تأثیرکلرید سدیم بر فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز، میزان پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون چربی در دانهال‌های سه پایه پسته

مختار حیدری و عنایت‌ا... تفضلی[۱]

چکیده

*یکی از عوامل مهم در تعیین مقاومت به کلرید سدیم، کارایی غشاهای سلولی در شرایط تنش می‌باشد. پراکسیداسیون چربی‌ها ناشی از فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز و یا رادیکال‌های آزاد اکسیژن، از عوامل مهم تخریب غشاهای سلولی در شرایط تنش کلرید سدیم است. در پژوهش حاضر آثار تیمارهای صفر، ۷۵ و ۱۵۰ میلی مول کلرید سدیم طی یک دوره چهارده روزه بر فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز، میزان پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدهید (پراکسیداسیون چربی) در برگ دانهال‌های بنه (**Pistacia mutica** F.& M.)، پسته قزوینی و پسته وحشی سرخس (**P. vera** L.) بررسی گردید.*

نتایج نشان داد کلرید سدیم موجب افزایش فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز در برگ دانهال‌های هر سه پایه پسته گردید و این فعالیت در روز هفتم پس از کاربرد تیمارهای کلرید سدیم به حداکثر رسید و در روز چهاردهم کاهش یافت. در دانهال‌های بنه بیشترین میزان فعالیت آنزیم دیده شد و در روز چهاردهم کاهش کمتری نسبت به دانهال‌های سرخس و قزوینی نشان داد. میزان پراکسید هیدروژن، در برگ دانهال‌های هر سه پایه افزایش یافت و بیشترین میزان آن به ترتیب در دانهال‌های بنه و سرخس پس از کاربرد تیمار کلرید سدیم ۱۵۰میلی‌مول در روز چهاردهم مشاهده گردید. در دانهال‌های هر سه پایه، میزان بالای مالون دی آلدهید (شاخص پراکسیداسیون چربی) در روزهای هفتم و چهاردهم دیده شد. نتایج هم چنین نشان داد امکان استفاده از شاخص پراکسیداسیون چربی و فعالیت‌های مربوط به آن مانند آنزیم لیپوکسی ژناز در گزینش گیاهان مقاوم به کلرید سدیم در پسته وجود دارد و لازم است در مورد تغییرات بیوشیمیایی و آنزیمی در پسته در پاسخ به تنش کلرید سدیم بررسی‌های بیشتری صورت گیرد.

واژه‌های کلیدی: *پسته، کلرید سدیم، پراکسیداسیون چربی، لیپوکسی ژناز، پراکسید هیدروژن، مالون دی آلدهید*

---

۱. به ترتیب دانشجوی سابق دکتری و استاد باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1384.9.2.4.4]

مقدمه

وجود غلظت زیاد کلرید سدیم در خاک و یا آب موجب بروز تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بسیاری در گیاهان می‌شود. یکی از عوامل مهم در تعیین مقاومت به کلرید سدیم، کارایی غشاهای سلولی در شرایط تنش کلرید سدیم می‌باشد(۱۶). چربی‌ها یکی از مهم‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده غشاهای سلولی می‌باشند و پیشنهاد شده تغییر در میزان و ترکیب اسیدهای چرب غشا در تحمل به کلرید سدیم مؤثر است(۱۳). در غشاهایی با ثبات بیشتر، نشت یونی کمتری صورت گرفته و مقاومت به کلرید سدیم بیشتری وجود دارد (۱۶و ۲۳). از طرف دیگر پراکسیداسیون چربی‌های موجود در دیواره سلول‌های گیاهی که تحت تأثیر رادیکال‌های آزاد و به صورت شیمیایی و یا بیوشیمیایی انجام می‌شود، مهم‌ترین مکانیسم تخریب غشاهای سلولی می‌باشد(۱۳). مالون دی آلدهید (MDA) مهم‌ترین ترکیب آلدهیدی است که در نتیجه انجام این فرایند تولید شده و اندازه‌گیری آن به عنوان شاخص پراکسیداسیون چربی غشاهای سلولی در نظر گرفته می‌شود. مالون دی آلدهید می‌تواند پروتئین، اسیدهای نوکلئیک و سایر مولکول‌های سلولی را به طور نامناسبی تحت تأثیر قرار دهد(۲۲). تفاوت در میزان تولید مالون دی آلدهید در ارقام حساس و مقاوم به کلرید سدیم در پرتقال (۱۳)، گندم (۲۱) و توت (۲۳) گزارش گردیده است و می‌تواند نشان دهنده اهمیت این ترکیب در شناسایی گیاهان مقاوم به کلرید سدیم باشد. یکی از سیستم‌های آنزیمی مهم در رابطه با تغییر چربی‌های غشاهای سلولی، سیستم آنزیمی لیپوکسی ژناز می‌باشد. آنزیم لیپوکسی ژناز واکنش ترکیب بین مولکول اکسیژن و اسیدهای چرب غیر اشباع و تولید هیدروپراکسیدهای اسیدهای چرب اشباع نشده را کنترل می‌کند (۱۱). اکسیداسیون اسیدهای چرب ناشی از فعالیت این آنزیم موجب تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود(۱۲). هم چنین گزارش گردیده است تنش کلرید سدیم موجب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن مانند پراکسید هیدروژن در سلول‌های گیاهی شده (۱۳و۲۳) و به دنبال آن پراکسید هیدروژن (H_2O_2) به دست آمده موجب افزایش فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز در سلول‌های گیاهی می‌شود(۱۷). بنابراین به نظر می‌رسد تولید پراکسید هیدروژن در شرایط تنش کلرید سدیم با فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز و پراکسیداسیون چربی‌ها ارتباط دارد. ترکیبات حاصل از فعالیت لیپوکسی ژناز در تحریک بیان ژن‌های دفاعی و علامت دهی و بروز پاسخ گیاهان نسبت به تنش‌های محیطی، حشرات و عوامل بیماری زا نقش مهمی دارند(۱۱). اسید لینولئیک و اسید لینولنیک، سوبستراهای مهم آنزیم لیپوکسی ژناز در گیاهان می‌باشند که به علت فعالیت آنزیم فسفولیپاز A از غشا جدا می‌شوند. فعالیت آنزیم فسفولیپاز A توسط عوامل تنش زا و یا هورمون‌های گیاهی تحریک می‌شود(۱۲). مولینا و همکاران (۱۸) گزارش کردند در شرایط درون شیشه، کلرید سدیم موجب افزایش فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز و پراکسیداسیون چربی در گوجه فرنگی گردید. بن حیم و همکاران (۵) نیز گزارش دادند در شرایط درون شیشه، تنش کلرید سدیم فعالیت این آنزیم را در پرتقال افزایش داد. آنان هم چنین تأکید نمودند این افزایش در فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز در شرایط تنش کلرید سدیم منحصر به فرد است، زیرا در شرایط تنش اسمزی ایجاد شده پس از کاربرد پلی اتیلن گلیکول، مانیتول و یا اسید ابسایزیک این افزایش دیده نشد. افزایش فعالیت این آنزیم در شرایط تنش کلرید سدیم در تاج خروس (۶) و سویا (۱۵) و کاهش. در فعالیت آنزیم در شرایط تنش خشکی در گیاه (*Allium schoeno prasum*) (۷) نیز گزارش شده است.

پسته یکی از محصولات مهم باغبانی در ایران می‌باشد و گزینش پایه‌ها و یا ارقام مقاوم به کلرید سدیم آن بسیار مهم است. تحمل به کلرید سدیم پایه‌های به کار رفته در این پژوهش بر اساس میزان تندش دانه گرده و بذر توسط حیدری و راحمی(۳) و بر اساس میزان تجمع یون‌ها و جنبه‌های رشد رویشی در مرحله رشد دانهالی توسط حیدری(۲) مورد بررسی قرار گرفته است، ولی در مورد تغییرات بیوشیمیایی و آنزیمی ناشی از تنش کلرید سدیم و امکان استفاده از این شاخص‌ها در شناسایی گیاهان پسته مقاوم به کلرید سدیم، اطلاعاتی در دست نیست.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1384.9.2.4.4]

ایـن پـژوهش بـه منظـور بررسـی تـأثیر کلریـد سـدیم بـر پراکسیداسـیون چربـی و فعالیـت آنـزیم لیپوکسـی ژنـاز در دانهال‌های بنه(*Pistacia mutica* F.& M.)، پسته قزوینی و پسته وحشی سرخس (*P. vera* L.) انجام گردید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش طی سال ۱۳۸۲ در گلخانه بخش باغبـانی دانشـگاه شیراز و آزمایشگاه مجتمع تحقیقاتی بعثـت شـیراز (وابسـته بـه مرکز تحقیقات کشاورزی استان فارس) انجام گردیـد. بـذرهای بنه از جنگل‌های وحشی بنه واقع در جنوب غربی استان فـارس جمـع‌آوری شـدند. بـذرهای پسـته قزوینـی و سـرخس نیـز از مؤسسه تحقیقـات پسـته ایـران واقـع در رفسـنجان تهیـه شـد. بذرهای بنه بـه روش پیشـنهادی بـانی نسـب (۱) خـراش‌دهـی گردیده و به همراه بذرهای قزوینی و سرخس به مدت یک مـاه در کیسه‌های حاوی پیت مرطوب و دمای۱ ±۷ درجه سانتی‌گراد سرمادهی شدند. تندش بذرها در دمای ۱±۲۰ درجه سانتی‌گـراد انجام گردید و سـپس بـذرهای تنـدش یافتـه در کیسـه‌هـای ۵ کیلوگرمی حاوی شن کوارتز (به ابعاد تقریبی ۶-۲ میلی‌متر وزن مخصوص ۰/۶۶گرم بر سانتی‌متر مکعب) کاشته شد. گلـدان‌هـا در گلخانه(درجه حرارت روز وشب به ترتیب۱ ±۲۵و ۱ ±۱۴ درجه سانتی‌گراد) و شرایط نور طبیعی (بدون نور دهی تکمیلی) نگه‌داری گردیدند. به منظور تأمین عناصـر مـورد نیـاز، محلـول غذایی اپستین(۱۰) استفاده گردید. تیمارهای شـوری (شـامل ۰، ۷۵ و ۱۵۰میلی مول کلرید سدیم) به علاوه نسـبت۱:۱۰ کلریـد کلسیم در هر سطح شوری(به ترتیـب ۰، ۷/۵ و ۱۵ میلـی مـول کلرید کلسیم) از هفته پـنجم پـس از کاشـت دانهـال‌هـا انجـام گردیـد. افـزودن کلریـد کلسـیم بـه دلیـل حفـظ ثبـات غشـای سلول‌های ریشه و میزان پتاسیم مناسب در سلول انجام شد (۸).

به منظور جلوگیری از وارد شـدن شـوک ناگهـانی، سـطوح کلرید سدیم در هر دور آبیاری (سه روز یک بار) بـه میـزان ۲۵ میلی‌مول افزایش یافت تا به حد مورد نظر رسید. نمونه‌برداری‌ها در فواصل زمانی ۱، ۷ و ۱۴ روز پس از رسیدن به سطح کلریـد سدیم مورد نظر انجام گردید. در زمان‌های معـین، کـل گیـاه از گلدان خارج گردیده و پس از آب کشی در آب مقطر، ریشـه و شاخساره به طور جداگانه، لابه لای ورقه‌های آلومینیمی پیچیـده شده و با استفاده از ازت مایع منجمد گردیدند.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز

عصاره‌گیری آنزیم به روش پیشـنهادی مینگـوئز- موسـکوئرا و همکاران(۱۹) با کمی تغییر انجام گردید. صد میلـی‌گـرم نمونـه برگ با بافرفسفات پتاسیم (۵۰ میلی مول، pH=۶) حاوی تریتون ۱۰۰- X (۰/۲۵ درصد) عصاره‌گیری و بـه مـدت ۳۰ دقیقـه بـا دور۲۰۱۰۰ در دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گـراد سـانتریفوژ گردید. عصاره‌ها تا زمان اندازه‌گیری درون یخ نگه‌داری شـدند. فعالیت آنزیم با روش پیشـنهادی اکسـلرود و همکـاران (۴) بـا کمی تغییر اندازه‌گیری شد. بیست میکرولیتر عصاره آنزیمـی بـه بیسـت میکرولیتـر اسـید لینولئیـک (۵۰۰ میلی‌مول) و بافر فسفات پتاسـیم(۵۰ میلـی‌مـول، pH=۶) اضافه و افزایش جذب در طول موج ۲۳۴ نـانومتر انـدازه‌گیـری گردید و با استفاده از ضریب جـذب $۲۵۰۰۰M^{-1}cm^{-1}$ محاسـبه شد.

پراکسیداسیون چربی

میزان مالون دی آلدهید برگ با استفاده از روش پیشنهادی هـث و پاکر(۱۴) اندازه‌گیری شد. میزان جذب در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر قرائت گردید و میزان مالون دی آلدهید با استفاده از تفاضل قرائت انجام شده در ۶۰۰ نانومتر (مربـوط بـه جـذب مولد غیر ویژه) محاسبه شد.

پراکسید هیدروژن

اندازه‌گیری میزان پراکسید هیدروژن براسـاس روش پیشـنهادی ولیکووا و همکاران (۲۴) انجام گردید. نمونه بـرگ(۰/۷۰ گـرم) با استفاده از ۵ میلی لیتر اسید تـری کلـرو اسـتیک (TCA) ۰/۱ درصـد عصـاره‌گیـری شـد و بـه مـدت ۱۵ دقیقـه سـانتریفوژ

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1384.9.2.4.4]

گردید(۱۲۰۰۰ دور در دقیقه) و با استفاده از یدور پتاسیم(یک مولار) میزان جذب درطول موج ۳۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

محاسبات آماری

به صورت طرح کرت‌های خرد شده در زمان در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار (هر تکرار شامل یک گیاه) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح ۵٪ انجام گردید.

نتایج

فعالیت آنزیمی

جدول‌های ۱و ۲ به ترتیب نشان دهنده آثار کلرید سدیم بر میزان فعالیت و درصد فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز در برگ دانهال‌های پایه‌های پسته می‌باشد. افزایش کلرید سدیم به میزان ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مول در لیتر، موجب افزایش فعالیت آنزیم نسبت به شاهد گردید(جدول ۱). در کلیه سطوح کلرید سدیم، بیشترین درصد افزایش فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز در دانهال‌های بنه صورت گرفت(جدول ۲). در دانهال‌های سرخس و قزوینی در روز چهاردهم پس از اعمال تیمارهای کلرید سدیم ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مول در لیتر، کاهش در فعالیت آنزیم نسبت به روز اول و هفتم، ولی در دانهال‌های بنه تنها در سطح کلرید سدیم ۱۵۰ میلی‌مول این کاهش دیده شد. بیشترین درصد افزایش فعالیت آنزیم در دانهال‌های قزوینی و سرخس، در روز هفتم پس از اعمال تیمار کلرید سدیم ۱۵۰ میلی‌مول (به ترتیب ۱۶ و ۲۰ درصد)، ولی در دانهال‌های بنه، در روز اول پس از اعمال تیمار کلرید سدیم ۱۵۰ میلی‌مول بیشترین فعالیت آنزیم مشاهده گردید(۳۶ درصد نسبت به شاهد) که بیشترین میزان فعالیت آنزیم در مقایسه با سایر تیمارها بود. بررسی فعالیت آنزیمی نشان داد به علت افزایش بیشتر فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز در دانهال‌های بنه و کاهش دیرتر فعالیت افزایش یافته آنزیم در دانهال‌های بنه نسبت به دانهال‌های قزوینی و سرخس، احتمالاً بنه در مقایسه با دو پایه دیگر، حساسیت بیشتری نسبت به تنش شوری ناشی از کلرید سدیم دارد.

پراکسیداسیون چربی

جدول ۳ مربوط به نتایج آثار تیمارهای کلرید سدیم و مدت زمان تیمار بر پراکسیداسیون چربی(که براساس مقدار مالون دی آلدهید اندازه‌گیری شد) در برگ دانهال‌های پایه‌های پسته می‌باشد. نتایج نشان داد کاربرد تیمارهای کلرید سدیم ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مول در لیتر به طور معنی‌داری موجب افزایش پراکسیداسیون چربی در هر سه پایه گردید و این فعالیت با گذشت زمان تشدید شد. در دانهال‌های بنه، در روز چهاردهم پس از کاربرد تیمار ۱۵۰ میلی‌مول در لیتر کلرید سدیم، بیشترین میزان پراکسیداسیون چربی دیده شد (۵۷/۹۷ نانو مول در گرم وزن تر برگ). در بنه میزان پراکسید اسیون چربی در سطح ۱۵۰ میلی‌مول کلرید سدیم در روزهای هفتم و چهاردهم افزایش معنی‌دار نسبت به روز اول داشت، ولی در دانهال‌های قزوینی و سرخس این طور نبود.

پراکسید هیدروژن

در جدول ۴ اثر تیمارهای کلرید سدیم بر میزان جذب پراکسید هیدروژن در برگ دانهال‌های پایه‌های پسته طی یک دوره چهارده روزه آورده شده است. نتایج نشان داد کاربرد کلیه تیمارهای کلرید سدیم طی یک دوره چهارده روزه موجب افزایش معنی‌دار تولید پراکسید هیدروژن در برگ دانهال‌های هر سه پایه پسته نسبت به شاهد گردید. بیشترین میزان پراکسید هیدروژن در روز چهاردهم پس از اعمال تیمار کلرید سدیم ۱۵۰ ملی مول در دانهال‌های بنه مشاهده گردید(۰/۷۲) که با میزان تولید پراکسید هیدروژن در روز هفتم تفاوت معنی داری نداشت(۰/۶۸۳). در دانهال‌های پسته سرخس نیز بیشترین میزان تولید پراکسید هیدروژن در روزچهاردهم و پس از کاربرد تیمار کلرید سدیم ۱۵۰ میلی‌مول دیده شد که با نتایج روز اول و هفتم تفاوت معنی‌داری داشت(به ترتیب ۰/۶۹۳ در مقایسه با

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1384.9.2.4.4]

جدول ۱. آثار کلرید سدیم و زمان بر فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز (پیکومول هیدروپروکسی اکتاد کادینوئیک اسید در دقیقه در گرم وزن تازه برگ) در برگ پایه‌های پسته

مدت زمان	کلرید سدیم(میلی مول)		
روز	۰	۷۵	۱۵۰
	بنه		
۱	۱۱۷۴* mn	۱۳۰۶klm	۱۶۰۷efgh
۷	۱۲۵۶ lmn	۱۵۴۱fghij	۱۶۵۸defg
۱۴	۱۰۵۲ n	۱۳۴۵ijklm	۱۲۷۰lm
	سرخس		
۱	۱۲۹۲ lmn	۱۴۴۵ghijk	۱۴۹۵ghijk
۷	۱۳۳۷ jklm	۱۵۵۲fghi	۱۶۱۷efgh
۱۴	۱۳۴۸ijklm	۱۴۴۵ghijkl	۱۴۱۲hijkl
	قزوینی		
۱	۱۶۵۳ defg	۱۷۹۵bcde	۱۸۳۸abcd
۷	۱۷۴۱ cdef	۱۹۷۰ab	۲۰۲۰a
۱۴	۱۷۸۴ bcdef	۱۸۹۳abc	۱۹۱۳abc

*: میانگین‌هایی که در هر ردیف و یا ستون دارای حروف مشابه می‌باشند، تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ آزمون توکی ندارند.

جدول ۲. آثار کلرید سدیم و زمان بر درصد فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز در برگ پایه‌های پسته

مدت زمان	کلرید سدیم(میلی مول)		
روز	۰	۷۵	۱۵۰
	بنه		
۱	۱۰۰	۱۱۱/۲۴	۱۳۶/۸۸
۷	۱۰۰	۱۲۲/۶۹	۱۳۲/۰۱
۱۴	۱۰۰	۱۲۷/۸۵	۱۲۰/۷۲
	سرخس		
۱	۱۰۰	۱۱۱/۸۴	۱۱۵/۷۱
۷	۱۰۰	۱۱۶/۰۸	۱۲۰/۹۴
۱۴	۱۰۰	۱۰۷/۸۶	۱۰۴/۷۵
	قزوینی		
۱	۱۰۰	۱۰۸/۵۹	۱۱۱/۱۹
۷	۱۰۰	۱۱۳/۱۵	۱۱۶/۰۳
۱۴	۱۰۰	۱۰۶/۱۱	۱۰۷/۲۳

۰/۴۷۹ و ۰/۴۲۵). در روزچهاردهم و پس از کاربرد تیمار کلرید سدیم ۱۵۰ میلی‌مول، تفاوت معنی‌داری در میزان تولید پراکسید هیدروژن بین دانهال‌های سرخس و بنه وجود نداشت. در دانهال‌های قزوینی با کاربرد تیمار کلرید سدیم ۱۵۰ میلی‌مول، میزان تولید پراکسید هیدروژن در روزهای اول، هفتم و چهاردهم تفاوت معنی‌داری نشان داد. کاربرد تیمار کلرید سدیم ۷۵ میلی‌مول موجب بیشترین میزان تولید پراکسید هیدروژن در دانهال‌های بنه در روز چهاردهم شد.

بحث

افزایش کلرید سدیم موجب افزایش پراکسیداسیون چربی در بخش هوایی دانهال پایه‌های پسته گردید و میزان مالون دی

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1384.9.2.4.4]

جدول ۳. آثار کلرید سدیم و زمان بر میزان مالون دی‌آلدهید (نانومول در گرم وزن تر برگ) در برگ دانهال‌های پایه پسته

مدت زمان	کلرید سدیم (میلی مول)		
روز	۰	۷۵	۱۵۰
	بنه		
۱	۱۵/۸۷$^{*\ j}$	۲۸/۹^{fgh}	۴۴/۸۸^{bcde}
۷	۱۸/۴^{hij}	۴۵/۸۹^{abcd}	۵۶/۲۸^{ab}
۱۴	۱۶/۵۶^{hij}	۴۴^{bcde}	۵۷/۹۷^{a}
	سرخس		
۱	۱۴/۹^{j}	۲۷/۷۱^{fghij}	۳۶/۶۵^{defg}
۷	۱۶/۴۳^{j}	۳۵/۷۲^{defg}	۳۹/۲۶^{cdef}
۱۴	۱۸/۲^{j}	۴۴/۴۵^{bcde}	۴۸/۲۵^{bcd}
	قزوینی		
۱	۱۲/۱۶^{j}	۲۴/۳۸^{ghij}	۳۹/۸۹^{cdef}
۷	۱۶/۴۳^{hij}	۳۲/۷۷^{efg}	۴۷/۴^{bcd}
۱۴	۱۸/۲^{hij}	۳۸/۳۳^{cdef}	۵۰/۵۲^{abc}

*: میانگین‌هایی که در هر ردیف و یا ستون دارای حروف مشابه می‌باشند، تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ آزمون توکی ندارند.

جدول ۴. آثار کلرید سدیم و زمان بر میزان جذب پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) در برگ دانهال‌های پسته در طول موج ۳۹۰ نانومتر

مدت زمان	کلرید سدیم (میلی مول)		
روز	۰	۷۵	۱۵۰
	بنه		
۱	۰/۰۹۸$^{*\ i}$	۰/۳۶۹^{gh}	۰/۳۷۵^{h}
۷	۰/۱۱۲^{i}	۰/۴۷۹^{bcd}	۰/۶۸۳^{ab}
۱۴	۰/۱۰۱^{i}	۰/۶۰۲^{defgh}	۰/۷۲^{a}
	سرخس		
۱	۰/۱۱۷^{i}	۰/۳۹۳^{fgh}	۰/۴۲۵^{efgh}
۷	۰/۱۲۸^{i}	۰/۴۴۸^{efgh}	۰/۴۷۹^{defgh}
۱۴	۰/۱۴^{i}	۰/۵۱۲^{cdef}	۰/۶۹۳^{ab}
	قزوینی		
۱	۰/۱۱۱^{i}	۰/۳۴۸^{gh}	۰/۴۱۷^{efgh}
۷	۰/۱۱۰^{i}	۰/۴۳۸^{efgh}	۰/۵۳۵^{cde}
۱۴	۰/۱۳۱^{i}	۰/۴۹۳^{defg}	۰/۶۲۲^{bc}

*: میانگین‌هایی که در هر ردیف و یا ستون دارای حروف مشابه می‌باشند، تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ آزمون توکی ندارند.

آلدهید(MDA) که شاخص انجام پراکسیداسیون چربی می‌باشد، در پاسخ به کلرید سدیم افزایش معنی‌داری نشان داد(جدول ۳). نتایج مشابهی در مورد اثر تنش کلرید سدیم بر افزایش میزان مالون دی آلدهید و پراکسیداسیون چربی توسط سایر پژوهشگران در تاج خروس(۶)، پرتقال(۱۳) و سویا (۱۵) گزارش شده است. هم چنین تفاوت در میزان تولید مالون دی آلدهید که برای نخستین بار در گونه‌های پسته گزارش می‌شود، نشان می‌دهد این شاخص را می‌توان به عنوان یکی از معیارهای

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1384.9.2.4.4]

گزینش گیاهان مقاوم به کلرید سدیم مورد استفاده قرار داد، زیرا نتایج این پژوهش نشان داد در دانهال‌های بنه پراکسیداسیون چربی بیشتری نسبت به دو پایه دیگر انجام شد و در بررسی‌های حیدری(۳) و حیدری و راحمی (۲) حساسیت بیشتر بنه نسبت به دو پایه دیگر گزارش شده است. افزایش میزان پراکسیداسیون چربی و تولید مالون دی آلدهید بیشتر در ارقام حساس نسبت به کلرید سدیم در پرتقال (۱۳)، گندم (۲۱) و توت (۲۳) مورد تأئید قرار گرفته است. افزایش میزان رادیکال‌های آزاد (۲۰) و افزایش فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز(۱۱و ۱۲) از مهم‌ترین دلایل پراکسیداسیون چربی می‌باشد. اگر چه در مورد تأثیر کلرید سدیم بر فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز داده‌های کمی وجود دارد (۵، ۶، ۱۳ و ۲۰) ولی چون این آنزیم اسیدهای چرب غشا را به عنوان سوبسترا مورد استفاده قرار می‌دهد و ترکیبات حاصل از این فعالیت نقش مهمی در بسیاری از فعالیت‌های متابولیکی گیاه مانند تولید تنظیم کننده‌های رشد گیاهی، مولکول‌های علامت دهنده(مانند جاسمونیت‌ها) دارند (۱۱و۱۲)، لازم است در زمینه تأثیر کلرید سدیم بر فعالیت این آنزیم بررسی‌های بیشتری صورت گیرد. افزایش بیشتر در فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز در دانهال‌های بنه نشان دهنده میزان آسیب پذیری بیشتر به غشاهای سلولی توسط این آنزیم نسبت به پایه‌های قزوینی و سرخس می‌باشد و می‌تواند یکی از دلایل حساسیت بیشتر این پایه نسبت به تنش شوری باشد. گزارش‌های موجود در مورد حساسیت بیشتر بنه در شرایط تنش کلرید سدیم نسبت به دو پایه دیگر(۲ و ۳) نیز نشان می‌دهد احتمالاً از این آنزیم می‌توان در گزینش گیاهان پسته مقاوم به کلرید سدیم استفاده کرد. اگرچه در مورد گزینش گیاهان مقاوم به کلرید سدیم براساس فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز گزارشی وجود ندارد ولی افزایش فعالیت این آنزیم در شرایط تنش کلرید سدیم در سویا(۱۵)، گوجه فرنگی(۲۰)، پرتقال(۵) و تاج خروس(۶) نیز مورد تأیید قرار گرفته است. نتایج این پژوهش نشان داد در مورد اثر تنش کلرید سدیم بر پراکسیداسیون چربی، بایستی نقش پراکسید هیدروژن نیز مورد توجه قرار گیرد. با توجه به این‌که تنش کلرید سدیم موجب افزایش میزان پراکسید هیدوژن گردید(جدول ۴) و این‌که یکی از آثار اولیه افزایش میزان پراکسیداسیون هیدروژن، تحریک فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز می‌باشد(۱۷)، بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد احتمالاً یکی از دلایل افزایش فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز در شرایط تنش کلرید سدیم در دانهال‌های پسته، افزایش تنش اکسیداسیونی ناشی از پراکسید هیدروژن می‌باشد و لازم است در مورد تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن مانند پراکسیداسیون هیدروژن در گیاه پسته در شرایط تنش کلرید سدیم بررسی‌های بیشتری صورت گیرد. زیرا این ترکیبات علاوه بر آسیب‌هایی که به صورت مستقیم و غیر مستقیم به گیاهان وارد می‌سازند(۹ و ۲۲)، بسته به تحمل به کلرید سدیم گیاهان، به میزان متفاوتی نیز تولید می‌شوند(۲۱ و ۲۳) به طوری‌که نتایج این پژوهش نشان داد میزان پراکسید هیدروژن در دانهال‌های بنه بیشتر از قزوینی و سرخس بود و نشان می‌دهد بنه پایه حساس به شوری می‌باشد.

نتایج این پژوهش نشان داد که پراکسیداسیون چربی که یکی از آسیب‌های ناشی از تنش‌های محیطی می‌باشد، در اثر تنش کلرید سدیم در دانهال‌های پسته نیز صورت می‌گیرد و چون میزان آن بسته به تحمل به کلرید سدیم گیاه متفاوت است، پیشنهاد می‌شود در مورد امکان استفاده از این شاخص و فعالیت‌های مربوط به آن مانند فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز در گزینش گیاهان مقاوم به کلرید سدیم بررسی‌های بیشتری صورت گیرد. هم چنین با توجه به این‌که در بررسی‌های انجام شده در زمینه مقاومت به کلرید سدیم در پسته از شاخص‌هایی مانند تجمع یون و یا شاخص‌های رشد رویشی (۲) استفاده شده و در مورد تغییرات بیوشیمیایی و آنزیمی ناشی از تنش کلرید سدیم، گزارشی منتشر نشده است، پیشنهاد می‌شود این تغییرات نیز در گونه‌ها و یا پایه‌های پسته در پاسخ به تنش کلرید سدیم مورد توجه قرار گیرد. بررسی درصد فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز(جدول ۲) نشان داد در دانهال‌های بنه مدت کوتاهی پس از بروز تنش کلرید سدیم، فعالیت این آنزیم

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1384.9.2.4.4]

سریع‌تر از قزوینی و سرخس افزایش یافت و با گذشت زمان، کاهش کمتری در فعالیت آنزیم نسبت به دو پایه دیگر دیده شد. این بروز سریع‌تر پاسخ نسبت به تنش شوری نیز می‌تواند نشان دهنده مقاومت کمتر بنه نسبت به تنش شوری ناشی از کلرید سدیم باشد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از جناب آقای دکتر یوسف علی سعادت ریاست محترم مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی و سرپرست مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام استان فارس، آقایان مهندس نصیرزاده، مهندس نعمتی و سرکار خانم صادقیان و مجتمع تحقیقاتی بعثت شیراز (وابسته به سازمان تحقیقات جهاد کشاورزی و منابع طبیعی فارس) به خاطر همکاری در اجرای این پژوهش تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

۱. بانی نسب، ب. ۱۳۷۵. رکود بذر و اثر اسید جیبرلیک بر رشد دانهال دو گونه وحشی پسته. پایان نامه کارشناسی ارشد باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز.

۲. حیدری، م. و م. راحمی. ۱۳۸۱. مطالعه آثار کلرید سدیم بر تنژگی دانه گرده و بذر چند پایه پسته. مجله علوم کشاورزی ایران ۳۳(۳): ۳۸۵-۳۹۳.

۳. حیدری، م. ۱۳۷۷. مطالعه اثرات کلرید سدیم بر تنژگی دانه گرده و بذر و هم چنین رشد دانهال در پاسخ به کلرید سدیم و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی در گونه‌های پسته. پایان نامه کارشناسی ارشد باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز.

4. Axerlrod, K., T. M. Cheesbrough and S. Laakso. 1981. Lipoxygenase from soybean. Method. Enzymol. 71: 441-451.
5. Ben-Hayyim, G., Y. Gueta- Dahan, O. Avsion- Kretchmer, H. Weichert and J. Feussent. 2001. Preferntial induction of a 9- lipoxygenase by salt - tolerant cells of *Citrus sinensis* L. 'Osbeck'. Planta 212(3): 367-375.
6. Bhattacharjee, S. A. and K. Mukherejee. 1996. Ethylene evolution and membrane lipid peroxidation as indicators of salt injury in leaf tissues of *Amaranthus lividus* seedlings. Indian. J. Exp. Biol. 34 279-281.
7. Breusegem, F.V., E. Vranova, J. F. Dat and D. Inze. 2001 The role of active oxygen species in plant signal transduction. Plant Sci. 161: 405-414.
8. Cramer, G. R., A. Luchli and V. S . Spolito. 1985. Displacement of Ca^{++} by Na^{+} from the plasmalemma of root cells: a primary response to salt stress. Plant Physiol. 79:207-211.
9. Egert, M. and M. Tevini. 2002. Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). Environ. Exp. Bot. 48 43-49
10. Epstein, E .1972. Mineral Nutrient of Plants: Principles and Perspectives. Wiley Pub., New York. N.Y.
11. Grechkin, A. 1998. Recent developments in biochemistry of the plant lipoxygenase pathway. Prog. Lipid Res. 37(5): 317-352.
12. Grechkin, A. N. and A. Tarchevsky. 1999. The lipoxygenase signaling system. Russ. J. Plant Physiol. 49(1): 114-123.
13. Gute-Dahan, Y., Z. Yavin, B. A. Zilinskas and G. Ben – Hayyim. 1997. Salt and oxidative stress: similar and specific responses and their relation to salt tolerance in *Citrus*. Planta 203: 460-469.
14. Heath, R. L. and L. Packer. 1968. Photo-peroxidation in isolated chloroplast .I. kinetics and stoichemistry of fatty acid peroxidation. Archiv. Biochem. Biophys. 25 : 184-198.
15. Huang-Chi, Y. and C. Y. Huang. 1996. Salt-stress induces lipid degradation and lipid phase transition in plasma membrane of soybean plants. Taiwania 41: 96-104.
16. Luttage, U. 1993. Plant cell membrane and salinity: structural, biochemical and biophysical changes. Riv. Bras. Pisiol. Veg. 5(2): 217-224.
17. Maccaron, M., G. V. Zadelhoff, G. A. Vegdink, F. G. Vliegenthart and A. Finazzi- Agro. 2000. Early activation of lipoxygenase in lentil (*Lens culinaris*) root protoplasts by oxidative stress induced programmed cell death. Eurp. J. Biochem. 267: 5078 - 5084.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1384.9.2.4.4]

18. Macri, F., E. Braidot, E. Petrussa and A.Vianello. 1994. Lipoxygenase activity associated to isolated soybean plasma membrane. Biochem. Biophys. Acta. 1215: 109-114.
19. Minguez-Mosquera, M. I., M. J. Galen and G. Ferrnandez. 1993. Lipoxygenase activity during pepper ripening and proccesing of paprika. Phytochemistry 32: 1103-1108.
20. Molina , A., P. Bueno, M. C. Marin and M. P. Rodriguez- Rosales. 2002. Involvement of endogenous salicylic acid content, lipoxygenase and antioxidant enzyme activities in the response of tomato cell suspension cultures to NaCl. New Phyto. 156: 409-412.
21. Sairam, R. K., P. S. Deshmukb and D. S. Shukla. 1997. Tolerance to drought and temperature stress in relation to increased antioxidant enzyme activity in wheat. J. Agron. Crop Sci. 178:171-177.
22. Schauenstein, E., H. Esterbauer and H. Zoller. 1977. Aldehydes in Biological Systems: Their Natural Occurrence and Biological Activities. Pion Press., London. U. K.
23. Sudhakar, C., A. Lukshmi and C. Giridarakumar. 2001. Changes in the antioxidant enzymes efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. Plant Sci. 161: 613-619.
24. Velikova, V., I. Yordanov and A. Edreva. 2000. Oxidative stress and some antioxidant system in acid rain treated bean plant : protective role of exogenous polyamines. Plant Sci. 151: 59-66

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1384.9.2.4.4]