

بررسی روند تجزیه ذخایر بذر اسفندک (*Zygophyllum fabago* L.) طی دوره جوانه‌زنی تحت تأثیر اسیدیته‌های مختلف

لیلا زرنندی میان‌دوآب* و توحید ادیب ینگجه

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۹/۱۶، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۰۲/۰۷)

چکیده

اسفندک (*Zygophyllum fabago* L.) به عنوان یک گیاه شورپسند اختیاری چندساله، در مناطق خشک و زمین‌های بایر و غیرقابل کشت می‌روید. با توجه به تفاوت اسیدیته خاک‌های زیستگاه‌های متنوع طبیعی اسفندک، تأثیر pH بر روند تجزیه ذخایر بذور اسفندک طی جوانه‌زنی آزمایش شد. آزمایش در طرح کاملاً تصادفی با هفت سطح pH (یعنی ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹ و ۱۰) و طی چهار تکرار در مدت یک هفته انجام یافت. بذرها توسط محلول هیپوکلریت سدیم ۱٪ ضدعفونی سطحی شدند و در pH‌های متفاوت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی قرار گرفتند. سنجش بیومولکول‌های بذر و میزان فعالیت آنزیم‌های آلفا‌آمیلاز و لیپاز در دو مرحله قبل (روز پنجم) و بعد (روز هفتم) از جوانه‌زنی انجام گرفت. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که آنزیم لیپاز در pH‌های قلیایی بیشتر فعالیت کرده و به همین دلیل میزان لیپید در این pH‌ها کمتر است. آلفا‌آمیلاز در pH‌های قلیایی نسبت به pH‌های اسیدی فعالیت کمتری نشان داده است. غلظت ذخایر نشاسته بذر و محتوی قندهای محلول تابع فعالیت آلفا‌آمیلاز بود. بنظر می‌رسد در بذر اسفندک فعالیت آنزیم آلفا‌آمیلاز قبل از جوانه‌زنی در محدوده pH‌های ۴ الی ۸ بیشینه بوده و موجب تجزیه ذخایر نشاسته، و از این طریق موجب آغاز روند جوانه‌زنی شده است. در حالی که فعالیت لیپاز و محتوی لیپید حاکی از اهمیت ذخایر لیپید در مرحله بعد از جوانه‌زنی است. در مراحل بعد از جوانه‌زنی لیپاز پیش‌سازهای رشد (و نه احتمالاً پیش‌سازهای تولید انرژی) را برای گیاهک جوان فراهم می‌آورد که فعالیت آن در محیط قلیایی قابل ملاحظه است. بیشترین محتوی پروتئین دانه بعد از جوانه‌زنی و در pH‌های خنثی مشاهده شد که می‌تواند نشانگر بهینه بودن شرایط خنثی برای ادامه رشد دانه‌رست باشد.

واژه‌های کلیدی: آلفا‌آمیلاز، اسفندک، pH، پروتئین، جوانه‌زنی، لیپید، کربوهیدرات، لیپاز، نشاسته

مقدمه

نواحی مدیترانه، آفریقا و آسیای مرکزی می‌روید (Mostafavi *et al.*, 2012). این گیاه متحمل به شوری و مقاوم به خشکی بوده و در خاک‌های آهکی آذربایجان به وفور یافت می‌شود (Wang *et al.*, 2011). اسفندک از نظر زراعی یک علف هرز با ویژگی‌های دارویی است که از قدیم در برخی تمدن‌ها در

اسفندک با نام علمی *Zygophyllum fabago* L. و با نام انگلیسی *Syrian bean caper* گیاهی از تیره *Zygophyllaceae* می‌باشد. اسفندک گیاه شورپسند اختیاری چندساله با روش تکثیر بذری است که رویشگاه‌های طبیعی متنوعی دارد و در

باتلاقی و pH بیشینه در خاک‌های مناطق خشک و شور دیده می‌شود. معمولاً هر قدر شستشو در خاکی بیشتر صورت بگیرد به دلیل مهاجرت کاتیون‌ها و عوامل قلیایی، pH خاک تنزل می‌یابد. اسیدیته خاک‌های فلات مرکزی ایران در اکثر موارد بین ۷ تا ۸/۵ در نوسان است و علت آن وجود نمک‌های کلسیم و سدیم می‌باشد. در چنین خاک‌هایی pH ممکن است از ۹ نیز تجاوز نموده و حتی به ۹/۷ نیز برسد و حتی در خاک غنی از سدیم و کربنات‌های محلول (کربنات و بی‌کربنات سدیم) تا ۱۰ و ۱۱ افزایش یابد. زهکشی در این خاک‌ها نامناسب و املاح محلول فراوان است، بطوریکه فقط گیاهان نمک‌دوست در این خاک‌ها قابلیت زیست دارند. همچنین در این خاک‌ها سایر عناصر از قبیل آهن، منگنز، روی و فسفر به صورت غیرقابل استفاده گیاه درمی‌آیند. در خاک‌های جنگلی شمال ایران pH خاک اسیدی بوده و حتی به ۲/۴ کاهش می‌یابد. علت آن نزولات آسمانی، وجود ماسه سنگ‌ها و شن‌هاست. از آنجا که اسفندک رویشگاه‌های متنوعی از نظر شوری، خشکی، مقدار نور، دمای محیط و اسیدیته را در طبیعت به خود اختصاص می‌دهد سؤالی مطرح می‌شود که کدام سازوکارها بذر اسفندک را قادر می‌سازد در شرایط محیطی متنوع و البته سخت ضامن بقای این گونه باشد. پاسخ اسفندک به شوری و خشکی اثبات شده است. همچنین در مطالعات پیشین دمای بهینه و مقدار نور مورد نیاز برای جوانه‌زنی بیشینه بذر اسفندک مورد بررسی و نتیجه‌گیری قرار گرفته‌است (زرنندی و همکاران، ۱۳۹۵). شناخت سازوکار انتخابی برای بهره‌برداری از ذخایر بذر در اسیدیته‌های مختلف محیط می‌تواند نقش بسزایی در شناخت جوانه‌زنی بذر اسفندک در بازه وسیعی از اسیدیته داشته باشد. در همین راستا در پژوهش حاضر سعی شده تا نحوه استفاده از ذخایر بذر در pH های متفاوت مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

بذرهای اسفندک در شهریورماه سال ۱۳۹۵ از محوطه‌ی دانشگاه شهیدمدنی آذربایجان (آذرشهر، با عرض جغرافیایی

طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گرفته‌است (Alhaddad *et al.*, 2015). اهمیت دیگر آن در بیابان‌زدایی، شوری‌زدایی و گیاه‌پالایی است (Lefevre *et al.*, 2010).

بذر یکی از مهمترین منابع حفظ ذخایر گیاهی است که در تکثیر، انتشار و استقرار گیاه در مناطق مختلف، حفظ و بقای نسل گیاه در شرایط سخت اهمیت دارد (Black and Bewley, 2000). جوانه‌زنی یک مرحله مهم در رشد گیاه است که شامل چند مرحله جذب آب، کاتابولیسم و آنابولیسم می‌باشد. طبق تعریف جوانه‌زنی مکانیسمی است که در آن تغییرات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی منجر به فعالیت جنین می‌شود. قبل از جوانه‌زنی، بذر آب جذب کرده و باعث توسعه و کشیدگی جنین دانه می‌شود. وقتی که ریشه‌چه از لایه‌های دانه بیرون آمد، پروسه جوانه‌زنی کامل می‌شود (Miransari and Smith, 2014). با این اتفاق، ریشه‌چه در تماس مستقیم با آب و عناصر غذایی قرار گرفته و با جذب آن‌ها موجب رشد بیشتر و استقرار گیاهچه می‌شود. موفقیت اکولوژیکی و الگوی توزیع گیاهان، بخصوص در محیط‌های سخت و تنش‌زا به چگونگی انجام فرایند جوانه‌زنی دانه‌ها وابسته است (Wang *et al.*, 2011). اغلب گیاهان pH حدود خنثی را برای جوانه‌زنی، رشد و بازدهی مطلوب می‌پسندند در حالیکه برخی مانند یونجه و چغندر pH کمی قلیایی (بین ۷ تا ۷/۵) و بعضی دیگر مانند سیب‌زمینی و یولاف در pH کمی اسیدی (بین ۵/۵ تا ۶/۵) بهتر رشد می‌کنند (Towhid, 2014). جوانه‌زنی به‌عنوان اولین مرحله رشدی گیاهان به‌شدت از عوامل محیطی از جمله دما، پتانسیل آب، شوری، خشکی، غرقابی، اسیدیته، عمق کاشت و وضعیت روشنایی متأثر است (Chauhan *et al.*, 2006; Lauchli and Grattan, 2007). جوانه‌زنی برخی گونه‌های گیاهی به اسیدیته حساسیت ندارد و اسیدیته عامل محدود کننده جوانه‌زنی نمی‌باشد. در حالیکه برخی گونه‌ها در pH اسیدی (Deska *et al.*, 2011) جوانه‌زنی بهتری دارند و برخی در pH قلیایی (Chachalis and Reddy, 2000).

دامنه تغییرات pH در خاک‌های طبیعی معمولاً بین کمینه ۳ تا ۳/۵ و بیشینه ۱۱ تا ۱۲ می‌باشد. pH کمینه در خاک‌های

ترسیم اشکال استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از اندازه‌گیری محتوی نشاسته، لیپید و پروتئین بذر اسفندک قبل از شروع فرایند خیساندن، جذب آب و جوانه‌زنی، بصورت درصد در وزن خشک در شکل ۱ نمایش داده شده است. همانطور که در شکل مشخص است، بیشترین سهم ذخیره برعهده نشاسته می‌باشد و لیپید ذخیره‌ای درصد کمی از وزن بذر را به خود اختصاص داده است.

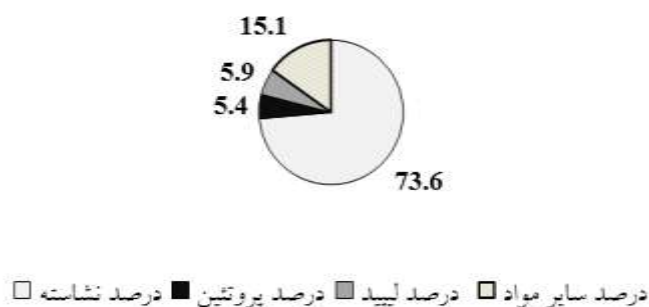
نتایج حاصل از محاسبه محتوی نشاسته بذور قبل و بعد از جوانه‌زنی در شکل ۲ قابل مشاهده است که نشان‌دهنده کاهش معنی‌دار مقدار نشاسته در pHهای اسیدی می‌باشد. در pH ۷ الی ۱۰ روند این کاهش کندتر شده است. همچنین کاهش مقدار نشاسته بعد از جوانه‌زنی در همه pHها مشخص است.

نتایج مربوط به سنجش فعالیت آنزیم آمیلاز بذر اسفندک در اسیدیته‌های مختلف در شکل ۳ نشان می‌دهد که بیشینه فعالیت آنزیم در pH ۶ و روز پنجم خیساندن بذر یعنی دقیقاً یک روز قبل از خروج ریشه‌چه از بذر می‌باشد و با افزایش pH کاهش فعالیت آنزیم مشهود است. در همه تیمارها کاهش فعالیت آنزیم پس از جوانه‌زنی قابل تشخیص می‌باشند هرچند که در اغلب موارد این کاهش از نظر آماری غیر معنی‌دار تشخیص داده شده است.

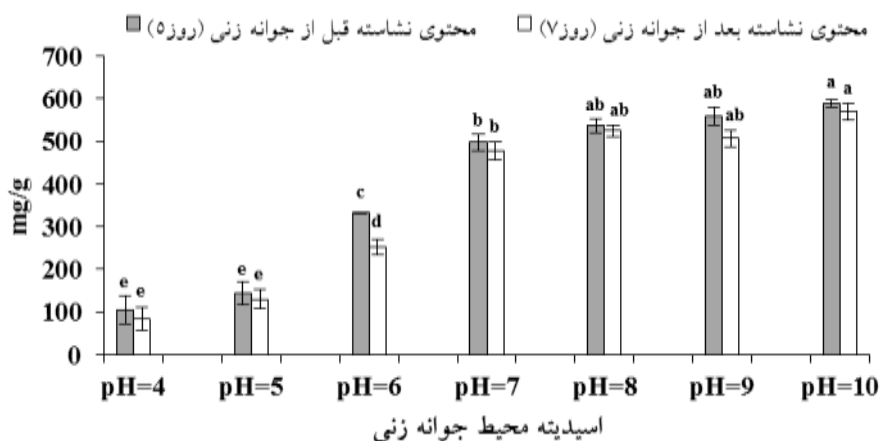
با توجه به این نکته که آنزیم آمیلاز در تجزیه نشاسته به قندهای ساده‌تر و محلول نقش دارد، سنجش محتوی قند محلول بذر اسفندک قبل و بعد از جوانه‌زنی صورت گرفت که نتایج در شکل ۴ ارایه شده است. چنانچه از شکل بر می‌آید، مقدار قندهای محلول بعد از جوانه‌زنی بیشتر از قبل از جوانه‌زنی می‌باشد (درست عکس نتایج مربوط به نشاسته) و در اغلب موارد این افزایش معنی‌دار است. همچنین بنظر می‌رسد در pHهای اسیدی‌تر و خشتی (۴، ۵، ۶ و ۷) روند تجزیه نشاسته و تبدیل آن به قند محلول بهتر صورت گرفته است.

نتایج مطالعه‌ای در مورد اثر تنش قلیائیت بر جوانه‌زنی بذور گلرنگ، نیز در توافق با نتایج آزمایش حاضر نشان داد

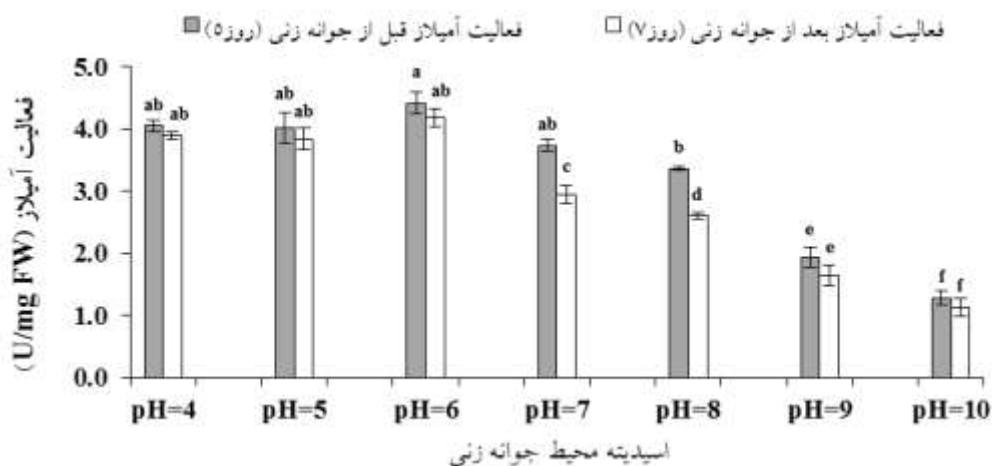
۳۷/۸۱ و طول جغرافیایی ۴۵/۹۴ و ارتفاع ۱۳۴۰ متر از سطح دریا) جمع‌آوری شد. بذرها از گل‌آذین جدا شدند و در محیط آزمایشگاه نگهداری شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با هفت سطح pH (یعنی ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹ و ۱۰) و طی چهار تکرار در مدت یک هفته انجام گرفت. بذرها به مدت ۵ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۱ درصد ضدعفونی سطحی شده و چندین بار با آب مقطر شستشوگردیدند. به جهت شکستن خواب، بذرها ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس بذرها به هفت گروه تقسیم شدند. در هر پتری ۳۰ عدد بذر تقریباً هم‌شکل توزیع و در شرایط استریل سه میلی‌لیتر از محلول pH مربوطه (۱۰، ۹، ۸، ۷، ۶، ۵، ۴) اضافه گردید. اسیدیته محلول‌های اسیدی با استفاده از اسیدکلریدریک نرمال و اسیدیته محلول‌های قلیایی با استفاده از سود نرمال تنظیم شدند و هر بار قبل از استفاده، اسیدیته محلول‌ها مورد سنجش و تأیید قرار می‌گرفتند. پتری‌های آماده به انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد انتقال یافت (زرندی و همکاران، ۱۳۹۵). آنالیز اولیه ذخایر شامل محتوی نشاسته، لیپید و پروتئین بذر اسفندک قبل از شروع فرایند خیساندن، برای بذور خشک صورت گرفت. روز ۵ به‌عنوان زمان قبل از جوانه‌زنی و روز ۷ به‌عنوان زمان بعد از جوانه‌زنی در نظر گرفته شد. مبنای جوانه‌زنی خروج ریشه‌چه از دانه در نظر گرفته شد که در مورد اکثر بذرها در روز ۶ اتفاق افتاد. کل بخش‌های بذر مورد آنالیزهای بیوشیمیایی و آنزیمی قرار گرفت. سنجش مقدار لیپید از روش اسدی و همکاران (۱۳۹۳)، پروتئین از روش بردفورد (Bradford, 1976)، و مقدار کربوهیدرات کل و محلول با استفاده از معرف آنترون (Joseph and ROE, 1955) صورت گرفت. محتوی نشاسته با کسر کردن مقدار قند محلول از قند کل محاسبه شد. فعالیت آنزیم آلفا‌آمیلاز و آنزیم لیپاز از روش ارایه شده توسط محرمی و همکاران (۱۳۸۸) اندازه‌گیری شد. انجام آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS 17.01 با تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. از نرم افزار Excel برای



شکل ۱- درصد نشاسته، لیپید و پروتئین بذر اسفندک قبل از خیساندن



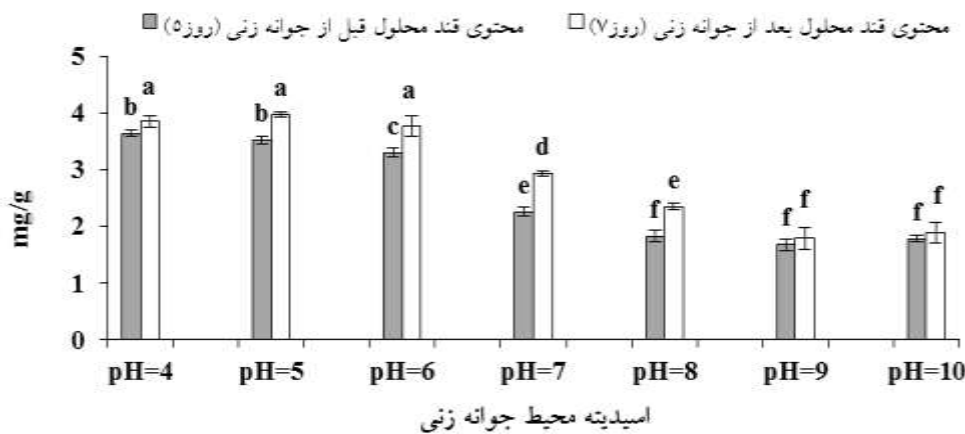
شکل ۲- تأثیر pH بر محتوی نشاسته بذر اسفندک قبل و بعد از جوانه زنی. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن ندارند.



شکل ۳- تأثیر pH بر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز بذور اسفندک قبل و بعد از جوانه‌زنی. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن ندارند.

مطالعه‌ای دیگر که اثر باران اسیدی بر جوانه‌زنی گندم را مورد بررسی قرار داده بود، نشان داده‌شد میزان قند محلول در pH

که، هر چه میزان قلیائیت افزایش می‌یافت، تجمع قند محلول در بذر کمتر می‌شد (بمانی و همکاران ۱۳۹۴). همچنین در



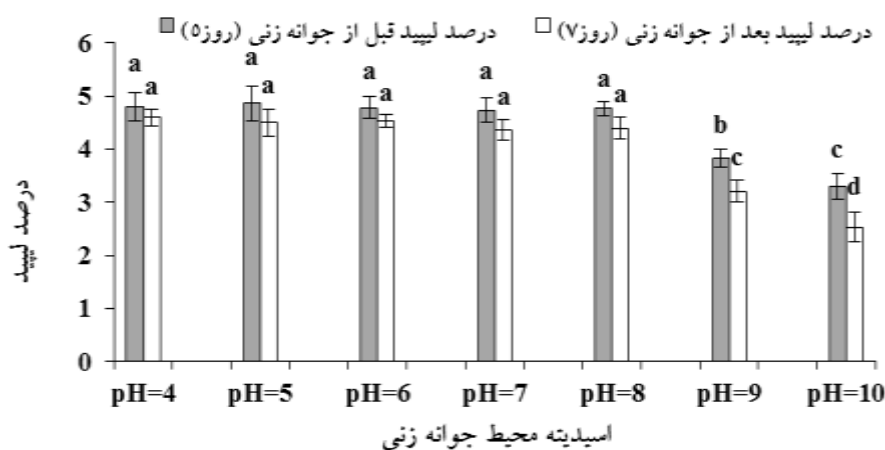
شکل ۴- تأثیر pH بر محتوی قندهای محلول بذور اسفندک میلی گرم بر گرم وزن خشک قبل و بعد از جوانه زنی. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن ندارند.

تجزیه کننده لیپید یعنی لیپاز مورد سنجش و اندازه‌گیری قرار گرفت. نتایج ارائه شده در شکل ۶ نشان می‌دهد که فعالیت آنزیم لیپاز طی جوانه‌زنی بذور تیمار شده با محلول‌های با pH ۴ الی ۸ تغییری نکرده است در حالیکه فعالیت آنزیم در pH ۹ و ۱۰ افزایش معنی‌دار و چشمگیری را نشان می‌دهد. با توجه به داده‌های شکل ۶ می‌توان به روند افزایش فعالیت آنزیم در روز بعد از جوانه‌زنی نسبت به روز قبل از جوانه‌زنی در همه تیمارها پی برد که این روند در pH ۹ و ۱۰ مشهودتر و قابل ملاحظه‌تر می‌باشد.

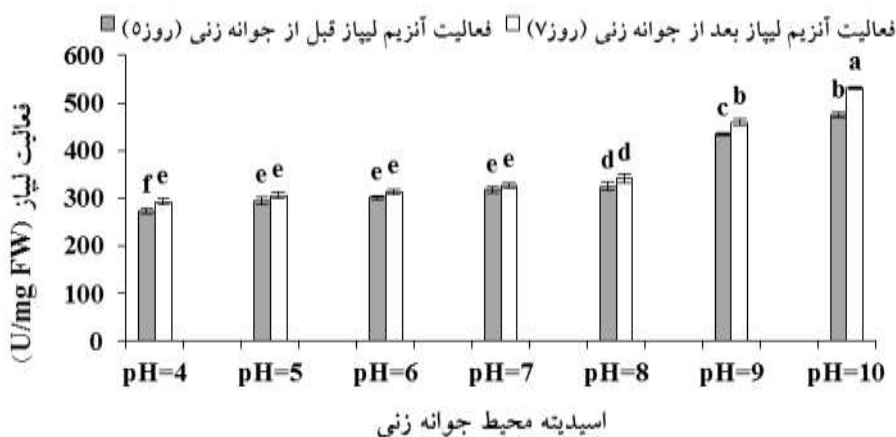
گیاهان منبع اصلی لیپید هستند و آن را به‌عنوان یکی از ذخایر با ارزش انباشته می‌کنند. به دلیل لزوم استفاده از این ذخیره، لیپاز تولید می‌کنند. لیپازها یا اسیدی‌اند یا قلیایی. در یک مطالعه بر روی بذور آفتاب‌گردان میزان لیپید در pH ۹ کمتر از pH ۷ بود. با توجه به فعالیت بیشتر لیپاز در pH‌های قلیایی و پایداری ساختار آنزیم در محدوده‌ی قلیایی، می‌توان انتظار داشت که میزان لیپید در pH ۹ و ۱۰ کمتر از سایرین باشد (Sagiroglu and Arabaci, 2005). بسیاری از مطالعات، pH بهینه برای لیپاز را ۷ الی ۹ تعیین کرده‌اند (Aryee et al., 2009; Noriega-Rodriguez et al., 2007). همچنین تحقیقی بر روی لیپاز چند گونه بذور روغنی نشان داد که فعالیت لیپاز در محدوده قلیایی بیشتر است و pH بهینه ۸ می‌باشد. لیپاز در بذرها با ذخیره لیپید کم در pH‌های قلیایی فعالیت می‌کند

برابر با ۴ و ۵ بیش از سایر pHها بود (ربانی و عزتی، ۱۳۹۳). نتایج یک بررسی در سال ۲۰۰۹ نشان‌داد فعالیت آلفاآمیلاز بذور شبدر قرمز در pH ۵ و ۶ نسبت به pH‌های قلیایی بیشتر بود، در نتیجه در pH‌های پایین میزان نشاسته کمتر از میزان آن در pH‌های قلیایی است که این نتایج مشابه نتایج تحقیق حاضر بود (Dejan et al., 2009). همچنین این نتایج مشابه الگوی تغییرات فعالیت آلفاآمیلاز در بذور یونجه و شبدر سفید بود که توسط Nanmori و Kohno (۱۹۹۱) بدست آمده است و ایشان پیشنهاد می‌کنند که الگوی تغییرات فعالیت آلفاآمیلاز ممکن است خاص گونه باشد. نتایج حاصل نشان می‌دهند که فعالیت آلفاآمیلاز یک شاخص اولیه برای پاسخ به استرس pH است و بین جوانه زنی و فعالیت آلفاآمیلاز رابطه مثبتی وجود دارد. آزمایشات فوق نشان می‌دهند pH محیط از اهمیت خاصی در جوانه‌زنی و رشد گیاه و فعالیت آنزیم‌ها دارد. بخصوص روابط معنی‌دار نشان داد که تجزیه و تحلیل فعالیت آلفاآمیلاز گام مهمی برای جوانه‌زنی در شرایط تنش pH باشد (Dejan et al., 2009). سنجش درصد لیپید بذر اسفندک در روز قبل و بعد از جوانه‌زنی حاکی از عدم تغییر محتوی لیپید بذر در pH‌های ۴ الی ۸ می‌باشد (شکل ۵) در حالیکه در pH ۹ و ۱۰ کاهش معنی‌داری در محتوی لیپید بذر مشاهده می‌شود که روند کاهش بعد از جوانه‌زنی نیز ادامه دارد.

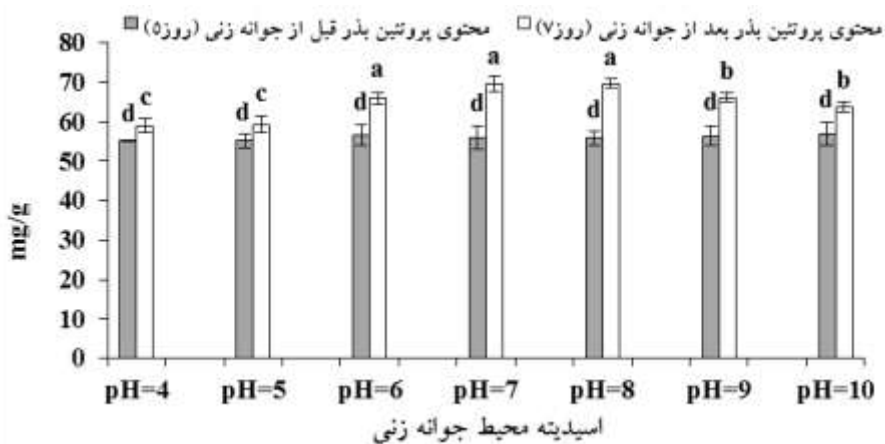
جهت بررسی علت تغییر محتوی لیپید، فعالیت آنزیم



شکل ۵- تأثیر pH بر درصد لیپید بذور اسفندک قبل و بعد از جوانه‌زنی. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن ندارند.



شکل ۶- تأثیر pH بر فعالیت آنزیم لیپاز بذور اسفندک قبل و بعد از جوانه‌زنی. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن ندارند.



شکل ۷- تأثیر pH بر محتوی پروتئین بذور اسفندک قبل و بعد از جوانه‌زنی. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن ندارند.

دخیل در رشد سلول در شرایط خنثی بهتر بوده است.

نتیجه گیری کلی

جوانه زنی بذر اسفندک متأثر از اسیدیته محیط است و احتمالاً این تأثیر بدلیل ایجاد تغییر در بهره برداری از ذخایر بذر می باشد. آنزیم لیپاز در pHهای قلیایی بیشتر فعالیت کرده و به همین خاطر میزان لیپید در این pHها بیشتر مصرف شده است. و همچنین بعد از جوانه زنی باز فعالیت لیپاز افزایش یافته و نسبت به قبل از جوانه زنی لیپید بیشتری مصرف شده است. آلفا آمیلاز در pHهای قلیایی نسبت به pHهای اسیدی فعالیت کمتری نشان داده است. به طور کلی قبل از جوانه زنی قند محلول و پروتئین بیشتر مصرف شده است و بعد از جوانه زنی بیشتر لیپید و نشاسته مورد استفاده بذر قرار گرفته است. بنظر می رسد در بذر اسفندک فعالیت آنزیم آمیلاز قبل از جوانه زنی که در محدوده pHهای ۴ الی ۸ خوب فعالیت کرده و موجب شکستن ذخایر نشاسته شده، و از این طریق موجب آغاز روند جوانه زنی شده است. در حالیکه فعالیت لیپاز و محتوای لیپید حاکی از اهمیت ذخایر لیپید در مرحله دوم (پس از جوانه زنی) در این بذر است. در مراحل پس از جوانه زنی جهت تهیه پیش سازهای رشد و نه احتمالاً تولید انرژی، لیپاز فعالیت کرده و این فعالیت در محیط قلیایی مشهودتر می باشد. همچنین شاید بتوان با کاهش اسیدیته در مراحل قبل از جوانه زنی و افزایش آن پس از خروج ریشه چه از بذر به گیاهک های قویتر و با درجه استقرار بالاتر دست یافت.

(Aryee *et al.*, 2007) ولی در بذور با لیپید زیاد در pHهای اسیدی فعالیت بهینه دارد (Gadge *et al.*, 2011). نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد احتمالاً لیپاز بذور اسفندک قلیایی است و در محدوده ی قلیایی بهتر فعالیت می کند. این یافته با درصد لیپید پایین بذر اسفندک نسبت به درصد نشاسته بالای آن قابل پذیرش است.

یکی دیگر از متابولیت های عمده بذر پروتئین می باشد که در بذر خشک اسفندک در حدود ۳/۴ درصد وزن بذر را به خود اختصاص داده است. محتوی پروتئین در روز قبل و بعد از جوانه زنی دستخوش تغییراتی می شود که در شکل ۷ نمایش داده شده است. با توجه به داده های شکل ۷ معلوم می شود مقدار پروتئین در روز قبل از جوانه زنی تقریباً ثابت است و در تیمارهای مختلف اسیدیته تغییری نشان نمی دهد ولی در روز بعد از جوانه زنی مقدار پروتئین تغییرات معنی داری را متحمل می شود. بعبارت دیگر بیشینه مقدار پروتئین در pH ۶ و ۷ و ۸ وجود دارد. کمترین مقدار پروتئین در تیمارهای با pH ۴ و ۵ وجود دارد و تیمارهای با pH ۹ و ۱۰ کمی کمتر از اسیدیته خنثی پروتئین دارند.

در یک آزمایش اثر باران اسیدی با pH ۳ و ۴ بر گندم باعث کاهش میزان پروتئین شد (Kausar and Khan, 2009). سنتز پروتئین های جدید از پیش سازهای فراهم آمده از تجزیه ذخایر بذر لازمه ادامه روند رشد و استقرار گیاهک است که در مورد بذر اسفندک بنظر می رسد در pH خنثی به بهترین شکل صورت گرفته است. هر چند که در pHهای اسیدی و یا قلیایی بذر اقدام به تجزیه ذخایر خود می نماید ولی تبدیل آنها به مواد

منابع

- اسدی، ط.، بارگاهی، ا.، نبیپور، ا.، محبی، غ.ج.، خلدبرین، ب.، مهاجرانی، س.، ابا، ع. و معتمد، ن. (۱۳۹۳) تعیین میزان روغن و درصد اسیدهای چرب موجود در گیاه شورزیست *Suaeda vermiculata* جمع آوری شده از سواحل خلیج فارس (بوشهر). دوماهنامه طب جنوب ۴: ۶۳۸-۶۴۶.
- بمانی، ش.، مهدوی، ب. و ترابی، ب. (۱۳۹۴) اثر تنش قلیائیت بر جوانه زنی بذر و رشد و ویژگی های فیزیولوژیک گیاهچه دو رقم گلرنگ *Carthamus tinctorius*. مجله پژوهشهای بذر ایران ۲: ۹۷-۱۰۸.
- ربانی، گ.، عزتی، ر. (۱۳۹۳) اثر باران اسیدی بر پاسخ های رشدی و بیوشیمیایی گیاه گندم. نشریه علوم دانشگاه خوارزمی ۱۵: ۷۰-۸۱.

- زرنندی میان‌دوآب، ل.، چاپارزاده، ن. و حاجی‌زاده، ق. (۱۳۹۵) تأثیر برهمکنش نور و دما بر جوانه‌زنی اسفندک *Zygophyllum fabago* L. نشریه مهندسی اکوسیستم بیابان ۵: ۸-۱.
- محرمی، ا.، م.، شاهدی، م. و کدیور، م. (۱۳۸۸) بررسی فعالیت آنزیم‌های آلفا‌آمیلاز، لیپاز و لیپواکسیژناز در گندم و تغییر فعالیت آنها در قبل و بعد از دوره جوانه‌زنی. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی ۴۷: ۱-۱۳.
- Alhaddad, H., Fadhil, A. A. and Ismael, S. H. (2015) Estimation of LD50 and acute toxicity of *Zygophyllum fabago* in Mice. American Journal of Pharmacological Sciences 3: 94-97.
- Aryee, A. N., Simpson, B. K. and Villalonga, R. (2007) Lipase fraction from the viscera of grey mullet (*Mugil cephalus*): Isolation, partial purification and some biochemical characteristics. Enzyme and Microbial Technology 40: 394-402.
- Black, M. and Bewley, J. D. (2000) Seed technology and its biological basis. Crc Press.
- 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.
- Chachalis, D. and Reddy, K. N. (2000) Factors affecting *Campsis radicans* seed germination and seedling emergence. Weed Science 48: 212-216.
- Chauhan, B. S., Gill, G. and Preston, C. (2006) Influence of environmental factors on seed germination and seedling emergence of Oriental mustard (*Sisymbrium orientale*). Weed Science 54: 1025-1031.
- Deska, J., Jankowski, K., Bombik, A. and Jankowska, J. (2011) Effect of growing medium pH on germination and initial development of some grassland plants. Acta Scientiarum Polonorum. Agricultura 10:45-56.
- Gadge, P. et al. (2011) Biochemical studies of lipase from germinating oil seeds (*Glycine max*). American Journal of Biochemistry and Biotechnology 7: 141-145.
- Joseph, H. and ROE, H. (1955) The determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent. Journal of Biological Chemistry 212: 335-343.
- Kausar, S. and Khan, A. (2009) Interaction of simulated acid rain and seed gall nematode *Anguina tritici* on wheat. Biology and Medicine 1: 100-106.
- Lauchli, A. and Grattan, S. (2007) Plant growth and development under salinity stress. In: Advances in Molecular Breeding Toward Drought and Salt Tolerant Crops. (eds. Jenks, M. A., Hasegawa, P. M. and Jain, S. M.) Pp. 1-32. Springer, Dordrecht.
- Lefevre, I., Correal, E. and Lutts, S. (2010) Impact of cadmium and zinc on growth and water status of *Zygophyllum fabago* in two contrasting metalicolous populations from SE Spain: comparison at whole plant and tissue level. Plant Biology 12: 883-894.
- Miransari, M. and Smith, D. (2014) Plant hormones and seed germination. Environmental and Experimental Botany 99: 110-121.
- Mostafavi, H., Vahiddost, M. and Solimanzadeh, R. (2012) Chemical composition of essential oil of *Zygophyllum fabago* L. from North-West Iran. International Journal of Herbal Medicine 2: 34-37.
- Noriega-Rodriguez, J. A., Gamez-Meza, N., Alanis-Villa, A., Medina-Juarez, L. A., Tejeda-Mansir, A., Angulo-Guerrero, O. and Garcia, H. S. (2009) Extraction and fractionation of lipolytic enzyme from viscera of Monterey sardine (*Sardinops sagax caerulea*). International Journal of Food Science and Technology 44: 1223-1228.
- Sagiroglu, A. and Arabaci, N. (2005) Sunflower seed lipase: extraction, purification, and characterization. Preparative Biochemistry and Biotechnology 35: 37-51.
- Towhid, O. K. (2014) Soil Degradation, Conservation and Remediation. Springer, New York.
- Wang, W., Yan, Z., You, S., Zhang, Y., Chen, L. and Lin, G. (2011) Mangroves: obligate or facultative halophytes? A review. Trees 25: 953-963.

Investigation of degradation process of *Zygophyllum fabago* L. seed reserves during germination under different pH

Leila Zarandi-Miandoab* and Tohid Adib -Yengeje

Department of Biology, Faculty of Basic Science, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran
(Received: 07/12/2018, Accepted: 27/04/2019)

Abstract

Zygophyllum fabago L. a facultative Perennial halophyte, is grown in arid and inert areas. Due to the different acidity of the soil in natural habitats of *Zygophyllum*, the effect of pH on the process of seed reserves decomposition during germination was examined. The experiment was conducted in a completely randomized design with seven pH levels (4, 5, 6, 7, 8, 9 and 10) and four replicates in a week. The seeds were surface sterilized by hypochlorite 1% and were placed at different pHs, 28°C and darkness. Seed biomolecules and activity of alpha-amylase and lipase enzymes were carried out in two stages before (fifth day) and after (seventh day) of germination. The results of the analysis of variance showed that the lipase enzyme was more active in alkaline pH and therefore the lipid level was lower in these pHs. Alpha-amylase has been shown to be less active at alkaline pH than acidic pH. The concentration of seed starch reserves and the content of soluble sugars was followed by alpha-amylase activity. It seems that in the *Zygophyllum* seed, the activity of the alpha-amylase enzyme before the germination was maximum in the range of 4 to 8, which caused the degradation of the starch deposits, thereby triggering the germination process. While lipase activity and lipid content indicated the importance of lipid reserves after germination. After germination, lipase can provide growth promoters (and probably no energy prognosis) for seedlings that are more considerable in alkaline environments. The highest protein content of the seeds was observed after germination and at neutral pH levels, which could indicate optimum conditions for seedling growth.

Key words: Amylase, Carbohydrate, Germination, Lipase, Lipid, pH, Protein, Starch, *Zygophyllum fabago* L.

*Corresponding author, Email: azaruniv.ac.ir @ zarandi