

## تأثیر کلرید سدیم بر فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز، میزان پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون چربی در دانه‌های سه پایه پسته

مختار حیدری و عنایت‌ا... تفضلی<sup>۱</sup>

### 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 دی‌آلدئید (پراکسیداسیون چربی) در برگ دانه‌های بته (*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 دانه‌های 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 دانه‌های بته بیشترین میزان فعالیت آنزیم دیده شد و در روز چهاردهم کاهش کمتری نسبت به دانه‌های سرخس و قزوینی نشان داد. میزان پراکسید هیدروژن، در برگ دانه‌های هر سه پایه افزایش یافت و بیشترین میزان آن به ترتیب در دانه‌های بته و سرخس پس از کاربرد تیمار کلرید سدیم ۱۵۰ میلی‌مول در روز چهاردهم مشاهده گردید. در دانه‌های هر سه پایه، میزان بالای مالون دی‌آلدئید (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 دی‌آلدئید

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

## 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 (۱۶ و ۲۳). از طرف دیگر پراکسیداسیون چربی‌های موجود در دیواره سلول‌های گیاهی که تحت تأثیر رادیکال‌های آزاد و به صورت شیمیایی یا بیوشیمیایی انجام می‌شود، مهم‌ترین مکانیسم تخریب غشاهای سلولی می‌باشد (۱۳). مالون دی‌آلدئید (MDA) مهم‌ترین ترکیب آلدئیدی است که در نتیجه انجام این فرایند تولید شده و اندازه‌گیری آن به عنوان شاخص پراکسیداسیون چربی غشاهای سلولی در نظر گرفته می‌شود. مالون دی‌آلدئید می‌تواند پروتئین، اسیدهای نوکلئیک و سایر مولکول‌های سلولی را به طور نامناسبی تحت تأثیر قرار دهد (۲۲). تفاوت در میزان تولید مالون دی‌آلدئید 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 اشباع نشده را کنترل می‌کند (۱۱). اکسیداسیون اسیدهای چرب ناشی از فعالیت این آنزیم موجب تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود (۱۲). هم‌چنین گزارش گردیده است تنش کلرید سدیم موجب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن مانند پراکسید هیدروژن در سلول‌های گیاهی شده (۱۳ و ۲۳) 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 بیماری‌زا 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 تنش‌زا 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. بن‌حییم و همکاران (۵) نیز گزارش دادند در شرایط درون شیشه، تنش کلرید سدیم فعالیت این آنزیم را در پرتقال افزایش داد. آنان هم‌چنین 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 پلی‌اتیلن گلیکول، مانیتول و یا اسید ایزازیک 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.

سدیم مورد نظر انجام گردید. در زمان‌های معین، کل گیاه از گلدان خارج گردیده و پس از آب کشتی در آب مقطر، ریشه و شاخساره به طور جداگانه، لابه لای ورقه‌های آلومینومی پیچیده شده و با استفاده از ازت مایع منجمد گردیدند.

### اندازه‌گیری فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز

عصاره‌گیری آنزیم به روش پیشنهادی مینگوتز- موسکوئرا و همکاران (۱۹) با کمی تغییر انجام گردید. صد میلی‌گرم نمونه برگ با بافر فسفات پتاسیم (۵۰ میلی مول، pH=۶) حاوی تریتون ۱۰۰-X (۰/۲۵ درصد) عصاره‌گیری و به مدت ۳۰ دقیقه با دور ۲۰۱۰۰ در دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. عصاره‌ها تا زمان اندازه‌گیری درون یخ نگه‌داری شدند. فعالیت آنزیم با روش پیشنهادی اکسلرود و همکاران (۴) با کمی تغییر اندازه‌گیری شد. بیست میکرولیتر عصاره آنزیمی به بیست میکرولیتر اسید لینولئیک (۵۰۰ میلی مول) و بافر فسفات پتاسیم (۵۰ میلی مول، pH=۶) اضافه و افزایش جذب در طول موج ۲۳۴ نانومتر اندازه‌گیری گردید و با استفاده از ضریب جذب  $25000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  محاسبه شد.

### پراکسیداسیون چربی

میزان مالون دی آلدهید برگ با استفاده از روش پیشنهادی هت 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 (مربوط به جذب مولد غیر ویژه) محاسبه شد.

### پراکسید هیدروژن

اندازه‌گیری میزان پراکسید هیدروژن براساس روش پیشنهادی ولیکووا و همکاران (۲۴) انجام گردید. نمونه برگ (۰/۷۰ گرم) با استفاده از ۵ میلی لیتر اسید تری کلرو استیک (TCA) ۰/۱ درصد عصاره‌گیری شد و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ

این پژوهش به منظور بررسی تأثیر کلرید سدیم بر پراکسیداسیون چربی و فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز در دانه‌های 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 باغبانی دانشگاه شیراز و آزمایشگاه مجتمع تحقیقاتی بعثت شیراز (وابسته به مرکز تحقیقات کشاورزی استان فارس) انجام گردید. بذره‌های بنه از جنگل‌های وحشی بنه واقع در جنوب غربی استان فارس جمع‌آوری شدند. بذره‌های پسته قزوینی و سرخس نیز از مؤسسه تحقیقات پسته ایران واقع در رفسنجان تهیه شد. بذره‌های بنه به روش پیشنهادی بانی نسب (۱) خراش‌دهی گردیده و به همراه بذره‌های قزوینی و سرخس به مدت یک ماه در کیسه‌های حاوی پیت مرطوب و دمای  $1 \pm 7$  درجه سانتی‌گراد سرمادهی شدند. تندش بذرها در دمای  $1 \pm 20$  درجه سانتی‌گراد انجام گردید و سپس بذره‌های تندش یافته در کیسه‌های ۵ کیلوگرمی حاوی شن کوارتز (به ابعاد تقریبی ۶-۲ میلی متر وزن مخصوص ۰/۶۶ گرم بر سانتی متر مکعب) کاشته شد. گلدان‌ها در گلخانه (درجه حرارت روز و شب به ترتیب  $1 \pm 25$  و  $1 \pm 14$  درجه سانتی‌گراد) و شرایط نور طبیعی (بدون نور دهی تکمیلی) نگه‌داری گردیدند. به منظور تأمین عناصر مورد نیاز، محلول غذایی اپستین (۱۰) استفاده گردید. تیمارهای شوری (شامل ۰، ۷۵ و ۱۵۰ میلی مول کلرید سدیم) به علاوه نسبت ۱:۱۰ کلرید کلسیم در هر سطح شوری (به ترتیب ۰، ۷/۵ و ۱۵ میلی مول کلرید کلسیم) از هفته پنجم پس از کاشت دانه‌ها انجام گردید. افزودن کلرید کلسیم به دلیل حفظ ثبات غشای سلول‌های ریشه و میزان پتاسیم مناسب در سلول انجام شد (۸). به منظور جلوگیری از وارد شدن شوک ناگهانی، سطوح کلرید سدیم در هر دور آبیاری (سه روز یک بار) به میزان ۲۵ میلی مول افزایش یافت تا به حد مورد نظر رسید. نمونه‌برداری‌ها در فواصل زمانی ۱، ۷ و ۱۴ روز پس از رسیدن به سطح کلرید

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

سرخس، احتمالاً بنه در مقایسه با دو پایه دیگر، حساسیت بیشتری نسبت به تنش شوری ناشی از کلرید سدیم دارد.

### 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 ۱ و ۲ به ترتیب نشان دهنده آثار کلرید سدیم بر میزان فعالیت و درصد فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز در برگ دانه‌های 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 دانه‌های بنه صورت گرفت (جدول ۲). در دانه‌های 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 دانه‌های بنه تنها در سطح کلرید سدیم ۱۵۰ میلی‌مول این کاهش دیده شد. بیشترین درصد افزایش فعالیت آنزیم در دانه‌های قزوینی و سرخس، در روز هفتم پس از اعمال تیمار کلرید سدیم ۱۵۰ میلی‌مول (به ترتیب ۱۶ و ۲۰ درصد)، ولی در دانه‌های 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 دانه‌های بنه و کاهش دیرتر فعالیت افزایش یافته آنزیم در دانه‌های بنه نسبت به دانه‌های قزوینی و

### پراکسیداسیون چربی

جدول ۳ مربوط به نتایج آثار تیمارهای کلرید سدیم و مدت زمان تیمار بر پراکسیداسیون چربی (که براساس مقدار مالون دی آلدئید اندازه‌گیری شد) در برگ دانه‌های 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 دانه‌های 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 پراکسیداسیون چربی در سطح ۱۵۰ میلی‌مول کلرید سدیم در روزهای هفتم و چهاردهم افزایش معنی‌دار نسبت به روز اول داشت، ولی در دانه‌های قزوینی و سرخس این طور نبود.

### پراکسید هیدروژن

در جدول ۴ اثر تیمارهای کلرید سدیم بر میزان جذب پراکسید هیدروژن در برگ دانه‌های 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 دانه‌های هر سه پایه پسته نسبت به شاهد گردید. بیشترین میزان پراکسید هیدروژن در روز چهاردهم پس از اعمال تیمار کلرید سدیم ۱۵۰ میلی‌مول در دانه‌های بنه مشاهده گردید (۰/۷۲) که با میزان تولید پراکسید هیدروژن در روز هفتم تفاوت معنی‌داری نداشت (۰/۶۸۳). در دانه‌های پسته سرخس نیز بیشترین میزان تولید پراکسید هیدروژن در روز چهاردهم 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

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

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

\*: 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

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

۷۵ میلی‌مول موجب بیشترین میزان تولید پراکسید هیدروژن در دانه‌های بنه در روز چهاردهم شد.

### بحث

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

۰/۴۷۹ و ۰/۴۲۵). در روز چهاردهم و پس از کاربرد تیمار کلرید سدیم ۱۵۰ میلی‌مول، تفاوت معنی‌داری در میزان تولید پراکسید هیدروژن بین دانه‌های سرخس و بنه وجود نداشت. در دانه‌های 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

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

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

\*: 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 پراکسید هیدروژن (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) در برگ دانه‌های پایه پسته در طول موج ۳۹۰ نانومتر

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

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

پژوهشگران در تاج خروس (۶)، پرتقال (۱۳) و سویا (۱۵) گزارش شده است. هم چنین تفاوت در میزان تولید مالون دی آلدئید که برای نخستین بار در گونه‌های پایه پسته گزارش می‌شود، نشان می‌دهد این شاخص را می‌توان به عنوان یکی از معیارهای

آلدئید (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 آلدئید و پراکسیداسیون چربی توسط سایر

توجه قرار گیرد. با توجه به این که تنش کلرید سدیم موجب افزایش میزان پراکسید هیدروژن گردید (جدول ۴) و این که یکی از آثار اولیه افزایش میزان پراکسیداسیون هیدروژن، تحریک فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز می باشد (۱۷)، بنابراین می توان نتیجه گیری کرد احتمالاً یکی از دلایل افزایش فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز در شرایط تنش کلرید سدیم در دانهال های پسته، افزایش تنش اکسیداسیونی ناشی از پراکسید هیدروژن می باشد و لازم است در مورد تولید رادیکال های آزاد اکسیژن مانند پراکسیداسیون هیدروژن در گیاه پسته در شرایط تنش کلرید سدیم بررسی های بیشتری صورت گیرد. زیرا این ترکیبات علاوه بر آسیب هایی که به صورت مستقیم و غیر مستقیم به گیاهان وارد می سازند (۹ و ۲۲)، بسته به تحمل به کلرید سدیم گیاهان، به میزان متفاوتی نیز تولید می شوند (۲۱ و ۲۳) به طوری که نتایج این پژوهش نشان داد میزان پراکسید هیدروژن در دانهال های بنه بیشتر از قزوینی و سرخس بود و نشان می دهد بنه پایه حساس به شوری می باشد.

نتایج این پژوهش نشان داد که پراکسیداسیون چربی که یکی از آسیب های ناشی از تنش های محیطی می باشد، در اثر تنش کلرید سدیم در دانهال های پسته نیز صورت می گیرد و چون میزان آن بسته به تحمل به کلرید سدیم گیاه متفاوت است، پیشنهاد می شود در مورد امکان استفاده از این شاخص و فعالیت های مربوط به آن مانند فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز در گزینش گیاهان مقاوم به کلرید سدیم بررسی های بیشتری صورت گیرد. هم چنین با توجه به این که در بررسی های انجام شده در زمینه مقاومت به کلرید سدیم در پسته از شاخص هایی مانند تجمع یون و یا شاخص های رشد رویشی (۲) استفاده شده و در مورد تغییرات بیوشیمیایی و آنزیمی ناشی از تنش کلرید سدیم، گزارشی منتشر نشده است، پیشنهاد می شود این تغییرات نیز در گونه ها و یا پایه های پسته در پاسخ به تنش کلرید سدیم مورد توجه قرار گیرد. بررسی درصد فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز (جدول ۲) نشان داد در دانهال های بنه مدت کوتاهی پس از بروز تنش کلرید سدیم، فعالیت این آنزیم

گزینش گیاهان مقاوم به کلرید سدیم مورد استفاده قرار داد، زیرا نتایج این پژوهش نشان داد در دانهال های بنه پراکسیداسیون چربی بیشتری نسبت به دو پایه دیگر انجام شد و در بررسی های 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 آلدئید بیشتر در ارقام حساس نسبت به کلرید سدیم در پرتقال (۱۳)، گندم (۲۱) و توت (۲۳) مورد تأیید قرار گرفته است. افزایش میزان رادیکال های آزاد (۲۰) و افزایش فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز (۱۱ و ۱۲) از مهم ترین دلایل پراکسیداسیون چربی می باشد. اگر چه در مورد تأثیر کلرید سدیم بر فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز داده های کمی وجود دارد (۵، ۶، ۱۳ و ۲۰) ولی چون این آنزیم اسیدهای چرب غشا را به عنوان سوسترا مورد استفاده قرار می دهد و ترکیبات حاصل از این فعالیت نقش مهمی در بسیاری از فعالیت های متابولیکی گیاه مانند تولید تنظیم کننده های رشد گیاهی، مولکول های علامت دهنده (مانند جاسمونیت ها) دارند (۱۱ و ۱۲)، لازم است در زمینه تأثیر کلرید سدیم بر فعالیت این آنزیم بررسی های بیشتری صورت گیرد. افزایش بیشتر در فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز در دانهال های بنه نشان دهنده میزان آسیب پذیری بیشتر به غشاهای سلولی توسط این آنزیم نسبت به پایه های قزوینی و سرخس می باشد و می تواند یکی از دلایل حساسیت بیشتر این پایه نسبت به تنش شوری باشد. گزارش های موجود در مورد حساسیت بیشتر بنه در شرایط تنش کلرید سدیم نسبت به دو پایه دیگر (۲ و ۳) نیز نشان می دهد احتمالاً از این آنزیم می توان در گزینش گیاهان پسته مقاوم به کلرید سدیم استفاده کرد. اگر چه در مورد گزینش گیاهان مقاوم به کلرید سدیم بر اساس 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

تحقیقات منابع طبیعی و امور دام استان فارس، آقایان مهندس نصیرزاده، مهندس نعمتی و سرکار خانم صادقان 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.

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

## منابع مورد استفاده

۱. بانی نسب، ب. ۱۳۷۵. رکود بذر و اثر اسید جیبرلیک بر رشد دانه‌های دو گونه وحشی پسته. پایان‌نامه 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 هم‌چنین رشد دانه‌های در پاسخ به کلرید سدیم و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی در گونه‌های پسته. پایان‌نامه 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. Preferential 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 stoichiometry 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. Luttag, 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. Vliegthart 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.

18. Macri, F., E. Braidot, E. Petrusa 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. Fernandez. 1993. Lipoxygenase activity during pepper ripening and processing 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 Phytol.* 156: 409-412.
21. Sairam, R. K., P. S. Deshmukh 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