

تأثیر تنفس شوری بر رنگیزه‌های فتوستتری، فلورسانس کلروفیل و برخی آنتی اکسیدان‌های برگ سه رقم بادام زمینی

منصور افشار محمدیان^{۱*}، بنت الهدی دمسی^۱، ساره ابراهیمی^۱ و معصومه جمال امیدی^۲

^۱گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گیلان، ^۲گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور استان گیلان، واحد رودسر

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۷/۱۹، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۱۲/۱۹)

چکیده:

به منظور بررسی اثر سطوح مختلف شوری بر رنگیزه‌های فتوستتری، فلورسانس کلروفیل و آنتی اکسیدان‌های برگ سه رقم بادام زمینی به عنوان شاخصی از مقاومت به تنفس شوری، تحقیقی در سال ۱۳۹۲ در گلخانه دانشکده علوم پایه دانشگاه گیلان در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل ترکیبی از ۴ سطح شوری (شاهد یا بدون نمک، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار کلرید سدیم) و سه رقم بادام زمینی (محلى گیلان، ICGV96177 و ICGV03060) بودند. نتایج تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده نشان داد که اثر متقابل رقم و شوری بر روی صفات کلروفیل $a+b$ ، فلورسانس ماکریم (F_m)، پراکسیداز و فنل کل بجز کاروتوئید معنی‌دار بود. در این بررسی مشاهده شد که با افزایش غلظت‌های NaCl ، میزان فنل و پراکسیداز افزایش یافت، ولی میزان کلروفیل $a+b$ و عملکرد فلورسانس کلروفیل کاهش یافت و در مجموع رقم محلی گیلان، متحمل ترین رقم تحت سطوح مختلف تنفس شوری بود.

واژه‌های کلیدی: بادام زمینی، شوری، شاخص‌های فلورسانس کلروفیل، فنل، پراکسیداز

خشک جهان قرار دارد (Reddy *et al.*, 2003).

مقدمه:

یکی از مشکلات اساسی بر سر راه کشاورزی کمبود منابع آب شیرین و با کیفیت جهت آبیاری است. با توجه به توسعه کشاورزی فاریاب و اجتناب ناپذیر بودن استفاده از منابع آبی با کیفیت پایین و شور، تخریب اراضی زراعی مرغوب و گرایش به سمت شور و قلیاً شدن خاک مسئله ساز خواهد بود (کافی و همکاران، ۱۳۸۲). ایران از نظر اقلیمی در منطقه خشک و نیمه‌خشک دنیا قرار دارد، از این‌رو شوری خاک و آب آبیاری یکی از مشکلات عمده پیش روی زراعت کشور است. شوری آب و خاک، سبب بروز تغییرات مورفو‌لولژیکی، فیزیولولژیکی و بیوشیمیائی متعددی در گیاهان می‌شود ضمن اینکه تحمل به شوری در گیاهان نیز خصوصیتی ثابت نبوده و ممکن است در

بادام زمینی از گیاهان روغنی ارزشمندی است که بذر آن دارای ۴۴ تا ۵۶ درصد روغن است و بعد از سویا و کلزا سومین زراعت دانه روغنی جهان به شمار می‌آید (David *et al.*, 2001). بادام زمینی که در فارسی به آن پسته شامی یا پسته زمینی نیز می‌گویند، گیاهی بوته‌ای یکساله و از خانواده بقولات است. منشاء اصلی این گیاه در منطقه‌ای به نام گران چاکو در قاره آمریکای جنوبی بوده و اولین بار در سال ۱۲۸۹ خورشیدی از لبنان وارد ایران شد و به طور آزمایشی در روسستانی به نام آتشگاه از توابع شهر رشت، کاشته شد و از آن پس به سایر نقاط استان گیلان منتقال پیدا کرد (عبدزاده گوهري و همکاران، ۱۳۹۰). بیش از نیمی از نواحی زیر کشت بادام زمینی در مناطق خشک و نیمه

*نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: afshar@guilan.ac.ir

واقع، تنش‌ها با تأثیر منفی بر ظرفیت پذیرش و انتقال الکترون باعث می‌شوند که سیستم به سرعت به F_m برسد که نتیجه آن کاهش فلورسانس متغیر خواهد بود (Amirjan *et al.*, 2009; Paknejad *et al.*, 2007).

به طور کلی گیاهان، طیف وسیعی از تنش‌های محیطی را که نهایتاً منجر به بروز تنش اکسیداتیو در گیاه می‌شود، دریافت می‌کنند. مکانیسم مقاومت در برخی از تنش‌ها به صورت یک ارتباط درونی و نتیجه یک برنامه ریزی هماهنگ و پیچیده است. در شرایط تنش عدم توازن بین فرآیند جذب انرژی و مصرف آن توسط اندام فتوستتری باعث تولید انواع اکسیژن فعال (ROS) و ناتوانی گیاه در مهار آن می‌شود که در نهایت منجر به بروز تنش در غشاء سلول و بروز علائم ناشی از صدمات اکسیداتیو می‌شود (Blokhina *et al.*, 2003).

در شرایط طبیعی و بدون تنش، تولید رادیکال‌های آزاد و مکانیسم دفاع که همان تولید آنتی‌اکسیدان‌ها است، در حالت تعادل است. اما در شرایط تنش‌های یونی و اسمزی ایجاد شده توسط شوری زیاد محیط، این تعادل برهم خورده و با افزایش بیش از حد تولید ROS، بروز تنش ثانویه اکسیداتیو را سبب می‌شود که منجر به تغییرات سلولی و انواع آسیب‌های بحرانی نیز می‌شوند. البته گونه‌های فعال اکسیژن را به عنوان به عنوان پیامبرهای ثانویه هم در نظر می‌گیرند که در راه انداختن حدواترهای مسیر سیگنال‌دهی نقش دارند (Zhu, 2001). با افزایش میزان رادیکال‌های فعال اکسیژن در گیاهان، مکانیسم‌های متنوعی در گیاه فعال می‌شود. در این شرایط میزان آنتی‌اکسیدان‌ها افزایش یافته و آنزیم‌های مهار کننده ROS در جهت کاهش اثرات سمی ناشی از تنش اکسیداتیو حاصل از تنش شوری، افزایش پیدا می‌کنند (کافی و همکاران، ۱۳۸۲).

هدف از اجرای این آزمایش بررسی پاسخ‌های مختلف فیزیولوژیک در ارقام بادام زمینی نسبت به سطوح مختلف شوری و ارزیابی برخی شاخص‌های فلورسانس کلروفیل، میزان آنتی‌اکسیدان آنزیمی پراکسیداز و غیرآنزیمی فنل برگ گیاه، تحت شرایط تنش شوری بود.

مراحل مختلف رشد هر گونه، متفاوت باشد (Sairam *et al.*, 2001). تنش شوری منجر به یکسری از تغییرات مولکولی و بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و مورفو‌لولوژیکی می‌شود که بر رشد و تولید مثل گیاهان تأثیر می‌گذارد (Wang *et al.*, 2003).

یکی از بارزترین پاسخ‌های گیاهان به تنش‌های محیطی، کم شدن فتوستتر ناشی از اختلال در فعالیت فتوسیستم ۲ می‌باشد (Andrews *et al.*, 1995). در چنین شرایطی به دنبال کاهش ATP فتوسیستر و ذخیره فرآورده‌های انتقال الکترون یعنی ATP و NADPH در واکنش‌های وابسته به نور در فتوستتر، عملکرد کوآنتمومی فتوسیستم ۲ کاهش پیدا می‌کند. تحقیقات نشان داده که تنش شوری موجب افزایش فلورسانس متغیر (F_v) و کاهش فلورسانس حداکثر (F_m)، فلورسانس کمینه (F_0) و کاهش حداکثر عملکرد کوآنتمومی فتوسیستم ۲ (F_v/F_m) در شرایط سازگار شده با تاریکی می‌شود (Zhao *et al.*, 2007). در مطالعات متعددی ثابت شده که اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل برگ‌های سالم، روش معابر و قابل اطمینانی برای مطالعه فرایندهای فتوستتر و ارزیابی وضعیت فیزیولوژیکی گیاه است. علاوه بر این عوامل محیطی، ترکیب رنگدانه‌ای و سازمان ساختاری تیلاکوئیدهای کلروفیل است را نیز تغییر می‌دهند. غلظت بالای کاتیون‌ها می‌تواند باعث تخریب تیلاکوئیدها شوند و روند تولید پیش ساز بی واسطه کلروفیل که فاقد زنجیره فیتولی است را دچار اختلال کند (Sam *et al.*, 2003).

مقدار فلورسانس کلروفیل، سالم بودن غشای تیلاکوئید و کارایی نسبی انتقال الکترون از فتوسیستم ۲ به فتوسیستم ۱ را نشان می‌دهد. وقتی مولکول‌های کوئینون (اولین گیرنده الکترون در فتوسیستم ۲) در وضعیت اکسید شده هستند، در این حالت سیستم دارای کمترین فلورسانس (F_0) است و به تدریج، با افزایش درجه احیا شدن، فلورسانس افزایش می‌یابد. این فرآیند تا احیای کامل ادامه یافته و مراکز احیای فتوسیستم ۲ به تدریج بسته می‌شوند و انتقال الکترون به فتوسیستم ۱ صورت نمی‌گیرد. در این حالت، فلورسانس کلروفیل افزایش یافته و فتوسیستم ۲ دارای بیشترین فلورسانس (F_m) خواهد شد. در

داده شدند.

ارزیابی فلورسانس کلروفیل و رنگریزه‌های فتوستتری کلروفیل‌های a^a و b^b و کاروتنوئید کل برگ ارقام بادام زمینی: قبل از اندازگیری شاخص‌های فلورسانس کلروفیل، قطعات برگی مورد نظر به مدت سی دقیقه با استفاده از کلیپس‌های مانع نور، در تاریکی کامل قرار گرفتند (Genty *et al.*, 1989). در این وضعیت، تمام مراکز واکنش و حامل‌های الکترون در فتوسیستم ۲ اکسیده می‌شوند که برای القاء سریع فلورسانس و اندازگیری پارامترهای فلورسانس کلروفیل ضروری است. سپس پارامترهای فلورسانس کلروفیل از جمله حداقل کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم ۲ (FV/Fm) به وسیله دستگاه فلورومتر (PAM-2500, H. Walz, Effeltrich, Germany) (Genty *et al.*, 1989).

برای اندازه‌گیری رنگدانه‌های فتوستتری برگ مقدار نیم گرم از برگ ترکیه را در هاون چینی ریخته، سپس با اضافه کردن نیتروژن مایع به آن برگ‌ها به خوبی له شدند. سپس ۲۰ میلی لیتر استن ۸۰ درصد به نمونه اضافه، در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت. سپس مقدار جذب (A) عصاره جدا شده حاصل از سانتریفیوژ، توسط اسپکتروفوتومتر به صورت جداگانه در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ nm قرائت شد. در نهایت با استفاده از فرمول‌های زیر میزان کلروفیل a^a, b^b و کاروتنوئیدها بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر نمونه بدست آمد (Arnon, 1967):

$$\begin{aligned} \text{Chl.a} &= (19.3 \times A663 - 0.86 \times A645) V/100W \\ \text{Chl.b} &= (19.3 \times A645 - 3.6 \times A663) V/100W \\ \text{Chl.T} &= \text{Chl.a} + \text{Chl.b} \\ \text{Car} &= 100(A470) - 3.27(\text{mg chl. a}) - 104(\text{mg chl. b})/227 \end{aligned}$$

استخراج عصاره پراکسیداز: به منظور استخراج و اندازه‌گیری آنزیم پراکسیداز برگ‌های فریز شده را در هاون چینی ریخته و نیتروژن مایع به آن اضافه شد و سپس به خوبی کوبیده شدند. مقدار ۰/۵ گرم از پودر برگ آسیاب شده را به میکروتیوب‌های ۲ میلی لیتری منتقل و با افزودن یک میلی لیتر از بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار با pH=۷ نخست ورتكس شد و به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۴۰۰۰ rpm در دمای ۴ درجه سانتی گراد، سانتریفیوژ شدند. پس از اتمام سانتریفیوژ، عصاره

مواد روش‌ها:

این تحقیق در سال ۱۳۹۲ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده علوم پایه دانشگاه گیلان به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل ترکیبی از ۴ سطح مختلف شوری (۱۵۰، ۱۰۰ و ۵۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم) و سه رقم بادام زمینی (محلى گیلان، ICGV03060 و ICGV96177) تهیه شده از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر بود. واحدهای آزمایشی شامل گلدان‌هایی به ابعاد ۲۰×۲۰ و عمق ۲۰ سانتی‌متر بودند که با ۳ کیلوگرم خاک الک شده با هدایت الکتریکی (EC) برابر ۱/۲ ds/m، برداشت شده از یک مزرعه بادام زمینی در شهرستان آستانه اشرفیه پر شدند. ۵ عدد بذر پس از جدا کردن از غلافها و جدا کردن دانه‌های هم اندازه به مدت ۵ دقیقه در آب مقطر و ۲ دقیقه در اتانول ۹۶ درصد ضد عفونی و سپس با آب مقطر شستشو داده شدند. این بذرها را به مدت سه روز در آب مقطر خیسانده تا جوانه‌ای کوچک ایجاد شد، سپس در عمق ۵ سانتی‌متری خاک کشت شد و با آب لوله کشی آبیاری شدند. دمای محیط آزمایش و درون گلدان‌ها به ترتیب ۲۸ و ۲۵ درجه سانتی گراد و دوره نوری بصورت ۱۷ ساعت روشنایی (لوکس) و ۷ ساعت تاریکی در نظر گرفته شد. آبیاری گلدان‌ها بصورت هفت‌های سه مرتبه انجام و اعمال شوری پس از مدت ۴ هفته پس از کشت، با غلاظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم (Srivastava *et al.*, 2007) بصورت هفت‌های ۲ مرتبه با آب شور و هر ده روز ۱ بار با آب مقطر (جهت شستشوی خاک) صورت پذیرفت (Hajar *et al.*, 1993) بعد از گذشت ۸ هفته از کشت بذور پارامترهای فتوستتری و فلورسانس کلروفیل برگ ارقام بادام زمینی اندازه‌گیری شدند (Hajar *et al.*, 1993). یک ماه پس از شروع گلدهی گیاهان (در آخر هفته دوازدهم بعد از کشت)، تمامی بوته‌ها در هر گلدان برداشت و برگ‌ها جدا شده و جهت بررسی فعالیت آنتی اکسیدان آنزیمی پراکسیداز، در فریزر -۷۰ درجه نگهداری شدند و برای نمونه‌های مربوط به اندازه‌گیری فنل برگ‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۴ درجه سانتی گراد قرار

آب مقطر، ۲/۵ میلی لیتر فولین با آب مقطر به حجم ۱۰۰ رسانده شد) و پس از ۶ دقیقه ۲ میلی لیتر محلول کربنات سدیم ۷/۵ درصد (۷/۵ گرم کربنات سدیم در ۱۰۰ ml آب) در تاریکی اضافه شد و پس از ۱/۵ ساعت قرار گرفتن در تاریکی و دمای اتاق، جذب نمونه‌ها توسط اسپکتروفوتومتر UV-VIS مدل ۱۶۰۰ شیمازو در طول موج ۷۶۳ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت ترکیب‌های فنلی از منحنی استاندارد گالیک اسید استفاده شد و میزان فنل کل از روی میزان جذب نمونه و استاندارد، بر حسب میلی گرم اسید گالیک در یک گرم وزن خشک بیان شد.

نتایج و بحث:

بررسی جدول تجزیه واریانس صفات، مربوط به ارزیابی محتوای کلروفیل و پارامترهای فتوستزی برگ سه رقم بادام زمینی (محلی گیلان، ICGV96177 و ICGV03060) نشان داد که اثر رقم بر روی صفات کلروفیل a، کلروفیل a+b و فلورسانس ماکریم (F_m) معنی دار بود. همچنین اثر شوری بر روی صفات کلروفیل a، کلروفیل a+b، فلورسانس کمینه (F_0) و عملکرد کوآنتمی فتوسیستم ۲ در سطح احتمال ۱ درصد ($P<0.01$) و برای کلروفیل b در سطح احتمال ۵ درصد ($P<0.05$) معنی دار بود. اثر متقابل رقم و شوری نیز بر روی F_0 ، فلورسانس ماکریم (F_m) و عملکرد در سطح احتمال ۱ درصد ($P<0.01$) و برای کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل a+b در سطح احتمال ۵ درصد ($P<0.05$) معنی دار بود و در مورد محتوای کاروتونئید غیر معنی دار شد (جدول ۱). نتایج بدست آمده از جدول مقایسه میانگین اثر ساده صفات در درصدهای مختلف شوری نشان داد که کمترین مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل a+b، کاروتونئید و عملکرد کوآنتمی فتوسیستم ۲ در سطح شوری ۱۵۰ میلی مولار به ترتیب ۱/۶، ۰/۴۵، ۰/۴۶ و ۰/۰۴ و ۰/۷۸ بوده و برای فلورسانس کمینه (F_0) در شرایط عدم تنش و به مقدار ۱۶۶ بوده است. بیشترین میزان فلورسانس کمینه (F_0) نیز در سطح شوری ۱۵۰ میلی مولار به مقدار (۱۸۴/۶۷) بدست آمد. همچنین مقایسه میانگین‌های اثر ساده رقم، بر روی صفات مورد بررسی نشان داد که بالاترین

رویی با استفاده از سمپلر برداشته و به میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل شدن و دوباره به مدت ۱۰ دقیقه با دور rpm ۱۴۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. سپس عصاره رویی را برداشته و به میکروتیوب‌های با همان حجم منتقل شدند. از این عصاره برای سنجش آنزیم‌های پراکسیداز استفاده شد (Beauchamp and Fridovich, 1971).

برای تعیین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز موجود در عصاره آنزیمی از روش هامرچمیت (Hammerschmidt *et al.*, 1982) استفاده شد. بدین ترتیب که ترکیبی از بافر H_2O_2 به مقدار ۴۹۵ میکرولیتر و بافر گایاکول به همان مقدار در دمای پایین (ظرف حاوی یخ) با هم مخلوط گردید و به آن ۱۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه و منحنی جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر UV-VIS مدل ۱۶۰۰ شیمازو قرائت شد. در محلول بلانک به جای عصاره آنزیمی، ۱۰ میکرولیتر از بافر فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=۷) استفاده شد. فعالیت آنزیمی با استفاده از فرمول قانون بیر لامبرت و با ضریب خاموشی گایاکول پراکسیداز $26/6 \mu M^{-1} c^{-1} m^{-1}$ و فعالیت آنزیم در نهایت بر حسب $\mu Mol/g FW \cdot min$ محاسبه شد.

استخراج و اندازه گیری میزان فنل کل: به منظور تهیه عصاره، جهت سنجش محتوای فنل کل، ۰/۵ گرم از نمونه برگ خشک شده هر یک از رقم‌ها، در هاون ساییده شد و به میکروتیوب‌هایی انتقال داده شد. پس از آن، به هریک از میکروتیوب‌ها، ۱۵۰۰ میکرولیتر حلال استخراج شامل متانول استیک اسید (نسبت ۸۵ به ۱۵) اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد. سپس میکروتیوب‌های حاوی نمونه، در سانتریفیوژ قرار گرفته و مدت ده دقیقه با سرعت (rpm) ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد. محلول روشناور که حاوی عصاره گیاه بود، با دقت توسط سمپلر جدا شده و به میکروتیوب‌هایی با ذکر مشخصات انتقال داده شدند. میکروتیوب‌ها در دمای ۲۰-درجه سانتی‌گراد فریزر، قرار داده شدند (Bakhshi and Arakawa, 2006). برای سنجش میزان فنل کل، معرف Folin-Ciocalteu و استاندارد گالیک اسید مطابق روش (Slinkard and Singleton, 1997) استفاده شد. به این ترتیب که به ۱۲۵ میکرولیتر از عصاره، ۳۷۵ میکرولیتر

فتوشیمیایی است. سپس، مقدار فلورسانس به تدریج کاهش پیدا می‌کند و دلیل این کاهش می‌تواند مصرف انرژی توسط فتوسیستم ۲ باشد. به همین دلیل است که از F_m به بعد، فلورسانس یک روند نزولی را طی می‌کند (Baker and Rosenquist, 2004).

در این تحقیق، بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD) نشان داد که بالاترین میزان پراکسیداز در رقم محلی گیلان و با سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولاو و کمترین مقدار آن در رقم ICGV03060 وجود دارد. عدم تنش شوری دیده شد. بررسی جدول تجزیه واریانس صفت پراکسیداز تحت تأثیر درصدهای مختلف شوری در ارقام بادام‌زمینی نشان داد که اثر رقم، شوری و اثر متقابل رقم در شوری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد. همچنین جدول مقایسه میانگین اثرات ساده صفات در درصدهای مختلف شوری برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز بالاترین نشان داد که اثر ساده شوری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز را در سطح بدون تنش نشان داد، که بیان می‌دارد با افزایش سطوح شوری، آنزیم پراکسیداز روندی افزایشی داشته است. همچنین اثر ساده رقم برای آنزیم پراکسیداز، بالاترین مقدار فعالیت را در رقم محلی گیلان و کمترین مقدار فعالیت را در رقم ICGV03060 نشان داد. آنزیم‌های پراکسیداز در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی نظیر کاتابولیسم اکسیجن، دفاع در برابر پاتوژن‌ها، اتصالات عرضی میان پروتئین‌های دیواره، برقراری پیوند میان ترکیبات دیواره سلولی، اکسیداسیون سینامیل الکل‌ها، سنتز و پلیمریزاسیون لیگنین و سوبرین نقش دارند (Aquino-Bolaños and Mercado-Silva 2004).

شوری با تولید گونه‌های فعال اکسیژن موجب القاء فعالیت پراکسیداز می‌شود (Higa et al., 2001). در این بررسی شوری باعث افزایش فعالیت پراکسیداز شد (جدول ۲). Salwa و همکاران (2010) و Amruta و همکاران (2014) به این نتیجه رسیدند با افزایش سطوح شوری پراکسیداز افزایش می‌یابد. تحت شرایط تنش شوری مقدار جذب و ترکیب CO_2 به علت عدم بازشدن روزنه‌ها کاهش می‌یابد، انرژی داخلی افزایش

میزان کلروفیل a، کلروفیل a+b و فلورسانس ماکزیمم (F_m) به ترتیب ۳/۱، ۳/۹۳ و ۸۶۹/۷۵ و متعلق به رقم محلی گیلان بود (جدول ۲). با توجه به جدول ۳ بررسی نتایج اثرات متقابل رقم در شوری نشان داد که بیشترین محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل a+b به ترتیب ۴/۲۵، ۱/۲۴ و ۵/۵ به رقم محلی گیلان و سطح شوری ۵۰ میلی‌مولاو و کمترین مقدار کلروفیل a و کلروفیل a+b به رقم محلی گیلان و سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولاو و پایین‌ترین فلورسانس ماکزیمم (F_m) به رقم ICGV96177 و سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولاو تعلق داشت (Zhao et al., 2007). به این نتیجه رسیدند که شوری سبب کاهش میزان کلروفیل برگ در گیاه یولاف می‌شود. دلیل کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش شوری، افزایش تخریب این رنگیزه‌ها و یا کاهش ساخت آنها و نیز اختلال در فعالیت آنزیم‌های مسئول سنتز رنگدانه‌های فتوستتری می‌باشد. به نظر می‌رسد کاهش در پروتئین‌های غشایی خاص در شرایط تنش شوری، افزایش در فعالیت آنزیم کلروفیلаз و پراکسیداز از عوامل مؤثر در کاهش کلروفیل در شرایط تنش شوری باشد و همچنین کاهش سبزینگی برگ ممکن است تا حدودی به خاطر کاهش جریان نیتروژن به بافت‌ها و تغییر در فعالیت آنزیم‌هایی مثل نیترات ردوکتاز باشد (داودی فرد و همکاران، ۱۳۹۱). تنش شوری با کاهش پتانسیل اسمزی محلول خاک، نوعی خشکی فیزیولوژیک ایجاد می‌کند. این خشکی فیزیولوژیک می‌تواند باعث نابسامانی در فتوسیستم ۲ شده که همین امر با کاهش فلورسانس کلروفیل در ارتباط است (Hale et al., 1987). همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، میزان فلورسانس کمینه (F_0) افزایش و فلورسانس ماکزیمم (F_m) و عملکرد کوانتمومی فتوسیستم ۲ کاهش یافته است. این نتایج با نتایج بررسی‌های عسکری و همکاران (۱۳۹۲) بر روی گیاه ذرت، مطابقت دارد. پس از قرار گرفتن برگ در مقابل نور تابانده شده، مرکز احیای فتوسیستم ۲ به تدریج بسته می‌شوند. به همین دلیل، در اولین ثانیه تابش نور به برگ، عملکرد فلورسانس کلروفیل افزایش یافته، فلورسانس از مقدار F_0 به حداقل مقدار خود یعنی F_m افزایش می‌یابد. این افزایش نشان دهنده افزایش تدریجی عملکرد فلورسانس و کاهش سرعت واکنش‌های

در هر سهون میانگین هایی که دارای حرف پا حرول مشترک هستند، اختلاف معنی داری در سطح استعمال ۵ درصد ندارند.

جول ۳- اثرات متقابل صفات مورد بررسی ارقام بادام زمینی تحت تنشی سوری

جدول ۳- اثرات متقابل صفات مورد بررسی ارقام بادام زمینی تحت تنش شوری

رقم	سطوح شوری	کلروفیل a	کلروفیل b	a+b	کارو-تئوئید
رقم محلی گیلان	.	۳/۶۲ ^{ab}	۰/۹۱ ^b	۴/۵۳ ^b	۰/۰۸ ^a
	۵۰	۴/۲۵ ^a	۱/۲۴ ^a	۵/۵ ^a	۰/۱۶ ^a
	۱۰۰	۳/۲۸ ^b	۰/۸۵ ^b	۴/۱۴ ^b	۰/۰۹ ^a
	۱۰۰	۱/۲۷ ^f	۰/۲۸ ^d	۱/۰۵ ^e	۰/۰۱ ^a
ICGV96177	.	۲/۸۷ ^c	۰/۷۵ ^b	۳/۶۳ ^{bc}	۰/۱۱ ^a
	۵۰	۱/۰۵ ^e	۰/۳۴ ^d	۱/۸۹ ^d	۰/۰۲ ^a
	۱۰۰	۲/۸۳ ^c	۰/۸۴ ^b	۳/۶۸ ^{bc}	۰/۱۳ ^a
	۱۰۰	۱/۸۹ ^e	۰/۶۳ ^{bc}	۲/۵۳ ^c	۰/۱۰ ^a
ICGV03060	.	۲/۶۳ ^{cd}	۰/۷۶ ^b	۳/۴ ^{bc}	۰/۱۸ ^a
	۵۰	۲/۴۶ ^d	۰/۶۱ ^{bc}	۳/۰۹ ^{bc}	۰/۰۷ ^a
	۱۰۰	۲/۳۹ ^d	۰/۰۵ ^c	۲/۹۴ ^{bc}	۰/۰۷ ^a
	۱۰۰	۱/۶۴ ^e	۰/۴۵ ^c	۲/۰۹ ^c	۰/۰۲ ^a

دادمه جدول ۳

رقم	سطوح شوری	F ₀	F _m	FV/Fm	پراکسیداز (g ⁻¹ fw min ⁻¹)	فلن (mg/gdw)
رقم محلی گیلان	۵۰	۱۸۵/۳۳ ^a	۸۹۶ ^a	۰/۷۹ ^b	^c ۰/۶۲۲۱	۳/۵۲ ^d
	۱۰۰	۱۶۷/۳۳ ^b	۸۴۳/۳۳ ^b	۰/۸۰ ^a	^c ۰/۷۳۴۹	۳/۸۷ ^d
	۱۵۰	۱۴۹ ^d	۸۰۵/۳۳ ^b	۰/۸۲ ^a	^a ۱/۰۰۹۴	۳/۸۰ ^a
	.	۱۸۴/۳۳ ^a	۸۸۴/۳۳ ^a	۰/۸۰ ^a	^a ۱/۳۴۵۸	۴/۹۸ ^a
ICGV96177	۵۰	۱۴۲ ^d	۸۱۷ ^c	۰/۸۱ ^a	^d ۰/۴۴۹۲	۳/۶۳ ^d
	۱۰۰	۱۵۹ ^c	۸۷۰/۳۳ ^a	۰/۸۱ ^a	^{cd} ۰/۵۸۰۸	۳/۹۵ ^{bc}
	۱۵۰	۱۸۹ ^a	۸۸۸ ^a	۰/۷۹ ^b	^c ۰/۷۴۲۴	۷/۶۵ ^b
	.	۱۷۷/۶۷ ^b	۸۰۱ ^d	۰/۷۷ ^c	^{ab} ۰/۹۸۸۷	۵/۲۲ ^{bc}
ICGV03060	۵۰	۱۶۹/۶۶ ^b	۸۷۳/۶۷ ^a	۰/۸۰ ^a	^d ۰/۳۷۵۹	۵/۱۸ ^d
	۱۰۰	۱۰۵/۳۳ ^c	۸۱۸ ^c	۰/۸۱ ^a	^d ۰/۴۵۸۶	۷/۲۲ ^d
	۱۵۰	۱۵۷/۶۶ ^c	۸۳۹/۳۳ ^b	۰/۸۱ ^a	^c ۰/۶۵۰۴	۴/۸۸ ^b

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف یا حروف مشترک هستند، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

تنش شوری سبب افزایش میزان فلن کل برگ‌های بادام زمینی شد. بیشترین افزایش در میزان فلن کل در عصاره برگ ICGV03060 مشاهده شد. در رقم ICGV96177 تا تیمار ۵۰ میلی مولار محتوای فلنی، تقریباً ثابت بوده و بعد از آن، روند افزایشی

یافته، ظرفیت انتقال الکترون فتوستتری به طرف تجمع می‌رود و به دنبال آن افزایش غلظت ROS را خواهیم داشت که همین باعث پراکسیداسیون لپیدها، تخریب پروتئین‌ها و اکسیداسیون DNA می‌شود. در این حالت پراکسیداز و کاتالاز به عنوان آنزیم‌های اکسیداتیو فعال‌تر می‌شوند (Hisao, 1973). اعمال

برگ گیاه پس از گذشت سی روز شده است. این کاهش می‌تواند ناشی از تخریب این ترکیبات در اثر واکنش با ترکیبات اکسیداتیو در شرایط شور باشد.

نتایج بررسی تنفس شوری روی محتوای فنلی گیاه مریم گلی نیز مشابه این نتایج بود و محتوای فنلی پس از طی کردن روند افزایشی، در بالاترین غلظت شوری کاهش یافت (Valifard *et al.*, 2014). بنابراین به طور کلی، افزایش محتوای فنل کل برگ ارقام بادام زمینی تحت تنفس شوری، نشان دهنده این است که ترکیبات فنلی، ممکن است به عنوان بخشی از سیستم آنتی اکسیدانی برای جمع آوری ROS عمل کنند. با وجود القای سنتز ترکیبات فنلی در تیمار شوری، تنفس‌های شدید شوری می‌تواند اثر منفی روی ویژگی‌های آنتی اکسیدانی گیاهان داشته و باعث کاهش ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی اکسیدانی شود (Sidsel Fiskaa *et al.*, 2009).

نتیجه‌گیری:

از آنجایی که افزایش سطح شوری می‌تواند سبب کاهش فتوسنتز خالص شود، بنابراین کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم ۲ و همچنین میزان عملکرد دانه گیاه بادام زمینی نیز کاهش می‌یابد. به همین دلیل باید شرایطی فراهم شود که بتوان حداقلتر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم ۲ و به تبع آن عملکرد دانه را داشت. یک راه حل در این رابطه، استفاده از ارقامی است که شاخص کلروفیل بزرگتر و کارایی فتوشیمیایی بیشتر و در نهایت عملکرد بیشتری را در شرایط تنفس شوری زیاد دارا هستند. مقایسه میانگین موجود در این پژوهش نشان داد که رقم محلی گیلان بیشترین شاخص کلروفیل، نسبت بالای کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم ۲ و بیشترین سطح آنتی اکسیدان را نسبت به دو رقم دیگر داشت و بر اساس پارامترهای اندازه گیری شده، می‌توان این رقم را به عنوان متحمل‌ترین رقم نسبت به شوری معرفی کرد.

داشته است. محتوای فنل کل در رقم ICGV03060 در شوری ۵۰ میلی مولار ثابت بوده و در شوری ۱۰۰ میلی مولار افزایش یافته و در شوری ۱۵۰ میلی مولار از مقدار آن کاسته شده است (جدول ۳). در مطالعه حاضر، محتوای فنل کل در طی تنفس شوری به طور معنی داری، در مقایسه با تیمار شاهد تغییر نشان داد. تنفس‌های محیطی از قبیل تنفس شوری ممکن است رشد گیاه را یه علت کاهش سرعت فتوسنتز محدود کنند. تحت چنین شرایطی، ترکیبات فنلی بیشتری تولید می‌شود (Bryant *et al.*, 1983). از طرف دیگر می‌توان نتیجه گرفت که گیاهان تحت تنفس، مکانیسم‌های دفاعی خاصی را از قبیل افزایش محتوای فنل کل در برابر تنفس اکسیداتیو به کار می‌گیرند. فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنلی عمدتاً ناشی از ویژگی اکسیداسیون- احیای آنها است که می‌تواند نقش مهمی در جذب و ختنی کردن رادیکال‌های آزاد داشته باشد (Joyce *et al.*, 2005).

صرایحی نوبر و همکاران (۱۳۸۹) نشان دادند که اثر تنفس شوری ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار، روی ارقام شنبلیله (از گیاهان تیره بقولات) متفاوت است و در بعضی ارقام با افزایش شوری تا ۷۵ میلی مولار، فنل کل افزایش معنی داری یافته و در شوری ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار از میزان فنل کل به طور معنی داری کاسته شده است. این افزایش به این علت است که گروه‌های هیدروکسیل آزاد متصل به حلقه آروماتیک به وسیله جاروبگری رادیکال‌ها و سایر مکانیسم‌ها مانند فروکشی اکسیژن یکتایی و کلاته کردن فلز به وسیله باند شدن یون‌های سمی، آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از یون‌ها را کم کرده و به این ترتیب ساختارهای سیتوپلاسمی و کلروپلاستی Apel and Hirt, (2004) را از تاثیرات منفی شوری محافظت می‌کنند (Kanwal و همکاران (2013) با بررسی تنفس شوری روی گیاه ماش (از تیره بقولات) مشاهده کردند که تیمار شوری روی گیاه ماش، باعث کاهش میزان ترکیبات فنلی در

منابع:

داودی فرد، م.، حبیبی، د.، داوودی فرد، ف. (۱۳۹۱) بررسی اثر تنفس شوری بر پایداری غشاء سیتوپلاسمی، میزان کلروفیل و اجزاء

- عملکرد در گندم تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد و اسید هیومیک. مجله زارعت و اصلاح نباتات ۸: ۸۶-۷۱.
- صراحی نوبت، م.، نیکنام، و.، مرادی، ب. (۱۳۸۹) اثر تنش شوری بر محتوای پروتئین، رنگیزه‌ها، قندها و ترکیبات فنلی در کشت بافت چند گونه از شبیله‌های ایران، مجله علوم دانشگاه تهران ۳۶: ۵۹-۵۳.
- عبدزاد گوهری، ع.، امیری، م.، مجید سلیمی، ک. (۱۳۹۰) ارزیابی عملکرد و کارایی مصرف آب در بادام زمینی تحت سطوح مختلف آبیاری و کود نیتروژن. نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی) ۲۵: ۱۰۰۴-۹۹۴.
- عسکری، م.، مقصودی مود، ع.، ا.، صفاری، و.ر. (۱۳۹۲) بررسی برخی خصوصیات فیزیولوژیک و عملکرد هیبریدهای ذرت کافی، م.، کامکار، ب.، مهدوی دامغانی، ع.م. (۱۳۸۲) واکنش‌های گیاهان زراعی به محیط رشد. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.
- Apel, K. and Hirt, H. (2004) Reactive oxygen species: Metabolism, Oxidative stress and signal transduction. Annual Review of Plant Biology 55:373-399.
- Amirjani, M. R., Iranbakhsh, A. and Abnosi, M. H. (2009) Molecular mechanism of photosynthesis. Arak University, P. o. Box 38156.
- Amruta, S., Ashutosh, V., Ritu, M. and Pushpa, R. (2014) Changes in activity of Enzymes Involved in Maintaining ROS in ground nut during Salt Stress. Research Journal of Agriculture and Forestry Sciences 2: 1-6.
- Andrews, J. R., Fryer, M. J. and Baker, N. R. (1995) Characterization of chilling effect on photosynthetic performance of maize crops during early season growth using chlorophyll fluorescence. Journal of Experimental Botany 46: 1195-1203.
- Aquino-Bolaños, E. N. and Mercado-Silva, E. (2004) Effects of polyphenol oxidase and peroxides activity, phenolics and lignin content on the browning of cut jicama. Postharvest Biology and Technology 33: 275-283.
- Arnon, A. N. (1967) Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal 23:112-121.
- Baker, N. R. and Rosenquist, E. (2004) Applications of chlorophyll fluorescence improves crop production strategies: An examination of future possibilities. Journal of Experimental Botany 55: 607-621.
- Bakhshi, D. and Arakawa, O. (2006) Induction of phenolic compounds biosynthesis with light irradiation in the flesh of red and yellow apples. Journal of Applied Horticulture 8(2): 101-104.
- Beauchamp, C. and Fridovich, I. (1971) Superoxide dismutase: Improved assay and an assay applicable to acryl amide gels. Analytical Biochemistry 44 (1): 276-287.
- Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagstedt, K. V. (2003) Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A review. Annals Botanical 91:179-194.
- Bryant, J. P., Chapin, F. S. and Klein, D. (1983) Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. Oikos 40:357–368.
- David, L., Jordan, B., Beam, P., Dewayne Johnson, J. and Spears, F. (2001) Peanut response to prohexadione calcium in three seeding rate, row pattern planting system. Agronomy Journal 93: 232- 236.
- Genty, B., Briantais, J. M. and Baker, N. R. (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. Biochemical et biophysical Acta 990: 87-92.
- Hale, M. C. and Oreuh, D. M. (1987) The Physiology of Plant Under Stress. Jon Wiley & Sons, London.
- Hajar, A. S., Helkal, M. M., Maghrabi, Y. M. and Abuzinadah, R. A. (1993) Responses of *Arachis hypogaea* (peanut) to salinity stress. Journal of King Abdulaziz University Science 5: 5-13.
- Hammerschmidt, R., Nuckler, E. M. and Kuc, J. (1982) Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. Plant Physiology 20: 73-82.
- Higa, A., Hidaka, T., Minai, Y., Matsuka, Y., Haga, M. (2001) Active oxygen radicals induce peroxidase activity in rice blade tissues. Bioscience Biotechnology and Biochemistry 65: 1852-1855.
- Hisao, T.C. (1973). Plant responses to water stress. Annual Review of Plant Physiology 24: 519-570.
- Joyce, C., Pennycooke, S. and Stushnoff, C. (2005) Relationship of cold acclimation, total phenolic content and antioxidant capacity with chilling tolerance in petunia. Environmental and Experimental Botany 53: 225-232
- Paknejad, F., Nasri, M. and Tohidi Moghadam, H. R. (2007) Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence parameters, chlorophyll content and grain yield of wheat cultivars. Journal of Biological Science 7: 841-847.
- Reddy, T. Y., Reddy, V. R. and Anbumozhi, V. (2003) Physiological responses of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) to drought stress and its amelioration: a critical review. Plant Growth regulation 41: 75-88.
- Sairam, R. K. and Srivastava, G. C. (2001) Water stress tolerance of wheat *Triticum aestivum* L.: Variation in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotype. Journal of Agronomy and Crop Science 186: 63-70.

- Sam, O., Ramírez, C., Coronado, M. J. and Testillano, P. S. (2003) Changes in tomato leaves induced by NaCl stress: leaf organization and cell ultra-structure. *Biological Plant* 47: 361-366.
- Salwa, A. R., Hammad, Kh. A., Shaban, F. and Manal, F. (2010) Studies on Salinity Tolerance of Two Peanut Cultivars in Relation to Growth, Leaf Water Content. Some Chemical Aspects and Yield. *Journal of Applied Sciences Research* 6: 1517-1526.
- Sidsel Fiskaa, H., Grethe, I., Borge, A., Knut, A. and Gunnar, B. (2009) Effect of cold storage and harvest data on bioactive compound in curly kale (*Brassica oleracea* L. var. acephala). Potharvest. *Biological Technology* 51:36-42
- Sairam, R. K., Chandrasekhar, V. and Srivastava, G. C., (2001) Comparison of hexaploid and tetraploid wheat cultivars in their response to water stress. *Biologia Plantarum*, 44: 89-94.
- Slinkard, K. and Singleton, V. L. (1977) Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods. *American Journal Enology and Viticulture* 28: 49-559.
- Srivastava, N., Vadez, V., Krishnamurthy, L., Saxena, K. B., Nigam, S. N. and Rupakula, A. (2007) Screening for salinity Tolerance in Groundnut (*Arachis hypogaea* L.) and Pigeon pea (*Cajanus cajan*). Proceeding of The Fourth International Food Legumes Research Conference (IFLRC-IV) 1:1-13.
- Valifard, M., Mohsenzadeh, S., Kholdebarin, B. and Rowshan, V. (2014) Effects of salt stress on volatile compounds, Total phenolic content and antioxidant activities of *Salvia mirzayanii*. *South African Journal of Botany* 93: 92–97
- Wang, W. X., Barak, T., Vinocur, B., Shoseyov, O. and Altman, A. (2003) Abiotic resistance and chaperones: possible physiological role of SP, a stable and stabilizing protein from *Populus*. In: *Plant biotechnology 2000 and beyond* (ed. Vasil, J. K.). Pp. 439-443. Kluwer, Dordrecht,
- Zhao, G. Q., Ma, B. L. and Ren, C. Z. (2007) Growth, Gas Exchange, chlorophyll fluorescence, and ion content of naked oat in response to salinity. *Journal of Crop Science* 4: 123-131.
- Zhu, J. K. (2001) Plant salt tolerance. *Trends in Plant Science* 6: 66-71.