تغییرات میزان کلروفیل، قندهای محلول کل، نشاسته و فعالیت آنتی اکسیدانی شش پایه پسته در شرایط شوری

احمد رئوفی[۱]، مجید راحمی*[۲]، حسن صالحی[۲]، امان اله جوانشاه[۳]
[۱]دانشجوی دکتری میوه‌کاری بخش علوم باغبانی دانشگاه شیراز
[۲] استاد بخش علوم باغبانی دانشگاه شیراز
[۳] عضو هیئت علمی پژوهشکده پسته
مسئول مکاتبه: rahemi@shirazu.ac.ir

چکیده

پسته یکی از مهمترین محصولات باغبانی در ایران می‌باشد. که متاسفانه با وجود اینکه سالیان پیاپی کشور ایران در جایگاه نخست تولید این خشک میوه بوده است، در سال جاری به مقام چهارم رسیده است. در این تحقیق تغییرات میزان کلروفیل، قندهای محلول کل، نشاسته و فعالیت آنتی اکسیدانی دانهال‌های شش پایه پسته (اکبری، احمداقایی، UCB1، ایتالیایی، قزوینی و بادامی) به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی بررسی شد. در این طرح فاکتور اول ژنوتیپ و فاکتور دوم شوری آب آبیاری (۰/۵، ۱۲ و ۱۸ دسی زیمنس بر متر) بود. . نتایج نشان داد با افزایش شوری میزان نشاسته و کلروفیل کاهش یافت. در حالیکه قندهای محلول و ظرفیت آنتی اکسیدانی برگ ها با افزایش سطح شوری افزایش پیدا کرد. یافته های پژوهش ما نشان داد ژنوتیپ های اکبری و احمدآقایی و پایه UCB-1 در شرایط شوری کمترین کاهش در میزان نشاسته و کلروفیل داشتند و بیشترین میزان قندهای محلول داشتند.

کلمات کلیدی: کلروفیل، فعالیت آنتی اکسیدانی و ژنوتیپ‌های پسته

مقدمه

پسته[۱] یکی از مهمترین محصولات باغبانی در ایران می‌باشد. که متاسفانه با وجود اینکه سالیان پیاپی کشور ایران در جایگاه نخست تولید این خشک میوه بوده است در سال جاری به مقام چهارم رسیده است. از علل کاهش تولید این محصول در سال‌های اخیراین است که، مناطق اصلی تولید این محصول در کشور با مشکل شوری آب و خاک روبه‌رو بوده‌است، که باعث نابودی هکتارها باغ و نیز افت شدید عملکرد این محصول صادراتی شده است. با وجود اینکه درخت پسته در میان محصولات باغی به عنوان گیاهی متحمل به شوری یاد می‌شود ولی پژوهش‌های گسترده بیانگر کاهش عملکرد و مرگ این گونه گیاهی در صورت افزایش تجمع نمک در خاک می‌باشد(Karimi and Nasrolahpour-Moghadam,2016). ارزیابی دقیقی از تحمل شوری ارقام و ژنوتیپ‌های پسته کشور و پیوند ارقام تجاری روی آن‌ها راهکاری نوید بخش برای برون رفت از این بحران می‌باشد.). افزایش قندهای محلول و کاهش میزان کربوهیدارت های نامحلول مانند نشاسته در اثر تنش شوری در گیاهان زیتون و بادام گزارش شده است (Gucci and Tattini, 1997; sorkheh et al., 2012). شوری به دلیل تجمع سدیم موجب کاهش محتوای نسبی آب برگ و پتانسیل اسمزی برگ می شود. گیاهان در شرایط تنش شوری روزنه های خود را میبندند تا از تبخیر و آسیب بیشتر جلوگیری کنند که این مسئله موجب کاهش تثبیت دی اکسید کربن و همچنین کاهش میزان فتوسنتز و در نتیجه کاهش میزان کلروفیل کل در برگهای گیاه می شود. این آسیب ها در جنس Prunus نیز گزارش شده است (Dejampour et al., 2012; Flowers et al., 2015).

[1] *Pistacia vera* L.

IrHC2019

مواد و روش

مواد گیاهی و شرایط رشد

این پژوهش، در گلخانه پژوهشی و آزمایشگاه بخش علوم باغبانی دانشگاه شیراز، واقع در باجگاه(E ″۱۵ ′۳۵ °۵۹ و N ″۳۸ ′۴۳ °۲۹) انجام شد. ژنوتیپ های بذری پسته قزوینی، بادامی زرند، ایتالیایی، اکبری، احمدآقایی از موسسه تحقیقات پسته کشور تهیه شد. دانهال UCB-1 از استان قزوین تهیه شد. تیمارهای شوری شامل (۰/۵، ۸ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر) بوده و مدت زمان اعمال تنش ۲/۵ ماه بود. این آزمایش با طرح فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی اجرا شد.

اندازه گیری کلروفیل کل و شاخص سبزینگی

محتوای کلروفیل کل[2] با روش استفاده از دی متیل سولفوکساید (DMSO) معرفی شده توسط هیس‌کاکس و اسراییل‌استام[3] (۱۹۷۹) اندازه‌گیری شد. شاخص سبزینگی برگ[4] با استفاده از دستگاه SPAD مدل ۵۰۳ ساخت ژاپن اندازه گیری شد.

اندازه گیری میزان قندهای محلول کل

برای اندازه گیری از روش فنول- سولفوریک استفاده شد. ۱/۰ گرم از ماده خشک برگ آسیاب شده توزین شد و برای عصاره گیری از اتانول ۸۰ درصد استفاده شد. مخلوط حاصل با سانتریفیوژ دور ۵۰۰۰ دو مرتبه سانتریفیوژ شد سپس با استفاده از فنول ۵ درصد و اسید سولفوریک غلیظ میزان قندهای محلول کل توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Epoch, BioTek, United States) در طول موج ۴۹۲ نانومتر قرائت شد (Fox and Robyt, 1991)

نشاسته

به روش McCready و همکاران (۱۹۵۰) با رسوب باقی مانده اندازه گیری قند، میزان نشاسته اندازه گیری شد. از پرکلریک ۵۲ درصد برای عصاره گیری استفاده شد. و با افزودن آنترون ۲ درهزار میزان جذب نور در طول موج ۶۳۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. جهت تهیه استاندارد از گلوگز استفاده شد.

اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی برگ ها

ظرفیت آنتی اکسیدانی برگها با استفاده از طریق خاصیت خنثی کنندگی رادیکال آزاد DPPH تعیین شد. سپس میزان جذب استاندارد و نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر تعیین و با استفاده از فرمول Du و همکاران (۲۰۰۹) محاسبه شد

نتایج و بحث

شاخص سبزینگی

افزایش شوری موجب کاهش میزان سبزینگی ۶ ژنوتیپ مورد بررسی شد. در شوری ۱۲ کاهش ۱۶/۲۲٪ و شوری ۱۸ کاهش ۲۸/۴۳٪ سبزینگی مشاهده شد. اثر ژنوتیپ نیز بر شاخص سبزینگی معنی دار شد. قزوینی و بادامی کمترین شاخص سبزینگی را داشتند. در شوری ۱۸ بادامی ۳۸/۸۲بیشترین کاهش سبزینگی نشان داد. بیشترین سبزینگی مربوط به احمدآقایی (۵۹,۶۲) بود که با اکبری و ایتالیایی اختلاف معنی داری نداشت.

کلروفیل کل

به طور کلی، افزایش سطوح شوری باعث کاهش کلروفیل کل شد. به طوری که در شوری ۱۲ کاهش ۳۰/۵۸٪ و شوری ۱۸ کاهش ۵۱/۹۴٪ کلروفیل کل شد. اثر ژنوتیپ نیز معنی دار شد. کمترین کلروفیل مربوط به بادامی و بیشترین کلروفیل مربوط به اکبری بود. میزان کلروفیل کل در تیمار شاهد (۰,۵) دارای اختلاف معنی داری بین ژنوتیپ ها بود.

فعالیت آنتی اکسیدانی برگ

[2] Total cholorophyll
[3]. Hiscox and Israelstam
[4] SPAD index

IrHC2019

شوری باعث افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی ژنوتیپ های پسته شد اما در بین سطوح شوری ۱۲ و ۱۸ اختلاف معنی داری مشاهده نشد. ۶ ژنوتیپ مورد بررسی در شرایط تنش فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش یافت اما اختلاف معنی داری بین آنها نبود.

قند کل

اثر شوری و ژنوتیپ بر میزان قند کل معنی دار بود. مقدار قند کل برگ ۶ ژنوتیپ پسته با افزایش شوری از ۰/۵ به ۱۲ افزایش یافت. در شوری ۱۲ میزان قند ۱۸/۳۶٪ افزایش یافت که با میزان قند شاهد اختلاف معنی داری داشت. ولی با افزایش شوری، مقدار قند به میزان ۲/۱۸٪ نسبت به شاهد کاهش یافت که البته در سطح شوری ۱۸ و شاهد اختلاف معنی داری مشاهده نشد. . سه ژنوتیپ قزوینی بادامی و ایتالیایی قند کل کمتری نسبت به ژنوتیپ های دیگر داشتند. کمترین میزان قند مربوط به ایتالیایی در تیمار شوری ۱۸ بود. در تیمار شوری ۱۸ ژنوتیپ UCB-1 بیشترین قند کل را داشت البته با اکبری و احمداقایی در همین سطح شوری اختلاف معنی داری نداشت.

نشاسته برگ

نتایج مقایسه میانگین نشان داد اثر شوری و ژنوتیپ بر میزان نشاسته معنی دار بود. میزان نشاسته برگ تحت تاثیر شوری، در همه ژنوتیپ‌ها کاهش یافت. در شوری ۱۲ مقدار۲۵/۴۰٪ و شوری ۱۸ مقدار ۲۹/۲۸٪ مقدار نشاسته برگ کاهش یافت. چهار ژنوتیپ اکبری، احمداقایی، UCB-1 و ایتالیایی اختلاف معنی داری در میزان نشاسته نداشتند. در تیمار شاهد کمترین میزان نشاسته مربوط به بادامی بود که با بقیه ژنوتیپ ها اختلاف معنی داری داشت، اگرچه در تیمار شاهد در UCB-1 بیشترین میزان نشاسته ۱۵۸/۰۴ را داشت ولی با همه ژنوتیپ ها به جز بادامی اختلاف معنی داری نداشت. در تیمار شوری ۱۲و ۱۸ بیشترین میزان نشاسته مربوط به اکبری بود. در تیمار شوری ۱۸ کمترین میزان نشاسته مربوط به قزوینی بود که کاهش ۵۵,۳۷٪ نشان داد.

جدول ۴- مقایسه میانگین برهمکنش شوری و ژنوتیپ بر میزان اسپد، کلروفیل کل، ظرفیت آنتی اکسیدانی برگ، قندهای های محلول کل و نشاسته

factor	Salinity (ds/m)	Genotyps						Mean
		اکبری	احمدآقایی	UCB-1	ایتالیایی	قزوینی	بادامی	
SPAD	0.5	61.20 ab	69.30 a	60.63 ab	61.15 ab	60.30 ab	52.67 b-d	60.88 A
	12	56.12 bc	57.5 b	53.40 b-d	56.65 bc	39.32 ef	43.62 de	51.00 B
	18	46.92 c-e	52.07 b-d	45.03 de	44.97 de	40.60 ef	32.22 f	43.57 C
میانگین		54.75 AB	59.62 A	53.02 B	54.25 AB	46.74 C	42.84 C	
کلروفیل کل	0.5	2.70 a	2.35 b	2.03 c	1.82 d	1.77 de	1.66 ef	2.06 A
	12	1.61 f	1.57 fg	1.47 gh	1.39 hi	1.31 ij	1.23 jk	1.43 B
	18	1.20 jk	1.14 ki	1.08 lm	0.98 m	0.87 n	0.70 o	0.99 C
میانگین		1.84 A	1.69 B	1.52 C	1.40 D	1.32 E	1.20 F	
فعالیت آنتی اکسیدانی	0.5	34.80 c	34.68 c	38.16 bc	30.68 c	36.30 c	33.93 c	34.61 B
	12	50.00 a	49.75 a	47.00 a	43.75 ab	46.87 a	47.12 a	44.3 A
	18	49.25 a	50.62 a	48.66 a	47.25 a	48.50 a	46.75 a	48.47 A
میانگین		44.64 A	45.01 A	44.61 A	40.56 A	43.89 A	42.60 A	
قند کل	5	50.70 a-c	42.31 a-d	36.80 b-d	37.48 b-c	40.83 a-d	32.15 cd	40.19 B
	12	54.86 ab	55.36 ab	57.97 a	46.01 a-c	44.13 a-d	39.54 a-d	49.28 A
	18	43.70 a-d	45.48 a-c	51.65 ab	25.65 d	31.68 cd	40.80 a-d	39.31 B
میانگین		49.75 A	47.72 AB	48.80 A	36.38 C	38.88 BC	37.50 C	
نشاسته	0.5	136.63 ab	130.44a-c	158.04 a	104.21 a-f	115.58 a-d	90.49 b-f	121.02A
	12	121.20 a-d	95.95 b-f	107.61 a-e	111.82a-e	45.49 f	63.84 d-f	90.26 B
	18	121.02 a-d	99.67 a-f	88.91 b-f	80.04 b-f	51.58 ef	74.48 c-f	85.82 B
میانگین		126.28 A	108.69 A	118.19 A	98.69 AB	70.89 B	76.27 B	

IrHC2019

نتایج نشان داد شوری باعث کاهش کلروفیل و میزان سبزینگی برگ ۶ ژنوتیپ پسته شد. کمترین میزان کلروفیل و سبزینگی مربوط به ژنوتیپ های بادامی و قزوینی بود و بیشترین میزان در ژنوتیپ های اکبری و احمداقایی مشاهده شد. شاخص کلروفیل به عنوان یک مارکر بیوشیمایی نشان دهنده میزان مقاومت گیاهان به تنش شوری است به نحوی که در گیاهان حساس میزان کلروفیل کاهش می یابد. که به طور کلی کاهش این رنگدانه به خاطر کاهش در سنتز آن یا افزیش سرعت تخریب آن در سلول می باشد. کاهش شاخص کلروفیل عمدتا به دلیل تخریب کلروپلاست و چرخه فتوسنتز همچنین اکسیداسیون کلروفیل و جلوگیری از سنتز کلروفیل در شرایط شور می باشد. همچنین تنش اکسیداتو حاصل از تنش شوری باعث تولید گونه های فعال اکسیژن[5] می شود که این گونه های فعال باعث تخریب کلروپلاست و تجزیه کلروفیل می شود. پایداری شاخص کلروفیل نشان دهنده مقاومت گیاه به شوری می باشد (Karimi and Nasrolahpour-Moghadam, 2016). علت کاهش به دلیل بازدارندگی انزیم های δ-aminolevulinic acid dehydratase و protochlorophyllide reductase ، اختلال در کمپلکس پروتئین های رنگدانه ها ، کمبود عناصر Fe^{2+} ، Zn^{2+}, Mn^{2+}, Mg^{2+} که جهت سنتز کلروفیل ضروری هستند و نهایتا، تخریب رنگدانه های کلروفیل و کاهش کلروفیل و سبزینگی گیاه مشود (Akbari et al., 2018). از دست رفتن کلروفیل و اسیب به کلروپلاست در ژنوتیپ های حساس به شوری دارای همبستگی منفی با میزان نرخ فتوسنتز و رشد گیاه است (Mirfatahi et al., 2017). Karimi و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند، دانهال های نر و ماده پسته در شوری ۱۲م میلی مولار میزان کلروفیل کاهش یافته بود که در دانهال نر شاخص کلروفیل بیشتر بود . کریمی و همکاران(۲۰۰۹) نیز گزارش کردند تنش شوری باعث کاهش کلروفیل دو رقم بادامی و قزوینی شد، که رقم بادامی کاهش معنی داری در مقدار کلروفیل کل نسبت به بادامی داشت.

فعالیت آنتی اکسیدانی

افزایش تنش شوری موجب افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی برگ ۶ ژنوتیپ مورد بررسی شد. مشخص شده، تجمع یون های سمی در سلول و همچنین تنش آبی موجب اختلال در فتوسنتز و تنفس میشود که در نتیجه آن گونه های اکسیژن فعال تولید می شود (ROS) که باعث خسارت به غشای سلولی و دیگر اجزای سلول می شود. که واکنش سلول افزایش فعالیت انزیم های انتی اکسیدانی یا افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی خود سلول می باشد(Mirfatahi et al., 2017).

قند و نشاسته

میزان قند در شوری ۱۲ دسی زیمنس افزایش یافت ولی با افزایش شوری مقدار آن کاسته شد. افزایش شوری موجب کاهش میزان نشاسته برگ شد. نتایج ما نشان داد سه ژنوتیپ بادامی، قزوینی و ایتالیایی کمترین میزان قند و نشاسته را داشت در حالی که ژنوتیپ های اکبری، احمد آقایی و UCB-1 بیشترین میزان قند و نشاسته را داشتند. گیاهان در مواجه با تنش شوری جهت مقابله با پتانسیل اسمزی خارج سلولی و حفظ فشار تورژسانس خود اقدام به تجمع متابولیت های محلول سازگار مثل پرولین و قندهای محلول می کند(Rahneshan et al., 2018). گزارش شده نرخ پایین اسیمیلاسیون کربن و کاهش عملکرد با تجمع کربوهیدارت ها در برگ همراه می باشد. تجمع کربوهیدارت ها ممکن است به دلیل کاهش رشد و تقاضای کمتر انرژی در شرایط تنش رخ بدهد. آزمایشات مختلف نشان داده شده قندها مکانسیم کلیدی تنظیم فتوسنتز می باشد به وسیله سرکوب بیان ژن های فتوسنتز تحت تنش شوری کربوهیدارت های محلول به عنوان اسمولیت های سازگار افزیش می یابند (Karimi et al., 2009). ژنوتیپ های متحمل میزان بیشتری کربوهیدارت تجمع می دهند. تجمع کربوهیدارت ها می تواند توانایی گیاه برای ادامه رشد و و بهبود وضعیت بافت در شرایط شور با افزایش تنظیم اسمزی، حفاظت از بیومولکول ها و تعادل یون های انباشته شده در واکوئل بهبود بخشد (Akbari et al., 2018). در این مقاله هر دو رقم بادامی و قزوینی تحت تنش شوری محتوای قند به شدت تحت تاثیر قرار گرفت. پلی ساکاریدها به عنوان ذخایر انرژی عمل می کند. گروه های هیدروکسیل متصل به پلی ساکاریدها اجازه می دهد که با جذب اب هیدارته شود که منجر به ذخیره آب شده و توانایی گیاه در مواجه با پتانسیل اسمزی خارج سلولی حفظ کند (Rahneshan et al., 2018). در پژوهش Hajiboland و همکاران (۲۰۱۴) غلظت قندهای محلول در برگ ها و ریشه‌ی پسته تحت شرایط تنش شوری، به ترتیب، به

[5] Reactive Oxygen Species (ROS)

IrHC2019

میزان ۲/۲ و ۱/۷ برابر افزایش پیدا کرده بود در حالی که میزان نشاسته در همین اندام ها به طور قابل توجهی کاهش یافته بود. طبق نظر Hajiboland و همکاران (۲۰۱۴) این موضوع بیانگر این مسئله است که علیرغم کاهش فتوسنتز تحت شرایط شوری، تخصیص آسیمیلات ها به منظور تنظیم اسمزی در این اندام ها افزایش پیدا می‌کند. همچنین میزان قندهای محلول در برگهای تازه روییده در زمان تنش بیشتر از برگهای بالغ بود که بیانگر پاسخ گیاه به تنش شوری بود. این افزایش در میزان قند و کاهش در میزان نشاسته در اثر تنش شوری، در *P. atlantica* (Chelli-Chaabouni etal.,2010)، کیوی (Yun-Peng et al., 2019) و بادام شیرین(Zrig et al., 2016) گزارش شده است.

منابع

Akbari, M., Mahna, N., Ramesh, K., Bandehagh, A., & Mazzuca, S. (2018). Ion homeostasis, osmoregulation, and physiological changes in the roots and leaves of pistachio rootstocks in response to salinity. Protoplasma, 1-14.

Flowers TJ, Munns R, & Colmer, TD (2015) Sodium chloride toxicity and the cellular basis of salt tolerance in halophytes. Ann Bot 115:419–431

Fox, J. D., & Robyt, J. F. (1991). Miniaturization of three carbohydrate analyses using a microsample plate reader. Analytical biochemistry, 195(1), 93-96.

Gucci, R. & Tattini, M. (1997) Salinity Tolerance in Olive. Horticultural Reviews, 21, 177-213.

Hajiboland, R., Norouzi, F., & Poschenrieder, C. (2014). Growth, physiological, biochemical and ionic responses of pistachio seedlings to mild and high salinity. Trees, 28(4), 1065-1078.

Karimi, H. R., & Nasrolahpour-Moghadam, S. (2016). Study of sex-related differences in growth indices and eco-physiological parameters of pistachio seedlings (Pistacia vera cv. Badami-Riz-e-Zarand) under salinity stress. Scientia Horticulturae, 202, 165-172.

Karimi, S., Rahemi, M., Maftoun, M., & Tavallali, V. (2009). Effects of long-term salinity on growth and performance of two pistachio (Pistacia L.) rootstocks. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 3(3), 1630-1639.

McCready, R. M., Guggolz, J., Silviera, V., & Owens, H. S. (1950). Determination of starch and amylose in vegetables. Analytical chemistry, 22(9), 1156-1158.

Mirfattahi, Z., Karimi, S., & Roozban, M. R. (2017). Salinity induced changes in water relations, oxidative damage and morpho-physiological adaptations of pistachio genotypes in soilless culture. Acta agriculturae Slovenica, 109(2), 291-302.

Rahneshan, Z., Nasibi, F., & Moghadam, A. A. (2018). Effects of salinity stress on some growth, physiological, biochemical parameters and nutrients in two pistachio (Pistacia vera L.) rootstocks. Journal of Plant Interactions, 13(1), 73-82.

Sorkheh K, Shiran B, Rouhi V & Khodambashi M (2012). Salt stress induction of some key antioxidant enzymes and metabolites in eight Iranian wild almond species. Plant Physiology. 34: 203-213

The changes in chlorophyll, total soluble sugars, starch and antioxidant activity in six pistachio genotypes under salinity condition

Ahmad Raoufi[1], Majid Rahemi[1*], Hassan Salehi[1], Amanollah Javanshah[2]
[1] Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
[2] Department of Horticulture, Iran's Pistachio Research Institute, Rafsanjan, Iran
Corresponding Aouthor: rahemi@shirazu.ac.ir

Abstract

Pistachio is one of the most important nut in Iran. Although, Iran was the first country of pistachio production in the world, the production of this nut was declined and reached to forth country. In this research the chlorophyll, total soluble sugars, starch and antioxidant activity changes in six pistachio genotypes (Akbari, Ahmad-Aghai, UCB-1, Italyayi, Ghazvini and Badami) under salinity stress as factorial experiment in framework of completely randomized design was evaluated. Treatments were salinity at NaCl concentrations of 0.5, 12 and 18dSm^{-1}and six genotypes with four replications. The results showed that chlorophyll and starch contents decreased, whilst, total soluble sugars and antioxidant capacity of pistachio genotypes were increased. We found that UCB-1, Akbari and Ahmad-Aghai had the lowest decrease of chlorophyll and starch contents and the highest total soluble sugars.

Key words: Antioxidant activity, Chlorophyll, pistachio genotypes

IrHC2019