

مطالعه اثر شوری بر ساختار تشریحی برگ و ریشه و تولید آلکالوئید در درخت انار

The effect of salinity on anatomical structure and alkaloid production in pomegranate

فاطمه زرین کمر* و آرزو اسفاه

دانشکده علوم پایه، دانشگاه تربیت مدرس

پذیرش: ۱۳۸۴/۸/۲۵

دریافت: ۱۳۸۳/۵/۱۱

چکیده

هدف این تحقیق چگونگی تاثیر شوری بر تغییرات بافتی در درخت انار و تولید آلکالوئید در بافت ریشه بوده است. بدین منظور، تعداد ۷۱ اصله درخت انار هفت ساله از رقم ملس ترش ساوه جهت بررسی تاثیر شوری بر ساختمان تشریحی و تغییر در تولید آلکالوئید در این تحقیق انتخاب شد و سپس تحت تیمارهایی با شوری ۸۰۰، ۱۲۰۰، ۱۶۰۰، ۲۰۰۰، ۳۲۰۰ و ۴۰۰۰ میکروموس بر سانتی متر آبیاری شده، ۷۵ روز پس از آخرین تیماردهی، درختچه‌های انار را از خاک بیرون آورده و آلکالوئیدهای موجود در ریشه آنها استخراج و اندازه‌گیری گردید. علاوه بر این، به منظور بررسی ساختار تشریحی، قسمت‌هایی از برگ و ریشه از هر تیمار انتخاب شده پس از برش‌گیری و رنگ‌آمیزی با کارمن زاجی و سبز متیل ساختمان تشریحی نمونه‌ها در زیر میکروسکوپ مقایسه شدند.

نتایج حاصل از مشاهدات صورت گرفته روی برش‌های تهیه شده از ریشه و برگ در مقابل تیمار شوری شامل افزایش ضخامت لایه کوتیکول، تشکیل یاخته‌های پارانشیمی، ذخیره آب و افزایش تعداد و تراکم بلورها در یاخته‌های پارانشیمی برگ و ریشه در انار می‌باشد.

* مسئول مکاتبه

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش شوری آب آبیاری، میزان آلکالوئید کل ریشه افزایش معنی‌دار می‌یابد. به طوری که بیشترین میزان آلکالوئید متعلق به تیمار شوری ۴۰۰۰ میکروموس و کمترین میزان، مربوط به تیمار ۸۰۰ میکروموس می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: انار، شوری، آلکالوئید، آناتومی برگ و ریشه

مقدمه

درخت انار (*Punica granatum* L.) بومی ایران و کشورهای همجوار است. منشأ و موطن اصلی انار هنوز به طور دقیق شناخته نشده است ولی بیشتر گیاه‌شناسان بر این باور هستند که موطن اولیه آن قفقاز، سواحل دریای مازندران و دامنه‌های زاگرس و سپس به تدریج در مناطق آسیای مرکزی تا هیمالیا، خاورمیانه، آسیای صغیر و حوزه مدیترانه گسترش یافته است (وزوایی ۱۹۸۷).

انار از میوه‌های مناطق نیمه‌گرمسیری بوده و قابلیت رشد و نمو در زمین‌های شور و نامناسب را دارد. گرمای زیاد موجب سوختگی و سرمای زیاد باعث ترکیدگی میوه آن می‌شود و از لطافت پوست و مرغوبیت میوه می‌کاهد. بهترین شرایط آب و هوایی برای این گیاه زمستان‌های نسبتاً خنک، تابستان‌های گرم و پاییز طولانی و خشک می‌باشد. انار در ایران غالباً در نواحی حاشیه کویرها که سطح وسیعی از این سرزمین را در بر گرفته‌اند، رشد و نمو می‌کند و از این نظر درختی بسیار مفید و اقتصادی برای مردم این نواحی محسوب می‌شود. بیشترین سطح کشت انار در کشور به استان‌های فارس، مرکزی، خراسان، اصفهان، یزد، قم، کرمان و سمنان تعلق دارد و در برخی از مناطق ایران، مانند سواحل شمالی و دامنه‌های زاگرس به صورت وحشی می‌روید. از جمله مشکلات این مناطق شوری خاک و آب آبیاری می‌باشد که داشتن واکنش‌های گوناگون گیاهان به شوری، از جهت کشاورزی، از اهمیت خاصی برخوردار است (بی‌نام ۱۹۹۸). شوری یکی از مهمترین تنش‌های کاهنده رشد و تولید گیاهان چه در زمین‌های مزروعی و چه در مراتع خشک و نیمه خشک است (Nagalevskii 1989). مطالعاتی که در مورد مکانیسم‌های مقاومت به شوری صورت گرفته بیشتر در خصوص گیاهان زراعی بوده و تحقیقات به نسبت کمی در ارتباط با گیاهان درختی و درختچه‌ای صورت گرفته است. تنش شوری موجب کاهش رشد و جذب عناصر کلسیم، پتاسیم و منیزیم می‌شود. همچنین افزایش شوری باعث افزایش مقدار جذب سدیم در گیاه می‌گردد (حق‌نیا ۱۹۹۷). از طرفی دیده شده است که در بعضی از گیاهان افزایش شوری باعث افزایش میزان آلکالوئید می‌شود

به عبارتی، تنش شوری باعث کاهش متابولیسم اولیه رشد می‌گردد. بنابراین، می‌توان افزایش آلکالوئید را به دلیل کاهش رشد دانست (Saker & Elashad 1995).

از اندام‌های مختلف انار در صنایع دارویی غذایی و رنگرزی استفاده‌های گوناگون می‌شود. به علاوه، بافت اندام‌های مختلف این گیاه بخصوص ریشه‌ها حاوی چهار نوع آلکالوئید می‌باشند که بر ارزش دارویی انار می‌افزاید. در ضمن نشان داده شده است که این آلکالوئیدها در ریشه به میزان قابل ملاحظه‌ای وجود دارد (زرگری ۱۹۹۲ و Ali 1999).

با در نظر داشتن این‌که در مناطق شور کویری آب آبیاری اغلب شور می‌باشد و باغداران برای آبیاری درختان ناگزیر به استفاده از آب شور هستند، تحقیق در زمینه تاثیر شوری بر تغییرات بافتی در درخت انار و تولید آلکالوئید در ریشه و افزایش آلکالوئید محتوی بافت ریشه هدف این بررسی قرار گرفت. تیره پونیکاسه در دنیا شامل یک رده و دو گونه است.

روش بررسی

تعداد ۷۱ اصله درخت انار هفت ساله از رقم ملس ترش ساوه که در دانشگاه تربیت مدرس کاشته شده بود جهت بررسی تاثیر شوری بر ساختمان تشریحی و تغییر در تولید آلکالوئید در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت. تیمارهایی با شوری ۸۰۰، ۱۲۰۰، ۱۶۰۰، ۲۰۰۰، ۳۲۰۰ و ۴۰۰۰ میکروموس بر سانتی‌متر مورد استفاده قرار گرفت (شاهد آب چاه عمیق دانشگاه تربیت مدرس با هدایت الکتریکی ۸۰۰ میکروموس بر سانتی‌متر می‌باشد).

هفتاد و پنج روز پس از آخرین تیمار دهی، درختچه‌های انار را از خاک بیرون آورده و سپس آلکالوئیدهای موجود در ریشه آن‌ها استخراج و اندازه‌گیری گردید. برای استخراج آلکالوئیدهای ریشه از دستگاه سوکسله استفاده شد. بدین منظور، ابتدا ریشه را پودر کرده سپس آلکالوئید را با اضافه کردن یک قلیای مناسب آزاد می‌کنند (Na_2CO_3). سپس میزان آلکالوئید کل محتوی نمونه به روش تیتراسیون تعیین مقدار شد (Ali 1999). با توجه به وزن مولکولی، آلکالوئیدهای گیاهی میانگین آن محاسبه و با توجه به نرمالیت اسید میزان آلکالوئید کل را به دست آوردیم (Facchini 2001). به منظور بررسی ساختار تشریحی، نمونه‌ها به وسیله میکروتوم مینوت برش‌گیری و با کارمن زاجی و سبز متیل رنگ‌آمیزی و از نمونه‌ها عکسبرداری شد و سپس بررسی آن‌ها با میکروسکوپ انجام گردید.

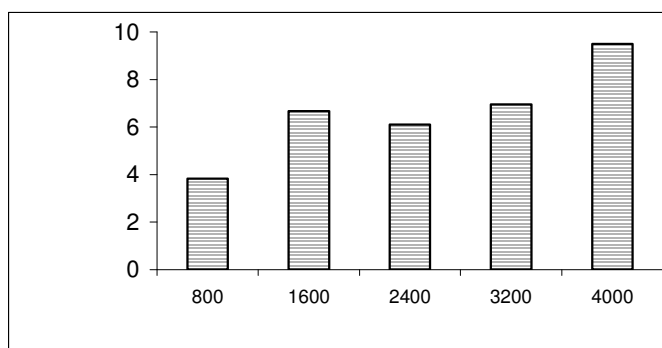
نتیجه

ریشه: اپیدرم شامل یک ردیف یاخته‌های چندوجهی منظم با دیواره یاخته‌ای ضخیم در سطح فوقانی است که در بعضی قسمت‌ها لایه بسیار نازک و نامنظمی از چوب پنبه روی آن ایجاد شده است. پارانشیم پوست از ۹-۱۱ لایه از یاخته‌هایی با دیواره نازک که بعضی حاوی ترکیبات یاخته‌ای قهوه‌ای رنگ و بلورهای شنی و ستاره‌ای می‌باشد تشکیل شده است. درون پوست شامل یاخته‌های مکعبی شکل با جداره عرضی قطور در بالای دایره محیطیه قابل توجه می‌باشد. نتایج نشان داد افزایش شوری بر تعداد و تراکم بلورها و مواد رنگی درون یاخته‌ای (تان‌ها) می‌افزاید. مقایسه میانگین نشان داد که با افزایش شوری آب آبیاری، میزان آلکالوئید کل ریشه افزایش می‌یابد و این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد (شکل ۱). به طوری که، بیشترین میزان آلکالوئید متعلق به تیمار شوری ۴۰۰۰ میکروموس و کمترین میزان، مربوط به تیمار ۸۰۰ میکروموس می‌باشد. در ضمن در میزان آلکالوئید کل مربوط به تیمارهای شوری ۱۶۰۰ و ۳۲۰۰ میکروموس تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل‌های ۲ و ۳).

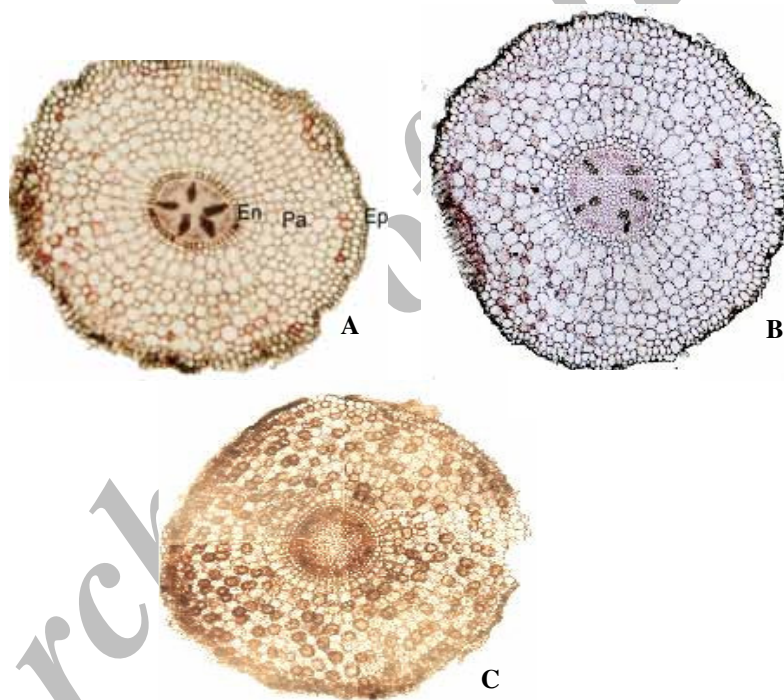
برگ: دارای کوتیکول ضخیم در دو سطح، خصوصا فوقانی می‌باشد. اپیدرم ساده شامل یاخته‌های چند ضلعی و فاقد غدد نمکی است. از نوع isobilateral بوده که از یک لایه یاخته‌های نردبانی بلند در سطح فوقانی و ۲-۳ لایه یاخته‌های کوتاه در سطح تحتانی برگ تشکیل شده است. در بین یاخته‌های میانبرگ، تعدادی یاخته‌های پارانشیمی با دیواره نازک که احتمالا در ذخیره آب به گیاه کمک می‌کنند مشاهده می‌شود. سیستم آوندی در رگبرگ اصلی bicollateral و در رگبرگ‌های فرعی از نوع collateral می‌باشد و آوندها توسط غلاف پارانشیمی با دیواره نازک احاطه شده‌اند. ماکروبلورهایی از نوع ستاره‌ای و شنی در بین یاخته‌های میانبرگ خصوصا در رگبرگ میانی مشاهده می‌شود. نتایج حاکی از اثر شوری بر افزایش ضخامت لایه کوتیکول و تعداد بلورها می‌باشد. بیشترین ضخامت لایه کوتیکول، تراکم و تعداد بلورها مربوط به تیمار ۴۰۰۰ میکروموس بر سانتی‌متر می‌باشد (شکل‌های ۴ و ۵).

بحث

درجات بردباری به شوری در گیاهان متفاوت است. اصلی‌ترین تفاوت در میان گونه‌ها در ارتباط با تحمل آن‌ها نسبت به شوری، میزان توانایی آن‌ها نسبت به انتقال یون می‌باشد به طوری که در این راستا مکانیسم‌های سازشی مختلفی در سیر تکاملی گیاهان ایجاد شده است. در این رابطه، مسیر سیمپلاستی اغلب نقطه کنترلی است جهت ورود نمک به داخل گیاه.

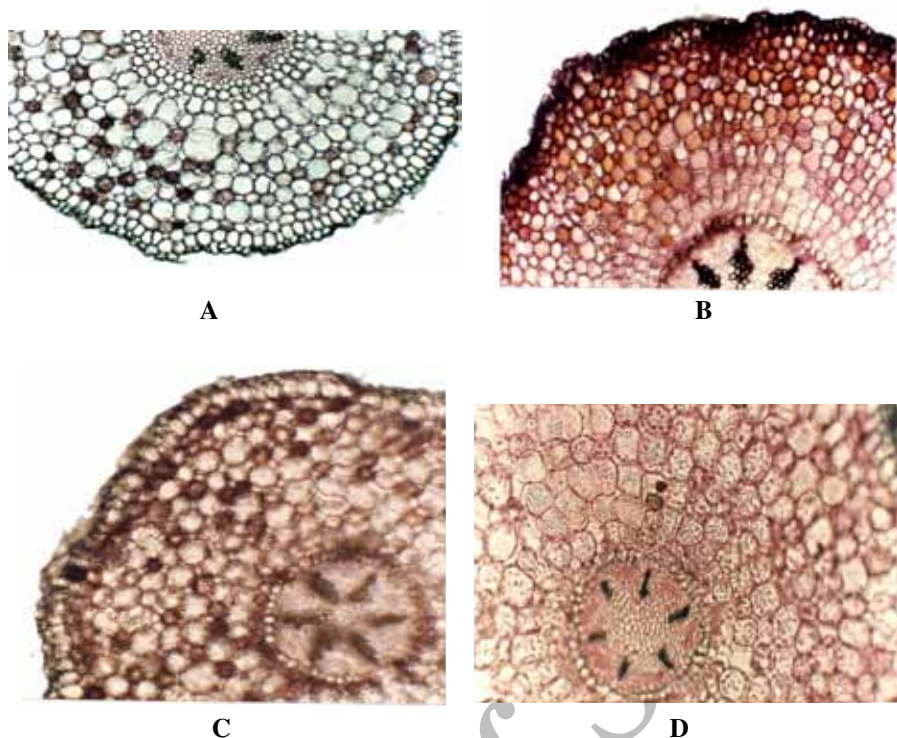


شکل ۱- تأثیر تیمارهای مختلف شوری بر میزان آلکالوئید در ریشه انار.
 Fig. 1. The effect of salinity on alkaloid production in pomegranate root.



شکل ۲- برش‌های عرضی ریشه در تیمارهای شوری: A= 800، B= 1600 و C= 2400 μmhos/cm (بزرگنمایی ×۱۵۰).
 میکروموس بر سانتی‌متر (بزرگنمایی ×۱۵۰).

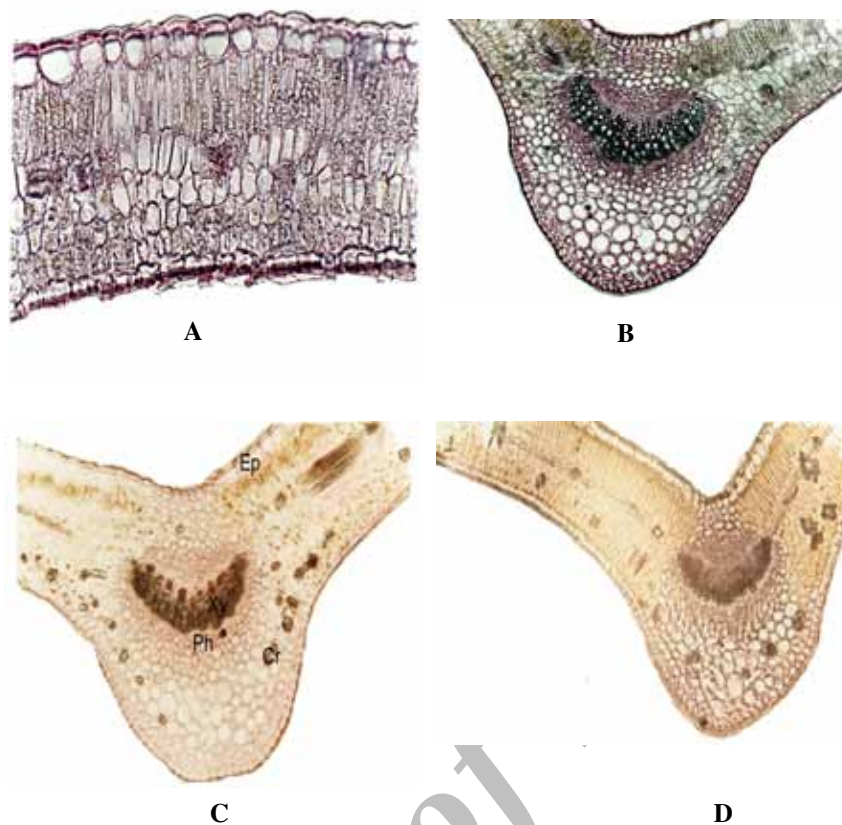
Fig. 2. T.S. of root in different salinity: A= 800, B= 1600 and C= 2400 μmhos/cm (magnification ×150). Ep= epidermis, Pa= parenchyma and En= endoderm.



شکل ۳- برش‌های عرضی ریشه در تیمارهای شوری: A=1600، B=2400، C=3200 و D=4000 میکروموس بر سانتی‌متر (بزرگنمایی ۷۵×).

Fig. 3. T.S. of root in different salinity: A= 1600, B= 2400, C= 3200 and D= 4000 μ mohs/cm (magnification $\times 75$).

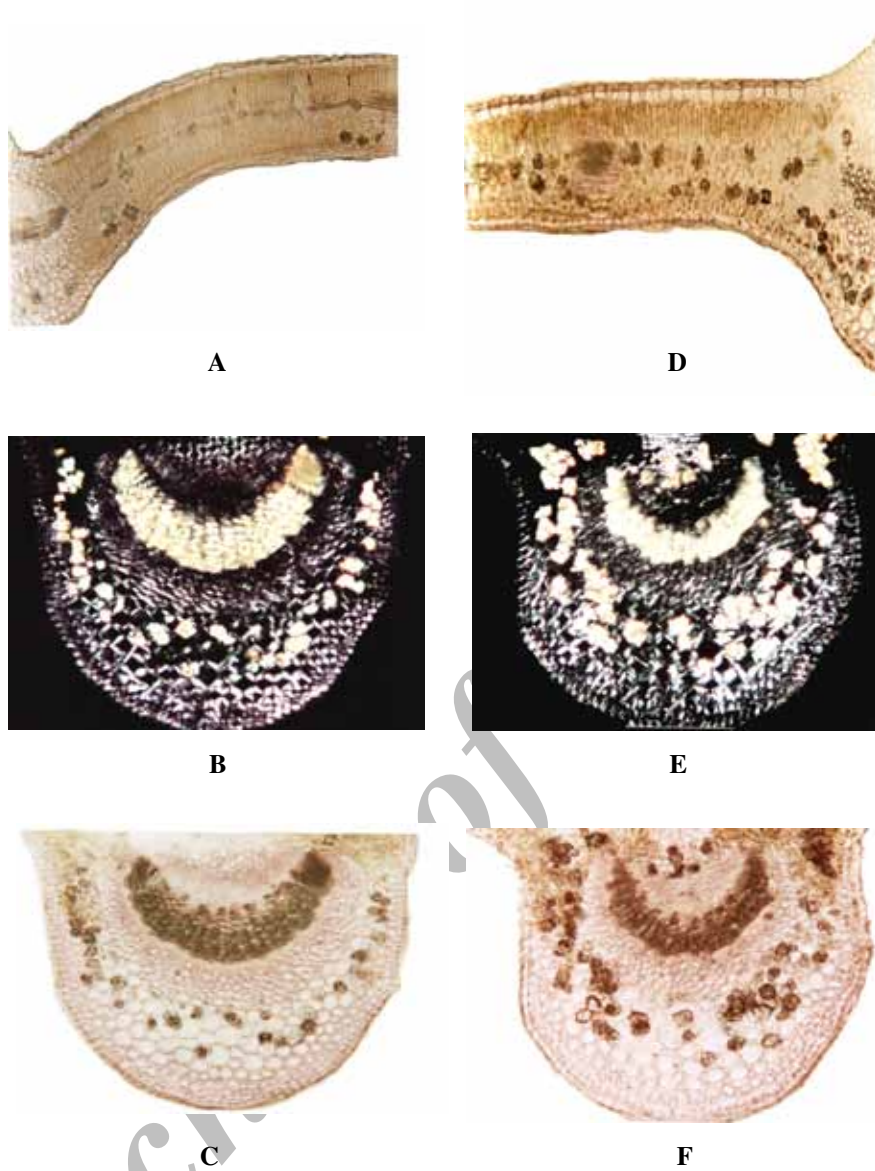
نکته‌ای که شایان ذکر است، گیاهانی که حلقه کاسپاری چوب پنبه‌ای شده دارند مسیر آپوپلاستی بسته می‌شود و آب و نمک‌ها بایستی از عرض آندودرم عبور کرده و وارد سیستم سیمپلاستی شوند. از این طریق آندودرم نیز در کنترل ورود نمک نقش به‌سزایی ایفا می‌کند. از طرف دیگر، یاخته‌های پارانشیمی آوند چوبی می‌توانند در حفظ و نگهداری نمک‌ها داخل یاخته در برابر شیب غلظتی در حین جریان آب در داخل عناصر آوندی و همچنین جذب ثانوی نمک‌ها از آوندها نقش مهمی را ایفا کنند. از این طریق مقداری از نمک در ریشه‌ها ذخیره شده و درصد کمی به بخش‌های هوایی منتقل می‌شود. همچنین نمک در جوانه‌های گیاه به صورت فعال به آوندهای آبکش منتقل شده که نتیجه آن کاهش نمک در جوانه‌ها می‌باشد. مکانیسم جذب ثانوی اساساً در گیاهانی است که گرادیان تحمل به شوری در قسمت‌های فوقانی گیاه کم



شکل ۴- برش‌های عرضی برگ در تیمارهای شوری: A-B= 800، C= 1600 و D= 2400 میکروموس بر سانتی‌متر (بزرگنمایی A×150 و B-D×75).

Fig. 4. T.S. of leaf in different salinity: A-B= 800, C= 1600 and D= 2400 $\mu\text{mhos/cm}$ (magnification A $\times 150$ and B-D $\times 75$). Ep= epidermis and Ph= phloem.

می‌باشد و به طور موقتی می‌توانند نسبت به شرایط شوری سازگاری نشان دهند. در گونه‌های شوررست از طریق فرستادن نمک به برگ‌های مسن و یا فرستادن نمک به روی سطح برگ‌ها، میزان نمک را کنترل می‌کنند. بدین طریق گیاه می‌تواند نمک مازاد را به صورت هالیدهای فرار متیل، از طریق تراوش از غده‌ها و دفع از سطح تاج به وسیله ریزش بخش‌هایی که مقدار زیادی نمک دارند از دست بدهد. گیاهان شوررست علاوه بر ظرفیت جداسازی نمک در واکوئل و تولید سازگار کننده‌های اسمزی در سیتوپلاسم، تغییرات آناتومی را نیز نشان می‌دهند. وجود غدد نمک (salt gland)، کیسه‌های نمکی (salt bladder) و یا بافت‌های آبدار برای کنترل عدم



شکل ۵- برش‌های عرضی برگ در تیمارهای شوری: A= ۲۴۰۰، B-C= ۳۲۰۰ و D-F= ۴۰۰۰ میکروموس بر سانتی‌متر (بزرگنمایی ۷۵×).

Fig. 5. T.S. of leaf in different salinity: A= 2400, B-C= 3200 and D-F= 4000 μ mohs/cm (magnification $\times 75$).

تعداد وجود دارد. اگر چه همه شوررست‌ها اندام‌های دفع کننده نمک ندارد ولی آن‌هایی که دارای این اندام‌ها هستند، می‌توانند ۵۰ درصد یا بیشتر از نمکی را که وارد برگ می‌شود از این طریق دفع کنند (Basra 1997). گیاهان متحمل به شوری همچنین می‌توانند مقدار آبی را که باید برای هر واحد رشد با تعرق خارج کنند به حداقل برسانند. گونه‌های C3 و C4 کارآیی مصرف آب خود را از طرق پایین آوردن هدایت روزنه‌ای در پاسخ به نمک افزایش می‌دهند، نتیجتاً تعرق کاهش می‌یابد (Osmond *et al.* 1980).

هنگامی که گیاهان در معرض شرایط تنش قرار می‌گیرند، استراتژی‌های متفاوتی را انتخاب کرده که ویژه گونه و در نوع خود بی‌نظیر می‌باشند. هدف از اتخاذ این شیوه‌ها فراهم کردن شرایطی است که گیاه بتواند آن‌را تحمل و به حیات خود ادامه بدهد. نظر به این که شوری از جهات مختلف گیاهان را تحت تاثیر قرار داده و موجب تغییرات تشریحی در آن‌ها می‌شود، لذا این تغییرات اغلب به صورت سازش‌هایی در گیاه مورد توجه قرار می‌گیرد تا شانس تحمل گیاه را نسبت به شوری افزایش دهد. بررسی حاضر نشان داد هنگامی که گیاه در مقابل تیمار شوری قرار می‌گیرد، ضخامت لایه کوتیکول افزایش و از میزان تبخیر و تعرق کاسته می‌شود. تشکیل یاخته‌های پارانشیمی ذخیره آب، افزایش تعداد و تراکم بلورها در یاخته‌های پارانشیمی برگ و ریشه از جمله این تغییرات در انار می‌باشد تا با حذف املاح، تعادل سیتوپلاسمی را حفظ کرده به تولید آلکالوئیدها به عنوان متابولیت‌های ثانوی پردازد (جدول‌های ۱ و ۲).

جدول ۱- تاثیر شوری بر تراکم بلور در بافت‌های مختلف

Table 1. Effect of salinity on density of crystals in tissues.

Root		Central vein		Mesophyll		salinity µmols/cm
Density	Type of crystal	Density	Type of crystal	Density	Type of crystal	
+	Druses	+	Druses	+	Prisma	800
++	Druses	++	Druses	+	Prisma	1600
+++	Druses, Sand	+++	Druses	++	Prisma	2400
++++	Druses, Sand	++++	Druses	+++	Prisma, Druses	3200
++++	Druses, Sand	+++++	Druses	+++	Prisma, Druses	4000

جدول ۲- تاثیر شوری بر ضخامت کوتیکول سطح فوقانی در برگ

Table 2. Effect of salinity on cuticle thickness on adaxial surface

Thickness of cuticle (μm)	Salinity $\mu\text{mohs/cm}$
2.8	800
3.2	1600
3.5	2400
3.7	3200
4.0	4000

منابع

جهت ملاحظه منابع به صفحه 40 متن انگلیسی مراجعه شود.

نشانی نگارندگان: دکتر فاطمه زرین کمر (E-mail: zarinkamar@modares.ac.ir) و آرزو اسفاه، دانشکده علوم پایه، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، صندوق پستی ۱۷۵-۱۴۱۱۵.

To look at the figures and tables, please refer to the Persian text (pages: ۹۷-۱۰۶).

References

- ALI, R.M. 1999. Effect of salinity on alkaloid accumulation and some metabolite stramonium. *Egyptian Journal of Physiology* 23 (1-2): 201-211.
- ANONYMOUS, 1998. Five horticultural products, Department of Information and Statistic, Ministry of Agriculture, Tehran, Iran.
- BASRA, A. 1997. Mechanisms of environmental stress resistance.
- FACCHINI, P.J. 2001. Alkaloid biosynthesis in plant: Biochemistry, cell biology, molecular regulation and metabolic engineering application. *Ann. Rev. Plant Physiology. Plant Mol. Biol.* 52: 29-66.
- HAGHNIA, G. 1997. Guide for salinities capacity of plants. Ferdowsi University, Mashhad (in Persian).
- NAGALEVSKII, V. 1989. Ecological and geographical analysis halophyte. *Ecology* 4: 3-8.
- OSMOND, C.B., BJORKMAN, O. and ANDERSON, D.J. 1980. Physiological processes in plant ecology. Toward a synthesis with atriplex, Springer-Verlag, New York.
- SAKER, M.M. and ELASHAD, H.A. 1995. Stimulating effect of salt stress on alkaloid production of cultured *Hyoscyamus* cells. *Fitoterapia* LXVI. (4): pp. 360-365.
- VEZVAYE, A. 1987. Plant history, ecology and geography of *Punica* in Iran. Tehran University (in Persian).
- ZARGARI, A. 1992. Plant medicines, Tehran University (in Persian).

Addresses of the authors: Dr. F. ZARINKAMAR (E-mail: zarinkamar@modares.ac.ir) and A. ASFA, Faculty of Basic Science., Tarbiat Modarres Univ., Tehran, P.O. Box: 14115-175, Iran.