یافته‌های نوین در علوم زیستی
جلد ۷، شماره ۲، صفحات ۲۰۶ الی ۲۱۸ (۱۳۹۹)
انتشارات دانشگاه خوارزمی

Nova Biologica Reperta 7(2): 206-218 (2020)
Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115
https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press; DOI: 10.29252/nbr.7.2.206

# اثر ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی کمبود فسفات روی ارقام مختلف لوبیای چیتی

**ابراهیم شیرین پور[۱]، مریم نصر اصفهانی[۱] و داود بخشی[۲]**

[۱]دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران؛ [۲]دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
مسئول مکاتبات: مریم نصراصفهانی، Esfahani.m@lu.ac.ir

**چکیده**. فسفر یکی از عناصر ضروری برای رشد و تولید محصول در گیاهان است. از آنجایی که خاک‌های کشاورزی ایران غالبا آهکی و محتوی فسفات قابل دسترس در این خاک‌ها بسیار پایین است، کمبود فسفات به عنوان یک محدودکننده عمده غذایی شناخته شده است و به‌کارگیری کودهای فسفاته برای تولید محصول مناسب ضروری است. به‌علاوه، به‌کارگیری کود فسفاته باعث آلودگی منابع آبی و خاک می‌شود، بنابراین، باید استراتژی‌هایی به کار برد که استفاده از کودهای فسفاته کاهش داده شود. شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل‌تر به کمبود فسفات در خاک، یک استراتژی ارزان قیمت برای ترویج کشاورزی پایدار در خاک‌های کم حاصلخیز است. در این مطالعه، پاسخ‌های ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی پنج رقم زراعی لوبیا چیتی (تلاش، محلی خمین، صدری، کوشا و لاین Ks21191) به دو سطح واجد فسفات کافی و کمبود فسفات تحت بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که وزن تر و خشک و طول اندام‌های هوایی در ارقام لوبیای تحت شرایط کمبود فسفات به میزان قابل ملاحظه‌ای از میزان آن‌ها در شاهد پایین‌تر بود. در حالیکه طول ریشه در ارقام تحت کمبود فسفات از شاهد بیش‌تر بود. در شرایط کمبود فسفات، کم‌ترین و بیش‌ترین میزان فسفر کل به ترتیب در رقم محلی خمین و تلاش مشاهده شد. تحت شرایط کمبود فسفات، فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در ریشه و کاتالاز در برگ به میزان قابل ملاحظه‌ای افزایش نشان داد. در مجموع، رقم‌های محلی خمین و تلاش به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین تحمل به شرایط کمبود فسفات را نشان دادند.

**واژه‌های کلیدی**. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، فسفر، لوبیا، وزن تر، وزن خشک

# The morphological and biochemical effect of phosphate deficiency on different cultivars of common bean (*Phaseolus vulgaris*)

**Ebrahim Shirinpour[1], Maryam Nasr Esfahani[1] & Davoud Bakhshi[2]**

[1]Faculty of Basic Sciences, Department of Biology, Lorestan University, Khorramabad, Iran; [2]Faculty of Agriculture, Department of Horticulture, University of Guilan, Rasht, Iran
Correspondent author: Maryam Nasr Esfahani, Esfahani.m@lu.ac.ir

**Abstract**. Phosphorus is an essential nutrient for plant growth and productivity. Since agricultural soils in Iran are predominantly calcareous with very low available Pi content, Pi deficiency has been considered to be a major nutritional constraint for crop production, thus, the application of Pi-fertilizers is essential for satisfactory crop production. The application of Pi-fertilizers contaminates soil and water resources. Therefore, the application of Pi-fertilizers should be reduced through some efficient strategies. The identification of genotypes more tolerant to Pi deficiency is an important low-cost strategy to promote sustainable agriculture in low fertility soils. In this study, the morphological and biochemical responses of five cultivars of common bean (Talash, Mahali Khomein, Sadri, Kosha and Line Ks21191) were evaluated under Pi sufficiency and Pi deficiency. Under Pi-deficient conditions, fresh and dry weights and shoot length were lower while root length was higher in comparison with Pi-sufficient conditions. Under Pi-deficient conditions, the highest and lowest levels of total P were observed in Mahali Khomein and Talash, respectively. The activities of superoxide dismutase and peroxidase in root and catalase in leave showed remarkable increase under Pi-deficient conditions. In conclusion, Mahali Khomein and Talash were the most and the least Pi-deficient tolerant cultivars, respectively.

**Key words.** antioxidant enzymes, common bean, dry weight, fresh weight, phosphorus

Received 22.01.2019/ Revised 24.05.2019/ Accepted 01.06.2019/ Published 01.07.2020

دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۰۲/ اصلاح: ۱۳۹۸/۰۳/۰۳./ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۳/۱۱/ انتشار: ۱۳۹۹/۰۴/۱۱



[ Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03 ]
[ DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.4.8 ]
[ DOI: 10.52547/nbr.7.2.206 ]

[ Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03 ]
[ DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.4.8 ]
[ DOI: 10.52547/nbr.7.2.206 ]

## مقدمه

لوبیا چیتی گیاهی علفی با نام علمی *Phaseolus vulgaris* L. است که به تیره باقلائیان (Fabaceae) و زیرتیره Papilionoideae تعلق دارد. بیش از ۲۰ گونه این زیرتیره توسط انسان مصرف می‌شود که لوبیای چیتی بیش‌ترین مصرف را داراست، به‌طوری‌که براساس آمار تولید در سال ۲۰۱۲ (FAOSTAT, 2012) از نظر سطح زیر کشت در هکتار بعد از سویا در رتبه دوم قرار داشته است (Hema et al., 2014). بذر حبوبات از لحاظ پروتئین دو الی سه برابر نسبت به غلات غنی‌ترند، به‌طوری‌که لوبیای چیتی دارای لیپید، سدیم کم، بدون کلسترول، منبع خوبی از کربوهیدرات‌های نامحلول از جمله فیبر، مواد معدنی و ویتامین‌ها (تیامین، $B_6$ و فولیک اسید) است (Chekanai et al., 2018). علاوه براین، در حفاظت از کیفیت خاک به علت هم‌زیستی با باکتری‌های تیره ریزوبیوم و تثبیت نیتروژن و آزاد کردن مقدار قابل توجهی نیتروژن به خاک و متعاقب آن کاهش آلودگی برای خاک مهم است (Sathe, 2016; Babu et al., 2014).

فسفر یک عنصر ضروری برای رشد و نمو گیاهان است (Ruttenberg, 2014) که توسط عنصر دیگری جایگزین نمی‌شود (Ha & Tran, 2013). جذب این عنصر توسط گیاهان در حالت کاملا اکسیداسیون آن صورت می‌گیرد (فسفات دی هیدروژن ($H_2PO_4^-$) و فسفات مونوهیدروژن ($HPO_4^{2-}$)). اگرچه در خاک با pH=۷/۲ مقادیر مشابهی از $H_2PO_4^-$ و $HPO_4^{2-}$ وجود دارد ولی جذب $H_2PO_4^-$ بسیار سریعتر از جذب $HPO_4^{2-}$ است (Gaxiola et al., 2011; Tran et al., 2010). فسفات برای رشد و نمو و تولید مثل گیاهان ضروری است، به دلیل این که این عنصر در فرایندهای مختلف سلولی نظیر متابولیسم انرژی (ATP و NADPH)، آبشار پیام رسانی (از طریق فسفریله کردن و دفسفریله کردن پروتئین‌ها)، فعال‌سازی و غیر فعال‌سازی آنزیم‌ها، سنتز اسیدهای نوکلئیک، فتوسنتز، گلیکولیز، تنفس، غشاءسازی (فسفولیپیدها)، واکنش‌های اکسیداسیون و احیا، متابولیسم کربوهیدرات (قندهای فسفاته) و تثبیت نیتروژن دخالت دارد (Niu et al., 2013; Yang & Finnegan, 2010; Peret et al., 2011; Tran et al., 2010; Malhotra et al., 2018). از میان عوامل تنش‌زا، کمبود فسفات به شدت رشد گیاه و میزان تولید محصول را محدود می‌کند، به ویژه در حبوبات، که دسترسی پایین به فسفات عمل‌کرد گیاهان و باکتری‌های هم‌زیست با آن‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد که این امر ممکن است اثرات مخربی بر تشکیل، توسعه و عمل‌کرد گرهک‌ها و متعاقب آن محدودیت‌های عمده بر تثبیت زیستی نیتروژن داشته باشد، زیرا فرایند تثبیت بیولوژیکی نیتروژن به مقادیر زیادی انرژی نیاز دارد (Nasr Esfahani et al., 2016; Alikhani et al., 2006). فسفر حدود ۰/۲ درصد وزن خشک گیاهی را تشکیل می‌دهد (Aziz et al., 2014) و با وجود فراوانی فسفر در خاک، میزان فسفر قابل دسترس برای گیاه در خاک کم‌تر از ۰/۱ درصد کل فسفر موجود در خاک است (غلظت فسفات محلول در بسیاری از خاک‌ها در حدود ۱ تا ۱۰ میکرومولار است که بسیار پایین‌تر از غلظت‌های درون‌سلولی فسفات (۵ تا ۲۰ میلی‌مولار) برای رشد بهینه است (Tran et al., 2010). به این ترتیب تقریبا ۷۰ درصد از زمین‌های کشت شده جهان که شامل خاک‌های اسیدی و قلیایی هستند، از کمبود فسفر رنج می‌برند (Wittenmayer & Merbach, 2005). قابلیت دسترسی پایین گیاهان به فسفات می‌تواند به این دلیل باشد که بیش از ۷۵ درصد فسفر موجود در خاک‌های آهکی با یون کلسیم و در خاک‌های اسیدی با یون‌های آهن و آلومینیم رسوب می‌دهند و نیز بخش عمده این عنصر به صورت فسفر آلی در خاک یافت می‌شود (Alikhani et al., 2006). به هر حال استفاده از کودهای فسفاته به ویژه در کشورهای در حال توسعه بسیار گران است و نیز این کودها به راحتی توسط آبیاری و بارندگی شسته شده و باعث آلودگی آب‌های زیرزمینی می‌شوند (Lopez-Arredondo et al., 2014; Hammond et al., 2004; Fita et al., 2012; del Socorro Sanchez-Correa & Valdes-Lopez, 2017).

در ایران خاک‌های کشاورزی عمدتا آهکی، دارای pH بالا و مقدار کم فسفر قابل دسترس برای گیاه هستند (Alikhani et al., 2006). مصرف سالانه کودهای فسفاته در دنیا بیش از ۳۹ میلیون تن است که بعد از نیتروژن در رتبه دوم قرار دارد. در ایران مصرف سالانه کود فسفاته ۸۰۰۰۰۰ تن است که ۸۰ درصد آن در خاک بصورت اشکال غیر قابل دسترس تثبیت می‌شود. بنابراین انتخاب و شناسایی ژنوتیپ‌هایی که فسفات را با حداکثر کارایی جذب و استفاده می‌کنند، می‌تواند بسیار مهم باشد (Sepehr et al., 2009). پاسخ‌های گیاهان به کمبود فسفات شامل مجموعه‌ای از سازگاری‌های ریخت‌شناسی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی/متابولیکی است (Ha & Tran, 2013). تغییر در لیپیدهای غشایی، فرایندی است که بخش مهمی از فسفولیپیدهای غشایی با گالاکتولیپیدهای فاقد فسفات جایگزین می‌شود که احتمالا جهت استفاده از فسفولیپیدها به عنوان ذخایر داخلی فسفات است. نه تنها لیپیدهای غشایی، بلکه اجزای دیواره سلولی نیز می‌توانند تحت شرایط کمبود فسفات تغییر کنند، با این وجود نقش آن‌ها در تحمل فسفات کم‌تر شناخته

شده است (Fita et al., 2012; Maejima et al., 2014; Ha & Tran, 2013). از آنجا که ۵۰ تا ۸۰ درصد کل فسفات در خاک به شکل فسفات آلی وجود دارد، بنابراین، فرض شده که اسید فسفاتاز-ها (APases) با تجزیه فسفات آلی نقش مهمی در جذب فسفات توسط ریشه گیاهان دارند (Liang et al., 2012). علاوه بر این، فسفوانول پیروات کربوکسیلاز (PEPC)، همراه با مالات دی هیدروژناز وابسته به NAD و مالیک آنزیم وابسته به NAD(P) (تبدیل مالات به پیروات بدون مصرف فسفات)، می‌تواند یک مسیر جانبی گلیکولیزی جایگزین مناسب برای پیرووات کیناز سیتوزولی وابسته به ADP را برای تسهیل عرضه مداوم پیروات برای چرخه تری کربوکسیلیک اسید فراهم کند. همزمان PEPC، فسفات متصل به PEP را آزاد می‌کند تا مورد استفاده قرار گیرد (Hammond et al., 2004; Plaxton & Tran, 2011).

تنش کمبود فسفات همانند سایر کمبودها در گیاهان منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شود که تولید آن باعث آسیب به مولکول‌ها و سرانجام مرگ گیاه می‌شود. برای رفع موثر ROS و حفاظت سلول‌ها از آسیب‌های اکسیداتیو، گیاهان هم دارای دفاع آنزیمی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گایاکول‌پراکسیداز (GPX)، آسکوربات‌پراکسیداز (APX)، گلوتاتیون‌پراکسیداز (GPX) و گلوتاتیون‌ردوکتاز (GR) و هم دفاع غیر آنزیمی مانند اسید آسکوربیک، گلوتاتیون، سیستئین، پرولین، توکوفرول، کاروتنوئیدها و فلاوونوئیدها هستند که به عنوان جاروب کننده‌های رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند و موجب بهبود رشد و تولید محصول می‌شوند (Yousuf et al., 2012; Gao et al., 2009; Bargaz et al, 2013; Avila et al., 2013). با توجه به محدودیت فسفر در خاک‌ها از جمله کشور ایران و معضلات استفاده از کودهای شیمیایی و صرفه‌جویی در مصرف این نوع کودها و اهمیت لوبیای چیتی در سبد کالاهای مصرفی خانوارها و به عنوان یکی از محصولات مهم زراعی صادراتی در این بررسی سعی شد که به شناسایی ارقام متحمل یا مقاوم به کمبود فسفات پرداخته شود که خود زمینه‌ساز توسعه سیستم‌های کشاورزی و گیاهی برای تولید و بهره‌وری بیش‌تر است.

## مواد و روش‌ها

### مواد گیاهی، شرایط رشد و تیمارها

در این آزمایش تأثیر کمبود فسفات روی رشد گیاهچه‌های پنج رقم زراعی لوبیا چیتی به نام‌های تلاش، محلی خمین، صدری، کوشا و لاین Ks21191 تحت بررسی قرار گرفت. بذرهای این ارقام جهت جوانه‌زنی استریل سطحی (توسط هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت ۱۰ دقیقه) شدند و گیاهان در شرایط گلخانه در ظروف حاوی پرلیت با فتوپریود ۱۵ ساعت روشنایی و حرارت کنترل شده (۱۸ درجه سانتی‌گراد شب - ۲۷ درجه سانتی‌گراد روز) نگه داشته شدند. گلدان‌ها یک روز در میان با محلول تقویت‌شده نیم هوگلند (Kchaou et al., 2010) آبیاری شدند. ترکیب محلول غذایی مورد استفاده شامل عناصر Ca(NO3).4H2O (2.5mM)، MgSO4 (1mM)، KNO3 (2.5mM)، H3BO3 (23.1 µM)، MnSO4 (4.6 µM)، Na2MoO4 (0.06 µM)، ZnSO4 (1.2 µM)، CuSO4 (0.19 µM) و Na-EDTA/FeSO4.7H2O (45 µM) بود. برای ارقام تحت تنش کمبود فسفات و فسفات کافی (شاهد) محلول غذایی به ترتیب دارای ۵ و ۵۰۰ میکرومولار $KH_2PO_4$ بود. بعد از سه هفته تیمار کمبود فسفات، از هر رقم سه تکرار جهت بررسی‌های ریخت‌شناسی شامل وزن تر، وزن خشک، طول اندام‌های هوایی و زیرزمینی و اندازه‌گیری میزان فسفر و نیتروژن برداشت شدند. همچنین سه تکرار از ریشه‌ها و برگ‌ها جهت تعیین فعالیت آنزیمی به سرعت در نیتروژن مایع منجمد و در فریزر۷۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده برای اندازه‌گیری‌ها منتقل شدند. جهت تعیین وزن خشک، نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند و برای اندازه‌گیری میزان فسفر کل و نیتروژن کل به صورت پودر در آمدند.

### تعیین میزان فسفر و نیتروژن کل

۰/۳ گرم از نمونه‌های پودر شده توسط ۳/۵ میلی‌لیتر مخلوط اسیدها (Digestion mixture) که شامل ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ (۹۶ درصد)، که به آرامی به ۱۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و سپس ۳ گرم پودر سالیسیلیک اسید نیز به آن افزودیم، به مدت ۲۴ ساعت در بالن ژوژه ۵۰ میلی‌لیتر مورد هضم‌تر قرار گرفتند. سپس به مدت یک ساعت در Hot plate، ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده و به دنبال خنک‌سازی به آن ۲ میلی‌لیتر آب اکسیژنه اضافه و دوباره گرم شد و این چرخه خنک‌سازی و افزودن آب اکسیژنه و حرارت رو آنقدر ادامه می‌دهیم که عصاره حاصل کاملاً بی‌رنگ و زلال شود. از این عصاره برای سنجش فسفر و نیتروژن استفاده شد. اندازه‌گیری ازت کل به روش تیتراسیون بعد از تقطیر با استفاده از دستگاه (KEJELTEC AUTO 1030 Analyzer, Tecator, Sweden) صورت گرفت (Emami Akefeh, 1996).

میزان فسفر کل به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری فسفر ۵ میلی‌لیتر عصاره حاصل از هضم‌تر را در در بالن ژوژه ۲۵ میلی‌لیتری ریخته و به آن ۵ میلی‌لیتر محلول آمونیوم مولیبدات وانادات (طرز تهیه: ۲۲/۵ گرم آمونیوم



[ Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03 ]
[ DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.4.8 ]
[ DOI: 10.52547/nbr.7.2.206 ]

هپتامولیبدات را در ۴۰۰ میلی‌لیتر آب گرم حل کرده و ۱/۲۵ گرم وانادات را نیز در ۲۰۰ میلی‌لیتر آب ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حل کردیم. سپس این دو محلول را به هم اضافه کرده، بعد از خنک شدن ۲۵۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک (۶۵ درصد) به آن اضافه و با آب مقطر به حجم یک لیتر رسانده و در ظروف تاریک نگه‌داری شد) اضافه کرده و حجم آن را با آب مقطر به ۲۵ میلی‌لیتر رساندیم. میزان جذب بعد از یک ساعت در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانش شد. از رابطه زیر نیز برای محاسبه درصد میزان فسفر استفاده شد (Emami Akefeh, 1996):

$$a-b\times\frac{V}{2000W}\times\frac{100}{D.M}$$

a = غلظت فسفر در نمونه بر حسب میلی‌گرم در لیتر، b = غلظت فسفر در شاهد بر حسب میلی‌گرم در لیتر، V = حجم نهایی عصاره در مرحله هضم بر حسب میلی‌لیتر، W = وزن نمونه خشک گیاه بر حسب گرم، D.M = درصد ماده خشک گیاه

**استخراج و سنجش فعالیت های آنزیمی**

۲۰۰ میلی گرم از پودر برگ‌ها و ریشه‌های حاصل در نیتروژن مایع را با افزودن ۱/۵ میلی‌لیتر از بافر استخراج که شامل بافرفسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7)، اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (EDTA) ۱ میلی‌مولار، گلیسرول ۱۰ درصد، ۲- مرکاپتواتانول ۱۰ میلی‌مولار و پلی وینیل پلی پیرولیدون (PVPP) ۱/۵ درصد بود، به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در دور RPM ۱۴۰۰۰ سانتریفیوژ کرده و از محلول برای تعیین فعالیت‌های آنزیمی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV/VIS مدل T80 ( PG Instrument, UK) استفاده شد.

**فعالیت SOD**

با اندازه‌گیری توانایی‌اش در مهار احیای فتوشیمیایی (شکل‌گیری فورمازان بنفش) نیتروبلوتترازولیوم تعیین شد (Giannopolitis & Ries, 1977). سنجش فعالیت آنزیم با ۰/۵ میلی‌لیتر حجم کل شامل بافرفسفات ۵۰ میلی‌مولار (PH=7)، متیونین ۱۳ میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، ریبوفلاوین ۲ میکرومولار، نیترو بلو تترازولیوم (۷۵ میکرومولار) و ۱۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی است. نمونه‌های تحت آزمایش به مدت ۱۵ دقیقه در فاصله ۳۰ سانتی‌متری از منبع نور در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد شیکر شدند، دو نمونه یکی به نام بلانک و دیگری به نام کنترل که هر دو فاقد عصاره آنزیمی بودند نیز همراه سایر نمونه‌ها تهیه شد، شاهد نیز همراه نمونه‌ها در معرض نور و بلانک در تاریکی نگه‌داری شد. یک واحد SOD به درصدی از حجم عصاره گفته می‌شود که باعث مهار ۵۰ درصد نیترو بلو تترازولیوم به فورمازان می‌شود. سپس جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانش شد.

**فعالیت CAT**

اندازه گیری فعالیت آنزیم CAT به شیوه اسپکتروفتومتری مطابق با روش Aebi (1984) در طول موج ۲۴۰ نانومتر و با ضریب خاموشی ۰/۰۳۹۴ $cm^{-1}\mu mol^{-1}$ انجام شد. سنجش فعالیت آنزیم با حجم کل ۰/۵ میلی‌لیتر شامل بافرفسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7)، آب‌اکسیژنه ۲۰ میلی‌مولار و ۱۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی انجام شد. کاهش جذب به علت تجزیه آب اکسیژنه به آب و اکسیژن است، به‌طوری‌که فعالیت هر واحد کاتالاز مقداری از آنزیمی است که ۱ میکرومولار آب‌اکسیژنه را در دقیقه و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به آب و اکسیژن تبدیل می‌کند. سپس فعالیت آنزیم به صورت تغییرات جذب در دقیقه به ازای هر گرم وزن تر در دقیقه ( mM $min^{-1}$ $gFW^{-1}$) بیان شد.

**فعالیت POD**

اندازه گیری فعالیت آنزیم POD در طول موج ۴۷۰ نانومتر و با ضریب خاموشی ۲۶/۶ $cm^{-1}mM^{-1}$ انجام شد ( Chance & Maehly,1955). سنجش فعالیت آنزیم با حجم کل ۰/۵ میلی‌لیتر شامل بافرفسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7)، آب‌اکسیژنه ۱۲/۳ میلی‌مولار، گایاکول ۲۰ میلی‌مولار و ۱۵-۱۰ میکرولیتر عصاره برای برگ و ۵ میکرولیتر برای ریشه انجام شد. افزایش جذب به وسیله تشکیل تتراگایاکول (محصول اکسید شده) در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۱ دقیقه ثبت شد. سپس فعالیت آنزیم به صورت تغییرات جذب در دقیقه به ازای هر گرم وزن تر در دقیقه ($\mu mol\ min^{-1}\ gFW^{-1}$) بیان شد.

**تحلیل آماری**

تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط برنامه آماری SPSS نسخه ۱۹ صورت گرفت و تفاوت بین تیمار (کمبود فسفات) و شاهد (فسفات کافی) بر اساس آزمون دانکن در سطح $p\leq0.05$ انجام شد. رسم نمودارها نیز با کمک نرم افزار Excel انجام شد.

## نتایج

**تأثیر کمبود فسفات بر شاخص‌های رشدی رقم‌های لوبیا**

براساس نتایج مربوط به اندازه‌گیری طول اندام هوایی در ارقام لوبیای رشد یافته تحت شرایط فسفات کافی، بیش‌ترین و کم‌ترین طول اندام هوایی به ترتیب در رقم‌های صدری و تلاش مشاهده شد (شکل ۱ A). طول اندام هوایی در همه ارقام لوبیای تحت تنش کمبود فسفات در مقایسه با ارقام تحت فسفات کافی کاهش معنی‌داری داشتند، به‌طوری‌که بیش‌ترین درصد کاهش طول اندام هوایی در رقم کوشا (۷۹ درصد) و کم‌ترین درصد



[ Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03 ]
[ DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.4.8 ]
[ DOI: 10.52547/nbr.7.2.206 ]

کاهش در رقم محلی خمین (۷۰ درصد) مشاهده شد (شکل ۱ A). نتایج مربوط به اندازه‌گیری طول ریشه نشان داد که طول ریشه در پنج رقم لوبیای رشد یافته تحت شرایط فسفات کافی تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (شکل ۱ B). در ارقام تحت تنش کمبود فسفات، طول ریشه در دو رقم محلی خمین و تلاش به ترتیب ۲۲/۸ و ۲۵/۴ درصد افزایش معنی‌دار را در مقایسه با ارقام مربوطه رشد یافته تحت فسفات کافی نشان دادند (شکل ۱ B). نتایج مربوط به وزن تر اندام هوایی نشان داد که بین رقم‌های مختلف شاهد (فسفات کافی) تنها رقم محلی خمین نسبت به رقم کوشا تفاوت معنی‌دار داشت، به‌طوری‌که بیش‌ترین وزن تر شامل ارقام کوشا و صدری و کم‌ترین آن مربوط به رقم محلی خمین بود (شکل ۱ C). وزن تر اندام هوایی تمامی ارقام لوبیای رشد یافته تحت تنش کمبود فسفات، کاهش معنی‌داری را نسبت به ارقام شاهد نشان داد، به‌طوری‌که وزن تر هوایی در رقم تلاش بیش‌ترین درصد کاهش (۷۱/۳۸ درصد) و در رقم محلی خمین کم‌ترین درصد کاهش (۵۶/۷۲ درصد) را نشان داد (شکل ۱ C).

مقایسه وزن تر ریشه در ارقام لوبیای رشد یافته تحت فسفات کافی نشان داد که در این مورد، رقم تلاش بیش‌ترین و رقم محلی خمین کم‌ترین وزن‌تر را داشت (شکل ۱ D). وزن تر ریشه همه ارقامی که با کمبود فسفات مواجه بودند، در مقایسه با ارقام شاهد کاهش معنی‌داری داشتند، به‌طوری‌که بیش‌ترین درصد کاهش وزن تر ریشه مربوط به رقم کوشا (۴۳ درصد) و کم‌ترین کاهش در رقم محلی خمین (۲۷/۷ درصد) بود (شکل ۱ D). مقایسه وزن خشک اندام هوایی در ارقام لوبیای رشد یافته تحت فسفات کافی نشان داد که ارقام تلاش و محلی خمین نسبت به ارقام شاهد کوشا و صدری وزن خشک اندام هوایی بالاتری داشتند، به‌طوری‌که در این مورد بیش‌ترین وزن خشک مربوط به ارقام صدری و کوشا و کم‌ترین مربوط به ارقام تلاش و محلی خمین بود (شکل ۱ E). همه ارقام تحت تنش کمبود فسفات کاهش وزن خشک هوایی معنی‌داری را در مقایسه با ارقام مربوطه دارای فسفات کافی داشتند. بیش‌ترین درصد کاهش وزن خشک اندام هوایی در رقم تلاش (۶۲/۸ درصد) و کم‌ترین کاهش مربوط به رقم محلی خمین (۴۵/۵ درصد) بود (شکل ۱ E). نتایج مقایسه میانگین وزن خشک ریشه در ارقام رشد یافته تحت شرایط فسفات کافی نشان داد که وزن خشک ریشه در رقم محلی خمین نسبت به سه رقم کوشا، تلاش و صدری به میزان معنی‌داری پایین‌تر بود (شکل ۱ F). بیش‌ترین و کم‌ترین وزن خشک ریشه در بین ارقام تحت فسفات کافی به ترتیب در رقم‌های تلاش و محلی خمین مشاهده شد (شکل ۱ F). وزن خشک ریشه در همه ارقام تحت تنش کمبود فسفات نسبت به ارقام شاهد مربوطه کاهش معنی‌داری داشتند، به‌طوری‌که بیش‌ترین درصد کاهش وزن خشک ریشه در رقم تلاش (۴۴ درصد) و کم‌ترین کاهش در رقم محلی خمین (۲۸/۵ درصد) مشاهده شد (شکل ۱ F).

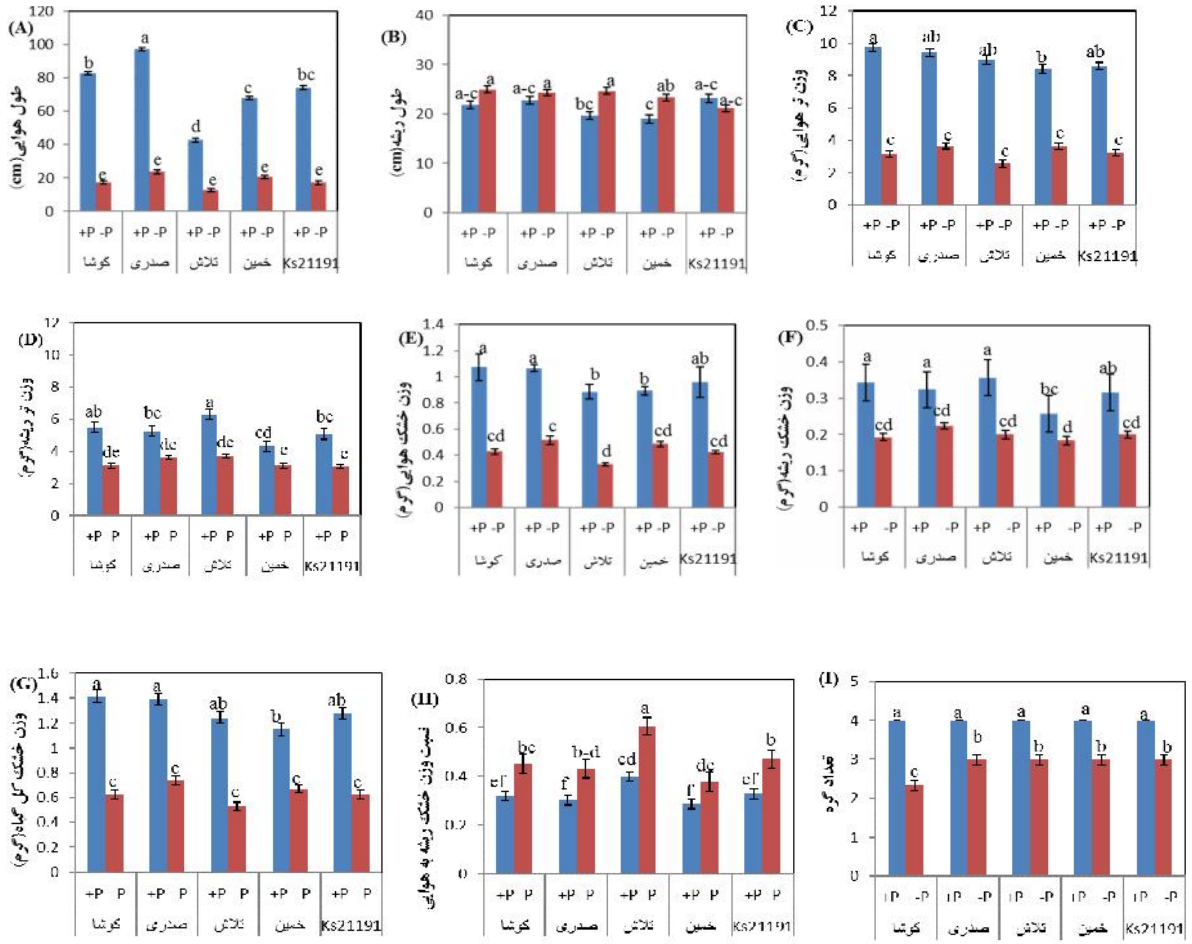
نتایج مقایسه میانگین وزن خشک کل گیاه در شکل ۱ G نشان داد که تحت شرایط فسفات کافی، بیش‌ترین وزن خشک کل مربوط به ارقام کوشا و صدری و کم‌ترین آن در رقم محلی خمین مشاهده شد. در ارقام لوبیای تحت مطالعه، وزن خشک کل گیاه در شرایط کمبود فسفات به میزان معنی‌داری در مقایسه با وزن خشک کل گیاه در شرایط فسفات کافی کاهش نشان داد (شکل ۱ G). بیش‌ترین درصد کاهش وزن خشک کل مربوط به رقم تلاش (۷۱/۷ درصد) و کم‌ترین کاهش مربوط به رقم محلی خمین (۴۱/۷ درصد) بود (شکل ۱ G). نتایج مربوط به نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک اندام هوایی نشان داد که بین ارقام رشد یافته تحت شرایط فسفات کافی، رقم تلاش بالاترین میزان را در مقایسه با سایر ارقام داشت (شکل ۱ H). نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک اندام هوایی در همه ارقام تحت تنش کمبود فسفات افزایش معنی‌داری در مقایسه با ارقام شاهد مربوطه داشتند (شکل ۱ H). بیش‌ترین درصد افزایش نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک اندام هوایی مربوط به رقم تلاش (۵۱ درصد) و کم‌ترین افزایش در رقم محلی خمین (۳۱/۷ درصد) مشاهده شد (شکل ۱ H). تعداد میان گره‌ها در ارقام لوبیا رشد یافته تحت شرایط فسفات کافی تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند (شکل ۱ I). تعداد میان گره‌ها در همه ارقام لوبیای تحت مطالعه تحت تیمار کمبود فسفات کاهش معنی‌داری را نسبت به ارقام شاهد مربوطه نشان دادند. کم‌ترین تعداد گره در بین ارقام تحت کمبود فسفات در رقم کوشا مشاهده شد (شکل ۱ I).

**تأثیر کمبود فسفات بر میزان فسفر و نیتروژن کل در ارقام لوبیا**

نتایج مقایسه میانگین درصد نیتروژن کل در شکل ۲ A نشان داد که در بین ارقام رشد یافته تحت فسفر کافی فقط در رقم Ks21191 میزان نیتروژن کل نسبت به سایر ارقام پایین‌تر بود. مقایسه درصد نیتروژن کل بین ارقام رشد یافته در شرایط کمبود فسفات با ارقام رشد یافته تحت شرایط فسفات کافی نشان داد که درصد نیتروژن کل در دو رقم تلاش و Ks21191 افزایش معنی‌دار نسبت به شاهد مربوطه داشت و میزان آن در سایر ارقام تحت کمبود فسفات تفاوت معنی‌داری را با شاهد مربوطه نشان نداد (شکل۲ A). نتایج درصد فسفر کل نشان داد که بین ارقام رشد یافته تحت شرایط فسفات کافی فقط رقم محلی خمین در مقایسه با سایر ارقام تحت مطالعه کم‌ترین میزان فسفر را داشت (شکل ۲ B). در همه ارقام لوبیای تحت تنش کمبود فسفات،



[ Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03 ]
[ DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.4.8 ]
[ DOI: 10.52547/nbr.7.2.206 ]




**شکل ۱**- تعیین و اندازه‌گیری برخی شاخص‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی در پنج رقم زراعی مختلف لوبیای چیتی رویش یافته در یک دوره سه هفته‌ای بعد از جوانه‌زنی تحت شرایط کمبود فسفر (P-) و دارای فسفر(P+). **A.** طول اندام هوایی برحسب سانتی‌متر. **B.** طول ریشه برحسب سانتی‌متر. **C.** وزن تر بخش هوایی بر حسب گرم. **D.** وزن تر ریشه بر حسب گرم. **E.** وزن خشک هوایی برحسب گرم. **F.** وزن خشک ریشه برحسب گرم. **G.** وزن خشک کل گیاه. **H.** نسبت وزن خشک ریشه به هوایی. **I.** تعداد گره. آنالیز آماری بر اساس آزمون دانکن در سطح $P\leq0.05$ توسط برنامه آماری SPSS 19 صورت گرفت. رسم نمودارها نیز با کمک نرم افزار Excel انجام شد. (حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار و حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها در سطح $p\leq0.05$ ، $X \pm SE$ است).

**Fig**. **1**. Measurement and determination of some morphological and physiological indices in five different cultivars of common bean grown in a three-week period after sowing under phosphorus deficiency(-P) and sufficient phosphorus(+P) conditions. **A.** Length of shoot in cm. **B.** Root length in cm. **C.** Fresh weight shoot in grams. **D.** Root fresh weight in grams. **E.** Weight dry shoot in grams. **F.** Root dry weight in grams. **G.** Dry weight of whole plant. **H.** root to shoot dry weight ratio and **I.** Number of nodes. Statistical analysis was performed on the Duncan's test at the level of $P\leq0.05$ by SPSS 19. Drawings of charts were done using Excel software. (The same letters indicate no significant difference, and non-identical letters indicate a significant difference between the mean values at the level of $p\leq0.05$, $X \pm SE$).

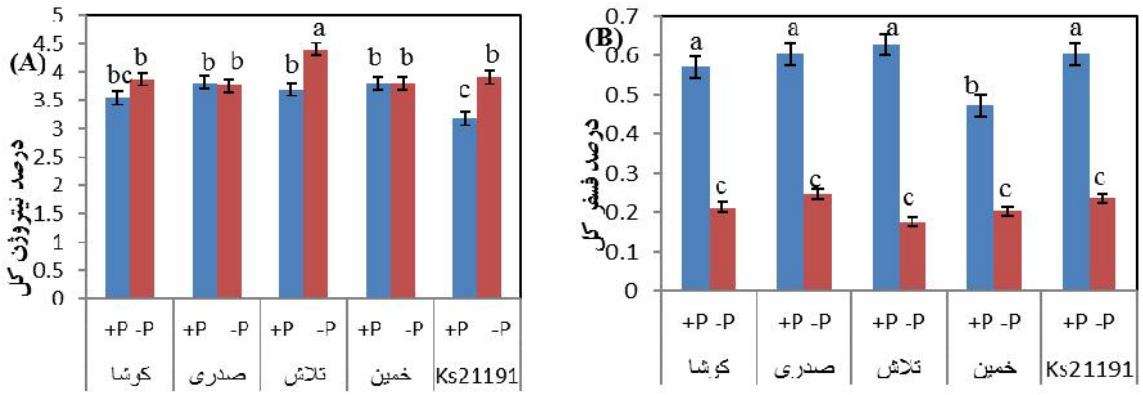
میزان فسفر کل گیاه کاهش معنی‌داری نسبت به ارقام شاهد مربوطه داشت، به‌طوری‌که بیش‌ترین درصد کاهش فسفر در رقم تلاش (۷۱/۸ درصد) و کم‌ترین کاهش در رقم تیمار محلی خمین (۵۷ درصد) مشاهده شد (شکل ۲ B).

**تأثیر کمبود فسفات روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ارقام لوبیا**

بررسی نتایج مقایسه میانگین فعالیت CAT برگ در ارقام رشد یافته تحت فسفات کافی نشان داد که فعالیت این آنزیم فقط در رقم تلاش نسبت به سایر ارقام به میزان معنی‌داری پایین بود (شکل۳ A).



[ Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03 ]
[ DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.4.8 ]
[ DOI: 10.52547/nbr.7.2.206 ]




**شکل ۲**- اندازه‌گیری نیتروژن کل و فسفر کل در پنج رقم زراعی مختلف لوبیای چیتی رویش یافته در یک دوره سه هفته‌ای بعد از جوانه‌زنی تحت شرایط کمبود فسفر (P-) و دارای فسفر(P+). **A.** درصد نیتروژن کل. **B.** درصد فسفر کل. آنالیز آماری بر اساس آزمون دانکن در سطح $P\leq0.05$ توسط برنامه آماری SPSS 19 صورت گرفت. رسم نمودارها نیز با کمک نرم افزار Excel انجام شد. (حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار و حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها در سطح $P\leq0.05$ ، $X\pm SE$ است).

**Fig. 2**. Measurement of total N and total P in five different cultivars of Common bean grown in a three-week period after sowing under phosphorus deficiency (-P) and sufficient phosphorus (+P) conditions. **A.** Percentage of total N. **B.** Percentage of total P. Statistical analysis was performed on the Duncan's test at the level of $P\leq0.05$ by SPSS 19. Drawings of charts were done using Excel software. (The same letters indicate no significant difference, and non-identical letters indicate a significant difference between the mean values at the level of $P\leq0.05$, $X \pm SE$).

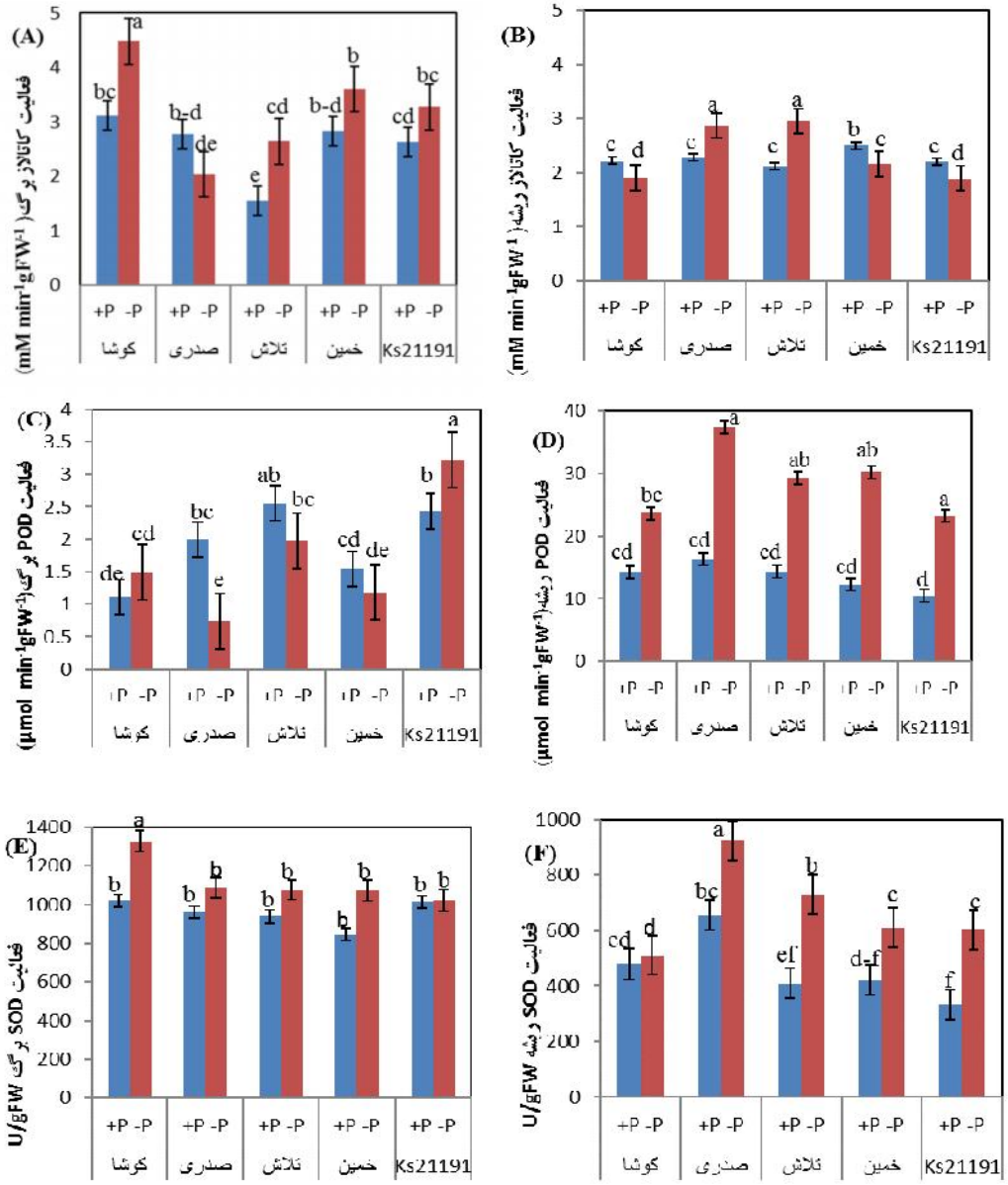
بررسی فعالیت این آنزیم در بین ارقام تحت تنش کمبود فسفات نشان داد که فعالیت این آنزیم در دو رقم تلاش و کوشا نسبت به ارقام شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد. تحت شرایط کمبود فسفات، بیش‌ترین درصد افزایش فعالیت آنزیم مربوط به رقم تلاش (۷۰/۵ درصد) و کم‌ترین درصد افزایش در رقم Ks21191 (۲۴/۵ درصد) بود (شکل ۳ A). نتایج مربوط به اندازه‌گیری CAT در ریشه مشخص کرد که بین ارقام رشد یافته تحت فسفات کافی، رقم محلی خمین بیش‌ترین فعالیت آنزیم را نسبت به سایر ارقام داشت (شکل ۳ B). مقایسه فعالیت آنزیم CAT در ارقام تحت تنش کمبود فسفات نسبت به ارقام تحت شرایط فسفات کافی، افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم را در دو رقم تلاش (۳۹/۵ درصد) و صدری (۲۶/۲۵ درصد) نشان داد. بیش‌ترین درصد کاهش فعالیت CAT ریشه نیز مربوط به ارقام Ks21191 و کوشا (به ترتیب ۱۴/۳۶ درصد و ۱۴/۳ درصد) دیده شد (شکل ۳ B).

نتایج مربوط به فعالیت POD برگ در بین ارقام رشد یافته تحت شرایط فسفات کافی نشان داد که رقم تلاش بیش‌ترین و کوشا کم‌ترین فعالیت را داشت. ارقام شاهد تلاش و Ks21191 تفاوت معنی‌دار نسبت به ارقام شاهد کوشا و محلی خمین داشتند و رقم شاهد کوشا نیز تفاوت معنی‌داری نسبت به سه رقم دیگر شاهد (تلاش، صدری و Ks21191) داشت (شکل ۳ C). در مقایسه بین ارقام تیمار با شاهد فقط رقم تیمار Ks21191 افزایش معنی‌دار (۳۲/۲ درصد افزایش) از خود نشان داد. کم‌ترین درصد کاهش فعالیت این آنزیم مربوط به رقم صدری با ۶۲/۷ درصد بود (شکل ۳ C). نتایج مقایسه میانگین فعالیت POD ریشه که در شکل ۳ D آورده شده، دلالت بر نداشتن تفاوت معنی‌دار بین پنج رقم شاهد بود، به طوری که در این مورد بیش‌ترین فعالیت در رقم شاهد صدری و کم‌ترین مربوط به رقم شاهد Ks21191 دیده شد. فعالیت این آنزیم در همه ارقام تحت تنش کمبود فسفات (بجز رقم کوشا) نسبت به ارقام شاهد افزایش معنی‌دار داشت، به طوری که بیش‌ترین درصد افزایش فعالیت در رقم محلی خمین (۱۴۶/۵ درصد افزایش) و کم‌ترین آن در رقم کوشا (۶۶/۴ درصد افزایش) مشاهده شد (شکل ۳ D).

نتایج مقایسه میانگین فعالیت SOD برگ در شکل ۳ E نشان داد که در بین ارقام شاهد، رقم Ks21191 بیش‌ترین و محلی خمین کم‌ترین فعالیت را دارند و هیچ‌کدام از ارقام شاهد با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند. بین ارقام رشد یافته تحت تنش کمبود فسفات فقط رقم کوشا (۳۰/۶ درصد) در مقایسه با ارقام شاهد افزایش معنی‌داری داشت. کم‌ترین درصد افزایش فعالیت نیز مربوط به رقم تیمار Ks21191 (۰/۷ درصد) بود (شکل ۳ E). نتایج مربوط به فعالیت SOD ریشه در شکل ۳ F نشان داده شده است. مقایسه بین ارقام شاهد نشان دهنده تفاوت معنی‌دار رقم صدری نسبت به چهار رقم دیگر (کوشا، تلاش، محلی



[ Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03 ]
[ DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.4.8 ]
[ DOI: 10.52547/nbr.7.2.206 ]




**شکل ۳**- فعالیت سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، پراکسیداز(POD) و کاتالاز(CAT) دردو بخش ریشه و برگ پنج رقم زراعی مختلف لوبیای چیتی رویش یافته در یک دوره سه هفته‌ای بعد از جوانه‌زنی تحت شرایط کمبود فسفر (P-) و دارای فسفر(P+). **A.** فعالیت کاتالاز(CAT) برگ. **B.** فعالیت کاتالاز(CAT) ریشه. **C.** فعالیت پراکسیداز(POD) برگ. **D.** فعالیت پراکسیداز(POD) ریشه. **E.** فعالیت سوپراکسید دیسموتاز(SOD) برگ. **F.** فعالیت سوپراکسید دیسموتاز(SOD) ریشه. آنالیز آماری بر اساس آزمون دانکن در سطح $P\leq0.05$ توسط برنامه آماری SPSS 19 صورت گرفت. رسم نمودارها نیز با کمک نرم افزار Excel انجام شد. (حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار و حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها در سطح $P\leq0.05$ ، X ± SE می‌باشد).

**Fig. 3.** Activity of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) in two parts of roots and leaves of five different cultivars of Common bean grown in a three-week period after sowing under phosphorus deficiency(-P) and sufficient phosphorus(+P) conditions. **A.** leaf catalase activity (CAT). **B.** root catalase activity (CAT). **C.** peroxidase activity (POD) of leaf. **D.** peroxidase activity (POD) of root. **E.** activity of superoxide dismutase (SOD) of leaf. **F.** Activity of superoxide dismutase (SOD) of root. Statistical analysis was performed on the Duncan's test at the level of $P\leq0.05$ by SPSS 19. Drawings of charts were done using Excel software. (The same letters indicate no significant difference, and non-identical letters indicate a significant difference between the mean values at the level of $P\leq0.05$, X ± SE).



[ Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03 ]
[ DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.4.8 ]
[ DOI: 10.52547/nbr.7.2.206 ]

خمین و Ks21191) و کوشا نسبت به Ks21191 بود. در این مورد بیش‌ترین فعالیت را رقم شاهد صدری و کم‌ترین را رقم شاهد Ks21191 داشتند (شکل ۳ F). فعالیت این آنزیم در ریشه همه ارقام تحت تنش کمبود فسفات در مقایسه با ارقام شاهد افزایش معنی‌دار داشتند (بجز رقم کوشا)، به‌طوری‌که بیش‌ترین درصد افزایش فعالیت مربوط به ارقام تیمار Ks21191 (۸۱/۳ درصد افزایش) و تلاش (۷۸ درصد افزایش) و کم‌ترین درصد در رقم تیمار کوشا (۶/۶ درصد افزایش) دیده شد (شکل ۳ F).

## بحث

نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق نشان می‌دهد که تنش کمبود فسفات سبب القای پاسخ‌های فیزیولوژیکی، ریخت‌شناسی، بیوشیمیایی و فعال‌سازی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در برگ و ریشه گیاهان لوبیای چیتی می‌شود که میزان، نوع و شدت این پاسخ‌ها به ژنوتیپ لوبیای تحت مطالعه و شرایط محیط رشد بستگی دارد (Bargaz et al., 2013). گیاهان در شرایط کمبود فسفات، مکانیسم‌های حفظ فسفات و نیز راهکارهای کسب فسفات را فعال می‌کنند. مکانیسم‌هایی که موجب حفظ فسفات می‌شود شامل: کاهش نرخ رشد، افزایش رشد در بخش‌های مسئول برای جذب فسفات، تحرک مجدد فسفات درونی، تغییر در متابولیسم کربن، جایگزینی مسیر تنفس و جایگزینی در بیوسنتز غشاء که به فسفر کم‌تری نیاز است، و راهکارهایی کسب فسفات شامل: تغییر معماری ریشه (مهار شدید رشد ریشه اولیه، افزایش توده تارهای کشنده و ریشه‌های جانبی)، افزایش بیان ژن‌های ناقل فسفات، افزایش القای ترشح فسفاتازها و اسیدهای آلی و برقراری رابطه همزیستی با قارچ‌های میکوریزا هستند (Lopez-Arredondo et al., 2014; Rojas-Triana et al., 2013; Aziz et al., 2014; Ha & Tran, 2013).

یکی از بارزترین خصوصیات ریخت‌شناسی تنش کمبود فسفات (شکل ۱) کاهش نرخ رشد و نمو (از قبیل کاهش سطح برگ، کاهش طول اندام هوایی، ضعیف شدن ساقه‌ها، کاهش تعداد میان‌گره‌ها، کاهش وزن تر و وزن خشک بافت‌های گیاهی در هر دو بخش هوایی و زیر زمینی و افزایش نسبت وزن خشک ریشه به هوایی) است (Aziz et al., 2014; Dhankhar et al., 2013). یکی از دلایل عمده این کاهش نرخ رشد مربوط به کاهش فتوسنتز و سطح انرژی در دسترس است (Peret et al., 2011; Nasr Esfahani et al., 2016). از آنجایی‌که ریشه مهم‌ترین مکان برای جذب فسفات در گیاه است، بنابراین تحت شرایط فقر فسفات معماری ریشه تغییر کرده و رشد ریشه‌های جانبی و تارهای کشنده افزایش می‌یابد. به همین علت رشد ریشه‌های جانبی گروه تیمار نسبت به ریشه گروه شاهد تا حدی افزایش حاصل می‌کند (Lopez-Arredondo et al., 2014; Ha & Tran, 2013). در همین راستا نسبت رشد ریشه به ساقه (شکل ۱) افزایش حاصل می‌کند (Aziz et al., 2014; Ward et al., 2011) که دلیل این افزایش بیوماس ریشه نسبت به ساقه، افزایش انتقال ساکارز از بخش هوایی به ریشه است (Cheng et al., 2011). البته افزایش رشد ریشه در شرایط کمبود فسفات می‌تواند به علت افزایش فعالیت POD و بیوسنتز دیواره سلولی نیز باشد (Juszczuk et al., 2001). تحت شرایط طولانی مدت کمبود فسفات در ریشه‌ها به علت تخمیر و افزایش بیان الکل دی‌هیدروژناز (ADH) و افزایش واسطه‌های گلیکولیتیک و کاهش pH سیتوپلاسمی و تسهیل شل‌شدگی دیواره سلول به انبساط و طویل شدن سلول منجر می‌شود، که این خود دلیلی دیگر بر رشد و طویل شدن ریشه‌ها است (Alexova & Millar, 2013).

در مورد ریخت‌شناسی ریشه و بخش هوایی عوامل هورمونی همچون سیتوکینین‌ها، اکسین‌ها، اتیلن، ژیبرلین و ژاسمونیک اسید و عواملی دیگر همچون استری گولاکتون‌ها (SLs) و قندها و غیره دخالت دارند. فقر فسفات تولید SLs که یک گروه بخصوص لاکتون‌های ترپنوئیدی هستند را القاء می‌کند که به عنوان هورمون مشتق از ریشه برای بهینه‌سازی انشعاب ساقه به وسیله مهار جوانه جانبی عمل می‌کنند. استری گولاکتون‌ها همچنین ممکن است در تنش کمبود فسفر از طریق پیام رسانی با اکسین روی نمو ریشه‌های جانبی و تراکم تارهای کشنده عمل کنند. در فقر فسفات با کاهش غلظت سیتوکینین‌ها (CK) از توقف رشد ریشه‌های جانبی جلوگیری می‌شود. همچنین در کمبود فسفات، افزایش حساسیت به اکسین به علت افزایش بیان گیرنده اکسین TIR1 (Transport Inhibitor Response 1) را داریم که موجب رشد ریشه جانبی در جوانه‌های آرابیدوپسیس می‌شود. اتیلن تحت شرایط کمبود فسفات زیاد می‌شود که برای مهار رشد ریشه اولیه و گسترش ریشه جانبی و نمو تارهای کشنده مهم است، ولی برای بنیان‌گذاری ریشه جانبی لازم نیست. در مورد جیبرلین نیز مشاهده شده که فعالیت زیستی آن کاهش می‌یابد (Chiou & Lin, 2011).

در بررسی میزان درصد فسفر (شکل ۲) در بین ارقام شاهد اختلاف معنی‌دار نبود (بجز رقم محلی خمین که کاهش معنی‌داری داشت)، تمامی ارقام تیمار در مقایسه با ارقام شاهد کاهش معنی‌داری را نشان دادند که دلایل آن می‌تواند متعدد باشد، از جمله تغییرات معماری ریشه، همچون افزایش توده تارهای کشنده و ریشه‌های جانبی، افزایش بیان ژن‌های ناقل



[ Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03 ]
[ DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.4.8 ]
[ DOI: 10.52547/nbr.7.2.206 ]

فسفات و افزایش القای ترشح فسفاتازها و اسیدهای آلی و بیان ژن‌های دیگر در این زمینه و تغییرات متابولیسمی و ساختار غشای یاخته که با توجه به میزان بیان این ژن‌ها و نوع گیاه و شرایط محیطی و نموی، میزان سازگاری گیاهان با هم متفاوت است (Lopez-Arredondo et al., 2014; Rojas-Triana et al., 2013; Aziz et al., 2014; Ha & Tran, 2013).

نتایج مربوط به فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در دو بخش برگ و ریشه نشان می‌دهد که در اغلب ارقام تحت تیمار کمبود فسفات، میزان فعالیت این آنزیم‌ها افزایش معنی‌داری داشت. بیش‌تر این افزایش مربوط به سیستم ریشه‌ای بوده که احتمالا دلیل آن دخالت سیستم ریشه‌ای برای جذب بیش‌تر فسفات و متعاقب آن فعل و انفعالات متعدد مربوط به آن است که منجر به تولید بیش‌تر ROS در سیستم ریشه‌ای شد. در مطالعات متعددی که صورت گرفته، نشان داده شده که هنگامی ریشه تحت تنش باشد، فعالیت آنتی اکسیدانی آن بیش‌تر از بخش هوایی است، مثلاً در تنش شوری فعالیت آنتی اکسیدان‌های همچون گلوتاتیون‌ردوکتاز در ریشه‌ها زیاد می‌شود، در حالی که گاز اُزن فعالیت آن را در برگ‌های همان گیاه تحت تنش شوری بالا می‌برد (Yousuf et al., 2012). گیاهانی که هم تحت تنش آلومینیم قرار گرفتند، بیش‌ترین فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی را در ریشه نشان دادند (Silva, 2012). در گیاهان لوبیایی که تحت تنش کمبود فسفات قرار گرفتند نیز فعالیت پراکسیداز کل در ریشه ها حدود ۳۰ درصد از گیاهان واجد فسفات بیش‌تر بود (Juszczuk et al., 2001). در گیاه برنجی که در معرض کمبود فسفات قرار گرفت نیز فعالیت هر دو آنزیم SOD و POD در مقایسه با گیاهان گروه کنترل در برگ‌ها کاهش و در ریشه‌های آن‌ها افزایش یافت (Tian-rong et al., 2012).

در مورد فعالیت آنزیم CAT در مجموع بجز رقم صدری سایر ارقام تیمار در برگ (شکل ۳ A) افزایش فعالیت معنی‌داری نشان دادند، ولی در عوض همین رقم صدری در تیمار ریشه دارای افزایش فعالیت معنی‌داری بود، به‌طوری‌که ارقامی که افزایش فعالیت در برگ داشتند، در ریشه دارای کاهش فعالیت بودند و بالعکس، بجز در رقم تلاش که در هر دو بخش برگ و ریشه دارای افزایش فعالیت معنی‌داری بود که احتمالا نشان‌دهنده افزایش سطح ROS و به دنبال آن افزایش آنزیم مذکور در این رقم جهت سمیت‌زدایی ROS است. در ضمن CAT در رقم‌های تیمار محلی خمین و Ks21191 در بخش ریشه (شکل ۳ B) نسبت به ارقام دارای فسفات خود افزایش فعالیت معنی‌داری از خود نشان نداد که می‌تواند دلالت بر موفق بودن سایر راهکارهای حفظ و جذب فسفات در این ارقام و متعاقب آن تولید کم‌تر ROS بوده باشد. بعلاوه این نتایج متغیر از فعالیت CAT نیز ممکن است به دلیل تفاوت در ارقام تحت مطالعه و اندام‌های گیاهی بوده باشد (Peixoto et al., 1999; Radic et al., 2010).

در مورد فعالیت POD ریشه (شکل ۳ D) در بین ارقام شاهد تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. بیش‌ترین فعالیت در ارقام تحت تنش کمبود فسفات مربوط به ریشه‌ها رخ داد. که احتمالاً دلیل فعالیت زیاد آن در ریشه‌ها برای سمیت‌زدایی ROS اضافی است. همچنین افزایش فعالیت POD ریشه در شرایط کمبود فسفات می‌تواند مربوط به افزایش بیان بعضی از ایزوآنزیم‌های آن در مقایسه با ارقام دارای فسفات باشد (Juszczuk et al., 2001). فعالیت این آنزیم در برگ (شکل ۳ C) ارقام مختلف لوبیا متغیر بود، ولی مقایسه همزمان فعالیت تک تک آن‌ها با بخش ریشه همان گیاه گویای این مطلب است که رقمی همچون تیمار صدری که کم‌ترین فعالیت را در برگ داشت، دارای بیش‌ترین فعالیت در ریشه بوده و رقم تیمار Ks21191 که بیش‌ترین فعالیت را در برگ از خود بروز داده، دارای کم‌ترین فعالیت در ریشه است (شکل ۳ C و شکل ۳ D). احتمالا این فعالیت زیاد در ریشه گیاه توجیه کننده حداقل فعالیت آن در برگ است و بالعکس (Juszczuk et al., 2001).

در مورد نتایج مقایسه میانگین فعالیت SOD برگ که در شکل ۳ E نشان داده شده است، هیچکدام از ارقام شاهد با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند. فعالیت SOD ریشه (شکل ۳ F) نشان داد که بین ارقام شاهد فقط رقم صدری نسبت به چهار رقم دیگر تفاوت معنی‌دار داشت. در مجموع ارقام تحت تیمار کمبود فسفات در هر دو بخش برگ و ریشه گیاه میزان فعالیت SOD (شکل ۳ E، F) بیش‌تری نسبت به گیاه کنترل داشتند که احتمالاً این افزایش، نشان‌دهنده بروز تنش اکسیداتیو است تا آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را همراه با یک سیستم مهار $H_2O_2$ فعال کند. فعالیت این آنزیم در ارقام مختلف بجز رقم کوشا در ریشه از برگ بیش‌تر بود (شکل ۳ F)، ولی این آنزیم در همین رقم در برگ فعالیت بیش‌تری نسبت به بقیه از خود نشان داد (شکل ۳ E) که احتمالاً این فعالیت زیاد در برگ توجیه کننده حداقل فعالیت آن در ریشه است. از طرف دیگر فعالیت کم این آنزیم در برگ به این معنی است که فعالیت این آنزیم بدون افزایش معنی‌دار آن کفایت می‌کند (Juszczuk et al., 2001).

بنابراین توانایی گیاهان در تحمل تنش کمبود فسفات می‌تواند نشان‌دهنده سمیت‌زدایی ROS به وسیله سیستم آنتی اکسیدانی (آنزیمی و غیرآنزیمی) و عواملی دیگر همچون افزایش توده تارهای‌کشنده و ریشه‌های جانبی، افزایش بیان ژن‌های ناقل فسفات و افزایش القای ترشح فسفاتازها و اسیدهای آلی و بیان



[ Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03 ]
[ DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.4.8 ]
[ DOI: 10.52547/nbr.7.2.206 ]

ژن‌های دیگر در این زمینه و تغییرات متابولیسمی و ساختار غشای یاخته باشد که منجر به بهبود رشد و محصول می‌شود. بنابراین انتخاب و شناسایی ژنوتیپ‌هایی که فسفات را با حداکثر کارآیی جذب و استفاده بهینه می‌کنند، می‌تواند بسیار مهم باشد. توانایی‌های متفاوت ژنوتیپ‌های مختلف گیاهی برای کسب و استفاده از مواد مغذی، پژوهشگران را ترغیب به مطالعه در هر دو زمینه جذب توسط ریشه‌ها و استفاده سودمند آن کرده است (Sepehr et al., 2009). در مجموع، از بررسی شاخص‌های ریخت‌شناسی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی پنج رقم متفاوت لوبیای چیتی زراعی که نتایج آن در شکل‌های ۱، ۲ و ۳ آورده شده است، چنین به نظر می‌آید که رقم محلی خمین نسبت به سایر ارقام متحمل‌تر و رقم تلاش حساسیت بیش‌تری به کمبود فسفات داشته باشند.

## سپاسگزاری

نویسندگان از گروه علوم باغبانی دانشگاه گیلان به خاطر فراهم کردن امکانات آزمایشگاهی و گلخانه‌ای و گروه زیست‌شناسی دانشگاه لرستان جهت مساعدت کمال تشکر و قدردانی را دارند.

## REFERENCES

**Aebi, H.** 1984. Catalase *in vitro*. Methods of enzymatic analysis. Academic Press, New York, 105:121-126.

**Alexova, R. & Millar, A.H.** 2013. Proteomics of phosphate use and deprivation in plants. Proteomics 13: 609-623.

**Alikhani, H.A., Saleh-Rastin, N. & Antoun, H.** 2006. Phosphate solubilization activity of rhizobia native to Iranian soils. Plant & Soil 287: 35-41.

**Avila, F. W., Faquin, V., Lobato, A. K. da Silva., Avila, P.A., Marques, D.J., Guedes, E.M.S. & Tan, D.K.Y.** 2013. Effect of phosphite supply in nutrient solution on yield, phosphorus nutrition and enzymatic behavior in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants. Aust. J. Crop Sci. 7: 713-722.

**Aziz, T., Sabir, M., Farooq, M., Maqsood, M.A., Ahmad, H.R. & Warraich, E.A.** 2014. Phosphorus deficiency in plants: responses, adaptive mechanisms, and signaling. *In* Hakeem, K.R. et al. (eds.). Plant signaling: Understanding the molecular crosstalk. 7: 133-148. Springer, India,

**Babu, N., Jyothi, M.N., Shivaram, U., Narayanaswamy, S., Rai, D.V. & Devaraj, V.R.** 2014. Identification of miRNAs from French bean (*Phaseolus vulgaris*) under low nitrate stress. Turkish J. Biochem. 39: 1-8.

**Bargaz, A., Faghire, M., Farissi, M., Drevon, J.J. & Ghoulam, C.**2013. Oxidative stress in the root nodules of *Phaseolus vulgaris* is induced under conditions of phosphorus deficiency. Acta Physiol. Plant. 35: 1633-1644.

**Chance, B., Maehly, A.C.** 1955. Assay of catalases and peroxidases. Meth. Enzymol. 2: 764-775.

**Chekanai, V., Chikowo, R. & Vanlauwe, B.** 2018. Response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to nitrogen, phosphorus and rhizobia inoculation across variable soils in Zimbabwe. Agric. Ecosyst. Environ. 266: 167-173.

**Cheng, L., Bucciarelli, B., Shen, J., Allan, D. & Vance, C.P.** 2011. Update on white lupin cluster root acclimation to phosphorus deficiency. Plant Physiol. 156: 1025-1032.

**Chiou, T.-J. & Lin, S.-I.** 2011. Signaling network in sensing phosphate availability in plants. Annu. Rev. Plant Biol. 62:185-206.

**del Socorro, Sanchez-Correa M. & Valdes-Lopez, O.** 2017. Physiological mechanisms and adaptation strategies in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under P deficiency. – *In* Sulieman, S. & Tran, L.-S.P. (eds.). Legume nitrogen fixation in soils with lowphosphorus availability. 11: 207-217. Springer International Publishing.

**Dhankhar, R., Sheoran, S., Dhaka, A. & Soni, R.** 2013. The role of phosphorus solublizing bacteria (PSB) in soil management an overview. IJDR 3: 31-36.

**Emami, A.** 1996. Methods of plant analysis. Iranian J. Soil Water Res. 1: 11-46.

**FAOSTAT.** 2012. Statistics. Rome: FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations. http://www.faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor.

[ Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03 ]
[ DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.4.8 ]
[ DOI: 10.52547/nbr.7.2.206 ]

**Fita, A., Bowen, H.C., Hayden, R.M., Nuez, F., Pico, B. & Hammond, J.P.** 2012. Diversity in expression of phosphorus (P) responsive genes in *Cucumis melo* L. PLOS ONE 7: 1-12.

**Gao, X.-H., Bedhomme, M., Michelet, L., Zaffagnini, M. & Lemaire, S.D.** 2009. Glutathionylation in photosynthetic organisms. Advances Bot. Res. 52: 363-403.

**Gaxiola, R.A., Edwards, M. & Elser, J.J.** 2011. A transgenic approach to enhance phosphorus use efficiency in crops as part of a comprehensive strategy for sustainable agriculture. Chemosphere 84: 840-845.

**Giannopolitis, C.N. & Ries, S.K.** 1997. Superoxide dismutases I. occurrence in higher plants. Plant Physiol. 59: 309-314.

**Ha, S. & Tran, L.-S.** 2013. Understanding plant responses to phosphorus starvation for improvement of plant tolerance to phosphorus deficiency by biotechnological approaches. Crit. Rev. Biotechnol. 1-15.

**Hammond, J.P., Broadley, M.R. & White, P.J.** 2004. Genetic responses to phosphorus deficiency. Annu. Bot. 94: 323-332.

**Hema, M., Sreenivasulu, P., Patil, B.L., Kumar, P.L. & Reddy, D.V.R.** 2014. Tropical food legumes: Virus diseases of economic importance and their control. *In*: Loebenstein, G. & Katis, N. (eds.). Control of plant virus diseases: seed-propagated crops. 90: 431-433. Advances Virus Res. Elsevier, Academic Press, San Diego, USA.

**Juszczuk, I., Malusa, E. & Rychter, A. M.** 2001. Oxidative stress during phosphate deficiency in roots of bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). J. Plant Physiol. 158: 1299-1305.

**Kchaou, H., Larbi, A., Gargouri, K., Chaieb, M., Morales, F. & Msallem, M.** 2010. Assessment of tolerance to NaCl salinity of five olive cultivars, based on growth characteristics and $Na^+$ and $Cl^-$ exclusion mechanisms. Sci. Hort. 124: 306-315.

**Liang, C., Sun, L., Yao, Z., Liao, H. & Tian, J.** 2012. Comparative analysis of PvPAP gene family and their functions in response to phosphorus deficiency in common bean. PLOS ONE 7: e38106.

**Lopez-Arredondo, D.L., Leyva-Gonzalez, M. A., Gonzalez-Morales, S. I., Lopez-Bucio, J. & Herrera-Estrella, L.** 2014. Phosphate nutrition: Improving low-phosphate tolerance in crops. Annu. Rev. Plant Biol. 65: 95-123.

**Maejima, E., Watanabe, T., Osaki, M. & Wagatsuma, T.** 2014. Phosphorus deficiency enhances aluminum tolerance of rice (*Oryza sativa*) by changing the physicochemical characteristics of root plasma membranes and cell walls. J. Plant Physiol. 171: 9-15.

**Malhotra, H., Vandana, Sharma, S. & Pandey, R.** 2018. Phosphorus nutrition: Plant growth in response to deficiency and excess. *In* Hasanuzzaman, M. et al. (eds.). Plant nutrients and abiotic stress tolerance. 7: 171-190. Springer Nature, Singapore.

**Nasr Esfahani, M., Kusano, M., Nguyen, K. H., Watanabe, Y., Ha, C. V., Saito, K., Sulieman, S., Herrera-Estrell, L. & Tran, L.-S, P.** 2016. Adaptation of the symbiotic *Mesorhizobium*–chickpea relationship to phosphate deficiency relies on reprogramming of whole-plant metabolism. PNAS Early Edition. 1-10.

**Niu, Y. F., Chai, R. S., Jin, G. L., Wang, H., Tang, C. X. & Zhang, Y. S.** 2013. Responses of root architecture development to low phosphorus availability: a review. Anal. Bot. 112: 391-408.

**Peixoto, P.H.P., Cambraia, J., Sant'Anna, R., Mosquim, P.R. & Moreira, M.A.** 1999. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolismin sorghum. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal 1: 137-143.

**Peret, B., Clement, M., Nussaume, L. & Desnos, T.** 2011. Root developmental adaptation to phosphate starvation: better safe than sorry. Trends Plant Sci.16: 442-450.

**Plaxton, W.C. & Tran, H.T.** 2011. Metabolic adaptations of phosphate-starved plants. Plant Physiol. 156: 1006-1015.

**Radic, S., Babic, M., Skobic, D., Roje, V. & Pevalek-Kozlina, B.** 2010. Ecotoxicological effects of aluminum and zinc on growth and antioxidants in *Lemna minor* L. Ecotoxicology and Environmental Safety 73: 336-342.

**Rojas-Triana, M., Bustos, R., Espinosa-Ruiz, A., Prat, S., Paz-Ares, J. & Rubio, V.** 2013. Roles of ubiquitination in the control of phosphate starvation responses in plants. J. Integr. Plant Biol. 55: 40-53.

**Ruttenberg, K.C.** 2014. The global phosphorus cycle. Treatise Geochem. 2nd Edition. Elsevier, Oxford, 10: 499pp.

**Sathe, S.K.** 2016. Beans: Overview. Encyclopedia of Food Grains, 2nd Edition. 1: 297-306. Elsevier, Academic Press, San Diego, USA.

**Sepehr, E., Malakouti, M.J., Kholdebarin, B., Samadi, A. & Karimian, N.** 2009. Genotypic variation in P efficiency of selected Iranian cereals in greenhouse experiment. Intern. J. Plant Prod. 3: 17-28.

**Silva, S.** 2012. Aluminium toxicity targets in plants. J. Bot. 2012: 1-9.

**Tian-rong, G., Peng-cheng, Y., Zi-dong, Z., Jiang-jia, W. & Mei, W.** 2012. Involvement of antioxidative defense system in rice seedlings exposed to aluminum toxicity and phosphorus deficiency. Rice Sci. 19: 207-212.

**Tran, H.T., Hurley, B.A. & Plaxton, W. C.** 2010. Feeding hungry plants: The role of purple acid phosphatases in phosphate nutrition. J. Plant Sci. 179: 14-27.

**Ward, C.L., Kleinert, A., Scortecci, K.C., Benedito, V.A. & Valentine, A.J.** 2011. Phosphorus-deficiency reduces aluminium toxicity by altering uptake and metabolism of root zone carbon dioxide. J. Plant Physiol. 168: 459-465.

**Wittenmayer, L. & Merbach, W.** 2005. Plant responses to drought and phosphorus deficiency: contribution of phytohormones in root-related processes. J. Plant Nutr. Soil Sci. 168: 531-540.

**Yang, X. J. & Finnegan, P. M.** 2010. Regulation of phosphate starvation responses in higher plants. Anal. Bot. 105: 513-526.



[ Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03 ]
[ DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.4.8 ]
[ DOI: 10.52547/nbr.7.2.206 ]

**Yousuf, P.Y., Hakeem, K.U.R., Chandna, R. & Ahmad, P.** 2012. Role of glutathione reductase in plant abiotic stress. *In* Ahmad, P. & Prasad, M.N.V. (eds.). Abiotic stress responses in plants. 8: 149-158. Springer, New York, NY.

*****

**How to cite this article:**

**Shirinpour, E., Nasr Esfahani, M. & Bakhshi, D.** 2020. Morphological and biochemical effect of phosphate deficiency on different cultivars of common bean (*Phaseolus vulgaris*). Nova Biologica Reperta 7: 206-218. (In Persian).

**شیرین پور، ا.، نصراصفهانی، م. و بخشی، د.** ۱۳۹۹. اثر ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی تنش کمبود فسفات روی ارقام مختلف لوبیای چیتی. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۷: ۲۱۸-۲۰۶.

[ Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2026-11-03 ]

[ DOR: 20.1001.1.24236330.1399.7.2.4.8 ]

[ DOI: 10.52547/nbr.7.2.206 ]