

تأثیر تنش شوری بر رنگیزه‌های فتوستتزی، 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
گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گیلان،^۲ گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور استان گیلان، واحد رودسر
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۶/۱۹، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۱۲/۱۹)

چکیده:

به منظور بررسی اثر سطوح مختلف شوری بر رنگیزه‌های فتوستتزی، فلورسانس کلروفیل و آنتی اکسیدان‌های برگ سه رقم بادام زمینی به عنوان شاخصی از مقاومت به تنش 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 (محلی گیلان، ICGV96177 و ICGV03060) بودند. نتایج تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده نشان داد که اثر متقابل رقم و شوری بر روی صفات کلروفیل *a*، کلروفیل *a+b*، فلورسانس ماکزیمم (F_m)، فلورسانس کمینه (F_0)، پراکسیداز و فنل کل بجز کاروتنوئید معنی‌دار بود. در این بررسی مشاهده شد که با افزایش غلظت‌های NaCl، میزان فنل و پراکسیداز افزایش یافت، ولی میزان کلروفیل *a* و عملکرد فلورسانس کلروفیل کاهش یافت و در مجموع رقم محلی گیلان، متحمل‌ترین رقم تحت سطوح مختلف تنش شوری بود.

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

مقدمه:

خشک جهان قرار دارد (Reddy et al., 2003). 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 قلیا شدن خاک مسئله ساز خواهد بود (کافی و همکاران، ۱۳۸۲). ایران از نظر اقلیمی در منطقه خشک و نیمه‌خشک دنیا قرار دارد، از این رو شوری خاک و آب آبیاری یکی از مشکلات عمده پیش روی زراعت کشور است. شوری آب و خاک، سبب بروز تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی 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 روستایی به نام آتشگاه از توابع شهر رشت، کاشته شد و از آن پس به سایر نقاط استان گیلان انتقال پیدا کرد (عبدالزاد گوهری 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 فتوسنتزی 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 حدواسط‌های 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 مورفولوژیکی می‌شود که بر رشد و تولید مثل گیاهان تأثیر می‌گذارد (Wang et al., 2003).

یکی از بارزترین پاسخ‌های گیاهان به تنش‌های محیطی، کم شدن فتوستتوز ناشی از اختلال در فعالیت فتوسیستم ۲ می‌باشد (Andrews et al., 1995). در چنین شرایطی به دنبال کاهش فتوستتوز و ذخیره فرآورده‌های انتقال الکترون یعنی ATP و NADPH در واکنش‌های وابسته به نور در فتوستتوز، عملکرد کوآنتومی فتوسیستم ۲ کاهش پیدا می‌کند. تحقیقات نشان داده که تنش شوری موجب افزایش فلورسانس متغیر (F_v)، فلورسانس حداکثر (F_m)، فلورسانس کمینه (F_0) و کاهش حداکثر عملکرد کوآنتومی 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 معتبر و قابل اطمینانی برای مطالعه فرایندهای فتوستتوز و ارزیابی وضعیت فیزیولوژیکی گیاه است. علاوه بر این عوامل محیطی، ترکیب رنگدانه‌ای و سازمان ساختاری تیلاکوئیدهای کلروپلاست 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

مواد روش‌ها:

داده شدند.

ارزیابی فلورسانس کلروفیل و رنگیزه‌های فتوسنتزی کلروفیل‌های a, b و کاروتنوئید کل برگ ارقام بادام زمینی: قبل از اندازه‌گیری 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 اندازه‌گیری پارامترهای فلورسانس کلروفیل ضروری است. سپس پارامترهای فلورسانس کلروفیل از جمله حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم ۲ (FV/Fm) به وسیله دستگاه فلورومتر (PAM-2500, H. Walz, Effeltrich, Germany)، بررسی شد (Genty et al., 1989).

برای اندازه‌گیری رنگدانه‌های فتوسنتزی برگ مقدار نیم گرم از برگ تر گیاه 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 اسپکتروفتومتر به صورت جداگانه در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ قرائت شد. در نهایت با استفاده از فرمول‌های زیر میزان کلروفیل a, b و کاروتنوئیدها بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر نمونه بدست آمد (Arnon, 1967):

$$\begin{aligned} \text{Chl.a} &= (19.3 \times A_{663} - 0.86 \times A_{645}) \text{ V}/100\text{W} \\ \text{Chl.b} &= (19.3 \times A_{645} - 3.6 \times A_{663}) \text{ V}/100\text{W} \\ \text{Chl.T} &= \text{Chl.a} + \text{Chl.b} \\ \text{Car} &= 100(A_{470}) - 3.27(\text{mg chl. a}) - 104(\text{mg chl. b})/227 \end{aligned}$$

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 میلی‌لیتری منتقل و با افزودن یک میلی‌لیتر از بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار با pH=۷ نخست ورتکس شد و به مدت ۱۵ دقیقه با دور rpm ۱۴۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، سانتریفیوژ شدند. پس از اتمام سانتریفیوژ، عصاره

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 (۰، ۵۰، ۱۰۰، و ۱۵۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم) و سه رقم بادام زمینی (محلی گیلان، ICGV96177 و ICGV03060) 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 سانتی‌گراد و دوره نوری بصورت ۱۷ ساعت روشنایی (۷۰۰۰ لوکس) و ۷ ساعت تاریکی در نظر گرفته شد (Hajar et al., 1993). آبیاری گلدان‌ها بصورت هفته‌ای سه مرتبه انجام و اعمال شوری پس از مدت ۴ هفته پس از کشت، با غلظت‌های ۰، 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 فتوسنتزی 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 ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار

آب مقطر، ۲/۵ میلی لیتر فولین ۱۰٪ (۱۰ 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 اسپکتروفتومتر UV-VIS مدل ۱۶۰۰ شیمادزو 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 اسیدگالیک در یک گرم وزن خشک بیان شد.

نتایج و بحث:

بررسی جدول تجزیه واریانس صفات، مربوط به ارزیابی محتوای کلروفیل و پارامترهای فتوسنتزی 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 ماکزیم (F_m) معنی‌دار بود. همچنین اثر شوری بر روی صفات کلروفیل a، کلروفیل a+b، فلورسانس کمینه (F_0) و عملکرد کوآنزیمی فتوسیستم ۲ در سطح احتمال ۱ درصد ($P<0.01$) و برای کلروفیل b در سطح احتمال ۵ درصد ($P<0.05$) معنی‌دار بود. اثر متقابل رقم و شوری نیز بر روی F_0 ، فلورسانس ماکزیم (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 ($P<0.05$) معنی‌دار بود و در مورد محتوای کاروتنوئید غیر معنی‌دار 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 کاروتنوئید و عملکرد کوآنزیمی فتوسیستم ۲ در سطح شوری ۱۵۰ میلی مولار به ترتیب ۱/۶، ۰/۴۵، ۲/۰۶، 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

روی با استفاده از سمپلر برداشته و به میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل شدند 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 اسپکتروفتومتر UV-VIS مدل ۱۶۰۰ شیمادزو 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 $2676 \mu M^{-1} c^{-1} m$ و فعالیت آنزیم در نهایت بر حسب $\mu Mol/g FW.min$ 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 میلی‌مولار و کمترین مقدار آن در رقم ICGV03060 و در شرایط 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 نشان داد که اثر ساده شوری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز بالاترین مقدار را در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و کمترین فعالیت آنزیم 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 کاتابولیسیم اکسین، دفاع در برابر پاتوژن‌ها، اتصالات عرضی میان پروتئین‌های دیواره، برقراری پیوند میان ترکیبات دیواره سلولی، اکسیداسیون سینامیل‌الکل‌ها، سنتز و پلیمریزاسیون لیگنین و سوپرین 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 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 میلی‌مولار و کمترین مقدار کلروفیل a و کلروفیل a+b به رقم محلی گیلان و سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و پایین‌ترین فلورسانس ماکزیمم (F_m) به رقم ICGV96177 و سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار 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 فتوسنتزی می‌باشد. به نظر می‌رسد کاهش در پروتئین‌های غشایی خاص در شرایط تنش شوری، افزایش در فعالیت آنزیم کلروفیلاز 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 کوانتومی 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، مراکز 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 حداکثر مقدار خود یعنی F_m افزایش می‌یابد. این افزایش نشان دهنده افزایش تدریجی عملکرد فلورسانس و کاهش سرعت واکنش‌های

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

رقم	سطوح شوری	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل a+b (mg/gfw)	کاروتنوئید
رقم محلی گیلان	۰	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
	۱۵۰	۱/۲۷ ^f	۰/۲۸ ^d	۱/۵۵ ^e	۰/۰۱ ^a
ICGV96177	۰	۲/۸۷ ^c	۰/۷۵ ^b	۳/۶۳ ^{bc}	۰/۱۱ ^a
	۵۰	۱/۵۵ ^e	۰/۳۴ ^d	۱/۸۹ ^d	۰/۰۲ ^a
	۱۰۰	۲/۸۳ ^c	۰/۸۴ ^b	۳/۶۸ ^{bc}	۰/۱۳ ^a
	۱۵۰	۱/۸۹ ^e	۰/۶۳ ^{bc}	۲/۵۳ ^c	۰/۱۰ ^a
ICGV03060	۰	۲/۶۳ ^{cd}	۰/۷۶ ^b	۳/۴ ^{bc}	۰/۱۸ ^a
	۵۰	۲/۴۶ ^d	۰/۶۱ ^{bc}	۳/۰۹ ^{bc}	۰/۰۶ ^a
	۱۰۰	۲/۳۹ ^d	۰/۵۵ ^c	۲/۹۴ ^{bc}	۰/۰۷ ^a
	۱۵۰	۱/۶۴ ^e	۰/۴۵ ^c	۲/۰۹ ^c	۰/۰۲ ^a

ادامه جدول ۳-

رقم	سطوح شوری	F ₀	F _m	FV/Fm	پراکسیداز (g ⁻¹ fw min ⁻¹)	فنل (mg/gdw)
رقم محلی گیلان	۵۰	۱۸۵/۳۳ ^a	۸۹۶ ^a	۰/۷۹ ^b	۰/۶۲۲۱ ^c	۳/۵۳ ^d
	۱۰۰	۱۶۷/۳۳ ^b	۸۴۳/۳۳ ^b	۰/۸۰ ^a	۰/۷۳۴۹ ^c	۳/۸۷ ^d
	۱۵۰	۱۴۹ ^d	۸۵۵/۳۳ ^b	۰/۸۲ ^a	۱/۰۰۹۴ ^a	۳/۸۰ ^a
ICGV96177	۰	۱۸۴/۳۳ ^a	۸۸۴/۳۳ ^a	۰/۸۰ ^a	۱/۳۴۵۸ ^a	۴/۹۸ ^a
	۵۰	۱۴۳ ^d	۸۱۶ ^c	۰/۸۲ ^a	۰/۴۴۹۲ ^d	۳/۶۳ ^d
	۱۰۰	۱۵۹ ^c	۸۷۰/۳۳ ^a	۰/۸۱ ^a	۰/۵۸۰۸ ^{cd}	۳/۹۵ ^{bc}
	۱۵۰	۱۸۹ ^a	۸۸۸ ^a	۰/۷۹ ^b	۰/۷۴۲۴ ^c	۶/۶۵ ^b
ICGV03060	۰	۱۷۷/۶۷ ^b	۸۰۱ ^d	۰/۷۷ ^c	۰/۹۸۸۷ ^{ab}	۵/۲۲ ^{bc}
	۵۰	۱۶۹/۶۶ ^b	۸۷۳/۶۷ ^a	۰/۸۰ ^a	۰/۳۷۵۹ ^d	۵/۱۸ ^d
	۱۰۰	۱۵۵/۳۳ ^c	۸۱۸ ^c	۰/۸۱ ^a	۰/۴۵۸۶ ^d	۶/۲۲ ^d
	۱۵۰	۱۵۷/۶۶ ^c	۸۳۹/۳۳ ^b	۰/۸۱ ^a	۰/۶۵۰۴ ^c	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 فنل کل برگ های بادام زمینی شد. بیشترین افزایش در میزان فنل کل در عصاره برگ رقم محلی گیلان و کمترین میزان در رقم ICGV03060 مشاهده شد. در رقم ICGV96177 تا تیمار ۵۰ میلی مولار محتوای فنلی، تقریباً ثابت بوده و بعد از آن، روند افزایشی

یافته، ظرفیت انتقال الکترون فتوستنز به طرف تجمع می‌رود و به دنبال آن افزایش غلظت ROS را خواهیم داشت که همین باعث پراکسیداسیون لیپیدها، 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 می تواند ناشی از تخریب این ترکیبات در اثر واکنش با ترکیبات اکسیداتیو در شرایط شور باشد.

نتایج بررسی تنش 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 تنش 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، تنش های شدید شوری می تواند اثر منفی روی ویژگی های آنتی اکسیدانی گیاهان داشته و باعث کاهش ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی اکسیدانی شود (Sidsel Fiskaa *et al.*, 2009).

نتیجه گیری:

از آنجایی که افزایش سطح شوری می تواند سبب کاهش فتوسنتز خالص شود، بنابراین کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم ۲ و همچنین میزان عملکرد دانه گیاه بادام زمینی نیز کاهش می یابد. به همین دلیل باید شرایطی فراهم شود که بتوان حداکثر 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 تنش 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، می توان این رقم را به عنوان متحمل ترین 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 تنش شوری به طور معنی داری، در مقایسه با تیمار شاهد تغییر نشان داد. تنش های محیطی از قبیل تنش شوری ممکن است رشد گیاه را به علت کاهش سرعت فتوسنتز محدود کنند. تحت چنین شرایطی، ترکیبات فنلی بیشتری تولید می شود (Bryant *et al.*, 1983). از طرف دیگر می توان نتیجه گرفت که گیاهان تحت تنش، مکانیسم های دفاعی خاصی را از قبیل افزایش محتوای فنل کل در برابر تنش اکسیداتیو به کار می گیرند. فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنلی عمدتاً ناشی از ویژگی اکسیداسیون-احیای آنها است که می تواند نقش مهمی در جذب و خنثی کردن رادیکال های آزاد داشته باشد (Joyce *et al.*, 2005).

صراحی نوبر و همکاران (۱۳۸۹) نشان دادند که اثر تنش شوری ۵۰، ۷۵، 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 گروه های هیدروکسیل آزاد متصل به حلقه آروماتیک به وسیله جاروبگری رادیکال ها و سایر مکانیسم ها مانند فروکشی اکسیژن یکتایی و کلاته کردن فلز به وسیله باند شدن یون های سمی، آسیب های اکسیداتیو ناشی از یون ها را کم کرده و به این ترتیب ساختارهای سیتوپلاسمی و کلروپلاستی را از تاثیرات منفی شوری محافظت می کنند (Apel and Hirt, 2004). Kanwal و همکاران (2013) با بررسی تنش شوری روی گیاه ماش (از تیره بقولات) مشاهده کردند که تیمار شوری روی گیاه ماش، باعث کاهش میزان ترکیبات فنلی در

منابع:

داوودی فرد، م.، حبیبی، د.، داودی فرد، ف. (۱۳۹۱) بررسی اثر تنش 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 نوبر، م.، نیکنام، و.، مرادی. ب. (۱۳۸۹) اثر تنش شوری بر محتوای پروتئین، رنگیزه‌ها، قندها و ترکیبات فنلی در کشت بافت چند گونه از شنبليله‌های ایران، مجله علوم دانشگاه تهران ۳۶: ۵۹-۵۳.
- عبدالزاد گوهری، ع.، امیری، م.، مجد 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 (*Zea mays L.*) تحت شرایط تنش شوری. مجله تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی ۳: ۱۰۳-۹۳.
- 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 peroxidase 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 Fagestedt, 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.