیمی‌که سبب اتصال آنزیم به سوبسترا می‌گردد به عنوان یک کوفاکتور نقش اساسی دارد، همچنین Zn در اعمال بیوشیمیایی مختلف از قبیل سنتز RNA و تریپتوفان (پیش مادهٔ سنتز اسید ایندول استیک، عامل رشد طولی ساقه است) دخالت دارد (۳).

نتایج تجزیهٔ واریانس داده‌ها نشان دادند که اثرات اصلی و اثرات متقابل روی (Zn) و بور (B) در میزان کلروفیل b، کلروفیل a و کلروفیل کل برگ گیاه کاهو معنی‌دار بودند. مقایسهٔ میانگین داده‌ها نشان دادند که با افزایش غلظت بور (B) در محلول غذایی، میزان کلروفیل b، کلروفیل a و کلروفیل کل در برگ کاهو کاهش معنی‌داری یافت (شکلهای ۳، ٤ و ٥). همچنین با افزایش میزان روی (Zn) در محلول غذایی، میزان کلروفیل b، کلروفیل a و کلروفیل کل برگ افزایش معنی‌داری داشت و اثرات متقابل روی (Zn) و بور (B) در محلول غذایی در میزان غلظت کلروفیل b معنی‌دار بود و

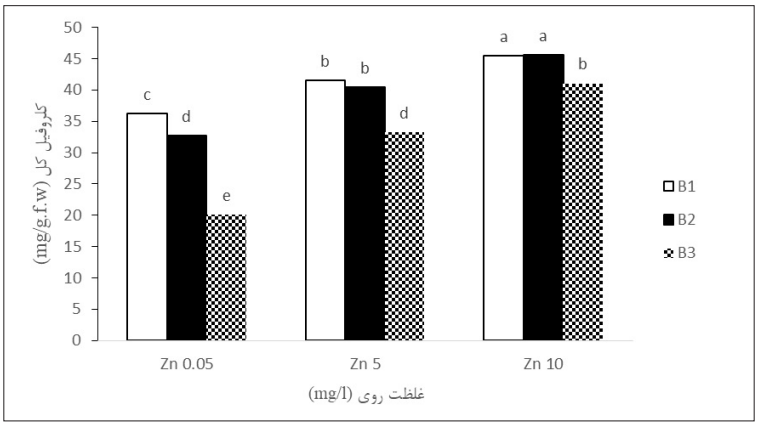
روی (Zn) از کاهش میزان کلروفیل b، کلروفیل a و کلروفیل کل توسط غلظت‌های بالای بور (B)، جلوگیری نمود (شکل‌های ۳، ٤ و ٥). احتمالا دلیل کاهش کلروفیل کل برگ در اثر افزایش غلظت بور در محلول غذایی، تغییر متابولیسم نیتروژن و استفادهٔ بیشتر از گلوتامات)ماده اولیه سنتز پرولین و کلروفیل(در مسیر سنتز پرولین می‌باشد (۱۷).



شکل ۳- اثر متقابل روی(Zn) و بور(B) در میزان کلروفیل b برگ گیاه کاهو

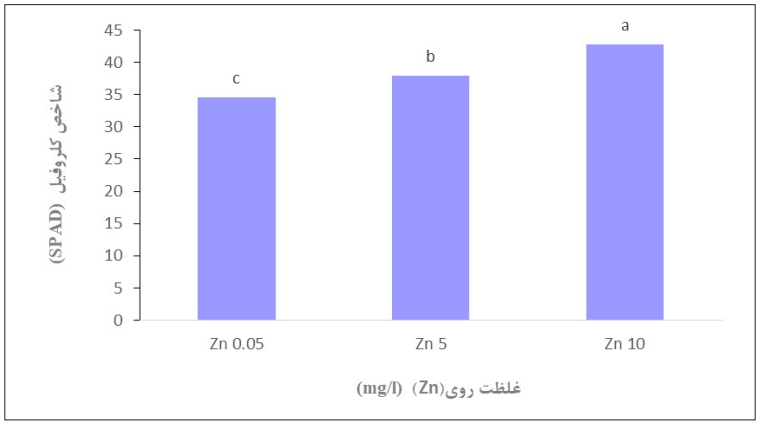


شکل ٤- اثر متقابل روی (Zn) و بور (B) بر میزان کلروفیلa در برگ گیاه کاهو

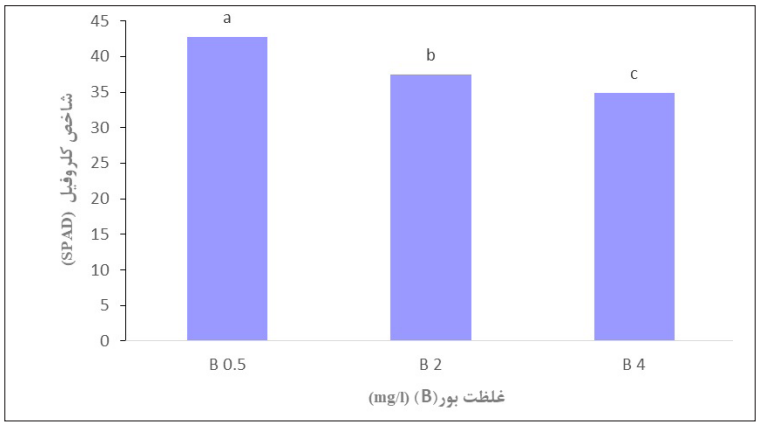


شکل ٥- اثر متقابل روی(Zn) و بور(B) بر میزان کلروفیل کل در گیاه کاهو.

نتیجهٔ تجزیهٔ واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی روی (Zn) و بور (B) بر شاخص کلروفیل برگ کاهو معنی‌دار بودند (جدول ۱). مقایسهٔ میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش میزان روی(Zn) در محلول غذایی، شاخص کلروفیل افزایش معنی‌دار یافت (شکل ٦). همچنین مقایسهٔ میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش میزان بور (B) در محلول غذایی، شاخص کلروفیل کاهش معنی‌دار یافت و کمترین شاخص کلروفیل(SPAD) مربوط به تیمار ٤ میلی‌گرم در لیتر بور بود (شکل ۷).



شکل ٦- مقایسهٔ میانگین اثر اصلی روی((Zn بر شاخص کلروفیل (SPAD) در گیاه کاهو.

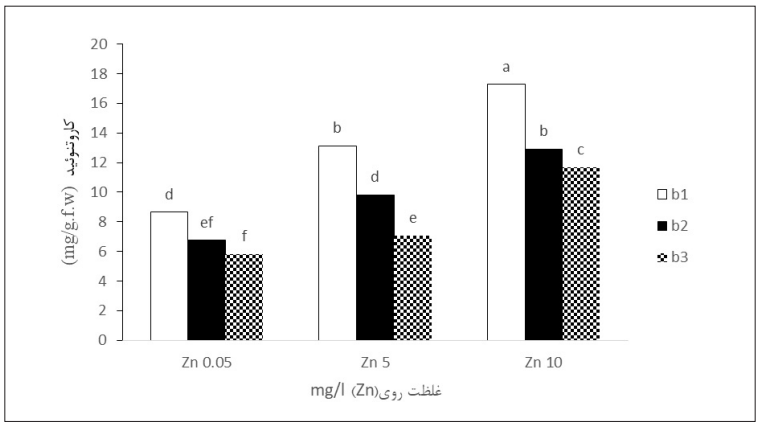


شکل ۷- مقایسهٔ میانگین اثر اصلی بور(B) بر شاخص کلروفیل (SPAD) در گیاه کاهو

Zare و همکاران (۱۸) در پژوهش خود گزارش کردند غلظت‌های ۵ و ۱۰ میکرو مولار روی موجب افزایش شاخص کلروفیل می‌شود. این افزایش می‌تواند حاکی از نقش عملکردی این فلز در فعال‌سازی پروتئین سنتتازهای مسیر بیوسنتز کلروفیل و نیز برخی از آنزیم‌های آنتی اکسیدان مانند آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز در مسیر حفاظت از تخریب کلروفیل توسط رادیکال‌های فعال اکسیژن باشد. برخی مطالعات نیز چنین پیشنهاد کرده‌اند که فلز روی (Zn) در راه‌اندازی برخی از آنزیم‌های مسیر بیوسنتز کلروفیل نقش اساسی دارد. با توجه به نقش روی (Zn) در راه‌اندازی برخی از آنزیم‌های مسیر بیوسنتز کلروفیل می‌توان نتیجه گرفت که میزان افزایش کلروفیل در گیاهان تیمار شده با روی توانایی بالایی در سنتز کلروفیل دارند. روی (Zn) نقش مهمی در سیستم دفاع سلول‌های گیاهی در برابر تنش‌های اکسیداتیو داشته و به طور مؤثری سلول‌های گیاهی، ترکیبات و اجزای آن نظیر لیپیدها و پروتئین‌های غشای سلولی، کلروفیل، آنزیم‌های حاوی گروه سولفیدریل (-SH) و DNA را در برابر تنش‌های اکسیداتیو محافظت می‌کند (۱۹).

نتایج تجزیهٔ واریانس داده‌ها نشان دادند که اثرات اصلی و اثر متقابل روی (Zn) و بور (B) در میزان کارتنوئید برگ کاهو معنی‌دار بودند.

مقایسهٔ میانگین اثر متقابل روی (Zn) و بور در میزان کارتنوئید گیاه کاهو نشان داد که با افزایش میزان بور (B) در محلول غذایی، میزان کارتنوئید برگ گیاه کاهش معنی‌داری یافت و با افزایش میزان روی(Zn) در محلول غذایی، میزان کارتنوئید افزایش معنی داری یافت و کلا افزایش میزان روی(Zn) در محلول غذایی، از کاهش کارتنوئید برگ توسط زیادی بور (B) جلوگیری نمود (شکل ۸).



شکل ۸- مقایسهٔ میانگین اثر متقابل روی(Zn) و بور(B) در میزان کاروتنوئید در گیاه کاهو

کاروتنوئیدها تترا ترپن‌هایی هستند که در پلاست بافت‌های گیاهی حضور داشته و در تنش‌های اکسیداتیو در گیاه حفاظت از بافت‌های فتوسنتزی بخصوص کلروفیل‌ها را بر عهده دارند. عوامل تنش‌زای محیطی سبب القای تنش اکسیداتیو و سنتز بیشتر کاروتنوئیدها در گیاهان می‌شوند، در حالی که در شایط تنش بالا و حالت سمیت عناصر، از طریق تخریب و بهم ریختگی ساختار کاروتنوئیدها، مقدار آن را در گیاه کاهش می‌دهند (۲۰).

غلظت پروتئین محلول کل، پرولین و مالون دی آلدئید(MDA)

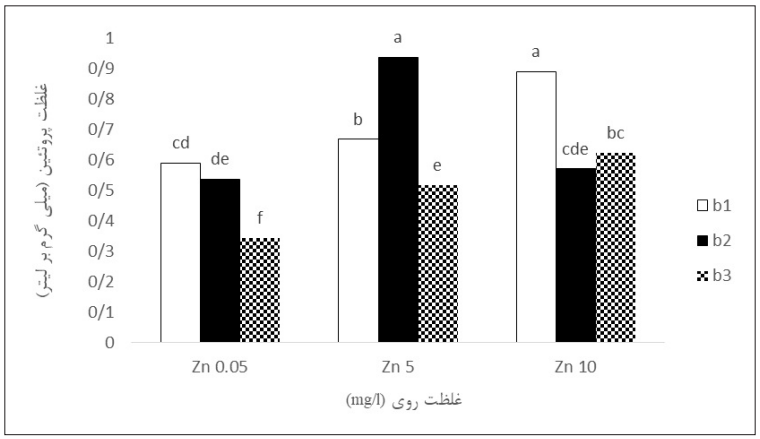
نتایج حاصل از تجزیهٔ واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان دادند که اثرات اصلی و متقابل تیمارهای روی (Zn) و بور (B)، بر غلظت پروتئین محلول کل، پرولین و مالون دی آلدئید (MDA) در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بودند.

جدول ۳- تجزیهٔ واریانس اثرات اصلی و متقابل تیمارهای روی و بور بر غلظت پروتئین محلول کل، پرولین و مالون دی آلدئید (MDA) کاهو

		میانگین مربعات		
منابع تغییرات	درجه آزادی	پروتئین محلول کل	پرولین	مالون دی آلدئید
روی	۲	۰/۱۳۶**	۳۱۰/۴**	۰/۰۰۲**
بور	۲	۰/۱۳۰**	۵۰۵/۸**	۰/۰۰۸**
روی×بور	۴	۰/۰۷۲**	۷۸/۷**	۰/۰۰۶**
خطا	۱۶	۰/۰۰۱	۰/۵۹	۲/۲۳۱*۱۰$^{-5}$
ضریب تغییرات (درصد)		۴/۲	۱/۶	۱۶/۶

ns غیر معنی‌دار و ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱درصد و * معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد

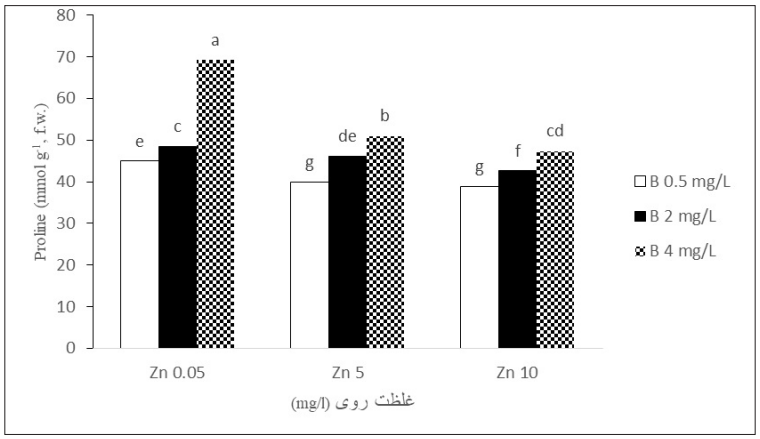
مقایسهٔ میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش مصرف بور (B) در محلول غذایی، غلظت پروتئین در برگ کاهو کاهش یافت. با افزایش مصرف روی (Zn) در محلول غذایی، غلظت پروتئین در برگ کاهو افزایش یافت و کلا با افزایش مصرف روی (Zn) در مخلول غذایی، روی (Zn) از کاهش غلظت پروتئین در برگ کاهو توسط میزان زیاد بور (B) در محلول غذایی جلوگیری نمود (شکل ۹).



شکل ۹- تأثیر تیمار روی و بور بر میزان پروتئین در گیاه کاهو.

روی (Zn) برای فعالیت انواع گوناگون آنزیم شامل دی هیدروژناز، آلودولازها، ایزومرازها، ترانس فسفوریلازها و RNA پلی مراز و DNA پلی مراز ضروری است و نقش مهمی در سوخت و ساز قندها و ساخته شدن پروتئین دارا می‌باشد. بنابراین کمبود روی (Zn) موجب اختلال در سوخت و ساز قندها و ساخته شدن پروتئین می‌شود (۸). در گیاهانی که کمبود روی دارند، کاهش میزان پروتئین به دلیل افزایش فعالیت آنزیم RNAase و کاهش میزان تخریب RNA می‌باشد (۱۸).

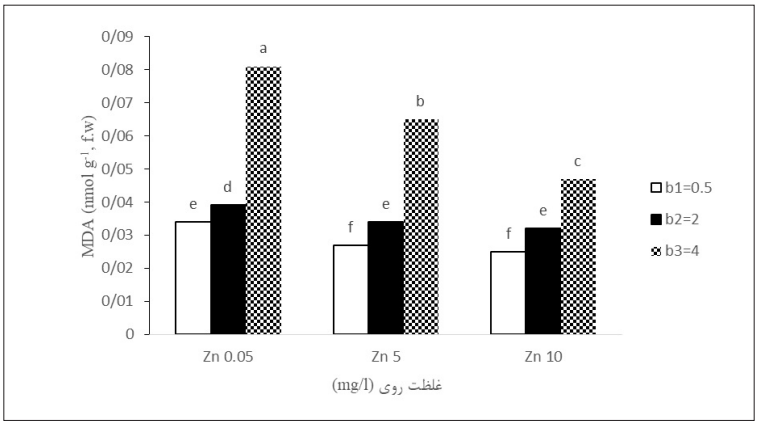
نتایج حاصل از جدول تجزیهٔ واریانس(جدول ۲) نشان داد که اثرات اصلی و اثرات متقابل روی (Zn) و بور (B) در غلظت پرولین برگ کاهو معنی‌دار بودند. مقایسهٔ میانگین داده‌ها نشان دادند که با افزایش میزان بور (B) در محلول غذایی، غلظت پرولین افزایش معنی‌داری یافت. همچنین با افزایش میزان روی (Zn) در محلول غذایی، غلظت پرولین برگ کاهش یافت. اثر متقابل روی (Zn) و بور در غلظت پرولین معنی‌دار بود و با افزایش مصرف روی (Zn) در محلول غذایی، روی (Zn) از افزایش غلظت پرولین در اثر افزایش میزان بور (B)، جلوگیری نمود (شکل ۱۰).



شکل ۱۰- اثر متقابل عناصر روی(Zn) و بور(B) بر میزان پرولین در گیاه کاهو

تحت شرایط تنش بور، در اغلب پارامترهای رشدی گیاه مرزه تغییر معنی‌داری حاصل شد و با افزایش میزان بور مصرفی در آب آبیاری افزایش معنی‌داری در میزان پرولین مشاهده گردید (۱۷). نتایج حاصل از جدول تجزیهٔ واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان دادند که اثرات اصلی و اثرات متقابل روی (Zn) و بور (B) بر غلظت MDA برگ معنی‌دار بودند. مقایسهٔ میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش بور در محلول غذایی، غلظت MDA در برگ کاهو

افزایش یافت و با افزایش غلظت روی (Zn) در محلول غذایی، غلظت MDA در برگ کاهش معنی‌داری نشان داد. همچنین اثرات متقابل روی (Zn) و بور در غلظت MDA برگ معنی‌دار بود و افزایش میزان روی (Zn) در محلول غذایی، از افزایش غلظت MDA توسط افزایش میزان بور جلوگیری نمود (شکل ۱۱).



شکل ۱۱- اثر متقابل روی(Zn) و بور(B) بر مقدار مالون دی آلدئید (MDA) در برگ گیاه کاهو.

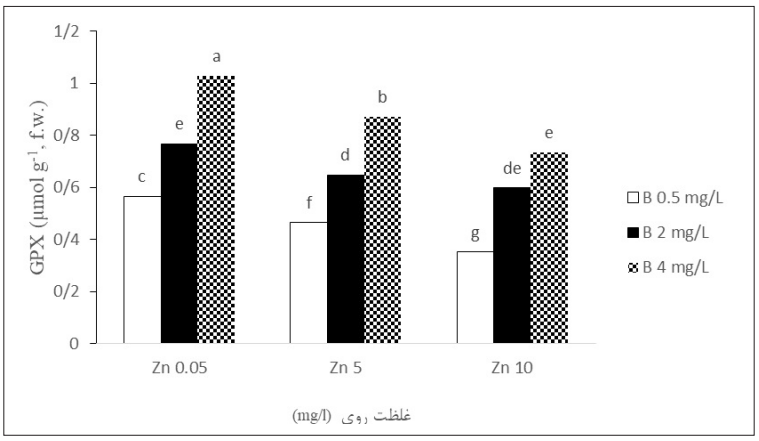
یکی از نشانه‌های پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی، تشکیل مالون دی آلدئید است که یکی از محصولات تجزیه اسیدهای چرب اشباع نشده می‌باشد (۱۱). آسیب دیواره‌سلولی در اثر انواع تنش‌ها سبب پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود و مشخص شده که این پراکسیداسیون به دلیل رادیکال‌های آزاد بوده و بازتابی از آسیب‌های ناشی از تنش در سطح سلولی است. بنابراین مقدار MDA، به عنوان شاخصی از آسیب اکسیداسیون محسوب می‌شود. MDA با اتصال به پروتئین‌های غشاء و آنزیم‌ها، منجر به آسیب رسانی به ساختار و عملکرد غشاء می‌گردد (۱۱).
عنصر روی (Zn) به دلیل اینکه کوفاکتور بسیاری از آنزیم‌ها می‌باشد، در غلظت‌های بالا، فعالیت آنزیمی را افزایش داده و سبب کاهش میزان MDA می‌گردد. پس می‌توان نتیجه گرفت که روی (Zn) در غلظت‌های مناسب با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مانع از پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود (۲۱).
فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیداتیو: نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که اثرات اصلی و اثر متقابل متقابل روی (Zn) و بور (B)، بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیداتیو شامل گایاکول پراکسیداز (GPX)، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX) در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود.

جدول ٤- تجزیه واریانس اثرات روی(Zn) و بور(B) بر فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز (GPX) ، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX)

	میانگین مربعات			
منابع تغییرات	درجه آزادی	گایاکول پراکسیداز (GPX)	کاتالاز (CAT)	آسکوربات پراکسیداز (APX)
روی	۲	۰/۱۱۵**	۰/۰۱۸**	۰/۰۰۳**
بور	۲	۰/۳۹۰**	۰/۰۶۸**	۰/۰۱۷**
روی×بور	۴	۰/۰۰۳**	۰/۰۱۶**	
خطا	۱۶	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱**
ضریب تغییرات (درصد)	۳/۲۵	۵/۱۸	۱۶	۴/۰۲۸*۱۰-۵

ns غیر معنی‌دار و ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱درصد و * معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد

گایاکول پراکسیداز (GPX): مقایسهٔ میانگین داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی روی (Zn) و بور و همچنین اثرا متقابل این دو عنصر بر فعالیت آنزیم GPX معنی‌دار بود (شکل ۱۲). افزایش میزان بور (B) در محلول غذایی، باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم GPX گردید (شکل ۱۲). همچنین افزایش میزان روی (Zn) در محلول غذایی، باعث کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم GPX گردید. اثر متقابل روی (Zn) و بور (B) در فعالیت آنزیم GPX معنی‌دار بود و افزایش روی (Zn) در محلول غذایی، افزایش فعالیت آنزیم GPX در نتیجهٔ زیادی بور (B) را به طور معنی‌داری کاهش داد (شکل ۱۲).

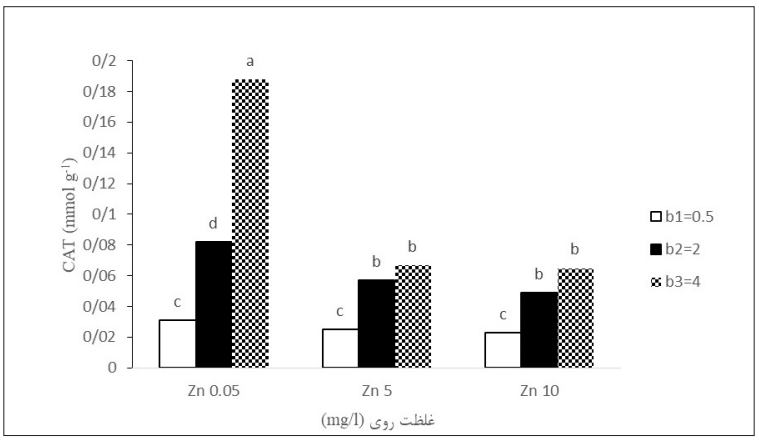


شکل۱۲- اثر متقابل روی(Zn) و بور(B) بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) در گیاه کاهو.

پراکسیدازها دراندامک‌های همه سلول‌های گیاهی وجود داشته و از ترکیبات معمول گیاهان هستند. فعالیت این آنزیم‌ها با تولید یا کاهش رادیکال‌های آزاد، افزایش یا کاهش می‌یابد، آنزیم گایاکول پراکسیداز از آنزیم‌های مهم از بین برنده پراکسید هیدروژن در گیاهان است و به عنوان شاخص زیستی، جهت بررسی خسارت وارده ناشی از غلظت‌های سمی فلزات سنگین، استفاده می‌شود (۱۰).

کاتالاز (CAT)

نتایج حاصل از جدول تجزیهٔ واریانس (جدول ۳) نشان دادند که اثرات اصلی و اثر متقابل روی (Zn) و بور در فعالیت آنزیم CAT معنی‌دار بودند. مقایسهٔ میانگین داده‌ها نشان دادند که با افزایش میزان بور (B) در محلول غذایی، فعالیت آنزیم CAT افزایش معنی‌داری نشان داد و افزایش میزان روی (Zn) در محلول غذایی تأثیر معنی‌داری در کاهش فعالیت آنزیم CAT در اثر زیادی بور (B) داشت (شکل ۱۳).

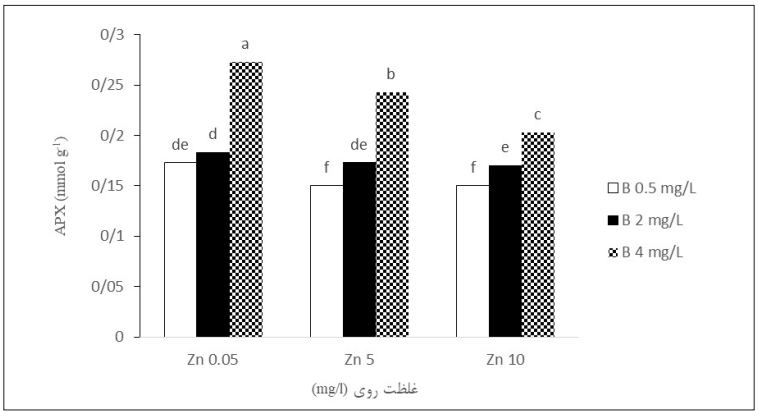


شکل ۱۳- اثر متقابل روی(Zn) و بور(B) در فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در گیاه کاهو.

آنزیم‌های کاتالاز (CAT) هموتترامریک هستند و باعث تجزیه H_2O_2 به آب و اکسیژن می‌شوند، CAT و SOD آنزیم‌های مهم پاد اکسایشی هستند که گونه‌های فعال اکسیژن را جاروب کرده (۲۲) و از اکسیداسیون لیپیدها، تخریب کلروفیل و آسیب‌های دیواره سلولی جلوگیری می‌کنند (۲۳). یک مولکول از کاتالاز می‌تواند در یک ثانیه یک میلیون H_2O_2 را به آب و اکسیژن تبدیل کند. pH مناسب برای فعالیت آن ۷ و دمای مناسب برای آن در گونه‌های مختلف گیاهی متفاوت است. وجود این آنزیم برای حذف H_2O_2 که در نتیجه تنفس نوری به وجود آمده است، لازم و ضروری می‌باشد. در بیشتر نتایج مربوط به تاثیر روی در گیاهان، کاهش فعالیت کاتالاز گزارش شده است (۱۳).

آسکوربات پراکسیداز (APX)

نتایج تجزیهٔ واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان دادند که اثرات اصلی و اثرات متقابل روی (Zn) و بور (B) در فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار بودند. مقایسهٔ میانگین داده‌ها نشان دادکه با افزایش بور در محلول غذایی، فعالیت APX افزایش معنی‌داری یافت و افزایش میزان روی (Zn) در محلول غذایی، باعث کاهش فعالیت APX در نتیجهٔ زیادی بور (B) در محلول غذایی گردید (شکل ۱۴).



شکل ۱۴- اثر تیمار روی و بور بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) در گیاه کاهو.

APXبه عنوان اولین خط دفاعی در مقابل H_2O_2 می‌باشد و APX باعث تبدیل H_2O_2 به آب می‌گردد، این آنزیم از آسکوربیک اسید به عنوان دهنده‌ی الکترون در اولین مرحله‌ی چرخه‌ی گلوتاتیون-آسکوربات استفاده می‌کند، در این چرخه، APX دو مولکول آسکوربیک اسید را به عنوان دهنده مصرف می‌کند تا H_2O_2 را به آب تبدیل کند (۲۴). APX برای پاکسازی H_2O_2 دراندامک‌های داخل سلول مورد نیاز است و با این عمل به حفظ حالت ردوکس در سلول‌ها کمک می‌کند (۲۵).

غلظت عناصر روی (Zn) و بور (B) در برگ کاهو: نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها، (جدول ٤) نشان داد که اثر متقابل تیمار روی به همراه کاربرد عنصر بور، بر مقدار عنصر روی و بور در برگ کاهو در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود.

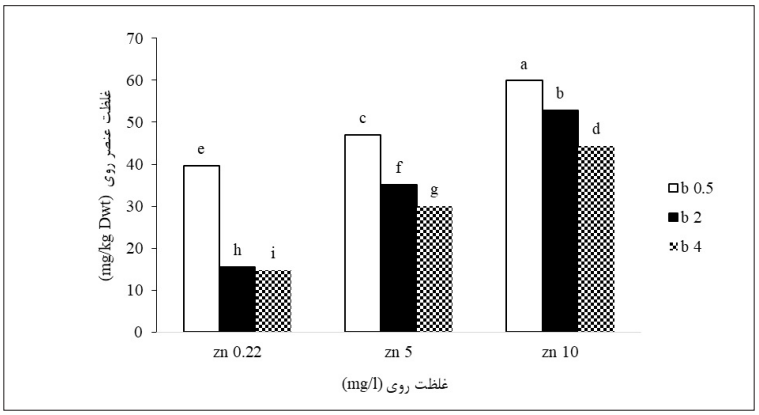
جدول ۵- تجزیه واریانس اثرات روی(Zn) و بور(B) در محلول غذایی بر میزان عناصر روی و بور کاهو

	میانگین مربعات		
منابع تغییرات	درجه آزادی	غلظت روی(Zn) برگ	غلظت بور(B) برگ
روی	۲	۱۸۸۶/۸**	۱۹۳۴/۹**
بور	۲	۲۷۳/۷**	۱۴۲۵۹/۶**
روی×بور	۴	۳۶۳/۹**	۳۲۲**
خطا	۱۶	۰/۵	۲/۵
ضریب تغییرات (درصد)		۱/۹	۲/۹

ns غیر معنی‌دار و ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱درصد و * معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد

غلظت روی (Zn) در برگ کاهو

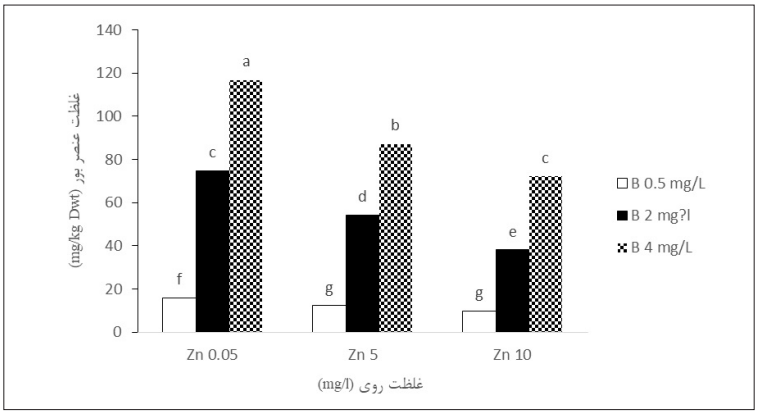
نتایج تجزیهٔ واریانس داده‌ها (جدول ٤) نشان دادند که اثرات اصلی و اثرات متقابل روی (Zn) و بور (B) بر غلظت برگ کاهو، معنی‌دار بودند. مقایسهٔ میانگین داده‌ها نشان دادند که با افزایش میزان روی (Zn) در محلول غذایی، غلظت روی (Zn) افزایش معنی‌داری یافت و افزایش میزان بور در محلول غذایی باعث کاهش غلظت روی (Zn) در برگ کاهو گردید (شکل ۱۵).



شکل ۱۵- اثر متقابل روی(Zn) و بور(B) بر غلظت روی(Zn) در برگ گیاه کاهو

غلظت بور (B) در برگ کاهو

نتایج تجزیهٔ واریانس داده‌ها (جدول ٤) نشان دادند که اثرات اصلی و اثر متقابل روی (Zn) و بور (B) در غلظت بور برگ کاهو معنی‌دار بودند. مقایسهٔ میانگین داده‌ها نشان دادند که با افزایش بور در محلول غذایی، غلظت بور برگ کاهو افزایش نشان داد و با افزایش میزان روی (Zn) در محلول غذایی، غلظت بور برگ به طور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ١٦). Singh و همکاران (٦) نتیجه گرفتند که روی (Zn) با ایجاد یک نقش حفاظتی در سطح خارجی یا در غشاء سلولی ریشه با تنش ناشی از سمیت بور (B) مقابله می‌کند و جذب بور (B) توسط روی (Zn) کاهش می‌یابد.



شکل ١٦- اثر متقابل روی (Zn) و بور بر غلظت بور (B) در برگ گیاه کاهو.

نتیجه‌گیری:

بور (B) و روی (Zn) از عناصر مهم در واکنش‌های بیوشیمیایی گیاه هستند که می‌توانند سبب افزایش عملکرد محصولات شوند. نتایج نشان دادند که با افزایش غلظت روی (Zn) در محلول غذایی صفات رشدی ازجمله وزن تر، وزن خشک، شاخص کلروفیل، کلروفیل a و b، کلروفیل کل و همچنین میزان کاروتنوئید، غلظت پروتئین کل محلول و غلظت عنصر روی در برگ کاهو به صورت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد افزایش یافتند. همچنین با افزایش مقدار بور (B) در محلول غذایی، مقادیر پرولین، مالون دی آلدئید (MDA)، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیداتیو مانند گایاکول پراکسیداز (GPX)، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX) و همچنین غلظت عنصر بور (B) در برگ کاهو به صورت معنی‌دار افزایش یافتند که با افزایش روی (Zn) در محلول غذایی، اثرات سوء بور (B)، کاهش یافت. نتایج بررسی حاضر مطابق با نتایج حاصل از بررسی Singh و همکاران (٦) نشان دادند روی در سطح خارجی یا غشاءسلولی ریشه نقش حفاظتی داشته و بدین‌ترتیب روی (Zn) تنش ناشی از سمیت بور (B) را کاهش می‌دهد. البته در بررسی اثر متقابل این دو عنصر در گیاه نارنج ثابت گردید که با افزایش بیش از حد غلظت بور در محلول‌غذایی، اثر حفاظتی روی (Zn) از بین رفته و مقادیر بالایی از بور (B) در گیاه تجمع می‌یافت (٢٦).

تقدیر و تشکر:

نویسندگان مقاله از همکاری عزیزانی که در انجام این پژوهش نقش داشته‌اند، تقدیر و تشکر می‌کنند.

تعارض منافع:

تعارض منافعی از نویسندگان گزارش نشده است.

References

1. https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL

2. Stein AJ. Global impacts of human mineral malnutrition. Plant and soil. 54-133:(1)335;2010.

3. Powell SR. The antioxidant properties of zinc. The Journal of nutrition. 1447:(5)130;2000S54-S. **DOI:** https://doi.org/10.1093/jn/130.5.1447S

4. Broadley MR, White PJ, Hammond JP, Zelko I, Lux A. Zinc in plants. New phytologist. 702-677:(4)173;2007.

5. Marschner H. Mineral nutrition of higher plants 2nd edn. Institute of Plant Nutrition University of Hohenheim: Germany. 1995.

6. Singh JP, Dahiya DJ, Narwal RP. Boron uptake and toxicity in wheat in relation to zinc supply. Fertilizer research. 10-105:(2)24;1990.

7. Coolong TW, Randle WM, Toler HD, Sams CE. Zinc availability in hydroponic culture influences glucosinolate concentrations in Brassica rapa. Hortscience. ;2004 6-84:(1)39. **DOI:** https://doi.org/10.21273/HORTSCI.39.1.84

8. Arnon DI. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta vulgaris. Plant physiology. 1:(1)24;1949. **DOI:**https://doi.org/ 10.1104/pp.24.1.1

9. Bates LS, Waldren RP, Teare ID. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and soil. ;1973 207-205:(1)39.

10. Heath RL, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of biochemistry and biophysics. 98-189:(1)125 ;1968. **DOI:** https://doi.org/-0003/10.1016 1-90654(68)9861

11. Cakmak I, Horst WJ. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (Glycine max). Physiologia plantarum. 8-463:(3)83;1991. **DOI:**https://doi.org/10.1111/j.3054.1991-1399.tb00121.x

12. Chen GX, Asada K. Ascorbate peroxidase in tea leaves: occurrence of two isozymes and the differences in their enzymatic and molecular properties. Plant and Cell Physiology. 98-987:(7)30 ;1989. **DOI:**https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a077844

13. Mishra NP, Mishra RK, Singhal GS. Changes in the activities of anti-oxidant enzymes during exposure of intact wheat leaves to strong visible light at different temperatures in the presence of protein synthesis inhibitors. Plant physiology. 10-903:(3)102; 1993. **DOI:** https://doi.org/10.1104/pp.102.3.903

14. Brodford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye biding. Anal Biochem. 54-248:(1)72;1976.

15. Dong J, Wu F, Zhang G. Influence of cadmium on antioxidant capacity and four microelement concentrations in tomato seedlings (Lycopersicon esculentum). Chemosphere. 66-1659:(10)64 ;2006. **DOI:** https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.01.030

16. Wolf B. Improvements in the azomethine-H method for the determination of boron. Communications in Soil Science and Plant Analysis. 1974 Jan 44-39:(1)5;1. **DOI:** https://doi.org/0010362740936647 8/10.1080

17. Moradinezhad F, Hajizadegan S, Sayyari MH, Khayyat M. Physiological, chemical and growth responses of summer savory (Satureja hortensis L.) to boron under greenhouse conditions. Journal of Horticulture and Postharvest Research. 3 ;2020(Special Issue-Abiotic and Biotic Stresses):52-43. **DOI:** https://dx.doi.org/10.22077/jhpr.2019.2464.1057

18. Zare DS, Asrar Z, Mehrabani M. Effect of zinc on growth and some physiological and biochemical parameters of spearmint (Mentha spicata L.)

19. Sharma PN, Bisht SS, Kumar N. Effect of zinc deficiency on chlorophyll content, photosynthesis and water relations of cauliflower plants. Photosynthetica (Czech Republic). 1994.

20. Candan N, Tarhan L. Relationship among chlorophyll-carotenoid content, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels by Mg+2 deficiency in the Mentha pulegium leaves. Plant Physiology and Biochemistry. 40-35:(1)41 ;2003. **DOI:**https://doi.org/10.1016/S-0981 2-00006(02)9428

21. Chakmak I. Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen. New Phytologist. 205-185:(2)146;2000.

22. Liang Y, Sun W, Zhu YG, Christie P. Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants: a review. Environmental pollution. 8-422:(2)147;2007. **DOI:** https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.06.008

23. Shigeoka S, Ishikawa T, Tamoi M, Miyagawa Y, Takeda T, Yabuta Y, Yoshimura K. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. Journal of experimental botany. 19-1305:(372)53 ;2002. **DOI:** https://doi.org/10.1093/jexbot/53.372.1305

24. Jithesh MN, Prashanth SR, Sivaprakash KR, Parida AK. Antioxidative response mechanisms in halophytes: their role in stress defence. Journal of Genetics. -237:(3)85;2006 54.

25. Saeidi-Sar S, Khavari-Nejad RA, Fahimi H, Ghorbanli M, Majd A. Interactive effects of gibberellin A3 and ascorbic acid on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in Glycine max seedlings under nickel stress. Russian Journal of Plant Physiology. 9-74:(1)54;2007.

26. Swietlik D. Effect of gibberellin inhibitors on growth and mineral nutrition of sour orange seedlings. Scientia horticulturae. 33-325:(4)29 ;1986. **DOI:** https://doi.org/6-90016(86)4238-0304/10.1016