

اثر غلظت‌های مختلف سولفات منگنز بر روی برخی صفات فیزیولوژیکی در گیاه آفتابگردان

سونیا ترابی*^۱، رمضانعلی خاوری نژاد^۲ و فرزانه نجفی^۳

^۱ کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه خوارزمی، تهران

استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه خوارزمی، تهران

^۳ استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه خوارزمی، تهران

تاریخ دریافت: ۹۲/۹/۱ تاریخ پذیرش: ۹۳/۲/۶

چکیده

در این پژوهش تاثیر غلظت‌های مختلف سولفات منگنز بر روی برخی پارامترهای فیزیولوژیکی در گیاه آفتابگردان بررسی گردید. پس از کشت بذرها در پتری دیش، گیاهک‌های ۵ روزه به گلدان‌هایی با بستر شنی مرطوب شده با محلول غذایی هوگلند در شرایط کنترل شده (۱۶ ساعت روشنائی و ۸ ساعت تاریکی، دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز و ۱۸ درجه سانتی‌گراد در شب) انتقال یافتند. گیاهان ۲۰ روزه تحت تیمارهای مختلف سولفات منگنز با غلظت‌های ۰، ۲۵۰، ۳۵۰ و ۱۵۰۰ میکرومولار قرار گرفتند و پس از ۳۰ روز جهت آنالیزهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی برداشت شدند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت سولفات منگنز در محیط، تبادلات گازی، رنگیزه‌های فتوسنتزی و قندهای محلول کاهش و میزان قند نامحلول افزایش یافت.

واژگان کلیدی: آفتابگردان، تبادلات گازی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، سولفات منگنز، قند.

مقدمه

تأمین می‌گردد (Prasad, 2007). دو مصرف اصلی دانه آفتابگردان به‌صورت روغن‌گیری و مصرف آجیلی است. انواع آجیلی دانه درشت‌تری نسبت به انواع روغنی داشته و حدود ۲۵ تا ۲۰ درصد روغن دارد. میزان پروتئین دانه در آفتابگردان حدود ۱۷ درصد است. ظاهراً هر چه دوران رسیدگی دانه با هوای خنک‌تری روبرو گردد بر درصد اسید چرب اشباع نشده لینولئیک در روغن اضافه می‌شود و بر ارزش غذایی آن افزوده می‌گردد (Robbelen et al., 1989).

ساقه آفتابگردان فیبر زیادی داشته و در صنعت کاغذ سازی و تهیه سلولز مصرف دارد. ساقه از نظر ازت، کلسیم و پتاسیم نیز غنی است و اضافه کردن آن به خاک موجب افزایش ماده آلی و حاصلخیزی خاک

گل آفتاب گردان، گل آفتاب یا گل آذریون، گیاهی است از خانواده گل ستاره‌ای‌ها (Asteraceae) از جنس آفتاب‌گردان‌ها (*Helianthus*)، با نام علمی *Helianthus annuus* است. گیاهی است یکساله و شامل ۷۶ گونه می‌باشد و به‌صورت بوته‌ای استوار رشد می‌کند. طول دوره رشد آفتابگردان بسته به رقم و کلیه عوامل محیطی از ۹۰ تا ۱۵۰ روز می‌باشد. حداقل حرارت لازم برای جوانه‌زدن بذر آفتابگردان حدود ۸ تا ۱۰ درجه سانتی‌گراد در خاک است. معمولاً این حرارت‌ها در خاک با رسیدن میانگین شبانه‌روزی حرارت هوا به ۱۰ تا ۱۵ درجه سانتی‌گراد

*نویسنده مسئول: saina_1388@yahoo.com

کاهش دهد که این مسئله با میزان تبادل گازی CO_2 مرتبط می‌باشد. تأثیر منگنز بر هدایت روزنه‌ای به‌طور غیرمستقیم از طریق مداخله با پتاسیم روی می‌دهد که تنظیم‌کننده مهم عملکرد روزنه‌ای است (Christeller and Laing, 1979). افزایش سریع فعالیت پلی‌فنل اکسیداز و کاهش در میزان فتوستتر، با افزایش منگنز به خوبی در گیاه تنباکو مشاهده شده است (Nable, 1988; Sinha et al., 2002; Subrahmanyam and Rathore, 2000).

گیاه آفتابگردان مقادیر بالایی از منگنز را در ریشه و ساقه خود انباشته می‌کند. به نظر می‌رسد تجمع عناصر سنگین در برگ‌ها نشان‌دهند توانایی ویژه آنها در جذب انتقالی عناصر و ذخیره آنها در بخش‌های مختلف دارند. کلروز در برگ‌های جوان و نقاط قهوه‌ای در برگ‌های پیر در غان سفید در اثر مقادیر بالای منگنز به خوبی دیده شده است. تجمع بالای منگنز در برگ‌ها باعث کاهش در میزان فتوستتر می‌شود (Papadakis et al., 2007; Burnell, 1988). بنابراین ظهور نشانه‌های سمیت منگنز به موقعیت فیزیولوژیکی مرتبط به سن برگ، توزیع و غلظت منگنز در داخل برگ مربوط است (Markus et al., 2002; Burke et al., 1990). مهار سنتز کلروفیل به وسیله منگنز اضافی به علت کمبود آهن است که با تجمع پروتوپورفیرین منیزیم و مونو- ϵ -متیل استر آن همراه است (Cstorday et al., 1999). شایان ذکر است که سنتز کلروفیل در مرحله بعدی جایگزینی منیزیم در حلقه تتراپیرول به آهن نیاز دارد. سمیت منگنز در خاک‌های کشاورزی و زیستگاه‌های طبیعی به دلایل مختلف از جمله ماهیت سنگ بستر، اسیدی بودن خاک، غرقاب شدن و یا مجاورت با معادن فعال ایجاد می‌شود (Cstorday et al., 1999). با توجه به مطالب فوق این پژوهش با هدف مطالعه تأثیر غلظت‌های مسموم‌کننده سولفات منگنز بر روی

می‌گردد (Killi and Altunbay, 2005). اثر افزایشی سمیت منگنز در گیاهان، به‌صورت نشانه‌های واضحی دیده می‌شود به‌طور مثال می‌توان به کلروز برگ، نکروز برگ، تغییر مورفولوژی برگ، بیرنگ شدن ریشه‌ها و کاهش محصول همراه اشاره کرد. نشانه‌های سمیت منگنز برای اولین بار در برگ می‌تواند ظاهر شود و برای بسیاری از گونه‌ها مانند جو، نخود فرنگی، آفتابگردان و لوبیا اولین نشانه‌های منگنز، ایجاد نقاط قهوه‌ای تیره روی برگ‌های پیر است (Lebot et al., 1990; Demirevska et al., 2004). افزایش منگنز، منجر به مهار سنتز کلروفیل می‌شود. به‌طور کلی، سمیت منگنز و تعداد دیگری از عناصر سنگین موجب کمبود آهن و کلروز می‌شوند. احتمالاً در سنتز کلروفیل، Mn^{2+} جایگزین Mg^{2+} در داخل تتراپیرول حلقوی می‌شود و به این خاطر سنتز کلروفیل را مختل می‌کند (Papadakis Burnell, 1988; et al., 2007). تأثیر منگنز بر میزان فتوستتر، غلظت کلروفیل، فعالیت روبیسکو (ریبولوز بیس فسفات کربوکسیلاز / اکسیژناز) و تثبیت CO_2 ثابت شده است. فلزات سنگین بر روی عملکرد PSI و PSII نیز تأثیر می‌گذارند (Clarimont et al., 1986; Csatorday et al., 1984; El-Jaoual and Cox, 1998).

دلایل کاهش فتوستتر توسط غلظت مازاد منگنز برگ‌گی عبارتند از توقف فعالیت آنزیم‌های کلروپلاستی توسط افزایش غلظت تولیدات اکسیداسیون پلی‌فنل ناشی از فعالیت پلی‌فنل اکسیداز، اختلال در غشاهای کلروپلاستی به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم، جایگزینی با Mg^{2+} و تشکیل کمپلکس‌های روبیسکو با Mn^{2+} (Pospisilova, 2003). اثرات مخرب فلزات بر دستگاه فتوستتری، اغلب نتیجه مداخله رقابتی با کوفاکتورهای فلزی ضروری است. منگنز با جذب آهن رقابت می‌کند و آهن در انتقال الکترون فتوستتری نقش مهمی دارد. منگنز اضافی ممکن است هدایت روزنه‌ای را

برخی پارامترهای فیزیولوژیکی در گیاه آفتابگردان انجام شد.

مواد و روش‌ها

روش کاشت و نگهداری گیاه: بذرهای گیاه آفتابگردان، واریته رکورد (*Helianthus annuus* L. cv. Record) از موسسه بذر و نهال کرج تهیه شد. تعداد ۱۰۰۰ عدد بذر یکنواخت و همگن انتخاب گشتند و برای جلوگیری از آلودگی قارچی توسط هیپوکلریت ۴۰ درصد به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی شدند. سپس بذرهای چندین بار با آب مقطر شستشو داده شدند. پس از این مرحله بذرهای درون پتری دیش‌های سترون حاوی یک لایه کاغذ صافی مرطوب قرار داده شدند. سپس پتری‌دیش با ورق آلومینیومی پوشانده شدند. بعد از ۲ روز بذرهای جوانه زدند. اساس جوانه زنی آن‌ها خروج ریشه‌چه بود. سپس پتری‌دیش‌ها به نور منتقل شدند. بعد از این مرحله دانه رست‌ها شش روزه به گلدان‌های حاوی ماسه مرطوب شده با آب مقطر منتقل شدند. در کف گلدان‌ها چندین منفذ کوچک وجود داشت تا آب ماسه در حد ظرفیت مزرعه باشد. سپس گلدان‌ها به شرایط نوری مناسب انتقال داده و به مدت ۱۴ روز به ترتیب با محلول هوگلند کامل، $\frac{1}{2}$ هوگلند و $\frac{1}{5}$ هوگلند آبیاری شدند. زمانی که گیاهان ۲۰ روزه شدند تیماردهی آغاز شد. پیش از شروع تیماردهی چهار نمونه گیاه جهت آنالیزهای اولیه انتخاب و به آزمایشگاه انتقال یافتند. گیاهان تحت تیمار سولفات منگنز ($MnSO_4$) در چهار سطح (۰، ۲۵۰، ۳۵۰ و ۱۵۰۰ میکرومولار) قرار گرفتند.

سنجش شدت فتوستتوز: جهت سنجش فتوستتوز اندام هوایی هر گیاه جدا و به‌طور کامل درون محفظه شیشه‌ای قرار گرفت. روشنایی لازم برای فتوستتوز توسط سه چراغ مطالعه فراهم شد. برای سنجش فتوستتوز از دستگاه آنالیزور گازی (CO_2) فرورسرخ

(Infrared gas(CO_2) analyzer) یا ایرگا (IRGA) استفاده شد. CO_2 ورودی سیستم از جریان هوای آزاد تامین شد و غلظت آن ۳۵۰ میکرولیتر در لیتر (CO_2) هوای جاری منظور گردید. هنگام انجام فتوستتوز بخشی از CO_2 محفظه توسط گیاه جذب شده و رفته رفته مقدار آن کاهش یافت تا این که این روند کاهشی به حالت یکنواخت رسید، این غلظت CO_2 به‌عنوان میزان CO_2 لازم برای فتوستتوز در نظر گرفته شد و از طریق آن شدت فتوستتوز روی فرمولی مشابه با فرمول تنفس محاسبه گردید (Khavari-Nejad, 1980).

سنجش شدت تنفس در تاریکی: جهت سنجش تنفس در تاریکی نیز از دستگاه ایرگا (IRGA) استفاده گردید. پس از استقرار اندام هوایی مورد نظر در محفظه برگی به وسیله یک پارچه ضخیم و تیره رنگ از رسیدن نور به محفظه ممانعت به عمل آمد. در این هنگام گیاه به دلیل عدم انجام فتوستتوز و انجام عمل تنفس موجب افزایش CO_2 محفظه شد. بعد از مدتی که غلظت CO_2 به حالت یکنواخت رسید، شدت تنفس از روی آن محاسبه شد. مقادیر فتوستتوز و تنفس از روی فرمول زیر محاسبه و برحسب CO_2 جذب شده در فتوستتوز یا آزاد شده در تنفس معرفی شدند (Khavari-Nejad, 1980).

$$P_v = \frac{F_d \times D_c (\mu m(CO_2) s^{-1} m^{-2})}{L}$$

P_v : شدت فتوستتوز یا تنفس بر حسب میکرومول CO_2 بر واحد سطح برگ در واحد زمان می‌باشد.
 D_c : تفاضل غلظت CO_2 بین هوای جاری وارد شده و هوای جاری خارج شده بر حسب میکرولیتر در لیتر ($\mu l l^{-1}$) می‌باشد. F : شدت هوای وارد شونده به محفظه برگی که بر حسب $m^3 s^{-1}$ بیان می‌شود و مقدار عددی آن برابر با $1.66 \times 10^{-6} m^3 s^{-1}$ می‌باشد.

d: چگالی CO₂ خالص برابر با ۴۴/۶۳ می‌باشد.
 L: سطح برگگی که برحسب واحد m² بیان می‌شود.
محاسبه نقطه جبران CO₂: برای محاسبه نقطه جبران CO₂ فتوسنتزی از سیستم جریان گازی بسته استفاده شد. پس از استقرار گیاه در محفظه گیاه، جریان هوا از محفظه دارای گیاه به درون دستگاه ایرگا پمپ شده (توسط دستگاه ثابت غلظت استقرار CO₂ به‌طور مرتب ثبت شده) و دوباره به محفظه برگشت داده شد. با ادامه فتوسنتز توسط گیاه، غلظت CO₂ محفظه به تدریج کاهش یافته و لحظه-ای فرا رسید که غلظت CO₂ دیگر هیچ کاهش را نشان نداد و به یک حالت پایدار رسید. این غلظت CO₂ به عنوان نقطه جبران CO₂ برحسب میکرولیتر در لیتر (μl l⁻¹) در نظر گرفته شد (Khavari-Nejad, 1980).

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی

سنجش کلروفیل‌ها: قطعاتی از برگ‌های جوان هم سن انتخاب شدند و پس از توزین و تکه‌تکه شدن با کمک استن ۸۰ درصد در داخل هاون چینی به‌صورت هموژن در آمدند. سپس هموژن تهیه شده با کاغذ صافی واتمن شماره دو صاف شد. هاون قیف و باقیمانده مواد گیاهی روی کاغذ صافی دوباره با استن ۸۰ درصد شسته شده و حجم نهایی محلول صاف شده یادداشت شد. در نهایت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، جذب محلول در طول موج‌های ۶۳۲/۲، ۶۴۶/۸ و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و از استن ۸۰ درصد به‌عنوان محلول شاهد برای تنظیم صفر جذب نوری اسپکتروفتومتر استفاده شد. برای انجام محاسبات مربوط به تعیین میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل (a+b) بر حسب میلی‌گرم بر لیتر به‌ترتیب از روابط زیر استفاده شد (Lichtenthaler, 1987)

$$\begin{aligned} \text{Chla} &= 12.25 \text{ A663.2} - 2.79 \text{ A646.8} \\ \text{Chlb} &= 21.21 \text{ A646.8} - 5.1 \text{ A663.2} \\ \text{Total Chl} &= \text{Chla} + \text{Chlb} \end{aligned}$$

در روابط فوق A_{663.2} و A_{646.8} به‌ترتیب میزان جذب در طول موج‌های ۶۳۲/۲ و ۶۴۶/۸ می‌باشد. با توجه به حجم عصاره و وزن تر نمونه‌ها، غلظت کلروفیل برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر (mg g⁻¹ F.W) قابل محاسبه است.

سنجش کاروتنوئیدها: برای سنجش مقدار کاروتنوئیدها با در نظر گرفتن میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۷۰ نانومتر از رابطه زیر محاسبه شد (Lichtenthaler, 1987).

$$\text{Car} = (1000\text{A}470 - 1.8 \text{ Chl}a - 85.02 \text{ Chl}b) / 198$$

در رابطه فوق:

Car: کاروتن

A₄₇₀: میزان جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر می‌باشد و Chl.a و Chl.b: به‌ترتیب بیانگر مقادیر کلروفیل‌های a و b می‌باشند. غلظت نهایی کاروتنوئیدها نیز مانند کلروفیل‌ها با توجه به حجم عصاره و وزن نمونه‌ها بر اساس واحد میلی‌گرم بر گرم وزن تر (mg g⁻¹ F.W) بیان شد.

سنجش کربوهیدرات‌ها: برای سنجش قندهای محلول و نشاسته، ۰/۱ گرم ماده خشک گیاهی (اندام هوایی) به دقت توزین شده و پس از همگن شدن با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد، به لوله آزمایش در بسته انتقال یافتند. سپس در حمام آب گرم (۶۰ درجه سانتی‌گراد)، به مدت ۱۰ دقیقه حرارت داده شدند. پس از خارج کردن لوله آزمایش در بسته و سرد شدن آنها، محتویات آن‌ها با کاغذ صافی واتمن شماره دو و قیف شیشه‌ای صاف گردیدند. ته بالن و روی قیف چندین بار با آب مقطر شسته و از صافی عبور داده شد. کاغذ صافی را که محتوی تفاله‌ها بود از روی قیف برداشته و در آن با حرارت ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده تا کاملاً رطوبت خود را از دست بدهد.

سنجش قندهای محلول: محلول صاف شده که حاوی قندهای محلول در اتانول بود درون

این مدت محتویات ارلن را با کاغذ صافی صاف کرده و تفاله‌های روی کاغذ صافی به ارلن برگردانده شد و دوباره با ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر و به مدت ۱۰ دقیقه جوشانده و صاف شد. محلول صاف شده را با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده و از آن برای سنجش قندهای نامحلول استفاده شد.

برای سنجش قندهای نامحلول از روش فنل سولفوریک اسید استفاده شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از هر یک از عصاره‌های مربوطه را درون لوله آزمایش ریخته و حجم لوله‌ها را با آب مقطر به ۲ میلی‌لیتر رسانده و به هر لوله یک میلی‌لیتر فنل ۵ درصد افزوده و به خوبی تکان داده شد. سپس به هر لوله ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ اضافه شد. به علت حرارت زیادی که در نتیجه انجام واکنش ایجاد می‌شود این عمل درون بشر محتوی آب انجام شد. در نهایت جذب محلول‌ها پس از سرد شدن در طول موج ۴۸۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. مقادیر نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد براساس میلی‌گرم بر گرم وزن خشک (mg D.W. g^{-1}) محاسبه شدند. جهت رسم نمودار استاندارد با استفاده از گلوکز محلول‌هایی با غلظت‌های مشخص از صفر تا ۳۵ میلی‌گرم در لیتر تهیه شد و مطابق روش بالا، فنل و اسیدسولفوریک به آن‌ها اضافه گردید. برای هر غلظت گلوکز، جذب در طول موج ۴۸۵ نانومتر بدست آمد و براساس آن منحنی مربوط ترسیم شد (Hellubus and Crarigi, 1978).

بررسی‌های آماری بر اساس آنالیز واریانس دو عاملی توسط نرم‌افزار SPSS 17 و نرم‌افزار SAS 9 در سطح احتمال $P < 0/05$ انجام شد. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام پذیرفت.

پتريدیش‌ها ريخته تا اتانول آنها تبخير شود. سپس به باقیمانده آب مقطر اضافه شد و محلول‌های حاصل به درون لوله آزمایش در بسته منتقل شدند. برای جدا کردن رنگیزه‌ها، به هر نمونه ۵ میلی‌لیتر هیدروکسید باریم ۰/۳ نرمال و ۵ میلی‌لیتر سولفات روی ۵ درصد اضافه شد. مخلوط فوق در سرعت g ۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس بخش رویی به یک بالن ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتری انتقال یافت و حجم آن با آب مقطر به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس یک میلی‌لیتر از عصاره در لوله آزمایش ریخته و به آن یک میلی‌لیتر محلول کوئیوروسدیک اضافه و به خوبی تکان داده شد و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد. سپس لوله‌ها را سرد کرده تا به دمای اتاق برسند. به هر لوله یک میلی‌لیتر محلول آرسنومولیدات اضافه کرده و حجم آن‌ها به وسیله آب مقطر به ۱۲/۵ میلی‌لیتر رسانیده و به خوبی تکان داده شد تا یکنواخت شود. در نهایت جذب هر یک از نمونه‌ها در طول موج ۵۰۰ نانومتر خوانده شد.

میزان قندهای احیاء شونده نمونه‌ها با استفاده از نمودار استاندارد گلوکز بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن خشک (mg g^{-1} D.W) محاسبه شدند. جهت رسم نمودار استاندارد با استفاده از گلوکز محلول‌هایی با غلظت‌های مشخص از صفر تا یک میلی‌لیتر برداشته و حجم آنها با آب مقطر به دو میلی‌لیتر رسانیده شد و مطابق روش بالا به آن‌ها کوئیدروسدیک و آرسنومولیدات اضافه گردید. برای هر غلظت گلوکز، جذب در طول موج ۵۰۰ نانومتر بدست آمد (Somogyi, 1952; Krishnaveni, et al., 1984).

سنجش قندهای نامحلول: تفاله‌های خشک شده حاصل از عصاره‌گیری الکل درون بالن ریخته و به آن حدود ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد سپس به مدت ۱۰ دقیقه درون حمام آب گرم قرار داده شد. پس از

نتایج

نقطه جبران CO_2 : نتایج حاصل از بررسی‌ها بر روی نقطه جبران CO_2 در گیاه آفتابگردان نشان داد که کاربرد سولفات منگنز موجب افزایش نقطه جبران CO_2 در این گیاه شد ولی با افزایش غلظت سولفات منگنز تا غلظت ۲۵۰ میکرومولار میزان نقطه جبران CO_2 در مقایسه با شاهد تغییر زیادی نکرد و در غلظت‌های ۳۵۰ و ۱۵۰۰ میکرومولار منگنز نیز نقطه جبران CO_2 تا حدودی ثابت ماند. از لحاظ آماری نیز مشاهده شد که افزایش نقطه جبران CO_2 در همه تیمارها در مقایسه با شاهد اختلاف معنی‌دار داشت (شکل ۳).

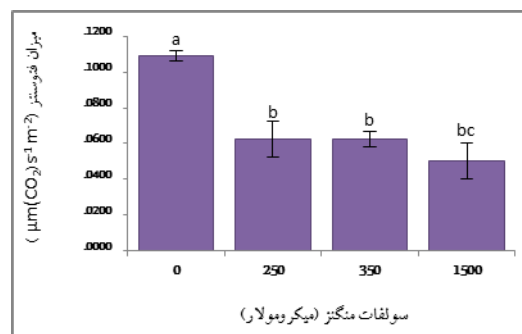


شکل ۳: اثر غلظت‌های مختلف سولفات منگنز بر میزان نقطه جبران CO_2 برحسب میکرولیتر در لیتر (در گیاه آفتابگردان). داده‌ها $\bar{X} \pm \text{SE}$ چهار تکرار را نشان می‌دهد. حروف یکسان نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است.

میزان کلروفیل *a*: مشاهده شد که با افزایش غلظت سولفات منگنز به محیط میزان کلروفیل *a* روند کاهشی پیدا کرد به طوری که میزان آن از ۱/۴ به ۰/۴ ($\text{mg.g}^{-1}\text{fw}$) کاهش یافت که یک کاهش تقریباً ۳/۵ برابری را نشان می‌دهد که این میزان کاهش قابل توجه است. از لحاظ آماری نیز در همه تیمارها در مقایسه با شاهد اختلاف معنی‌دار بود (جدول ۱).

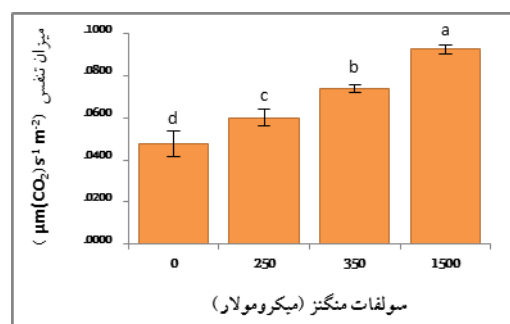
میزان کلروفیل *b*: نتایج نشان داد که با افزایش سولفات منگنز به محیط میزان کلروفیل *b* روند کاهشی پیدا کرد. به طوری که در غلظت‌های ۲۵۰ و ۳۵۰ میکرومولار سولفات منگنز در مقایسه با

میزان فتوسنتز: نتایج حاصل از بررسی‌های نشان داد که سولفات منگنز باعث کاهش میزان فتوسنتز می‌شوند. از لحاظ آماری نیز کاهش میزان فتوسنتز در همه تیمارها در مقایسه با شاهد اختلاف معنی‌دار بود (شکل ۱).



شکل ۱: اثر غلظت‌های مختلف سولفات منگنز بر میزان فتوسنتز ($\mu\text{m}(\text{CO}_2)\text{s}^{-1}\text{m}^{-2}$) در گیاه آفتابگردان. داده‌ها $\bar{X} \pm \text{SE}$ با چهار تکرار را نشان می‌دهد. حروف یکسان نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است.

میزان تنفس: نتایج نشان داد میزان تنفس در گیاه آفتابگردان با افزودن سولفات منگنز به محیط باعث افزایش تنفس شد و این افزایش تنفس با افزودن غلظت سولفات منگنز تشدید شده از لحاظ آماری نیز در همه تیمارها در مقایسه با شاهد اختلاف معنی‌دار بود (شکل ۲).



شکل ۲: اثر غلظت‌های مختلف سولفات منگنز بر میزان تنفس ($\mu\text{m}(\text{CO}_2)\text{s}^{-1}\text{m}^{-2}$) در گیاه آفتابگردان. داده‌ها $\bar{X} \pm \text{SE}$ با چهار تکرار را نشان می‌دهد. حروف یکسان نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است.

اماری نیز همه تیمارها در مقایسه با شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بود (جدول ۱).

میزان کاروتنوئیدها: بررسی‌های انجام شده بر روی میزان کاروتنوئید نشان داد که افزایش غلظت سولفات منگنز به محیط موجب کاهش محتوای کاروتنوئید شد. از لحاظ آماری نیز در همه تیمارها در مقایسه با شاهد اختلاف معنی‌دار بود. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که با افزایش میزان غلظت سولفات منگنز، محتوای کلروفیل‌های a ، b و کاروتنوئیدها کاهش یافت (جدول ۱).

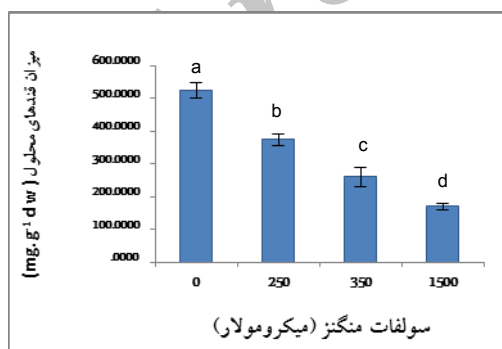
شاهد تقریباً ۳ برابر کاهش پیدا کرده و در غلظت ۱۵۰۰ میکرومولار در مقایسه با شاهد تقریباً ۹ برابر میزان کلروفیل b کاهش یافت که این میزان قابل توجه بود. از لحاظ آماری نیز همه تیمارها در مقایسه با شاهد اختلاف معنی‌دار را نشان داد (جدول ۱).

میزان کلروفیل کل: نتایج مربوط به میزان کلروفیل کل نیز در گیاه آفتابگردان نشان داد که سولفات منگنز، میزان کلروفیل کل را کاهش داد. افزودن تنها سولفات منگنز به محیط نیز در غلظت‌های مختلف مقدار کلروفیل کل را از ۳/۵ به ۰/۵ ($\text{mg.g}^{-1}\text{fw}$) کاهش داد که این کاهش قابل توجه بود. از لحاظ

جدول ۱: محتوای کلروفیل a (chl.a)، محتوای کلروفیل b (chl.b)، محتوای کلروفیل کل ($\text{mg.g}^{-1}\text{f.w.}$) و محتوای کاروتنوئید ($\text{mg.g}^{-1}\text{f.w.}$) در تیمارهای مختلف سولفات منگنز در گیاه آفتابگردان. داده‌ها $\bar{X} \pm \text{SE}$ با چهار تکرار را نشان می‌دهد. حروف یکسان نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است.

| غلظت منگنز (μm) | محتوای chl.a ($\text{mg.g}^{-1}\text{fw}$) | محتوای chl.b ($\text{mg.g}^{-1}\text{fw}$) | محتوای کلروفیل کل ($\text{mg.g}^{-1}\text{fw}$) | محتوای کاروتنوئید ($\text{mg.g}^{-1}\text{fw}$) |
|------------------------------|---|---|---|---|
| ۰ | ۱/۴۷۵±۰/۱۰۸۱ ^a | ۱/۸۳۲۵±۰/۰۵۸۵ ^a | ۳/۳۰۷±۰/۱۴۸۶ ^a | ۲/۴۶۵±۰/۰۰۶ ^a |
| ۲۵۰ | ۰/۶۳۷±۰/۰۱۷۵ ^c | ۰/۵۷۵±۰/۰۰۶۴ ^d | ۱/۲۱۲±۰/۰۲۳۹ ^d | ۲/۳۲۰±۰/۰۱۰ ^{ab} |
| ۳۵۰ | ۰/۶۲۰±۰/۰۰۹۱ ^{cd} | ۰/۵۲۲±۰/۰۰۴۷ ^c | ۱/۱۵۰±۰/۰۱۰۸ ^{de} | ۲/۱۶۰±۰/۰۰۴ ^{bc} |
| ۱۵۰۰ | ۰/۳۵۰±۰/۰۰۴۰ ^{efg} | ۰/۳۱۰±۰/۰۰۴۰ ^h | ۰/۶۶۰±۰/۰۰۷۰ ⁱ | ۱/۹۶۲±۰/۰۰۸ ^{cd} |

همه تیمارها در مقایسه با شاهد اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (شکل ۵).



شکل ۴: اثر غلظت‌های مختلف سولفات منگنز (میکرو مولار) بر میزان قندهای محلول (میلی گرم بر گرم وزن تر) در گیاه آفتابگردان. داده‌ها $\bar{X} \pm \text{SE}$ چهار تکرار را نشان می‌دهد. حروف یکسان نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است.

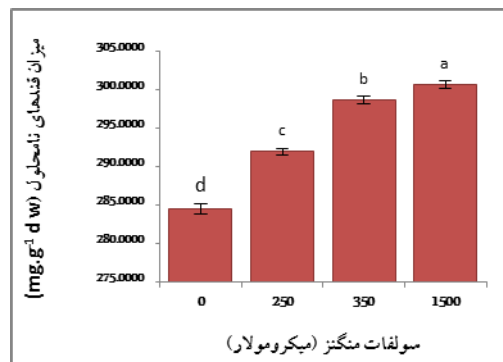
میزان قندهای محلول در گیاه: با توجه به نتایج بدست آمده مشاهده شد که افزایش غلظت سولفات منگنز و به محیط کشت گیاه آفتابگردان موجب کاهش میزان قندهای محلول شده به طوری که میزان آن از ۴۵۵ به ۳۵۰ ($\text{mg.g}^{-1}\text{dw}$) کاهش یافت. از لحاظ آماری نیز میزان قند محلول در همه تیمارها در مقایسه با شاهد اختلاف معنی‌دار را نشان داد (شکل ۴).

میزان قندها در گیاه: با توجه به نمودارها و جدول‌های مربوط به میزان قندهای نامحلول مشاهده می‌شود که با افزایش میزان سولفات منگنز به محیط میزان قند نامحلول در گیاه از ۲۸۵ به ۳۰۸ ($\text{mg.g}^{-1}\text{dw}$) افزایش یافت و از لحاظ آماری نیز در

کاهش می‌یابد (Lei et al., 2007). آزمایشات بر روی کلروپلاست گیاه گندم نشان داده که کاهش در فتوسنتز توسط افزایش منگنز برگ‌گی در نتیجه عملکرد پراکسیداسیون غشای تیلاکوئیدها می‌باشد (Poorter et al., 1988).

با توجه به مشاهدات Hertz (۱۹۸۸) اختلال در سیستم فتوسنتزی توسط غلظت مازاد منگنز برگ‌گی عبارتند از: مختل شدن هدایت روزانه‌ای، اختلال در غشاهای کلروپلاستی به‌طور مستقیم و غیرمستقیم، اختلال در عملکردهای PSII و PSI، جایگزین شدن Mn^{2+} به جای Mg^{2+} و تشکیل کمپلکس رویسکو- Mn^{2+} . در کارهای انجام شده مشاهده شد که با کاهش میزان فتوسنتز، میزان تنفس و نقطه جبران CO_2 در تیمارهای ۳۵۰ و ۱۵۰۰ میکرومولار منگنز، افزایش زیادی پیدا می‌کند. در آزمایشات انجام شده توسط Hertz (۱۹۸۸)، بر روی گیاه تنباکو بر اثر تیمار با غلظت بالای منگنز مشاهده شد که میزان فعالیت ریبولوز ۱ و ۵ بیس فسفات اکسیژناز افزایش می‌یابد که موجب افزایش نقطه جبران CO_2 در این گیاه می‌شود. افزایش سمیت منگنز سبب شد که Mn^{2+} جایگزین Mg^{2+} در رویسکو گردد (Zerbe and Wild, 1980). مطابق کارهای انجام شده بر روی تأثیر سمیت منگنز بر سنتز کلروفیل در گیاه *Nicotiana tabacum* نشان داده شد که سنتز کلروفیل و کاروتنوئید با افزایش منگنز و سمیت آن کاهش پیدا کرده است (Khavari-Nejad et al., 1986; Ohki, 1985; Clarimont et al., 2005).

گزارش شده است در سنتز کلروفیل، منگنز جایگزین منیزیم در جایگاه خود یعنی در داخل تراپیرول حلقوی می‌شود و به این دلیل سنتز کلروفیل را مختل می‌کند. با افزایش Mn میزان پروتوپورفیرین IX در مسیر سنتز کلروفیل نسبت به میزان Mg- پروتوپورفیرین منومیتیل استر افزایش می‌یابد که در حقیقت این پیش برنده سنتز



شکل ۵: اثر غلظت‌های مختلف سولفات منگنز (میکرومولار) بر میزان قند نامحلول (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در گیاه آفتابگردان. داده‌ها $\bar{X} \pm SE$ با چهار تکرار را نشان می‌دهد. حروف یکسان نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است.

بحث

عناصر سنگین موجب کاهش میزان فتوسنتز در گیاهان می‌شوند. در تحقیق حاضر بر روی گیاه آفتابگردان نیز مشاهده شد که با افزایش غلظت سولفات منگنز در تیمارهای ۲۵۰، ۳۵۰ و ۱۵۰۰ میکرومولار، در محیط کشت این گیاه اثر سوء بر میزان فتوسنتز می‌گذارد. مطالعات انجام شده نشان داد که تیمار گیاه تنباکو با سولفات منگنز نیز میزان فتوسنتز را کاهش داده است که به نظر می‌رسد افزایش فعالیت رویسکو در جهت فعالیت اکسیژنازی و عدم فعالیت تعدادی از آنزیم‌های احیاء کننده سیکل کربنی فتوسنتزی (سیکل کالوین) علت این اثر باشد (Nable, 1988). گزارش شده است فعالیت آنزیم رویسکو در گیاه گندم تیمار یافته با منگنز تغییر نمی‌یابد ولی فعالیت واکنش هیل کاهش می‌یابد. در این راستا مشاهده شد که سمیت منگنز، فعالیت هیل در کلروپلاست‌های جدا شده از برگ‌های گیاه نخود فرنگی را کاهش می‌دهد (Lee et al., 1976) ولی سمیت منگنز روی راندامان کوانتومی فتوسیستم II در ذرت مقاوم به سمیت منگنز تأثیر ندارد اما این میزان در ذرت حساس به غلظت بالای منگنز

کاهش می‌یابد. در کار حاضر نشان داده شد که یک رابطه مثبت میان فتوستتوز و قندهای محلول وجود دارد و قندهای محلول به سرعت در گیاه با کاهش فتوستتوز، کاهش می‌یابد ولی تحت تنش عناصر سنگین اثر مهار کننده‌ای بر روی برخی از آنزیم‌ها از جمله آمیلاز می‌گذارد که موجب تجمع نشاسته گشته و از این طریق موجب مهار فیدبکی بر روی فتوستتوز می‌گردد که موجب افزایش تنفس شده و میزان قندهای محلول کاهش می‌یابد (Nafziger and Koller, 1976). حضور منگنز در سیتوزول سلول‌های برگ باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده قندهای محلول و آنزیم ساکاروز سنتاز می‌شود. در ریشه به علت مصرف شدن قند در جهت سنتز پروتئین‌ها و پلی‌پتیدها از جمله فیتوکلاتین‌ها و گلوکاتینون غلظت قند کاهش می‌یابد (Lidon and Teixeira, 2002). تیمار گیاه *Citrus volkameriana* L. با منگنز، موجب کاهش گرانل‌ها در کلروپلاست برگ‌ها شده و تعداد دانه‌های نشاسته را افزایش می‌دهد. همچنین سمیت منگنز موجب کاهش قندهای محلول و افزایش نشاسته در این گیاه شد (Papadakis et al., 2007). افزایش تیمار با منگنز در گیاه برنج نیز موجب افزایش محتوای نشاسته و کاهش محتوای قندهای محلول شد (Lidon and Teixeira, 2000). مطالعات نشان داد که افزایش تیمار با منگنز، قندهای محلول به‌ویژه هگزوزها و بیان ژن‌های مربوط به آنزیم‌های فتوستتوزی از جمله زیر واحد کوچک رویسکو که در هسته کد می‌شود را مهار می‌کند و محتوای رویسکو و تثبیت میزان CO₂ را کاهش می‌دهد (Karatas et al., 2010).

نتیجه‌گیری نهایی

در کشور ما، به‌خصوص استان آذربایجان غربی و شرقی، خاک‌های غنی از منگنز و معادن فعال این عنصر وجود دارد که محدوده وسیعی از خاک‌های

کلروفیل است در نتیجه با افزایش منگنز، سنتز کلروفیل مختل می‌شود (Clarimont et al., 1986). تجمع کاروتنوئیدها نیز توسط سمیت منگنز مهار می‌شود که این مهار یا به‌طور مستقیم و یا توسط عدم حضور پیش برنده کلروفیل می‌باشد. همچنین گزارش شده است کاهش محتوای کلروفیل تحت تنش عناصر سنگین، مهمترین آنزیم‌ها از جمله δ -آمینولولینک دهیدراتاز (ALA-dehydratase) و پروتو کلروفیل‌دردوکتاز که مرتبط به بیوستتوز کلروفیل هستند را مهار می‌کند (Rezai and Farboodnia, 2008). کاهش محتوای کلروفیل ممکن است به علت تغییر در متابولیسم نیتروژن درگیر در سنتز پرولین برای تنظیم اسمزی می‌باشد. افزایش نقطه جبران CO₂ نسبت به گیاه شاهد و کاهش کلروفیل و ظهور حالت کلروز در اثر تیمار با منگنز دال بر کاهش فتوستتوز می‌باشد (Kumar et al., 2008; Shenker et al., 2004; Vassilev and Berova, 1998; Rezai and Farboodnia, 2008).

بررسی‌های انجام شده بر میزان فتوستتوز خالص، نقطه جبران CO₂ و غلظت قندهای محلول و نشاسته در برگ‌های گیاه لوبیا نشان می‌دهد که یک رابطه معکوس بین میزان فتوستتوز خالص و غلظت نشاسته وجود دارد. پیشنهاد شده که تجمع نشاسته سبب کاهش میزان فتوستتوز از طریق منع انتشار CO₂ درون سلولی در مزوفیل می‌شود. کنترل مقدار CO₂ در دسترس گیاه لوبیا، روی غلظت نشاسته برگ‌ها اثر معنی‌دار دارد اما روی غلظت قند محلول تأثیر زیادی ندارد (Nafziger and Koller, 1976). در برگ‌های گیاه گوجه‌فرنگی با افزایش سطح CO₂، غلظت نشاسته افزایش یافته است. به نظر می‌رسد که میزان قندهای محلول با محتوای نشاسته رابطه عکس داد (Lidon and Teixeira, 2002). کاهش در میزان همگون سازی CO₂، از طریق مهار فیدبکی فتوستتوز، موجب کاهش فتوستتوز می‌شود و میزان قند محلول

- Hellubust, J.A. and Craigie, J.S. (1978).** Handbook of physiological and biochemical methods, Cambridge University Press, Cambridge.
- Hortz, R. (1988).** Evidence for effects on the in vivo activity of Ribulose-bisphosphate carboxylase/ oxygenase during development of Mn toxicity in Tobacco. *Plant Physiology*. 86: 1143-1149.
- Karatas, I., Ozturk, L. and Okatan, Y. (2010).** Effect of auxin on photosynthetic pigments and some enzyme activities during dark-induced senescence in *Tropaeolum* leaves. Department of Biology, Tokat, Turkey. 42(3):1881-1888.
- Khavari-Nejad, R.A. (1980).** Growth of tomato plants in different oxygen concentrations. *Photosynthetica*. 14: 326-336.
- Khavari-Nejad, R.A., Asrarv, Z. and Heidari, H. (2005).** Excess manganese effects on pigments of *Menthaspicata* at flowering stage. *Soil Science*. 51: 101-107.
- Killi, F. and Altunbay, G. (2005).** Seed yield, oil content and yield components of confection and oilseed Sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars planted in different dates. *Journal of Agriculture and Biology*. 7: 21-24.
- Krishnaveni, S., Theymoli, B. and Sadasivam, S. (1984).** Phenol sulphuric acid method. *Food chain*, 15:229-237.
- Kumar, S., Raju, D. and Hazra, S. (2008).** Differential accumulation of manganese in three mature tree species (*Holoptelia*, *Cassia*, *Neem*) growing on a mine dump. *Current Science*. 94: 639-943.
- Lebot, J., Kirby, E.A. and Beuschem, M.L. (1990).** Manganese toxicity in tomato plants: effects on cation uptake and distribution. *Journal of Plant Nutrition*. 13: 513-525.
- Lee, K.C., Cunningham, B.A., Poulsen, G.M., Laing, G.H. and Moore, R.A. (1976).** Effect of cadmium on respiration rate and activities of several enzymes in soybean seedlings. *Plant Physiology*. 36: 4-6.
- Lei, Y.B., Korpelainen, H. and Li, C.Y. (2007).** Physiological and biochemical responses to high Mn concentrations in two contrasting *Populus cathayana* populations. *Chemosphere*. 68: 686-694.
- Lichthenthaler, H.K. (1987).** Chlorophylls and carotenoids pigments of photosynthetic bio membranes. In: Colowick, S.P., Kaplan, N.O. (eds) *Methods in Enzymology*. Academic Press, New York. 148: 350-382.
- Lidon, F.C. and Teixeira, M.G. (2000).** Oxygen radical production and control in the chloroplast of Mn-treated rice. *Plant Science*. 152: 7-15.
- مرتعی و زمین‌های زراعی مجاور این معادن تحت تأثیر غلظت‌های مسموم کننده این عنصر قرار می‌گیرد. در این تحقیق مشاهده شد که افزایش غلظت منگنز بر روی گیاه آفتابگردان، موجب کاهش فتوسنتز، افزایش تنفس و نقطه جبران در این گیاه شد. همچنین کاهش میزان کلروفیل، کاروتنوئیدها و قندهای محلول و افزایش قندهای نامحلول و از جمله علائم ظاهری نظیر زرد شدن در گیاه آفتابگردان دیده شد، نتیجه نهایی اینکه منگنز در غلظت‌های زیاد موجب سمیت در گیاه شده و آثار جبران‌ناپذیری بر گیاهان دارد.

منابع

- Burke, D.G., Watkins, K. and Scott, B.J. (1990).** Manganese toxicity effects on visible symptoms, yield, manganese levels, and organic acid levels in tolerant and sensitive wheat cultivars. *Crop Science*. 30: 275-280.
- Burnell, J.N. (1988).** The biochemistry of manganese in plants. In: Graham, R.D., Hannam, R.J., Uren, N.C. (Eds.), *Manganese in Soils and Plants*. Kluwer, Dordrecht, the Netherlands. 22:125-133.
- Christeller, J.T. and Laing, W.A. (1979).** Effects of manganese ions and magnesium ions on the activity of soya-bean ribulosebis phosphate carboxylase / oxygenase. *Phytochemistry*. 183:747-750.
- Clarimont, K., Hagar, W.G. and Davis, E.A. (1986).** Manganese toxicity to chlorophyll synthesis in *Tobacco Callus*. *Plant Physiology*. 80: 291-293.
- Cstorday, K., Gombos, Z. and Zalontal, B. (1999).** Manganese and cobalt toxicity in chlorophyll Biosynthesis. *Journal of Agricultural Science*. 3: 248-251.
- Csatorday, K., Gombos, Z. and Zalontai, B. (1984).** Mn²⁺ and Co²⁺ toxicity in chlorophyll biosynthesis, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 81:476-478.
- Demirevska, K., Simova-Stoilova, L. and Stoyanova, Z. (2004).** Biochemical changes in barley plants after excessive supply of copper and manganese. *Environmental and Experimental Botany*. 52: 253-266.
- El-Jaoual, T. and Cox, D.A. (1998).** Manganese toxicity in plants, *Journal of Plant Nutrition*. 21: 353-386.

- Markus, H., Paul, A. Mulack, C., and Fritz, E. (2002).** Effects of manganese on the viability of vegetative diaspores of the epiphytic lichen *Hypogymnia physodes*. *Environmental and Experimental Botany*. 47: 127-142.
- Nable, R. (1988).** Early inhibition of photosynthesis during development of Mn toxicity in Tobacco. *Plant Physiology*. 86:1136-1142.
- Nafziger, D.E. and Koller, R. (1976).** Influence of leaf starch concentration on CO₂ assimilation in Soybean. *Plant Physiology*. 57: 506-563.
- Ohki, K. (1985).** Manganese deficiency and toxicity effects on photo-synthesis, chlorophyll and transpiration in wheat. *Crop Science*. 25:187-191.
- Papadakis, I.E., Giannakoula, A., Therios, I.N., Bosabalidis, A.M., Moustakas, M. and Nastou, A. (2007).** Mn-induced changes in leaf structure and chloroplast ultrastructure of *Citrus volmariana* L. plants. *The Plant Journal*. 164:100-103.
- Poorter, H., Pot, S. and Lambers, H. (1988).** The effect of an elevated atmospheric CO₂ concentration on growth, photosynthesis and respiration of *Plantago major*. *Physiologia Plantarum*. 73: 553-559.
- Pospisilova, J. (2003).** Anticipation of phytohormones in the stomatal regulation of gas exchange during water stress. *Physiologia Plantarum*. 46(4): 491-506.
- Prasad, M.N.V. (2007).** Sunflower (*Helianthus annuus* L.) a potential crop for environmental industry. *Department of Plant Sciences*. 46:167-174.
- Rezai, K. and Farboodnia, T. (2008).** Manganese toxicity effects on chlorophyll content and antioxidant enzymes in Pea Plant (*Pisums ativum* L.cv. Qazvin). *Department of Biology*. 3(6):454-458.
- Robbelen, G., Keith Downey, P. and Ashri, A. (1989).** Oil crops of the world, their breeding and utilization. *Crop Sciences*. New York, McGraw-Hill. pp.553.1
- Shenker, M., Plessner, O.E. and Tel-Or, E. (2004).** Manganese nutrition effects on tomato growth, chlorophyll concentration, and superoxide dismutase activity. *The Plant Journal*. 161: 197-200,
- Sinha, S., Mukherji, S. and Dutta, J. (2002).** Effect of manganese toxicity on pigment content, Hill activity and photosynthetic rate of *Vignara diata* L. Wilczek seedlings. *Journal of Environmental Biology*. 23: 253-257.
- Somogyi, M. (1952).** Notes on sugar determination. *Journal of Biological Chemistry*. 195:19-29.
- Subrahmanyam, D. and Rathore, V.S. (2000).** Influence of manganese toxicity on photosynthesis in rice bean seedlings. *Photosynthetica*. 38: 425-429.
- Vassilev, A. and Berova, M. (1998).** Influence of Cd²⁺ on growth, chlorophyll content, and water relation in young barley plants. *Department of Plant Physiology*. 41(4): 601-606.
- Zerbe, R., and Wild, A. (1980).** The effect of indole-3-acetic-acid on the photosynthetic apparatus of *Sinapis alba*. *The Plant Journal*. 1:71-8.