اثر محلول‌پاشی ترکیب تجاری روی-گلبار بر صفات بیوشیمیایی و عملکردی درختان بارور پسته رقم کله قوچی

فاطمه صالحی[۱]*، محمد جواد آروین[۲]، حسین مظفری[۳]

تاریخ ارسال: ۱۳۹۸/۰۹/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۰۷

چکیده

امروزه در سراسر جهان کشاورزان به طور گسترده‌ای از کودهای بر پایه اسیدهای آمینه برای افزایش عملکرد محصولات و کاهش اثرات مخرب تنش‌ها استفاده می‌کنند. هدف از این تحقیق ارزیابی محلول‌پاشی برگی درختان ۳۰ ساله پسته با ترکیب روی‌گلبار (۷۰ درصد اسید آمینه گلوتامیک، ۱۰ درصد اوره و ۲۰ درصد کلات روی) بر صفات بیوشیمیایی، سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی آنزیمی، پارامترهای تنش اکسیداتیوی و عملکرد محصول بر روی پسته رقم کله قوچی در شرایط باغ بود. چهار سطح روی-گلبار شامل ۰، ۰/۶، ۱/۲ و ۱/۸ گرم بر لیتر آب به عنوان سطوح مختلف تیمار انتخاب و در فروردین ماه روی درختان محلول‌پاشی شدند. نتایج نشان داد با افزایش غلظت این ترکیب، میزان اسیدهای آمینه آزاد کل، پروتئین‌های محلول کل و پرولین برگ نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری از خود نشان دادند. همچنین، با بررسی سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی آنزیمی مشخص شد که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیداز، گایاکل‌پراکسیداز و فنیل‌آلانین آمونیالیاز برگ با افزایش غلظت این ترکیب افزایش پیدا کردند و از این رو باعث کاهش پارامترهای تنش اکسیداتیوی شامل پراکسیدهیدروژن، مالون‌دی‌آلدئید و سایرآلدئیدها شدند. صفات عملکردی و مرتبط با عملکرد شامل وزن پسته تازه، وزن پسته خشک، تعداد جوانه گل و تعداد دانه در خوشه نیز با افزایش غلظت این ترکیب نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری از خود نشان دادند، در حالی‌که انس پسته به مقدار زیادی کاهش یافت. بر

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد گروه اکولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان، ایران (*نویسنده مسئول: fatemehsalehi1985@gmail.com)

[۲] استاد گروه اکولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان و دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران

[۳] استادیار گروه اکولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان، ایران

اساس نتایج این مطالعه می‌توان غلظت ۱/۸ گرم بر لیتر از ترکیب روی‌گلبار را به عنوان یک ترکیب موثر برای افزایش عملکرد پسته رقم کله قوچی به صورت محلول‌پاشی برگی معرفی نمود.

واژه‌های کلیدی: پارامترهای تنش اکسیداتیوی، پسته رقم کله‌قوچی، ترکیب روی‌گلبار، سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی، صفات عملکردی

مقدمه

پسته یکی از محصولات ارزشمند و اقتصادی در ایران و جهان می‌باشد. این محصول متعلق به خانواده Anacardiaceae و جنس *Pistacia* است که ۱۱ گونه را شامل می‌شود. گونه‌های پسته آتلانتیکا، تربینتوس و اینتگریما بیشتر به عنوان پایه برای پسته اهلی (*P. vra*) استفاده می‌شوند (۱). پسته اهلی تنها گونه کشت شده و از لحاظ اقتصادی مهم در ایران است که به طور قابل توجهی در نقاط مختلف کشت می‌شود. گونه‌های دیگر پسته بیشتر به عنوان پایه استفاده می‌شوند و برای پرورش ارقام پسته اهلی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲). از میان ارقام مختلف پسته کله قوچی یکی از محبوب‌ترین ارقام موجود در ایران است. این رقم به دلیل درشتی محصول به طور قابل توجهی مورد توجه خریداران در ایران و کشورهای دیگر قرار گرفته است. علاوه بر ارزش‌های قابل توجه اقتصادی، تغذیه‌ای و دارویی، پسته ورا به شدت نسبت به تنش‌های غیر زیستی سازگار است و به عنوان یک گونه تحمل کننده در برابر تنش‌های خشکی و شوری و به عنوان یک گیاه مناسب برای جنگل‌زایی در مناطق خشک و نمکی استفاده می‌شود (۳). با توجه به گرمایش جهانی، تغییرات اقلیم، خشکسالی و افزایش شوری آب آبیاری در دهه گذشته، میزان عملکرد ارقام اهلی پسته از جمله رقم کله قوچی و حتی سطح جنگل‌های پسته وحشی در ایران به طور چشمگیری کاهش یافته است که تاثیرات منفی اقتصادی، زیست محیطی و اجتماعی داشته است. درجه حرارت بالا، تغییرات شدید اقلیمی و بارش کم، مسئول کاهش ذخایر آب خاک و افزایش محتوای نمکی است که مهمترین عامل محدود کننده رشد و عملکرد درختان پسته از جمله رقم کله قوچی است. بنابراین یک نیاز فوری به حفاظت و مدیریت گونه‌های اهلی و وحشی پسته برای بهره‌وری، افزایش عملکرد و حاصلخیزی طولانی مدت لازم است (۲).

تغذیه صحیح گیاه یکی از عوامل مهم در بهبود کیفی و کمی محصول به حساب می‌آید. در سال‌های اخیر، استفاده از کودهای بر پایه اسیدهای آمینه برای کاهش اثرات مخرب تنش‌های زیستی و غیرزیستی و همچنین افزایش عملکرد محصول پسته به شدت مورد توجه قرار گرفته است. اسیدهای آمینه مولکول‌هایی آلی و حاوی نیتروژن، کربن، هیدروژن و اکسیژن هستند که در ساختار آنها یک زنجیره جانبی ارگانیک نیز وجود دارد (۴). اسیدهای آمینه می‌توانند

نقش‌های مختلفی در گیاهان بازی کنند. آنها می‌توانند به عنوان عوامل کاهش دهنده تنش، منبع نیتروژن و پیش‌ساز هورمون اکسین عمل کنند (۵). در خاک، آنها را می‌توان در اشکال مختلف یافت، با این حال، نیمه عمر آنها کوتاه است و جذب آنها توسط گیاهان تنها از طریق ریشه ممکن است. آمینواسیدها قادرند جذب مواد غذایی و انتقال آن‌ها در گیاه را تسهیل کنند. همچنین این ملکول‌های آلی می‌توانند فعالیت‌های اصلی گیاه مانند فتوسنتز، سنتز پروتئین و تنفس را افزایش دهند و از این رو باعث تقویت رشد گیاه و افزایش محصول بیشتر شوند. همچنین، نرخ فتوسنتز و وضعیت نیتروژن در گیاه ارتباط نزدیکی با ذخایر آمینو اسید گیاه دارد (۶).

خشکسالی، شوری (۷) و گرما (۸) سه عامل مهم زیست محیطی محدود کننده تولیدات گیاهی هستند. این تنش‌های زیستی به شدت بر روی عملکرد پسته تاثیر می‌گذارند و باعث کاهش عملکرد پسته می‌شوند. در سال‌های اخیر به دلیل افت محصول پسته در رقم کله قوچی در اثر تنش‌های زیستی و غیر زیستی و یا به دلیل افزایش محصول پسته در زمین‌هایی که دچار تنش‌های غیر زیستی نیستند، استفاده از کودهای مکمل بر پایه اسیدهای آمینه به شدت افزایش یافته است. آمینواسیدها ترکیبات آلی شیمیایی هستند که باعث تشکیل ساختارهای پروتئینی می‌شوند و کارکردهای ساختاری، متابولیکی و انتقال را در گیاهان را به عهده دارند. آمینو اسیدها پیش‌سازهای فیتوهورمون‌ها و سایر مواد تنظیم کننده رشد گیاهی هستند (۵، ۶). آمینواسیدها متابولیسم گیاه را برای القا محصول بیشتر بهبود می‌بخشند و کیفیت محصول را افزایش می‌دهند. این مواد مقاومت گیاه در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی را افزایش می‌دهند و جذب مواد غذایی، انتقال و استفاده از تولیدات گیاهی را تسهیل می‌کنند (۶). آمینواسیدها می‌توانند فرایندها و متابولیسم‌های اصلی گیاه مانند سنتز پروتئین، تنفس و فتوسنتز را افزایش دهند و از این رو باعث تقویت رشد گیاه و افزایش محصول بیشتر شوند. همچنین، وضعیت نیتروژن درگیاه و بویژه ذخایر آمینو اسید ارتباط نزدیکی با نرخ فتوسنتز دارند (۶). برای جلوگیری از کاهش محصول به مرور زمان و بالا بردن کیفیت و ارتقای محصول، استفاده از آمینواسیدها گریزناپذیر خواهد بود. جذب آمینواسیدها از روزنه‌های گیاهی به صورت محلول‌پاشی می‌تواند بسیار مناسب باشد به خصوص زمانی که دمای محیط اطراف گیاه نیز مناسب به نظر برسد. آمینو اسید فرم ارگانیک نیتروژن است و محصولات بر پایه آمینو اسیدها در دهه گذشته استفاده می‌شده و باعث بهبود عملکرد و رشد گیاهان مختلف شده است (۹، ۱۰).

هدف از این تحقیق بررسی ۴ غلظت مختلف یک ترکیب بر پایه اسیدهای آمینه با نام روی-گلبار بر روی عملکرد و صفات مرتبط با عملکرد، صفات بیوشیمیایی، سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و پارامترهای تنش اکسیداتیوی در درختان ۳۰ ساله پسته رقم کله قوچی در یک مزرعه تحقیقاتی در منطقه رفسنجان استان کرمان بود.

مواد و روش‌ها

مشخصات درختان و محلول‌پاشی با ترکیب ″روی-گلبار: این تحقیق در مزرعه تحقیقاتی شرکت برافزا کشاورز پارس (تولید کننده ترکیب تجاری روی-گلبار)، واقع در شهرستان رفسنجان استان کرمان بر روی درختان بارور رقم کله قوچی (پایه بادامی) و در قالب طرح کاملا تصادفی با ۴ تیمار و ۹ تکرار برای پارامترهای عمکردی و مرتبط با عملکرد و ۳ تکرار برای صفات بیوشیمیایی انجام شد. ترکیب روی‌گلبار دارای ۷۰ درصد اسید آمینه گلوتامیک، ۱۰ درصد اوره و ۲۰ درصد کلات روی می‌باشد. غلظت ۰/۶ گرم بر لیتر از ترکیب روی-گلبار به ترتیب دارای ۰/۴۲، ۰/۰۶ و ۰/۱۲، غلظت ۱/۲ گرم بر لیتر از این ترکیب به ترتیب دارای ۰/۸۴، ۰/۱۲ و ۰/۲۴ و غلظت ۱/۸ گرم بر لیتر از این ترکیب به ترتیب دارای ۱/۲۶، ۰/۱۸ و ۰/۳۶ گرم بر لیتر اسید آمینه گلوتامیک، اوره و کلات روی می‌باشند. هر پلات آزمایشی شامل یک کرت به ابعاد ۵۰ در ۶ متر بود که در آن به طور متوسط ۲۰ اصله درخت پسته کله قوچی با سن حدود ۳۰ سال وجود داشتند. ترکیب روی-گلبار با غلظت های ۰، ۰/۶، ۱/۲ و ۱/۸گرم بر لیتر آب به صورت محلول‌پاشی در اوایل فروردین و زمانی که رشد خوشه‌های پسته به ۲ الی ۴ سانتی‌متر رسیده بود مورد استفاده قرار گرفت. استفاده از ترکیب روی-گلبار در این زمان به دلیل تامین عناصر و مواد مغذی مورد نیاز گیاه درتلقیح و رشد زایشی درختان و با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت. نمونه برداری برای صفات بیوشیمیایی، آنزیمی و صفات مرتبط با عملکرد در نیمه دوم خرداد ماه و برای صفات عملکردی نیمه دوم شهریور ماه انجام شد. تمامی شاخه‌ها در ارتفاع یکسان حدود ۱۲۰ تا ۱۵۰ سانتی‌متری در نظر گرفته شدند.

سنجش میزان اسیدهای آمینه کل توسط معرف نین‌هیدرین: سنجش اسیدهای آمینه آزاد با استفاده از معرف نین‌هیدرین و به روش رنگ سنجی انجام شد. ۰/۲ گرم از بافت برگ گیاه در ۵ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات سرد ۵۰ میلی‌مولار سائیده شدو سپس مخلوط حاصل در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و از محلول رویی برای سنجش اسیدهای آمینه آزاد استفاده شد (۱۱). برای تهیه معرف ابتدا در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول، ۰/۳۵ گرم پودر نین‌هیدرین به خوبی حل شد و سپس به عنوان معرف استفاده شد. ۱میلی لیتر از معرف نین هیدرین به ۵ میلی‌لیتر عصاره سانتریفوژ در لوله آزمایش اضافه شد و به مدت ۴-۷ دقیقه (در دمای ۸۰-۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) در حمام آب گرم گذاشته شد و در این مدت با استفاده از همزن هم زده شدند و بعد از سرد شدن محلول‌ها (در دمای آزمایشگاه) جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در ۵۷۰ نانومتر خوانده شد و سپس از منحنی استاندارد گلیسین برای محاسبه میزان اسیدهای آمینه کل استفاده شد (۱۱).

رسم منحنی استاندارد: برای رسم منحنی استاندارد گلیسین از غلظت‌های مختلف گلیسین استفاده شد و بقیه مراحل مطابق آنچه قبلاً گفته شد انجام گردید. جذب در طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد و منحنی جذب آن‌ها بر حسب غلظت رسم گردید و معادله خط به دست آمد (۱۱).

استخراج پروتئین‌ها از بافت گیاهی: ابتدا پروتئین‌ها از بافت برگ گیاه در یخ و در دمای بین صفر تا ۴ درجه سانتی‌گراد استخراج شدند. برای این منظور یک گرم از بافت فریز شده گیاهی در یک هاون چینی محتوی سه میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=۷) که حاوی پلی وینیل پیرولیدین (PVP) یک درصد و EDTA ۱ میلی‌مولار بود، سائیده شد. عصاره حاصل در سانتریفیوژ یخچال‌دار و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در۱۴۰۰۰دور و به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. از محلول رویی برای مطالعه فعالیت آنزیم‌ها و سنجش پروتئین کل نمونه‌های مورد نظر استفاده گردید (۱۲).

سنجش مقدار پروتئین کل: برای این سنجش از روش برادفورد (۱۹۷۶) استفاده شد. به این منظور به لوله‌های آزمایش شامل ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره پروتئینی ، ۵ میلی‌لیتر معرف بیوره افزوده و ورتکس گردید و پس از دو دقیقه و قبل از یک ساعت جذب محلول‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر (Carry 50, Varian Company) در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد و غلظت پروتئین‌ها بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر و با استفاده از منحنی استاندارد آلبومین محاسبه شد (۱۲).

تهیه معرف بیوره: برای ساخت این معرف ۰/۱ گرم کوماسی بریلیانت بلو G250 در ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد و به مدت یک ساعت حل شد و سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید فسفوریک ۸۵ درصد قطره قطره به آن افزوده شد. در پایان حجم کل به کمک آب مقطر به ۱ لیتر رسانده شد و محلول حاصل با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف گردید (۱۲).

رسم منحنی استاندارد: ابتدا غلظت‌های مختلف آلبومین گاوی ساخته شد و کلیه مراحل آزمایش بر روی آنها توسط معرف، همانطور که قبلا در مورد نمونه‌های مجهول توضیح داده شده بود، تکرار گردید جذب هر یک با دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد و منحنی استاندارد رسم و معادله خط به دست آمد (۱۲).

سنجش مقدار پرولین: اندازه‌گیری پرولین با استفاده از روش بیتس و همکاران (۱۹۷۳) انجام شد. ۰/۰۲ گرم از بافت برگ گیاه در ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳ درصد سولفوسالیسیلیک اسید سائیده و عصاره حاصل به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و سپس ۲ میلی‌لیتر از مایع رویی را با ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین و۲ میلی‌لیتر استیک اسید خالص مخلوط کرده و یک ساعت در حمام آب گرم قرار دادیم. سپس بلافاصله لوله‌های محتوی مخلوط در حمام یخ سرد گردید و سپس ۴ میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط اضافه گردید و سپس بعداز ثابت نگه داشتن لوله‌ها به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه میزان جذب لایه رنگی فوقانی در ۵۱۸ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه مقدار پرولین از منحنی استاندارد پرولین استفاده شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شدند. (۱۳).

تهیه معرف نین‌هیدرین: مقدار ۱/۲۵ گرم از پودر نین‌هیدرین به ۳۰ میلی‌لیتر اسیداستیک اضافه شد و سپس گرم شد. به محلول ۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۶ مولار اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد تا معرف تثبیت شود (۱۳).

رسم منحنی استاندارد: برای رسم منحنی استاندارد پرولین غلظت‌های مختلف پرولین خالص تهیه و مطابق با آنچه در مورد عصاره گفته شد، عمل گردید. منحنی جذب بر حسب غلظت رسم و معادله خط به دست آمد (۱۳).

تهیه عصاره آنزیمی: تهیه عصاره آنزیمی برای همه آنزیم‌ها مانند استخراج پروتئین‌ها از بافت گیاهی بود که در قسمت اندازه‌گیری پروتئین توضیح داده شد و استثنا در مورد آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز بود که روش عصاره‌گیری آن در مبحث مربوطه توضیح داده شده است (۱۲).

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز: سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش هیندسا و همکاران (۱۹۷۷) و با استفاده از جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر انجام شد. مخلوط واکنش با حجم ۳ سی سی شامل ۲/۸۷۰ سی سی بافر فسفات پتاسیم و ۳۰ میکرولیتر پراکسیدهیدروژن بود که در ادامه ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به مخلوط اضافه گردید. تغییرات جذب در بازه‌های زمانی ۳۰ ثانیه ای از زمان شروع واکنش تا یک دقیقه پس از شروع واکنش محاسبه گردید. فعالیت

این آنزیم بر مبنای تغییرات کاهشی غلظت پراکسیدهیدروژن و تجزیه آن بر حسب میزان پروتئین عصاره محاسبه شد (۱۴).

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز: سنجش فعالیت این آنزیم بر اساس روش ناکانو و آسادا (۱۹۸۱) انجام شد. در این روش مخلوط واکنش با حجم ۳ سی‌سی شامل۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۳۰ میکرولیترEDTA ۱۰ میلی‌مولار،۳۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار، ۲/۴۹۰ سی سی بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) و ۳۰۰ میکرولیتر آسکوربات ۰/۵ میلی‌مولار بود. با شروع واکنش آنزیمی کاهش جذب در ۲۹۰ نانومتر، دو دقیقه پس از شروع واکنش و در بازه‌های زمانی یک دقیقه محاسبه شد. با استفاده از تغییرات جذب در دقیقه، ضریب خاموشی آسکوربات ۲/۸$mmol^{-1}cm^{-1}$ و فرمول A=εbc میزان آسکوربات باقی مانده پس از ۲ دقیقه انجام واکنش آنزیمی محاسبه شد. یک واحد آنزیمی مقدار آنزیمی است که یک میلی‌مولار آسکوربات را در یک دقیقه اکسید می‌کند. فعالیت آنزیم بر حسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل موجود در ۱۵۰ میکرولیتر عصاره محاسبه شد (۱۵).

سنجش فعالیت آنزیم گایاکل‌پراکسیداز: فعالیت این آنزیم با استفاده از گایاکل اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل۳۰میکرولیتر گایاکل ۹۹ درصد،۳۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن سه درصد و ۲/۶۵ سی سی بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) بود. واکنش با افزودن ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به مخلوط واکنش آغاز شد و میزان جذب تتراگایاکل در ۴۷۰ نانومتر و در بازه‌های زمانی ۳۰ ثانیه‌ای و پس از یک دقیقه خوانده شد. ضریب خاموشی ε=۲۵/۵ $mmol^{-1}\ cm^{-1}$ فرمول A=εbc سرعت تشکیل تتراگایاکول در دقیقه و واحد آنزیمی محاسبه شد. فعالیت آنزیم هم بر حسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل موجود در ۲۰ میکرولیتر عصاره گزارش گردید (۱۶).

سنجش فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز: برای تهیه عصاره آنزیمی میزان ۳۰۰ میلی گرم از بافت برگ گیاه با ۶/۵ میلی لیتر بافر تریس- HCL ۵۰ میلی مولار (pH=۸/۸) حاوی مرکاپتواتانل ۱۵ میلی‌مولار در هاون سرد شده ساییده شد. سپس عصاره در ۵۰۰۰ rpm و به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و از محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده شد. فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز براساس سرعت تشکیل اسید سینامیک تعیین می‌گردد. در یک لوله آزمایش ۱ میلی‌لیتر از بافر استخراج همراه با ۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی، ۰/۴ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر و ۰/۵ میلی لیتر ال- فنیل آلانین (۱۰ میلی‌مولار) مخلوط شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۶۰ دقیقه نگهداری شد. واکنش

با اضافه کردن ۰/۵ میلی لیتر اسید تری کلرواستیک (۱۰ درصد) پایان یافت و غلظت سینامیک اسید با اندازه گیری میزان جذب محلول در طول موج ۲۹۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی معادل $mmol^{-1}\ cm^{-1}$ ۹۵۰۰ به دست آمد. یک واحد از فعالیت پال معادل ۱ میکرومول از سینامیک اسید تولید شده در یک دقیقه است (۱۷).

اندازه‌گیری تجمع پراکسیدهیدروژن: برای اندازه‌گیری تجمع پراکسیدهیدروژن ابتدا بافر فسفات پتاسیم با PH= ۷ را تهیه کردیم. برای تهیه این بافر مقدار ۰/۸۸ گرم از KH_2PO_4 و ۱۶/۲۸ گرم از K_2HPO_4 را در یک لیتر آب مقطر حل کردیم. اندازه‌گیری میزان تجمع پراکسید هیدروژن با استفاده از روش ولیکووا و همکاران (۲۰۰۰) انجام شد. ۵۰۰ میلی‌گرم از بافت برگ گیاه در حمام یخ با تری کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد سائیده شد. عصاره با استفاده از سانتریفیوژ یخچال دار برای ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی به ۰/۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم و یک میلی لیتر یدید پتاسیم یک مولار اضافه گردید و جذب محلول ها در طول موج ۳۹۰ نانومتر خوانده شد. مقدار پراکسیدهیدروژن در هر نمونه با استفاده از ضریب خاموشی $mol^{-1}\ cm^{-1}$ ۰/۲۸ محاسبه گردید و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر گزارش شد (۱۸).

اندازه گیری مقدار مالون‌دی‌آلدئید و سایر آلدئیدها: ۰/۲ گرم از بافت فریز شده گیاه با ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد سائیده شد و سپس عصاره حاصل با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. به یک میلی‌لیتر از محلول رویی ۴ میلی لیتر محلول تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید بود اضافه گردید. مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم قرار گرفت و سپس بلافاصله در یخ سرد شد و دوباره به مدت ۱۰ دقیقه سانترفیوز گردید. جذب محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. جذب رنگیزه‌های غیر اختصاصی و مزاحم در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر شد. برای محاسبه غلظت مالون-دی‌آلدئید و سایر آلدئیدها به ترتیب از از ضرایب خاموشی $mmol^{-1}\ cm^{-1}$ ۱۵۵ و $mmol^{-1}\ cm^{-1}$ ۴۵۷ استفاده شد و نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب نانو مول بر گرم وزن تر محاسبه شد (۱۹).

وزن پسته تر: محصول هر درخت با خوشه و فرابر برداشت شد و سپس با ترازوی وزنه دار وزن آن اندازه‌گیری شد و بر حسب گرم بیان شد (۲۰).

وزن پسته خشک: پس از پوست گرفتن پسته‌ها و جدا کردن دانه‌های پوک و نیمه مغز در حوض آب (بر اساس وزن حجمی پسته‌ها) بقیه دانه‌ها را به مدت سه روز در آفتاب خشک و سپس وزن کردیم و بر حسب گرم گزارش شد (۲۰).

تعداد جوانه گل: در درخت پسته جوانه‌های گل سال آینده روی سرشاخه‌های سال جاری تشکیل می‌شوند که تعداد جوانه‌های گل در هر سرشاخه شمارش شد (۲۰).

تعداد دانه در خوشه: در هر درخت خوشه‌ها چیده شدند و تعداد دانه‌ها در خوشه شمرده شد و بعداز تقسیم تعداد دانه بر تعداد خوشه میانگین تعداد دانه در خوشه در هر درخت بدست آمد (۲۰).

انس پسته: برای اندازه‌گیری انس پسته از ترازوی شاهین‌دار (برای به حداقل رساندن خطا) استفاده شد. در یک کفه ترازو وزنه ۲۸/۳ گرم (معادل ۱ انس) را قرار دادیم و در کفه دیگر دانه‌های پسته را ریختیم تا به وزن ۲۸/۳ گرم رسید و سپس تعداد دانه‌ها شمارش شد. تعداد دانه‌های پسته همان انس پسته است (۲۰).

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌ها در قالب طرح کاملا تصادفی و با استفاده از نرم‌افزار آماری (۲۲) SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

صفات بیوشیمیایی

اسیدهای آمینه آزاد کل: بر اساس جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول۱)، با افزایش غلظت محلول‌پاشی ترکیب روی‌گلبار میزان آمینواسیدهای آزاد نیز افزایش معنی‌دار داشتند. غلظت‌های ۰/۶، ۱/۲ و ۱/۸ گرم بر لیتر از این ترکیب به ترتیب موجب افزایش معنی‌دار ۸۴، ۱۱۹ و ۲۲۶ درصدی در میزان آمینواسیدهای آزاد نسبت به حالت کنترل شدند. همچنین تیمار ۱/۸ گرم بر لیتر از این ترکیب بیشترین تاثیر معنی‌دار را نسبت به محیط شاهد داشت (جدول۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر ترکیب روی-گلبار بر پارامترهای بیوشیمیایی در پسته رقم کله قوچی.

روی-گلبار (گرم بر لیتر)	اسیدهای آمینه آزاد کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	پروتئین کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	پرولین (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)
۰	۶/۶۴±۰/۰۶[d]	۱۴۶/۱۸±۱/۴۷[d]	۲۳/۳۱±۰/۷۱[d]
۰/۶	۱۲/۲۸±۰/۰۸[c]	۱۵۵/۷۸±۰/۹۸[c]	۷۰/۳۰±۰/۵۷[c]
۱/۲	۱۴/۶۰±۰/۶۷[b]	۱۹۵/۳۶±۰/۳۹[b]	۸۵/۹۶±۱/۰۶[b]
۱/۸	۲۱/۷۱±۰/۱۹[a]	۲۰۵/۹۸±۳/۲۴[a]	۹۵/۹۳±۰/۲۶[a]

اعداد شامل میانگین ± خطای استاندارد می‌باشند، حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند.

پروتئین کل: بر اساس نتایج جدول ۱، با افزایش غلظت ترکیب روی-گلبار، میزان پروتئین کل در تمام تیمارها افزایش معنی‌دار داشت. همچنین موثرترین تیمار، غلظت ۱/۸ گرم بر لیتر از ترکیب روی-گلبار بود که بیشترین تاثیر معنی‌دار را نسبت به شاهد در مقدار پروتئین کل داشت. غلظت‌های ۰/۶، ۱/۲ و ۱/۸ گرم بر لیتر از این ترکیب به ترتیب موجب افزایش معنی‌دار ۶، ۳۳ و ۴۰ درصدی در میزان پروتئین کل نسبت به حالت شاهد شدند (جدول۱).

پرولین: براساس نتایج حاصل از جدول ۱، با افزایش غلظت محلول‌پاشی ترکیب روی-گلبار میزان پرولین افزایش معنی‌داری داشته است. غلظت‌های ۰/۶، ۱/۲ و ۱/۸ گرم بر لیتر از این ترکیب به ترتیب موجب افزایش معنی‌دار ۲۰۱، ۲۶۸ و ۳۱۱ درصدی در میزان پرولین نسبت به شاهد شدند. همچنین غلظت ۱/۸ گرم بر لیتر از این ترکیب بیشترین افزایش معنی دار را داشت (جدول ۱).

آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی

فعالیت آنزیم کاتالاز: نتایج حاصل از سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تیمار روی-گلبار در جدول ۲ ارائه شده است. غلظت‌های ۰/۶، ۱/۲ و ۱/۸ گرم بر لیتر از ترکیب روی-گلبار به ترتیب موجب افزایش ۴۳، ۵۸ و ۲۷۹ درصدی در میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد شدند. همچنین بیشترین افزایش معنی‌دار مربوط به تیمار ۱/۸ گرم بر لیتر از این ترکیب بود که موثرترین تیمار بود.

فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز: فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز با افزایش غلظت ترکیب روی-گلبار به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. براساس نتایج بدست آمده از جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول۲)، بیشترین تغییر در میزان فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز مربوط به تیمار ۱/۸ گرم بر لیتر از ترکیب روی-گلبار بود که به میزان ۵۳۹ برابر نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار داشت. همچنین غلظت‌های ۰/۶ و ۱/۲ گرم بر لیتر از ترکیب روی-گلبار به ترتیب موجب افزایش ۶۶ و ۱۹۳ درصدی در میزان فعالیت این آنزیم نسبت به حالت شاهد شدند.

فعالیت آنزیم گایاکل‌پراکسیداز: فعالیت آنزیم گایاکل‌پراکسیداز با افزایش غلظت ترکیب روی-گلبار افزایش پیدا کرد. بر طبق نتایج بدست آمده از جدول ۲، غلظت‌های ۰/۶، ۱/۲ و ۱/۸ گرم بر لیتر از ترکیب روی-گلبار به ترتیب موجب افزایش ۱۲، ۳۲ و ۳۲۰ درصدی در میزان فعالیت این آنزیم نسبت به شاهد شدند. همچنین تاثیر معنی‌دار تیمار ۱/۸ گرم بر لیتر از سایر تیمارها بیشتر بود (جدول۲).

فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز: نتایج نشان داد که با افزایش غلظت محلول‌پاشی ترکیب روی-گلبار میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز افزایش معنی‌داری داشته است. همچنین تیمار ۱/۸ گرم بر لیتر از این ترکیب بیشترین تاثیر معنی‌دار را در میزان فعالیت این آنزیم داشته است. غلظت‌های ۰/۶، ۱/۲ و ۱/۸ گرم بر لیتر از ترکیب روی-گلبار به ترتیب موجب افزایش ۱۵۷، ۱۵۹ و ۲۱۴ درصدی در میزان فعالیت این آنزیم نسبت به شاهد شدند (جدول۲).

محتوای مالون‌دی‌آلدئید

براساس جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول۳)، با افزایش غلظت محلول‌پاشی ترکیب روی‌گلبار میزان مالون‌دی‌آلدئید کاهش معنی‌دار داشته است. همچنین تیمار ۱/۸ گرم بر لیتر از این ترکیب بیشترین تاثیر معنی‌دار را در میان سایر تیمارها داشت. غلظت‌های ۰/۶، ۱/۲و ۱/۸ گرم بر لیتر از این ترکیب به ترتیب موجب کاهش معنی‌دار ۶۱، ۷۰ و ۸۷ درصدی در میزان مالون‌دی‌آلدئید نسبت به حالت شاهد شدند (جدول۳).

محتوای سایر آلدئیدها: در گیاه پسته تحت تیمار ترکیب روی-گلبار سایر آلدئیدها به طور معنی‌دار کاهش یافتند. در مقایسه با شاهد، غلظت‌های ۰/۶، ۱/۲ و ۱/۸ گرم بر لیتر از این ترکیب به ترتیب موجب کاهش معنی‌دار ۱۵، ۶۰ و

۸۰ درصدی در میزان سایر آلدئیدها نسبت به شاهد شدند. تیمار۱/۸ گرم بر لیتر از این ترکیب نیز بیشترین کاهش معنی‌دار را در مقایسه با شاهد داشت (جدول۳).

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر ترکیب روی-گلبار بر آنزیم های آنتی اکسیدانی در پسته بالغ رقم کله قوچی.

روی-گلبار (گرم بر لیتر)	کاتالاز (u بر میلی گرم پروتئین)	آسکوربات‌پراکسیداز (u بر میلی گرم پروتئین)	گایاکل‌پراکسیداز (u بر میلی گرم پروتئین)	فنیل‌آلانین آمونیالیاز (u بر میلی گرم پروتئین)
۰	۰/۳۹±۰/۰۳ c	۰/۳۳±۰/۰۱ c	۰/۲۵±۰/۰۲ c	۳/۳۸±۰/۰۷ c
۰/۶	۰/۵۶±۰/۰۷bc	۰/۵۵±۰/۰۳bc	۰/۲۸±۰/۰۲bc	۸/۷۲±۰/۴۰b
۱/۲	۰/۶۲±۰/۰۳b	۰/۹۷±۰/۰۹b	۰/۳۳±۰/۰۱b	۸/۷۶±۰/۰۹b
۱/۸	۱/۴۸±۰/۱۱a	۲/۱۱±۰/۲۹a	۱/۰۵±۰/۰۳a	۱۰/۶۳±۰/۴۵a

اعداد شامل میانگین ± خطای استاندارد می‌باشند، حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر ترکیب روی-گلبار بر پارامترهای اکسیداتیو در پسته بالغ رقم کله قوچی

روی‌گلبار (گرم بر لیتر)	پراکسیدهیدروژن (میکرومول بر گرم وزن تر)	مالون‌دی‌آلدئید (نانومول بر گرم وزن تر)	سایر آلدئیدها (نانومول بر گرم وزن تر)
۰	۲/۹۴±۰/۰۱a	۴/۵۷±۰/۰۶a	۰/۰۲۰±۰/۰۰۱a
۰/۶	۲/۴۶±۰/۱۲b	۱/۷۶±۰/۱۳b	۰/۰۱۷±۰/۰۰۱b
۱/۲	۲/۱۹±۰/۰۱bc	۱/۳۵±۰/۰۶c	۰/۰۰۸±۰/۰۰۳c
۱/۸	۱/۹۸±۰/۱۴c	۰/۵۸±۰/۰۵d	۰/۰۰۴±۰/۰۰۳d

اعداد شامل میانگین ± خطای استاندارد می‌باشند، حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند.

صفات زایشی و عملکردی

وزن پسته تر: بر اساس نتایج حاصل از جدول ۴، غلظت‌های ۰/۶، ۱/۲ گرم بر لیتر از ترکیب روی-گلبار به ترتیب موجب افزایش ۶۱ و ۱۱۲ درصدی در وزن پسته تر نسبت به شاهد شدند و موثرترین تیمار غلظت ۱/۸ گرم بر لیتر از این ترکیب بود که موجب افزایش معنی‌دار ۱۶۶ درصدی میزان پسته تر نسبت به حالت شاهد شد (جدول ۴).

وزن پسته خشک: با افزایش غلظت محلول‌پاشی ترکیب روی-گلبار، وزن پسته خشک نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار داشت. غلظت‌های ۰/۶، ۱/۲ و ۱/۸ گرم بر لیتر از ترکیب روی-گلبار به ترتیب موجب افزایش معنی دار ۹۰، ۱۷۰ و ۲۵۰

درصدی وزن پسته خشک نسبت به تیمار شاهد گردیدند (جدول ۴). بیشترین میزان افزایش وزن خشک در غلظت ۱/۸ گرم بر لیتر از این ترکیب مشاهده شد (جدول ۴).

تعداد جوانه گل: غلظت‌های مختلف ترکیب روی-گلبار، موجب افزایش معنی‌دار تعداد جوانه گل نسبت به شاهد شدند. بیشترین افزایش معنی‌دار تعداد جوانه گل مربوط به تیمار ۱/۸ گرم بر لیتر از ترکیب روی-گلبار بود (جدول ۴). غلظت‌های ۰/۶، ۱/۲ و ۱/۸ گرم بر لیتر از این ترکیب به ترتیب موجب افزایش ۵۰، ۹۱ و۱۵۰ درصدی تعداد جوانه‌های گل نسبت به شاهد شدند (جدول ۴).

تعداد دانه در خوشه: تعداد دانه در خوشه با افزایش غلظت ترکیب روی-گلبار افزایش یافت (جدول ۴). غلظت‌های ۰/۶، ۱/۲و ۱/۸ گرم بر لیتر از ترکیب روی-گلبار به ترتیب موجب افزایش ۶۰، ۷۵ و ۸۳ درصدی تعداد دانه در خوشه نسبت به شاهد شدند و موثرترین تیمار نیز غلظت ۱/۸ گرم بر لیتر از این ترکیب بود که نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشت (جدول ۴).

انس پسته: بر اساس جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴)، غلظت ۰/۶ گرم بر لیتر از ترکیب روی-گلبار موجب کاهش ۲ درصدی انس پسته در این غلظت نسبت به شاهد شد. همچنین غلظت‌های ۱/۲ و ۱/۸ گرم بر لیتر از این ترکیب به عنوان موثرترین تیمارها بودند که موجب کاهش معنی‌دار ۸ درصدی انس پسته نسبت به تیمار شاهد شدند (جدول ۴).

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر ترکیب روی-گلبار بر پارامترهای عملکردی در پسته بالغ رقم کله قوچی.

روی-گلبار (گرم بر لیتر)	وزن پسته تر (گرم در شاخه)	وزن پسته خشک (گرم در شاخه)	تعداد جوانه گل (در شاخه)	تعداد دانه (در خوشه)	انس پسته (تعداد دانه در ۲۸/۳ گرم)
۰	۲۷۱/۶۷±۲۵/۶۹^{c}	۶۰/۰۰±۵/۲۳^{d}	۱/۴۲±۰/۱۴^{c}	۸/۲۰±۰/۵۰^{b}	۲۴/۴۷±۰/۲۲^{a}
۰/۶	۴۳۸/۰۰±۳۹/۲۴^{b}	۱۱۴/۵۶±۹/۸۳^{c}	۲/۱۳±۰/۱۷^{b}	۱۳/۱۲±۱/۰۱^{a}	۲۳/۸۰±۰/۱۹^{a}
۱/۲	۵۷۷/۰۰±۵۹/۷۷^{b}	۱۶۲/۳۳±۱۳/۷۵^{b}	۲/۷۲±۰/۱۷^{b}	۱۴/۴۰±۰/۸۰^{a}	۲۲/۴۴±۰/۱۰^{b}
۱/۸	۷۲۵/۳۳±۶۴/۰۹^{a}	۲۱۰/۳۳±۲۱/۳۴^{a}	۳/۵۶±۰/۳۳^{a}	۱۵/۰۷±۰/۸۶^{a}	۲۲/۴۰±۰/۳۵^{b}

اعداد شامل میانگین ± خطای استاندارد می‌باشند، حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند.

بحث

در یک مطالعه که بر روی گیاه سلریاک (کرفس ریشه‌ای) توسط شهاتا و همکاران (۲۰۱۱) انجام شد، نشان داده شد که محلول‌پاشی گیاهان با اسیدهای آمینه در ترکیب با روی می‌تواند به شدت عملکرد محصول را افزایش دهد. همین تحقیق ثابت کرد که پارامترهای ارتفاع گیاه، تعداد برگ، وزن تر و خشک برگ، مقدار یون‌های نیتروژن، پتاسیم و فسفر و محتوای قند کل با افزایش غلظت روی در ترکیب با اسیدهای آمینه به شدت افزایش پیدا کرد (۹). مشخص شده است که اسیدهای آمینه منبع بسیار ارشمندی از نیتروژن هستند و بسیاری از گیاهان قادرند اسیدهای آمینه را به طور مستقیم جذب کنند و می‌توانند این اسیدهای آمینه جذب شده را در فعالیت‌های سلولی خود مصرف کنند (۲۱-۲۲). همچنین مشخص شده که مدیریت نیتروژن تاثیر بسیار زیادی بر تعداد و فعالیت پروتئین‌های حامل روی و آهن در غشاء سلول‌های ریشه دارد و از این رو می‌تواند مقدار جذب و انتقال این عناصر را در بافت‌های گیاهی تسهیل کند (۲۳). در این مطالعه از غلظت‌های مختلف ترکیب روی-گلبار استفاده شده است. این ترکیب دارای ۷۰ درصد اسید آمینه گلوتامیک می‌باشد. تحقیقات نشان داده است که گلوتامیک اسید سنتز سایر اسیدهای آمینه را تسریع می‌بخشد (۲۴). در این تحقیق افزایش محتوای اسیدهای آمینه آزادکل در اثر افزایش غلظت ترکیب روی-گلبار میتواند به دلیل وجود اسیدآمینه گلوتامیک در این ترکیب باشد. همچنین مشخص شده که اسید آمینه گلوتامیک در جوانه زنی بذرها و تشکیل میوه کاربرد دارد (۲۴) و می‌تواند تقسیم سلولی، رشد سول‌های سوماتیکی (رویان‌زایی بدنی) و رشد بذر را تحریک کند (۲۱) که این مشاهدات می‌توانند نتایج این مطالعه را که با افزایش غلظت ترکیب روی-گلبار وزن پسته تازه، وزن پسته خشک، تعداد جوانه گل و تعداد دانه افزایش پیدا کرده است، را تایید کنند. گلوتامیک اسید فعال کننده و پیش ساز مواد رشدی و فیتو هورمون‌ها است و در عناصر کم مصرف دارای اثرات شلاته‌کنندگی می‌باشد و از این طریق جذب، انتقال و ساخت مواد غذایی را در گیاه آسان‌تر می‌کند و همچنین در تشکیل بافت رویشی و تشکیل پروتئین نقش اساسی دارد (۲۵). گلوتامیک اسید بیشتر به عنوان تامین کننده اجزاء اصلی ساختمانی آمینو اسیدها مورد استفاده جهت ساخت پروتئین در گیاهان استفاده می‌شود (۲۶). افزایش محتوای پروتئین کل در این مطالعه می‌تواند به دلیل همین اثرات اسید آمینه گلوتامیک باشد.

عنصر روی یکی از عناصر بسیار مهم و کم مصرف است که در ساختمان بسیاری از آنزیم‌ها وجود دارد و به عنوان کوفاکتور عمل می‌نماید. روی عنصری مهم در فعالیت آنزیم‌های پروتئیناز و دهیدروژناز است و از اجزاء اصلی در تشکیل RNA و تنظیم کننده‌های رشد محسوب می‌شود (۲۷). عنصر روی در بسیاری از مسیرهای اصلی و مهم بیوشیمیایی که در ارتباط با متابولیسم کربوهیدرات‌ها است مانند فتوسنتز و تبدیل قندها به نشاسته، متابولیسم اکسین، متابولیسم پروتئین، حفظ یکپارچگی غشاهای سلولی، تشکیل دانه گرده و

همچنـــین مقاومـــت بـــه عوامـــل بیمـــاری‌زا مـــؤثر اســـت (۲۷). ترکیب روی-گلبار حاوی ۱۰ درصد اوره و ۲۰ درصد کلات روی است (۲۰ درصد کلات روی حاوی ۳ درصد عنصر روی) که ۳ درصد عنصر روی در این ترکیب نمی‌تواند نقش بسیار زیادی را در افزایش عملکرد و پارامترهای اندازه‌گیری شده ایفا کند. علاوه بر این موضوع، میزان عنصر روی در خاک این مزرعه تحقیقاتی کاملا تامین شده بود و به حد کافی وجود داشت و گیاه با کمبودی از لحاظ عنصر روی روبرو نبود. بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده، استفاده از اوره در ترکیب روی-گلبار فقط به جذب عناصر ماکرو کمک میکند. از نتایج این مطالعه می‌توان استنتاج کرد که تمامی اثرات این ترکیب می‌تواند مربوط به اسید آمینه گلوتامیک باشد.

بر اساس نتایج این تحقیق و با افزایش غلظت‌های ترکیب روی-گلبار، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیداز، گایاکل‌پراکسیداز و فنیل‌آلانین آمونیالیاز و محتوای اسیدهای آمینه آزاد کل، پروتئین‌های محلول کل و پرولین افزایش یافتند، در حالی‌که مقادیر پراکسید هیدروژن، مالون‌دی‌آلدئید و سایر آلدئیدها به شدت کاهش یافتند. بر اساس دانسته‌های ما، اطلاعات بسیار کمی از محلول‌پاشی برگی گیاهان با ترکیبات بر پایه اسیدهای آمینه بر روی سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی و پارامترهای تنش اکسیداتیوی وجود دارد. در سال ۲۰۱۷، تحقیقی بر روی گیاه ذرت نشان داد که فعالیت آنزیم کاتالاز زمانی که این گیاه با استفاده از اسیدهای آمینه تیمار می‌شود به شدت افزایش پیدا می‌کند (۲۸). اسیدهای آمینه اجزای مهم سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی در گیاهان هستند. اثر این مولکول‌ها شامل کاهش رادیکال‌های آزاد و محافظت از اسمز در گیاه می‌باشد (۲۹). علاوه بر این، اسیدهای آمینه نقش مهمی در پاسخ دادن به تنش و سوخت و سازهای ثانویه در گیاهان دارند (۳۰). برای مثال، اسید آمینه گلیسین در پاسخ به تنش اثر می‌گذارد زیرا گلیسین بتایین یک حلال سازگار است که به عنوان یک عامل محافظت کننده اسمزی در گیاهان عمل می‌کند، به ویژه هنگامی که گیاهان تحت تنش شوری قرار می‌گیرند (۳۱). از تولید گلیسین بتائین، چندین فرآیند ارسال پیام در گیاهان آغاز می‌شود، مانند افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدها (۳۲). برخی دیگر از اسیدهای آمینه مانند گلوتامات و گلوتامیک می‌توانند به طور غیر مستقیم از تنش اکسیداتیوی جلوگیری کنند، زیرا این اسیدهای آمینه پیش‌ساز سایر اسیدهای آمینه‌ای مانند آرژینین و پرولین هستند که به کاهش تنش گیاه مربوط می‌شوند (۳۳). همچنین نقش اسیدآمینه‌گلوتامیک در تامین اجزاء اصلی ساختمانی آمینو اسیدها که در سنتز پروتئین‌ها بکار میروند در گیاهان کاملا اثبات شده است (۲۶). در مطالعه حاضر، شوری آب ۱۰ دسی زیمنس بر متر بود (مقدار شوری آبی که بیشتر کشاورزان با آن درختان پسته خود را در آن منطقه آبیاری می‌کنند) که آبی شور تلقی می‌شود. افزایش سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی آنزیمی در این تحقیق می‌تواند به دلیل

استفاده از آب شور برای آبیاری درختان باشد. بر اساس تمامی مطالب بالا،می‌توان نتیجه گرفت که به احتمال زیاد، محلول‌پاشی برگی اسید آمینه گلوتامیک در پسته رقم کله قوچی توانسته فعالیت سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی آنزیمی (فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیداز، گایاکل‌پراکسیداز و فنیل‌آلانین آمونیالیاز) و غیرآنزیمی (محتوای پرولین) را در پاسخ به تنش شوری آب آبیاری افزایش دهد و از این رو منجر به کاهش میزان پراکسیدهیدروژن شده و به تبع کاهش پراکسیدهیدروژن، مقدار پراکسیداسیون لیپید در این گیاه به شدت کاهش یافته است. بر اساس نتایج این تحقیق می‌توان استنتاج کرد که محلول‌پاشی ترکیبات بر پایه اسید آمینه گلوتامیک می‌تواند اثرات مخرب تنش اکسیداتیوی را در گیاهان به شدت کاهش دهد و به عنوان یک منبع بسیار ارزشمند از نیتروژن و کربن، متابولیسم اصلی گیاه را بهبود بخشد واز این رو باعث افزایش پارامترهای مرتبط با عملکرد و در نهایت عملکرد کل شود.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد که افزایش غلظت ترکیب روی-گلبار توانست پارامترهای ارزشمند عملکردی را در این رقم تجاری پسته بالا ببرد و غلظت ۱/۸ گرم بر لیتر این ترکیب تجاری، بهترین عملکرد را از خود نشان داد. همچنین، افزایش غلظت این ترکیب توانست اسیدهای آمینه کل را که پیش سازی برای پروتئین‌ها هستند، بالا ببرد و این عامل می‌تواند دلیل اصلی افزایش محصول این رقم تجاری باشد. در این مطالعه، ترکیب روی-گلبار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را به شدت افزایش داد و به احتمال زیاد، افزایش فعالیت این آنزیم‌ها موجب شد که پارامترهای تنش اکسیداتیوی به طور معنی‌داری کاهش پیدا کنند. می‌توان دلیل دیگر افزایش محصول را در این رقم کاهش پارامترهای تنش اکسیداتیوی دانست. بر اساس نتایج این مطالعه می‌توان ترکیبات بر پایه اسیدهای آمینه را به عنوان منبع بسیار ارزشمندی برای افزایش محصول پسته در نظر گرفت و همچنین می‌توان از این ترکیبات برای کاهش اثرات مخرب تنش‌ها نیز استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله بابت حمایت‌های مالی و تحقیقاتی از شرکت برافزاکشاورز پارس تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

1- Jamshidi Goharrizi, K., Baghizadeh, A., Kalantar, M., and F. Fatehi. 2019. Assessment of Changes in Some Biochemical Traits and Proteomic Profile of UCB-1 Pistachio Rootstock Leaf under Salinity Stress. Journal of Plant Growth Regulation. doi: 10.1007/s00344-019-10004-3.

2- Moazzzam Jazi, M., Seyedi, S.M., Ebrahimie, E., Ebrahimi, M., De Moro, G. and C. Botanga. 2017. A genome-wide transcriptome map of pistachio (*Pistacia vera* L.) provides novel insights into salinity-related genes and marker discovery. BMC Genomics, 18(1): 1-21. doi: 10.1186/s12864-017-3989-7.

3- Ferguson, L., Poss, J., Grattan, S., Grieve, C., Wang, D., Wilson, C., Donovan, T., and C.T. Chao .2002. Pistachio rootstocks influence scion growth and ion relations under salinity and boron stress. Journal of the American Society for Horticultural Science, 127(2): 194-199.

4- Buchanan, B.B., Gruissem, W. and R.L. Jones. 2015. Biochemistry and molecular biology of plants. John Wiley & Sons.

5- Maeda, H., and N. Dudareva. 2012. The shikimate pathway and aromatic amino acid biosynthesis in plants. Annual Review of Plant Biology, 63: 73-105.

6- Lejay, L., Gansel, X., Cerezo, M., Tillard, P, Müller, C., Krapp, A., von Wirén, N., Daniel-Vedele, F and A. Gojon. 2003. Regulation of root ion transporters by photosynthesis: functional importance and relation with hexokinase. The Plant Cell, 15(9): 2218-2232.

7- Wang, W., Vinocur, B., and A. Altman. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. Planta, 218(1): 1-14.

8- Havaux, M. 1993. Rapid photosynthetic adaptation to heat stress triggered in potato leaves by moderately elevated temperatures. Plant, Cell & Environment, 16(4): 461-467.

9- Shehata, S., Abdel-Azem. H.S., Abou El-Yazied, A., and A. El-Gizawy. 2011. Effect of foliar spraying with amino acids and seaweed extract on growth chemical constitutes, yield and its quality of celeriac plant. European Journal of Scientific Research, 58(2): 257-265.

10- Radkowski, A. 2018. Influence of foliar fertilization with amino acid preparations on morphological traits and seed yield of timothy. Plant, Soil and Environment, 64(5): 209-213.

11- Hwang, M.N., and G.M. Ederer. 1975. Rapid hippurate hydrolysis method for presumptive identification of group B streptococci. Journal of Clinical Microbiology, 1(1): 114-115.

12- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72(1-2): 248-254.

13- Bates, L.S., Waldren, R.P., and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil, 39(1): 205-207.

14- Dhindsa, R.S., and J.D. Bewley. 1977. Water stress and protein synthesis: V. protein synthesis, protein stability, and membrane permeability in a drought-sensitive and a drought-tolerant Moss. Plant Physiology, 59(2): 295-300.

15- Nakano, Y., and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant and Cell Physiology, 22(5): 867-880.

16-16. Plewa, M.J., and E.D. Wagner. 1993. Activation of promutagens by green plants. Annual Review of Genetics, 27(1): 93-113.

17-Hahlbrock, K., and H. Ragg. 1975. Light-induced changes of enzyme activities in parsley cell suspension cultures: effects of inhibitors of RNA and protein synthesis. Archives of Biochemistry and Biophysics, 166(1): 41-46.

18-Velikova, V., Yordanov, I., and A. Edreva. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. Plant Science, 151(1): 59-66.

19-Heath, R.L., and L. Packer. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics, 25(1): 189-198.

20-Rahemi, M., & Asghari, H. 2004. Effect of hydrogen cyanamide (dormex), volk oil and potassium nitrate on budbreak, yield and nut characteristics of pistachio (*Pistacia vera* L.). The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 79(5): 823-827.

21-Ghasemi, S., Khoshgoftarmanesh, A.H., Afyuni, M., and H. Hadadzadeh. 2013. The effectiveness of foliar applications of synthesized zinc-amino acid chelates in comparison with zinc sulfate to increase yield and grain nutritional quality of wheat. European Journal of Agronomy, 45: 68-74.

22-Näsholm, T., Kielland, K., and U. Ganeteg. 2009. Uptake of organic nitrogen by plants. New Phytologist, 182(1): 31-48.

23-Kutman, U. B., Yildiz, B., and I. Cakmak. 2011. Improved nitrogen status enhances zinc and iron concentrations both in the whole grain and the endosperm fraction of wheat. Journal of Cereal Science, 53(1): 118-125.

24-Brugière, N., Dubois, F., Limami, A. M., Lelandais, M., Roux, Y., Sangwan, R. S., and B. Hirel. 1999. Glutamine synthetase in the phloem plays a major role in controlling proline production. The Plant Cell, 11(10): 1995-2011.

25-Singh, B. K. 1998. Plant amino acids: biochemistry and biotechnology. CRC Press.

26-Dubois, F., Tercé-Laforgue, T., Gonzalez-Moro, M. B., Estavillo, J. M., Sangwan, R., Gallais, A., and B. Hirel. 2003. Glutamate dehydrogenase in plants: is there a new story for an old enzyme?. Plant Physiology and Biochemistry, 41(6-7): 565-576.

27-Alloway, B. 2008. Zinc in soils and crop nutrition. Brussels, Belgium and Paris, France: IZA and IFA.

28-Teixeira, W.F., Fagan, E.B., Soares, L.H., Umburanas, R.C., Reichardt, K., and D.D. Neto. 2017. Foliar and seed application of amino acids affects the antioxidant metabolism of the soybean crop. Frontiers in Plant Science, 8: 327. doi: 10.3389/fpls.2017.00327

29-Ashraf, M.R., and M. Foolad. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and experimental botany, 59(2): 206-216.

30-Hildebrandt, T.M., Nesi, A.N., Araújo, W.L., and P.H. Braun. 2015. Amino acid catabolism in plants. Molecular Plant, 8(11): 1563-1579.

31-Demiral, T., and I. Türkan. 2006. Exogenous glycinebetaine affects growth and proline accumulation and retards senescence in two rice cultivars under NaCl stress. Environmental and Experimental Botany, 56(1): 72-79.

32-Hu, L., Hu, T., Zhang, X., Pang, H., and J. Fu. 2012. Exogenous glycine betaine ameliorates the adverse effect of salt stress on perennial ryegrass. Journal of the American Society for Horticultural Science, 137(1): 38-46.

33-Gill, S.S., and N. Tuteja. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry, 48(12): 909-930.