رشد، رنگیزه های برگ و فتوسنتز گیاه شلغم (*Brassica rapa L.*) تحت کمبود بور و شدت های مختلف نور

رقیه حاجی بلند* فرشته فرهنگی
گروه زیست شناسی گیاهی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز
*مسئول مکاتبات- آدرس الکترونیکی: *ehsan@tabrizu.ac.ir*
(دریافت: ۸۸/۱۰/۷؛ پذیرش: ۸۹/۲/۱۲)

چکیده

به منظور مطالعه اثر کمبود بور بر رشد، مقدار رنگیزه ها و فتوسنتز، گیاه شلغم (*Brassica rapa* L.) در سه شرایط نوری متفاوت شامل ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه در محیط هیدروپونیک با غلظت کافی (۲۵ میکرومولار) و پائین (۲/۵ میکرومولار) از بور در شرایط کنترل شده به مدت یک ماه رشد داده شد. ماده خشک اندام هوائی و ریشه در شرایط کمبود بور بترتیب تا ۷۹٪ و ۸۲٪ کاهش یافت. جبران عرضه بور در هفته آخر رشد تا حد زیادی رشد را به گیاهان شاهد نزدیک کرد. تحت تاثیر افزایش شدت روشنائی نه تنها تولید ماده خشک بلکه جذب بور نیزافزایش یافت. کاهش رشد ناشی از کمبود بور در گیاهان رشد یافته در شدت های نور بالاتر بیش از گیاهان رشد یافته در شدتهای پائین نور بود. مقدار کلروفیل و کاروتنوئید های برگ تحت کمبود بور کاهش یافت لیکن مقدار آنتوسیانین های برگ و نیز ترکیبات فنلی آزاد در هر دو اندام هوائی و ریشه افزایش چشمگیری نشان داد. واکنشهای فتوشیمیائی برگ چندان تحت تاثیر کمبود بور قرار نگرفت، ولی برعکس هدایت روزنه ها بشدت در گیاهان دچار کمبود بور کاهش یافت که موجب کاهش تثبیت خالص کربن دی اکسید و تا حدی تعرق گردید. علیرغم کاهش قابل توجه در شدت فتوسنتز، قند های محلول و نشاسته در هر دو اندام هوائی و ریشه در شرایط کمبود بور انباشته گردید که احتمالا بترتیب انعکاسی از کاهش بارگیری قند ها از برگ های فتوسنتزی و نیز کاهش مصرف فرآورده های فتوسنتزی بدنبال کاهش رشد بوده است.

واژه های کلیدی: گیاه شلغم، کمبود بور، شدت های مختلف نور، فتوسنتز، ترکیبات فنلی

مقدمه

بور یکی از عناصر کم مصرف ضروری برای رشد گیاهان عالی است ولی سازو کارهای تاثیر این عنصر بر فیزیولوژی و متابولیسم گیاهان هنوز بطور کامل دانسته نشده است. نقش های فیزیولوژیک متعددی برای این عنصر پیشنهاد شده است از جمله شرکت در ساختمان دیواره سلولی، تاثیر بر متابولیسم و نقل و انتقال قندها و تاثیر بر متابولیسم فنل ها و تشکیل لیگنین (Brown *et al.* 2002). اثر مستقیم این عنصر بر رشد سلولی و تمایز در مریستم ها را به نقش این عنصر در ساختمان و عملکرد دیواره و غشا نسبت داده اند (O'Neil *et al.* 2004).

بنظر می رسد نقش بور در ساختمان دیواره، به تنهائی توجیه کننده نقش این عنصر در فیزیولوژی گیاهان عالی نیست زیرا طیف بسیار وسیعی از تغییرات متابولیسمی در شرایط کمبود بور ظاهر میشود که ارتباط ضعیفی با ساختمان و عملکرد دیواره دارند. در توجیه این تاثیرات، بسیاری از محققین اثرات کمبود بور را به نقش غیر مستقیم کمبود این عنصر نسبت داده اند (Cakmak & Römheld 1997). امروزه شواهدی دال بر ایفای نقش علامتی برای بور یافت شده است (González-Fontes *et al.* 2008).

عموما وضعیت تغذیه ای یک عنصر در گیاه بر روی شدت تحمل تنش های مختلف موثر است (Marschner 1995). با توجه به اثرات گسترده کمبود عناصر بر روی متابولیسم گیاهان، انتظار می رود گیاهان دچار کمبود، متفاوت از گیاهان تغذیه شده با مقادیر کافی عناصر به عوامل تنش زای محیطی پاسخ دهند. این موضوع خصوصا در مورد کمبود بور بدلیل طیف وسیع تغییرات متابولیسمی از تغییر در سنتز قند ها تا متابولیسم فنل ها صادق است وانتظار می رود پاسخ گیاهان دچار کمبود بور به تنش های محیطی از گیاهان تغذیه شده با مقادیر کافی این عنصر متمایز باشد. بررسی این تفاوتها احتمالا میتواند در مورد سازوکارهای عمل این عنصر نکاتی را روشن نماید.

شدت های مختلف نور بدلیل اثری که بر سنتز فرآورده های قندی می گذارند، می توانند رشد و تحمل تنش ها را تحت تاثیر قرار دهند. از سوی دیگر، بدلیل اثر کمبود بور بر فتوسنتز و متابولیسم قند ها (Cakmak & Römheld 1997) بررسی اثر این کمبود تحت شدت های مختلف نور می تواند اطلاعاتی را در مورد سازوکار این تاثیر در اختیار محققین قرار دهد. شدت های مختلف نور بر روی متابولیسم ترکیبات فنلی از جمله آنتوسیانین ها نیز موثر است (Anderson & Jordheim 2005)، ترکیباتی که خود تحت تاثیر وضعیت تغذیه ای بور نیز قرار می گیرند.

گونه های مختلف گیاهی حساسیت متفاوتی به کمبود بور از خود نشان می دهند. گیاه شلغم (*Brassica rapa* L.) یک گونه حساس به کمبود بور معرفی شده و اولین گزارش های کمبود بور در گیاهان زراعی مربوط به این گیاه است (Shorrocks 1997). با اینحال مطالعات فیزیولوژیکی عمدتا بر روی دیگر گونه های زراعی از جمله گندمیان متمرکز شده است.

هدف از بررسی حاضر، مطالعه اثرات کمبود بور در گیاهان شلغم رشد یافته در شرایط متفاوت نوری است. علاوه بر بررسی تولید ماده خشک، فتوسنتز از دو دیدگاه فتوشیمی برگ و تبادل گاز مورد مطالعه قرار گرفته است. انباشتگی فرآورده های فتوسنتزی و ترکیبات فنلی نیز بررسی گردیده است.

مواد و روش ها

کشت گیاهان و اعمال تیمار ها

بذر گیاه شلغم (*Brassica rapa* L.) که از نوع وارداتی بود از بازار تهیه گردید. بذور به مدت ۵ الی ۷ دقیقه، با استفاده از هیپو کلریت سدیم تجاری ۵٪ ضدعفونی شده، سپس به دفعات با آب مقطر شستشو داده شدند. بذور ضدعفونی شده بر روی کاغذ صافی مرطوب و در تاریکی جهت جوانه زنی قرار گرفتند. بذرها هر روز با سولفات کلسیم ۰/۰۵ میلی مولار محلول پاشی شدند. مدت زمان لازم جهت جوانه زنی ۶ روز بود.

پس از ظهور برگ اولیه، دانه رست‌های جوان به مدت ۲۴ ساعت به روشنایی انتقال یافته و پس از سبز شدن برگ‌ها، به محیط تیمار انتقال داده شدند. گیاهان در سه تیمار شامل شاهد (۲۵ میکرومولار بور)، کمبود (۲/۵ میکرومولار بور، که بدلیل وجود ناخالصی های مواد و آب در محیط کشت بود) و جبران (افزودن ۲۵ میکرومولار بور در هفته پایان رشد به محیط گیاهان رشد یافته در ۲/۵ میکرومول بور) در محیط پایه هوگلند (Johnson *et al.* 1957) رشد داده شدند. تیمار شدت نور شامل ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرو مول بر متر مربع بر ثانیه همزمان با تیمار عنصری اعمال شد. گیاهان در اتاق رشد با شرایط دمائی ۲۳-۲۰ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۸۰-۷۰ درصد و در دوره روشنائی/ تاریکی ۷/۱۷ ساعته نگهداری شدند. محلول غذایی هر هفته یک بار تعویض و pH آن روزانه، بر روی ۶ تنظیم شد.

گیاهان ۲۳ روز پس از تیمار برداشت شدند. نمونه‌های اندام هوائی و ریشه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند، سپس وزن خشک آنها تعیین گردید. جهت اندازه‌گیری عنصر بور، ابتدا بر روی نمونه‌ها هیدروکسید کلسیم اشباع اضافه شده و در زیر هود در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد به مدت یک ساعت تا خشک شدن حرارت داده شدند. سپس نمونه ها در کوره الکتریکی در دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت خاکستر شدند. پس از انحلال در هیدروکلریک اسید و رساندن نمونه ها به حجم با استفاده از آب مقطر، مقدار روی در نمونه‌ها توسط روش آزومتین H (Lohse 1982) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر سنجش گردید.

گروه دیگری از گیاهان برای سنجش فلوئورسانس کلروفیل و تبادل گاز مورد استفاده قرار گرفته سپس برای سنجش رنگیزه ها و قند های غیر ساختاری برداشت شدند. بدلیل برخی محدودیت ها تعدادی از سنجش ها در مورد گیاهان مربوط به تیمار جبران انجام نشد. برای اندازه‌گیری فلوئورسانس کلروفیل و پارامترهای تبادل گاز از سومین برگ جوان استفاده شد.

سنجش پارامتر های فلوئورسانس کلروفیل

جهت تعیین فلوئورسانس کلروفیل، از دستگاه فلوئورسانس سنج (OPTI-SCIENCES, ADC, UK) استفاده گردید. پارامتر های فلوئورسانس کلروفیل در برگهای سازش یافته با تاریکی شامل F_0 (فلوئورسانس پایه) و F_m (فلوئورسانس بیشینه) و پارامتر های فوق در برگهای سازش یافته با روشنائی شامل F_t (شدت فلوئورسانس پایه) و F_{ms} (شدت فلوئورسانس بیشینه) اندازه گیری شد. سپس محاسبات لازم برای بدست آوردن سایر پارامترها از جمله کارآئی بیشینه فتوشیمیائی فتوسیستم II (F_v/F_m) ظرفیت انگیختگی *فتوسیستم* II (F'_v/F'_m) خاموش شدگی فتوشیمیائی (q_P) و غیر فتوشیمیائی (q_{NP}) عملکرد کوآنتومی فتوسیستم II (Φ_{PSII}) و سرعت انتقال الکترون (ETR) انجام گردید (Oxborough 2004).

سنجش پارامتر های تبادل گاز

جهت اندازه‌گیری پارامترهای مختلف تبادل گاز فتوسنتزی از دستگاه (LCA_4, ADC, UK) استفاده شد. پارامترهای اندازه‌گیری شده شامل شدت فتوسنتز (A) بر حسب $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$، تعرق (E) برحسب $mmol\ m^{-2}s^{-1}$ و هدایت روزنه ای (g_s) برحسب $mmolm^{-2}s^{-1}$ بود.

سنجش رنگیزه ها و مقدار فنل کل

جهت سنجش مقدار رنگیزه‌ها نمونه های گیاهی با آب دوبار تقطیر شستشو شده و بر روی کاغذ صافی خشک شدند. بعد از اندازه‌گیری

وزن تر (تقریباً ۲۰۰ میلی‌گرم)، نمونه ها در داخل ورقه آلومینیومی قرار گرفته و در ازت مایع قرار گرفتند. استخراج ماده مورد نظر با استفاده از حلال مربوطه بر روی یخ و با هاون چینی سرد انجام شد. غلظت کلروفیل و کاروتنوئید ها به وسیله اسپکتروفتومتر، بعد از ۲۴ ساعت استخراج در استن ۱۰۰ درصد تعیین شد. جذب در ۶۶۲، ۶۴۵ و ۶۶۲ و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شده و غلظت کلروفیل b, a و کل و کاروتنوئید ها طبق فرمول‌های مربوطه محاسبه شد (Lichtenthaller & Wellburn 1985).

جهت سنجش آنتوسیانین و فنل ها، عصاره حاصل از استخراج در حلال متانول/ هیدروکلریک اسید ۲:۹۸ (v/v) به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۰۰۰g سانتریفوژ گردید. ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول روشناور با ۴۹/۵ میلی‌لیتر از بافر یک میلی مول MES با pH های ۱ و ۴/۵ در بالن ژوژه‌های ۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد، پس از ۳۰ دقیقه جذب در ۵۱۰nm اندازه‌گیری شد. مقدار آنتوسیانین بر اساس mg FW cyanidin-3-glucoside g^{-1} گزارش شد. سنجش فنل کل در محلول روشناور با استفاده از معرف فولین سیوکالتو (Folin-Ciocalteu) در ۷۶۰nm انجام شد. جهت تهیه محلول‌های استاندارد از غلظت‌های مشخص گالیک اسید (۰ تا ۱۲ میکرومول) استفاده شد. نتایج برحسب mg gallic acid g^{-1}FW ارائه گردید (Plessi *et al.* 2007).

سنجش قند های محلول و نشاسته

برای استخراج عصاره گیاهی جهت سنجش کربوهیدرات‌ها از بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مول (pH=7.5) استفاده شد. محلول روشناور برای سنجش قند محلول کل با استفاده از معرف آنترون سولفوریک و رسوب حاصل برای سنجش نشاسته با استفاده از معرف یدین- HCl مورد استفاده قرار گرفت.

رسوب حاصل در دی متیل سولفوکسید و هیدروکلریک اسید ۸ نرمال (۱:۴ V/V) حل شد و در ۱۲۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. معرف یدین، عصاره گیاهی و آب مقطر به نسبت ۱:۱:۵ در سل شیشه‌ای ریخته شد و بعد از ۱۵ دقیقه در دمای اتاق جذب نمونه ها در ۶۰۰ nm اندازه‌گیری شد. نتایج برحسب mg g^{-1} FW ارائه گردید. جهت تهیه محلول‌های استاندارد از غلظت‌های ۰ تا ۱۰ میلی‌گرم نشاسته استفاده شد.

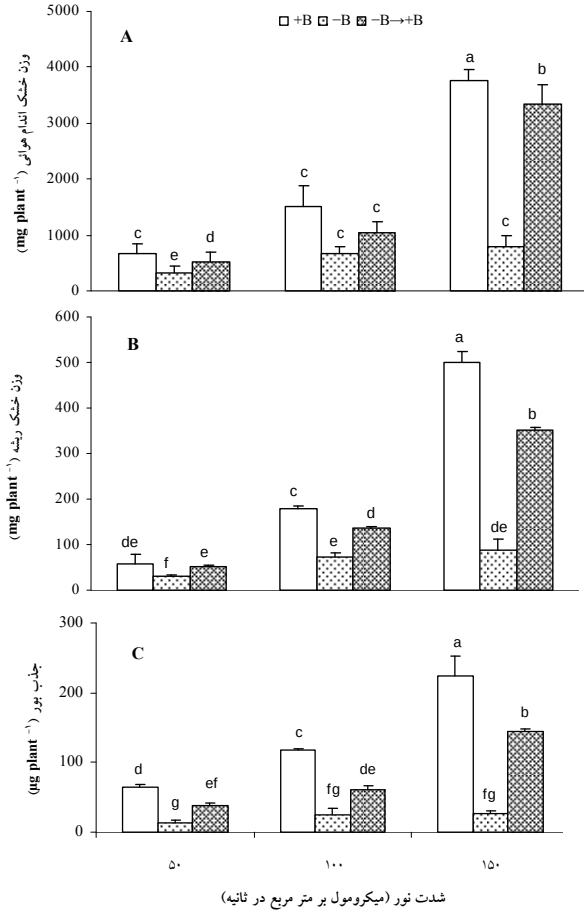
برای سنجش قند محلول کل از معرف آنترون سولفوریک استفاده شد. معرف آنترون سولفوریک و عصاره گیاهی به نسبت ۵:۱ در داخل لوله‌های آزمایش شیشه‌ای ریخته شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد در درون حمام آب گرم قرار گرفت. بعد از سرد شدن جذب در ۶۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. جهت تهیه محلول‌های استاندارد از غلظت‌های ۰ تا ۱۸ میلی گرم گلوکز استفاده شد و نتایج برحسب µg eq. glucose g^{-1} FW بیان شد (Magné *et al.* 2006).

طرح آزمایشی و تجزیه داده ها

آزمایش در طرح بلوکهای کامل تصادفی و با دو عامل شامل سه تیمار بور و سه سطح از شدت نور اجرا شد. تجزیه و تحلیل داده ها با کمک نرم افزار سیگما استات (نسخه ۳/۰۲) با استفاده از تست توکی در سطح پنج درصد انجام گردید.

نتایج

تولید ماده خشک و رشد گیاهان با افزایش شدت نور افزایش یافت که نشان دهنده آن بود که شدت های نور زیر ۱۵۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه برای تامین نیاز های فتوسنتزی و رشد گیاه شلغم کافی نبوده است. احتمال اینکه شدت بالاتر از ۱۵۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه نیز رشد و تولید ماده خشک را تحریک نماید، وجود دارد. با این حال با توجه به تولید برگ های کافی و ارتفاع مناسب درگیاهان پس از دوره رشد مورد نظر، به نظر می رسد این شدت از نور برای گیاه شلغم می تواند شدت بهینه نور قلمداد شود (شکل ۱).



شکل ۱. تاثیر شدتهای مختلف نور (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ µmol m^{-2} s^{-1}) و غلظت های مختلف بور بر وزن خشک اندام هوائی (A) و ریشه (B) (mg $plant^{-1}$) و مقدار جذب بور (C) (µg $plant^{-1}$) در گیاه شلغم. تفاوت بین ستونهایی که با حروف یکسانی مشخص شده اند، معنی دار نبوده است (P<0.05).

رشد گیاهان تحت کمبود بور بصورت معنی داری کاهش یافت، این کاهش در گیاهان رشد یافته در شدت بالاتر نور بمراتب بیشتر از آن برای گیاهان رشد یافته در شدت های ضعیف نور بود. دوره جبران عرضه بور، باعث افزایش معنی دار در تولید ماده خشک در هر دو اندام هوائی و ریشه گردید ولی وزن خشک در این گیاهان به حد گیاهان شاهد نرسید (شکل ۱). مطابق انتظار کمبود بور در محیط غذائی باعث کاهش جذب بور گردید و دوره جبران عرضه بور جذب را تا حدی افزایش داد. جالب اینکه شدت های بالاتر نور موجب افزایش جذب بور گردید که این افزایش تنها در حضور عرضه کافی بور (تیمار شاهد و جبران) مشاهده گردید (شکل ۱).

مقدار کلروفیل a و b و خصوصا کلروفیل کل برگ ها با افزایش شدت نور افزایش یافت که تائید کننده ناکافی بودن شدت نور زیر ۱۵۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه بود. کمبود بور باعث کاهش معنی دار غلظت کلروفیل برگها در تمام شدت های نوری بررسی شده گردید. تغییرات ناشی از کمبود بور در مورد کاروتنوئید های برگ نیز مشاهده گردید، با این حال برخلاف کلروفیل، مقدار کاروتنوئیدها با افزایش شدت نور کاهش نشان داد. آنتوسیانین برگ ها تحت تاثیر شدت نور افزایش معنی داری نشان داد و کمبود بور برخلاف کلروفیل و کاروتنوئید ها، موجب انباشتگی آنتوسیانین ها در برگ گردید (جدول ۱).

در برگ های دچار کمبود بور، شدت فلوئورسانس پایه (F_0) و بیشینه (F_m) بدون توجه به شرایط نوری محیط بصورت معنی داری کمتر از گیاهان شاهد بود و جبران بور تا حد زیادی باعث افزایش مجدد این پارامتر ها گردید. افزایش شدت نور، عموما فلوئورسانس پایه را کاهش داد که البته تنها در برخی موارد معنی دار بود. کارآئی بیشینه فتوسیستم II (F_v/F_m) تحت تاثیر شدت نور و یا کمبود بور قرار نگرفت

جدول ۱: تغییرات مقدار رنگیزه های برگ شامل کلروفیل (mg g^{-1} FW)، آنتوسیانین ها (mg cyanidin-3-glucoside g^{-1} FW) و کاروتنوئید ها (mg g^{-1} FW) در گیاه شلغم که در سطوح کفایت بور (+B) و کمبود بور (–B) تحت شرایط سه شدت نور متفاوت (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ μmol m^{-2} s^{-1}) به مدت یک ماه رشد کرده اند. تفاوت بین داده های مربوط به یک ستون که با حروف یکسانی مشخص شده اند، معنی دار نبوده است (P<0.05).

تیمار نور	تیمار عنصر	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	آنتوسیانین ها	کاروتنوئیدها
۵۰	+B	۲/۲ ± ۰/۱۴ ^{bc}	۱/۷ ± ۰/۱۴ ^{bc}	۳/۹ ± ۰/۱۱ ^{c}	۰/۱۱ ± ۰/۰۲ ^{e}	۰/۲۷ ± ۰/۰۱ ^{a}
	–B	۱/۲ ± ۰/۱۵ ^{e}	۰/۸۹ ± ۰/۱۰ ^{e}	۲/۱ ± ۰/۰۹ ^{f}	۰/۳۲ ± ۰/۰۷ ^{cd}	۰/۱۲ ± ۰/۰۲ ^{bc}
۱۰۰	+B	۲/۴ ± ۰/۰۷ ^{ab}	۱/۸ ± ۰/۱۵ ^{ab}	۴/۲ ± ۰/۱۳ ^{b}	۰/۲۲ ± ۰/۰۴ ^{d}	۰/۲۷ ± ۰/۰۲ ^{a}
	–B	۱/۶ ± ۰/۰۴ ^{d}	۱/۱ ± ۰/۱۸ ^{de}	۲/۷ ± ۰/۱۶ ^{e}	۰/۵۱ ± ۰/ ۰۲ ^{b}	۰/۰۸ ± ۰/۰۴ ^{cd}
۱۵۰	+B	۲/۵ ± ۰/۰۵ ^{a}	۲/۱۰ ± ۰/۱۱ ^{a}	۴/۶ ± ۰/۱۱ ^{a}	۰/۳۲ ± ۰/۰۷ ^{cd}	۰/۱۴ ± ۰/۰۵ ^{bc}
	–B	۱/۹ ± ۰/۲ ^{c}	۱/۴ ± ۰/۱۵ ^{cd}	۳/۳ ± ۰/ ۱۳ ^{d}	۱/۰۷ ± ۰/۰۳ ^{a}	۰/۰۴ ± ۰/۰۱ ^{d}

ولی ظرفیت انگیختگی فتوسیستم II (F'_v/F'_m) با کمبور بور تمایل به افزایش نشان داد. شدت نور تاثیری روی کارآئی عملی فتوسیستم II نداشت. خاموش شدگی فتوشیمیائی (q_P) و غیر فتوشیمیائی (q_{NP}) تحت تاثیر کمبود بور قرار نگرفت و شدت نور نیز تاثیری معنی دار بر روی این پارامتر ها نگذاشت. عملکرد کوآنتومی فتوسیستم II (Φ_{PSII}) در کمبود بور افزایش نشان داد که تنها در شدت ضعیف نور معنی دار بود. شدت نور تاثیر معنی داری روی عملکرد کوآنتومی فتوسیستم II نداشت. سرعت انتقال الکترون (ETR) تحت تاثیر شدت نور قرار نگرفت ولی تمایلی به افزایش سرعت انتقال الکترون در شرایط کمبود بور مشاهده گردید که در شدت نور ۱۰۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه معنی دار بود و با جبران عرضه بور به حد شاهد نزدیک گردید (جدول ۲).

مطابق انتظار، افزایش شدت نور موجب افزایش شدت تثبیت خالص CO_2 (A) گردید و نیز این پارامتر تحت تاثیر کمبود بور بصورت معنی داری در تمام شدت های نور کاهش یافت. این کاهش بدلیل کاهش همزمان هدایت روزنه ای (g_s) در گیاهان دچار کمبود بور بود. هدایت روزنه ای تحت تاثیر کمبود بور در گیاهان رشد یافته در شرایط نوری ضعیف بیشتر از شدت های بالاتر نور کاهش یافت. تعرق (E) نیز تحت تاثیر کمبود بور قرار گرفت لیکن این تغییرات چندان شدید نبود و از نظر آماری معنی دار نشد. جبران عرضه بور بر روی تثبیت خالص CO_2 تاثیر قابل توجهی داشت و پارامتر فوق را تا حد نزدیک گیاهان شاهد افزایش داد (جدول ۳).

ترکیبات فنلی آزاد در برگ ها و ریشه های گیاهان دچار کمبود بور انباشته گردید، این افزایش برای ترکیبات فنلی ریشه بیشتر از آن برای برگ بود. در گیاهان دچار کمبود بور، مقدار فنل های آزاد برگ در شدت کافی نور افزایش معنی داری نشان داد در حالیکه در ریشه پس از کاهش معنی دار در شدت ۱۰۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه، افزایش مجدد در حضور شدت کافی نور مشاهده شد که دلیل این تغییرات مشخص نیست (شکل ۲).

قندهای محلول برگ ها و ریشه در اثر رشد گیاه در شدت های بالاتر نور تاحدی افزایش یافت که در برخی شرایط معنی دار بود. کمبود بور باعث افزایش قند های محلول و نشاسته در برگ ها و ریشه شد که البته در برخی شرایط نوری معنی دار گردید. انباشتگی نشاسته در ریشه های دچار کمبود بور بصورت قابل توجهی بیشتر از برگ ها بود ولی انباشتگی قند ها تحت کمبود بور در این دو اندام تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشت (جدول ۴).

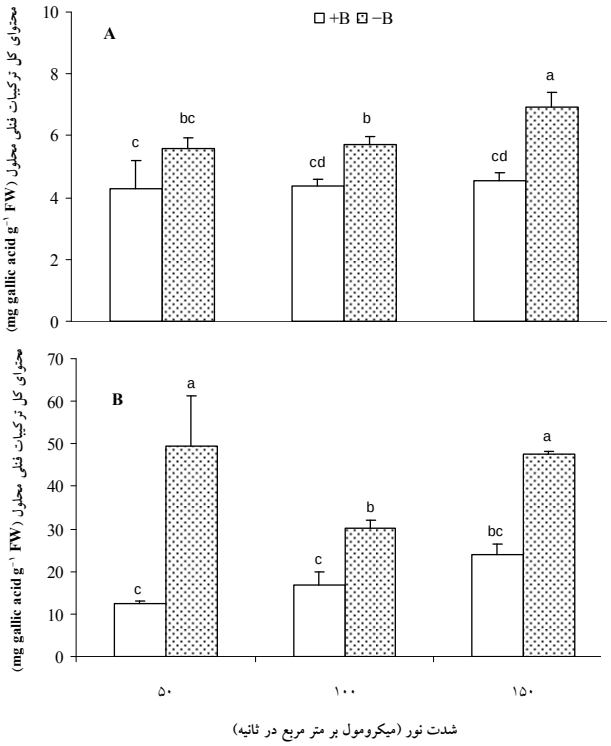
جدول ۲. مقدار پارامترهای مختلف فلوئورسانس کلروفیل شامل F_0 (فلوئورسانس پایه) F_m (فلوئورسانس بیشینه) کارآئی بیشینه فتوشیمیائی فتوسیستم II (F_v/F_m) کارآئی عملی فتوسیستم II (F'_v/F'_m) خاموش شدگی فتوشیمیائی (q_P) و غیر فتوشیمیائی (q_{NP}) عملکرد کوآنتومی فتوسیستم II (Φ_{PSII}) و سرعت انتقال الکترون (ETR) در گیاه شلغم که در سطوح کفایت بور (+B) و کمبود بور (–B) و پس از یک دوره جبران (–B→+B) تحت شرایط سه شدت نور متفاوت (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) به مدت یک ماه رشد کرده اند. تفاوت بین داده های مربوط به یک ستون و هر پارامتر که با حروف یکسانی مشخص شده اند، معنی دار نبوده است (P<0.05).

تیمار نور	تیمار عنصر	F_0	F_m	F_v/F_m	F'_v/F'_m
۵۰	+B	۵۹۰ ± ۱۲ a	۳۷۳۷ ± ۶۸ a	۰/۸۴۳ ± ۰/۰۰ a	۰/۵۲۵ ± ۰/۰۰۸ b
	–B	۵۱۶ ± ۱۵ cd	۳۲۷۰ ± ۸۱ b	۰/۸۴۲ ± ۰/۰۱ a	۰/۵۴۲ ± ۰/۰۰۸ ab
	–B→+B	۵۵۸ ± ۲۰ abc	۳۵۷۸± ۱۴۷ ab	۰/۸۴۴ ± ۰/۰۰ a	۰/۵۲۸ ± ۰/۰۱۴ b
۱۰۰	+B	۵۷۴ ± ۱۸ ab	۳۴۹۳ ± ۱۲۹ ab	۰/۸۴۹ ± ۰/۰۱ a	۰/۵۵۱ ± ۰/۰۲۶ ab
	–B	۵۰۹ ± ۱۹ de	۳۲۶۱ ±۱۵۴ b	۰/۸۴۴ ± ۰/۰۱ a	۰/۵۷۰ ± ۰/۰۱۷ a
	–B→+B	۵۴۳ ± ۲۰ abcd	۳۴۸۶ ±۱۹۷ ab	۰/۸۴۴ ± ۰/۰۰ a	۰/۵۵۴ ± ۰/۰۱۹ ab
۱۵۰	+B	۵۶۶ ± ۲۵ abc	۳۵۲۸ ± ۲۲۵ ab	۰/۸۴۶ ± ۰/۰۱ a	۰/۵۲۲ ± ۰/۰۰۵ b
	–B	۴۶۵ ± ۲۹ e	۲۸۳۲ ± ۲۵۲ c	۰/۸۴۳ ± ۰/۰۰ a	۰/۵۵۴ ± ۰/۰۱۴ ab
	–B→+B	۵۳۷ ± ۱۹ bcd	۳۵۱۴ ±۲۱۳ ab	۰/۸۴۷ ± ۰/۰۱ a	۰/۵۳۰ ± ۰/۰۰۷ b

		q_P	q_{NP}	Φ_{PSII}	ETR
۵۰	+B	۱/۴۰ ± ۰/۰۲۹ ab	۳/۸۳ ± ۰/۱۶۶ ab	۰/۷۳۷ ± ۰/۰۱۱ ab	۱۲۴ ± ۱/۹ ab
	–B	۱/۴۲ ± ۰/۰۲۳ ab	۳/۵۲ ± ۰/۱۹۰ ab	۰/۷۶۷ ± ۰/۰۱۵ a	۱۲۹ ± ۲/۵ a
	–B→+B	۱/۴۲ ± ۰/۰۴۲ ab	۳/۸۴ ± ۰/۲۴۶ ab	۰/۷۵۲ ± ۰/۰۲۰ ab	۱۲۶ ± ۳/۴ ab
۱۰۰	+B	۱/۳۴ ± ۰/۰۳۷ bc	۳/۲۲ ± ۰/۴۲۸ ab	۰/۷۲۵ ± ۰/۰۱۷ b	۱۲۲ ± ۲/۸ b
	–B	۱/۳۵ ± ۰/۰۳۱ bc	۳/۰۷ ± ۰/۱۲۲ b	۰/۷۶۸ ± ۰/۰۰۹ a	۱۲۹ ± ۱/۶ a
	–B→+B	۱/۳۴ ± ۰/۰۴۹ bc	۳/۳۸ ± ۰/۴۲۶ ab	۰/۷۴۴ ± ۰/۰۱۷ ab	۱۲۵ ± ۲/۹ ab
۱۵۰	+B	۱/۴۱ ± ۰/۰۲۶ ab	۳/۸۴ ± ۰/۳۵۶ ab	۰/۷۳۸ ± ۰/۰۰۷ ab	۱۲۴ ± ۱/۲ ab
	–B	۱/۳۹ ± ۰/۰۳۰ abc	۳/۱۵ ± ۰/۴۴۹ ab	۰/۷۷۰ ± ۰/۰۱۴ a	۱۲۹ ± ۲/۳ a
	–B→+B	۱/۴۳ ± ۰/۰۲۹ a	۳/۹۲ ± ۰/۳۴۲ a	۰/۷۶۰ ± ۰/۰۱۰ a	۱۲۸ ± ۱/۷ a

جدول ۳. پارامتر های تبادل گاز اندازه گیری شده شامل شدت تثبیت خالص CO_2 (A ($\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$)، تعرق (E ($mmol\ m^{-2}s^{-1}$) و هدایت روزنه ای (g_s ($mmol\ m^{-2}s^{-1}$) در گیاه شلغم که در سطوح کفایت بور (+B)، کمبود بور (–B) و پس از یک دوره جبران (–B→+B) تحت شرایط سه شدت نور متفاوت (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) به مدت یک ماه رشد کرده اند. تفاوت بین داده های مربوط به یک ستون که با حروف یکسانی مشخص شده اند، معنی دار نبوده است (P<0.05).

تیمار نور	تیمار عنصر	A	E	g_s
۵۰	+B	۳/۲ ± ۰/۷ e	۲/۳ ± ۰/۴ abc	۰/۵ ± ۰/۲ a
	–B	۲/۲ ± ۰/۲ f	۱/۳ ± ۰/۸ c	۰/۱ ± ۰/۰ b
	–B→+B	۲/۵ ± ۰/۳ ef	۲/۲ ± ۰/۸ bc	۰/۴ ± ۰/۱ a
۱۰۰	+B	۵/۹ ± ۰/۵ c	۲/۶ ± ۰/۸ abc	۰/۵ ± /۱ a
	–B	۴/۷ ± ۰/۵ d	۱/۶ ± ۰/۸ c	۰/۳ ± ۰/۰ ab
	–B→+B	۵/۱ ± ۰/۴ cd	۲/۴ ± ۰/۸ abc	۰/۵ ± ۰/۱ a
۱۵۰	+B	۹/۹ ± ۰/۵ a	۳/۹ ± ۰/۵ a	۰/۵ ± ۰/۱ a
	–B	۸/۰ ± ۰/۷ b	۳/۴ ± ۰/۲ ab	۰/۴ ± ۰/۱ a
	–B→+B	۹/۱ ± ۰/۷ ab	۳/۹ ± ۰/۹ a	۰/۶ ± ۰/۲ a



شکل ۲. تاثیر شدتهای مختلف نور ($\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰) و غلظت های مختلف بور بر محتوای کل ترکیبات فنلی محلول برگ (A) و ریشه (B) (mg gallic acid g^{-1} FW) در گیاه شلغم. تفاوت بین ستونهایی که با حروف یکسانی مشخص شده اند، معنی دار نبوده است (P<0.05).

جدول ۴. غلظت قند های محلول کل (μg eq. glucose $g^{-1}FW$) و نشاسته (μg $g^{-1}FW$) در برگ و ریشه گیاه شلغم که در سطوح کفایت بور (+B) و کمبود بور (–B) و تحت شرایط سه شدت نور متفاوت (μmol m^{-2} s^{-1} ۱۵۰ و ۱۰۰ ,۵۰) رشد کرده اند. تفاوت بین داده های مربوط به یک اندام که با حروف یکسانی مشخص شده اند، معنی دار نبوده است ($P<0.05$)

تیمار نور	تیمار عنصر	برگ		ریشه	
		قند محلول	نشاسته	قند محلول	نشاسته
۵۰	+B	۱/۵۸ ± ۰/۰۹ c	۱۰/۵ ± ۰/۸ b	۱/۴۷ ± ۰/۰۷ b	۲۳/۲ ± ۲/۲ bc
	–B	۲/۳۱ ± ۰/۱۱ a	۱۲/۷ ± ۰/۹ ab	۲/۲۶ ± ۰/۲۲ a	۳۳/۷ ± ۴/۰ b
۱۰۰	+B	۲/۰۹ ± ۰/۱۱ ab	۱۰/۹ ± ۰/۲ b	۲/۰۹ ± ۰/۲۴ ab	۱۵/۶ ± ۴/۰ cd
	–B	۲/۲۹ ± ۰/۱۱ ab	۱۵/۴ ± ۰/۲ a	۲/۲۴ ± ۰/۴۷ a	۵۱/۲ ± ۲/۴ a
۱۵۰	+B	۱/۹۵ ± ۰/۰۹ b	۹/۰۴ ± ۰/۱ b	۱/۸۴ ± ۰/۲۳ ab	۹/۸ ± ۳/۸ d
	–B	۲/۱۲ ± ۰/۱۳ ab	۱۶/۳ ± ۰/۳ a	۱/۹۶ ± ۰/۴۷ ab	۵۹/۵ ± ۸/۹ a

بحث

افزایش ماده خشک گیاهان با افزایش شدت نور نشان دهنده ناکافی بودن شدت های نور کمتر از ۱۵۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه برای رشد گیاه شلغم بوده است. البته افزایش بیشتر در شدت های نور بالاتر از ۱۵۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه نیز محتمل است که در این آزمایش اعمال نگردید. کاهش رشد ناشی از شدت های پائین نور عمدتا مربوط به کاهش سنتز قند ها بوده است که در مقدار پائین تثبیت CO_2 نیز منعکس گردید. کاهش تثبیت CO_2 بنوبه خود به محدویت روزنه ای یعنی افزایش مقاومت روزنه ها مربوط میباشد.

کاهش وزن خشک در اثر کمبود بور در شدت های پائین نور کمتر بود. بعنوان مثال کاهش وزن خشک اندام هوائی در شدت ۵۰ و ۱۵۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه بترتیب ۵۱٪ و ۷۹٪ بود. این مقادیر در ریشه بترتیب ۵۰٪ و ۸۲٪ بوده است. می توان نتیجه گرفت که رشد در شدت های بالاتر نور حساسیت به کمبود بور را افزایش داده است. شدت های بالای نور هر چند رشد گیاهان را بدلیل فتوسنتز بیشتر افزایش می دهد و لیکن احتمال تولید رادیکال های آزاد اکسیژن را نیز زیاد می کند (Asada 1999). مشاهده شده است که کمبود بور موجب افزایش انباشتگی رادیکالهای آزاد در گیاهان می شود (Cakmak & Römheld 1997). بنابراین نقش تشدید کنندگی شدت های بالاتر نور روی کمبود بور می تواند به تولید بیشتر رادیکالهای آزاد که در کمبود بور بحد کافی سم زدائی نمی شود نسبت داده شود. دلیل احتمالی دیگر، کاهش بیشتر جذب بور در گیاهان دچار کمبود که در شدت های بالاتر نور (۸۸٪) در مقایسه با شدت های پائین تر (۷۹٪) رشد کرده اند می باشد. سرعت پائین رشد در نور ضعیف خود به تنهائی می تواند عامل پائین تر بودن تفاوت بین گیاهان شاهد و دچار کمبود بور حداقل بعنوان نتیجه رقیق شدن کمتر بور در پیکر گیاه بوده و لذا عمدتا اثری غیر مستقیم بوده باشد.

افزایش مقدار جذب بور با افزایش شدت نور که تا ۳/۵ برابر بالغ گردید را می توان به افزایش تعرق در گیاهان رشد یافته در شرایط نوری بالاتر نسبت داد. بور عمدتا با جریان تعرقی وارد گیاه می شود و با همین مکانیسم به اندام هوائی حرکت می کند (Marschner 1995). لذا قابل انتظار است که تعرق بیشتر موجب جذب بیشتر بور به گیاه گردد.

کاهش مقدار کلروفیل برگ در شدت های پائین نور شاهد دیگری دال بر ناکافی بودن شدت های نور پائین تر از ۱۵۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه برای گیاهان بود، زیرا شدت های فرا بهینه عموما باعث تخریب کلروپلاست ها و کاهش مقدار کلروفیل می گردد (Asada 1999). بر عکس، مقدار آنتوسیانین ها با افزایش شدت نور افزایش یافت که احتمالا بدلیل نقش نور در سنتز این ترکیبات (Anderson & Jordheim 2005) و ناکافی بودن شدت های زیر ۱۵۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه برای این سنتز ها می باشد. کاهش مقدار کلروفیل و کاروتنوئید ها تحت تاثیر کمبور بور میتواند بدلیل اثر تخریبی رادیکال های آزاد اکسیژن که در غیاب بور انباشته می شوند (Cakmak & Römheld 1997) و نیز نقش بور در حفظ تمامیت غشاها (Marschner 1995) باشد. مقدار آنتوسیانین های برگ که عمدتا در واکوئل ها انباشته شده و همراه با غشا ها نمی باشند، برعکس در کمبود بور افزایش یافت. این ترکیبات می توانند نقش حفاظتی در برابر رادیکال های آزاد برعهده داشته باشند و نوعی پاسخ سازشی در شرایط کمبود بور تلقی شوند. دلایل افزایش ترکیبات فنلی بصورت عام و آنتوسیانین ها بصورت خاص در شرایط کمبود بور در زیر بررسی خواهد شد.

افزایش مقدار فنل های اندام هوائی در پاسخ به افزایش نور، بدلیل نقش نور در بیوسنتز فنل ها (Anderson & Jordheim 2005) بوده و نیز احتمالا نقشی در سازگار کردن گیاهان با شرایط نوری بالا داشته باشند. نقش ترکیبات فنلی در محافظت از رادیکال های آزاد در سلولهای جانوری اثبات شده و شواهدی برای ایفای نقش مشابه در گیاهان ارائه شده است (Anderson & Jordheim 2005). البته فنل های آزاد ممکن است متعاقبا تحت تاثیر آنزیم پلی فنل اکسیداز به کوئینون ها تبدیل شوند که خود از تولید کننده های رادیکال های آزاد محسوب میشوند (Cakmak & Römheld 1997). در این بررسی فعالیت این آنزیم تعیین نشده است و لذا نقش احتمالی فنل ها در تولید رادیکالهای آزاد مشخص نیست. البته در روش سنجش بکار رفته، آنتوسیانین ها نیز بعنوان گروهی از ترکیبات فنلی در مقدار عددی بدست آمده برای فنل ها لحاظ میشود و تغییرات این دو گروه ترکیب، تحت شدت های نور متفاوت و کمبود بور نیز موازی بوده است.

افزایش قابل توجه در مقدار فنل های آزاد در شرایط کمبود بور که

در همه شدت های نوری مشاهده گردید، در گزارش های دیگر و سایر گونه های گیاهی نیز مشاهده شده است (Cakmak & Römheld 1997). نقش کمبود بور در افزایش فنل های آزاد را به افزایش القائی در فعالیت آنزیم های فنیل آلانین آمونیا لیاز و پلی فنل اکسیداز و کاهش مصرف این ترکیبات مثلا در طی سنتز لیگنین در کمبور بور نسبت داده اند (Cakmak & Römheld 1997) که در هرحال اثری غیر مستقیم بوده زیرا بور بعنوان اثر کننده اختصاصی برای این آنزیم ها عمل نمی کند. شدت پاسخ ریشه به کمبود بور از نظر انباشتگی ترکیبات فنلی آزاد بیشتر از برگ ها بود و مقدار مطلق ترکیبات فنلی موجود در ریشه ها نیز تا ده برابر بیش از برگ ها بوده است که دلایل آن روشن نیست.

کاهش فلوئورسانس پایه (F_0) و بیشینه (F_m) تحت کمبور بور نشان دهنده کاهش نسبت فتوسیستم های II فعال می باشد (Ouzounidou *et al.* 2003). با این حال کارآئی بیشینه فتوسیستم II (F_v/F_m) تغییر معنی داری در کمبود بور نشان نداد که حاکی از عدم آسیب جدی به فتوسیستم II در شرایط کمبود بور است. با این حال افزایش ملایم در توانائی انگیختگی فتوسیستم II (F'_v/F'_m)، عملکرد کوآنتومی فتوسیستم II (Φ_{PSII}) و سرعت انتقال الکترون (ETR) به ازای هر فتوسیستم II تحت تاثیر کمبود بور که در برخی موارد معنی دار بود، نشان می دهد که در برگ های دچار کمبود بور برای جبران کاهش فتوسیستم های II فعال، کارآئی خروج الکترون ها به ازای هر فتوسیستم افزایش می یابد. کاهش ملایم در خاموش شدگی غیر فتوشیمیائی (q_{NP}) نیز نشان می دهد که انتقال الکترون به سمت مولکول های خاموش کننده الکترون های آزاد مانند کاروتنوئیدها که نقش حفاظتی فتوسیستم ها را بر عهده دارند نیز تا حدی کاهش می یابد. کاهش مقدار کاروتنوئید ها در کمبود بور بموازات کاهش q_{NP} این فرض را تائید می کند. در هرحال، هیچکدام از این تغییرات بحد کافی بزرگ نبودند تا اثر کمبود بور را بر رشد گیاه و نیز فتوسنتز آن توجیه نمایند.

برخلاف واکنش های فتوشیمیائی، تبادل گاز برگ ها بصورت قاطع تحت تاثیر کمبود بور قرار گرفت. کاهش فتوسنتز در اثر کمبود بور عمدتا به کاهش هدایت روزنه ها مربوط بود. دلیل بستن روزنه ها در شرایط کمبود بور تاکنون بررسی نشده است. با توجه به نقش بور در حفظ تمامیت غشا ها (Cakmak & Römheld 1997) که برای جذب و نگهداری پتاسیم در سلول های روزنه بعنوان اسموتیکوم لازم است و نیز نقش این عنصر در افزایش بیان پمپ غشاء پلاسمائی (Camacho-Cristóbal & González-Fontes 2007) که برای دپلاریزه شدن غشا ها و بازشدن کانال های پتاسیمی و ورود آنها به سلول های روزنه ضروری است، می توان اثر کمبود بور را به کاهش انباشتگی یون های پتاسیم و لذا کاهش فشار اسمزی و بستن روزنه ها نسبت داد. کاهش تعرق بدنبال کاهش هدایت روزنه ای از عوارض دیگر کمبود بور بود که می تواند موجب کاهش اتلاف آب در گیاهان دچار کمبود بور گردد. هرچند می توان این موضوع را یکی از سازگاری های گیاهان دچار کمبود بور تلقی کرد، با این حال بنظر نمی رسد در کشت هیدروپونیک اتلاف آب عامل محدود کننده ای برای گیاهان بوده باشد. از سوی دیگر در یک بررسی در شرایط متفاوت آبیاری و در بستر جامد نیز مشاهده گردید که افزایش قابل توجه در کارآئی بهره وری آب در گیاهان دچار کمبود بور نه تنها اثر تنش کمبود بور را تخفیف نمی دهد، بلکه گیاهان تحت تنش مضاعف کمبود بور و خشکی، رشد بسیار کمتری در مقایسه با همان گیاهان در شرایط آبیاری کافی دارند که نشان می دهد عوامل دیگری غیر از تامین آب از جمله آسیب فتوسیستم ها و کاهش فتوسنتز بعنوان عامل محدود کننده رشد در این شرایط عمل می کنند (فرهنگی، ۱۳۸۸).

افزایش مقدار قند های محلول و نشاسته در گیاهان دچار کمبود بور در سایر بررسی ها نیز گزارش شده است (Cakmak & Römheld 1997). در برگ ها این افزایش به کاهش بارگیری فرآورده های قندی در گیاهان دچار کمبود بور نسبت داده شده است، هر چند سازوکار این اثر چندان روشن نیست. احتمالا کمبود بور با همان مکانیسمی که موجب کاهش عملکرد غشاها شده (Marschner 1995) و بیان ژن پمپ پروتون غشای پلاسمائی را کاهش میدهد (Camacho-Cristóbal & González-Fontes 2007)، بر روی بارگیری قند ها موثر است که عمدتا اثری غیر مستقیم می باشد. با این حال انباشتگی قند ها و نشاسته در ریشه بعنوان مخزن فرآورده ای فتوسنتزی با این مکانیسم قابل توجیه نیست. این افزایش به کاهش رشد ناشی از کمبود بور و لذا مصرف نشدن آنها و انباشتگی در سلولها نسبت داده شده است (Cakmak & Römheld 1997).

اثرات کمبود بور بسیار گسترده و پیچیده بوده و شامل طیف گسترده ای از تاثیرات مستقیم و غیر مستقیم در رشد و متابولیسم گیاهان است. سازوکارهای بسیاری از این تاثیرات هنوز شناسائی نشده و فیزیولوژی کمبود بور موضوع مورد بحث در سال های اخیر بوده است.

منابع:

فرهنگی، ف، ۱۳۸۸: بررسی فیزیولوژیک و بیوشیمیائی اثرات کمبود بور در گیاه شلغم (*Brassica rapa* L.). پایاننامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز.

Anderson Ø.M., Jordheim M. 2005: The anthocyanins. In: Anderson Ø.M., Markham K.R., (eds.) Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications. CRC Press.

Asada K. 1999: The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **50:** 601-639.

Brown P.H., Bellaloui N., Wimmer M.A., Bassil E.S., Ruiz J., Hu H., Pfeffer H., Dannel F., Römheld V. 2002: Boron in plant biology. *Plant Biol.* **4:** 205-223.

Cakmak I., Römheld V. 1997: Boron deficiency-induced impairments of cellular functions in plants. *Plant Soil* **193:** 71-83.

Camacho-Cristóbal J.J., González-Fontes A. 2007: Boron deficiency decreases plasmalemma H^+-ATPase expression and nitrate uptake, and promotes ammonium assimilation into asparagines in tobacco roots. *Planta* **226:** 443-451.

González-Fontes A., Rexach J., Navarro-Gochicoa M.T., Herrera-Rodríguez M.B., Beato V.M., Maldonado J.M., Camacho-Cristóbal J.J. 2008: Is boron involved solely in structural roles in vascular plants? *Plant Signaling & Behavior* **3:** 24-26.

Johnson C.M., Stout P.R., Broyer T.C., Carlton A.B. 1957: Comparative chloride requirements of different plant species. *Plant Soil* ***8*:** 337-353.

Lichtenthaler H.K., Wellburn A.R. 1985: Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf in different solvents. *Biol. Soc. Trans.* **11:** 591-592.

Lohse G. 1982: Microanalytical azomethine-H method for boron determination in plant tissues. *Commun. Soil. Plant Anal.* **13:** 127-134.

Magné C., Saladin G., Clément C. 2006: Transient effect of the herbicide flazasulfuron on carbohydrate physiology in *Vitis vinifera* L. *Chemosphere* **62:** 650-657.

Marschner H. 1995: Mineral Nutrition of Higher Plants (2nd Ed.). Academic Press Inc., London, UK.

O'Neil M.A., Ishii T., Albersheim P., Darvil A.G. 2004: Rhamnogalacturonan II: structure and function of a borate cross-linked cell wall pectic polysaccharide. *Ann Rev Plant Biol.* **55:** 109-139.

Ouzounidou G., Ilias I., Kabataidid M., Chatzimichail A. 2003: Comparative study of nutrient deficiencies on growth and photochemistry of tobacco. *J. Plant Nutr.* **26:** 1605-1616.

Oxborough K. 2004: Imaging of chlorophyll *a* fluorescence: theoretical and practical aspects of an emerging technique for the monitoring of photosynthetic performance. *J. Exp Bot.* **55:** 1195-1205.

Plessi M., Bertelli D., Albasini A. 2007: Distribution of metals and phenolic compounds as a criterion to evaluate variety of berries and related jams. *Food Chem.* **100:** 419-427.

Shorrocks V.M. 1997: The occurrence and correction of boron deficiency. *Plant Soil* **19:** 121-148.