

بررسی برخی از ویژگی‌های اکوفیزیولوژیک گیاه *Michauxia laevigata* در دو مرحله رویشی و زایشی

وهب جعفریان* و آرزو تعللی

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

چکیده

گل شکافته (*Michauxia laevigata*) از تیره Campanulaceae هست که در ایران و بخش‌هایی از ارمنستان می‌روید. در این پژوهش سعی شده است تا ضمن معرفی این گیاه به شناخت ویژگی‌های اکولوژیک آن نظیر: مشخصات رویشگاه، اسیدیته، هدایت الکتریکی، درصد رطوبت، فسفاتاز، برخی از فلزات و عناصر کمیاب موجود در خاک رویشگاه آن پرداخته شود. اضافه بر آن، بررسی برخی از ویژگی‌های فیزیولوژیک آن مانند: رنگیزه‌های فتوسنتزی و میزان پرولین گیاه در دو مرحله رویشی و زایشی در اندام‌های مختلف آن نیز صورت گرفت. بررسی میزان فلزات سنگین خاک رویشگاه بیانگر غلظت بیش از استاندارد عناصر کروم، سرب، آرسنیک، روی و مس و اسیدیته خاک در محدوده ۸ بود. با توجه به نتایج به دست آمده، میانگین فسفاتاز خاک حدود ۱۵۷۱ میکرومول بر دقیقه است. میزان اسیدیته خاک با فعالیت فسفاتاز خاک همبستگی مثبت اما با مقدار هدایت الکتریکی همبستگی منفی نشان داد. همچنین مشخص شد که تنها بین مقدار منیزیم موجود در گیاه در دو مرحله رشدی اختلاف معنی‌داری ($P \leq 0.05$) وجود دارد. نتایج حاصل از بررسی‌های فیزیولوژیک نیز نشان داد که میزان پرولین در مرحله زایشی نسبت به رویشی افزایش و میزان کاروتنوئیدها و کلروفیل به طور معنی‌داری کاهش یافت. به نظر می‌رسد گیاه *M. laevigata* در خاک‌های شنی و با اسیدیته نسبتاً بالا و در غلظت‌های بیشینه عناصر سنگین توانایی رشد و نمو خوبی دارد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، رنگیزه، فلزات سنگین، مراحل رشد، گل شکافته (*Michauxia laevigata*)

مقدمه

و عراق است (Rechinger *et al.*, 1969). تیره Campanulaceae با ۹۰ جنس و ۲۵۰۰ گونه، دارای مصارف مختلف دارویی در جهان و ایران است (Güvenc *et al.*, 2012). تاکنون ویژگی‌های دارویی

گل شکافته (*Michauxia laevigata*) گیاهی یک‌ساله از تیره گل استکانی (Campanulaceae) دارای زیستگاه‌های متعددی در ایران، ارمنستان، ترکیه

هدایت الکتریکی خاک دارد (Brady and Weil, 2002). Aciego Pietri و Brookes (۲۰۰۸) نشان دادند که بین اسیدیته خاک و زیست‌توده میکروبی همبستگی وجود دارد و در pH های بالای ۷ مقدار زیست‌توده میکروبی و فعالیت برخی آنزیم‌ها حداکثر است. بسیاری از فعالیت‌های زیستی خاک مرتبط با فعالیت‌های آنزیمی است؛ آنزیم‌های خاک در مقایسه با ویژگی‌های معدنی خاک حساسیت بیشتری نسبت به شرایط محیطی دارند و می‌توانند شاخص بیوشیمیایی مناسبی برای ارزیابی روابط متقابل بین ویژگی‌های اکولوژی و بیوشیمیایی خاک باشند (Nosrati et al., 2012). بالا بودن فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز در ریزوسفر توسط Makoi و همکاران (۲۰۱۰) در خاک‌های آهکی و حضور مولیبدن گزارش شده است. آنها همچنین دریافتند که آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی خاک تحت تأثیر اسیدیته قرار می‌گیرند. هدایت الکتریکی نیز شاخصی برای توانایی تبادل یون‌های خاک است و می‌تواند فعالیت آنزیمی خاک را تحت تأثیر قرار دهد (Sardinha et al., 2013).

با این همه، هر گونه گیاهی نسبت به شرایط اکولوژیکی ویژه‌ای در رویشگاه طبیعی خود سازگار شده است که شناسایی کامل ویژگی‌های اکوفیزیولوژیک آن برای بومی‌سازی و گسترش کشت و کار آن در مناطق دیگر ضروری است. همچنین گیاهان بومی نسبت به برخی از تنش‌های محیطی مقاوم شده‌اند که شناسایی این گیاهان در مرحله نخست به منظور پی بردن به سازوکارهای ایجاد مقاومت به این نوع تنش‌ها می‌تواند برای پژوهشگران علوم مختلف زیست‌شناسی بسیار مفید باشد. از آنجا که

متعددی نظیر: خواص آنتی‌اکسیدانی (Dumlu et al., 2008؛ Jeong et al., 2010)، ضد عفونی کننده و ضد تصلب شریانی (Kim et al., 2006)، حفاظت سیستم عصبی (Son et al., 2007) و فعالیت سیتوتوکسیک (Lee et al., 2002) برای برخی از گونه‌های تیره گل استکانی گزارش شده است اما بر اساس بررسی‌ها و مرور منابع، تاکنون در مورد خواص دارویی *M. laevigata* گزارش علمی ارائه نشده است.

به طور عمده، رشد گیاهان طی مرحله رویشی با تغییر میزان رنگریزه‌ها و افزایش ظرفیت فتوسنتزی افزایش می‌یابد، اما در مرحله گل‌دهی که تحت تأثیر عوامل محیطی و شبکه ژنتیکی پیچیده‌ای است، میزان رشد رویشی گیاه چندان افزایش نمی‌یابد (Amasino, 2010). تغییر در میزان رنگریزه‌های گیاهی (Juvany et al., 2013) و همچنین مواد بیوشیمیایی نظیر پرولین (Shahbaz et al., 2013) در مرحله زایشی و پیر شدن گیاه گزارش شده است. پرولین به عنوان یک اسمولیت در تنش‌های محیطی از جمله شوری و خشکی شناخته شده است و نقش مهمی در گیاهان در ایجاد مقاومت به شرایط نامساعد محیطی دارد (Wan et al., 2014). بنابراین، بین مرحله رشد رویشی و زایشی از نظر میزان فعالیت‌های فیزیولوژی و بیوشیمیایی بخش‌های مختلف گیاه و همچنین میزان جذب عناصر غذایی از خاک تفاوت‌های زیادی وجود دارد (Huijser and Schmid, 2011).

رشد گیاهان تحت تأثیر ویژگی‌های خاک قرار می‌گیرد. یکی از این ویژگی‌های شیمیایی، اسیدیته خاک است که تأثیر به‌سزایی بر فعالیت میکروارگانیسم‌های خاک، قابلیت جذب عناصر و

توزین در کوره در دمای ۱۵۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. پس از ۶ ساعت دوباره وزن خاک سنجیده شد. اختلاف وزن خشک و تر خاک بیانگر میزان رطوبت خاک است (رابطه ۱).

رابطه ۱: درصد رطوبت = (وزن پس از خشک شدن - وزن پیش از خشک شدن) / وزن پس از خشک شدن × ۱۰۰

اندازه‌گیری فلزات خاک: برای اندازه‌گیری

فلزات خاک از نیتریک اسید و کلریدریک اسید با نسبت ۱ به ۳ استفاده شد و غلظت فلزات با دستگاه ICP-OES اندازه‌گیری شد (Voica et al., 2012).

سنجش فسفاتاز خاک: برای تعیین فعالیت فسفاتاز

خاک از روش Roldán و همکاران (۲۰۰۵) و از p-نیتروفنول (PNPP) به عنوان گهرمایه استفاده شد، سپس در دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل DR 5000، شرکت Hach، آمریکا) در طول موج ۳۹۸ نانومتر جذب محلول سنجیده شد.

اندازه‌گیری فلزات گیاه: نمونه‌های گیاهی به

منظور سنجش کادمیوم، روی، مس، نیکل، کبالت، منیزیم، کروم، سرب، آرسنیک و فسفر به مدت دو روز در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت و سپس در نیتروژن مایع ساییده شدند. برای تعیین غلظت فلزات در نمونه‌های گیاهی، ۰/۳ گرم از نمونه پودر شده توزین و پس از انتقال به ارلن ۵۰ میلی‌لیتری، به آن ۳ میلی‌لیتر نیتریک اسید غلیظ اضافه و به مدت ۲۴ استراحت داده شد تا بافت‌های گیاه به طور کامل هضم شوند. محلول پس از افزودن پراکسید هیدروژن بی‌رنگ شد. غلظت فلزات با دستگاه ICP-OES (مدل FES، شرکت Sepetro، آلمان) اندازه‌گیری شد (Li et al., 2007).

M. laevigata از گونه‌های قابل رویش در ایران است و تاکنون گزارشی مبنی بر توصیف ویژگی‌های اکوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی این گونه دارویی وجود ندارد، پژوهش حاضر با هدف بررسی برخی خواص نظیر: ارتفاع، اسیدیته، هدایت الکتریکی، درصد رطوبت، فسفاتاز خاک، برخی از فلزات و عناصر کمیاب در خاک و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک مانند: محتوای رنگیزه‌ها، میزان پرولین و همبستگی بین این شاخص‌های اکوفیزیولوژیک در گیاه *M. laevigata* طی دو مرحله رویشی و زایشی و در اندام‌های ریشه و برگ انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری: گیاه *M. laevigata* و نمونه‌های

خاک رویشگاه از کوه‌های اطراف زنجان با مختصات جغرافیایی $E: 48^{\circ} 31' 50.1''$ و $N: 36^{\circ} 37' 45.2''$ در ارتفاعات ۱۷۰۰ تا ۱۸۰۰ متر با شیب‌های بیش از ۴۵ درجه در سه مرحله (اواخر اردیبهشت، خرداد و تیر ماه) جمع‌آوری شد. نمونه‌های گیاهی پس از غبارروبی به قطعات ۱ گرمی تقسیم و پس از قرار گرفتن در فویل و شماره‌گذاری به فریزر ۲۰- منتقل و برای انجام آزمایش‌های مورد نظر نگهداری شدند.

اندازه‌گیری اسیدیته، هدایت الکتریکی و

رطوبت خاک: به ۲۰ گرم نمونه خاک، مقدار ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد و اندازه‌گیری اسیدیته سوسپانسیون با دستگاه‌های pH متر و هدایت الکتریکی آن با دستگاه هدایت‌سنج الکتریکی انجام شد (Imperato et al., 2003). برای اندازه‌گیری رطوبت خاک با روش مستقیم، میزان مشخصی از خاک پس از

صخره‌ای است و در ارتفاعات حدود ۱۷۰۰ تا ۱۸۰۰ متر از سطح دریا در دامنه جنوبی یعنی به سمت آفتاب با شیب حدود ۴۵ درجه تا ۸۳ درجه رشد می‌کند. دوره رشد و نمو گیاه فصل‌های بهار و تابستان است یعنی گیاه رویش خود را از اردیبهشت ماه آغاز می‌کند و در اوایل تیر تا اواسط مرداد به انتهای فصل رویشی خود رسیده و پژمرده می‌شود.

اسیدیته و هدایت الکتریکی خاک: این دو ویژگی در ۹ نمونه خاک منطقه در مرحله رویشی و زایشی گیاه (اواخر اردیبهشت و تیر ماه) از ناحیه اطراف ریزوسف (عمق ۱۵ تا ۲۰ سانتی‌متر) بررسی شد. داده‌های نشان می‌دهد که اسیدیته خاک در محدوده نمونه‌برداری بین ۷/۷۶ تا ۸/۳۵ متغیر است که بیانگر بازی بودن خاک منطقه است (جدول ۱). انحراف استاندارد بین داده‌ها نشان می‌دهد که پراکندگی نوع خاک از نظر اسیدیته بسیار اندک است. نتایج حاصل از اندازه‌گیری هدایت الکتریکی خاک مشخص کرد که هدایت الکتریکی نمونه‌های خاک بین ۷۳ تا ۴۷۱ زیمنس بر سانتی‌متر و پراکندگی داده‌ها اندک است (جدول ۱).

بررسی ضریب همبستگی آماری بین مقدار اسیدیته و هدایت الکتریکی نمونه‌های خاک نشان داد که همبستگی منفی بین این دو متغیر وجود دارد، به بیان دیگر، با افزایش مقدار اسیدیته خاک مقدار هدایت الکتریکی خاک کاهش می‌یابد. Brady و Weil (۲۰۰۲) دریافتند که تجمع و انتقال عناصر به ویژه فلزات سنگین در خاک به هدایت الکتریکی و اسیدیته وابسته است، به طوری که محیط اسیدی باعث جذب گونه‌های فلزی به صورت کاتیونی می‌شود. در خاک‌های قلیایی عناصر فلزی موجود در خاک به صورت نامحلول و رسوب در

سنجش پرولین: برای سنجش پرولین از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. بدین ترتیب که مقدار ۰/۵ گرم از بافت تر گیاه در حضور ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالسیلیک اسید ۳ درصد ساییده و به مدت ۱۰ دقیقه با ۴۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ (مدل Universal 320R، شرکت Hettich، آلمان) شد، پس از آن، با کاغذ صافی واتمن شماره ۲ فیلتر و مخلوط یکنواختی تهیه شد. از معرف نین‌هیدرین برای سنجش استفاده شد. سنجش در طول موج ۵۲۰ نانومتر انجام گرفت و مقدار پرولین در هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد و بر حسب میکرومول پرولین بر گرم وزن تر گیاه تعیین شد.

سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئید: مقدار کلروفیل و کاروتنوئید با روش Wellburn (۲۰۰۴) به دست آمد. ابتدا ۰/۲۵ گرم برگ در حضور نیتروژن مایع ساییده و به آن ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد اضافه و به لوله آزمایش انتقال داده شد و به مدت ۱۵ دقیقه با ۵۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس مقداری از مایع روایی به کووت منتقل شد و جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵، و ۴۷۰ نانومتر به ترتیب برای کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید خوانده شد.

تحلیل آماری: تمامی آزمایش‌ها با ۹ بار نمونه‌گیری در هر مرحله نموی با پنج تکرار در آزمایشگاه انجام شد. در تمام اندازه‌گیری‌ها رسم نمودار با نرم‌افزار Excel و آنالیز واریانس داده‌ها با نرم‌افزار SAS و آزمون دانکن محاسبه گردید.

نتایج و بحث

بررسی‌ها نشان داد که سطح خاک رویشی گیاه *M. laevigata* به صورت سنگریزه‌ای، سنگی و

همبستگی معنی‌دار مثبتی با اسیدیته خاک دارد. Sardinha و همکاران (۲۰۰۳) دریافتند که کاهش هدایت الکتریکی می‌تواند افزایش فعالیت آنزیمی را به همراه داشته باشد. احتمالاً کاهش هدایت الکتریکی باعث تغییر در نوع و ترکیب جمعیت میکروارگانیزم‌ها در ریزوسفر گیاه می‌شود و فعالیت فسفاتاز خاک را افزایش می‌دهد (Tripathi et al., 2006).

فلزات سنگین و عناصر کمیاب در خاک و

گیاه: جمع‌آوری نمونه‌های خاک در دو مرحله رویشی و زایشی گیاه *M. laevigata* برای مقایسه غلظت فلزات انجام شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری فلزات در خاک پس از مقایسه با مقادیر استاندارد جهانی (Shayestehfar and Rezaei, 2013) نشان داد که غلظت فلزات کادمیم، سرب، روی، آرسنیک و مس بیشتر از مقدار عادی خاک است (جدول ۳).

نتایج حاصل از بررسی تأثیر مراحل نموی گیاه *M. laevigata* بر فلزات موجود در خاک (جدول ۴) نشان داد که تنها بین مقدار منیزیم در دو مرحله رشدی اختلاف معنی‌دار ($P \leq 0.05$) وجود دارد، به طوری که مقدار منیزیم خاک در مرحله زایشی بیشتر از مرحله رویشی بود (شکل ۱). اختلاف منیزیم خاک بین دو مرحله رشد رویشی و زایشی را می‌توان به تفاوت میزان رشد برگ و فعالیت کلروفیل‌سازی در این دو مرحله نسبت داد. عنصر منیزیم از اجزای اصلی تشکیل دهنده حلقه پورینی کلروفیل است. در زمان رشد رویشی برخلاف رشد زایشی میزان کلروفیل‌سازی در گیاه بالا می‌رود، در نتیجه منیزیم بیشتری از خاک جذب می‌شود و منیزیم خاک کاهش می‌یابد (Rahimpour Shafaei et al., 2013) و همکاران (۲۰۱۳) نیز اظهار

می‌آید و تحرک پذیری و انتقال آنها به گیاه کاهش می‌یابد، بنابراین خاک‌های اسیدی به دلیل مستعد بودن در جذب برخی از فلزات سنگین، سمی‌تر از خاک‌های قلیایی هستند. هدایت الکتریکی بالای خاک نشان دهنده حالت کاتیونی و قابل جذب بودن یون‌های فلزی است (Waalewijn-Kool et al., 2014). افزون بر این، هنگامی که مقدار کاتیون‌های قابل تبادل خاک بالا باشد ظرفیت بارگیری خاک نسبت به فلزات بیشتر می‌شود و می‌تواند برای گیاهان حساس مضر باشد (Tizhoosh-Jalaly et al., 2014).

فسفاتاز خاک: نتایج نشان می‌دهد که فسفاتاز

خاک رویشگاه طبیعی *M. laevigata* در محدوده نمونه‌برداری، بین ۸۶۲/۹۴ تا ۲۷۴۵/۹۷ بر حسب میکرومول بر دقیقه متغیر است و انحراف استاندارد بین داده‌ها نشان می‌دهد که پراکندگی نوع خاک از نظر فسفاتاز بسیار زیاد است (جدول ۲).

بررسی ضریب همبستگی آماری بین مقدار اسیدیته و فسفاتاز نمونه‌های خاک نشان داد که بین این دو متغیر همبستگی مثبتی وجود دارد. به بیان دیگر، با افزایش مقدار اسیدیته خاک فعالیت فسفاتاز قلیایی خاک نیز افزایش می‌یابد. Rezaei و همکاران (۲۰۱۴) دریافتند که کاهش اسیدیته خاک باعث کاهش فسفاتاز قلیایی خاک می‌شود. آنها گزارش کردند که وجود گوگرد در pH‌های پایین خاک موجب کاهش فعالیت فسفاتاز قلیایی می‌شود. در واقع گوگرد محیط اسیدی قوی ایجاد می‌کند که برای آنزیم‌های فسفاتاز قلیایی، اوره‌آز و دهیدروژناز نامناسب است. Wang و همکاران (۲۰۰۶) نیز گزارش کردند که فعالیت فسفاتاز اسیدی همبستگی معنی‌دار منفی و فعالیت فسفاتاز قلیایی

مرحله رویشی و زایشی اندازه‌گیری شد. نتایج به دست آمده از میانگین مربعات کل فلزات گیاه نشان می‌دهد که اثر مراحل نموی، اندام و اثر متقابل آنها بر مقدار فلزات اندازه‌گیری شده در گیاه *M. laevigata* با اطمینان ۹۵ درصد معنی‌دار نبود (جدول ۵).

داشتند که با پیشرفت مرحله رشد بر میزان فیبر و ترکیبات دیواره سلولی گیاه افزوده می‌شود که نشان‌دهنده فعالیت بالای برگ در مرحله رویشی است.

میزان فلزات سنگین و دیگر عناصر موجود در گیاه: میزان فلزات در دو اندام ریشه و برگ و در دو

جدول ۱- توصیف آماری اسیدپته و هدایت الکتریکی خاک رویشگاه طبیعی گیاه *M. laevigata*

میانگین	انحراف استاندارد	کمینه	بیشینه	محدوده	ضریب همبستگی اسیدپته و هدایت الکتریکی خاک
۸/۱۶	۰/۱۶۹۹	۷/۷۶	۸/۳۵	۰/۵۹	-۰/۴۱۲
۲۱۱/۲۲۵	۱۳۴/۹۸	۷۳	۴۷۱	۳۹۸	

جدول ۲- سنجش فعالیت فسفاتاز خاک بر حسب میکرومول بر دقیقه

فسفاتاز	همبستگی اسیدپته و فسفاتاز	میانگین	انحراف استاندارد	کمینه	بیشینه	محدوده
۰/۲۲۱		۱۵۷۱/۲۱	۷۵۴/۴۲	۸۶۲/۹۴	۲۷۴۵/۹۷	۱۸۸۳/۰۳

جدول ۳- تحلیل آمار توصیفی غلظت فلزات در خاک‌های سطحی بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم

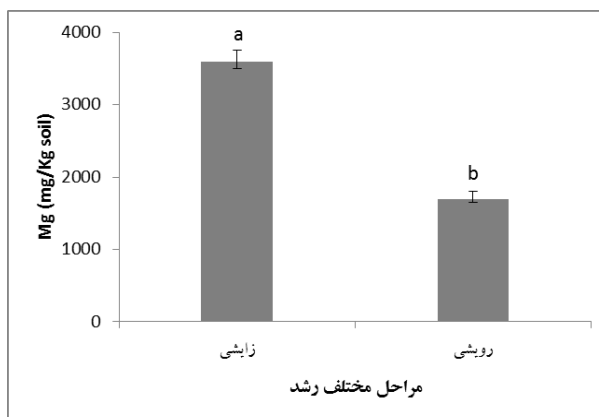
کبالت	نیکل	مس	روی	کادمیم	سرب	آرسنیک	کروم	منیزیم	فسفر	
۱۳/۳۰	۲۵/۶۰	۱۱۰/۷۰	۶۷/۵۰	۸/۱۰	۲۱۱/۴	۶۲/۷	۲۱/۳۰	۹۰/۱/۸۰	۳۴۰۹/۲	کمینه
۲۳/۵۰	۵۳/۴۰	۲۴۵/۲۰	۲۲۰/۷۰	۱۶/۷۰	۶۱۲/۱	۱۱۷/۲	۵۳/۶۰	۴۹۸۷/۱	۵۶۹۶/۱	بیشینه
۱۷/۶۹	۳۵/۷۵	۱۵۹/۴۶	۱۴۲/۹۵	۱۲/۲۸	۳۰۱/۲۶	۸۴/۰۳	۳۴/۳۸	۲۳۵۳/۳	۴۳۸۲/۳۴	میانگین
۳/۵۳	۸/۸۴	۳۸/۷۸	۴۹/۵۷	۲/۸۸	۱۱۷/۷۳	۱۸/۱	۱۲	۱۲۶۹/۳۵	۷۸۸/۱۶	انحراف استاندارد
۱۹	۶۸	۴۵	۹۵	۰/۳	۲۹	۸/۹۳	۸۰	-	-	استاندارد جهانی
-۱/۳۱	۳۲/۲۵	۱۱۴/۴۶	۴۷/۹۵	۱۱/۹۸	۲۷۲/۲۶	۷۵/۱	-۴۵/۶۲	-	-	مقایسه میانگین جهانی

جدول ۴- جدول تجزیه واریانس اثر مرحله نموی گیاه بر عناصر موجود در خاک. ** معنی‌دار در سطح ۵ درصد

منابع تغییرات	درجه آزادی	کادمیم	روی	مس	نیکل	کبالت
مراحل نمو	۱	۲/۷۶۱ ^{ns}	۳۶۲۵/۲ ^{ns}	۱۵۱۵/۲۵ ^{ns}	۸۹/۷۸ ^{ns}	۱۰/۵۸ ^{ns}
خطا	۶	۷/۷۴	۲۰۵۷/۹	۱۴۰۳/۸۹	۸۳/۱۴	۱۳/۱۳
ضریب تغییرات		۲۱/۳۴	۲۹/۲۲	۲۲/۱۷	۲۴/۸۱	۱۹/۷۸

منابع تغییرات	درجه آزادی	منیزیم	کروم	سرب	آرسنیک	فسفر
مراحل نمو	۱	۶۴۱۸۷۶۵ ^{**}	۱۲۰/۱۲ ^{ns}	۱۹۲۸۶/۴۸ ^{ns}	۷۸۰/۱۱ ^{ns}	۱۷۴۱۹۷ ^{ns}
خطا	۶	۷۱۲۱۹۷	۱۴۶/۹۲	۱۶۱۷۹	۳۵۳/۹	۸۲۲۱۴۱
ضریب تغییرات		۳۱۷۵	۲۵	۳۰/۹۱	۲۲/۱	۲۰/۳۷

شکل ۱- میزان منیزیم در خاک منطقه در دو مرحله رویشی و زایشی گیاه *M. laevigata* حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن است.



جدول ۵- جدول تجزیه واریانس اثر مراحل نمو و اندام بر مقدار عناصر اندازه‌گیری شده در گیاه *M. laevigata*. ns نشان دهنده عدم معنی‌دار بودن

منابع تغییرات	درجه آزادی	آهن	روی	منیزیم	مس
مراحل نمو	۱	۳۰۳۸ ^{ns}	۶۶۸۹ ^{ns}	۸۳۶/۱ ^{ns}	۹/۷۷ ^{ns}
اندام	۱	۵۱۸۹۰۵ ^{ns}	۷۰۴۰ ^{ns}	۷۱۴۵/۷ ^{ns}	۴۸/۶ ^{ns}
اندام × مراحل نمو	۱	۱۳۳۲۷۴ ^{ns}	۴۹۰۶ ^{ns}	۲۰۹۳/۷ ^{ns}	۱/۶۸ ^{ns}
خطا	۸	۶۸۹۷۶۰ ^{ns}	۳۹۹۷ ^{ns}	۵۰۰۶/۱ ^{ns}	۳۳/۳۸ ^{ns}

موجب تنش اکسیداتیو شوند (Karimi and Souri, 2014). در نهایت، با توجه به نتایج به دست آمده و تحلیل‌های ارایه شده در مورد گیاهان حساس و مقاوم به فلزات سنگین به نظر می‌رسد گیاه *M. laevigata* به فلزات سنگین مقاوم است.

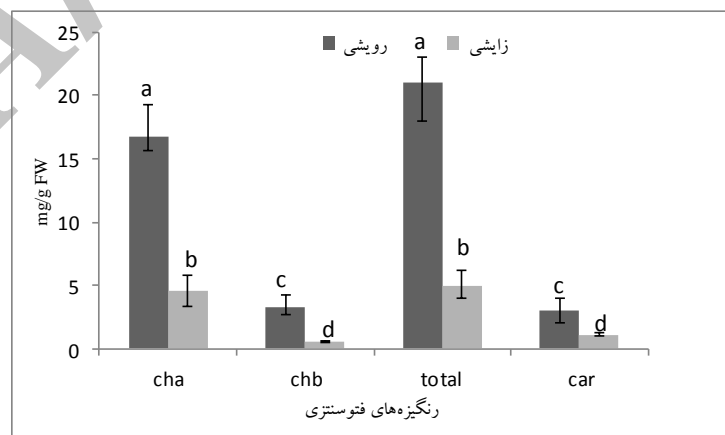
میزان کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها: نتایج حاصل از تغییرات رنگیزه‌های کلروفیل و کاروتنوئید در دو فصل رویشی و زایشی در برگ‌های گیاه *M. laevigata* نشان می‌دهد که اثر مرحله نمو بر میزان کلروفیل‌های a، b و کلروفیل کل و اثر مرحله نمو بر میزان کاروتنوئید در سطح ۵ درصد معنی‌دار است (شکل ۲). با توجه به این نتایج، مسن شدن گیاه و ورود به مرحله زایشی از یک سو و تنش‌های محیطی حاصل تغییرات فصلی از سوی دیگر باعث تغییر در غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌شود. کلروفیل و کاروتنوئید از رنگیزه‌های

با توجه به این که مقدار عناصر آرسنیک، کروم، کبالت، سرب و نیکل موجود در گیاه به صورت ناچیز و کمتر از حد تشخیص دستگاه ICP بود از آوردن این فلزات در این جدول خودداری شد. احتمالاً به نظر می‌رسد که گیاه قادر به جذب این فلزات نیست. جذب نشدن فلزات سنگین توسط *M. laevigata* می‌تواند دلایل گوناگونی داشته باشد. یکی از سازوکارهای مقاومت به تنش فلزات سنگین در گیاهان عدم جذب آنها توسط ریشه است. ریشه برخی گیاهان در غلظت بالای برخی عناصر سنگین قادرند با ترشح موادی آنها را به صورت نامحلول و رسوب درآورد و بدین ترتیب مانع جذب این عناصر شوند (Ovečka and Takáč, 2014). علاوه بر این، فلزات سنگین در گیاهان حساس می‌توانند به طور مستقیم از طریق واکنش هابر-بوز یا به طور غیر مستقیم گونه‌های اکسیژن فعال تولید کنند و

نیترژن معدنی یا هیدرولیز پروتئین‌های ذخیره‌ای حاصل می‌شود. بنابراین، کاهش مقدار کلروفیل می‌تواند ناشی از تأخیر متابولیسم نیترژن در ساخت ترکیباتی نظیر پرولین باشد (De La Rosa-Ibarra and Maiti, 1995). بر اساس نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر، بین کاهش کلروفیل و کاهش جذب منیزیم از خاک در مرحله زایشی ارتباط مستقیمی وجود دارد. Chandrashekar و Sandhyarani (۱۹۹۶) نیز گزارش نمودند که کاهش منیزیم در گیاه موجب کاهش در سنتز کلروفیل می‌شود. از طرفی، بررسی همبستگی بین کلروفیل و کاروتنوئید نشان داد که بین این دو همبستگی مثبت وجود دارد (جدول ۸). به بیان دیگر، افزایش یا کاهش یکی از این رنگیزه‌ها مسیر متابولیک را به ترتیب به سمت افزایش یا کاهش سنتز رنگیزه دیگر خواهد برد.

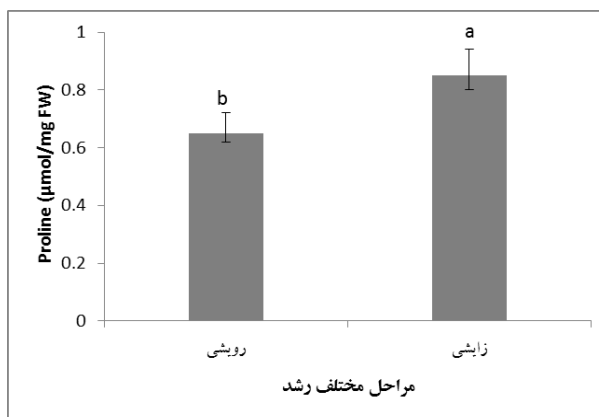
بررسی میزان پرولین طی مراحل رویشی و زایشی: نتایج حاصل از سنجش میزان پرولین در دو مرحله رویشی و زایشی نشان داد که مقدار پرولین در مرحله زایشی بیشتر است و مقدار آن $0/83$ میکرومول بر میلی گرم وزن تر گیاه است (شکل ۳).

فتوسنتزی هستند که در جذب فوتون‌های نوری نقش اساسی دارند؛ مطالعات نشان می‌دهد که میزان تغییرات کلروفیل متناسب با تنش‌های محیطی وارد شده به گیاه است و حفظ آن برای انجام فتوسنتز تحت شرایط تنش ضروری است (Chandrashekar and Sandhyarani, 1996). کاهش پروتئین‌های غشایی خاص (پروتئین کلروفیل a/b برداشت کننده نور) و افزایش فعالیت کلروفیلاز (Majumdar *et al.*, 1991) از عوامل مؤثر در کاهش کلروفیل در شرایط نامناسب محیطی ذکر شده است. همچنین کاهش میزان رنگیزه‌ها باعث کاهش فتوسنتز و در نتیجه کاهش رشد می‌شوند (Nalousi *et al.*, 2014). بر اساس پژوهش Hukmani و Tripathy (۱۹۹۴) کاهش کلروفیل در پیری یکی از مهم‌ترین شاخص‌های تشخیص پیری در گیاهان است. آنها همچنین دریافتند که کاهش محتوای کلروفیل a و کلروفیل کل را می‌توان ناشی از افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و نیز افزایش مقدار پرولین در ضمن بالا رفتن سن گیاه دانست. پرولین و کلروفیل هر دو پیش‌ساز مشترکی به نام گلو تامات دارند. گلو تامات از احیای



شکل ۲- میزان کلروفیل a (cha)، کلروفیل b (chlb)، کلروفیل کل (total) و کاروتنوئید (car) در مراحل رویشی و زایشی گیاه *M. laevigata*. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن است.

شکل ۳- میزان پرولین برگ گیاه *M. laevigata* در دو مرحله رویشی و زایشی. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن است.



ماده، جلوگیری از ورود پرولین به پروتئین یا افزایش تجزیه پروتئین که ممکن است با کاهش رشد همراه باشد، گزارش شده است (Hare and Cress, 1997). نتایج ضرایب همبستگی پرولین با رنگیزه‌های فتوسنتزی نیز نشان می‌دهد که همبستگی بین پرولین و رنگیزه‌ها منفی است یعنی افزایش پرولین باعث کاهش رنگیزه‌ها می‌شود و این همبستگی‌ها در سطح ۵ درصد معنی دار است (جدول ۶). همبستگی منفی به دست آمده بین کلروفیل و پرولین نیز می‌تواند دلیلی بر کاهش کلروفیل در مرحله زایشی باشد.

پرولین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان و اسمولیت در تحمل تنش به گیاهان کمک می‌کند و دارای خاصیت حذف رادیکال‌های آزاد است (Jaleel *et al.*, 2007). افزایش غلظت آمینو اسید پرولین که به تنظیم اسمزی کمک می‌کند، ناشی از چندین عامل از جمله ممانعت از تجزیه پرولین توسط آنزیم‌های اکسید کننده پرولین دهیدروژناز (proDH) و پرولین ۵- کربوکسیلات دهیدروژناز (P5CDH)، افزایش فعالیت آنزیم‌های دلتا-۱-پرولین ۵-کربوکسیلاز سنتتاز (P5cs) و پرولین ۵-کربوکسیلاز ردوکتاز (P5cR) در چرخه تولید این

جدول ۶- ضرایب همبستگی رنگیزه‌های فتوسنتزی و پرولین در مراحل رویشی و زایشی گیاه *M. laevigata* * و ** به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد

پرولین	کلروفیل کل	کاروتنوئید	کلروفیل b	کلروفیل a	
-	-	-	-	۱	کلروفیل a
-	-	-	۱	** ۰/۹۸	کلروفیل b
-	-	۱	** ۰/۹۴	** ۰/۹	کاروتنوئید
-	۱	** ۰/۹۱	** ۰/۹۹	** ۰/۹۹	کلروفیل کل
۱	* -۰/۸۶	* -۰/۸۳	* -۰/۸۵	* -۰/۸۶	پرولین

محتوای رنگیزه‌ها و مواد اسمولیت مثل پرولین در بخش هوایی گیاه *M. laevigata* در مرحله زایشی نسبت به مرحله رویشی دیده می‌شود. افزون بر این، در میان عناصر

نتیجه گیری

به طور کلی بر اساس نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر، برخی تغییرات فیزیولوژیکی از قبیل تغییر در

بسیار پایینی برخوردار است. روی هم رفته، طبق یافته‌های جدید به دست آمده از تحقیق حاضر، افزون بر بهره‌گیری از ویژگی‌های دارویی، گیاه *M. laevigata* قابلیت رشد در خاک‌های با غلظت بالای عناصر سنگین را دارد و کشت و کار این گیاه در مناطق شنی شیب‌های جنوبی خاک‌های نسبتاً قلیایی توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

نگارندگان از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه زنجان به خاطر حمایت مالی پژوهش حاضر قدردانی می‌نمایند.

موجود در خاک تفاوت معنی‌داری در مقدار جذب عنصر منیزیم در دو مرحله زایشی و رویشی دیده شد، به طوری که میزان این عنصر در مرحله رویشی در خاک بسیار کمتر از مقدار آن در مرحله زایشی بود. ضرایب همبستگی به دست آمده بین رنگیزه‌ها و پرولین ممکن است دلالت بر تجزیه کلروفیل و مواد پروتئینی در گیاه ضمن مرحله پیر شدن داشته باشد. طبق نتایج پژوهش حاضر، *M. laevigata* در خاک‌های شنی با اسیدیته نسبتاً بالا به خوبی رشد می‌کند و نسبت به فلزات سنگین همچون: روی، سرب، آرسنیک، مس و کادمیوم که بیشتر از مقدار عادی در رویشگاه طبیعی این گیاه بود، مقاوم است. همچنین این گیاه در مرحله زایشی از میزان رشد رویشی

منابع

- Aciego Pietri, J. C. and Brookes, P. C. (2008) Relationships between soil pH and microbial properties in a UK arable soil. *Soil Biology and Biochemistry* 40: 1856-1861.
- Amasino, R. (2010) Seasonal and developmental timing of flowering. *The Plant Journal* 61: 1001-1013.
- Bashtani, M., Seifi, S., Naemipour Yonesi, H. and Farzadmehr, J. (2013) Determination of chemical composition and degradability coefficients of *Salsola tomentosa* in different growth stages using in situ method. *Iranian Journal of Animal Science Research* 5(3): 210-216 (in Persian).
- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Journal of Plant and Soil* 39: 205-207.
- Brady, N. C. and Weil, R. R. (2002) *The nature and properties of soil*. 13th edition, Springer Netherlands.
- Chandrashekar, K. R. and Sandhyarani, S. (1996) Salinity induced chemical changes in *Crotalaria striata* DC. plants. *Indian Journal of Plant Physiology* 1(1): 44-48.
- De La Rosa-Ibarra, M. and Maiti, R. K. (1995) Biochemical mechanism in glossy sorghum lines for resistance to salinity stress. *Journal of Plant Physiology* 146(4): 515-519.
- Dumlu, M. U., Gurkan E. and Tuzlaci, E. (2008) Chemical composition and antioxidant activity of *Campanula alliarifolia*. *Journal of Natural Product Research* 22: 477-482.
- Güvenc, A., Küpeli Akkol, E., Hürkul, M. M., Süntar, I. and Keles, H. (2012) Wound healing and anti-inflammatory activities of the *Michauxia* L'Heritn (Campanulaceae) species native to Turkey. *Journal of Ethnopharmacology* 13: 401-408.
- Hare, P. D. and Cress, W. A. (1997) Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Journal of Plant Growth Regulation* 21: 79-102.
- Huijser, P. and Schmid, M. (2011) The control of developmental phase transitions in plants. *Development* 138(19): 4117-4129.

- Hukmani, P. and Tripathy, B. C. (1994) Chlorophyll biosynthetic reactions during senescence of excised barley (*Hordeum vulgare* L. cv IB 65) leaves. *Plant Physiology* 105: 1295-1300.
- Imperato, M., Adamo, P., Naimo, D., Arienzo, M., Stanzone, D. and Violante, P. (2003) Spatial distribution of heavy metals in urban soils of Naples city (Italy). *Journal of Environmental Pollution* 124: 247-256.
- Jaleel, C. A., Gopi, R. and Panneerselvam, R. (2007) Alterations in lipid peroxidation, electrolyte leakage, and proline metabolism in *Catharanthus roseus* under treatment with triadimefon, a systemic fungicide. *Comptes Rendus Biologies* 12: 905-912.
- Jeong, C. H., Choi, G. N., Kim, J. H., Kwak, J. H., Kim, D. O., Kim, Y. J. and Heo, H. J. (2010) Antioxidant activities from the aerial parts of *Platycodon grandiflorum*. *Journal of Food Chemistry* 118: 278-282.
- Jung, S. (2004) Variation in antioxidant metabolism of young and mature leaves of *Arabidopsis thaliana* subjected to drought. *Plant Science* 166(2): 459-466.
- Juvany, M., Muller, M. and Munne-Bosch, S. (2013) Plant age-related changes in cytokinins, leaf growth and pigment accumulation in juvenile mastice trees. *Environmental and Experimental Botany* 87: 10-18.
- Karimi, N. and Souri, Z. (2014) Evaluation of different levels of arsenic and phosphorous on antioxidant compounds content in *Isatis cappadocica*. *Iranian Journal of Plant Biology* 21: 127-142 (in Persian).
- Kim, J. Y., Hwang, Y. P., Kim, D. H., Han, E. H., Chung, Y. C., Roh, S. H. and Jeong, H. G. (2006) Inhibitory effect of the saponins derived from roots of *Platycodon grandiflorum* on carrageenan-induced inflammation. *Journal of Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 70(4): 858-864.
- Lee, K. T., Choi, J., Jung, W. T., Nam, J. H., Jung, H. J. and Park, H. J. (2002) Structure of a new echinocystic acid bisdesmoside isolated from *Codonopsis lanceolata* roots and the cytotoxic activity of prosapogenins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 4190-4193.
- Li, M. S., Luo, Y. P. and Su, Z. Y. (2007) Heavy metal concentrations in soils and plant accumulation in a restored manganese mineland in Guangxi, South China. *Environmental Pollution* 147: 168-175.
- Majumdar, S., Ghosh, S., Glick, B. R. and Dumbroff, E. B. (1991) Activities of chlorophyllase, phosphoenolpyruvate carboxylase and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase in the primary leaves of soybean during senescence and drought. *Physiologia Plantarum* 81: 473-480.
- Makoi, J. H. J. R., Bambara, S. and NdaKidemi, P. A. (2010) Rhizosphere phosphatase enzyme activities and secondary metabolites in plants as affected by the supply of rhizobium, lime and molybdenum in *Phaseolus vulgaris* L.. *Australian Journal of Crop Science* 4(8): 590-597.
- Nalouisi, A., Hatamzadeh, A., Ghasemnezhad, M. and Alibiglouei, M. (2014) The study of physiological and biochemical responses of *Agrostis stolonifera* and *Festuca arundinacea* Schreb. under drought stress. *Iranian Journal of Plant Biology* 22: 105-116 (in Persian).
- Nosrati, K., Ahmadi, H. and Sharifi, F. (2012) Sediment sources fingerprinting: relation between enzyme activities in soil and sediment. *Journal of Science and Technology of Agricultural and Natural Resources, Water and Soil Science* 60: 227-237 (in Persian).
- Ovečka, M. and Takáč, T. (2014) Managing heavy metal toxicity stress in plants: biological and biotechnological tools. *Biotechnology Advances* 32: 73-86.
- Rahimpour Shafaei, L., Chaparzadeh, N., Zarandi-Miandoab, L. and Dolati, M. (2013) Some physio-biochemical age dependent changes in leaves of *Rosa hybrida*. *Iranian Journal in Plant Biology* 17: 31-40 (in Persian).

- Rechinger, K. H., Browicz, K., Persson, K. and Wendelbo, P. (1969) Flora Iranica. Akademische Druck- u. Verlagsanstalt, Graz.
- Rezaei, Sh., Khavazi, K., Nezami, M. T. and Saadat, S. (2014) Effects of sulfur, phosphorous, and plant on soil microbial biomass and phosphatase activities. Iranian Journal of Soil Research 27(2): 217-226 (in Persian).
- Roldán, A., Salinas-García, J. R., Alguacil, M. M., Díaz, E. and Caravaca, E. (2005) Soil enzyme activities suggest advantages of conservation tillage practices in sorghum cultivation under subtropical conditions. Journal of Geoderma 129: 178-185.
- Sardinha, M. T., Mueller, H., Schmeisky, R. and Joergensen, G. (2003) Microbial performance in soils along a salinity gradient under acidic conditions. Applied Soil Ecology 23: 237-244.
- Shahbaz, M., Moshtaq, Z., Andaz, Z. and Masood, A. (2013) Dose proline application ameliorate adverse effect of salt stress on growth, ion and photosynthetic ability of eggplant (*Solanum melongena* L.)? Scientia Horticulturae 164: 507-511.
- Shayestehfar, M. R. and Rezaei, A. (2013) The study of environmental behavior and the investigation of heavy metals distribution in the soil of the Sarcheshmeh copper mine area of Kerman. Iranian Journal of Mining Engineering 8(18): 13-21.
- Son, I. H., Park, Y. H., Lee, S. I., Yang, H. D. and Moon, H. I. (2007) Neuroprotective activity of triterpenoid saponins from *Platycodi radix* against glutamate-induced toxicity in primary cultured rat cortical cells. Journal of Molecules 12: 1147-1152.
- Tizhoosh-Jalaly, M., Sarmad, J., Norastehnia, A., Zavareh, M. and Moshtaghi, M. (2014) The effect of methyl jasmonate and different chloride concentrations on photosynthetic pigments and proline content in *Nicotiana tabacum* L. cv. Cooker 347. Iranian Journal of Plant Biology 22: 51-62 (in Persian).
- Tripathi, S., Kumari, S., Chakraborty, A., Gupta, A., Chakrabarti, K. and Bandyopadhyay, B. K. (2006) Microbial biomass and its activities in salt-affected soils. Biology of Fertile Soils 42: 273-277.
- Voica, C., Kovacs, M. H., Dehelean, A., Ristoiu, D. and Iordache, A. (2012) ICP-MS determinations of heavy metals in surface waters from Transylvania. Environmental Physics 57: 1184-1193.
- Waalewijn-Kool, P. L., Rupp, S., Lofts, S. and Svendsen, C. (2014) effect of soil organic matter content and pH on the toxicity of ZnO nanoparticles to *Folsomia candida*. Ecotoxicology and Environmental Safety 108: 9-15.
- Wan, Y. Y., Chen, S. Y., Huang, Y. W., Li, X., Zhang, Y. and Wang, X. J. (2014) Caffeic acid pretreatment enhances dehydration tolerance in cucumber seedling by increasing antioxidant enzyme activity and proline and soluble sugar content. Scientia Horticulturae 173: 54-64.
- Wang, A. S., Angle, J. S., Chaney, R. L., Delorme, T. A. and McIntosh, M. (2006) Changes in soil biological activities under reduced soil pH during *Thlaspi caerulescens* phytoextraction. Soil Biology and Biochemistry 38: 1451-1461.
- Wellburn, A. R. (2004) The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. Journal of Plant Physiology 144(3): 307-313.

Evaluation of some ecophysiological characteristics of *Michauxia laevigata* at vegetative and generative stages

Vahab Jafarian * and Arezou Taalloli

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

Abstract

Michauxia laevigata belongs to the Campanulaceae family and grows on Iran and some parts of Armenia. This study was conducted to introduce the plant and to investigate ecophysiological characteristics such as altitude, pH, EC, percent of humidity, soil phosphatase, and measurement of some trace elements in soil. In addition, we evaluated some physiological parameters of *M. laevigata* including photosynthetic pigments and proline content in different organs at both vegetative and generative stages. Soil investigations revealed that the region had the extra amounts of some heavy metals such as Cr^{+2} , Pb^{+2} , As^{+2} , Zn^{+2} and Cu^{+2} and its pH was about 8. The soil phosphatase was approximately $1571 \mu\text{mol min}^{-1}$. There was a positive correlation between the soil pH and the activity of soil phosphatase, while the negative one with the amount of EC. Also, the results exhibited that there was significant ($P \leq 0.05$) difference only in Mg amount between generative and vegetative stages. It seems that *M. laevigata* grows in sandy soils with nearly high amount of pH and is capable to grow under high concentrations of heavy metals.

Key words: Proline, Pigment, Heavy metals, Growth stages, *Michauxia laevigata*

* Corresponding Author: v.jafarian@znu.ac.ir