

ارزیابی تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی دو رقم پسته (*Pistacia atlantica*)و (*Pistacia khinjuk*) در مواجهه باننش یخ زدگی تحت شرایط کنترل شدهحسین محمدی\*<sup>۱</sup>، سید حسین نعمتی<sup>۲</sup>

۱- مدیر جهاد کشاورزی، شهرستان کلات. ۲- سید حسین نعمتی، استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه فردوسی، مشهد

\*نویسنده مسئول: hmohamadi2828@gmail.com

## چکیده

سرما زمستان یکی از مهمترین عوامل محدود کننده کشت درختان میوه مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری است. این مطالعه با هدف بررسی و تعیین میزان مقاومت به سرما دو رقم پسته (*Pistacia atlantica* و *Pistacia khinjuk*) در مقابل یخ زدگی در شرایط کنترل شده به صورت فاکتوریل در پایه طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار انجام گرفت. دو رقم پسته بعد از قرار گرفتن در فریزر ترموگرادیان در سطوح دمایی (۰، -۵، -۱۰، -۱۵، -۲۰، -۲۵، -۳۰ درجه سانتی گراد) قرار داده شدند. جهت ارزیابی میزان تحمل جوانه های رویشی و زایشی پسته به تنش یخ زدگی از آزمون نشت الکترولیت از سلول های جوانه، تعیین دمای ۵۰ درصد کشندگی و میزان پرولین استفاده شد. بین دو رقم پسته از نظر نشت الکترولیت،  $LT_{50}$  و میزان پرولین اختلاف معنی داری (در سطح ۱٪) وجود داشت. با کاهش دمای یخ زدگی نشت الکترولیت از سلول های جوانه و میزان پرولین افزایش و  $LT_{50}$  کاهش یافت. *Pistacia khinjuk* تا دمای -۲۰ درجه سانتی گراد و *Pistacia atlantica* تا دمای -۲۵ درجه سانتی گراد را به خوبی تحمل کرد، میزان نشت یونی در *Pistacia khinjuk* بیشتر از *Pistacia atlantica* بود و میزان پرولین در *Pistacia atlantica* بیشتر از *Pistacia khinjuk* بود که نشان دهنده مقاومت کم *Pistacia khinjuk* به یخ زدگی نسبت به *Pistacia atlantica* است.

## مقدمه

یکی از اصلی ترین چالش های محیطی در رشد و توزیع گیاه تنش های ناشی از عوامل غیرزنده محیطی مثل یخ زدگی، خشکی و شوری است که منجر به نقصان آب سلول می شود (مجدی، ۱۳۸۴). میزان تحمل گونه های گیاهی به یخ زدگی در مراحل مختلف رشد متفاوت است. مدت سرما، شدت سرما، رطوبت خاک، چرخه های سازگاری، سن گیاهچه، مرحله نمو، نوع اندام، حداقل و حداکثر دمای دریافت کرده می توانند در تحمل به یخ زدگی یک گونه گیاهی موثر باشند و در این میان مدت سرما اثر بیشتری نسبت به شدت سرما دارد. (نظامی، ۱۳۸۹؛ سیم کش زاده، ۱۳۸۹). در طی دوره سازگاری با سرما تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی شامل افزایش سطح قندها، پروتئین های محلول، آنزیم های آنتی اکسیدانت، پرولین، کلروفیل فلورسانس، محتوی کلروفیل، ظهور ایزومرهای جدید پروتئین و تغییرات ترکیبات لیپیدی غشاء رخ می دهد (جهان بخش گره کهریز، ۱۳۹۰).

## مواد و روش ها

تعداد ۲۵ شاخه از ارقام *Pistacia atlantica* و *Pistacia khinjuk* به طول ۳۰ سانتی متر از سی ام مهر تا سی ام بهمن به فاصله زمانی هر ۳۰ روز از درختان بالغ منطقه زاگرس تهیه شد هر کدام از این شاخه ها دارای جوانه های رویشی و زایشی بودند. آزمایش به صورت فاکتوریل در پایه طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. دمای فریزر در شروع آزمایش ۱۰ درجه سانتیگراد بوده که پس از قرار دادن نمونه ها در آن دما با سرعت ۲ درجه سانتیگراد در هر ساعت کاهش یافت. به منظور ایجاد دمای تعادل در دمای نمونه ها در هر تیمار دمایی (۰، -۵، -۱۰، -۱۵، -۲۰، -۲۵، -۳۰ درجه سانتی گراد) به مدت ۱ ساعت از دمای فعلی به دمای جدید و ۱ ساعت در دمای جدید نگه داشته و سپس نمونه ها جهت جلوگیری از ذوب شدن سریع یخ نمونه ها به اتاقک سرد با دمای ۵ درجه منتقل و بمدت ۱۲ تا ۲۴ ساعت در آن نگهداری شدند.

## نشت یونی

بدین منظور مقدار ۰/۳ گرم از جوانه های زایشی و رویشی را به طور جداگانه در ارلن حاوی ۱۵ میلی لیتر آب ۲ بار تقطیر شده ریخته سپس لوله های آزمایش به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه شیکر در دمای اتاق قرار داده شد و پس از گذشت ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی اولیه به وسیله دستگاه هدایت سنج اندازه گیری شد. سپس لوله های آزمایش حاوی نمونه های گیاهی، جهت کشته شدن یاخته ها به اتوکلاو دمای ۸۰ درجه سانتی گراد به مدت یک ساعت انتقال داده شدند و برای بار دوم هدایت الکتریکی ثانویه نیز پس از سرد شدن محتویات داخل لوله آزمایش قرائت شد (آرین پویا و همکاران، ۱۳۸۶). مقادیر نشت الکتریکی از طریق رابطه زیر محاسبه می گردد:  $\text{نشت نسبی} = \frac{\text{نقطه اولیه}}{\text{نقطه نهایی}} \times 100$

### دمای ۵۰ درصد کشدگی

دمایی که سبب ۵۰ درصد نشت از سلول های گیاهی می شود به عنوان ۵۰ درصد کشدگی است. بدین منظور نمونه گیاهی پس از اعمال دمای یخ زدگی و اندازه گیری درصد نشت الکترولیت بعد از ۲۴ ساعت در صد بقاء آن مورد ارزیابی قرار می گیرد.

### پرولین

۰/۳ گرم جوانه رویشی و زایشی به طور جداگانه در هاون له و ۳ سی سی اتانول ۹۵٪ اضافه و به شدت تکان داده شد، رویه محلول جدا و در لوله آزمایش ریخته سپس در سانتریفیوژ با ۱۵۰۰ دور در دقیقه، ناخالصی آن جدا شد. ۱ میلی لیتر از عصاره الکلی با ۶ میلی لیتر آب ۲ بار تقطیر رقیق و ۳ میلی لیتر معرف نین هیدرین و ۳ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال به آن اضافه شد، مخلوط پس از به هم زدن ۴۵ دقیقه در بن ماری قرار گرفت و پس از سرد شدن ۶ میلی لیتر بنزن به نمونه ها اضافه و به شدت تکان داده شد تا پرولین وارد بنزن شود. نمونه ها به مدت ۳۰ دقیقه در سکون رها شدند، پرولین آزاد (میکرومول بر گرم) محاسبه شد (منصوری ده شعیی، ۱۳۹۰).

### نتایج و بحث

#### نشت یونی

بین دو رقم پسته از نظر درصد نشت الکترولیت اختلاف معنی دار در سطح ۱ درصد وجود دارد. با کاهش دما از ۰ تا ۳۰- درجه سانتی گراد درصد نشت یونی افزایش یافت، بیشترین میانگین نشت یونی در دمای ۲۵- درجه سانتی گراد از سلول های جوانه زایشی رقم *Pistacia khinjuk* در رقم *Pistacia atlantica* بیشترین میزان نشت یونی از سلول های جوانه زایشی در دمای ۳۰- درجه سانتی گراد مشاهده شد. میزان نشت یونی مربوط به جوانه های زایشی رقم *Pistacia khinjuk* است (جدول ۱). نمودار نشت الکترولیت ها در گونه های سرما دیده از آسیب کمتری برخوردار هستند (Cardona et al., 1997).

جدول ۱- اثر سطوح دمایی بر درصد نشت یونی جوانه های رویشی و زایشی *Pistacia khinjuk* و *Pistacia atlantica* در دوره رکود

۰ (درجه)	۵- (درجه)	۱۰- (درجه)	۱۵- (درجه)	۲۰- (درجه)	۲۵- (درجه)	۳۰- (درجه)		
سانتی گراد)	سانتی گراد)	سانتی گراد)	سانتی گراد)	سانتی گراد)	سانتی گراد)	سانتی گراد)		
۵/۹j	۸/۷۳z	۱۲/۸۵i	۲۴/۳۶	۵۲/۲۶e	۶۴/۱۳d	۶۵/۰۴d	<i>P. atlantica</i>	جوانه های زایشی
۱۵/۹i	۳۰/۴۴g	۵۰/۶۲e	۶۶/۱۲d	۸۰/۲۴b	۹۹/۷۵a	۸۲/۴۳b	<i>p. khinjuk</i>	
۳/۰۴j	۵/۷۳z	۹/۱۳z	۱۸/۶۶i	۳۹/۱۶g	۵۸/۳e	۶۰/۴۹d	<i>P. atlantica</i>	جوانه های رویشی
۱۰/۶۹i	۲۴/۹h	۳۹/۲۹g	۵۰/۲e	۶۸/۱d	۹۰/۳۸a	۷۹/۵۵c	<i>p. khinjuk</i>	

میانگین هایی که حروف مشترک دارند، در سطح یک درصد آزمون دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

ارزیابی  $LT_{50}$  و  $LT_{50ei}$  برای جوانه های زایشی *P. atlantica* در حدود ۲۵- درجه سانتی گراد و در جوانه های زایشی *P. khinjuk* در ۲۰- درجه سانتی گراد تعیین شد (جدول ۲). این دو دما ۵۰ درصد الکترولیت ها به خارج از سلول نشت کرده است. با کاهش دما،  $LT_{50ei}$  نیز کاهش یافت که در مورد جوانه های زایشی هر دو رقم این کاهش در دمای بالاتری گزارش شد. به سبب کاهش دما از ۰ درجه سانتی گراد به ۱۲- درجه سانتی گراد در گل داوودی، مرگ و میر افزایش یافت به طوری که در دمای ۱۲- درجه سانتی گراد اغلب گیاهان قادر به رشد مجدد نبودند (Kim and Anderson, 2006).

جدول ۲- اثر سطوح دمایی بر زنده ماندن جوانه های رویشی و زایشی *Pistacia atlantica* و *Pistacia khinjuk* در دوره رکود

درجه سانتی گراد	۰ (درجه سانتی گراد)	۵- (درجه سانتی گراد)	۱۰- (درجه سانتی گراد)	۱۵- (درجه سانتی گراد)	۲۰- (درجه سانتی گراد)	۲۵- (درجه سانتی گراد)	۳۰- (درجه سانتی گراد)
جوانه های زایشی <i>P. atlantica</i>	۱۰۰a	۱۰۰a	۱۰۰a	۷۵d	۳۵g	۰	۰
<i>p. khinjuk</i>	۱۰۰a	۱۰۰a	۱۰۰a	۵۵e	۰	۰	۰
جوانه های رویشی <i>P. atlantica</i>	۱۰۰a	۱۰۰a	۱۰۰a	۹۰b	۴۵f	۳۰g	۰
<i>p. khinjuk</i>	۱۰۰a	۱۰۰a	۱۰۰a	۸۰c	۲۰h	۰	۰

### پرویلین

نتایج مقایسه میانگین تغییرات پرویلین نشان داد که در جوانه های رویشی و زایشی هر دو رقم بیشترین میزان پرویلین در دمای ۳۰- درجه سانتی گراد و کمترین مقدار آن در دمای ۰ درجه سانتی گراد بوده است (جدول ۳). در تمامی دماها مقدار پرویلین در *P. khinjuk* کمتر از *P. atlantica* بوده است. مقدار پرویلین در *P. khinjuk* در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد افزایش ناگهانی داشته است و در *P. atlantica* از دمای ۲۵- درجه سانتی گراد میزان پرویلین افزایش یافته است. به نظر می رسد *P. khinjuk* با افزایش اسید آمینه پرویلین، سعی در حفظ پتانسیل آب بافت هایش دارد و در یک مقایسه می توان چنین گفت که نسبت به تنش سرما حساس تر باشد، ولی *P. atlantica* میزان اسید آمینه را در حد بالایی دارا می باشد که به نظر می رسد می تواند متحمل تر از *P. khinjuk* باشد. پرویلین از اسیدی شدن جلوگیری می کند و تنش سلولی را کاهش می دهد و تجمع آن در گیاهان ممکن است در پاسخ به تنش های زیستی و غیرزیستی ایجاد شود (Hare and Cress, 2004).

جدول ۳- اثر تیمارهای دمایی بر تغییرات میکرو مول بر گرم پرویلین جوانه های رویشی و زایشی *Pistacia khinjuk* و *Pistacia atlantica* در دوره رکود

درجه سانتی گراد	۰ (درجه سانتی گراد)	۵- (درجه سانتی گراد)	۱۰- (درجه سانتی گراد)	۱۵- (درجه سانتی گراد)	۲۰- (درجه سانتی گراد)	۲۵- (درجه سانتی گراد)	۳۰- (درجه سانتی گراد)
جوانه های زایشی <i>P. atlantica</i>	۰/۴۴i	۳/۷۳h	۱۰/۷۵gh	۲۴/۳۴g	۶۶/۴۱f	۱۵۱/۱۳de	۳۰۰/۵۵ab
<i>p. khinjuk</i>	۰/۰۳j	۰/۸۴i	۶/۶۲h	۱۲/۱۹gh	۴۰/۵۷fg	۱۱۴/۳۰e	۲۶۷/۳۹bc
جوانه های رویشی <i>P. atlantica</i>	۰/۷۴i	۵/۹۳h	۱۲/۱۳gh	۳۱/۰۹g	۷۸/۶۹f	۱۷۸/۲۰d	۳۱۳/۴۳a
<i>p. khinjuk</i>	۰/۱۹i	۱/۹hi	۹/۲۹h	۲۰/۲gh	۴۹/۸۷fg	۱۳۳/۴۰de	۲۸۵/۳۲b

میانگین هایی که حروف مشترک دارند، در سطح یک درصد آزمون دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

میزان پرویلین آزاد در بسیاری از گیاهان در عکس العمل به تنش های محیطی مانند تنش سرما و خشکی به مقدار زیادی افزایش می یابد و باعث تثبیت غشاء در هنگام تنش سرما می شود (حسینی، ۱۳۷۹). در ارتباط با تغییرات فصلی و سرد شدن هوا میزان اسید آمینه پرویلین افزایش می یابد و این افزایش به عنوان یک مکانیسم دفاعی در برابر خسارت سرما می باشد. همچنین استعمال خارجی

اسید آمینه پرولین در مواردی پاسخ‌های مثبتی به افزایش مقاومت در مقابل یخ‌زدگی را نشان داده است (منصوری‌ده‌شعبی و همکاران، ۱۳۹۰).

### منابع

۱. آراین‌پویا، ز.، داوری‌نژاد، غ. و عطاری، ش. ۱۳۸۶. بررسی حساسیت ارقام هلو و شلیل به سرمای زمستان ۱۳۸۶ مشهد. مجله علوم باغبانی. جلد ۲۳، شماره ۱: ۷۸-۸۷.
۲. جهانبخش‌گره‌کهریز، س.، کریم‌زاده، ق.، و رستگار، ف. ۱۳۸۸. تاثیر سرمای بهاره‌سازی بر برخی از صفات فیزیولوژیکی در دو رقم مقاوم و حساس گندم نان. مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی. جلد ۲: ۸۵-۱۰۶.
۳. حسینی، س. م. ۱۳۷۹. بررسی فیزیولوژیکی مقاومت به سرما در پنج رقم پسته رفسنجان. پایان نامه کارشناسی ارشد گروه زیست‌شناسی. دانشگاه شهید باهنر.
۴. سیم‌کش‌زاده، ن.، مبلی، م.، اعتمادی، ن. و بانی‌نسب، ب. ۱۳۸۹. ارزیابی میزان مقاومت به سرما در برخی از ارقام زیتون با اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل و آسیب‌های ظاهری. نشریه علوم باغبانی. جلد ۲۴، شماره ۲: ۱۶۳-۱۶۹.
۵. مجدی، م. و عبد‌الهی، م. ۱۳۸۴. مکانیسم بیولوژیکی پاسخ به تنش سرمایی در گیاهان از دیدگاه مولکولی. مجله پژوهش‌های زراعی ایران، جلد ۸، شماره ۲، (در دست چاپ).
۶. منصوری‌ده‌شعبی، ر.، داوری‌نژاد، غ.، حکم‌آبادی، ح. و تهرانی‌فر، ع. ۱۳۹۰. ارزیابی تغییرات پرولین، پروتئین کل و قندهای محلول در طی مراحل فنولوژی جوانه گل ارقام پسته. نشریه علوم باغبانی، جلد ۲۵، شماره ۲: ۱۱۶-۱۲۱.
۷. نظامی، ا.، رضایی، ج. و علیزاده، ب. ۱۳۸۹. ارزیابی تحمل به تنش سرما در چند گونه علف چمنی با استفاده از آزمون نشت الکترولیت‌ها. نشریه آب و خاک، جلد ۲۴، شماره ۵: ۱۰۱۹-۱۰۲۶.
8. Cardona, C.A., Duncan, R.R. and Lindstrom, O. 1997. Low temperature tolerance assessment in Paspalum. Crop Science. 37: 1283-1291.
9. Hare, P.D. and Cress, W.A. 2004. Implications of stress induced proline accumulation in plant. African Journal of Biotechnology, 9(7): 1008-1015.
10. Kim, D.C. and Anderson, N.O. 2006. Comparative analysis of laboratory freezing methods to establish cold tolerance of detached rhizomes and intact crowns in garden chrysanthemums. Scientia Horticulture, 109: 345-352.

### Evaluation of Biochemical and Physiological Variation of *Pistacia khinjuk* and *Pistacia atlantica* in Face of Freezing Stress Under Controlled Condition

H.Mohamadi<sup>1\*</sup>, H.Nemati<sup>2</sup>

1-Agriculture management. 2-Associate Professor, Dep. of Horticultural Science, Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad.

\*Corresponding author: hmohamadi2828@gmail.com

#### Abstract

The winter cold is one of the restrict factors for cultivation of tropical and subtropical fruits. This study was conducted to determine the freezing tolerance of *Pistacia atlantica* and *Pistacia khinjuk* under controlled condition as a factorial complete randomized design (RCD) with three replications and 7 freezing temperatures (0, -5, -10, -15, -20, -25, -30 C°). For investigate the freezing tolerance of vegetative and floral buds of *Pistacia atlantica* and *Pistacia khinjuk* leakages (EL), proline and LT<sub>50</sub> were measured. The results showed that there was a significant different (at the 0.01 level) on *Pistacia atlantica* and *Pistacia khinjuk* between Electrolyte leakages (EL), proline and LT<sub>50</sub>. With decrease of freezing temperature the Electrolyte leakages (EL) and also the proline content were increased.

*Pistacia atlantica* and *Pistacia khinjuk* could tolerate the  $-25\text{ C}^{\circ}$  and  $-20\text{ C}^{\circ}$  respectively. The Electrolyte leakages(EL), in *Pistacia khinjuk* was more than *Pistacia atlantica*, but the proline content was less. This was showed that the tolerance of *Pistacia atlantica* was more than *Pistacia khinjuk*.

**Key words:** Biochemical of Pistacia, Physiological of Pistacia, Freezing Stress, Chilling Stress

