اثر پروتئین هیدرولیزات حاصل از بدز زیتون بر تعدیل تنش خشکی توت فرنگی رقم پاروس

مریم جانقربان، دکتر مهدیه غلامی
دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
Mah.gholami@iut.ac.ir

چکیده:

خشکسالی یکی از مشکلات کنترل نشده محیطی است که اثرات مخرب بسیاری بر کیفیت و عملکرد گیاهان می‌گذارد. بنابراین برای پایداری در عرضه مواد غذایی برای جمعیت رو به رشد، مقابله با چنین چالش‌هایی لازم و ضروری است. به منظور بررسی اثر پروتئین هیدرولیزات بر تعدیل تنش خشکی توت فرنگی، آزمایشی به صورت فاکتوریل شامل دو سطح خشکی ۱۰۰ و ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه و سه تیمار آب مقطر، محلول پاشی پروتئین هیدرولیزات وکاربرد خاکی آن در غلظت ۰/۱۵ درصد در قالب طرح کامل تصادفی با ۵ تکرار انجام شد. در این پژوهش پروتئین بذر زیتون استخراج و پروتئین هیدرولیزات‌های بذر زیتون با استفاده از آنزیم آلکالاز تهیه و پس از تایید فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن استفاده شد. نتایج نشان داد تنش خشکی میزان شاخص کلروفیل و فلورسانس کلروفیل را درگیاهان شاهد کاهش داد، در حالی که میزان کلروفیل و فلورسانس گیاهان تیمار شده با پروتئین هیدرولیزات نسبت به گیاهان شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. تیمار گیاهان با پروتئین هیدرولیزات در غلظت ۰/۱۵ درصد، نشت یونی را کاهش داد و گیاهان میزان کربوهیدرات محلول بیشتر و در نتیجه محتوای آب نسبی بالاتری نسبت به گیاهان تیمار نشده داشتند. در مجموع نتایج نشان داد پروتئین هیدرولیزات تهیه شده از بذر زیتون می‌تواند به طور مؤثر برای کاهش آسیب‌های تنش خشکی استفاده شود.

کلمات کلیدی: آنتی‌اکسیدان‌ها، پپتیدهای فعال زیستی، تنش، محرک‌های زیستی

مقدمه:

در قرن گذشته، اقدامات بهبود دهنده عملیات کشاورزی غالبا با استفاده از منابع غیرتجدیدپذیر از جمله کودهای شیمیایی انجام شده است. اگرچه این دستاورد، بازده محصولات را تا حد زیادی بهبود بخشیده است، اما این شیوه‌ها منجر به جنگل‌زدایی، فرسایش خاک، آلودگی صنعتی، کاهش کیفیت آب‌های سطحی و زیرزمینی و از بین رفتن تنوع زیستی نیز شده‌اند. این عواقب منفی تولید مواد غذایی همچنان با سرعت نگران کننده‌ای ادامه دارد. علاوه بر این، به طور گسترده‌ای تأثیرات منفی افزایش فعالیت‌های کشاورزی، بر تشدید تغییرات جهانی آب و هوا پذیرفته شده است و همچنین تردید در بحث امنیت غذایی را افزایش داده است. بنابراین شیوه‌های فعلی کشاورزی ناپایدار باید مورد بازبینی قرار گیرند. استراتژی‌های جایگزین با عنوان "مدیریت اکولوژیک" شناخته می‌شوندکه باعث افزایش راندمان استفاده از مواد مغذی، کاهش نیاز به کنترل کننده‌های آفات و بیماری‌ها، افزایش بهره وری در مصرف آب و حفظ آن و همچنین بهبود حاصلخیزی خاک می‌شود. در این زمینه، محصولات حاوی ترکیبات طبیعی ممکن است یک پتانسیل بالقوه به منظور افزایش سازگاری با محیط زیست و همچنین ارتقاء رشد گیاهان وسازگاری آن‌ها باشد و رویکرد جدیدی در تولید مواد غذایی ایجاد کند (Canellas *et all*., 2015). کاربرد زیست محرک‌ها (Biostimulants) از جمله روش‌های نوینی است که می‌توان برای افزایش رشد گیاهان، افزایش مقاومت به شرایط نامطلوب خاک و محیط و همچنین افزایش کیفیت محصولات به کار برد. در حقیقت به نظر می‌رسد، زیست محرک‌های گیاهی، که گاهی اوقات به عنوان زیست محرک‌های کشاورزی شناخته می‌شوند، طبقه‌بندی متنوعی از موادی هستند که بدون داشتن مواد مغذی، سموم یا اصلاح کننده خاک می‌توانند به محیط اطراف گیاه اضافه شوند و تأثیرات مثبتی بر رشد و تغذیه گیاهان داشته باشند، اما همچنین بر تحمل تنش زیستی و غیر زیستی نیز مؤثر هستند (Van Oosten *et all*., 2017). مخلوط آمینواسیدها و پپتیدها با استفاده از هیدرولیز شیمیایی و آنزیمی پروتئین‌های موجود در ضایعات صنعت کشاورزی، از هر دو منبع گیاهی (باقیمانده محصولات زراعی) و حیوانی (به عنوان مثال کلاژن، بافت‌های اپیتلیال دام) به دست می‌آیند. پپتیدهای خاص با منشأ گیاهی به عنوان مولکول‌های سیگنالینگ برای دفاع، رشد و نمو گیاهان عمل می‌کنند (Qurartieri *et all*., 2002). علاوه بر این، پروتئین

هیدرولیزات با منشأ گیاهی، حاوی کربوهیدرات‌های محلول و فنل‌ها نیز هستند که نقش مهمی در متابولیسم انرژی و دفاع در برابر تنش اکسیداتیو دارند. در مقابل، پروتئین هیدرولیزات با منشأ حیوانی فاقد کربوهیدرات، فنل و هورمون گیاهی هستند. مقدار مواد معدنی همچنین تحت تأثیر منبع پروتئین است که معمولاً در محصولات پروتئین هیدرولیزات با منشأ گیاهی بیشتر است (Ertani *et all.*, 2009) واسکونل و همکاران (Vasconcelos *et all.*, 2009) فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز را در گیاهان ذرت و سویا تحت شرایط تنش کم آبی مطالعه و نشان دادند که استفاده از زیست محرک‌های حاوی اسیدهای آمینه باعث افزایش فعالیت این آنزیم‌ها می‌شود و به گیاهان کمک می‌کند تا بر شرایط تنش غلبه کنند. در این مطالعه اثر پروتئین هیدرولیزات تهیه شده از دانه زیتون در شرایط اعمال تنش خشکی در گیاه توت فرنگی به عنوان مدل و بهبود پاسخ گیاه توت‌فرنگی به این تنش با استفاده از برخی شاخص‌های فیزیولوژیک بررسی شد.

مواد و روش:

برای انجام این پژوهش پروتئین ۰/۰۳ گرم از بافت دانه زیتون رقم زرد (*Olea europaea*) توسط بافر حاوی ۰/۸ میلی‌لیتر فنول اشباع (فنول اشباع شده با تریس، ۸ pH) و ۰/۸ میلی‌لیتر بافر SDS استخراج گردید و سپس با اضافه کردن ۵ برابر حجم سوپرناتانت متانول سرد حاوی ۰/۱ مولار آمونیوم استات پروتئین رسوب داده شد و با سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه در دور g ۱۰۰۰۰جمع آوری گردید. پروتئین استخراج شده از دانه زیتون در بافر فسفات حل شده و به نسبت ۳۵۰ U/g آنزیم به پروتئین توسط آنزیم آلکالاز به مدت ۲ ساعت در دمای ۶۷ درجه سانتی گراد عمل هضم انجام گردید. سوپرناتانت برای مراحل بعدی شامل تعیین درجه هیدرولیز و آزمون های آنتی اکسیدانی مورد استفاده قرار گرفت. به منظور بررسی اثر پروتئین هیدرولیز حاصل از دانه زیتون بر تنش خشکی، گیاهان توت‌فرنگی رقم Parus در گلدان‌های دو کیلویی حاوی بستر کشت با نسبت‌های مساوی خاک، پرلایت، ماسه (۱:۱:۱) کشت شدند. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کامل تصادفی با ۵ تکرار در گلخانه علوم باغبانی دانشگاه صنعتی اصفهان انجام شد. تیمارهای مورد استفاده در این پژوهش شامل دو سطح خشکی ۱۰۰ و ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه، کاربرد پروتئین هیدرولیزات تهیه شده به میزان ۰ و ۰/۱۵ درصد و دو روش کاربرد برگساره‌ای و خاکی بود. پس از استقرار کامل نشاهای توت فرنگی، تیمار محلول‌پاشی و خاکی آغاز و از روز بعد تیمار خشکی اعمال شد. به منظور اعمال تنش خشکی از روش وزنی استفاده گردید بدین منظور ابتدا درصد رطوبت در نقطه ظرفیت زراعی مزرعه تعیین شد .سپس با توجه به سطوح تنش خشکی و وزن خاک خشک هر گلدان میزان آب لازم برای رسیدن به درصدهایی از ظرفیت زراعی مزرعه برای هر تیمار محاسبه و به وزن خاک خشک گلدان اضافه و بر روی گلدان ها یادداشت گردید. زمان برداشت گیاهان، ۳۵ روز بعد از شروع اعمال تنش خشکی و با ظهور آثار اولیه پژمردگی ناشی از تنش بر روی گیاهان بود. در این زمان تعدادی از فاکتورهای تنش از جمله فلورسانس کلروفیل برگ، میزان پرولین و همچنین میزان کربوهیدرات محلول اندازه‌گیری شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث:

مقایسه میانگین اثر اصلی تنش خشکی بر نشت یونی نشان داد که در تیمار خشکی ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه، میزان نشت یونی ۱۴/۷ درصد نسبت به شاهد افزایش داشته است (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین برهمکنش بین کاربرد پروتئین هیدرولیزات و تنش خشکی بر میزان نشت یونی بافت برگ نشان داد که کمترین نشت یونی ۱۵/۶٪ در گیاهان در شرایط آبیاری نرمال و کاربرد پروتئین هیدرولیزات به صورت محلول پا شی برگی و بی شترین میزان ۲۵/۱٪ در گیاهان شاهد (آب مقطر) تحت تنش خ شکی م شاهده شد. گرچه میزان نشت یونی بافت برگ در گیاهان تیمار شده با پروتئین هیدرولیزات در هر دو حالت محلول پا شی برگی و کاربرد خاکی در شرایط تنش خشکی، نسبت به شرایط بدون تنش تغییرات معنی داری نشان نداد، اما تیمار محلول پا شی پروتئین هیدرولیزات سبب کاهش نشت یونی برگ به میزان ۲۴/۴٪، نسبت به تیمار شاهد شد.

جدول ۱-اثر برهمکنش بین کاربرد پروتئین هیدرولیزات و تنش خشکی بر میزان نشت یونی بافت برگ (درصد) گیاه توت-فرنگی رقم پاروس

تیمار آبیاری	شاهد	محلول پاشی برگی	کاربرد خاکی	میانگین
FC ۱۰۰٪	۱۸/۲۲ b	۱۵/۶۶b	۱۹/۷۸ b	۱۷/۸۸ B
FC ۵۰٪	۲۵/۱۴ a	۱۷/۱۲ b	۱۹/۲۶ b	۲۰/۵۱ A
میانگین	۲۱/۶۸ A	۱۶/۳۹ B	۱۹/۵۲ A	

میانگین های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

مقایسه میانگین اثر اصلی تنش خشکی نشان داد که در تیمار ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه،کاهش ۲/۳۸ درصدی فلورسانس کلروفیل نسبت به شاهد دیده شد (جدول۲). نتایج مقایسه میانگین برهمکنش بین کاربرد پروتئین هیدرولیزات و تنش خشکی بر شاخص حداکثر کارایی فتوسیستم II نشان داد که کمترین میزان فلورسانس کلروفیل (۰/۸۱) در گیاهان شاهد تحت تنش خشکی ۵۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد، که نشان دهنده وجود بازدارندگی نوری و آسیب به PSII است. در واقع می توان گفت که انتقال الکترون در سمت پذیرنده مرکز واکنش PSII مهار شده است. شاخص حداکثر کارایی فتوسیستم II در گیاهان تیمار شده با پروتئین هیدرولیزات در هر دو حالت محلول پاشی برگی و کاربرد خاکی در شرایط تنش خشکی با شرایط بدون تنش تغییر معنی داری نشان نداد. این نشان می‌دهد که کاربرد محلول پاشی یا خاکی ماده زیست محرک می‌تواند مهار نوری گیاه تحت تنش را به تأخیر بیندازد (Lucini *et all*., 2015).

جدول ۲-اثر برهمکنش بین کاربرد پروتئین هیدرولیزات و تنش خشکی بر شاخص حداکثر کارایی فتوسیستم II گیاه توت-فرنگی رقم پاروس

تیمار آبیاری	شاهد	محلول پاشی برگی	کاربرد خاکی	میانگین
FC ۱۰۰٪	۰/۸۴ a	۰/۸۴ a	۰/۸۴ a	۰/۸۴ A
FC ۵۰٪	۰/۸۱ b	۰/۸۴ a	۰/۸۴ a	۰/۸۲ B
میانگین	۰/۸۲ B	۰/۸۴ A	۰/۸۴ A	

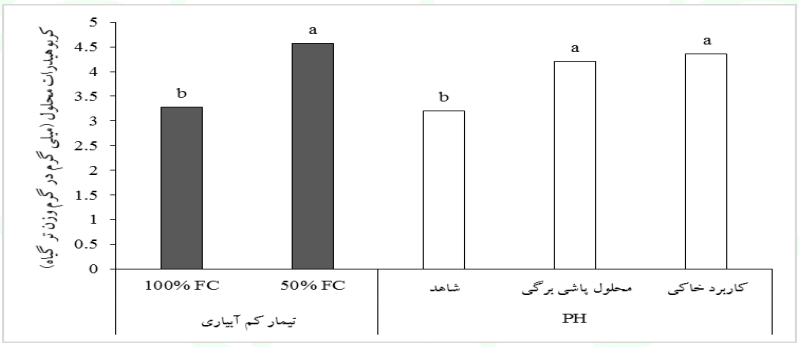
میانگین های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

با توجه به جدول۳ تیمار خشکی ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه سبب افزایش ۳۱/۹ درصدی میزان پرولین نسبت به شاهد شد. نتایج برهمکنش بین کاربرد پروتئین هیدرولیزات و تنش خشکی بر میزان پرولین گیاه نشان داد که کمترین میزان پرولین در گیاهان شاهد در شرایط آبیاری نرمال و بیشترین میزان در گیاهان شاهد تحت تنش خشکی مشاهده شد. در واقع در گیاهان شاهد تحت تنش خشکی میزان پرولین بیش از ۱/۵ برابر افزایش داشته است. در شرایط تنش خشکی، میزان پرولین در گیاهان تیمار شده با پروتئین هیدرولیزات در هر دو حالت محلول پاشی برگی و کاربرد خاکی نسبت به گیاهانی که با آب مقطر تیمار شده بودند، حدود ۴۶ درصد کاهش یافت (جدول ۳).

جدول ۳-اثر برهمکنش بین کاربرد پروتئین هیدرولیزات و تنش خشکی بر میزان پرولین (میکرومول بر گرم وزن تر) گیاه توت‌فرنگی رقم پاروس

تیمار کم آبیاری	شاهد	محلول پاشی برگی	کاربرد خاکی	میانگین
FC ۱۰۰٪	۱/۲۰ b	۱/۵۷ b	۱/۵۷ b	۱/۴۴ B
FC ۵۰٪	۲/۷۴ a	۱/۴۸ b	۱/۴۸ b	۱/۹۰ A
میانگین	۱/۹۷ A	۱/۵۲ B	۱/۵۳ B	

میانگین های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.



شکل ۱- اثر تنش خشکی و پروتئین هیدرولیزات بر میزان کربوهیدرات محلول برگ گیاه توت‌فرنگی رقم پاروس. ستون های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند

همانطور که در شکل ۱مشاهده می‌شود، میزان کربوهیدرات محلول گیاه در تیمار خشکی ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه نسبت به شاهد (شرایط نرمال آبیاری) افزایش یافته است. همچنین افزایش معنی‌داری در مقدار کربوهیدرات محلول گیاهان تیمار شده با کاربرد محلول پاشی و خاکی ماده پروتئین هیدرولیزات نسبت به گیاهان شاهد دیده می‌شود. در دسترس بودن قندهای محلول کل نیز به عنوان شاخص تحمل به تنش خشکی استفاده شده است، زیرا کربوهیدرات‌ها هم تأمین کننده انرژی هستند و هم به عنوان اسمولیت‌های سازگار زمینه تجمع محافظت کننده‌های اسمزی را فراهم می‌کنند،که پایداری غشاهای سلولی را تثبیت کرده و تورژ سانس سلولی را حفظ می‌کنند (Goni *et all*., 2018). ساکارز و گلوکز به عنوان ا سمولیت برای حفظ تورژ سانس سلولی عمل می‌کنند و به نظر می‌رسد برای سنتز متابولیت‌های ثانویه لازم با شند (Rosa *et all*., 2009). با توجه به افزایش کربوهیدرات محلول به دنبال کاربرد پروتئین هیدرولیزات، احتمالاً افزایش ا سیمیلا سیون نیتروژن در گیاهان در نتیجه تأثیرات مثبت پروتئین هیدرولیزات بر تولید اسکلت کربنی و تأمین انرژی باشد، که برای بیوسنتز اسید آمینه‌ها مورد نیاز است (Maini, 2006). افزایش بیوسنتز قند در گیاهان تحت تیمار با زیست محرک‌ها در چندین گونه مشاهده شده است و با افزایش مقدار کلروفیل، فتوسنتز خالص و بازده کوانتومی فتوسنتز II در ارتباط است (Ertani *et all*., 2013).

منابع:

Canellas, L. P., Olivares, F. L., Aguiar, N. O., Jones, D. L., Nebbioso, A., Mazzei, P. and Piccolo, A. 2015. Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. Sci. Hortic. 196: 15-27.

Ertani, A., Cavani, L., Pizzeghello, D., Brandellero, E., Altissimo, A., Ciavatta, C. and Nardi, S. 2009. Biostimulant activity of two protein hydrolyzates in the growth and nitrogen metabolism of maize seedlings. J. Plant. Nutr. Soil Sci. 172: 237-244.

Ertani, A., Schiavon, M., Muscolo, A. and Nardi, S. 2013. Alfalfa plant-derived biostimulant stimulate short-term growth of salt stressed *Zea mays* L. plants. Plant Soil. 364: 145-158.

Goni, O., Quille, P. and O'connell, S. 2018. Ascophyllum nodosum extract biostimulants and their role in enhancing tolerance to drought stress in tomato plants. Plant Physiol. Biochem. 126: 63-73.

Lucini, L., Rouphael, Y., Cardarelli, M., Canaguier, R., Kumar, P. and Colla, G. 2015. The effect of a plant-derived biostimulant on metabolic profiling and crop performance of lettuce grown under saline conditions. Sci. Hortic. 182: 124-133.

Maini, P. 2006. The experience of the first biostimulant, based on amino acids and peptides: a short retrospective review on the laboratory researches and the practical results. Fertilitas Agrorum. 1: 29-43.

Qurartieri, M., Lucchi, A. and Cavani, L. 2002. Effects of the rate of protein hydrolysis and spray concentration on growth of potted kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) plants. Acta Hortic

Rosa, M., Prado, C., Podazza, G., Interdonato, R., Gonzalez, J. A., Hilal, M. and Prado, F. E. 2009. Soluble sugars--metabolism, sensing and abiotic stress: a complex network in the life of plants. Plant Signal Behav. 4: 388-393.

Van Oosten, M. J., Pepe, O., De Pascale, S., Silletti, S. and Maggio, A. 2017. The role of biostimulants and bioeffectors as alleviators of abiotic stress in crop plants. Chem. Biol. Technol. Agric. 4: 5.

Vasconcelos, A. C. F. D., Zhang, X., Ervin, E. H. and Kiehl, J. D. C. 2009. Enzymatic antioxidant responses to biostimulants in maize and soybean subjected to drought. Sci. Agric. 66: 395-402.

Olive seed protein-derived hydrolysate affects drought alleviation in strawberry cv. Paros

Maryam janghorban[1], Mahdieh gholami[*], Bahram baninasab[2]
1-2 Former M. Sc. Student and associate professors, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology
**Corresponding Author: Mah.gholami@iut.ac.ir*

Abstract

Drought is one of the uncontrolled environmental problems that has many detrimental effects on the quality and yield of plants. Therefore, it is necessary to face such challenges in order to sustain food supply for the growing population. In order to investigate the effect of pH on drought alleviation, an experiment was set up as factorial in completely randomized design with two factors, including olive seed protein hydrolysate (PH) application at three levels (0, foliar application at 0.15% or soil drenching at 0.15%) and drought stress at two levels (full irrigation at FC level or 50% FC) and five replications. The results showed that drought stress decreased chlorophyll index and chlorophyll fluorescence, while the levels of them in PH treated plants did not show a significant difference compared to control plants. Treatment with 0.15% PH decreased ionic leakage and plants showed higher proline and soluble carbohydrate concentrations as well as better relative water content than non-treated plants. The obtained results showed that the olive seed PH can be effectively utilized for reducing damages caused by drought stress.

Keywords: Antioxidants, Bioactive peptides, Stress, Biostimulants