شناسایی ترکیبات جدید در تراوه های ریشه چغندر قند مؤثر در حلالیت فسفر در خاک توسط HPLC-MS

Reza Khorassani[1], Ursula Hettwer[3], Astrid Ratzinger[3], Bernd Steingrobe[2], Petr Karlovsky[3,] Norbert Claassen[2]
1- Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
2- Department of Crop Science-Plant Nutrition, Georg-August-University, Göttingen Germany.
3- Department of Crop Science-Molecular Phytopathology and Mycotoxin Research, Georg-August-University, Göttingen Germany

رضا خراسانی، استادیار گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

مقدمه:

برخی گیاهان قادرند در خاکهایی با مقادیر کم فسفر محلول بخوبی رشد کنند. مقدار جذب فسفر توسط این گیاهان نسبت به سایر گیاهان بیشتر است. عمدتا" این گیاهان دارای کارایی جذب[۴] فسفر بیشتری هستند. کارایی جذب بستگی به اینفلاکس (Influx) و اندازه سیستم ریشه دارد. کارایی جذب بالای فسفر در گیاه گندم مربوط به بزرگ بودن اندازه سیستم ریشه است در حالیکه برای گیاه چغندر قند مربوط به بالا بودن اینفلاکس فسفر است (۱). اینفلاکس که مقدار جذب فسفر در واحد طول/سطح ریشه ودر واحد زمان است نقش مؤثرتری در کارایی جذب دارد. لازمه افزایش اینفلاکس فسفر، افزایش غلظت آن در فاز محلول خاک است. یکی از عکس العملهای طبیعی گیاه در شرایط کمبود فسفرتراوش ترکیبات آلی توسط ریشه بمنظور افزایش حلالیت فسفردر خاک است. عقیده بر این است که تراوش ترکیبات آلی با وزن مولکولی کم شامل اسیدهای آلی، آمینو اسیدها، قندها،فنلیکها و غیره می توانند بر حلالیت فسفر در خاک مؤثر باشند. حضور و تأثیر برخی ازاین ترکیبات بر روی حلالیت فسفرمثل سیتریک اسید ، مالیک اسید و اگزالو اسید در تراوه های ریشه بعضی از گیاهان به اثبات رسیده است (۲، ۳، ۴). در این تحقیق بالا بودن اینفلاکس و جذب فسفر توسط گیاه چغندر قند انگیزه ای بود برای بررسی تراوه های ریشه چغندر قند به منظور تعیین ترکیبات آن توسط HPLC-MS[۵]. استفاده از تکنیک HPLC-MS که روشی برای شناسایی ترکیبات جدید می باشد امکان پاسخ به این سؤال را فراهم می کند که آیا علاوه بر ترکیبات آلی گزارش شده، ترکیبات جدید دیگری در تراوه های ریشه گیاهان وجود دارد که در حلالیت فسفر خاک مؤثر باشد؟

مواد و روشها:

۱- آزمایش هیدروپونیک:

در یک کشت هیدروپونیک گیاه چغندر قند با دو تیمار ۲ و ۵۰۰ میکرو مول فسفر(سطوح فسفر کم و زیاد) و سه برداشت و ۳ تکرار در اتاقک کشت در شرایط کنترل شده کشت شد. عناصر غذایی دیگر به مقدار لازم دراختیار گاه قرار گرفت. سه برداشت در هفته های دوم، چهارم و ششم بعد از انتقال گیاهچه ها به سیستم هیدروپونیک انجام شد. قبل از هر برداشت تراوه های ریشه گیاه جمع آوری شد.

۲- جمع آوری تراوه های ریشه گیاه:

پس از خارج کردن گیاهان از محلول غذایی و شستشوی دقیق ریشه ها به منظور تمیز شدن انها از مواد غذایی، گیاهان به مدت ۲ ساعت در ظروفی (متناسب با اندازه ریشه گیاه) حاوی اب مقطر فاقد یون در شرایط کاملا" مشابه زمان رشد گیاه قرار داده شد. پس از این زمان محلول حاوی تراوه های ریشه در دو مرحله

1-Uptake efficiency

2- High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry

فریز-درای[1] شد و نهایتا" نمونه های جامد تراوه های ریشه که ماهیتا" کم می باشند تهیه شد.

۳- آماده سازی نمونه ها و تعیین ترکیبات آلی موجود در تراوه های ریشه توسط روش HPLC-MS.

۴- آزمایش بررسی حلالیت فسفر در خاک:

پس از تعیین ترکیبات آلی موجود در تراوه های ریشه، مقادیر مورد لزوم از آنها به صورت خالص تهیه و پس از اضافه کردن به خاک و اندازه گیری فسفر محلول، توانایی آنها در حلالیت فسفر خاک مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج و بحث:

مقایسه مقادیر عملکرد رویشی بعنوان مثال در برداشت اخر برای تیمار کم فسفر(۱/۵ گرم بر گیاه) و تیمار زیاد (۱۵ گرم بر گیاه) وغلظت عنصر در گیاه برای تیمار کم فسفر(۰/۱۴ درصد) و و تیمار زیاد (۱/۵۴ درصد) نشان داد که گیاهان تحت تیمار کم فسفر با شرایط کمبود روبرو بودند. در این شرایط گیاه با ترشح بیشتر تراوه های ریشه درصدد مقابله با کمبود فسفر است (مقدار ترشح تراوه های ریشه در تیمار کم فسفر بیش از ۴ برابر تیمار زیاد فسفر بود).

نتلیج حاصل از تکنیک HPLC-MS نشان داد که ۶۵ ترکیب در تیمار کم فسفر وجود دارد که پیک آنها حداقل ۵ بار بزرگتر از تیمار زیاد فسفر بود. با توجه به حجم زیاد کار دو پیک با جرم مولکولی ۱۳۸ و۱۴۸ انتخاب شد و برای هر یک ۳ ترکیب (4-hydroxybenzoic acid, urocanic acid, salicylic acid برای پیک جرم مولکولی ۱۳۸ و pantolactone, D-arabino-1,4-lactone, citramalic acid برای پیک جرم مولکولی ۱۴۸) شناسایی و ماده خالص آنها خریداری شد. طی آزمایش بررسی حلالیت فسفر در خاک، این مواد به خاکی با فسفر کم اضافه شد و توانایی آنها در حلالیت فسفر خاک مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان داد که salicylic acid با جرم مولکولی ۱۳۸ و citramalic acid با جرم مولکولی ۱۴۸بصورت معنی داری در مقایسه با آب قادر به آزاد سازی فسفر تثبیت شده در خاک می باشند. مطالعات تخصصی تر توسط HPLC-MS با تمرکز روی این دو ترکیب و مقایسه پیک تیمارها و مواد خالص ثابت کرد که دو پیک موجود در تراوه های ریشه چغندر قند مربوط به salicylic acid وcitramalic acid می باشد. بدین ترتیب شناسایی این دو ترکیب در تراوه های ریشه توسط HPLC-MS و تأثیر آنها بر حلالیت فسفر در خاک برای اولین بار گزارش شد.

منابع:

1- Bhadoria PBS, Steingrobe B, Claassen N, Leibersbach H (2002) Phosphorus efficiency of wheat and sugar beet seedlings grown in soils with mainly calcium, or iron and aluminium phosphate. Plant Soil 264: 41-52.

2- Johnson JF, Allan DL, Vance CP (1994) Phosphorus stress induced proteoid roots show altered metabolism in Lupinus albus. Plant Physiol. 104: 657–665.

3- Neumann G, Römheld V (1999) Root excretion of carboxylic acids and protons in phosphorus-deficient plants. Plant Soil 211: 121-130.

4- Gerke J, Beissner L, Römer W (2000a) The quantitative effect of chemical phosphate mobilization by carboxylate anions on P uptake by a single root. I. The basic concept and determination of soil parameters. J. Plant Nutr. Soil Sci. 163: 207–212.

3-Freeze-dry