



Scan online to view this article

Investigation of the effect of microgravity and light spectrum on the antioxidant enzymes activity, elements and photosynthetic pigments of *Physalis alkekengi* *in vitro*.

Farzad Alani¹, Alireza Iranbakhsh^{1*}, Mostafa Ebadi², Halimeh Hassanpour³, Azadeh Hekmat¹

1. Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2. Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.

3. Aerospace Research Institute, Ministry of Science Research and Technology, Tehran, Iran.

Abstract

Aim and Background: This study aimed to investigate the effect of microgravity and light spectral composition on the levels of antioxidant enzyme activity, minerals, and some photosynthetic pigments in *Physalis alkekengi*.

Material and methods: This study was performed *in vitro*. Seedlings were exposed to the microgravity treatments under two different light conditions, including white (C) and red+blue (R+B).

Results: The microgravity treatments were more capable of rapidly influencing growth performance than the light spectrum quality. Red+blue light increased the amount of chlorophyll a and b. Antioxidant enzymes under microgravity stress showed an increase, while changing the quality of the light spectrum did not make a significant difference. An increase in malondialdehyde (MDA) was observed in the microgravity treatment compared to the light spectrum. The amount of Cu^{+2} and Zn^{+2} were increased by the R+B+microgravity treatment. However, Mn^{+2} was increased in the microgravity treatment. The highest uptake of Fe^{+2} and Ca^{+2} was recorded under microgravity conditions. R+B+Microgravity treatment increased K^{+} content compared to white control. The microgravity treatment increased Mg^{+2} in the root cell.

Conclusion: In general, microgravity and light spectrum can increase biomass. Microgravity has little effect on photosynthetic pigments, but the R+B light spectrum increased the pigments. Microgravity increased the activity of antioxidant enzymes and the content of MDA. The concentration of some elements in roots and leaves can be modified by the light and microgravity conditions.

Keywords: Microgravity, light quality, physalis, antioxidant enzyme, photosynthetic pigments, elements, Iau Science.

Corresponding author:

Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Email: iranbakhsh@iaau.ac.ir



برای مشاهده این مقاله به صورت آنلاین اسکن کنید

بررسی اثر ریز گرانش و طیف‌های نوری بر روی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، عناصر و رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه عروسک پشت پرده (*Physalis alkekengi* L.) در شرایط درون شیشه فرزاد الانی^۱، علیرضا ایرانبخش^{۱*}، مصطفی عبادی^۲، حلیمه حسن پور^۳، آزاده حکمت^۱

۱. گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاداسلامی، تهران، ایران

۲. گروه زیست شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاداسلامی، دامغان، ایران

۳. پژوهشگاه هوافضا، وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: این مطالعه با هدف بررسی اثر ریزگرانش و ترکیب طیف نوری بر روی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی، عناصر معدنی، برخی از رنگدانه‌های فتوسنتزی و بعضی شاخص‌های رشدی در گیاه عروسک پشت پرده (*Physalis alkekengi* L.) انجام شد.

مواد و روش‌ها: این تحقیق در شرایط کشت درون شیشه (*In vitro*) انجام شد. دانه رست‌های کشت شده در دو شرایط نوری مختلف شامل، سفید (شاهد) و قرمز+آبی (R+B) در معرض تیمار ریز گرانش قرار گرفتند.

یافته‌ها: تیمارهای ریز گرانش نسبت به کیفیت نور قادر به تأثیرگذاری سریع بر عملکرد رشد بودند. نور قرمز+آبی مقدار کلروفیل a و b را افزایش داد. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحت تنش ریز گرانش افزایش را نشان دادند در حالی که تغییر طیف نوری تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرد. افزایش مقدار مالون دی آلدئید (MDA) در تیمار میکروگراویتی در مقایسه با طیف نوری ایجاد شد. مقدار عناصر مس و روی در ریشه در تیمار میکروگراویتی تحت طیف قرمز+آبی بیش‌ترین مقدار را نشان دادند. تنها تیمار میکروگراویتی عنصر منگنز، را افزایش داد. بالاترین جذب عناصر آهن و کلسیم تحت شرایط ریزجاذبه ثبت شد. میکروگرانش تحت نور قرمز+آبی به‌طور هم‌افزایی مقدار پتاسیم را در مقابل شاهد سفید افزایش داد. تأثیر کاهش جاذبه سبب افزایش منیزیم در سلول‌های ریشه شد که نور قرمز+آبی این افزایش را نسبت به نور سفید بیش‌تر کرد.

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی ریز گرانش و تغییر طیف نوری می‌تواند سبب افزایش بیوماس شود. ریز گرانش تأثیری چندانی بر رنگیزه‌های فتوسنتزی ندارد ولی طیف نور قرمز+آبی رنگیزه‌ها را افزایش می‌دهد. میکروگراویتی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و محتوای MDA افزایش می‌دهد. با ریز گرانش و تغییر طیف نوری می‌توان غلظت برخی عناصر را در ریشه و برگ افزایش یا کاهش داد.

واژگان کلیدی: ریز جاذبه، کیفیت نوری، عروسک پشت پرده، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، رنگدانه‌های فتوسنتزی، عناصر، Iau Science

مقدمه

شناخت گیاهان دارویی و استفاده از آن‌ها از مدت‌ها قبل مورد توجه محققین کشور ما قرار گرفته است. پژوهش‌های مختلف، درک ما را از جنبه‌های مختلف بالا می‌برد و

نویسنده مسئول:

گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاداسلامی، تهران، ایران
پست الکترونیکی: iranbakhsh@iau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۱/۱۰

همچنین در درمان بهتر برخی از بیماری‌ها در داخل کشور و جلوگیری از خروج ارز برای ورود فرآورده‌های آن‌ها کمک می‌کند. جاذبه ناچیز (Microgravity) یکی از تنش‌های غیر زیستی است که می‌تواند به‌عنوان الیستور فیزیکی بر روی رشد و نمو گیاهان تأثیرگذار باشد. کشت گیاهان برای مطالعه‌های زیست فضایی به بیش از نیم قرن برمی‌گردد. برنامه‌های فضایی برای استفاده از گیاهان جهت تأمین مواد غذایی و همچنین احیای شرایط محیط زیستی (۲،۱). با این حال، استفاده از گیاهان به‌عنوان یک سیستم زنده احیاء کننده زیستی پایدار (BLSS) bio-regenerative life support system برای تولید غذای تازه، اکسیژن، کاهش سطح CO_2 ، بازیافت زباله‌های متابولیک و مدیریت کارآمد آب برای مأموریت‌های اکتشاف فضایی بلند مدت، نیاز به تحقیقات بیش‌تر دارد (۳). مطالعه گیاهان در فضا با دو هدف اصلی انجام می‌گیرد: اول مطالعه بنیادی علم زیست‌شناسی گیاهی و دوم توسعه فناوری و کاربردهای زمینی آن است (۴). در روی زمین با استفاده از ابزارهایی مانند کلینواست (Clinostat) گرانش ناچیز شبیه‌سازی می‌شود. محور افقی کلینواست شامل صفحه‌ای است که به یک موتور متصل است. این صفحه در وضعیت عمود قرار دارد، موتور را می‌توان با سرعت دلخواه تنظیم کرد تا به آرامی بچرخد. یک موجود زنده به‌صورت افقی به این صفحه در حال چرخش متصل است. چرخش آرام صفحه منجر می‌شود که نیروی جاذبه کاهش یابد و موجود زنده کشش جاذبه را کم‌تر درک کند؛ در این حالت، محیط بی‌وزن شبیه‌سازی می‌شود (۵). نور هم از عوامل محیطی مهم در فرآیندهای فیزیولوژیک است (۶). کیفیت نور به‌طور غالب توسط طول موج فوتون‌های نوری و نسبت آن‌ها تعیین می‌شود (۷). در سال‌های اخیر منابع سنتی استفاده از نور با دیودهای پخش کننده نور (LED) جایگزین شده است. مزیت استفاده از LED به‌عنوان منبع مصنوعی نور برای استفاده در رشد کنترل شده محیطی گیاه، که با راندمان بالای تبدیل انرژی، حجم کم، طول عمر بیش‌تر، شدت و کیفیت قابل تنظیم و هم‌چنین خروجی گرمای کم‌تر است. تغییرهای مورفولوژیک و فیزیولوژیک تحت تأثیر رنگ‌های مختلف LED ها هستند (۸). گیاه عروسک پشت پرده از جنس *Physalis* و گونه *alkekengi* متعلق به خانواده سبب زمینی (Solanaceae) است که جزء گیاهان دارویی است. جنس فیزالیس متشکل از ۱۲۰ گونه است (۹). در ایران

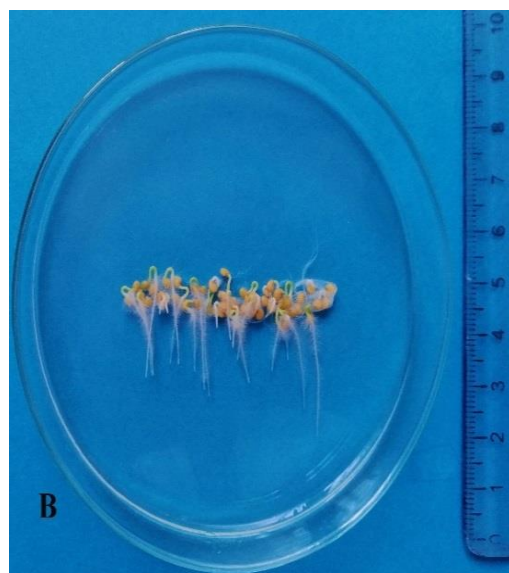
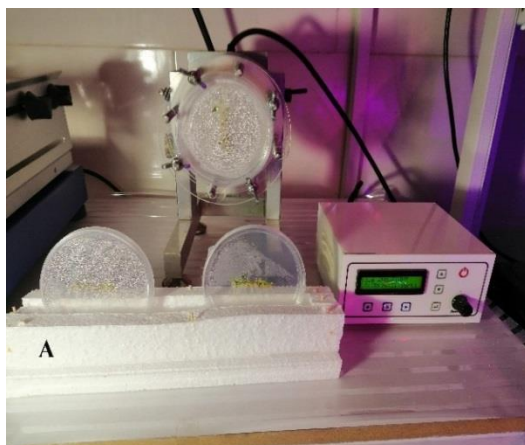
دو گونه از جنس فیزالیس به نام‌های *P.alkekengi* و *P.divaricata* به‌صورت خودرو می‌رویند که گونه دوم در سال ۱۳۷۴ توسط موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع شناسایی و معرفی شده است. محل رویش این گیاه در ایران اطراف تهران، نواحی مرکزی ایران، اصفهان، کرمان، آذربایجان، گیلان، مازندران و گلستان است. اصلی‌ترین مزایای مرتبط با این گیاه اجزای تغذیه‌ای و ترکیب‌های فعال زیستی آن هستند (۱۰). میوه این گیاه، منبع بسیار خوبی برای پیش‌ساز ویتامین آ، ویتامین ث، آهن و تا حدودی ویتامین کمپلکس و هم‌چنین سرشار از عناصر معدنی فسفر، آهن، پتاسیم و روی است (۱۱) فیزالین-های A، B، D، F و گلیکوزیدها اجزای اصلی فعال تشکیل دهنده فیزالیس هستند که فعالیت ضد سرطانی نشان می‌دهد (۱۲). و هم‌چنین باعث مهار آنزیم زانتین اکسیداز می‌شود که در ایجاد نقرس نقش مهمی دارد (۱۳). گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) reactive oxygen species توسط واکنش‌های متابولیکی تولید می‌شوند. در گیاهان ROS در اندامک‌های سلولی مختلف مانند کلروپلاست‌ها، پراکسی زوم‌ها و میتوکندری‌ها ایجاد می‌شوند. علاوه بر این اندامک‌ها در دیواره‌های سلولی و غشاهای پلاسمایی به‌ترتیب پراکسیدازها و آمین اکسیدازها در صورت وجود استرس منجر به تولید ROS می‌شوند. ROS ها شامل اکسیژن منفرد (IO_2)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، سوپر اکسید (O_2^-) و رادیکال‌های هیدروکسیل (OH) است (۱۷). ROS ها با مهار پروتئین‌ها، DNA، پراکسیداسیون لیپیدها، ساختمان و فعالیت غشای سلولی، تخریب رنگدانه‌های فتوسنتزی و غیرفعال کردن آنزیم‌ها و سایر مسیرهای متابولیک، باعث آسیب شدید به سلول‌ها و مرگ تدریجی سلول و ایجاد اختلال در رشد و تولید گیاه می‌شود. در مقابل سیستم دفاعی گیاهان با فعال کردن آنتی-اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی در برابر ROS ها فعالیت‌های عملکردی آن را تنظیم می‌کند (۱۶،۱۷). با توجه به ارزش دارویی گیاه عروسک پشت پرده و هم‌چنین اثرات سوء مصرف کودهای شیمیایی در کشاورزی، انجام تحقیقات وسیع و گسترده در محیط درون شیشه به‌منظور ارزیابی تنش‌های مختلف در افزایش عملکرد و بهبود کیفیت، بررسی ریز جاذبه و طیف نوری به‌عنوان یک محرک جهت تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی در کشور، امری ضروری و اجتناب ناپذیر است لذا با توجه به خواص دارویی و آنتی اکسیدانی فیزالیس در

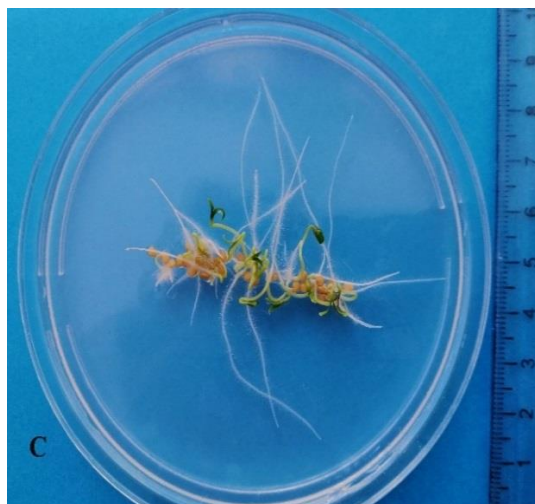
سلامتی انسان و نیز نقش دفاعی که این ترکیب‌ها در برابر بی‌وزنی برای گیاهان ایفاء می‌کنند می‌توان به‌طور مؤثر از ریزجاذبه و طیف نوری جهت افزایش این ترکیب‌های مفید بهره برد. براین اساس هدف این پژوهش بررسی اثرهای ریزجاذبه و طیف نوری بر روی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی و برخی شاخص‌های رشدی، و همچنین تعدادی از عناصر موجود در پیکره گیاه فیزالیس است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در شرایط کشت درون شیشه (*In vitro*) انجام شد. بذرها از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری شد. بذرها برای استریل ابتدا در محلول اتانول ۷۰٪ به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفته، سپس سه بار با آب مقطر استریل شستشو شدند و برای ۲ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰٪ قرار گرفتند. بذرها چندین بار با آب مقطر استریل شستشو شدند و در مرکز پتری‌دیش حاوی محیط موراشیک و اسکوگ (MS) به شعاع ۲ سانتی‌متر قرار گرفتند و به دمای $(\pm 2)25$ درجه سانتی-

گراد اتاق کشت و شرایط تاریکی منتقل شدند. پس از ۵ روز پتری‌دیش‌ها روی دستگاه کلینواستت دوبعدی (شرکت پایا کشت) با سرعت چرخش $(\omega) 3$ دور در دقیقه، در جهت عقربه‌های ساعت، زاویه ۹۰ درجه برای مدت یک هفته قرار گرفتند. نیروی شتاب (g') با استفاده از معادله $g' = (2\pi/60)^2 r \omega^2$ اندازه‌گیری و از صفر در مرکز تا $10^{-4} \times 3/02$ در لبه محاسبه گردید (۱۸). پتری‌دیش‌های روی دستگاه کلینواستت و شاهد تحت دو طیف نوری LED سفید (7000K, 100%) و قرمز + آبی با نسبت ۳ به ۱ (قرمز ۶۶۰ نانومتر و آبی ۴۴۰ نانومتر) با شدت نوری ۴۵-۴۰ $\mu\text{Mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ، دوره نوری ۸/۱۶ ساعت (روشنایی/تاریکی)، دمای 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۵٪ قرار گرفتند. برای هر تیمار، سه پتری‌دیش روی کلینواستت و هم‌زمان سه پتری‌دیش به‌عنوان شاهد یا g ۱ به‌صورت افقی روی زمین قرار داده شد (شکل ۱). پتری‌دیش‌ها بعد از یک هفته از دستگاه جدا شدند و به شرایط اتاق کشت منتقل گردیدند. پس از ۴ هفته از کشت، گیاهچه‌ها برای آنالیزهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برداشت شد.





شکل ۱. نحوه قرارگرفتن پتری دیش-های حاوی دانه رسته های کشت شده در محیط کشت MS، بر روی دستگاه کلینو استت (A)، دانه رسته های شاهد (B)، دانه رسته های تحت ریز جاذبه (C).

A₆₄: میزان جذب خوانده شده در طول موج ۶۴۵ نانومتر

W: وزن تر نمونه برداشت شده به میلی گرم

a: طول مسیر عبور (یک سانتی متر)

سنجش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی

آنزیم کاتالاز: یک واحد آنزیمی کاتالاز مقدار آنزیمی است که یک میلی مول H₂O₂ را در مدت یک دقیقه تجزیه کند. برای اندازه گیری این آنزیم، پس از استخراج عصاره، باید محلول واکنش تهیه شود. این محلول شامل: مقدار ۲/۵ میلی لیتر بافر تریس فسفات ۵۰ میلی مولار (pH برابر با ۶/۸) و ۰/۳ میلی-لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد (۱۵ میلی مولار) را در حمام یخ با ۰/۲ میلی لیتر عصاره آنزیمی مخلوط و تغییرهای جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر UV/VIS در طول موج ۲۴۰ نانومتر خوانده شد. فعالیت آنزیمی برحسب تغییرهای واحد جذب در دقیقه به ازای هر گرم وزن بافت تر محاسبه و گزارش گردید (۱۹).

آنزیم پراکسیداز: مخلوط واکنش برای سنجش فعالیت این آنزیم شامل: ۲ میلی لیتر بافر استات ۰/۲ مولار (pH برابر با ۴/۸) ۲۰۰،۰ میکرو لیتر، H₂O₂ (۳ درصد) و ۲۰۰ میکرو لیتر بنزیدین ۰/۰۴ مولار محلول در متانول ۵۰ درصد است. سپس ۲۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی به مخلوط واکنش افزوده شده و تغییرهای جذب نمونه ها در مدت یک دقیقه (افزایش جذب) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر خوانده شد. مقدار فعالیت آنزیم بر حسب تغییرهای

اندازه گیری وزن تر و وزن خشک: دانه رسته ها بعد از اعمال تیمار، به وسیله کاغذ صافی به آرامی رطوبت آن گرفته می شود و سپس به کمک ترازوی چهار رقم اعشار حساس مدل (AND, HR- 200) وزن تر آن اندازه گیری شد. برای سنجش وزن خشک پس از جدا کردن ریشه ها از ناحیه یقه، اندام هوایی و ریشه ها را به صورت جداگانه در فویل آلومینیومی قرار داده شد و در دستگاه آون (memmert مدل SLE600) به مدت ۲۴ ساعت و دمای ۵۰ درجه سانتی گراد خشک شدند. سپس وزن خشک دانه رسته ها به کمک ترازوی حساس اندازه گیری شد.

سنجش رنگیزه های فتوسنتزی

تعدادی دیسک برگ (حدود ۰/۵ گرم) از برگ تازه گیاه وزن شد در هاون چینی مقدار ۱/۵ میلی لیتر استون (۸۰ درصد) اضافه کرده و ساییده شد سپس با کاغذ واتمن شماره ۲ صاف شد. محلول صاف شده به مدت ده دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. محلول قسمت رویی را جدا کرده و با اسپکتروفتومتر UV/VIS (مدل T92+ ساخت شرکت PG instrument کشور انگلستان) در طول موج ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر خوانده شد و با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (۵۴).

$$Chla = (12.3 \times A_{663} - 0.86 \times A_{645}) / a \times 1000 \times W$$

$$Chlb = (19.3 \times A_{645} - 3.6 \times A_{663}) / a \times 1000 \times W$$

$$Carotenoides = 100(A_{470} - 3.27(mg \text{ chl. a}) - 104(mg \text{ chl. b}) / 227$$

A₆₆: میزان جذب خوانده شده در طول موج ۶۶۳ نانومتر

جذب نمونه‌ها در این طول موج در دقیقه به ازای گرم وزن بافت تر گیاهی گزارش گردید (۲۰).

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD): برای اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم ابتدا محلول شماره ۱ که شامل: ۵۰ میلی-مولار بافر تریس-هیدروکلراید (Tris-HCL)، با pH برابر ۸/۲ که حاوی یک میلی-مولار اتیلن دی‌آمین تترا استیک اسید (EDTA) است تهیه گردید. محلول شماره ۲ شامل: پیروگالول ۰/۲ میلی-مولار است (نقش سوبسترا را دارد). طی آن ۱۵۰ میکرولیتر از محلول رقیق عصاره آنزیم در ۲۵۵۰ میکرولیتر از بافر تریس، ۳۰۰ میکرولیتر از پیروگالول ۰/۲ میلی-مولار اضافه شد تمامی نمونه‌ها به مدت پنج دقیقه در آن ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. بعد به تمامی نمونه‌ها مقدار ۱۰۰ میکرولیتر HCL (۱۰۰ میلی-مولار) اضافه شد و بلافاصله جذب آن‌ها در طول موج ۴۲۰ نانومتر خوانده شد. سرعت مهار اتواکسیداسیون از طریق افزایش جذب است. یک واحد آنزیم SOD، مقدار آنزیم مورد نیاز برای مهار ۵۰ درصد از اتواکسیداسیون پیروگالول به پورگالین است (۲۱).

بررسی پراکسیداسیون لیپید (مالون دی‌آلدهید): مقدار مشخصی بافت تازه (به‌طور مثل ۰/۳ گرم) را با ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک اسید (TCA) یک درصد همگن شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه سانتیفیوژ (۱۰۰۰۰ دور در دقیقه) گردید. در مرحله بعد ۲۵۰ میکرولیتر از هر نمونه به میکروتیوب منتقل شد. سپس به هر نمونه یک میلی‌لیتر مالون دی‌آلدهید (MDA) اضافه شده و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام بن ماری (۹۵ درجه سانتی‌گراد) انکوبه شدند. سپس بلافاصله نمونه‌ها به حمام یخ منتقل شده و برای ۱۰ دقیقه دوباره سانتیفیوژ شده و بلافاصله در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر مقدار جذب نمونه‌ها یادداشت گردید. محاسبه مقدار MDA با استفاده از ضریب تصحیح بر حسب نانومول توسط فرمول بیرلامبرت انجام شده و در نهایت غلظت بر حسب میکرومول در گرم بافت تر محاسبه و گزارش شد (۲۲، ۲۴).

روش اندازه‌گیری عناصر: بر اساس روش Iranbakhsh A. و Ardabili Z (2004) با کمی تغییرهای انجام شد (۲۳). به‌منظور رساندن عناصر معدنی در وضعیتی قابل حل و قابل اندازه‌گیری با دستگاه‌های اندازه‌گیری بر پایه اسپکتروفتومتری (جذب اتمی و ...)، معدنی کردن ماده گیاهی ضروری است. اصول کار بر پایه تخریب ترکیب‌های آلی از طریق سوزاندن نمونه در کوره و سپس محلول نمودن عناصر به کمک یک اسید معدنی قوی قرار دارد که به‌صورت زیر انجام شد. مقدار دقیق و مشخصی از ماده گیاهی با

ترازوی ۴ رقم اعشار (AND مدل HR-200) که قبل در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت دو روز و سپس در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد خشک شده، در یک کروزه چینی قرار داده شد. کروزه را به مدت ۲ ساعت در یک کوره مجهز به دود کش و دریچه مربوطه در دمای ۴۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. کروزه را از کوره خارج نموده و بر روی سطحی مقاوم به گرما، دور از گرد و غبار و جریان هوا در دمای اتاق گذاشته تا سرد شد. به کمک ۲۰ میلی‌لیتر نیتریک اسید یک مولار تمام خاکستر به یک بشر ۱۰۰ میلی‌لیتری منتقل گردید. به مدت ۳۰ دقیقه با جوشیدن بر روی هیتر (۱۰۰ تا ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد) عمل هضم انجام گردید. محلول حاصل را توسط یک کاغذ صافی (واتمن شماره ۴) صاف نموده و به یک بالن ۵۰ میلی‌لیتری منتقل شد و با استفاده از آب مقطر به حجم رسانده شد. به کمک دستگاه جذب اتمی غلظت عناصر را در طول موج های مربوطه خوانده شد. در صورت نیاز محلول را رقیق نموده تا به رنج غلظت مورد نظر دستگاه برسد. برای اندازه‌گیری عناصر کلسیم، منیزیم، منگنز و پتاسیم در گیاه مورد مطالعه دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی Perkin Elmer مدل AAnalyst 100 و برای عناصر مس، روی و آهن از دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی VARIAN مدل AA240 استفاده شد. جهت تعیین غلظت یون‌ها، محلول استاندارد هر یون را قبل از اندازه‌گیری نمونه به دستگاه تزریق می‌شود. نمودار استاندارد توسط نرم‌افزار ویژه دستگاه AAwinlab رسم شده و غلظت مجهول محلول‌ها با استفاده از این نرم‌افزار تعیین شد.

تحلیل آماری

تمامی داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism 9 مورد تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) قرار گرفتند. میانگین مقادیر سه تکرار مستقل با استفاده از آزمون Tukey در سطح احتمال ۵ درصد مورد مقایسه آماری قرار گرفت.

یافته‌ها

تغییرهای وزن تر کل و وزن خشک اندام هوایی و ریشه
نتایج نشان داد که تیمار ریز جاذبه (Microgravity) بر شاخص وزن خشک ریشه تأثیر مثبتی ($P \leq 0/05$) داشته است. بیش‌ترین وزن خشک ریشه در تیمار ریز جاذبه تحت نور قرمز+آبی (R+B+Microgravity) اندازه‌گیری شد که به‌طور هم‌افزایی وزن خشک ریشه را در مقایسه با شاهد افزایش داد (شکل ۲ B). تأثیر گروه‌های تیماری بر وزن خشک اندام هوایی نشان داد که تیمارهای ریز جاذبه و طیف نور قرمز+آبی به‌عنوان فاکتور مهاری بر روی وزن خشک اندام

فعالیت این آنزیم در مقایسه با شاهد دارد. این در حالی است که طیف $R+B$ تفاوت معنی داری نسبت به نمونه شاهد ایجاد نکرد (شکل ۴ E). فعالیت آنزیم SOD در گروه های مختلف تیمار بر روی عصاره ریشه تفاوت معنی داری نشان ندادند (شکل ۴ F).

نتایج پراکسیداسیون لیپید ها (MDA): غلظت مالون دی آلدیید (Malondialdehyde) به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپید ها در نظر گرفته می شود. در این مطالعه مقدار MDA در تیمارهای تحت شرایط ریزجاذبه و همچنین ریزجاذبه تحت نور قرمز+آبی نسبت به نمونه شاهد افزایش (به ترتیب ۲۵/۴ و ۲۹/۵ درصد) معنی داری ($P \leq 0.05$) را نشان دادند اما تغییر طیف نوری از نور سفید به نور $R+B$ اختلاف معنی داری ایجاد نکرد (شکل ۵).

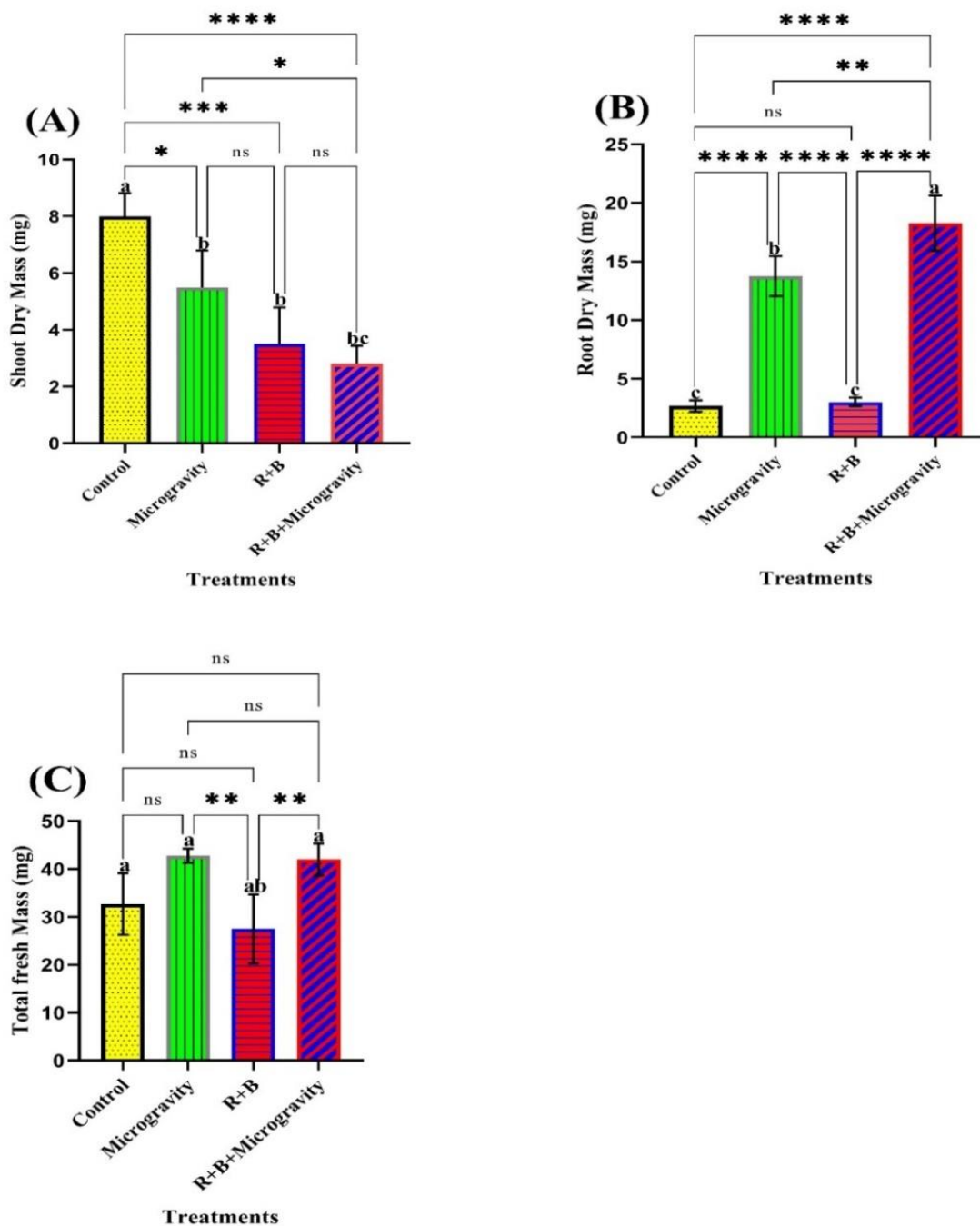
عناصر معدنی در ریشه و برگ ها: با توجه به شکل ۶ A میزان عنصر مس (Cu^{+2}) در نمونه برگ در بین گروه های تیماری از لحاظ آماری معنی دار ($P \leq 0.05$) نبود ولی در نمونه ریشه، تیمار میکروگروگراویتی تحت تابش $R+B$ سبب افزایش میزان عنصر مس در مقایسه با کنترل و سایر تیمارها شد به طوری که بیشترین مقدار عنصر مس در این تیمار ۲۰/۵ درصد افزایش نسبت به کنترل اندازه گیری شد (شکل ۶ B). غلظت عنصر روی (Zn^{+2}) اندازه گیری شده در برگ فیزالیس اختلاف معنی داری ($P \leq 0.05$) در بین گروه های تیماری از لحاظ آماری ایجاد نکرد (شکل ۶ C). مقدار روی اندازه گیری شده در ریشه تحت تیمارهای مختلف نشان داد که طیف نوری قرمز+ آبی تحت شرایط کلینواست (ریزجاذبه) و نور قرمز+ آبی به تنهایی نسبت به کنترل افزایش معنی داری را نشان داد به طوری که بیشترین افزایش این عنصر در تیمار ریز جاذبه تحت $R+B$ با ۲۵ درصد افزایش در مقایسه با شاهد مشاهده شد (شکل ۶ D). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که غلظت عنصر منگنز (Mn^{+2}) در برگ ها به جزء در تیمار میکروگروگراویتی هم زمان با طیف نوری $R+B$ نسبت به شاهد در سایر تیمارها از لحاظ آماری معنی داری ($P \leq 0.05$) نبود (شکل ۶ E). ولی در ریشه غلظت منگنز تنها در تیمار ریز گرانش افزایش (۲۶/۲ درصد) معنی داری را در مقایسه با کنترل ایجاد کرد (شکل ۶ F). تغییرهای مشاهده شده در مقدار آهن (Fe^{+2}) اندازه گیری شده در نمونه برگ گیاه عروسک پشت پرده در تیمار طیف نوری قرمز+آبی و تیمار ریزجاذبه تحت نور قرمز+آبی افزایش معنی داری را نشان داد ($P \leq 0.05$)، این افزایش در تیمار طیف نوری قرمز+آبی بیشترین مقدار غلظت (۲۵/۴ درصد) را در مقایسه با کنترل نشان

هوایی نسبت به نمونه شاهد عمل می کند. کمترین مقدار وزن خشک اندام هوایی در تیمار ریز جاذبه تحت نور قرمز+آبی اندازه گیری شد (شکل ۲ A). تیمار میکروگروگراویتی و طیف نوری تفاوت معنی داری نسبت به شاهد بر روی وزن تر کل ایجاد نکرد ولی نمونه های تحت تیمار قرمز+آبی کاهش معنی داری را نسبت به تیمارهای تحت جاذبه ناچیز نشان داد. که کمترین مقدار وزن تر کل در بین گروه های تیماری نشان داد (شکل ۲ C).

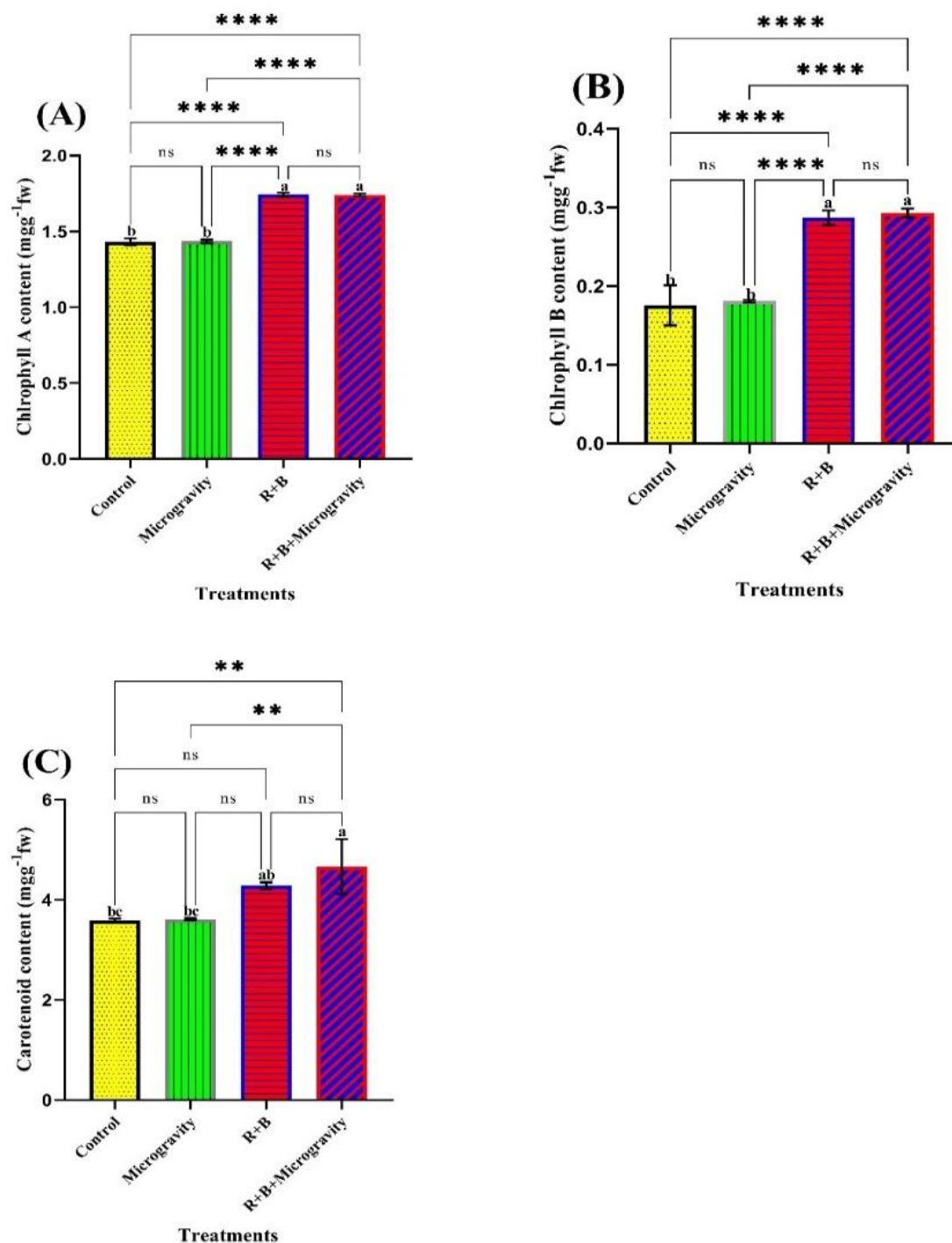
تغییرهای میزان رنگیزه های فتوسنتزی: مقایسه میانگین داده ها ($P \leq 0.05$) نشان داد که محتوای کلروفیل a تحت میکروگرانش در مقایسه با نمونه شاهد اختلاف معنی داری ایجاد نکرد ولی نور قرمز+ آبی ($R+B$) مقدار کلروفیل a, b را به طور معنی داری نسبت به شاهد بهبود بخشید (به ترتیب ۲۱/۷ و ۶۳/۶ درصد) که این نتیجه به طور تقریبی در تیمار جاذبه ناچیز تحت طیف نور قرمز+ آبی تکرار شد (شکل ۳ A و B). تیمار ریز جاذبه تحت نور قرمز+آبی سبب افزایش (۲۹/۸ درصد) رنگدانه کارتنوئید در مقایسه با شاهد شد که بیشترین میزان این رنگدانه در بین گروه های تیماری بود (شکل ۳ C). این نتایج نشان داد که طیف نور قرمز+آبی بر روی رنگدانه های فتوسنتزی اثر تحریکی مثبت دارد.

نتایج فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کاتالاز، پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز: نتیجه تجزیه واریانس نشان داد که تیمار میکروگروگراویتی و تیمار میکروگروگراویتی تحت تابش طیف نور قرمز+ آبی نسبت به نمونه شاهد بر روی فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در برگ ها در سطح احتمال پنج درصد افزایش معنی داری ($P \leq 0.05$) را نشان می دهد. بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در تیمار ریزجاذبه تحت طیف نوری $R+B$ (۸۳/۲ درصد) مشاهده شد (شکل ۴ A). میزان فعالیت این آنزیم در ریشه فقط در تیمار میکروگرانش تحت تابش قرمز+آبی در مقایسه با شاهد افزایش معنی داری را در مقایسه با شاهد نشان داد (شکل ۴ B) فعالیت آنزیم پرکسیداز (POD) در تمامی گروه های تیماری افزایش معنی داری را در برگ ها و ریشه نسبت به شاهد نشان دادند. در برگ ها و ریشه بیشترین فعالیت این آنزیم در تیمار ریز جاذبه تحت نور قرمز+آبی به ترتیب ۷۶/۵ و ۳۰/۸ درصد نسبت به شاهد اندازه گیری شد. نتایج تیمارها بر روی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در عصاره تهیه شده از برگ گیاه نشان داد که تیمار ریزجاذبه و تیمار ریزجاذبه تحت نور قرمز+آبی (به ترتیب ۲۸/۴ و ۲۳/۵ درصد) سبب افزایش معنی داری بر روی

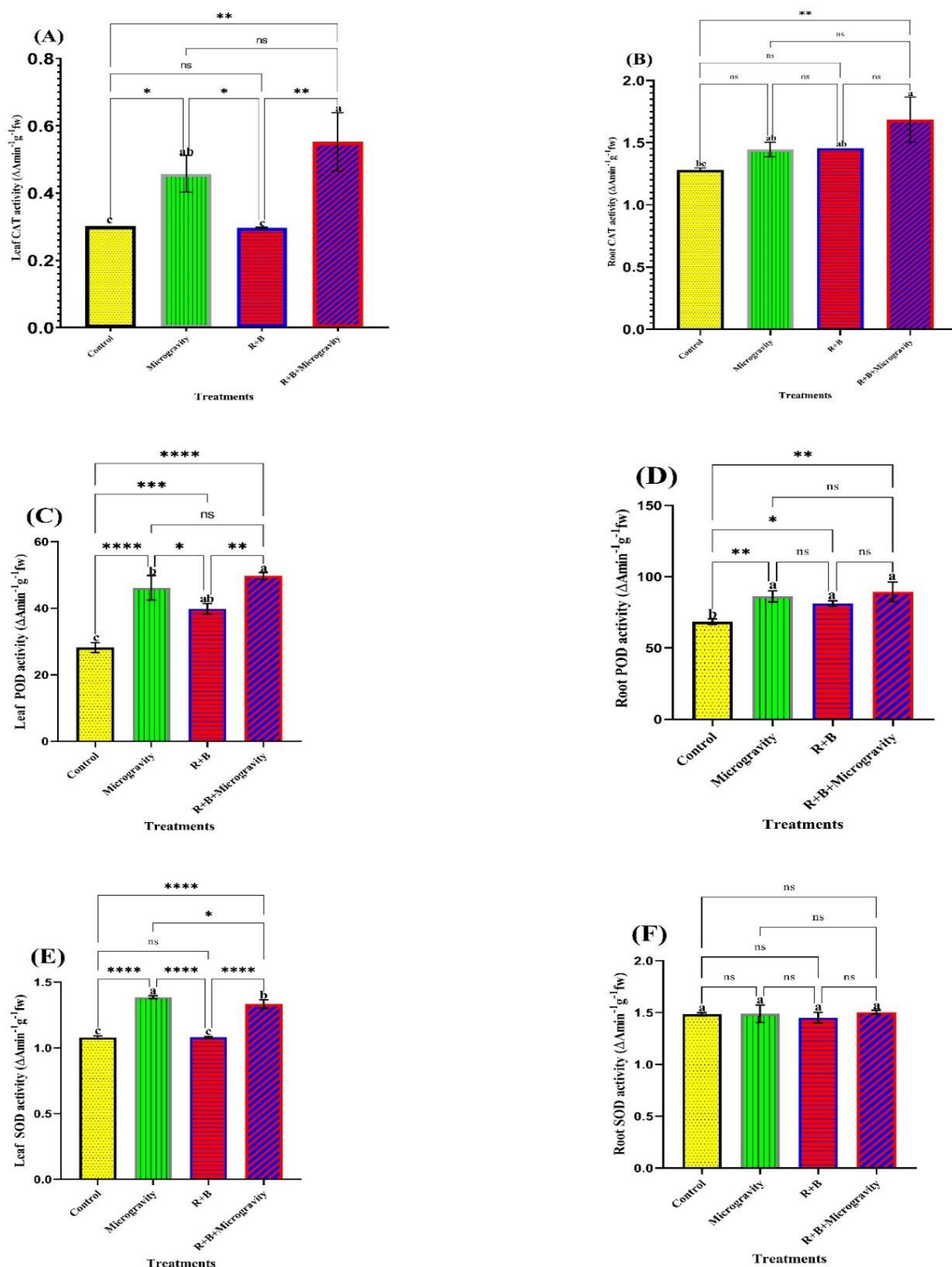
داد. تیمار میکروگراویتی تحت تابش نور سفید با شاهد اختلاف معنی داری ایجاد نکرد (شکل ۶ G). مقدار آهن اندازه گیری



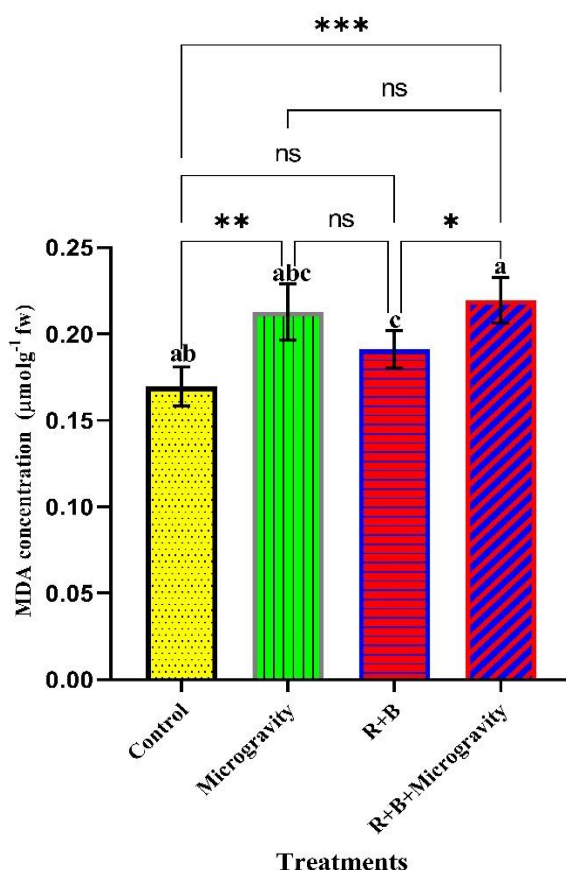
شکل ۲. تأثیر میکروگراویتی و دو طیف نوری بر شاخص های رشدی وزن خشک اندام هوایی (A) وزن خشک ریشه (B) و وزن تر گیاه (C)
Control: شاهد، Microgravity: ریز گرانش، R+B: طیف نور قرمز+آبی، R+B+Microgravity: ریز گرانش تحت طیف نوری قرمز+آبی
(*: معنی دار در سطح احتمال ۵ یا کم تر از ۵ درصد، ns: بی معنی)



شکل ۳. تأثیر تیمار ریزگرانش و دو طیف نوری بر روی رنگدانه‌های فتوسنتزی از جمله (A) کلروفیل a، (B) کلروفیل b و (C) کاروتنوئید Control : شاهد، Microgravity : ریز گرانش، R+B : طیف نور قرمز+آبی، R+B+Microgravity : ریز گرانش تحت طیف نوری قرمز+آبی (*): معنی‌دار در سطح احتمال ۵ یا کم‌تر از ۵ درصد، ns: بی‌معنی



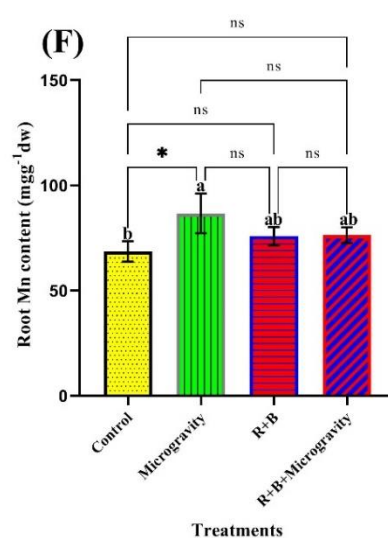
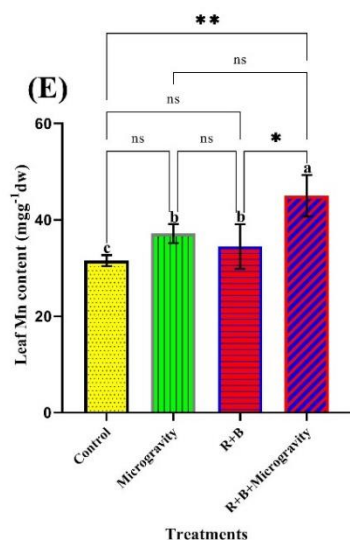
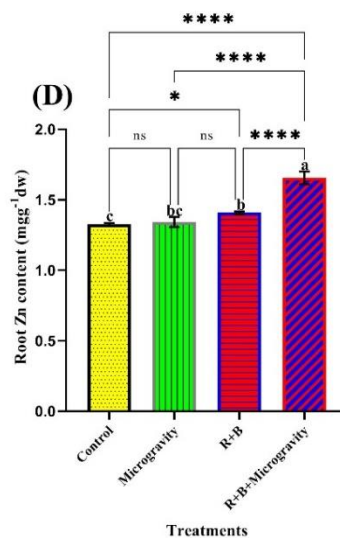
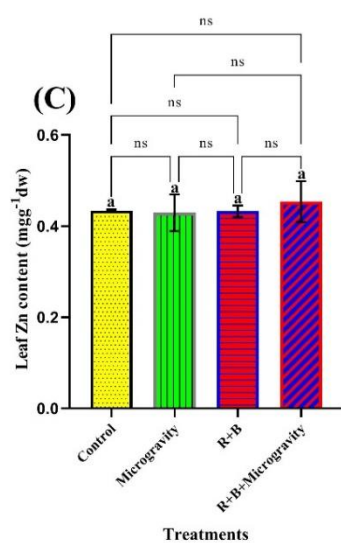
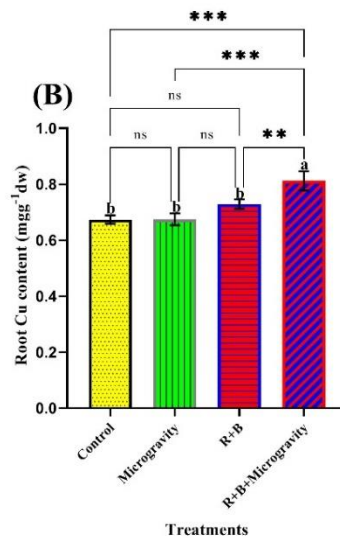
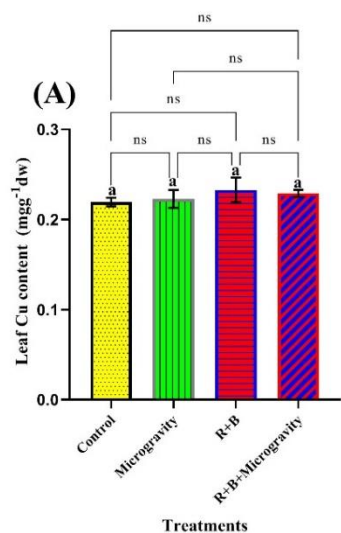
شکل ۴. فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی تحت تیمارهای ریز جاذبه و طیف نور (A) کاتالاز در برگ (B) کاتالاز در ریشه (C) پراکسیداز در برگ (D) پراکسیداز در ریشه (E) سوپراکسید دیسموتاز در برگ (F) سوپراکسید دیسموتاز در ریشه
Control: شاهد، Microgravity: ریز گرانش، R+B: طیف نور قرمز+آبی، R+B+Microgravity: ریز گرانش تحت طیف نور قرمز+آبی (*):
معنی‌دار در سطح احتمال ۵ یا کم‌تر از ۵ درصد، ns: بی‌معنی

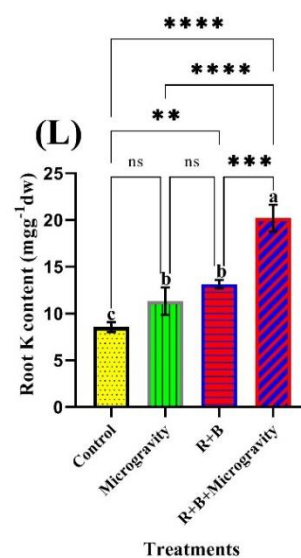
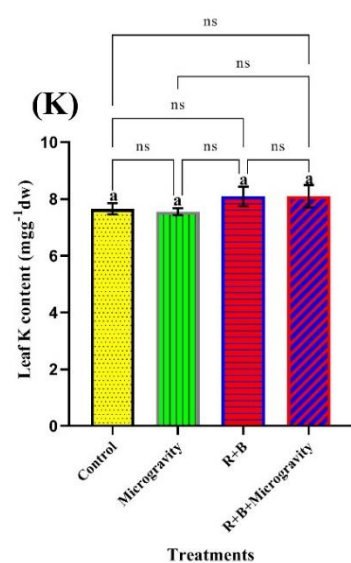
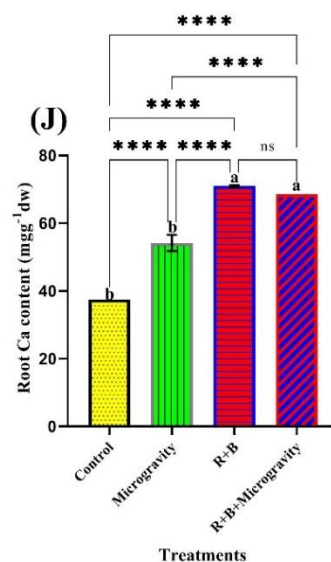
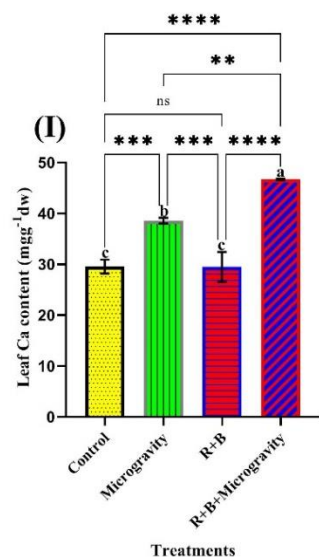
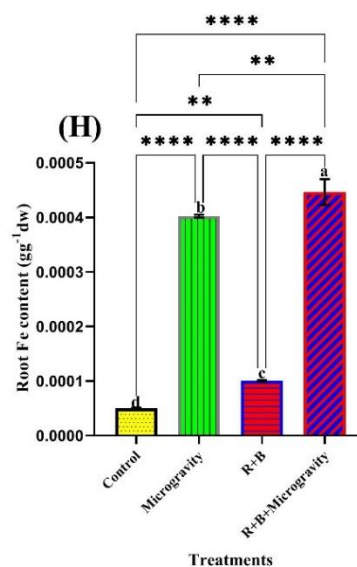
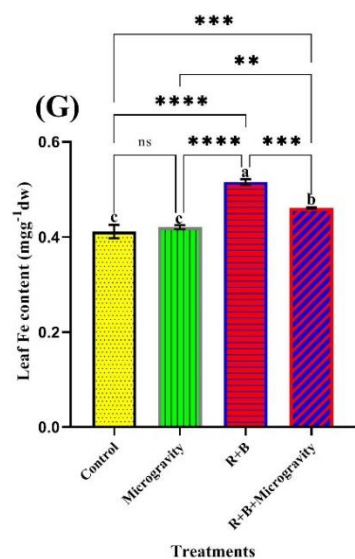


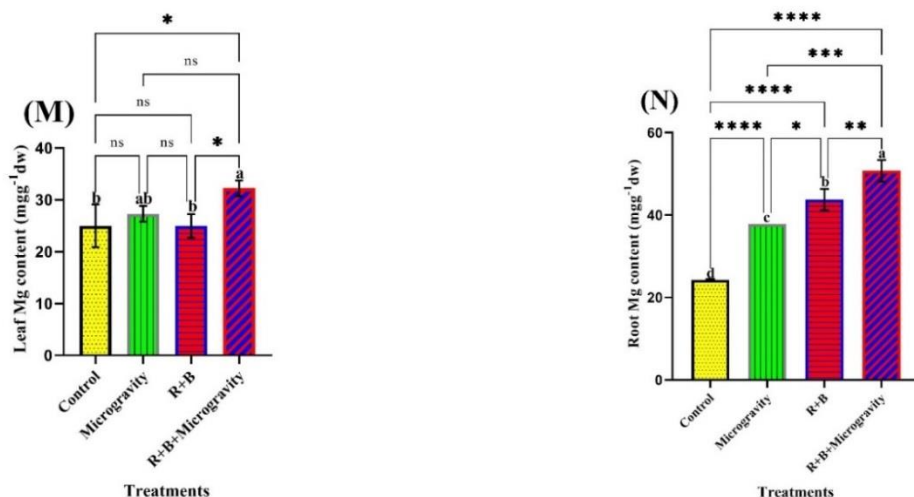
شکل ۵. غلظت مالون دی آلدئید (MDA) تیمارهای میکرو گراویتی و طیف نوری سفید و قرمز+ آبی Control : شاهد، Microgravity : ریز گرانش، R+B : طیف نور قرمز+آبی، R+B+Microgravity : ریز گرانش تحت طیف نوری قرمز+آبی (*: معنی دار در سطح احتمال ۵ یا کمتر از ۵ درصد، ns: بی معنی)

تحت تابش طیف نوری R+B بیشترین مقدار را در مقایسه با شاهد افزایش داد (شکل ۶ L). در برگ این گیاه تغییرهای غلظت منیزیم (Mg^{+2}) در بین تیمارهای مورد نظر به جزء در تیمار میکروگراویتی هم زمان با طیف نوری R+B نسبت به شاهد در سایر تیمارها از لحاظ آماری معنی داری ($P \leq 0.05$) نبود (شکل ۶ M). در ریشه مقدار منیزیم با تغییر کیفیت نور از سفید (شاهد) به قرمز+ آبی تفاوت معنی داری ایجاد کرد. همچنین تأثیر کاهش جاذبه، افزایش منیزیم را در سلول های ریشه تحت میکروگراویتی را نسبت به کنترل نشان دادند. بیشترین مقدار عنصر منیزیم ($28/9$ درصد) اندازه گیری شده در ریشه گیاه تحت تیمار هم زمان ریز جاذبه و طیف نور قرمز+ آبی در مقایسه با شاهد اندازه گیری شد (شکل ۶ N). با توجه به نقشه حرارتی (heatmap) ماتریکس هم بستگی، هم بستگی آماری متوسط تا قوی در بین آنزیم های آنتی اکسیدانی بررسی شده یافت شد. علاوه بر این عناصر، هم بستگی مثبت متوسطی با آنزیم های مورد مطالعه نشان دادند (شکل ۷).

شده در ریشه این گیاه در تمامی تیمارها افزایش معنی داری را در مقایسه با شاهد ایجاد کرد به طوری که بیشترین مقدار آهن در نمونه ریشه در تیمار میکروگراویتی تحت تابش نور قرمز+آبی ثبت شد (شکل ۶ H). غلظت کلسیم (Ca^{+2}) سنجش شده در برگ گیاه که تحت گروه های تیماری مختلف قرار گرفت نشان داد که در تیمارهای تحت جاذبه ناچیز، مقدار این عنصر نسبت به شاهد افزایش معنی داری ($P \leq 0.05$) را ایجاد می کند که این افزایش در نور R+B هم زمان با میکروگراویتی به شکل هم افزایی (۵۸ درصد) نسبت به شاهد بیش تر می شود (شکل ۶ I). ولی در ریشه در تمامی تیمارها افزایش معنی داری در مقایسه با کنترل ایجاد کرد. این در حالی است که بیشترین غلظت ($89/4$ درصد) در تیمار نور قرمز+ آبی نسبت به نمونه شاهد اندازه گیری شد (شکل ۶ J). مقدار پتاسیم (K^{+}) اندازه گیری شده در برگ در گروه های مختلف تیماری تفاوت معنی دار ایجاد نکرد (شکل ۶ K). ولی در ریشه در تیمار تحت تابش طیف نور قرمز+آبی و تیمار میکروگرانش تحت تابش طیف نوری قرمز+ آبی مقدار پتاسیم را در مقایسه با شاهد افزایش دادند ولی تیمار میکروگرانش







شکل ۶: مقدار تغییرهای عناصر معدنی در برگ و ریشه تحت تیمارهای ریز گرانش و کیفیت نور
Control: شاهد، Microgravity: ریز گرانش، R+B: طیف نور قرمز+آبی، R+B+Microgravity: ریز گرانش تحت طیف نوری قرمز+آبی
(*: معنی دار در سطح احتمال ۵ یا کمتر از ۵ درصد، ns: بی معنی)

جدول ۱. نتایج همبستگی (مثبت و منفی) بین میزان فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانی و غلظت عناصر در ریشه و برگ گیاه عروسک پشت پرده تحت تیمار ریز جاذبه و طیف نوری را نشان می دهد

	CAT leaf	CAT root	POD leaf	POD root	SOD leaf	SOD root	MDA	Cu Leaf	Cu root	Zn leaf	Zn root	Mn leaf	Mn root	Fe leaf	Fe root	Ca leaf	Ca root	K leaf	K root	Mg leaf	Mg root
CAT leaf	1.00	0.81	0.81	0.76	0.85	0.40	0.76	0.02	0.48	0.49	0.68	0.79	0.47	-0.16	0.89	0.90	0.32	0.21	0.66	0.71	0.56
CAT root	0.81	1.00	0.81	0.85	0.56	0.26	0.72	0.29	0.70	0.43	0.77	0.71	0.34	0.34	0.66	0.73	0.68	0.52	0.81	0.66	0.77
POD leaf	0.81	0.81	1.00	0.90	0.80	0.27	0.91	0.38	0.59	0.21	0.64	0.72	0.62	0.26	0.88	0.80	0.70	0.19	0.75	0.65	0.85
POD root	0.76	0.85	0.90	1.00	0.75	0.27	0.86	0.27	0.51	0.15	0.55	0.73	0.51	0.29	0.79	0.71	0.72	0.38	0.65	0.51	0.77
SOD leaf	0.85	0.56	0.80	0.75	1.00	0.34	0.84	-0.02	0.24	0.11	0.37	0.63	0.64	-0.31	0.96	0.84	0.22	-0.14	0.45	0.58	0.45
SOD root	0.40	0.26	0.27	0.27	0.34	1.00	0.46	0.44	0.23	-0.06	0.15	0.32	-0.02	-0.29	0.30	0.35	-0.06	-0.29	0.05	0.15	0.05
MDA	0.76	0.72	0.91	0.86	0.84	0.46	1.00	0.31	0.52	-0.06	0.50	0.66	0.60	0.08	0.88	0.76	0.53	23e-0	0.63	0.63	0.67
Cu Leaf	0.02	0.29	0.38	0.27	-0.02	0.44	0.31	1.00	0.54	-0.15	0.11	1.00	0.44	0.53	0.08	0.17	0.57	-0.05	0.31	0.03	0.55
Cu root	0.48	0.70	0.59	0.51	0.24	0.23	0.52	0.54	1.00	0.11	0.90	0.64	-0.12	0.45	0.47	0.66	0.70	0.44	0.91	0.60	0.82
Zn leaf	0.49	0.43	0.21	0.15	0.11	-0.06	-0.06	-0.15	0.11	1.00	0.44	0.33	0.24	0.05	0.13	0.27	0.10	0.45	0.28	0.21	0.19
Zn root	0.68	0.77	0.64	0.55	0.37	0.15	0.50	0.27	0.90	0.44	1.00	0.82	0.01	0.34	0.58	0.77	0.63	0.57	0.95	0.73	0.80
Mn leaf	0.79	0.71	0.72	0.73	0.63	0.32	0.66	0.10	0.64	0.33	0.82	1.00	0.18	0.14	0.75	0.79	0.54	0.50	0.77	0.71	0.69
Mn root	0.47	0.34	0.62	0.51	0.64	-0.02	0.60	-0.08	-0.12	0.24	0.01	0.18	1.00	-0.01	0.55	0.31	0.23	-0.18	0.16	0.18	0.28
Fe leaf	-0.16	0.34	0.26	0.29	-0.31	-0.29	0.08	0.53	0.45	0.05	0.34	0.14	-0.01	1.00	-0.15	-0.13	0.84	0.60	0.43	0.05	0.63
Fe root	0.89	0.66	0.88	0.79	0.96	0.30	0.88	0.08	0.47	0.13	0.58	0.75	0.55	-0.15	1.00	0.93	0.39	0.01	0.66	0.70	0.63
Ca leaf	0.90	0.73	0.80	0.71	0.84	0.35	0.76	0.17	0.66	0.27	0.77	0.79	0.31	-0.13	0.93	1.00	0.39	0.12	0.78	0.72	0.67
Ca root	0.32	0.68	0.70	0.72	0.22	-0.06	0.53	0.57	0.70	0.10	0.63	0.54	0.23	0.84	0.39	0.39	1.00	0.60	0.74	0.34	0.93
K leaf	0.21	0.52	0.19	0.38	-0.14	-0.29	23e-0	-0.05	0.44	0.45	0.57	0.50	-0.18	0.60	0.01	0.12	0.60	1.00	0.50	0.21	0.49
K root	0.66	0.81	0.75	0.65	0.45	0.05	0.63	0.31	0.91	0.28	0.93	0.77	0.16	0.43	0.66	0.78	0.74	0.50	1.00	0.76	0.88
Mg leaf	0.71	0.66	0.65	0.51	0.58	0.15	0.63	0.03	0.60	0.21	0.73	0.71	0.18	0.05	0.70	0.72	0.34	0.21	0.76	1.00	0.54
Mg root	0.56	0.77	0.85	0.77	0.45	0.05	0.67	0.55	0.82	0.19	0.80	0.69	0.28	0.63	0.63	0.67	0.93	0.49	0.88	0.54	1.00

بحث

موجودات به صورت دائمی تأثیرگذار است. تمام اعمال و سازوکارهای بیولوژیکی موجودات بر روی زمین تحت تأثیر این نیرو قرار دارد. بنابراین، شرایط کلینواست بر روی زمین

نیروی جاذبه تنها عامل دائمی جهت دار است که برخلاف سایر تنشها (زیستی و غیر زیستی)، روی رشد و نمو همه

یک شرایط شبیه سازی شده برای گیاهان ایجاد می کند که به وسیله آن می توان به مطالعه مکانیسم های موجود در گیاهان پرداخت و تأثیر فاکتورهای محیطی را بر آن ها بررسی نمود (۲۹). با توجه به ارزیابی های انجام گرفته در این مطالعه ریزجاذبه و طیف نور، تفاوت معنی دار و هم بستگی آماری متوسط تا قوی بر روی بیش تر صفات مورد بررسی ایجاد کرد (جدول ۱). با توجه به مطالعه Lionheart و همکاران (۵۳) ریز جاذبه بر روی وزن خشک ریشه و وزن تر زئوتیپ های مختلف گیاه *Medicago truncatula* اثر تحریکی را نشان داد که با ارزیابی های ما تحت ریز جاذبه، مطابقت نشان می دهد (شکل ۲ B و C). تغییر ناشی از ریزگرانش در ریشه ممکن است به مکانیسم های قابل توجهی مانند ۱- اسکلت سلولی (۲۵) ۲- پیشرفت چرخه سلولی (۲۶) ۳- متابولیسم هورمون ها (۲۷) نسبت داده شود. مطالعه انجام شده در شرایط کلینواست و تحت تابش طیف های نوری سفید و قرمز+ آبی بر روی رنگیزه های فتوسنتزی نشان داد که تغییر طیف نوری غلظت رنگیزه های فتوسنتزی را افزایش داد به طوری که بیش ترین میزان رنگیزه مربوط به دانه رست هایی بودند که در معرض طیف نوری R+B قرار داشتند. این در حالی است که میکروگروایتی تأثیر چندانی بر روی این رنگیزه ها نداشت (شکل ۳). یافته های Vandenbrink و همکاران (۲۰۱۹). نشان داد که چندین ژن مرتبط با فتوسنتز جزء ژن های پاسخ دهنده به ریزگرانش هستند. بیان ژن های دخیل در متابولیسم رنگدانه های فتوسنتزی روند کاهشی را در پاسخ به شرایط ریزگرانش نشان می دهد، که دلالت بر پیوندهای عرضی بالقوه بین شبکه های سیگنال دهی این دو عامل (گرانش و سیگنال های نور) دارد. شرایط ریزگرانش می تواند منجر به تغییر در متابولیسم اجزای فتوسیستم، فراساختار کلروپلاست و متابولیسم نشاسته شود (۲۸). آنزیم های POD و SOD آنزیم های مهم مرتبط با مقاومت گیاه هستند که می توانند رادیکال های آزاد گونه های اکسیژن فعال (ROS) را به منظور مقاوت در برابر آسیب ها پاک سازی کنند (۳۰). چنین تغییرهای فیزیولوژیکی به طور معمول زمانی اتفاق می افتد که گیاهان با شرایط نامطلوب مواجه شوند تنش هایی مانند خشکی (۳۱)، دمای پایین (۳۲)، آلودگی به وسیله فلزات سنگین (۳۳) و غیره. این مطالعه نشان داد که شرایط میکروگروایتی، یک شرایط تنشی را برای گیاهان عالی به وجود می آورد. تولید و از بین بردن رادیکال های آزاد در سلول های گیاهی در شرایط عادی در حالت تعادل قرار دارد ولی هنگامی که گیاهان دچار استرس نامطلوب شوند، مقدار زیادی رادیکال آزاد اکسیژن تولید می شود. تجمع بیش از حد

رادیکال های آزاد باعث آسیب به سیستم غشایی، پروتئین و DNA می شود (۳۴). در این مطالعه فعالیت آنزیم های CAT، POD و SOD در برگ و به میزان کمتری در ریشه عروسک پشت پرده در شرایط ریزجاذبه به طور معنی داری افزایش یافت. در نمونه برگ، تغییرهای فعالیت آنزیم POD و SOD بیش تر از CAT بود که نشان می دهد آنزیم POD و SOD نسبت به محیط میکروگروایتی حساس تر است. این نتایج با نتایج پژوهش های Baranenkov VV (۲۰۰۱) و Chen Y (۲۰۱۵) مطابقت نشان می دهد (۳۴،۳۶). در ریشه، آنزیم POD حساسیت بیش تری را نسبت به فعالیت آنزیم CAT نشان داد ولی فعالیت SOD در ریشه اختلاف معنی داری نشان نداد. از طرفی کیفیت نور نتوانست به عنوان یک شرایط تنشی قوی تر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی را در مقایسه با شرایط کلینواست تغییر دهد (شکل ۴). مالون دی آلدئید که شاخصی از پراکسیداسیون لیپید (lipid peroxidation) است، منجر به اختلال در یکپارچگی غشاء سلولی می شود (۳۵) این پژوهش با هدف اینکه غشاء سلولی این گیاه دارویی تا چه اندازه به گرانش و کیفیت نور واکنش نشان می دهد غلظت MDA در شرایط کلینواست و کیفیت طیف نوری بعد از مدت هفت روز بررسی شد. نتایج نشان داد (شکل ۵) که تحت استرس میکروگروایتی محتوای MDA به طور معنی داری افزایش می یابد ولی تحت تیمار طیف نوری R+B تفاوت معنی داری ایجاد نمی کند. این افزایش محتوای MDA برای جلوگیری از آسیب پراکسیداتیو در پاسخ به تخریب است. افزایش پراکسیداسیون لیپید همراه با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی به عنوان یک پاسخ سازشی است. تولید بیش تر رادیکال های آزاد تحت گرانش ناچیز نشانه تغییر در اسیدهای چرب و لیپیدها در غشاء پلاسمایی است که باعث تغییر سیالیت غشاء پلاسمایی می شوند. بنابراین فعال سازی اکسیداسیون رادیکال های آزاد ممکن است مشخص کننده تغییرهای متابولیکی سلول تحت تغییر گرانش باشد و موجب القای تمایز و پیری در سلول ها شود. این مطالعه با پژوهش Baranenkov VV (۲۰۰۱) مطابقت دارد (۳۶). عناصر معدنی در بدن انسان وظایف زیادی را برعهده دارند. مقدار این عناصر در رژیم غذایی انسان بسیار کم هستند و به خاطر همین این عناصر ضروری نامیده می شوند (۳۹) و بر این اساس طبقه بندی می شوند. منیزیم، کلسیم، پتاسیم، سدیم به عنوان عناصر پر مصرف، در حالی که آهن و روی به عنوان ریز مغزی در نظر گرفته می شوند (۳۸). وجود این عناصر برای نمو و حفظ عملکردهای حیاتی بدن، در تمام جنبه های

رشد، سلامت و تولید مثل و همچنین مشارکت در تشکیل سلول‌ها، بافت‌ها و اندام‌ها مورد نیاز هستند (۳۸). میوه‌ها و سبزیجات منابع ارزشمندی از مواد معدنی هستند. رژیم‌های غذایی سرشار از میوه‌ها و سبزیجات با کاهش خطر بیماری‌های مرتبط با دیابت و سرطان همراه است (۳۹). میوه فیزیالیس حاوی آهن، فسفر و پتاسیم است. در انسان این عناصر به ترتیب در رابطه با تأمین آهن با منشاء گیاهی با عملکرد بیولوژیکی آهن در انتقال اکسیژن به سلول‌ها و هم-چنین به عنوان اجزای اصلی اسکلت و عملکردهای متابولیسمی مهم مرتبط با عملکرد ماهیچه‌ها، هورمون‌ها و تحریک عصبی نقش دارند (۳۷). پتاسیم هم در عملکردهای فیزیولوژیکی بسیار مهم است. به گفته Wu و همکاران (۲۰۰۵) عنصر روی (Zn) به عنوان یک ماده معدنی است که به عنوان یک آنتی اکسیدان غیر آنزیمی عمل می‌کند، به طوریکه مصرف آن به جلوگیری از آسیب اکسیداتیو سلول کمک می‌کند (۴۰). Repo (۲۰۰۸) وجود این ریز مغزی را در فیزیالیس گزارش کرد (۴۱). پژوهش‌های قبلی در مأموریت‌های مختلف شاتل-های فضایی و شرایط زمینی (کلینواست) در مدت زمان‌های مختلف بر روی میزان عناصر انجام شده است که نتایج متفاوتی گزارش شده است. ولی مطالعه‌های زیادی در رابطه با اثر تشعشعات فضایی بر روی زمین در رابطه با انتقال آب و املاح انجام نشده است (۴۷). در پاسخ به گروه‌های مختلف تیماری مقدار عنصر روی در ریشه به طور معنی‌داری افزایش یافت در حالی‌که در برگ در بین گروه‌های تیماری معنی‌دار نبود (شکل ۶ C و D). این نتایج با نتایج Mouhamad RS و همکاران (۲۰۱۹) بر روی گیاه جو (به مدت ۹۶ ساعت تحت کلینواست با rpm برابر با ۴۰) مطابقت دارد (۵۱). علاوه بر این باتوجه به شکل ۷، عنصر روی هم‌بستگی مثبت با آنزیم-های آنتی اکسیدانی مورد مطالعه نشان می‌دهد که تأییدی بر نقش آن به عنوان یک آنتی اکسیدان غیر آنزیمی دارد. طبق پژوهش حاضر همان‌طور که در شکل I و J نشان داده شده است مقدار کلسیم در شرایط کلینواست و طیف نوری بر روی برگ و ریشه گیاه فیزیالیس به طور معنی‌داری افزایش یافته است که با مطالعه‌ای که توسط Kordyum و همکاران (1984) و Belyavskaya (۱۹۸۴) در ایستگاه فضایی Salyut 6 انجام شده را تأیید می‌کند (۴۲، ۴۳). در این آزمایش گیاهچه‌های نخود به مدت ۵ روز تحت بی‌وزنی شبیه‌سازی شده قرار گرفت که نشان داد سطح کلسیم در سلول‌های ریشه افزایش می‌یابد. کلسیم به عنوان نوعی پیام رسان ثانوی برای درک و پاسخ به گرانش عمل می‌کند. اگرچه درک و ساز و کار کلسیم در پاسخ به گرانش هنوز مشخص نیست، ولی حرکت کلسیم در دیواره سلولی می‌تواند در تنظیم رشد نقش داشته باشد. هم‌چنین کلسیم آزاد درون

سلولی ممکن است سبب علامت‌دهی استاتوسیت‌ها در پاسخ به تغییر جهت گرانش شود (۴۵). اعمال چند ثانیه گرانش ناچیز سطح کلسیم سیتوزولی را به طور هم‌زمان افزایش می‌دهد (۴۶). نتایج این پژوهش در رابطه با عنصر کلسیم با مطالعه‌های قبلی که اشاره شد هم‌سو است. اندازه‌گیری مقدار پتاسیم در گروه‌های مختلف تیماری در برگ‌ها تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرد (شکل ۶ K) این نتایج با نتایج Levine و Krikorian (۲۰۰۸) در شاتل فضایی (مأموریت STS-29) کاهش دو برابری محتوای پتاسیم در *Haplopappus gracilis* و *Rapeseed (Brassica rapa L.)* هم‌خوانی دارد (۴۴). مقدار پتاسیم در ریشه در تیمار میکروگراویتی تحت تابش R+B بیش‌ترین مقدار را نشان داد (شکل ۶ L) که این نتایج با نتایج پژوهش Gordeev و Nechitailo (۲۰۰۱) که بر روی نخود و گندم به مدت ۲۵ روز در ایستگاه فضایی میر و هم‌چنین آزمایش‌های زمینی مطابقت دارد (۴۸). افزایش جذب پتاسیم در ریشه می‌تواند به دلیل افزایش مقدار بافت ریشه و یا اثر میکروگرانش بر روی تغییر در سنتتیک جذب توسط ریشه باشد (۴۷) که می‌تواند نتایج به-دست آمده در این مطالعه را پشتیبانی کند. در مأموریت فضایی STS-94 که در سال ۱۹۷۷ به مدت ۱۶ روز بر روی گیاه *Catharanthus roseus* انجام شد نشان داد که جذب آهن و کلسیم شبیه به نمونه‌های کنترل زمینی هستند (۴۹). ولی با توجه به نتایج به دست آمده در شرایط شبیه‌سازی شده ما در مدت ۷ روز جذب آهن در ریشه به شدت افزایش پیدا کرد (شکل ۶ H) در حالی‌که مقدار این عنصر در برگ‌ها علاوه بر ریز جاذبه بیش-تر وابسته به کیفیت نور بود که بیش-ترین مقدار مربوط به تیمار طیف نوری R+B ثبت شد (شکل ۶ G). چند مطالعه نشان می‌دهد که اشعه UV-B ممکن است بر روی جذب عناصر تأثیرگذار باشد (۴۷). بر روی سویا (*Glycine max*) افزایش این تشعشعات باعث کاهش محتوای پتاسیم، کلسیم و منیزیم در ریشه و برگ‌ها می‌شود (۵۰). نتایج این تحقیق در مورد میزان تغییرهای غلظت مس نشان داد که میکروگراویتی تحت طیف نوری قرمز+آبی در جذب این عنصر در ریشه به شدت کمک می‌کند ولی در نمونه برگ تفاوت معنی‌داری در گروه‌های مختلف تیماری ایجاد نمی‌کند (شکل ۶ A و B). میزان غلظت منیزیم در تیمارهای میکروگراویتی تحت طیف‌های مختلف نوری نشان داد که جاذبه ناچیز جذب منیزیم را افزایش می‌دهد (شکل ۶ M و N) این نتیجه با پژوهشی که مقدار جذب منیزیم بر روی برنج در شرایط کلینواست انجام شده بود هم‌خوانی دارد (۵۱). نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که جذب عنصر منگنز در ریشه در شرایط ریزجاذبه نسبت به شاهد در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود ولی در برگ در تیمار

میکروگراویتی تحت تابش R+B تغییر افزایش معنی داری را نسبت به کنترل مشاهده شد (شکل ۶ E و F). نتایج جذب Mn که توسط Polinski E (۲۰۱۷) در شرایط کلینواستت (rpm برابر با ۶۰) بر روی گیاه آراییدوپسیس به دست آمد تفاوت معنی داری را نشان نداد (۵۲). به طور کلی شرایط جاذبه تأثیر متفاوتی بر جذب عناصر دارد. مکانیسم های ممکن برای چنین اثرهایی می تواند شامل کاهش تعرق، تغییر موقعیت کانال ها و یا نقل و انتقال مواد باشد. عدم تعادل مواد مغذی مشاهده شده ممکن است تأثیر منفی بر رشد گیاه در شرایط کلینواستت یا مأموریت های فضایی داشته باشد (۵۲).

نتیجه گیری

با توجه به این که شرایط، ریز گرانش شبیه سازی شده و طیف نوری به عنوان یک الیسیستور غیرزیستی عمل می کند. تأثیر این عوامل می تواند سبب افزایش بیوماس گیاه فیزالیس شود. ریز گرانش تأثیری چندانی بر رنگیزه های فتوسنتزی ندارد ولی طیف نوری قرمز+آبی مقدار کلروفیل a, b و کاروتنوئیدها را افزایش می دهد. میکروگراویتی با توجه به این که می تواند یک شرایط تنشی را برای گیاه ایجاد کند میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی را افزایش دهد و همچنین سبب افزایش محتوای MDA برای جلوگیری از آسیب پراکسیداتیو در پاسخ به تخریب شود. به وسیله ریز گرانش و تغییر طیف نوری می توان غلظت برخی عناصر را در ریشه و برگ افزایش یا کاهش داد. این تحقیق شواهدی را فراهم می کند که می تواند دانش ما را در زمینه زیست فضا افزایش دهد. پیشنهاد می شود مطالعه های تکمیلی در زمینه های مختلف با توجه به مدت زمان اعمال جاذبه ناچیز، سرعت چرخش، نوع دستگاه کلینواستت و استفاده هم زمان از طیف های نوری مختلف در خصوص پاسخ گیاه به این شرایط تنشی انجام شود.

سپاسگزاری

نگارندگان این مقاله از زحمات کارکنان آزمایشگاه رازی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، قدردانی می نمایند.

1. Tuominen LK, Levine LH, Musgrave ME. Plant secondary metabolism in altered gravity. In: *Protocols for In Vitro Cultures and Secondary Metabolite Analysis of Aromatic and Medicinal Plants 2009* (pp. 373-386). Humana Press, Totowa, NJ.
2. Zabel P, Bamsey M, Schubert D, Tajmar M. Review and analysis of over 40 years of space plant growth systems. *Life Sci. Space Res.* 2016 Aug 1;10:1-6.
3. Sathasivam, M., Hosamani, R. and Swamy, B.K. Plant responses to real and simulated microgravity. *Life Sci. Space Res.* 2021 28, pp.74-86.
4. Calvaruso M, Militello C, Minafra L, La Regina V, Torrisi F, Pucci G, Cammarata FP, Bravatà V, Forte GI, Russo G. Biological and Mechanical Characterization of the Random Positioning Machine (RPM) for Microgravity Simulations. *Life.* 2021 Nov;11(11):1190.
5. Topolski, C.R. Validation of a Two-Dimensional Clinostat Design to Provide Functional Weightlessness to Custom Gas Exchange Vessels. 2021.
6. Sønsteby A, Opstad N, Heide OM. Environmental manipulation for establishing high yield potential of strawberry forcing plants. *Sci. Hortic.* 2013 Jun 20;157:65-73.
7. Marcuvitz S, Turkington R. Differential effects of light quality, provided by different grass neighbours, on the growth and morphology of *Trifolium repens* L.(white clover). *Oecologia.* 2000 Oct;125(2):293-300.
8. Bantis F. Light Spectrum Differentially Affects the Yield and Phytochemical Content of Microgreen Vegetables in a Plant Factory. *Plants.* 2021 Oct;10(10):2182.
9. Figueiredo MC, Passos AR, Hughes FM, dos Santos KS, da Silva AL, Soares TL. Reproductive biology of *Physalis angulata* L.(Solanaceae). *Sci. Hortic.* 2020 Jun 1;267:109307.
10. Hassanien MF. *Physalis peruviana*: a rich source of bioactive phytochemicals for functional foods and pharmaceuticals. *Food Rev. Int.* 2011 Jul 1;27(3):259-73.
11. Gulesci N, Yücebiligic G, Bilgin R. Review on Evaluation of *Physalis peruviana* L.'s Antioxidant, Antimicrobial and Biochemical Activities. 2021
12. Gallagher RJ, Subramanian C, Grogan PT, Kindscher K, Cao CM, Zhang H, Cohen MS, Timmermann BN. The therapeutic potential of *Physalis longifolia* against various carcinomas. *Pharmanutrition.* 2015 Oct 1;3(4):146-52.
13. Hoshani, Miyanabadi, Aqdasi, Mohseni A, Investigation of antioxidant activities of methanolic extract of *Physalis alkekengi* at different stages of growth. *Plant Biology of Iran.* February 19, 2013; 4(14): 101-114
14. Wang A, Wang S, Zhou F, Li P, Wang Y, Gan L, Lin L. Physalin B induces cell cycle arrest and triggers apoptosis in breast cancer cells through modulating p53-dependent apoptotic pathway. *Biomed. Pharmacother.* 2018 May 1;101:334-41.
15. Gallagher RJ, Subramanian C, Grogan PT, Kindscher K, Cao CM, Zhang H, Cohen MS, Timmermann BN. The therapeutic potential of *Physalis longifolia* against various carcinomas. *Pharmanutrition.* 2015 Oct 1;3(4):146-52.
16. Proietti P, Nasini L, Del Buono D, D'Amato R, Tedeschini E, Businelli D. Selenium protects olive (*Olea europaea* L.) from drought stress. *Sci. Hortic.* 2013 Dec 17;164:165-71.
17. Mansoor S, Ali Wani O, Lone JK, Manhas S, Kour N, Alam P, Ahmad A, Ahmad P. Reactive Oxygen Species in Plants: From Source to Sink. *Antioxidants.* 2022 Feb;11(2):225.

18. Hassanpour H, Ghanbarzadeh M. Induction of cell division and antioxidative enzyme activity of *Matricaria chamomilla* L. cell line under clino-rotation. *PCTOC*. 2021 Aug;146(2):215-24.
19. Pereira GJ, Molina SM, Lea PJ, Azevedo RA. Activity of antioxidant enzymes in response to cadmium in *Crotalaria juncea*. *Plant Soil*. 2002 Feb;239(1):123-32.
20. Abeles FB, Biles CL. Characterization of peroxidases in lignifying peach fruit endocarp. *Plant Physiol*. 1991 Jan;95(1):269-73.
21. MacFarlane GR, Pulkownik A, Burchett MD. Accumulation and distribution of heavy metals in the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh.: biological indication potential. *Environmental Pollution*. 2003 May 1;123(1):139-51.
22. Alexieva V, Sergiev I, Mapelli S, Karanov E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant Cell Environ*. 2001 Dec;24(12):1337-44.
23. Iranbakhsh,., Oraghi Ardabili, Z. Principles, concepts and laboratory methods in biology. Publishers . Of Islamic Azad University, Mahshahr Branch. 2004 May. Page 115.
24. Kramer GF, Norman HA, Krizek DT, Mirecki RM. Influence of UV-B radiation on polyamines, lipid peroxidation and membrane lipids in cucumber. *Phytochemistry*. 1991 Jan 1;30(7):2101-8.
25. Soga K, Yamazaki C, Kamada M, Tanigawa N, Kasahara H, Yano S, Kojo KH, Kutsuna N, Kato T, Hashimoto T, Kotake T. Modification of growth anisotropy and cortical microtubule dynamics in *Arabidopsis* hypocotyls grown under microgravity conditions in space. *Physiol. Plant*. 2018 Jan;162(1):135-44.
26. Kamal KY, van Loon JJ, Medina FJ, Herranz R. Differential transcriptional profile through cell cycle progression in *Arabidopsis* cultures under simulated microgravity. *Genomics*. 2019 Dec 1;111(6):1956-65.
27. Xu P, Chen H, Jin J, Cai W. Single-base resolution methylome analysis shows epigenetic changes in *Arabidopsis* seedlings exposed to microgravity spaceflight conditions on board the SJ-10 recoverable satellite. *NPJ Microgravity*. 2018 Jul 12;4(1):1-1.
28. Vandenbrink JP, Herranz R, Poehlman WL, Alex Feltus F, Villacampa A, Ciska M, Javier Medina F, Kiss JZ. RNA-seq analyses of *Arabidopsis thaliana* seedlings after exposure to blue-light phototropic stimuli in microgravity. *Am. J. Bot*. 2019 Nov;106(11):1466-76.
29. Herranz R, Medina FJ. Cell proliferation and plant development under novel altered gravity environments. *Plant Biol*. 2014 Jan;16:23-30.
30. Nikraves F, Khavari-Nejad RA, Rahimian H, Fahimi H. Study of antioxidant enzymes activity and isozymes pattern in hairy roots and regenerated plants in *Nicotiana tabacum*. *Acta Physiol. Plant*. 2012 Mar;34(2):419-27.
31. Wang S, Liang D, Li C, Hao Y, Ma F, Shu H. Influence of drought stress on the cellular ultrastructure and antioxidant system in leaves of drought-tolerant and drought-sensitive apple rootstocks. *Plant Physiol. Biochem*. 2012 Feb 1;51:81-9.
32. Ristic Z, Ashworth EN. Changes in leaf ultrastructure and carbohydrates in *Arabidopsis thaliana* L.(Heyn) cv. Columbia during rapid cold acclimation. *Protoplasma*. 1993 Jun;172(2):111-23.
33. Chang ML, Chen NY, Liao LJ, Cho CL, Liu ZH. Effect of cadmium on peroxidase isozyme activity in roots of two *Oryza sativa* cultivars. *Bot. Stud*. 2012 Jan 1;53(1).

34. Chen Y, Lu J, Li H, Sun Q, Zhao Y, Su L, Liu M. Effects of spaceflight and simulated microgravity on cell sub-microstructure and antioxidant enzyme activity in tomato. *Sci. China Technol. Sci.* 2015 Feb;58(2):338-45.
35. Candan N, Tarhan L. Tolerance or sensitivity responses of *Mentha pulegium* to osmotic and waterlogging stress in terms of antioxidant defense systems and membrane lipid peroxidation. *Environ. Exp. Bot.* 2012 Jan 1;75:83-8.
36. Baranenko VV. PEA chloroplasts under clino-rotation: lipid peroxidation and superoxide dismutase activity. *Adv. Space Res.* 2001 Jan 1;27(5):973-6.
37. Latham MC. *Nutrición humana: en el mundo en desarrollo*. New York, NY, USA: fao; 2002.
38. Szefer P, Nriagu JO, editors. *Mineral components in foods*. CRC Press; 2006 Nov 29.
39. Leterme P, Buldgen A, Estrada F, Londoño AM. Mineral content of tropical fruits and unconventional foods of the Andes and the rain forest of Colombia. *Food Chem.* 2006 Apr 1;95(4):644-52.
40. Wu SJ, Ng LT, Huang YM, Lin DL, Wang SS, Huang SN, Lin CC. Antioxidant activities of *Physalis peruviana*. *Biol. Pharm. Bull.* 2005;28(6):963-6.
41. Repo de Carrasco R, Encina Zelada CR. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. *Revista de la sociedad química del Perú.* 2008 Apr;74(2):108-24.
42. Belyavskaya NA. Free and membrane-bound calcium in microgravity and microgravity effects at the membrane level. *Adv. Space Res.* 1996 Jan 1;17(6-7):169-77.
43. Kordyum EL, Belyavskaya NA, Nedukha EM, Palladina TA, Tarasenko VA. The role of calcium ions in cytological effects of hypogravity. *Adv. Space Res.* 1984 Jan 1;4(12):23-6.
44. Levine HG, Krikorian AD. Changes in plant medium composition after a spaceflight experiment: Potassium levels are of special interest. *Adv. Space Res.* 2008 Sep 15;42(6):1060-5.
45. Leitz G, Kang BH, Schoenwaelder ME, Staehelin LA. Statolith sedimentation kinetics and force transduction to the cortical endoplasmic reticulum in gravity-sensing *Arabidopsis columella* cells. *The Plant Cell.* 2009 Mar;21(3):843-60.
46. Hausmann N, Fengler S, Hennig A, Franz-Wachtel M, Hampp R, Neef M. Cytosolic calcium, hydrogen peroxide and related gene expression and protein modulation in *Arabidopsis thaliana* cell cultures respond immediately to altered gravitation: parabolic flight data. *Plant Biology.* 2014 Jan;16:120-8.
47. Wolff SA, Coelho LH, Zabrodina M, Brinckmann E, Kittang AI. Plant mineral nutrition, gas exchange and photosynthesis in space: A review. *Adv. Space Res.* 2013 Feb 1;51(3):465-75.
48. Nechitailo G, Gordeev A. Effect of artificial electric fields on plants grown under microgravity conditions. *Adv. Space Res.* 2001 Jan 1;28(4):629-31.
49. Heyenga AG, Forsman A, Stodieck LS, Hoehn A, Kliss M. Approaches in the determination of plant nutrient uptake and distribution in space flight conditions. *Adv. Space Res.* 2000 Jan 1;26(2):299-302.
50. Peng Q, Zhou Q. Effects of enhanced UV-B radiation on the distribution of mineral elements in soybean (*Glycine max*) seedlings. *Chemosphere.* 2010 Feb 1;78(7):859-63.
51. Mouhamad RS, Atiyah AH, Hasan AF, Elkaaby EA. Changes in Macro Elements Content in Plant Tissues Subjected to Clinostat. *J Rice Res.* 2019;7(209):2.

52. Polinski E, Schueler O, Krause L, Wimmer MA, Hemmersbach R, Goldbach HE. 2-D clinorotation alters the uptake of some nutrients in *Arabidopsis thaliana*. J. Plant Physiol. 2017 May 1;212:54-7.
53. Lionheart G, Vandenbrink JP, Hoeksema JD, Kiss JZ. The impact of simulated microgravity on the growth of different genotypes of the model legume plant *Medicago truncatula*. Microgravity Science and Technology. 2018 Aug;30(4):491-502.
54. Arnon Daniel, I. 1949. Copper enzzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidas in *Beta vulgaris*. Plantphysiology24: 1-15. Daniel, I. Copper enzzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidas in *Beta vulgaris*. Plantphysiology. 1949(24): 1-15.

