

Photoprotection Mechanisms in wheat Plants under High Light and Cold Temperature Conditions

Ghader Habibi^{*}, Nasrin Servatian and Masumeh Abedini

Department of Biology, Payame Noor University (PNU), Iran

Abstract

High light damages photosynthetic machinery, primarily photosystem II (PSII), and causes photoinhibition that can limit plant photosynthetic activity, growth and productivity. To address this issue, we investigated the basic photoprotection mechanisms including ROS scavenging activity and phenolic compounds production in wheat (*Triticum aestivum* L.), as a C₃ plant, after treatment with low temperature (4°C) and high irradiance (450 and 850 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Results indicated that wheat plants showed more tolerance to low temperature. Increased tolerance in cold-treated plants was achieved through enhancement in antioxidant system activity. Plants treated with light intensity at 850 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ showed the highest level of stress leading to lower maximal quantum yield of photosystem II (PSII) (F_v/F_m) values. In contrast, the light intensity at 450 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ did not reduce significantly the maximal quantum yield of PSII. This may be attributed to the enhancement of catalase (CAT) activity and anthocyanin synthesis (screening of photoradiation in epidermis cells), and consequently further protection of PSII from photodamage.

Keywords: Photodamage, Photoprotection, Maximal Quantum Yield of Photosystem II, Cold Stress, ROS Scavenging System.

* Corresponding Author: gader.habibi@gmail.com

بررسی سازوکارهای حفاظت نوری در گندم در شرایط سرما و نور شدید

قادر حبیبی*، نسرين ثروتیان و معصومه عابدینی

گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

چکیده

نور شدید به دستگاه فتوسنتزی به ویژه فتوسیستم II آسیب می‌رساند و ظهور پدیده مهار نوری را باعث می‌شود. پدیده مهار نوری می‌تواند فعالیت فتوسنتزی، رشد و محصول دهی گیاهان را کاهش دهد. در پژوهش حاضر، سازوکارهای حفاظت نوری فتوسیستم II شامل فعالیت سیستم جاروب کننده گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن (ROS) و متابولیسم فلی در گندم (*Triticum aestivum* L.) از دسته گیاهان C_3 ، پس از تیمار با دمای اندک (۴ درجه سانتیگراد) و شدت نور زیاد (۴۵۰ و ۸۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه) بررسی شدند. مقایسه گیاهان تیمار شده با سرما با گیاهان شاهد (در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و شدت نور ۲۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه) نشان داد که گندم به علت فعالیت کارآمد سیستم آنتی‌اکسیدان، مقاومت بیشتری به تنش دمای اندک دارد. نتایج نشان داد که با افزایش شدت نور به ۸۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه، بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (F_v/F_m) کاهش یافت و پدیده مهار نوری را باعث شد. در مقابل، گندم در شدت نور ۴۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه با افزایش مؤثر سازوکارهای حفاظت نوری شامل فعالیت آنزیم کاتالاز (سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی) و مقدار آنتوسیانین برگ‌ها (جاذب‌های نور اضافی و فیلترهای نوری در اپیدرم) توانست فتوسیستم‌ها را در برابر آسیب نوری حفاظت کند و از کاهش F_v/F_m ممانعت کند.

واژه‌های کلیدی: آسیب نوری، حفاظت نوری، بیشینه عملکرد فتوسیستم II، تنش سرما، سیستم جاروب کننده ROS.

مقدمه

شدت نور، ظرفیت زنجیره انتقال الکترونی تکمیل می‌شود و احتمال اکسیداسیون نوری افزایش می‌یابد. اکسیداسیون نوری به آسیب و تجزیه پروتئین‌ها و مهار نوری منجر می‌شود (Azzabi et al., 2012). کاهش

فتوسنتز از جمله فرایندهایی است که نور شدید (Azzabi et al., 2012) و دمای اندک (Yamori et al., 2011) به شدت بر آن اثر می‌گذارد. با افزایش

* نگارنده مسؤول: نشانی پست الکترونیک: habibi@pnu.ac.ir شماره تماس: ۰۴۱۳۷۸۲۸۰۵۵

کلروپلاست‌ها، از شدت صدمه‌های نوری می‌کاهند. محل کلروپلاست‌ها در گیاهان، سرخس‌ها، خزه‌ها و جلبک‌های سبز به گونه‌ای تغییر می‌کنند که شدت نور بهینه را جذب کنند (Suetsugu and Wada, 2007). کلروپلاست‌ها هنگام تابش نور ضعیف، موازی با راستای نور قرار می‌گیرند که نور موثر را جذب کنند و در نور شدید، عمود بر راستای نور قرار می‌گیرند که از جذب مضاعف نور جلوگیری کنند (Tholen, 2008). گیاهان به طور اجتناب‌ناپذیری در معرض تابش نور مرئی و اشعه فرابنفش قرار می‌گیرند که این تابش‌ها علاوه بر DNA و پروتئین‌ها به فتوسیستم I و II نیز آسیب می‌زنند (Takahashi, 2010; Pourakbar and Abedzadeh, 2014). برای مقابله با چنین آسیب‌هایی، گیاهان مولکول‌های فیلترکننده و جاذب پرتوی فرابنفش را از جمله ترکیبات فنلی یا فنولیک‌ها (مانند فنل‌ها و آنتوسیانین‌ها) در سیتوپلاسم می‌سازند و در واکنش‌های فیلترکننده و جاذب پرتوی فرابنفش در نور شدید و فرابنفش افزایش می‌یابد و از تجزیه پروتئین D1 و آسیب به فتوسیستم II جلوگیری می‌کند.

بسیاری از گیاهان می‌توانند با فرایند عادت به سرما، تحمل به سرما و انجماد را در خود افزایش دهند (Zamani *et al.*, 2012). بررسی‌ها نشان می‌دهند که ارقام پاییزه و حتی بیشتر ارقام بهاره گندم می‌توانند سرمای ۴ درجه سانتیگراد را تحمل کنند (Winfield *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2015). از آنجا که در ماه‌های اول فصل بهار، شاهد تابش نور نسبتاً شدید با سرما هستیم، در بررسی حاضر، از تیمارهای هم‌زمان سرما و شدت‌های مختلف نور استفاده شد. از سوی دیگر،

دما، تثبیت دی‌اکسید کربن را در گیاهان محدود می‌کند (Yamori *et al.*, 2010). در بسیاری از پژوهش‌های پیشین، پدیده مهار نوری در تیمار هم‌زمان سرما و شدت نور زیاد و متوسط گزارش شده است (Scheller and Haldrup, 2005; Ivanov *et al.*, 2012). گزارش‌ها نشان می‌دهد که شدت نور زیاد، تخریب پروتئین D1 موجود در فتوسیستم II و نیز افزایش انباشت گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS) را در کلروپلاست موجب می‌شود (Takahashi and Badger, 2011). از سوی دیگر، سرما به تنهایی نیز افزایش شکل‌گیری ROS را باعث می‌شود. وقتی تنش نور شدید با تنش سرما همراه می‌شود، تشدید شکل‌گیری گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن را سبب می‌شود (Pospišl, 2012). انباشت ROS به پراکسیداسیون لیپیدهای غشای تیلاکوئید، مهار سنتز پروتئین D1 و در نهایت مهار بازسازی فتوسیستم II منجر می‌شود (Chen *et al.*, 2012). در این شرایط، گیاه با افزایش فروکشی غیر فتوشیمیایی (NPQ)، جریان انتقال الکترون چرخه‌ای و همچنین سایر سازوکارهای حفاظت نوری می‌تواند با تداوم مهار نوری (ایجادکننده آسیب نوری) مقابله کند (Takahashi and Badger, 2011). یکی از مهم‌ترین سازوکارهای حفاظت نوری در گیاهان، فعالیت سیستم جاروب‌کننده ROS است. گیاهان دو سازوکار آنتی‌اکسیدانی شامل سازوکار آنزیمی (آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز و ...) و غیر آنزیمی (آسکوربیک اسید، گلوکاتینون احیاء‌شده، توکوفرول و ...) در پاسخ به ROS دارند (Habibi, 2014). همچنین گیاهان در شدت‌های زیاد نور با جابه‌جایی

ساعت قرار گرفتند و بلافاصله گیاهان برداشت شدند. سنجش پارامترهای فلئورسانس کلروفیل بر سومین برگ جوان و قبل از برداشت و توزین گیاهان انجام شد. سنجش رنگیزه‌ها و متابولیت‌ها بر نمونه‌های تازه برداشت شده یا نگهداری شده در ازت مایع، انجام شد.

سنجش شاخص‌های فلئورسانس کلروفیل: برای تعیین فلئورسانس کلروفیل، از دستگاه فلئورسانس سنج (مدل PEA Pocket، شرکت Hansatech، انگلستان) استفاده شد. پارامترهای فلئورسانس کلروفیل در برگ‌های سازش یافته با تاریکی (به مدت حداقل ۲۰ دقیقه) شامل F_0 (فلئورسانس پایه) و F_m (فلئورسانس بیشینه) اندازه‌گیری شدند. برای ارزیابی پدیده مهار نوری، از شاخص بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسنتز $(F_v/F_m) II$ استفاده شد (Strasser and Strasser *et al.*, 1995; Azzabi *et al.*, 2012).

سنجش رنگیزه‌های برگ: برای سنجش مقدار رنگیزه‌ها، نمونه‌های گیاهی با آب دوبار تقطیر شستشو و روی کاغذ صافی خشک شدند. پس از اندازه‌گیری وزن تر (تقریباً ۲۰۰ میلی‌گرم)، نمونه‌ها داخل ورقه آلومینیومی قرار گرفته و در ازت مایع تا زمان سنجش نگهداری شدند. استخراج ماده مد نظر، با استون، روی یخ و با هاون چینی سرد انجام شد. غلظت کلروفیل و کاروتنوئیدها با اسپکتروفتومتر (مدل UV-Mapada، VIS Scanning UV-3100PC، شرکت Mapada، تایلند)، پس از ۲۴ ساعت استخراج در استون ۱۰۰ درصد تعیین شد. جذب در طول موج‌های ۶۶۲، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری و غلظت کلروفیل a ، b

بررسی‌های پیشین نشان می‌دهد که تیمار سرما هنگام تابش نور می‌تواند شدید مهار نوری را حتی در شدت نورهای اندک سبب شود (Takahashi and Badger, 2011). تاکنون پژوهشی درباره آثار هم‌زمان سرما و شدت‌های مختلف نور در گیاه گندم، برای تعیین سازوکارهای حفاظت نوری این گیاه انجام نشده است. بنابراین در پژوهش حاضر تلاش شده است ضمن بررسی آثار هم‌زمان سرما و شدت‌های مختلف نور بر گیاه گندم، با اندازه‌گیری فعالیت فتوشیمیایی فتوسنتز، سیستم جاروب‌کننده ROS و متابولیسم فنلی، سازوکارهای حفاظت نوری گندم را بررسی شود.

مواد و روش‌ها

بذر گیاه گندم (*Triticum aestivum* L.)، رقم بهاره آرتا تهیه شده از مرکز تحقیقات کشاورزی استان آذربایجان غربی استفاده شد. بذرها به مدت ۵ تا ۷ دقیقه با سدیم هیپوکلریت تجاری ۵ درصد، ضدعفونی و سپس به دفعات با آب مقطر شستشو شدند. گیاهان در گلخانه با دوره روشنایی ۱۴/۱۰ ساعت، رطوبت ۶۰/۵۰ درصد و دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در دوره روشنایی و ۱۹ درجه سانتیگراد در دوره تاریکی و شدت نور ۲۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه، تامین شده با لامپ‌های فلورسنت، رشد کردند. پس از رشد به مدت سه هفته در شرایط پیش تیمار، برای افزایش آثار شدت نور و بازسازی شرایط طبیعت در فصل بهار، گیاهان به مدت ۴ روز در تیمارهای نوری با شدت‌های مختلف شامل ۲۰۰، ۴۵۰ و ۸۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه قرار گرفتند. در روز چهارم، نصف گیاهان هر گروه، در تیمار سرمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲

اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیم بر اساس غلظت پروتئین آنزیمی لازم برای القاء ۵۰ درصد ممانعت از احیاء نیترو بلو ترازولیوم نسبت به نمونه‌های شاهد بدون عصاره آنزیمی محاسبه و به صورت واحد فعالیت بر میلی گرم پروتئین بیان شد.

فعالیت آنزیم کاتالاز مطابق روش Simon و همکاران (۱۹۷۴)، بر اساس کاهش جذب هیدروژن پراکسید در ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. عصاره آنزیمی پس از پودر شدن نمونه‌ها در ازت مایع، در بافر فسفات با غلظت ۵۰ میلی مولار و $\text{pH}=7$ استخراج و به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. برای سنجش فعالیت آنزیم، غلظت مناسبی از عصاره به محلول واکنش شامل بافر فسفات ۵۰ میلی مولار ($\text{pH}=7$) و هیدروژن پراکسید ۱۰ میلی مولار افزوده و تغییرات جذب به مدت دو دقیقه با اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. در نهایت، فعالیت آنزیم بر اساس ضریب خاموشی هیدروژن پراکسید (۰/۰۴۱ بر میلی مولار بر سانتی متر) بر حسب میکرومول هیدروژن پراکسید بر میلی گرم پروتئین بر دقیقه محاسبه شد.

سنجش متابولیت‌های مرتبط با دفاع آنتی‌اکسیدان: سنجش مالون‌دی‌آلدهید که معیاری برای بررسی میزان پراکسیداسیون لیپیدها است بر اساس روش Boominathan و Doran (۲۰۰۲) انجام شد. عصاره برگ در محلول ۰/۱ درصد تری کلرواستیک اسید استخراج و به مدت پنج دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. نسبت ۱ به ۴ از روشناور حاصل، با محلول ۲۰ درصد از تری کلرواستیک اسید حاوی ۰/۵ درصد تیو باریتوریک اسید در لوله آزمایش با هم مخلوط شدند و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای

کلروفیل کل و کاروتنوئیدها با رابطه‌های ۱ تا ۳ محاسبه شدند (Lichtenthaler and Wellburn, 1985).

رابطه ۱ $\text{Chl a} = 11.75 A_{662} - 2.350 A_{645}$

رابطه ۲ $\text{Chl b} = 18.61 A_{645} - 3.960 A_{662}$

رابطه ۳ $\text{Total carotenoids} = 1000 A_{470} - 2.270 \text{Chl a} - 81.4 \text{Chl b}/227$

سنجش فعالیت آنزیم‌ها: فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز موجود در عصاره، بر اساس درصد ممانعت از احیاء نیترو بلو ترازولیوم به ترکیب ارغوانی رنگ دی فورمازان با رادیکال سوپراکسید ($\text{O}_2^{\cdot-}$) حاصل از تجزیه نوری ریوفلاوین اندازه‌گیری شد (Giannopolitis and Ries, 1977). نمونه‌ها بلافاصله پس از برداشت، در ازت مایع پودر شدند و عصاره آنزیمی در بافر ۲۵ mM از هیدروکسی اتیل پیرازین اتان سولفونیک اسید با $\text{pH}=7/8$ و حاوی اتیلن دی آمین تترا استیک اسید با غلظت ۰/۱ میلی مولار استخراج شد. عصاره‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند و روشناور برای سنجش فعالیت استفاده شد. ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره به یک میلی لیتر از محلول واکنشی شامل هیدروکسی اتیل پیرازین اتان سولفونیک اسید ۲۵ میلی مولار با $\text{pH}=7/6$ ، اتیلن دی آمین تترا استیک اسید ۰/۱ میلی مولار، سدیم کرینات ۵۰ میلی مولار ($\text{pH}=10/2$)، L-متیونین ۱۲ میلی مولار، نیترو بلو ترازولیوم ۷۵ میکرومولار و ریوفلاوین ۱ میکرومولار اضافه شد و مخلوط حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در شدت نور ۱۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه برای انجام واکنش قرار گرفت. برای تهیه نمونه‌های شاهد، مخلوط یادشده، بدون افزودن عصاره آنزیمی تهیه و جذب نمونه‌ها در ۵۶۰ نانومتر با

میکرولیتر از عصاره به یک میلی‌لیتر از محلول واکنشی شامل بافر سدیم بورات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۸/۸) و L-فنیل آلانین ۵ میلی‌مولار اضافه شد و مخلوط حاصل به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد برای انجام واکنش قرار گرفت. جذب نمونه‌ها در ۲۹۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شدند. یک واحد فعالیت آنزیم براساس غلظت پروتئین آنزیمی لازم برای تولید یک نانومول سینامیک اسید محاسبه شد.

سنجش فنل کل: از آنجا که بیشترین ترکیبات فنلی گیاهان از نوع پلی‌فنل‌ها هستند، از روش معرف فنلی فولین سیو کالتو (Mavi et al., 2004) برای سنجش فنل کل استفاده شد؛ به این منظور ۵ گرم برگ، پس از پودر شدن با هاون در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۳۰ دقیقه جوشانده و با کاغذ واتمن شماره ۴۲ صاف شد. غلظت ۲۵۰ میکرولیتر معرف فولین سیو کالتو با ۲۵ میکرولیتر عصاره و ۵۰۰ میکرولیتر محلول آبی سدیم کربنات ۲۰ درصد مخلوط شد. نمونه‌های شاهد، بدون عصاره بودند. پس از قراردادن نمونه‌ها در دمای آزمایشگاه به مدت ۳۰ دقیقه، جذب آن‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد و غلظت فنل کل براساس نمودار استاندارد گالیک اسید به دست آمد. این سنجش برای هر عصاره ۴ بار تکرار شد و میانگین فنل کل موجود در عصاره تیمارها به صورت میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم بافت بیان شد.

سنجش فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها: برای سنجش غلظت فلاونوئیدها، نمونه‌های برگ در متانول حاوی آلومینیوم کلراید دو درصد استخراج شد و پس از سانتریفیوژ، روشناور برداشت و جذب آن در طول موج

۹۵ درجه سانتیگراد قرار گرفتند؛ سپس لوله‌ها به سرعت در یخ، سرد و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند. هم‌زمان با عصاره‌های برگ، محلول‌های استاندارد در محدوده صفر تا ۱۰۰ نانومول از ۱،۳،۳،۳،۳-تترا اتوکسی پروپان تهیه و جذب نمونه‌ها در ۵۳۲ نانومتر با اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شدند. در نهایت، غلظت مالون‌دی‌آلدئید نمونه‌ها برحسب نانومول بر گرم وزن تر محاسبه شد.

غلظت هیدروژن پراکسید براساس روش Velikova و همکاران (۲۰۰۰) به دست آمد. محلول استخراج برگ‌ها محلول تری کلرواستیک اسید (۱/۰ درصد وزنی به حجمی) بود. عصاره‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور سانتریفیوژ و روشناور حاصل استفاده شد. ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره به یک میلی‌لیتر از محلول واکنشی شامل بافر پتاسیم فسفات ۱۰ میلی‌مولار (pH=۷) و پتاسیم یدید یک مولار اضافه شد و مخلوط حاصل به مدت ۶۰ دقیقه در تاریکی برای انجام واکنش قرار گرفت. جذب نمونه‌ها در ۳۹۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. مقادیر، بر اساس نمودار استاندارد هیدروژن پراکسید در محدوده صفر تا ۵۰ نانومول محاسبه شد.

سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز: فعالیت فنیل آلانین آمونیا لیاز مطابق روش Zucker (۱۹۶۵) اندازه‌گیری شد. عصاره آنزیمی در بافر سدیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH=۷/۸، حاوی اتیلن دی آمین ترا استیک اسید با غلظت ۲ میلی‌مولار، مرکاپتواتانول ۱۸ میلی‌مولار و تریتون X-100 ۰/۱ درصد استخراج شد. عصاره‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند و روشناور برای سنجش فعالیت استفاده شد. ۱۰۰

ایجاد کنند (شکل‌های ۱-A تا C). بررسی شاخص‌های فلورسانس کلروفیل نشان داد که بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (F_v/F_m) با افزایش شدت نور به ۸۵۰، به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. تیمار سرما به‌تنهایی بر این شاخص تأثیر نگذاشت (شکل ۲).

با افزایش شدت نور، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تغییر نکرد؛ در حالی که سرما در شدت نور ۴۵۰ و ۸۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه افزایش فعالیت آنزیم را نسبت به گروه شاهد (شدت نور ۲۰۰ و دمای ۲۵ درجه سانتیگراد) باعث شد (شکل ۳-A). بررسی اثر شدت‌های مختلف نور و سرما بر فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد که سرما فعالیت این آنزیم را در شدت نور ۴۵۰ به‌طور معنی‌دار افزایش داد؛ ولی با افزایش شدت نور به ۸۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه، سرما بر فعالیت آنزیم کاتالاز به‌طور معنی‌دار تأثیر نگذاشت. به‌عبارت‌دیگر، فعالیت آنزیم کاتالاز بر اثر سرما، تنها در شدت نور ۴۵۰ نسبت به شاهد، افزایش معنی‌دار نشان داد (شکل ۳-B).

هیچ‌یک از تیمارهای سرما و شدت‌های مختلف نور تغییر معنی‌داری در مقدار انباشت پراکسید هیدروژن در برگ‌های گیاه گندم، ایجاد نکردند (شکل ۴-A). بررسی مقدار مالون‌دی‌آلدهید برگ‌ها (شاخص پراکسیداسیون لیپیدها در برگ‌ها) نشان داد که تیمار سرما به‌تنهایی تأثیری بر مقدار مالون‌دی‌آلدهید نداشت و تنها زمانی که با شدت نور زیاد همراه بود، افزایش معنی‌دار مقدار مالون‌دی‌آلدهید را موجب شد؛ به‌این‌دلیل که شدت نور ۸۵۰ به‌تنهایی نیز مالون‌دی‌آلدهید را در برگ‌ها به‌طور معنی‌دار افزایش داد (شکل ۴-B). بررسی مقدار پروتئین محلول در برگ‌های گیاه گندم

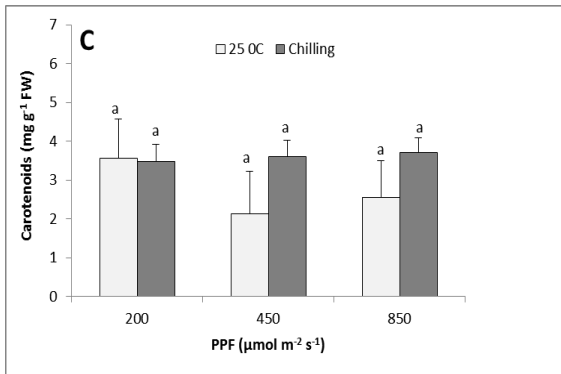
۴۱۵ نانومتر خوانده شد. از غلظت‌های مختلف کوئرستین (صفر تا ۱۶ میلی‌گرم بر لیتر) برای نمونه استاندارد استفاده و غلظت فلاونوئیدها براساس واحد میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن تر محاسبه شد (Simon et al., 1974). برای سنجش آنتوسیانین‌ها، همگنای حاصل از استخراج در حلال متانول: هیدروکلریک اسید (۷/۹۸:۲) به‌مدت ۲۰ دقیقه در ۱۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول روشناور با ۴۹/۵ میلی‌لیتر از بافر یک میلی‌مولار ۲-ان - مورفولینو اتان سولفونیک اسید با pH‌های ۱ و ۴/۵ در بالن ژوژه‌های ۵۰ میلی‌لیتری ریخته و پس از ۳۰ دقیقه، جذب در ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. غلظت آنتوسیانین‌ها براساس واحد میلی‌گرم سیانیدین-۳-گلوکوزید بر گرم وزن تر گزارش شد (Munns et al., 2006).

اندازه‌گیری پروتئین کل: عصاره پروتئینی در بافر سدیم فسفات با غلظت ۵۰ میلی‌مولار و pH=۶/۸ استخراج و به‌مدت ۲۰ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. از روشناور حاصل برای سنجش پروتئین کل با روش Bradford (۱۹۷۶) استفاده شد.

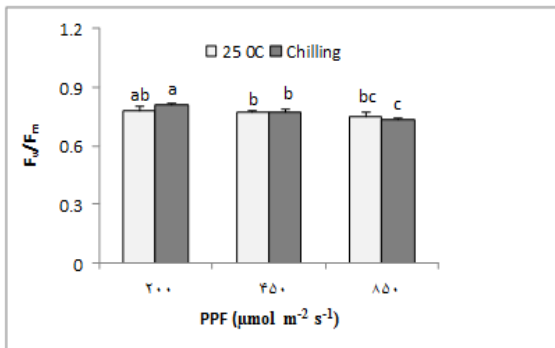
تحلیل آماری: آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. تحلیل داده‌ها با نرم افزار سیگما استات (نسخه ۳/۵) با آزمون توکی در سطح پنج درصد انجام شد.

نتایج

بررسی نتایج تأثیر سرما و شدت‌های مختلف نور بر میزان رنگیزه‌های فتوستتزی نشان داد که هیچ‌یک از این تیمارها به‌تنهایی یا با هم نتوانستند تغییر معنی‌داری در میزان رنگیزه‌های کلروفیل a، b و کاروتنوئید برگ‌ها



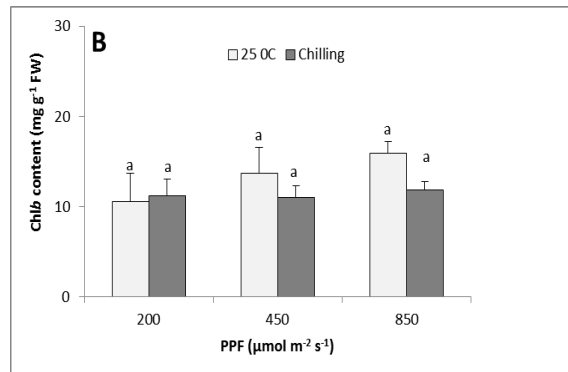
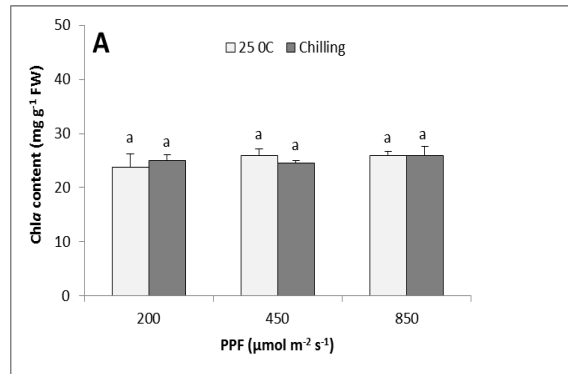
شکل ۱- میزان رنگیزه‌های کلروفیل a، b و کاروتنوئید (میلی گرم/گرم وزن تر) در گندم در شرایط شاهد (دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و شدت نور ۲۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه) و شدت‌های مختلف نوری (۴۵۰ و ۸۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه به مدت چهار روز) و دمای پایین (۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲ ساعت) - مقادیر، میانگین ۴ تکرار ± StD است. حروف غیرمشترک بیان‌کننده تفاوت معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ است.

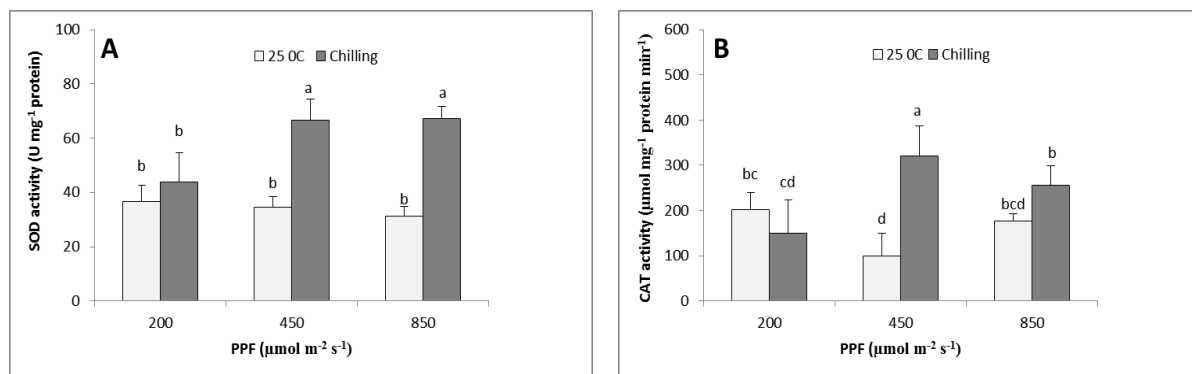


شکل ۲- تغییرات بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسنتز (F_v/F_m) II در گندم در شرایط شاهد (دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و شدت نور ۲۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه) و شدت‌های مختلف نوری (۴۵۰ و ۸۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه به مدت چهار روز) و دمای پایین (۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲ ساعت) - مقادیر، میانگین ۴ تکرار ± StD است. حروف غیرمشترک بیان‌کننده تفاوت معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ است.

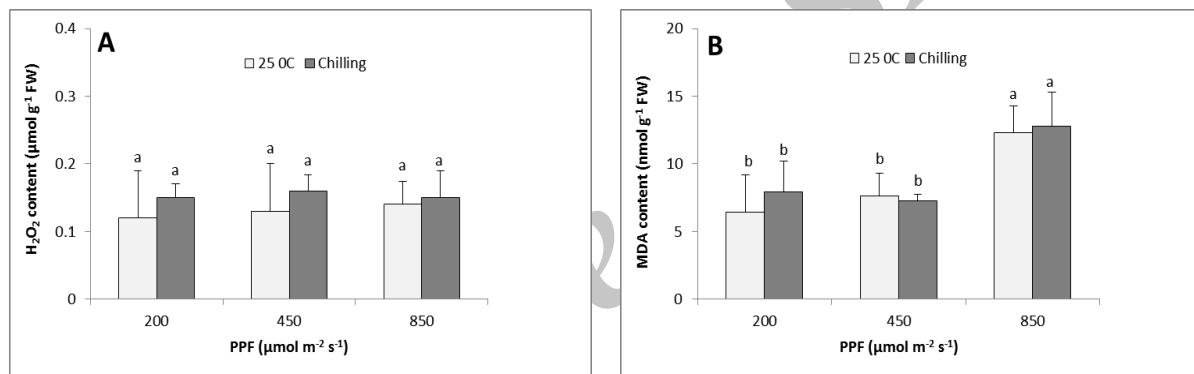
هنگام اعمال تیمار سرما و نور شدید، به تنهایی و هم‌زمان نشان داد که هیچ‌یک از تیمارها تغییر معنی‌داری در مقدار پروتئین برگ‌ها ایجاد نکردند (شکل ۵).

باتوجه به تغییر نکردن مقدار فنل در تیمارهای مختلف اعمال‌شده در این آزمایش، فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایز نیز در هیچ‌یک از تیمارها تغییر معنی‌داری نشان نداد (شکل ۶- A). بررسی متابولیسم فنل‌ها در این آزمایش نشان داد که هیچ‌یک از تیمارهای سرما و شدت نور نتوانستند تغییر معنی‌داری در مقدار فنل کل ایجاد کنند (شکل ۶- B). بررسی مقدار آنتوسیانین تیمارهای مختلف اعمال‌شده در این آزمایش نشان داد که شدت نور ۴۵۰ به تنهایی و با سرما، افزایش معنی‌دار آنتوسیانین را در برگ‌ها سبب شد (شکل ۷- A). همچنین سرما کاهش معنی‌دار مقدار فلاونوئید در همه شدت‌های نور را شامل ۲۰۰، ۴۵۰ و ۸۵۰ باعث شد (شکل ۷- B).

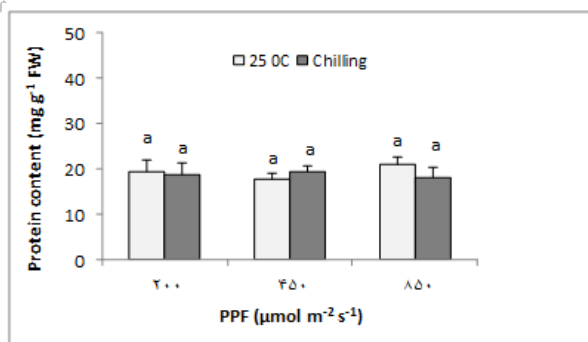




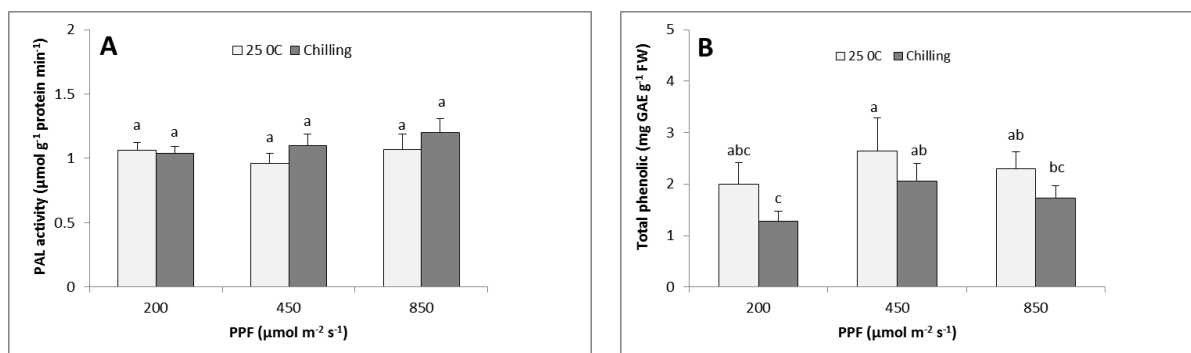
شکل ۳- فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسمو تاز (SOD) فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در گندم در شرایط شاهد (دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و شدت نور ۲۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه) و شدت‌های مختلف نوری (۴۵۰ و ۸۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه به مدت چهار روز) و دمای پایین (۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲ ساعت)- مقادیر، میانگین ۴ تکرار ± StD است. حروف غیرمشترک بیان‌کننده تفاوت معنی‌دار در سطح P < 0.05 است.



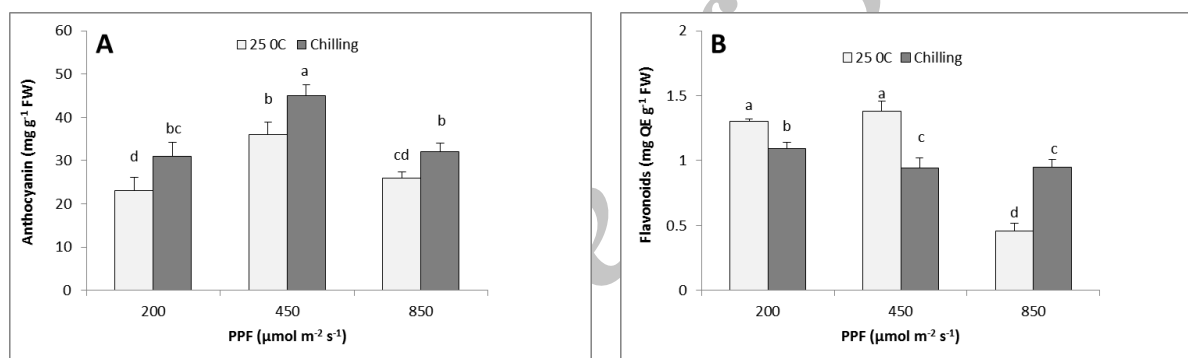
شکل ۴- مقدار انباشت هیدروژن پراکسید (H₂O₂) و مالون‌دی‌آلدهید (MDA) در برگ‌های گیاه گندم در شرایط شاهد (دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و شدت نور ۲۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه) و شدت‌های مختلف نوری (۴۵۰ و ۸۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه به مدت چهار روز) و دمای پایین (۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲ ساعت)- مقادیر، میانگین ۴ تکرار ± StD است. حروف غیرمشترک بیان‌کننده تفاوت معنی‌دار در سطح P < 0.05 است.



شکل ۵- مقدار پروتئین محلول در برگ‌های گیاه گندم در شرایط شاهد (دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و شدت نور ۲۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه) و شدت‌های مختلف نوری (۴۵۰ و ۸۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه به مدت چهار روز) و دمای پایین (۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲ ساعت)- مقادیر، میانگین ۴ تکرار ± StD است. حروف غیرمشترک بیان‌کننده تفاوت معنی‌دار در سطح P < 0.05 است.



شکل ۶- مقدار فنل و فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز (PAL) در گندم در شرایط شاهد (دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و شدت نور ۲۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه) و شدت های مختلف نوری (۴۵۰ و ۸۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه به مدت چهار روز) و دمای پایین (۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲ ساعت) - مقادیر، میانگین ۴ تکرار \pm StD است. حروف غیر مشترک بیان کننده تفاوت معنی دار در سطح $P < 0.05$ است.



شکل ۷- مقدار آنتوسیانین و فلاونوئید در برگ های گیاه گندم در شرایط شاهد (دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و شدت نور ۲۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه) و شدت های مختلف نوری (۴۵۰ و ۸۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه به مدت چهار روز) و دمای پایین (۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲ ساعت) - مقادیر، میانگین ۴ تکرار \pm StD است. حروف غیر مشترک بیان کننده تفاوت معنی دار در سطح $P < 0.05$ است.

بحث

حاضر، تغییر نکردن F_v/F_m (شاخص عملکرد فتوسیستم II) و همچنین داده های مالون دی آلدئید (شاخص پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء) بر اثر سرمای اعمال شده نشان داد که گیاه گندم به این دما مقاوم است. همچنین همبستگی بین تحمل به سرما و مقدار F_v/F_m در گیاه آراییدوپسیس (Ehlert and Hinch, 2008) و انگور (Jiang and Howell, 2002) نشان داده شده است.

یکی از سازوکارهای مهم حفاظت نوری در گیاهان، فعال شدن سیستم جاروب کننده مولکول های

گندم گیاهی مقاوم به سرما به شمار می رود (Winfield *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2015). شاخص F_v/F_m یکی از شاخص های مهم برای تعیین مقاومت به انواع تنش ها از جمله پاتوزن ها (Rousseau *et al.*, 2013)، خشکی (Woo *et al.*, 2008)، سرما (Xu *et al.*, 2014) و دما (Ehlert and Hinch, 2008) است و تعیین F_v/F_m در برگ های گندم، شاخص مهمی برای ارزیابی مقاومت این گیاه به سرما است. در پژوهش

افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز (جاروب‌کننده هیدروژن پراکسید) و افزایش آنتوسیانین برگ‌ها که یکی از انواع سازوکارهای حفاظت نوری گندم است از افت F_v/F_m و مهار نوری فتوسیستم‌ها جلوگیری کردند. افزایش کاروتنوئیدها در نور شدید نیز نقش مهمی در حفاظت فتوسیستم‌ها ایفا می‌کند. افزایش کاروتنوئیدها با فعال کردن چرخه و یولاگزانتین/زئاگزانتین و فروکشی غیرفتوشیمیایی، کاهش آسیب‌های ناشی از شدت نور زیاد را در گیاهان باعث می‌شوند (Cazzonelli and Pogson, 2010). با این‌حال در بررسی حاضر، شدت‌های مختلف نوری و سرما بر میزان کلروفیل و کاروتنوئید سنجش شده در برگ‌های گندم تأثیر نگذاشتند.

در پژوهش حاضر، با افزایش شدت نور به ۸۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه، کاهش معنی‌دار F_v/F_m و در نتیجه، مهار نوری در فتوسیستم II گندم مشاهده شد. در شدت نور زیاد، از یک سو، اکسیداسیون نوری، آسیب و تجزیه پروتئین کمپلکس فتوسیستم II یعنی پروتئین D1 را سبب می‌شود و از سوی دیگر، به علت انباشت ROS، سنتز پروتئین D1 و چرخه بازسازی فتوسیستم II مهار می‌شود و در نتیجه، پدیده مهار نوری تشدید می‌شود (Fischer *et al.*, 2013). در بررسی حاضر، هرچند گیاه گندم با افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز (جاروب‌کننده هیدروژن پراکسید) در شدت نور ۴۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه از وقوع آسیب نوری ممانعت کرد؛ ولی با افزایش شدت نور به ۸۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه به علت افزایش نیافتن معنی‌دار فعالیت آنزیم مهم کاتالاز عملاً سازوکار حفاظت نوری اول یعنی فعالیت

ROS است (Telfer, 2014). در واقع با افزایش شدت نور، به علت اشباع ظرفیت زنجیره انتقال الکترونی، احتمال اکسیداسیون نوری افزایش می‌یابد و اکسیداسیون نوری، آسیب و تجزیه پروتئین کمپلکس فتوسیستم II یعنی پروتئین D1 را باعث می‌شود. گیاه در این شرایط، با افزایش سنتز پروتئین D1 و فعال کردن چرخه بازسازی فتوسیستم II، ترمیم مجدد فتوسیستم II را سبب می‌شود (Takahashi and Badger, 2011)؛ ولی با تداوم شدت نور، تولید ROS در هر دو فتوسیستم افزایش می‌یابد. انباشت ROS مهار سنتز پروتئین D1 و مهار چرخه بازسازی فتوسیستم II را موجب می‌شود و پدیده مهار نوری را تشدید می‌کند (Asada, 2006). گیاهان برای کاهش مهار نوری، سیستم آنتی‌اکسیدانی خود را فعال می‌کنند تا با جاروب کردن ROS اثر آن‌ها را در مهار سنتز پروتئین D1 و بازسازی فتوسیستم II کاهش دهند (Takahashi and Badger, 2011). در پژوهش حاضر، مشخص شد که فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیدان و افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز (جاروب‌کننده هیدروژن پراکسید) سازوکار حفاظت نوری گندم در شدت نور ۴۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه است. از دیگر سازوکارهای حفاظت نوری در گیاهان، انباشت جاذب‌های نوری از جمله فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها در اپیدرم برگ‌ها است (Takahashi and Badger, 2011). در پژوهش حاضر، با افزایش شدت نور به ۴۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه، اگرچه مقدار فلاونوئیدهای برگ تغییر نکرد، سازوکار دیگر حفاظت نوری یعنی افزایش مقدار آنتوسیانین برگ‌ها در این شدت نور عمل کرد. بنابراین در شدت نور ۴۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه،

است و با سنجش این دو شاخص می توان تحمل گندم را به شدت های نور زیاد، ارزیابی کرد.

گندم در شدت نور ۴۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه با افزایش مؤثر سازوکارهای حفاظت نوری شامل فعالیت آنزیم کاتالاز (سیستم دفاع آنتی اکسیدانی)، حفظ فلاونوئیدها و افزایش آنتوسیانین برگ ها (از انواع جاذب های نور اضافی و فیلترهای نوری در اپیدرم) از افزایش مالون دی آلدئید (شاخص پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء) و کاهش F_v/F_m ممانعت کرد؛ ولی در شدت نور زیاد (۸۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه) به علت افزایش نیافتن معنی دار فعالیت کاتالاز و کاهش معنی دار مقدار فلاونوئیدهای برگ نسبت به شاهد، مقدار مالون دی آلدئید افزایش و F_v/F_m کاهش یافت. در نهایت، آسیب نوری در شدت نور ۸۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه رخ داد.

سپاسگزاری

نگارندگان از سرکار خانم سمیه مسئول محترم آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی ملکان سروری بابت همکاری صمیمانه در انجام این پژوهش سپاسگزاری می کنند.

سیستم جاروب کننده ROS نتوانست عملکرد مناسبی داشته باشد. همچنین سازوکار حفاظت نوری دیگر یعنی توان فیلتر کردن نور شدید در سلول های اپیدرم برگ های تیمار شده با شدت نور ۸۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه نیز به طور مؤثری عمل نکرد؛ به این ترتیب که در شدت نور ۸۵۰، میزان فلاونوئید کل در مقایسه با شاهد کاهش معنی دار یافت؛ در نتیجه، میزان زیادی از انرژی نور شدید بر فتوسیستم ها تأثیر گذاشت (Takahashi and Badger, 2011) و پدیده مهار نوری تشدید شد.

جمع بندی

بررسی شاخص هایی از قبیل میزان رنگیزه های فتوسنتزی، توان سیستم آنتی اکسیدان، متابولیسم فنلی و شاخص های فلورسانس کلروفیل در گیاه گندم تیمار شده با سرمای تنها نشان داد که گندم در برابر سرما مقاوم است و سرمای ۴ درجه سانتیگراد، مهار نوری و آسیب نوری را در این گیاه باعث نشد و میزان پراکسیداسیون لیپیدها را افزایش نداد. نتایج این بررسی نشان داد که بررسی هم زمان F_v/F_m با شاخص پراکسیداسیون لیپیدها (مالون دی آلدئید) روش مناسبی برای ارزیابی رخداد مهار و آسیب نوری در گیاهان

منابع

- Asada, K. (2006) Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Physiology* 141: 391-396.
- Azzabi, G., Pinnola, A., Betterle, N., Bassi, R. and Alboresi, A. (2012) Enhancement of non-photochemical quenching in the *Bryophyte physcomitrella patens* during acclimation to salt and osmotic stress. *Plant Cell Physiology* 53: 1815-1825.
- Boominathan, R. and Doran, P. M. (2002) Ni induced oxidative stress in roots of the Ni hyperaccumulator, *Alyssum bertoloni*. *New Phytologist* 156: 202-205.

- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Cazzonelli, C. I. and Pogson, B. J. (2010) Source to sink: regulation of carotenoid biosynthesis in plants. *Trends in Plant Science* 15: 266-274.
- Chen, L., Jia, H., Tian, Q., Du, L. and Gao, Y. (2012) Protecting effect of phosphorylation on oxidative damage of D1 protein by down-regulating the production of superoxide anion in photosystem II membranes under high light. *Photosynthesis Research* 112: 141-148.
- Ehlert, B. and Hinch, D. K. (2008) Chlorophyll fluorescence imaging accurately quantifies freezing damage and cold acclimation responses in *Arabidopsis* leaves. *Plant Methods* 4(1): 4-12.
- Fischer, B. B., Hideg, E. and Krieger-Liszka, A. (2013) Production, detection and redox signaling of singlet oxygen in photosynthetic organisms. *Antioxidants Redox Signaling* 18: 2145-2162.
- Giannopolitis, C. N. and Ries, S. K. (1977) Superoxide dismutase: occurrence in higher plants. *Plant Physiology* 59: 309-314.
- Habibi, G. (2014) Hydrogen peroxide (H₂O₂) generation, scavenging and signaling in plants. In: *Oxidative damage to plants: antioxidant networks and signaling* (Ed. Ahmad, P.) 557-574. Elsevier, San Diego.
- Ivanov, A. G., Allakhverdiev, S. I., Huner, N. P. A. and Murata, N. (2012) Genetic decrease in fatty acid unsaturation of phosphatidylglycerol increased photoinhibition of photosystem I at low temperature in tobacco leaves. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics* 1817: 1374-1379.
- Jiang, H. and Howell, G. S. (2002) Applying chlorophyll fluorescence technique to cold hardiness studies of grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture* 53(3): 210-217.
- Lichtenthaler, H. K. and Wellburn, A. R. (1985) Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11: 591-592.
- Mavi, A., Terzi, Z. and Ozgen, U. (2004) Antioxidant properties of some medicinal plants: *Prangos ferulacea* (Apiaceae), *Sedum sempervivoides* (Crassulaceae), *Malva neglecta* (Malvaceae), *Cruciata taurica* (Rubiaceae), *Rosa pimpinellifolia* (Rosaceae), *Galium verum* subsp. *Verum* (Rubiaceae), *Urtica dioica* (Urticaceae). *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 27: 702-705.
- Pospišl, P. (2012) Molecular mechanisms of production and scavenging of reactive oxygen species by photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics* 1817: 218-231.
- Pourakbar, L. and Abedzadeh, M. (2014) Effects of UV-B and UV-C radiation on antioxidative enzymes activity of *Melissa officinalis* and influences of salicylic acid in UV-stress ameliorations. *Iranian Journal of Plant Biology* 21: 23-34 (in Persian).
- Rousseau, C., Belin, E., Bove, E., Rousseau, D., Fabre, F. and Berruyer, R. (2013) High throughput quantitative phenotyping of plant resistance using chlorophyll fluorescence image analysis. *Plant Methods* 9: 3-17.
- Scheller, H. and Haldrup, A. (2005) Photoinhibition of photosystem I. *Planta* 221: 5-8.
- Simon, L. M., Fatrai, Z., Jonas, D. E. and Matkovic, B. (1974) Study of peroxide metabolism enzymes during the development of *Phaseolus vulgaris*. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen* 166: 387-392.
- Suetsugu, N. and Wada, M. (2007) Chloroplast photorelocation movement mediated by phototropin family proteins in green plants. *Biological Chemistry* 388: 927-935.

- Takahashi, S. (2010) The solar action spectrum of photosystem II damage. *Plant Physiology* 153: 988-993.
- Takahashi, S. and Badger, M. R. (2011) Photoprotection in plants: a new light on photosystem II damage. *Trends in Plant Science* 16: 1-10.
- Telfer, A. (2014) Singlet oxygen production by PSII under light stress: mechanism, detection and the protective role of b-Carotene. *Plant and Cell Physiology* 55(7): 1216-1223.
- Tholen, D. (2008) The chloroplast avoidance response decreases internal conductance to CO₂ diffusion in *Arabidopsis thaliana* leaves. *Plant and Cell Environment* 31: 1688-1700.
- Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A. (2000) Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants-protective role of exogenous polyamines. *Plant Science* 151: 59-66.
- Wang, X., Xu, C., Cang, J., Zeng, Y., Yu, J., Liu, L., Zhang, D. and Wang, J. (2015) Effects of exogenous GA₃ on wheat cold tolerance. *Journal of Agricultural Science and Technology* 17: 921-934.
- Winfield, M. O., Lu, C., Wilson, I. D., Coghill, J. A. and Edwards, K. J. (2010) Plant responses to cold: transcriptome analysis of wheat. *Plant Biotechnology Journal* 8: 749-771.
- Winkel-Shirley, B. (2002) Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Current Opinion in Plant Biology* 5: 18-223.
- Woo, N. S., Badger, M. R. and Pogson, B. J. (2008) A rapid, non-invasive procedure for quantitative assessment of drought survival using chlorophyll fluorescence. *Plant Methods* 4(1): 911-921.
- Xu, H. G., Liu, G. J., Liu, G. T., Yan, B. F., Duan, W. and Wang L. J. (2014) Comparison of investigation methods of heat injury in grapevine (*Vitis*) and assessment to heat tolerance in different cultivars and species. *BMC Plant Biology* 14: 156-163.
- Yamori, W., Evans, J. R. and von Caemmerer, S. (2010) Effects of growth and measurement light intensities on temperature dependence of Co₂ assimilation rate in tobacco leaves. *Plant, Cell and Environment* 33: 332-343.
- Yamori, W., Sakata, N., Suzuki, Y., Shikanai, T. and Makino, A. (2011) Cyclic electron flow around photosystem I via chloroplast NAD(P)H dehydrogenase (NDH) complex performs a significant physiological role during photosynthesis and plant growth at low temperature in rice. *The Plant Journal* 68: 966-976.
- Zamani, E., Rezanejad, F. and Sasan, H. (2012) Effects of cold and short day treatments on dehydrin gene expression in seedlings and regenerated shoots of pistachio (*Pistacia vera* L.). *Iranian Journal of Plant Biology* 14: 35-48 (in Persian).
- Zucker, M. (1965) Induction of phenylalanine deaminase by light, its relation to chlorogenic acid synthesis in potato tuber tissue. *Physiologia Plantarum* 40: 779-784.

Archive of SID