

تاثیر محلول پاشی عصاره جلبک، بتاکاروتن و ویتامین E بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی دانه‌های پسته در شرایط تنش شوری

مهدی سرچشمه پور*^۱، عبدالعلی طاهری^۲، فاطمه نصیبی^۳، فائقه بهرامی نژاد^۴

۱- دانشیار، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

۳- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

۴- دانشجوی دکترا، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

* نویسنده مسئول: msarcheshmeh@uk.ac.ir

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۲/۱۸، پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۳/۷

چکیده

تنش‌های غیرزیستی و زیستی می‌تواند بازده تولید محصولات کشاورزی را در گیاهان مورد تهدید جدی قرار دهد. پسته به عنوان یک محصول کشاورزی استراتژیک، نقش مهمی را در بین اقلام صادراتی ایران بر عهده دارد. امروزه افزایش تنش‌ها به خصوص تنش شوری، اثرات مخرب زیادی را به بار آورده است. استفاده از محرک‌های رشد به ویژه جلبک‌ها می‌تواند نقش موثری در کاهش اثرات منفی ناشی از این گونه تنش‌ها داشته باشد. در همین راستا، این پژوهش به صورت فاکتوریل بر مبنای یک طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل شش تیمار محرک رشد بتاکاروتن با غلظت ۱ میلی‌مولار (A)، ویتامین E با غلظت ۱ میلی‌مولار (E)، مخلوط بتاکاروتن و ویتامین با غلظت‌های ۱ میلی‌مولار (AE)، عصاره ریز جلبک اسپیرولینا با غلظت ۰/۵ درصد (SP)، ترکیب بتاکاروتن، ویتامین E و جلبک اسپیرولینا (ALL) با غلظت ۱ میلی‌مولار بتاکاروتن، ۱ میلی‌مولار ویتامین و ۰/۵ درصد عصاره جلبک و یک تیمار شاهد (cont) بدون محرک رشد و فاکتور دوم شامل دو سطح شوری صفر به عنوان شاهد (S1) و شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر (S2) می‌باشند. نتایج نشان داد که تاثیر شوری بر میزان پرولین، پروتئین، آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز معنی‌داری بود. تنش شوری فعالیت آنزیم پراکسیداز را در همه تیمارها به جز بتاکاروتن و ویتامین E به طور معنی‌دار افزایش داد، همچنین تیمارهای A و E فعالیت آنزیم کاتالاز را به طور معنی‌دار افزایش دادند. افزایش مقدار پرولین در تمامی تیمارها نسبت به گیاهان تیمار شاهد (شوری سطح صفر) مشاهده گردید. افزایش مقدار پرولین به صورت معنی‌دار در تیمار حاوی بتاکاروتن و تنش شوری دیده شد و در سایر موارد معنی‌دار نبود که می‌توان از آن به عنوان بهترین ترکیب برای محلول پاشی دانه‌های پسته تحت تنش شوری نام برد.

واژه‌های کلیدی: محرک رشد، اسپیرولینا، پراکسیداز، کاتالاز

مقدمه

دیسموتاز و کاتالاز وجود دارد (۶). پسته یکی از مهمترین محصولات اقتصادی ایران است. این امر ایران را به یکی از مهم‌ترین تولیدکنندگان پسته در جهان تبدیل نموده است. عمده تولید پسته کشور در استان کرمان متمرکز شده که در جنوب شرقی کشور قرار داشته و دارای آب و هوای خشک تا نیمه خشک می‌باشد. خشکسالی و شوری در اکثر مناطق تولید کننده پسته مشاهده می‌شود. اگرچه پسته به خوبی تا حدی با این تنش‌ها سازگار شده، اما کم آبی و کاهش شدید کیفیت آب آبیاری منجر به

تغییر شرایط زیست‌محیطی می‌تواند منجر به افزایش تنش‌های زیستی و غیرزیستی در گیاهان شود (۱ و ۲). تنش‌های مختلف غیرزیستی مانند خشکی، شوری، تغییر دمای و سمیت فلزات سنگین می‌توانند بازده متوسط محصولات کشاورزی را تا بیش از ۵۰ درصد کاهش دهند (۳ و ۵). مکانیسم‌های دفاعی مختلفی برای مقابله با تنش شوری در گیاهان از جمله؛ تجمع اسمولیت‌هایی مانند قندها، پرولین، گلیسین-بتائین و همچنین افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید

پسته در کاهش اثرات منفی تنش شوری مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در فروردین ماه سال ۱۴۰۰ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان به ترتیب با بیشینه و کمینه دمایی ۳۵ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد به اجرا در آمد. بذره‌های پسته رقم بادامی ریز زرد از پژوهشکده پسته تهیه و ابتدا توسط هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی گردیدند. بعد از ۲۴ ساعت خیساندن در آب مقطر استریل، داخل پارچه مرطوب قرار گرفتند و تا زمان جوانه‌زنی نگهداری و سپس به گلدان‌هایی با خصوصیات خاک مشخص منتقل شدند (جدول ۱). پودر خشک شده جلبک اسپیرولینا از مرکز پرورش ریزجلبک‌های قشم تهیه گردید. شش تیمار محرک رشد شامل بتاکاروتن با غلظت ۱ میلی‌مولار (A)، ویتامین E با غلظت ۱ میلی‌مولار (E)، مخلوط بتاکاروتن و ویتامین با غلظت‌های ۱ میلی‌مولار (AE)، عصاره ریز جلبک اسپیرولینا با غلظت ۰/۵ درصد (SP)، ترکیب بتاکاروتن، ویتامین E و جلبک اسپیرولینا (ALL) با غلظت ۱ میلی‌مولار بتاکاروتن، ۱ میلی‌مولار ویتامین و ۰/۵ درصد عصاره جلبک و یک تیمار شاهد (cont) بدون محرک رشد می‌باشند. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب یک طرح کاملاً تصادفی بود که با سه تکرار انجام شد. گیاهان یک ماه پس از کاشت در گلدان، سه مرتبه با فاصله ۱۵ روزه با تیمارهای فوق محلول‌پاشی گردیدند. دانه‌های پسته به مدت ۴۵ روز در شرایط بدون تنش شوری نگهداری و در این مدت با آب مقطر آبیاری و نیاز تغذیه‌ای آن‌ها با محلول هوگلند تامین گردید. تیمار شوری خاک با توجه به مولفه‌های شوری خاک منطقه به صورت ترکیبی از نمک‌ها [NaCl (70.5%)، CaCl₂ (20%) و MgCl₂ (9.5%)] شبیه‌سازی شدند. تیمار تنش شوری هم‌زمان با دومین محلول‌پاشی در سطح ۱۰ (S₂) دسی‌زیمنس بر متر (ds/m) به تدریج اعمال

کاهش عملکرد پسته در استان کرمان شده است (۷). مطالعات نشان داده که عصاره جلبک دریایی، می‌تواند اثرات منفی ناشی از تنش‌های غیرزیستی مانند خشکی، شوری و تغییرات دمایی را کاهش دهد (۸ و ۹). ریز جلبک‌ها حاوی برخی از مواد محرک رشد مانند اکسین‌ها، سیتوکینین‌ها، اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها و پلی‌آمین‌ها می‌باشند که علاوه بر کاهش صدمات ناشی از تنش‌های غیرزیستی، بر فرآیندهای متابولیسم گیاه، از جمله فتوسنتز، تنفس، سنتز اسیدهای نوکلئیک و جذب عناصر غذایی تاثیر دارند (۱۰ و ۱۱). ریز جلبک اسپیرولینا دارای مواد مغذی مختلف شامل پروتئین‌ها، کربوهیدرات، ویتامین‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها و عناصر غذایی پرمصرف و کم مصرف می‌باشد که از آن می‌توان در صنعت داروسازی، مواد غذایی، شیمیایی و همچنین به عنوان کود زیستی نیز استفاده کرد (۱۲). کاروتنوئیدها یکی از ترکیبات اصلی تشکیل‌دهنده تیلاکوئیدها هستند که از تخریب کلروفیل در مقابل نور زیاد جلوگیری می‌کنند. همچنین می‌تواند اثرات منفی ناشی از تنش‌های غیر زنده را کاهش دهند. بتاکاروتن به عنوان پیش‌ساز ویتامین A، یک کاروتنوئید می‌باشد که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده و اثرات مخرب گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش می‌دهد (۱۳). مشخص شده که افزایش تجمع آلفا-توکوفرول (ویتامین E) در گیاهان تحت تنش‌های غیرزیستی شوری و خشکی، سبب محافظت از گیاه می‌شود. همچنین از طریق کنترل سطح جاسمونیک اسید و سنتز آن، از پراکسیداسیون غشا جلوگیری کرده و سبب افزایش کلروفیل و فتوسنتز می‌گردد. مشاهده شده که محلول‌پاشی این ویتامین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان تاثیر مثبت بر رشد رویشی و زایشی گیاهان دارد (۱۴).

جلبک‌ها به واسطه دارا بودن طیف وسیعی از مواد مختلف، دارای عملکردهای محافظتی در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌باشند. به دلیل وجود آب و خاک شور در باغ‌های استان کرمان، این پژوهش با هدف تاثیر ریز جلبک اسپیرولینا، ویتامین E و بتاکاروتن بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی دانه‌های

گردید و شوری تیمار شاهد ۱/۸۴ دسی‌زیمنس بر متر بود. سوسپانسیون پودر اسپیرولینا و آب مقطر با نسبت ۱ به ۱۰ به مدت ۴۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد بر روی همزن هیت‌ردار تهیه شد. محلول به

دست آمده ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ (۴۶۰۰ دور در دقیقه) و مایع سطحی به عنوان تیمار عصاره جلبک محلول پاشی شد (۱۵).

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

Clay	Silt	Sand	F.C	S.P	EC	pH
(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(dS/m)	
۷	۲۶	۶۷	۱۴,۳۵	۲۵,۴۷	۱,۸۴	۷,۹

میلی‌مولار بود سائیده شد. تمام مراحل استخراج در یخ انجام گرفت. سپس عصاره‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در ۵۰۰۰ دور و دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند و از محلول شفاف رویی برای سنجش فعالیت پروتئین و آنزیم استفاده شد.

سنجش مقدار پروتئین کل

ابتدا ۰/۱ گرم رنگ کوماسی برلیانت G250 در ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد به مدت یک ساعت حل گردید، سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر فسفریک اسید ۸۵ درصد قطره قطره به آن افزوده شد. در پایان حجم کل محلول به کمک آب مقطر به یک لیتر رسانده شد و محلول حاصل با کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف گردید. برای سنجش غلظت پروتئین، به لوله‌های آزمایش حاوی ۱۰۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی، پنج میلی‌لیتر معرف بیوره افزوده شد و سریعاً ورتکس گردید. پس از پنج دقیقه جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید (۱۷).

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز

سنجش فعالیت کاتالاز براساس کاهش جذب آب اکسیژنه در طول موج ۲۴۰ نانومتر صورت گرفت. براساس این روش مخلوط واکنش (سه میلی‌لیتر) شامل بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)،

سنجش پارامترهای بیوشیمیایی

اندازه‌گیری مقدار پرولین

برای اندازه‌گیری پرولین از روش Bates (۱۹۷۳) استفاده شد. ۱/۲۵ گرم نین‌هیدرین به ۳۰ میلی‌لیتر استیک اسید اضافه و محلول را گرم کرده تا نین‌هیدرین در اسید حل شود. سپس ۲۰ میلی‌لیتر فسفریک اسید ۶ مولار به محلول اضافه گردید. ۰/۰۲ گرم از بافت فریز شده گیاه در ۱۰ میلی‌لیتر محلول سه درصد سولفوسالسیلیک اسید سائیده و عصاره حاصل به مدت پنج دقیقه (۴۰۰۰ دور در دقیقه) سانتریفیوژ شد. سپس دو میلی‌لیتر از مایع رویی با دو میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و دو میلی‌لیتر استیک اسید خالص مخلوط گردید و سپس چهار میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط اضافه و لوله‌ها به خوبی تکان داده شد. میزان جذب لایه رنگی فوقانی که حاوی تولوئن و پرولین بود در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد و برای محاسبه مقدار پرولین از منحنی استاندارد پرولین استفاده گردید و نتایج برحسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه گردید (۱۶).

تهیه عصاره پروتئینی

۰/۵ گرم از بافت تازه گیاه در پنج میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷/۵) که حاوی پلی‌وینیل پیرولیدین یک درصد و EDTA یک

$25/5 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ و فرمول $A=\epsilon bc$ ، مقدار تترایاکسیکل تشکیل شده محاسبه شد. فعالیت آنزیم به صورت واحد آنزیمی بر حسب مقدار پروتئین کل (میلی گرم) موجود در ۳۰ میکرولیتر عصاره گزارش شد (۱۹).

در پایان داده‌های آزمایش به صورت تجزیه واریانس دو فاکتوریل (تیمارهای شوری و محرک رشد) در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. قبل از تجزیه و تحلیل واریانس، برای برخی داده‌ها نرمال‌سازی انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

اثرات اصلی تیمارهای محرک رشد و شوری بر مقدار پراکسیداز، کاتالاز و پرولین در سطح یک درصد و بر مقدار پروتئین در سطح پنج درصد معنی‌دار شد. اثرات متقابل تیمارهای شوری و محرک رشدی بر مقدار پرولین و آنزیم پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود و در سایر صفات مورد مطالعه اثر معنی‌داری نداشت (جدول ۲).

آب اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. با اضافه کردن آب اکسیژنه به مخلوط واکنش، واکنش آغاز شد و کاهش در جذب آب اکسیژنه در مدت ۳۰ ثانیه در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. چون میزان فعالیت آنزیم براساس غلظت آب اکسیژنه تجزیه شده محاسبه شد، غلظت آب اکسیژنه مصرف شده با استفاده از ضریب خاموشی معادل $40 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ و فرمول $A=\epsilon bc$ محاسبه گردید (۱۸).

سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز

فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از پیش ماده گایاکول اندازه‌گیری شد. در این روش سه میلی‌لیتر مخلوط واکنش حاوی ۲/۷۷ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۱۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه یک درصد، ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول چهار درصد و ۳۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. افزایش جذب به دلیل اکسیداسیون گایاکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر و به مدت سه دقیقه اندازه‌گیری شد. با استفاده از ضریب خاموشی تترایاکسیکل معادل

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تیمارهای محرک رشد و شوری بر برخی صفات بیوشیمیایی دانه‌های پسته

میانگین مربعات					
منابع تغییرات	درجه آزادی	پراکسیداز	کاتالاز	پروتئین	پرولین
تیمار	۵	۱/۰۲**	۵۴/۰۹**	۱/۳۵*	۱/۰۸**
شوری	۱	۵/۱۹**	۲۷/۵۰**	۲/۴۸*	۰/۷۰۸**
تیمار × شوری	۵	۰/۶۹**	۰/۷۳ ^{ns}	۰/۵۹ ^{ns}	۰/۴۳**
خطا آزمایشی	۲۴	۰/۰۴	۱/۵۰	۰/۴۳	۰/۰۸
ضریب تغییرات (درصد)		۲۱/۴۴	۲۴/۰۲	۱۸/۱۶	۱۷/۰۱

ns، * و ** به ترتیب، غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

مقدار ۲/۷۰۶ واحد ویژه آنزیمی و کمترین مقدار مربوط به تیمار مخلوط بتاکاروتن و ویتامین E با مقدار ۰/۲۹۴ واحد ویژه آنزیمی در سطح شوری صفر بود

با توجه به نتایج مقایسه میانگین مشاهده می‌شود که بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز مربوط به شاهد و سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر (ds/m) با

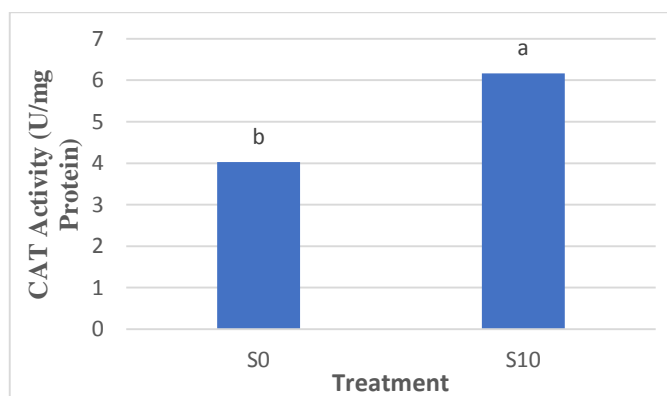
پسته با داده‌های حاصل از تحقیق کامیاب و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت دارد (۲۰). افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز تحت تنش شوری در بسیاری از دیگر گیاهان از جمله لوبیا نیز گزارش شده است (۲۱).

(جدول ۳). همچنین نتایج مقایسه میانگین اثرات اصلی تیمارهای شوری بر مقدار آنزیم کاتالاز نشان داد (شکل ۱) که فعالیت این آنزیم با افزایش سطح شوری نیز افزایش می‌یابد (اختلاف ۵۳/۹ درصدی با شاهد). اثر شوری بر مقدار آنزیم پراکسیداز و کاتالاز در دانهال

جدول ۳- نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل شوری و تیمارهای محرک رشد بر مقدار آنزیم پراکسیداز (واحد ویژه آنزیمی) در دانهال پسته

سطوح شوری	Cont	SP	AE	E	A	ALL
S1	۰/۶۸۶۳ ^{cd}	۰/۴۴۱۳ ^{de}	۰/۲۹۴ ^e	۰/۵۵۸۷ ^{cde}	۰/۵۰۶ ^{cde}	۰/۶۴۷ ^{cde}
S2	۲/۷۰۶ ^a	۰/۸۶۲۷ ^c	۱/۲۳۵ ^b	۰/۷۶۱ ^{cd}	۰/۷۷۲۳ ^{cd}	۱/۳۵۳ ^b

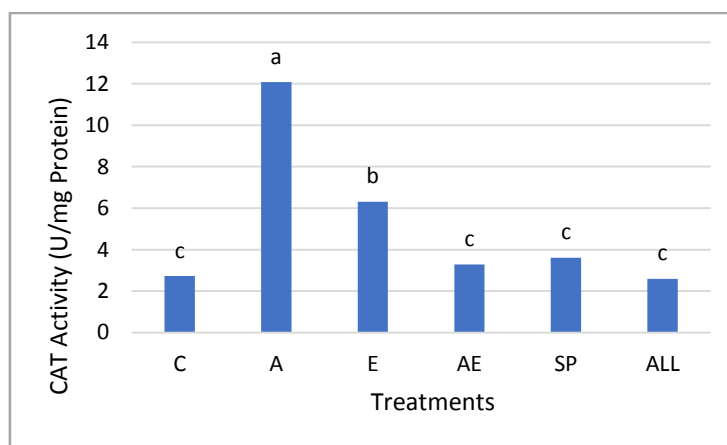
میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح یک درصد آزمون دانکن، تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.



شکل ۱- تاثیر سطوح مختلف شوری بر میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز (واحد ویژه آنزیمی) در دانهال‌های پسته- در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند در سطح یک درصد آزمون دانکن، تفاوت معنی‌داری با هم ندارند. S10 (تیمار شوری)، S0 (تیمار شاهد)

بتاکاروتن و افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز پیدا نشد، اما بر اساس گفته‌های Ruiz و همکاران (۲۰۱۲) بتاکاروتن یکی از فراوانترین ترکیبات تجمع یافته در کلروپلاست می‌باشد و در فتوسنتز نقش دارد. احتمالاً دلیل افزایش بتاکاروتن به عنوان یک ماده فعال برای تولید آنزیم کاتالاز می‌باشد (۲۲).

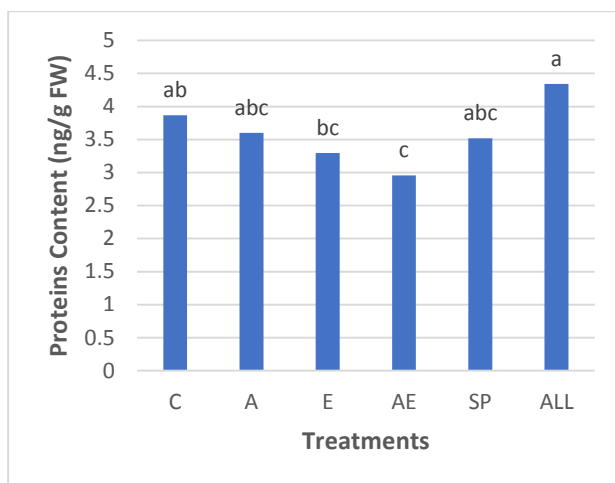
با توجه به نتایج مقایسه میانگین مشاهده می‌شود که بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز مربوط به گیاهان تیمار شده با بتاکاروتن با مقدار ۱۲/۰۸ واحد آنزیمی (۴/۴۳ برابر شاهد) و کمترین مقدار مربوط به مخلوط همه مواد محرک رشدی می‌باشد (شکل ۲). در این پژوهش رابطه‌ای بین محلول‌پاشی



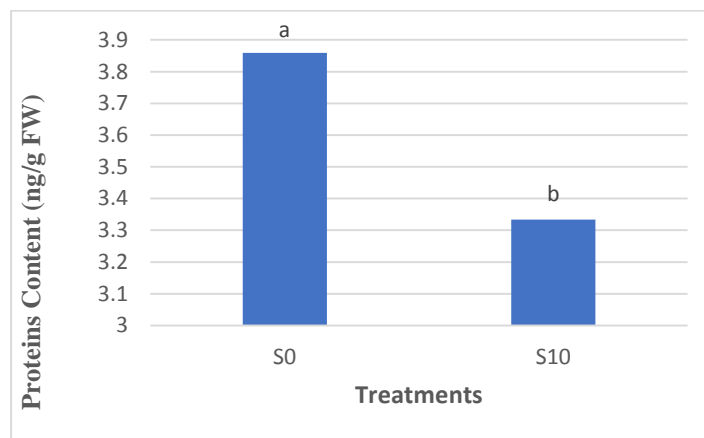
شکل ۲- تاثیر تیمارهای مختلف محرک رشدی بر فعالیت آنزیم کاتالاز (واحد ویژه آنزیمی) در دانه‌های پسته- در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند در سطح یک درصد آزمون دانکن، تفاوت معنی‌داری با هم ندارند. شاهد (cont)، بتاکاروتن (A)، ویتامین E (E)، بتاکاروتن و ویتامین E (AE)، جلبک اسپیرولینا (SP)، بتاکاروتن، ویتامین E و جلبک اسپیرولینا (ALL)

پروتئین نسبت به شاهد شده‌اند. با توجه به نتایج مقایسه میانگین مشاهده می‌شود که با افزایش شوری، میزان پروتئین ۱۴ درصد کاهش یافته‌است (شکل ۴). تنش‌های غیرزیستی باعث مهار سنتز بعضی از پروتئین‌ها می‌شوند ولی سنتز بعضی دیگر از پروتئین‌ها را افزایش می‌دهند، اما معمولاً در مجموع باعث کاهش مقدار پروتئین می‌گردند. این کاهش پروتئین را می‌توان به تغییر ساختار پروتئین تحت تنش شوری نسبت داد (۲۴ و ۲۵).

با توجه به نتایج مقایسه میانگین مشاهده می‌شود که بیشترین مقدار پروتئین مربوط به تیمار مخلوط همه مواد محرک رشدی می‌باشد که اختلاف معنی‌داری با شاهد ندارد (شکل ۳). کاهش در دسترس بودن آمینواسیدها، آنزیم‌های دخیل در سنتز پروتئین و یا هیدرولیز پروتئین‌ها از مهمترین عوامل تغییر محتوای پروتئین می‌باشند (۲۳). گیاهان تیمار شده با مخلوط همه مواد محرک رشدی احتمالاً به علت اثرات آنتاگونیستی با یکدیگر منجر به عدم تغییرات معنی‌دار



شکل ۳- تاثیر تیمارهای مختلف محرک رشدی بر مقدار پروتئین (نانوگرم بر گرم) در دانه‌های پسته- در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند در سطح پنج درصد آزمون دانکن، تفاوت معنی‌داری باهم ندارند. شاهد (cont)، بتاکاروتن (A)، ویتامین E (E)، بتاکاروتن و ویتامین E (AE)، جلبک اسپیرولینا (SP)، بتاکاروتن، ویتامین E و جلبک اسپیرولینا (ALL)



شکل ۴- تاثیر سطوح مختلف شوری بر مقدار پروتئین (نانوگرم بر گرم) در دانه‌های پسته- در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند در سطح یک درصد آزمون دانکن، تفاوت معنی‌داری باهم ندارند. S10 (تیمار شوری)، S0 (تیمار شاهد)

بیشترین مقدار پروتئین مربوط به تیمار بتاکاروتن با مقدار ۲/۵۶۳ میکرومول در سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر و کمترین مقدار مربوط به تیمار ویتامین E در سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر با مقدار ۱/۰۱۲ میکرومول می‌باشد (جدول ۴). در همه تیمارهای محرک رشدی به جز شاهد و بتاکاروتن، با افزایش شوری میزان پروتئین کاهش یافته است که بیانگر تاثیر مثبت همه محرک‌های رشدی بر روی مقدار پروتئین به جز بتاکاروتن می‌باشد. افزایش مقدار پروتئین در

پروتئین یکی از رایج‌ترین محافظ‌های اسمزی است که در طی تنش شوری در گیاهان تجمع می‌یابد و در نتیجه اثرات منفی شوری را بهبود می‌بخشد. نحوه عمل پروتئین برای محافظت از دیواره‌های سلولی تحت تنش اسمزی، به صورت محافظت از یکپارچگی پروتئین و افزایش فعالیت آنزیمی با عمل به عنوان یک همراه مولکولی می‌باشد. پروتئین همچنین در حذف گونه‌های اکسیژن فعال نقش دارد (۲۶). با توجه به نتایج مقایسه میانگین مشاهده می‌شود که

که در تحقیق ما بتاکاروتن با سایر تیمارهای محرک رشدی اختلاف معنی‌داری دارد، به نظر می‌رسد که توانسته است اثرات منفی تنش شوری را تعدیل کند.

بافت‌های گیاهی تحت تنش احتمالا نتیجه کاهش تجزیه پرولین، افزایش بیوسنتز آن، استفاده کم‌تر از آن در سنتز پروتئین و افزایش هیدرولیز پروتئین‌ها می‌باشد. هر چند راه‌های افزایش پرولین در گیاهان متفاوت است (۲۷). از آنجا

جدول ۴- نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل شوری و تیمارهای محرک رشد بر مقدار پرولین (میکرومول) در دانه‌ها پسته

A	ALL	E	AE	SP	Cont	سطوح شوری
۲/۴۳ ^{ab}	۱/۸۳ ^{cd}	۲/۰۶۸ ^{abc}	۱/۷۰۷ ^{cde}	۱/۹۶۳ ^{bcd}	۱/۰۱۵ ^f	S1
۲/۵۶۳ ^a	۱/۵۱۳ ^{def}	۱/۰۱۲ ^f	۱/۲۵۲ ^{ef}	۱/۴۹۱ ^{def}	۱/۵۱۴ ^{def}	S2

میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح یک درصد آزمون دانکن، تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Current opinion in plant biology. 2016 Apr 1;30:78-81.

3- Wang W, Vinocur B, Altman A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*. 2003;(1):1-4.

4- Pereira A. Plant abiotic stress challenges from the changing environment. *Frontiers in plant science*. 2016 Jul 27;7:1123.

5- Tripathi DK, Singh S, Singh S, Chauhan DK, Dubey NK, Prasad R. Silicon as a beneficial element to combat the adverse effect of drought in agricultural crops: capabilities and future possibilities. *Water stress and crop plants: a sustainable approach*. 2016 Jul 22;2:94-682.

6- Parida A, Das AB, Das P. NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins, and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, *Bruguiera*

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که شوری باعث کاهش مقدار پروتئین و افزایش مقدار آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز می‌گردد. مقدار پرولین در محلول‌پاشی با ترکیبات محرک رشدی نسبت به شاهد شوری اختلاف معنی‌دار داشت. در میان محرک‌های رشدی به نظر می‌رسد بتاکاروتن توانسته است اثرات منفی تنش شوری را کاهش دهد اما تحقیقات بیشتری برای بررسی غلظت‌های مختلف این محرک رشد و ریزجلبک اسپیرولینا و تفکیک بهترین اثر بخشی مورد نیاز است.

References

- 1- Chakraborty S, Newton AC. Climate change, plant diseases and food security: an overview. *Plant pathology*. 2011 Feb;60(1): 2-14.
- 2- Batley J, Edwards D. The application of genomics and bioinformatics to accelerate crop improvement in a changing climate.

- 15- Godlewska K, Michalak I, Pacyga P, Baśladyńska S, Chojnacka K. Potential applications of cyanobacteria: *Spirulina platensis* filtrates and homogenates in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2019;(6):1-8.
- 16- Bates LS, Waldren RP, Teare ID. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*. 1973;(1):7-205.
- 17- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*. 1976 May 7;72(1-2):54-248.
- 18- Dhindsa RS, Dhindsa P, Thorpe AT. Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decrease levels of superoxide dismutase and catalase. *J Exp Bot*. 1981; 32:93-101.
- 19- Plewa MJ, Smith SR, Wagner ED. Diethylthiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. *Mutation research/fundamental and molecular mechanisms of mutagenesis*. 1991;247(1):57-64.
- 20- Kamiab F, Talaie A, Khezri M, Javan-shah A. Exogenous application of free polyamines enhance salt tolerance of pistachio (*Pistacia vera* L.) seedlings. *Plant Growth Regulation*. 2014;72(3):68-257.
- 21- Jebara S, Jebara M, Limam F, Aouani ME. Changes in ascorbate peroxidase, catalase, guaiacol peroxidase and superoxide dismutase activities in common bean (*Phaseolus vulgaris*) nodules under salt stress. *Journal of plant physiology*. 2005;162(8):36-929.
- parviflora, in hydroponic cultures. *Journal of Plant Biology*. 2002 Mar;45(1):28-36.
- 7- Paymaneh Z, Sarcheshmehpour M, Bukovská P, Jansa J. Could indigenous arbuscular mycorrhizal communities be used to improve tolerance of pistachio to salinity and/or drought?. *Symbiosis*. 2019 Nov;79(3):83-269.
- 8- Craigie, J. S. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *Journal of applied phycology*. 2011;23(3):371-393.
- 9- Calvo P, Nelson L, Kloepper JW. Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and soil*. 2014;(1):3-41.
- 10- Ronga D, Biazzi E, Parati K, Carminati D, Carminati E, Tava A. Microalgal biostimulants and biofertilisers in crop productions. *Agronomy*. 2019;(4):192.
- 11- Carillo P, Ciarmiello LF, Woodrow P, Corrado G, Chiaiese P, Rouphael Y. Enhancing sustainability by improving plant salt tolerance through macro-and micro-algal biostimulants. *Biology*. 2020 Sep;9(9):253.
- 12- Volkman H, Imianovsky U, Oliveira JL, Sant'Anna ES. Cultivation of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* in desalinator wastewater and salinated synthetic medium: protein content and amino-acid profile. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2008;39:98-101.
- 13- SCANDALIOS J. OXYGEN STRESS AND SUPEROXIDE DISMUTASE. *PLANT PHYSIOLOGY*, 101: 7-12. SCHELL, RD & PARKER, JE 1990. ELICITOR RECOGNITION AND SIGNAL TRANSDUCTION IN PLANT GENE ACTIVATION.
- 14- Franceschi VR, Tarlyn NM. L-Ascorbic acid is accumulated in source leaf phloem and transported to sink tissues in plants. *Plant Physiology*. 2002 Oct;130(2):56-649.

and accumulation of proline and soluble sugars on plantlets of *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* used as rootstocks. *BASE*. 2012 Jan 1.

26- Gupta S, Schillaci M, Walker R, Smith P, Watt M, Roessner U. Alleviation of salinity stress in plants by endophytic plant-fungal symbiosis: Current knowledge, perspectives and future directions. *Plant and Soil*. 2021; 461(1):44-219.

27-Su J, Wu R. Stress-inducible synthesis of proline in transgenic rice confers faster growth under stress conditions than that with constitutive synthesis. *Plant Science*. 2004; 166(4):8-941.

22-Ruiz-Sola MÁ, Rodríguez-Concepción M. Carotenoid biosynthesis in Arabidopsis: a colorful pathway. *The Arabidopsis book/American Society of Plant Biologists*. 2012;10: 208-302.

23-Radi AA, Farghaly FA, Hamada AM. Physiological and biochemical responses of salt-tolerant and salt-sensitive wheat and bean cultivars to salinity. *J. Biol. Earth Sci*. 2013;3(1):72-88.

24- Osman MS, Badawy AA, Osman AI, Abdel Latef AA. Ameliorative impact of an extract of the halophyte *Arthrocnemum macrostachyum* on growth and biochemical parameters of soybean under salinity stress. *Journal of Plant Growth Regulation*. 2021; 40(3):56-1245.

25- Benhassaini H, Fetati A, Hocine AK, Belkhodja M. Effect of salt stress on growth

The Effect of Foliar Application of Algae Extract, β -Carotene and Vitamin E on some Biochemical Parameters of Pistachio Seedlings under Salinity Stress

Mehdi Sarcheshmeh Poor^{*1}, Abdolali Taheri², Fatemeh Nasibi³, Faegheh Bahrami Nejad⁴

1-Associate Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

2-M.S, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

3-Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

4-PhD Student, Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

* Corresponding Author: mortezamehri@gmail.com

Received: 8/5/2022, Accepted: 28/5/2022

Abstract

Prevalence of abiotic and biotic stresses in plants can threaten crop productions. Pistachio as a strategic crop plays an important role among Iran's export items. Today, increasing stresses, especially salinity stress, have many destructive effects. The use of growth stimulants, especially algae, can play an effective role in reducing the negative effects of such stresses. In this regard, this factorial study was conducted based on a completely randomized design with three replications. The first factor includes six treatments: control (cont), beta-carotene 1 mM (A), vitamin E 1 mM (E), beta-carotene and vitamin E (AE), spirulina microalgae extract 0.5% (SP), The mixture of beta-carotene, vitamin E and spirulina (ALL) and the second factor includes two salinity levels: control (S1) and 10 dS/m (S2). The results showed that the effect of salinity on proline, protein, catalase and peroxidase was significant. Salinity stress significantly increased the peroxidase activity in all treatments except beta-carotene and vitamin E. Also, A and E treatments significantly increased the catalase activity. Comparing to control plants, Increase in proline content in all treatments was observed at zero salinity. A significant increase in proline was observed in beta-carotene treatment at high salinity and in other cases it was not significant, which can be considered as the best compound for foliar application of pistachio seedlings under salinity stress.

Keywords: Growth Stimulant, Spirulina, Microalgae, Salinity Stress