زیست‌شناسی گیاهی، سال پنجم، شماره پانزدهم، بهار ۱۳۹۲، صفحه ۹۵-۱۱۰
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۰۲/۲۳
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۱/۰۵/۰۸
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۱/۰۶/۱۴

مطالعه اثر پایه و رقم در فعالیت آنزیم PAL، تولید ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در گل، برگ و میوه گیاه پسته (*Pistacia vera* L.)

نازی نادرنژاد [1*]، علی احمدی مقدم [1]، سید جواد حسینی فرد [2] و شهرام پورسیدی [3]
[1] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران
[2] بخش تحقیقات آبیاری و تغذیه، مؤسسه تحقیقات پسته کشور، رفسنجان، ایران
[3] بخش مهندسی زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

چکیده
در این تحقیق، نمونه‌برداری از برگ، گل، پوست میوه (در زمان رسیدگی) و مغز دانه با همکاری مرکز تحقیقات پسته از دو پایه اهلی و موتیکا و سه رقم احمد آقایی، اوحدی، کله‌قوچی انجام شد و نمونه‌ها از نظر فعالیت آنزیم PAL، ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانین‌ها برای تعیین شاخص‌ترین پایه و رقم بررسی شدند. افزایش فعالیت آنزیم PAL، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها و همچنین، همبستگی مثبت بین فعالیت آنزیم و ترکیبات موجود در برگ‌ها و گل‌های پایه موتیکا-احمد آقایی، اثر متقابل این پایه و رقم و مقاومت بیشتر را نسبت به پایه و رقم‌های دیگر، در تنش‌های محیطی نشان داد. فعالیت آنزیم PAL و محتوای کل فنلی با رسیدگی میوه در نمونه‌ها کاهش یافت، اما سطح بالای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در پوست میوه پسته پتانسیل حفاظتی پوست را در برابر اشعه ماوراءبنفش و آفات نشان می‌دهد که در پایه موتیکا-احمد آقایی بیشترین مقدار آن مشاهده شد. وجود ترکیبات فنلی در مغز دانه به فعالیت PAL بستگی دارد. نتایج، وجود برخی ترکیبات فعال زیستی را در مغز پسته نشان‌می‌دهد که بیشترین مقدار متعلق به پایه موتیکا-احمد آقایی است. به نظر می‌رسد نوع پایه در محتوای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در مغز پسته مؤثر است.

واژه‌های کلیدی: پایه، پسته، ترکیبات فنلی، تنش محیطی، رقم، فعالیت آنزیم PAL

مقدمه
فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، تانن‌ها، هیدروکسی سینامیک استرها و لیگنین‌ها از ترکیبات فنلی و جزو متابولیت‌های ثانویه حاصل از مسیر فنیل پروپانوئید هستند که در بافت‌های گیاهی به وفور یافت می‌شوند. آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) آغازگر مسیر فنیل پروپانوئید است که L-فنیل آلانین را با دآمیناسیون به ترانس سینامیک اسید تبدیل می‌کند. این، مسیر اصلی

*نویسنده مسؤول: نشانی پست الکترونیک: nnadernejad@uk.ac.ir، شماره تماس: ۰۳۴۱۳۲۲۲۰۳۲

بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در سلول است. این آنزیم کلیدی در تشکیل ترکیبات فنلی (یکی از مکانیسم‌های دفاعی غیر آنزیمی درگیاهان) نقش اساسی داشته، به عنوان یکی از شاخص‌های حساس به تغییرات محیطی و همچنین، یکی از نشانگرهای بیوشیمیایی دفاعی گیاه در برابر تنش‌های محیطی مطرح می‌شود (Boudet, 2007; Vogt, 2010). ترکیبات فنلی در شرایط مطلوب محیطی نیز در سلول‌های گیاهی سنتز می‌شوند، با وجود این، تنش‌های محیطی مختلف مقدار آنها را در سلول تغییر می‌دهند (Kliebenstein, 2004). این ترکیبات از شواهد فیزیولوژیک ارزشمند در تعیین اختلاف واریته‌های مختلف به شمار می‌روند و استفاده از روش‌های بیوشیمیایی در تشخیص تفاوت ژنتیکی رقم‌ها، نقش کلیدی این ترکیبات را در اثر متقابل گیاه و محیط نشان می‌دهد (Tattini *et al.*, 2006). فلاونوئیدها گروه بزرگی از ترکیبات فنلی موجود در گیاهان هستند که در تنش‌های محیطی با افزایش فعالیت آنزیم PAL تولید آنها افزایش می‌یابد (Myung-Min *et al.*, 2009). این ترکیبات با اسکلت ساختمانی اصلی C6-C3-C6 و ایجاد متیلاسیون، گلیکوزیلاسیون و آسیلاسیون گروه‌های متنوع زیادی از جمله چالکون‌ها، فلاوون‌ها، فلاونول‌ها، آنتوسیانین‌ها و ... تولید می‌کنند. تشکیل حلقه A و C در ساختمان فلاونوئیدها توسط آنزیم کلیدی چالکون‌سنتاز (CHS) و چالکون ایزومراز (CHI) انجام می‌شود. همچنین، آنزیم دی هیدرو فلاونول-ردوکتاز (DFR) واکنش تشکیل آنتوسیانین‌ها را از فلاونول‌ها ایجاد می‌کند (Vogt, 2010). مطالعات انجام شده نقش اکوفیزیولوژی این ترکیبات را در حفاظت از گیاهان در برابر تنش‌های محیطی نشان می‌دهد (Nicolva and Ivancheva, 2005). ترکیبات فنلی دارای ویژگی آنتی‌اکسیدانی هستند که با جمع‌آوری و احیای گونه‌های فعال اکسیژن از اکسیداسیون متابولیت‌های حیاتی سلول پیشگیری کرده، مانع بروز تنش اکسیداتیو در سلول‌های گیاه می‌شوند (Rice-Evans *et al.*, 1997; Myung-Min *et al.*, 2009).

پسته، گیاهی است که در شرایط آب و هوای گرم و خشک و نیمه کویری ایران به خوبی رشد می‌کند و در مقابل خشکی هوا و کم‌آبی مقاوم است. در ایران ارقام متفاوت پسته وجود دارد که از مهم‌ترین آنها می‌توان به اکبری، کله‌قوچی، احمد آقایی، اوحدی و شاه‌پسند اشاره نمود (شیبانی، ۱۳۷۳). در مناطق پسته‌کاری ایران از سه گونه پسته اهلی، بنه و خنجک به عنوان پایه استفاده می‌شود. این که آیا پایه‌های مختلف در رشد، وضعیت جذب عناصر، مقاومت به شوری و تولید میوه پیوندک را تحت تأثیر قرار می‌دهد یا نه، مسأله انتخاب پایه را به یکی از مهم‌ترین مسائل برای احداث باغ پسته تبدیل نموده است (شیبانی، ۱۳۷۳؛ فرگوسن، ۱۳۷۸). بررسی‌های انجام گرفته در گیاه پسته نشان داده است که پایه‌های مختلف در رشد، وضعیت جذب عناصر، عملکرد، مقاومت به شوری، سرما، تولید میوه پیوندک تأثیر دارند (Kaksa *et al.*, 2002). همچنین، مطالعات پیشین نشان داده‌اند که در پوست میوه پسته ترکیبات فنلی وجود دارد (Goli *et al.*, 2005). ویژگی‌های پایه‌های مختلف می‌تواند در بازده پایه برای ساخت بیشتر هورمون‌های تنشی، پروتئین‌ها و برخی ترکیبات خاص (ترکیبات فنلی) برای مقاومت به تنش‌های محیطی، مؤثر باشد (Satisha *et al.*, 2007). بنابراین، با توجه به اهمیّت پایه در تولید

محصول و مقاومت نسبی گیاه پسته در برابر تنش‌های محیطی و همچنین، اهمیّت فعالیت آنزیم PAL و ترکیبات فنلی در ایجاد مقاومت گیاهان به تنش‌ها، هدف این پژوهش، بررسی میزان فعالیت آنزیم PAL و تولید ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانینی به عنوان ترکیبات مهم آنتی‌اکسیدانی در سه رقم تجاری (اوحدی، کله‌قوچی و احمد آقایی) روی دو پایه (اهلی و موتیکا) و مقایسه پایه‌ها در تولید ترکیبات مورد نظر در گل، برگ و پوست میوه رقم‌ها و معرفی بهترین پایه و رقم از نظر تولید این ترکیبات در ایجاد مقاومت به تنش‌های محیطی است. به علاوه، با توجه به اهمیّت تجاری و اقتصادی مغز پسته و تأثیر پایه در کیفیت مغز و نقش ترکیبات فنلی (ترکیبات فعال زیستی) مغز پسته در تغذیه انسان، بررسی این ترکیبات در مغز ارقام و پایه‌های مختلف پسته ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها

برای انجام پژوهش، از قطعه باغ پسته‌ای در ایستگاه شماره ۲ مؤسسه تحقیقات پسته کشور واقع در رفسنجان استفاده شد. در این قطعه ارقام تجاری شامل احمد آقایی (*P.vera* cv. Ahmadaghai)، اوحدی (*P.vera* cv. Ohadi) و کله‌قوچی (*P. vera* cv. Kallehghuchi) پسته روی د پایه مختلف شامل پایه اهلی (*P. vera* cv. Badami riz) و بنه (*P. atlantica* sub sp. *mutica*) پیوند شده است. سن درختان در زمان نمونه‌برداری حدود ۱۵ سال بود. فاصله درختان روی ردیف ۴ متر و فاصله بین ردیف درختان ۷ متر بود. نمونه‌برداری از گل (در فروردین‌ماه)، برگ (در تیر ماه)، پوست میوه در سه مرحله پوست سبز (تیر ماه)، پوست سبز-قرمز (مرداد ماه)، پوست قرمز (اوایل شهریور ماه) و مغز میوه (اواخر شهریور ماه) و در زمان برداشت محصول) انجام شد. نمونه‌های گیاهی به قطعات ریز خُرد و پس از منجمد کردن در نیتروژن مایع در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند تا در مراحل بعدی استفاده شوند.

سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) (EC 4. 3. 1. 5) .

سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز با استفاده از سینامیک اسید تولید شده با روش Wang و همکاران (۲۰۰۶) و بر اساس غلظت و میزان سینامیک اسید تولید شده انجام شد. بدین منظور ۳۰۰ میلی‌گرم از بافت تر نمونه‌ها با ۶/۵ میلی‌لیتر بافر تریس HCl^- (اسیدیته ۸/۸، ۵۰ میلی‌مولار) حاوی بتا مرکاپتواتانول (۱۵ میلی‌مولار) در هاون سرد شده ساییده شد. عصاره به دست آمده با دور g۵۰۰۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ (Eppendorf 5804R Germany) شد. محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده شد. در این روش، از فنیل آلانین به عنوان سوبسترای آنزیمی استفاده و فعالیت آنزیم PAL بر اساس سرعت تشکیل سینامیک اسید تعیین شد. در لوله آزمایش یک میلی‌لیتری از بافر استخراج به همراه ۰/۵ میلی‌لیتر L-فنیل آلانین (۱۰ میلی‌مولار)، ۰/۴ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر و یک میلی‌لیتر عصاره آنزیمی مخلوط و به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری شد. واکنش با اضافه کردن ۰/۵ میلی‌لیتر کلریدریک اسید (۶ مولار) پایان یافت. محصول به وجودآمده با ۱۵ میلی‌لیتر اتیل استات استخراج و سپس اتیل استات بخار شد. ماده جامد باقیمانده در ۳ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم (۰/۰۵ مولار) حل شد و غلظت سینامیک اسید با اندازه‌گیری میزان جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر و با استفاده از

فرمول $A=\varepsilon bc$ به دست آمد و ضریب خاموشی معادل $9500\ M^{-1}cm^{-1}$ در نظر گرفته شد. یک واحد از فعالیت PAL معادل یک میکرومول از سینامیک اسید تولید شده در یک دقیقه است.

سنجش مقدار پروتئین

برای سنجش مقدار پروتئین، ابتدا پروتئین‌ها از نمونه‌های گیاهی در دمای صفر تا ۴ درجه سانتیگراد استخراج شدند. به این منظور یک گرم بافت تر در یک هاون چینی محتوای ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷/۲ سایيده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ یخچال‌دار در ۱۴۰۰۰g و دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار گرفت. از محلول رویی برای سنجش پروتئین استفاده شد. سنجش مقدار پروتئین با روش Bradford (۱۹۷۶) انجام شد. به این منظور، به لوله‌های آزمایش مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره پروتئینی و ۵ میلی‌لیتر معرف بیوره افزوده، سریعاً مخلوط شد. پس از ۲ دقیقه و پیش از یک ساعت جذب آنها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد و غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد آلبومن گاوی محاسبه و بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد.

سنجش ترکیبات فنلی کل

سنجش محتوای ترکیبات فنلی کل با روش Velioglu و همکاران (۱۹۹۸) انجام شد. ۰/۱ گرم از نمونه‌ها با ۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد حاوی کلریدریک اسید یک درصد ساییده، به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق روی شیکر عصاره‌گیری کامل شد. سپس، مخلوط حاصل در ۳۰۰۰g سانتریفیوژ و از محلول رویی برای تعیین ترکیبات فنلی کل استفاده شد. به ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رویی ۷۵۰ میکرولیتر معرف فولین افزوده، مخلوط حاصل به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس ۷۵۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۶ درصد به آن اضافه شد. پس از ۹۰ دقیقه، جذب هر نمونه در طول موج ۷۲۵ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت ترکیبات فنلی کل با استفاده از گالیک اسید منحنی استاندارد رسم شد و غلظت ترکیبات فنلی بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر گزارش شد.

سنجش فلاونوئیدهای کل

سنجش فلاونوئیدهای کل با روش آلومینیوم کلرید کالریمتری Zhishen و همکاران (۱۹۹۹) انجام شد. ۰/۱ گرم از نمونه‌های گیاهی در ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به خوبی ساییده، عصاره حاصل در دور ۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد. محلول رویی برای آزمایش‌های بعدی استفاده شد. ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره با آب مقطر به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانیده شد. ۳۰۰ میکرولیتر سدیم نیتریت ۵ درصد پس از ۵ دقیقه، ۶۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد به محلول اضافه شد. پس از ۶ دقیقه ۲ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم یک مولار به همراه ۲ میلی‌لیتر آب مقطر به محلول اضافه شد. شدت جذب محلول در طول موج ۵۱۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت فلاونوئیدهای کل با استفاده از روتین منحنی استاندارد رسم شد و غلظت فلاونوئیدها بر حسب میلی‌گرم روتین (کوئرستین ۳-روتینوزید) در ۱۰۰ گرم وزن تر ارایه شد.

سنجش آنتوسیانین

از روش Wagner (۱۹۷۹) برای اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانینی نمونه‌ها استفاده شد. ۰/۱ گرم از نمونه گیاهی را در هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی

(متانول خالص و کلریدریک اسید خالص به نسبت حجمی ۹۹:۱) کاملاً ساییده و عصاره در لوله‌های آزمایش سرپیچ‌دار ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرار گرفت. سپس، به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰g سانتریفیوژ و جذب محلول بالایی در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محاسبه غلظت با استفاده از فرمول $A=\varepsilon bc$ و ضریب خاموشی $33000\ M^{-1}cm^{-1}$ انجام و نتایج بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر ارایه شد.

تحلیل داده‌ها

بررسی پایه و رقم و اثر متقابل آنها روی صفات مورد مطالعه در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۳ تکرار و به صورت اسپلیت پلات (split plot) انجام شد. در این پژوهش، رقم به عنوان عامل اصلی و پایه به عنوان عامل فرعی انتخاب شد. تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۲ انجام شد و میانگین‌های حاصل با استفاده از آزمون دانکن با اطمینان ۹۵ و ۹۹ درصد مقایسه و نمودارها با نرم‌افزار Excel رسم شد.

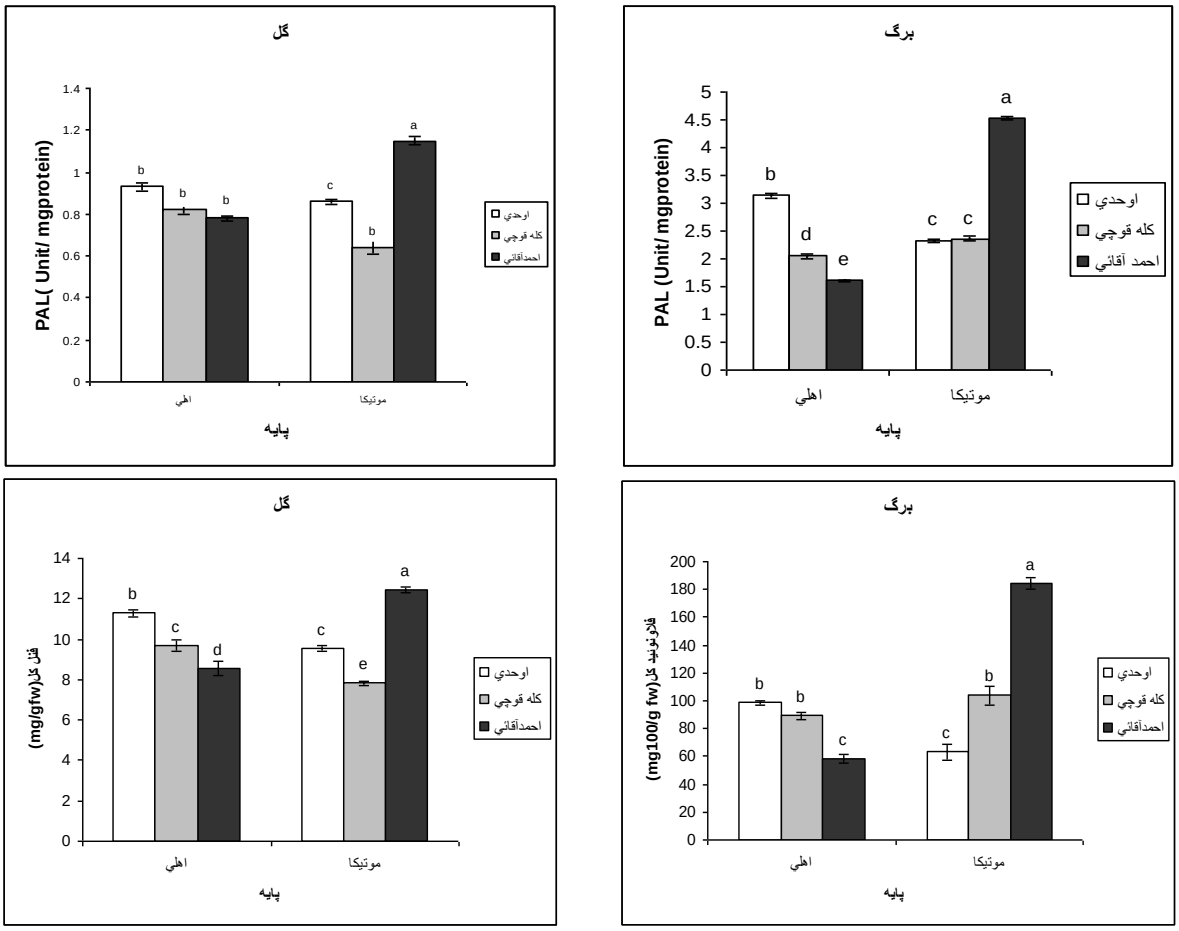
نتایج

مقایسه میانگین های اثر متقابل پایه و رقم بر فعالیت آنزیم PAL نشان داد که در سطح احتمال ۱ درصد بیشترین مقدار این آنزیم در گل‌های موتیکا-احمد آقایی تولید شده است. گر چه فعالیت این آنزیم در گل‌های سه رقم مورد مطالعه در پایه اهلی تفاوت معنی‌داری نشان نداد. در حالی که فعالیت این آنزیم در برگ‌های موتیکا-احمد آقایی و اهلی-اوحدی بیشترین مقدار بود (شکل ۱).

مقایسه میانگین های اثر متقابل پایه و رقم بر ترکیبات فنلی کل، بیانگر این است که در سطح احتمال ۱ درصد مقدار این ترکیبات در گل‌های موتیکا-احمد آقایی و اهلی-اوحدی به بیشترین میزان خود رسید، در حالی که بیشترین مقدار ترکیبات فنلی کل برگ در موتیکا-احمد آقایی و در اهلی-کله‌قوچی تولید شده است. به بیان دیگر، بالاترین مقدار این ترکیبات در برگ‌ها و گل های پایه موتیکا و رقم احمد آقایی نسبت به سایر پایه‌ها و رقم‌ها مشاهده شد (شکل ۱).

مقایسه میانگین های اثر متقابل پایه و رقم بر ترکیبات فلاونوئیدی نشان داد که در سطح احتمال ۱ درصد بیشترین مقدار فلاونوئید کل درگل‌های اهلی-اوحدی و در برگ‌های موتیکا-احمد آقایی وجود دارد. همچنین، مقایسه میانگین‌های اثر متقابل پایه و رقم در محتوای آنتوسیانین در برگ‌ها و گل‌ها حکایت از وجود بیشترین مقدار آن در پایه اهلی و رقم اوحدی داشت (شکل ۲).

بررسی ضرایب همبستگی صفات مورد مطالعه نشان داد که در گل، همبستگی مثبت بین فعالیت آنزیم PAL و ترکیبات فنلی کل با ضریب ($r=0/96^{**}$) و فعالیت آنزیم PAL و فلاونوئیدها با ضریب ($r=0/98^{**}$) وجود دارد. همچنین، در برگ همبستگی مثبت بین فعالیت آنزیم PAL و ترکیبات فنلی کل با ضریب ($r=0/97^{**}$) و فعالیت آنزیم PAL و فلاونوئیدها با ضرایب ($r=0/94^{**}$) دیده شد. اگر چه همبستگی بین محتوای آنتوسیانین و فعالیت PAL در پایه موتیکا منفی ($r=0/98^{**}$) و در پایه اهلی مثبت ($r=0/95^{**}$) بود.



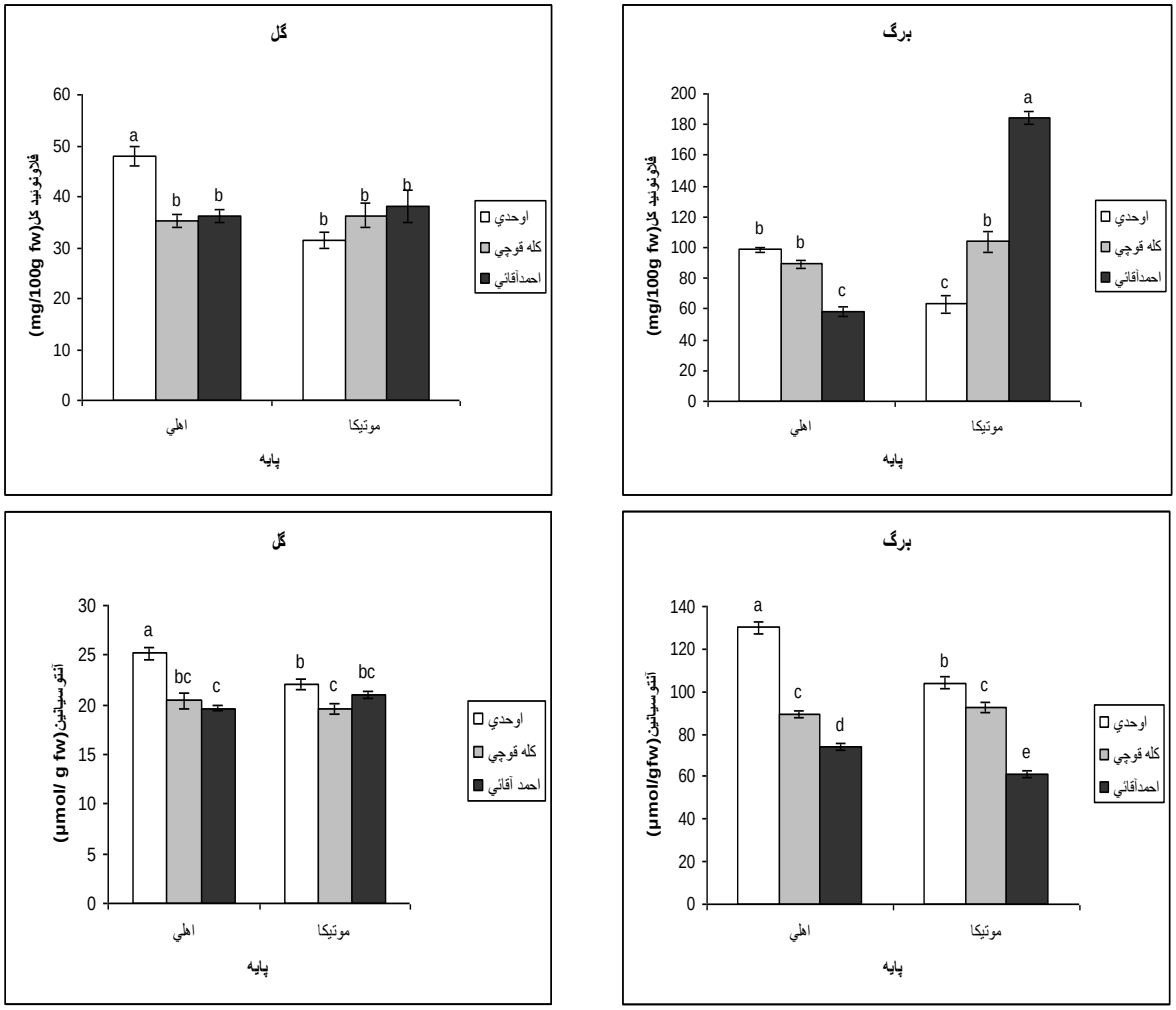
شکل ۱-فعالیت آنزیم PAL و ترکیبات فنلی کل در گل و برگ دو پایه و سه رقم اوحدی، کله‌قوچی و احمد آقایی. مقادیر میانگین ۳تکرار ± SE. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq 0.01$ است.

مقایسه میانگین های اثر متقابل پایه و رقم بر فعالیت آنزیم PAL و ترکیبات فنلی کل در پوست میوه (سه مرحله: پوست سبز، پوست سبز-قرمز، پوست قرمز) و مغز دانه نشان داد که در سطح احتمال ۱ درصد در هر مرحله بیشترین میزان فعالیت آنزیم و ترکیبات فوق به موتیکا-احمد آقایی و اهلی-اوحدی تعلق داشت و حکایت از سیر نزولی مقادیر فعالیت آنزیم PAL و ترکیبات فنلی کل به ترتیب از مرحله پوست سبز (جدول ۱)، پوست سبز-قرمز(جدول ۲) و پوست قرمز (جدول ۳) در طول دوره رسیدگی میوه داشت.

بررسی فلاونوئیدها در پوست نشان داد علی‌رغم سیر نزولی این صفت در هر سه مرحله، مقادیر متفاوتی از آن در دو پایه مورد مطالعه وجود داشت. به علاوه، بررسی محتوای آنتوسیانین سیر صعودی مقادیر این صفت را به ترتیب از مرحله سبز تا قرمز نشان داد که بیشترین مقدار آن متعلق به اهلی-اوحدی بود (جدول‌های ۱، ۲ و ۳).

مقایسه میانگین های اثر متقابل پایه و رقم بر فعالیت آنزیم PAL، ترکیبات فنلی کل، فلاونوئیدهای کل و آنتوسیانین نشان داد که در سطح احتمال ۱ درصد بیشترین مقدار در فعالیت آنزیم PAL، ترکیبات فنلی کل در مغز دانه موتیکا-احمد آقایی وجود داشت که حکایت از

وجود بیشترین مقدار این ترکیبات در موتیکا-احمد آقایی داشت و پایه اهلی و رقم اوحدی در رتبه پس از آن قرار گرفت (جدول ۴). همچنین، بیشترین مقدار ترکیبات فلاونوئیدی در مغز دانه متعلق به موتیکا-احمد آقایی و اهلی-کله‌قوچی بود و بیشترین مقدار محتوای آنتوسیانینی در اهلی-اوحدی به دست آمد (جدول ۴).



شکل ۲- ترکیبات فلاونوئیدی کل، محتوای آنتوسیانین در دو پایه و سه رقم اوحدی، کله‌قوچی و احمد آقایی. مقادیر میانگین ۳تکرار ± SE. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq 0.01$ است

بحث

مطالعات نشان می‌دهد در گیاهان پایه و پیوند آسیب اکسیداتیو کمتر و سطح پایین ROS ناشی از وجود ترکیبات و آنزیم‌هایی با خاصیت خورندگی ROS است (Martínez-Ballesta *et al.*, 2010). Sobhana و همکاران (۲۰۰۰) مشاهده کرده‌اند که پایه‌هایی با خاستگاه ژنتیکی متفاوت روی الگوهای آیزوزیمی آنزیم‌های موجود در تنش اکسیداتیو در پیوندهای گیاه هوآ (*Hevea* sp.) نقش دارند. گزارش‌ها گویای آن است که پایه‌های متفاوت عناصر ویژه‌ای را ترجیح می‌دهند که می‌توانند در ساخت ترکیبات ویژه در انواع تنش‌ها مؤثر باشد به طوری که عناصر غذایی کم مصرف

به صورت کوفاکتور در ساختن ترکیبات بیوشیمیایی مانند آنزیم‌های گوناگون، هورمون‌های گیاهی، پروتئین‌ها و به ویژه ترکیبات فنلی در گیاهان شرکت می‌کنند (Sobhana *et al.*, 2000; Satisha *et al.*, 2007). He و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند اختلاف در ژنوتیپ پایه و نوع آن در مقاومت گیاه به تنش محیطی مؤثر است. به علاوه، گزارش‌ها همبستگی بین فعالیت آنزیم PAL و تجمع ترکیبات فنلی در برگ‌های هیبرید گیاه ذرت در تنش خشکی و فعالیت دفاعی این ژنوتیپ را در مقاومت به خشکی نشان می‌دهد (Hura *et al.*, 2008). در این تحقیق فعالیت بالای آنزیم PAL و ترکیبات فنلی و همچنین، همبستگی مثبت بین فعالیت این آنزیم و فنل کل در برگ‌ها و گل‌های پایه موتیکا- احمد آقایی نسبت به پایه اهلی و دیگر رقم‌ها می‌تواند اثر متقابل این پایه و رقم در مقاومت بیشتر در برابر تنش‌های محیطی نسبت به پایه اهلی و رقم‌های دیگر را آشکار سازد. Orazem و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند ژنوتیپ پایه در تولید مقدار و نوع ترکیبات فنلی مؤثر است. همچنین، گزارش‌ها نشان می‌دهد که ترکیبات فنلی در مهار و کاهش اتواکسیداسیون لیپیدها و خاموش کردن اکسیژن یکتایی، به عنوان آنتی‌اکسیدان ضروری برای دفاع در برابر گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) عمل می‌نمایند (Ksouri *et al.*, 2007). بر اساس نتایج موجود به نظر می‌رسد مقاومت بیشتر پایه موتیکا-احمد آقایی با افزایش فعالیت سطح PAL و ترکیبات فنلی کل که به عنوان آنتی‌اکسیدان ضروری برای حفاظت در برابر ROS است، می‌تواند با تفاوت ژنتیکی دو پایه مشخص شود.

Cheng و همکاران (۲۰۰۵) نشان داده‌اند که آنزیم PAL در تشکیل فلاونوئیدها اثر مستقیم دارد و طول موج‌های بلند نور فعالیت PAL و CHS (نخستین آنزیم در مسیر بیوسنتزی فلاونوئیدها) و تجمع فلاونوئیدها را افزایش می‌دهد. همچنین، گیاهان جهش‌یافته‌ای که فاقد ژن‌های آنزیم CHS هستند قادر به تجمع فلاونوئیدها نبوده، نسبت به تنش اکسیداتیو حساس هستند (Shao *et al.*, 2007). در این مطالعه، وجود بیشترین میزان فعالیت PAL و فلاونوئید کل و همچنین همبستگی مثبت بین فعالیت این آنزیم و فلاونوئید کل در برگ‌های پایه موتیکا-احمد آقایی نسبت به پایه اهلی و رقم‌های مورد مطالعه نشان داد، بر اساس وجود فرضیه عمل حفاظتی فلاونوئیدها در برابر تنش‌ها و نقش آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات در افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌ها (Shao *et al.*, 2007)، به نظر می‌رسد تجمع فلاونوئیدها در برگ‌های پایه موتیکا-احمد آقایی نسبت به گیاهان دیگر می‌تواند به مقاومت بیشتر این گیاه در برابر تنش‌ها کمک کند. Rodríguez و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کرده‌اند در گوجه گیلاسی افزایش ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و ظرفیت القا مقاومت پایه نسبت به تنش‌ها، به ژنوتیپ اندام‌های هوایی بستگی دارد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد پایه اهلی-اوحدی از نظر مقدار ترکیبات فنلی و فعالیت PAL در گل و برگ پس از پایه موتیکا-احمد آقایی در رتبه دوم قرار دارد و فقط در مقدار فلاونوئیدهای گل در پایه اهلی-اوحدی بیشترین مقدار را نشان داد که به نظر می‌رسد در این گیاه افزایش مقدار فلاونوئیدها می‌تواند به ژنوتیپ رقم مرتبط باشد.

جدول ۱- مقادیر میانگین صفات مورد مطالعه با ۳ تکرار ± SE در پوست سبز پسته (تیر ماه). حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0.01$ است.

پایه-رقم	PAL (U/mg protein)	ترکیبات فنلی (mg/gfw)	فلاونوئید کل (mg/100gfw)	آنتوسیانین (µmol/gfw)
موتیکا-اوحدی	۱/۸۶ ± ۰/۰۲ b	۲۸/۶۸ ±۰/۳۲ c	۳۸/۹۰ ±۰/۱ a	۷/۰۵± ۰/۱۳ b
موتیکا-کله‌قوچی	۲/۱۵ ± ۰/۰۲ a	۲۹/۴ ± ۰/۶ c	۳۲/۸۷ ± ۰/۱۶ c	۷/۲۷ ±۰/۱ a
موتیکا-احمد آقایی	۲/۳۱ ± ۰/۰۵ a	۳۹/۱۲ ±۰/۲۸ a	۳۰/۳۳± ۰/۱۴ d	۶/۵۱± ۰/۰۷ c
اهلی-اوحدی	۱/۸۲ ± ۰/۰۵ b	۳۶/۱۳ ± ۰/۲۸ b	۳۶/۲۰ ± ۰/۱۹ b	۷/۶۶± ۰/۰۲ a
اهلی-کله‌قوچی	۱/۵۶ ± ۰/۰۱ c	۲۹/۸۲ ± ۰/۲۱ c	۳۲/۶۷ ± ۰/۲۵ c	۷/۳۵ ± ۰/۰۵ ab
اهلی-احمد آقایی	۱/۳۸ ± ۰/۰۳ d	۲۸/۸۶ ± ۰/۳۲ c	۳۵/۶۸± ۰/۱۶ b	۶/۱۰ ± ۰/۰۷ d

جدول ۲- مقادیر، میانگین صفات مورد مطالعه با ۳ تکرار ± SE در پوست سبز-قرمز پسته (مرداد ماه). حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0.01$ است.

پایه-رقم	PAL (U/mg protein)	ترکیبات فنلی (mg/gfw)	فلاونوئید کل (mg/100gfw)	آنتوسیانین (µmol/gfw)
موتیکا-اوحدی	۱/۷۴ ± ۰/۰۲ a	۲۶/۸۶ ± ۰/۳۲ b	۳۰/۹۰ ± ۰/۱۴ c	۱۷/۰۵ ± ۰/۱۳ d
موتیکا-کله‌قوچی	۱/۴۳ ± ۰/۰۳ b	۲۴/۲ ± ۰/۳۱ c	۳۴/۹۷ ± ۰/۱۶ b	۱۷/۷۵ ± ۰/۱ c
موتیکا-احمد آقایی	۱/۷۹ ± ۰/۰۵ a	۲۹/۳۲ ± ۰/۳۸ a	۲۸/۳۰ ± ۰/۱۴ e	۱۶/۶۵ ± ۰/۱۶ e
اهلی-اوحدی	۱/۵۸ ± ۰/۰۳ C	۲۴/۴۸ ± ۰/۲۲ C	۲۸/۱۲ ± ۰/۳۲ e	۲۰/۲۴ ± ۰/۱۴ a
اهلی-کله‌قوچی	۱/۴۵ ± ۰/۰۳ b	۲۴/۲۱ ± ۰/۲۳ C	۳۱/۰۲ ± ۰/۲۱ d	۱۸/۸۲ ± ۰/۱۵ b
اهلی-احمد آقایی	۱/۲۸ ± ۰/۰۱ d	۱۸/۷۱ ± ۰/۱۸ d	۳۹/۴۱ ± ۰/۲۴ a	۱۷/۷۳ ± ۰/۱ c

جدول ۳-مقادیر، میانگین صفات مورد مطالعه با ۳ تکرار ± SE در پوست قرمز پسته (اوایل شهریور ماه). حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0.01$ است.

پایه-رقم	PAL (U/mg protein)	ترکیبات فنلی (mg/gfw)	فلاونوئید کل (mg/100gfw)	آنتوسیانین (µmol/gfw)
موتیکا-اوحدی	۱/۵۲ ± ۰/۰۳ b	۲۴/۷۸ ± ۰/۱۷ a	۱۹/۸۹ ± ۰/۱۲ f	۳۵/۸۷ ± ۰/۳۸ a
موتیکا-کله‌قوچی	۱/۴۲ ± ۰/۰۵ c	۲۳/۱۷ ± ۰/۳ b	۲۲/۵۰ ± ۰/۱۵ d	۲۲/۲۳ ± ۰/۱۴ d
موتیکا-احمد آقایی	۱/۶۷ ± ۰/۰۲ a	۲۴/۶۴ ± ۰/۳۴ a	۵۲/۴۰ ± ۰/۵۱ a	۲۱/۳۷ ± ۰/۱۲ e
اهلی-اوحدی	۱/۴۶ ± ۰/۰۲ c	۲۲/۷۵ ± ۰/۲۴ c	۲۱/۳۰ ± ۰/۳۱ e	۲۹/۵۶ ± ۰/۲۰ b
اهلی-کله‌قوچی	۱/۳۴ ± ۰/۰۳ d	۲۰/۷۱ ± ۰/۱۱ d	۳۰/۵۷ ± ۰/۲۷ c	۲۴/۸۵ ± ۰/۱۴ c
اهلی-احمد آقایی	۱/۱۲ ± ۰/۰۱ e	۱۵/۰۷ ± ۰/۱۵ e	۳۸/۲۸ ± ۰/۱۵ b	۱۹/۶۶ ± ۰/۱۹ f

جدول ۴- مقادیر، میانگین صفات مورد مطالعه با ۳ تکرار ± SE در دانه (اواخر شهریور ماه). حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0.01$ است.

پایه-رقم	PAL (U/mg protein)	ترکیبات فنلی (mg/gfw)	فلاونوئید کل (mg/100gfw)	آنتوسیانین (µmol/gfw)
موتیکا-اوحدی	۰/۹۱ ± ۰/۰۴ a	۳/۴۰ ± ۰/۰۱ a	۱۲/۳۴ ± ۰/۰۴ d	۷/۳۴ ± ۰/۰۸ a
موتیکا-کله‌قوچی	۰/۸۱ ± ۰/۰۳ b	۱/۸۸ ± ۰/۰۵ d	۱۲/۹۸ ± ۰/۰۱ c	۵/۴۴ ± ۰/۰۷ d
موتیکا-احمد آقایی	۰/۹۳ ± ۰/۰۴ a	۳/۴۴ ± ۰/۰۲ a	۱۵/۲۴ ± ۰/۰۵ a	۶/۲۲ ± ۰/۰۵ bc
اهلی-اوحدی	۰/۹۲ ± ۰/۰۲ a	۲/۹۶ ± ۰/۰۳ b	۱۳/۷۲ ± ۰/۰۵ b	۷/۶۶ ±۰/۰۱ a
اهلی-کله‌قوچی	۰/۸۴ ± ۰/۰۱ b	۲/۹۱ ± ۰/۰۸ b	۱۲/۲۴ ± ۰/۰۴ d	۶/۵۰ ± ۰/۱۰ b
اهلی-احمد آقایی	۰/۴۶ ± ۰/۰۱ c	۲/۳۷ ± ۰/۰۸ c	۱۰/۲۳ ± ۰/۰۱ e	۵/۹۴ ± ۰/۱۱ c

گزارش‌های متعدد نشان می‌دهد که گر چه فعالیت PAL برای ساختن آنتوسیانین‌ها الزامی است، اما در مسیر بیوسنتز سینامیک اسید ممکن است به ترکیبات فنلی دیگر نظیر فلاونوئیدها، تانن‌ها و ... تبدیل شود (Lister *et al.*, 1996). همچنین، در گیاه سیب آنتوسیانین‌ها به طور غیر وابسته به فعالیت PAL می‌توانند تجمع یابند و محتوای آنتوسیانین و ترکیبات فنلی به ژنوتیپ گیاه وابسته است (Hamouz *et al.*, 2007; Feng *et al.*, 2008). نتایج این بررسی همبستگی منفی بین فعالیت PAL و محتوای آنتوسیانین در برگ‌ها و گل‌های پایه موتیکا-احمد آقایی را نشان داد که به نظر می‌رسد آنزیم PAL در تشکیل ترکیبات فنلی در پایه موتیکا-احمد آقایی تأثیر بیشتری تا تشکیل آنتوسیانین‌ها دارد و این آنزیم به تنهایی قادر به تشکیل ترکیبات آنتوسیانینی نخواهد بود. همچنین، شایان ذکر است همبستگی مثبت بین آنتوسیانین و فعالیت آنزیم PAL در پایه اهلی-اوحدی، نشان‌دهنده نقش آنتی‌اکسیدانی آنتوسیانین‌ها در تنش‌های محیطی و در این پایه و پیوند است.

گزارش شده است آنزیم PAL در بیوسنتز ترکیبات فنلی میوه‌ها نقش کلیدی داشته، در مراحل نخستین رشد باعث تجمع این ترکیبات در این اندام می‌شود. فعالیت این آنزیم و ایجاد ترکیبات فنلی در پوست میوه بیش از سایر قسمت‌های داخلی میوه گزارش شده است (Montero *et al.*, 1996). طی مراحل رسیدگی میوه فعالیت آنزیم PAL و محتوای ترکیبات فنلی کل به تدریج کاهش می‌یابد که این کاهش بستگی به تغییرات آنزیمی و شیمیایی موجود در مراحل رشد و نمو در اندام مورد نظر دارد (Ding *et al.*, 2001; Remorini *et al.*, 2008). بررسی‌های دیگر نشان داده است که نوع پایه نقش مهمی در محتوای پلی فنلی در میوه هلو (Kubota *et al.*, 2001) و گیلاس (Jakobek *et al.*, 2009) دارد. در نتایج حاصل از این پژوهش مشاهده شد که بیشترین فعالیت آنزیم PAL و ترکیبات فنلی در پوست میوه پایه موتیکا-احمد آقایی وجود دارد. بررسی میوه پسته در رقم‌ها و دو پایه مورد مطالعه نشان داد که مراحل رسیدگی میوه در فعالیت آنزیم PAL، محتوای کل فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانینی مؤثر است. فعالیت این آنزیم و محتوای کل فنلی با رسیدگی میوه در هر سه رقم و دو پایه کاهش یافت. Arcas و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کرده‌اند وجود غلظت بالای

ترکیبات فنلی در پوست میوه سد مناسبی برای دفع حمله آفت‌هاست. مقادیر پایین آفلاتوکسین در مغز پسته دانه‌های دارای پوست در مقایسه با دانه‌های پوست کنده شده، احتمالاً نتیجه اثر بازدارندگی پوست در حمله آفلاتوکسین است (Doster and Michailides, 1995). همچنین، گزارش‌ها گویای آن است که فلاونوئیدها در لایه اپیدرمی می‌توانند همانند یک لایه ممانعت‌کننده در برابر تشعشعات مضر خورشید عمل کنند (Reyes-Carmona *et al.*, 2005). گزارش‌های متعدد وجود ترکیبات فنلی را در پوست پسته و مقدار بالای این ترکیب در پوست نسبت به دانه را نشان می‌دهد (Tomaino *et al.*, 2010). نتایج حاصل از تحقیق، وجود سطح بالای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی را در پوست میوه پسته نشان می‌دهد که به نظر می‌رسد در این پایه و رقم نسبت به دیگر گیاهان مورد مطالعه، پوست میوه پسته با داشتن ترکیبات فنلی به عنوان لایه حفاظتی در برابر اشعه UV و حمله آفات گیاهی پتانسیل حفاظتی بیشتری را دارد.

Orazem و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند با افزایش رشد و نمو میوه، مقدار فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها نیز افزایش می‌یابد که افزایش و تغییر در میزان محتوای آنتوسیانینی به نوع رقم، مراحل بلوغ و همچنین، منشأ ژنتیکی پایه یا به عبارتی قدرت پایه بستگی دارد. به نظر می‌رسد، افزایش محتوای آنتوسیانینی پوست در پایه موتیکا-احمد آقایی و پایه اهلی-اوحدی با رسیدگی میوه، نشانگر تغییرات بیوشیمیایی و آنزیمی در مراحل رسیدگی میوه است که با وجود بیشترین محتوای آنتوسیانینی در پایه اهلی-اوحدی، با ویژگی‌های ژنتیکی رقم می‌تواند توجیه شود.

گزارش‌های موجود بیان می‌کند که افزایش غلظت فلاونوئیدها در برخی تنش‌ها غیر القایی است و می‌تواند ناشی از هیدرولیز حالت‌های الحاقی این ترکیبات و یا تشکیل آنها از مسیرهای غیر معمول باشد (Michalak, 2006; Parry *et al.*, 1994). در بررسی نتایج حاصل از این تحقیق به نظر می‌رسد، اگر چه در پوست پسته در مراحل مختلف و در رقم‌های متفاوت هماهنگی بین تشکیل ترکیبات فنلی و فعالیت PAL دیده شد، ولی در برخی از آنها به طور مثال در پایه اهلی-احمد آقایی (پوست سبز و قرمز)، افزایش ترکیبات فلاونوئیدی علی‌رغم کاهش در حوضچه ترکیبات فنلی می‌تواند به علت تشکیل فلاونوئیدها از مسیرهای دیگر یا تبدیل ترکیبات فنلی توسط آنزیم‌های انتهایی مسیر به فلاونوئیدها و تجزیه شکل‌های غیر فعال فلاونوئیدی به شکل‌های فعال باشد. همچنین، با بررسی نتایج به نظر می‌رسد با مقایسه دو پایه موتیکا، اهلی و رقم احمد آقایی اختلاف در فعالیت آنزیم PAL در دو پایه مورد مطالعه دور از انتظار نیست و همبستگی بین فعالیت این آنزیم و ترکیبات فنلی هم وجود دارد. ولی تغییر در مقدار ترکیبات فلاونوئیدی و آنتوسیانینی در دو پایه را با فعالیت آنزیم‌های مختلف در انتهای مسیر بیوسنتزی و تشکیل اشکال مختلف ترکیبات توجیه کرد که به تفاوت منشأ ژنتیکی پایه‌ها ارتباط دارد و پژوهش‌های دیگری را می‌طلبد.

بررسی‌های دیگر، وجود ترکیبات فنلی (فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها) در مغز پسته و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات را گزارش کرده است (Silva *et al.*, 2007; Ballistreri *et al.*, 2009). همچنین، بررسی‌ها نشان داده است که پایه در محتوای ترکیبات فنلی و کیفیت میوه گیلاس (Martínez-Ballesta *et al.*, 2010) و محتوای غذایی مغز پسته

(Tavallali and Rahemi, 2007) تأثیر بسزایی دارد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که مقدار PAL و ترکیبات فنلی مغز پسته در زمان برداشت نسبت به پوست میوه کمتر است که در پایه موتیکا-احمد آقایی بیشترین مقدار وجود داشت، به نظر می‌رسد، وجود غلظت نهایی ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانینی در مغز دانه به فعالیت PAL بستگی دارد و این آنزیم ممکن است در ضمن بلوغ دانه در مراحل رشد و نمو درگیر باشد. همچنین، نتایج به دست آمده وجود ترکیبات فعال زیستی را در مغز پسته نشان داد که بیشترین مقدار متعلق به پایه موتیکا-احمد آقایی است. به نظر می‌رسد نوع پایه در محتوای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در مغز پسته نقش بسزایی دارد.

جمع‌بندی

تأثیر پایه‌های متفاوت در تشکیل ترکیبات شیمیایی در اندام‌های گیاه پسته اهمیّت دارد. نوع و منشأ ژنتیکی پایه می‌تواند در ایجاد مقاومت به تنش‌های محیطی مؤثر باشد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد پایه موتیکا-احمد آقایی دارای مقادیر بالای فعالیت PAL، ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی در برگ و گل است و می تواند به عنوان پایه مقاوم در تنش‌های محیطی معرفی شود. بررسی میوه پسته و به ویژه مغز آن که از نظر تجاری اهمیّت دارد، نشان داد وجود مقادیر بالای ترکیبات فنلی در پوست در جلوگیری از حمله قارچ‌ها و عوامل بیماری‌زا به مغز پسته در این پایه نقش دارد. به علاوه، نقش پایه در تشکیل مقادیر بالای ترکیبات فنلی (ترکیبات فعال زیستی) مغز، کیفیت مغز و در نتیجه اهمیّت آن در تغذیه انسان شایان ذکر است.

سپاسگزاری

نویسندگان این پژوهش، از مسؤولان مرکز تحقیقات پسته کشور به علت همکاری در اجرای این تحقیق سپاسگزاری می‌نمایند.

منابع

شیبانی، ا. (۱۳۷۳) پسته و تولید آن در ایران. انتشارات مؤسسه تحقیقات پسته ایران. رفسنجان.

فرگوسن، ل. (۱۳۷۸) کشت و تولید پسته. ترجمه درویشیان، م. انتشارات مؤسسه فرهنگی نشر آیندگان، تهران.

Arcas, M. C., Botia, J. M., Ortuno, A. M. and Del Rio, J. A. (2000) UV irradiation alters the levels of flavonoids involved in the defence mechanism of *Citrus aurantium* fruits against *Peniillium digitatum*. European Journal of Plant Pathology 106: 617-622.

Ballistreri, G., Arena, E. and Fallico, B. (2009) Influence of ripeness and drying process on the polyphenols and tocopherols of *Pistacia vera* L. Molecules 14: 4358-4369.

Boudet, A. M. (2007) Evolution and current status of research in phenolic compounds. Phytochemistry 68: 2722-2735.

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: 248-254.

Cheng, S. Y., Wang, Y., Liu, W. H., Du, H. W. and Chen, K. S. (2005) Effects of plant growth regulators on phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activities in leaves of *Ginkgo biloba*. Journal Plant Resources

Environment 14: 20-22.

Ding, C. K., Chachin, K., Ueda, Y., Imahori, Y. and Wang, C. Y. (2001) Metabolism of phenolic compounds during loquat fruit development. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49: 2882-2888.

Doster, M. A. and Michailides, T. J. (1995) The relationship between date of hull splitting and decay of pistachio nuts by *Aspergillus* species. Journal of Plant Disease 79: 766-769.

Feng, S. Q., Chen, X. S., Zhang, C. Y., Liu, X. J., Liu, Z. C., Wang, H. B. and Zhou, C. H. (2008) Relationship between anthocyanin biosynthesis and related enzymes activity in *Pyrus pyrifolia* mantianhong and its bud sports aoguan**.** Agricultural Science in China 7: 1318-1323.

Goli, A. H., Barzegar, M. and Sahari, M. (2005) Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera* L.) hull extracts. Food Chemistry 92: 521-52.

Hamouz, K., Lachman, J., Cepl, J., Dvorak, P., Pivec, V. and Prasilova, M. (2007) Site conditions and genotype influence polyphenol content in potatoes. Horticulture of Science (Prague) 34: 132-137.

He, Y., Zhu, Z., Yang, J., Ni, X. and Zhu, B. (2009) Grafting increases the salt tolerance of tomato by improvement of photosynthesis and enhancement of antioxidant enzymes activity. Environmental and Experimental Botany 66: 270-278.

Hura, T., Hura, K. and Grzesia, S. (2008) Contents of total phenolics and ferulic acid and PAL activity during water potential changes in leaves of maize single-cross hybrids of different drought tolerance. Journal of Agronomy and Crop Science 194: 104-112.

Jakobek, L., Ŝeruga, M., Voća, S., Ŝindrak, Z. and Dobričević, N. (2009) Flavonol and phenolic acid composition of sweet cherries (cv. Lapins) producedon six different vegetative rootstocks. Scientia Horticulturae 123: 23-28.

Kaska, N., Nikpeyma, Y. and Kafkas, S. (2002) Interactions between Pistachio rootstock and cultivar in K. Maras/ Turkey, Preliminary results. Acta Horticulture 591: 67-71.

Kliebenstein, D. J. (2004) Secondary metabolites and plant/environment interactions: a view through *Arabidopsis thaliana* tinged glasses. Plant Cell and Environment 27: 675-684.

Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, M., Grignon, C. and Abdelly, C. (2007) Salinity effect on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. Plant Physiology and Biochemistry 45: 244-248.

Kubota, N., Yakushiji, H., Nishiyama, N., Mimura, H. and Shimamura, K. (2001) Phenolic contents and L-Phenylalanin Ammonia Lyase activity in Peach fruit as affected by rootstocks. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science 70: 151-156.

Lister, C. E., Lancaster, J. E. and Walker, J. R. (1996) Developmental Changes in enzymes biosynthesis in the skins of red and of flavonoid green apple cultivars. Journal of the Science of food and Agriculture 71: 313-330.

Martínez-Ballesta, M. C., Alcaraz-López, C., Muries, B., Mota-Cadenas, C. and Carvajal, M. (2010) Physiological aspects of rootstock-scion interactions. Scientia Horticulturae 127: 112-118.

Michalak, A. (2006) Phenolic Compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. Polish Journal of Environmental Studies 4: 523-530.

Montero, T. M., Molla, E. M., Esteban, R. M. and Lopez-Andreu, F. J. (1996) Quality attributes of strawberry during ripening. Scientia Horticulturae 65: 239-250**.**

Myung-Min, H., Trick, H. N. and Rajasheka, E. B. (2009) Secondary metabolism and antioxidant are involved in environmental adaptation and stress tolerance in lettuce. Journal of Plant Physiology 166: 180-191.

Nikolva, M. T. and Ivancheva S. T. (2005) Quantitative flavonoid variaition of *Artemisa vulgaris* and *veronica chamaedry* in relation altitude and pollution environmental. Acta Biologica Szegediensis 49: 29-39.

Orazem, P., Stampar, F. and Hudina, M. (2011) Quality analysis of 'Redhaven' peach fruit grafted on 11 rootstocks of different genetic origin in a replant soil. Food Chemistry 124: 1691-1698.

Parry, A. D., Tiller, S. A. and Edward, R. (1994) The effects of heavy metals and root immersion on isoflavonoid metabolism in alfalfa (*Medicago sativa* L.). Plant Physiology 106: 195-203.

Remorini, D., Tavarini, S., Degl'Innocenti, E., Loreti, F., Massai, R. and Guidi, L. (2008) Effect of rootstock and harvesting time on the nutritional quality of peel and flesh of peach fruits. Food Chemistry 110: 361-367.

Reyes-Carmona, J., Yousef, G. G., Martinez-Peniche, R. A. and Lila, M. A. (2005) Antioxidant capacity of fruit extracts of Blackberry (*Rubus* sp.) produced in different climatic regions. Journal of Food Science 70: 497-503.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. and Paganga, G. (1997) Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends Plant Science 2: 152-159.

Rodríguez, E. S, Manuel Ruiz, J., Ferreres, F. and Moreno, D. A. (2011) Phenolic metabolism in grafted versus nongrafted Cherry Tomatoes under the influence of water stress. Journal Agricultural and Food Chemistry 59: 8839-8846.

Satisha, J., Ramteke, S. D. and Karibasappa, G. S. (2007) Physiological and Biochemical characterisation of Grape rootstocks. South African Journal Enology Viticulture 28: 163-168.

Shao, L., Shu, Z., Sun, S. H., Peng, C. H., Wang, X. and Lin, Z. H. (2007) Antioxidation of anthocyanins in photosynthesis under high temperature stress. Journal Integrate of Plant Biology 49: 1341-1351.

Silva, E. M., Souza, J. N., Rogez, H., Rees, J. S. and Larondelle, Y. (2007) Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. Food Chemistry 101: 1012-1018.

Sobhana, P., Thomsa, M., Krishnakumar, R. and Jacob, J. (2000) Can there be possiblegenetic conflict between genetically divergent rootstocks and scions in bud grafted plants? National Symposium on Recent Trends in Plant Science Research,University of Kerala, Trivandrum, India.

Tattini, M., Remorini, D., Pinelli, P., Agati, G., Sarasini, E., Traversi, M. L. and Massai, R. (2006) Morpho-anatomical, physiological and biochemical adjustment in response rot ozone salinity stress and high solar radiation in two Mediteranean evergreen shrubs , *Myrtus communis* and *Pistacia lentiscus*. New phytologist 170: 779-794.

Tavallali, V. and Rahemi, M. (2007) Effects of rootstock on nutrient acquisition by leaf, kernel and quality of pistachio (*Pistacia vera* L.). American-Eurasian Journal Agricultural and Environmental Science 2: 240-246.

Tomaino, A., Martorana, M., Arcoraci, T., Momteleone, D., Givoinazzo, C. and Saija, A. (2010) Antioxidant activity and phenolic profile of pistachio (*Pistacia vera* L., variety Bronte) seeds and skins. Biochimie 92(9): 1115-1122.

Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L. and Oomah, B. D. (1998) Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits,vegetables, and grain products. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46: 4113-4117.

Vogt, T. (2010) Phenylpropanoid biosyntesis. Molecular Plant 3: 2-20.

Wagner, G. J. (1979) Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars free amino acids, and anthocyanins in protoplast. Plant Physiology 64: 88-93.

Wang, J. W., Zheng, L. P., Wu, J. Y. and Tan, R. X. (2006) Involvement of nitric oxide in oxidative burst phenylalanine ammonia-lyase activation and taxol production induced by low-energy ultrasound in *Taxus yunnanensis* cell suspension cultures. Nitric Oxide Biology and Chemistry 15: 351-358.

Zhishen, J., Mengcheng, T. and Jianming, W. (1999) The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chemistry 64: 555-559.

Study of the rootstock and cultivar effect in PAL activity, production of phenolic and flavonoid compounds on flower, leaf and fruit in Pistachio (*Pistacia vera* L.)

Nazi Nadernejad [1]*, Ali Ahmadimoghadam [1], Javad Hossyinifard [2] and Shahram Poorseyedi [3]

[1] Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran
[2] Department of Nutrition and Irrigation, Institute Pistachio Research, Iran
[3] Department of Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran

Abstract

This study was carried out to assess and compare three pistachio cultivars (Ahmadaghaii, Ohadi and Kallehghuchi) on two rootstock (Mutica, Ahli) in relation to PAL activity, phenolic, flavonoid and anthocyanin in leaves, flowers, fruits and selection of the most suitable and compatible rootstock and scion in order to obtain resistance to environmental stresses. The results showed increased PAL activity, total phenolic and flavonids and also positive correlation was observed between PAL activity and the existing compounds on leaves and flowers in Mutica-Ahmadaghaii, that showed a better resistence this than the others in environmental stresses. PAL activity and total phenolic in fruits of pistachio suffered a decreased when the maturation processes began. The hulls of the pistachio fruits, contained high level of phenolic compounds, (especially in Mutica-Ahmadaghaii) which may function as a protective layer and protective chemical against ultraviolet radiation and pathogen. The final concentration of phenolic compounds and flavonoids and antocyanins in the kernel, depended on the PAL activity in kernel's cultivar. Our results indicated the presence of a number of bioactive compounds in kernel and the highest amount belonged to Mutica-Ahmadaghai. The results of this study showed that rootstock may affect the antioxidant compound in kernel in pistachio tree.

Key words: Rootstock, Pistachio, Phenolic compounds, Environmental stress, Cultivar, PAL activity

* Corresponding Author: nnadernejad@uk.ac.ir