

اثر اعمال تنش خشکی بر جوانه‌زنی، ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ارقام کلزا (*Brassica napus* L.)

مریم عبدلی‌نسب^{۱*} و زهرا محمدی سهدران^۲

(۱) استادیار گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده علوم محیطی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران.

(۲) دانشجوی کارشناسی ارشد گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده علوم محیطی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران.

* نویسنده مسئول: m.abdolinassab@kgut.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۰۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۴/۰۱

چکیده

کلزا یکی از مهم‌ترین گیاهان روغنی در جهان و ایران بوده و کمبود آب از مهم‌ترین عوامل محدود کننده رشد و توسعه آن در ایران است. رشد گیاه در مراحل اولیه و استقرار مناسب آن می‌تواند به‌عنوان معیار انتخاب در به‌نژادی گیاهی مدنظر قرار گیرد. از آنجا که سرعت و درصد جوانه‌زنی و صفات رشدی به‌طور مستقیم در عملکرد گیاه نقش دارند، گزینش مستقیم برای صفات رشدی در شرایط تنش، در شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم حائز اهمیت است. آزمایشی به‌صورت فاکتوریل با چهار سطح تنش اسمزی (صفر، ۰/۳، -۰/۵، -۱ بار) به‌دست آمده از غلظت‌های مختلف پلی‌اتیلن گلیکول (صفر، ۲۰، ۱۵ و ۱۰ درصد) و بذور سه رقم کلزا در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۹۸-۱۳۹۷ به‌مدت نه ماه در آزمایشگاه دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فن‌آوری پیشرفته کرمان اجرا شد. بذور پس از ضدعفونی در پتری‌دیش کشت شده و تیمارهای خشکی بر آن‌ها اعمال شد. برهم‌کنش ژنوتیپ و تیمارهای خشکی برای کلیه صفات مورد ارزیابی به‌جز صفت ارتفاع ساقه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید. تجزیه و تحلیل آماری و مقایسات میانگین نشان داد که در تنش رطوبتی اعمال شده مقدار درصد جوانه‌زنی، رشد گیاهچه، رشد ریشه‌چه، رنگیزه‌های فتوسنتزی و مقدار پروتئین کاهش و مقدار پرولین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان افزایش می‌یابد بیش‌ترین مقدار درصد جوانه‌زنی (۷۸ درصد)، طول ریشه‌چه (۵/۷۸ میلی‌متر)، محتوای پرولین (۱/۳۳) و آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز (۰/۰۶۳) در رقم آگامکس، بیش‌ترین مقدار وزن تر (۱/۸۳) و خشک (۰/۹۲۷) ساقه‌چه، کلروفیل a (۰/۰۰۷)، b (۲/۵۶)، کل (۱۰/۹)، کاروتنوئید (۲/۶۴) و قند محلول (۰/۶۵) در رقم تراپر و بیش‌ترین مقدار پروتئین محلول (۰/۷۱۴) و آنزیم کاتالاز (۰/۰۰۸) در رقم هایولا ۶۱ مشاهده گردید. با اعمال تنش شدید اسمزی رقم آگامکس با کاهش ۲۵ درصد جوانه‌زنی و ۶۳ درصد مقدار پروتئین‌های محلول، افزایش ۲/۳ برابر محتوای پرولین، ۱/۵۴ برابر مقدار قند محلول، ۳۳ درصد آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز و ۶۷ درصد آنزیم کاتالاز نسبت به شرایط نرمال رطوبتی عکس‌العمل بهتری در مقایسه با ارقام هایولا ۶۱ و تراپر نشان داد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پلی‌اتیلن‌گلیکول و فتوسنتز.

مقدمه

کلزا^۱ با محتوای روغن ۴۰-۴۴ درصد به‌عنوان سومین منبع تامین روغن خوراکی پس از سویا و نخل روغنی در دنیا شناخته شده است. روغن کلزا به‌دلیل مقدار بالای اسید اولئیک و مقدار کم اسیدهای چرب اشباع ارزش تغذیه‌ای بالایی دارد (Rezayian *et al.*, 2018). هر عاملی که باعث کاهش عملکرد محصول شود، تنش گفته می‌شود (Gull *et al.*, 2019) در بین تنش‌های غیرزنده، تنش خشکی یا کمبود آب مهم‌ترین عاملی است که تولید محصول و رشد گیاه را محدود می‌کند (بهمه و همکاران، ۱۳۹۷). تنش کمبود آب اثرهای فیزیولوژیکی مختلفی بر گیاه می‌گذارد که نوع و مقدار خسارت آن به‌شدت و تحمل گیاه بستگی دارد. کمبود آب عوامل فیزیولوژیکی مختلف از جمله عوامل بازدارنده فتوسنتز را تحت اثر قرار داده و باعث کاهش رشد و تولید می‌شود (Fang *et al.*, 2015). افزون بر آن، تنش خشکی باعث کاهش جذب مواد مغذی از طریق ریشه، کاهش راندمان مصرف اشعه و شاخص برداشت و کاهش عملکردهای فیزیولوژیکی و متابولیک گیاه می‌شود (Nasir *et al.*, 2019). همچنین تاخیر در رشد و نمو گیاه، کاهش اندازه برگ، تغییرات آناتومیکی در پی تغییر اندازه سلول، پیری و در نهایت مرگ در بسیاری از گونه‌های گیاهی از اثرات سوء کمبود آب بر گیاه است (Fang *et al.*, 2015). گزارش‌های قبلی حاکی از آن است که تنش خشکی در گیاه با کاهش آب برگ و در نتیجه بسته شدن روزنه‌ها و افت فتوسنتز از یک سو و اثر بر فعالیت‌های آنزیمی و فرآیندهای مربوطه از سوی دیگر، موجب افت عملکرد دانه از طریق کاهش اجزای عملکرد می‌شود (Tatrai *et al.*, 2016). مراحل اولیه رشد گیاهچه حساس‌ترین مرحله نسبت به تنش خشکی می‌باشد. کشت بذر در بستری با آب ناکافی موجب غیریکنواختی جوانه‌زنی و ضعف گیاهچه-ها خواهد شد و در نتیجه عملکرد نهایی گیاه کاهش خواهد یافت (رحیمی و همکاران، ۱۳۹۷). پژوهش‌ها نشان داده‌اند که گیاه کلزا همانند بسیاری از گیاهان زراعی تحت اثر تنش کمبود آب قرار می‌گیرد و کمبود آب اثر نامطلوبی بر روی گیاه کلزا به‌خصوص در مرحله رشد گیاهچه‌ای دارد (Nasir *et al.*, 2019). به‌دلیل عدم امکان کنترل عوامل محیطی در مزرعه و غیریکنواختی خاک، تحقیقات آزمایشگاهی اهمیت ویژه‌ای برای ارزیابی تحمل گیاهان به تنش خشکی به‌ویژه در مرحله جوانه‌زنی دارد (چگنی و همکاران، ۱۳۹۴). لذا شبیه‌سازی شرایط تنش خشکی با استفاده از مواد اسموتیک مختلف برای ایجاد پتانسیل‌های اسمزی موردنظر بسیار متداول بوده و یکی از مهم‌ترین روش‌های مطالعه اثر تنش خشکی بر جوانه‌زنی تلقی می‌شود (عبدی و همکاران، ۱۳۹۳). پلی‌اتیلن‌گلیکول^۲ (PEG) به‌دلیل داشتن وزن مولکولی بالا نمی‌تواند از دیواره سلولی عبور کند و به‌همین دلیل از آن برای تنظیم پتانسیل آب در آزمایش‌های جوانه‌زنی استفاده می‌شود. پلی‌اتیلن گلیکول با وزن مولکولی بزرگ (PEG ۶۰۰۰) جهت ایجاد تنش خشکی در مقایسه با مولکول‌های کوچک‌تر آن

1- *Brassica napus* L

2- Poly ethylene glycol

(PEG ۴۰۰۰) مناسب‌تر است، زیرا درصد جوانه‌زنی بذر در محلول پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ و در خاکی با همان پتانسیل آب برابر است (Meher *et al.*, 2018). در گیاه عدس با کاهش پتانسیل آب تحت اثر غلظت‌های مختلف پلی‌اتیلن گلیکول درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، محتوای آب بافت و فعالیت آنزیم‌های درگیر در جوانه‌زنی کاهش و محتوای پروتئین و قندهای محلول کل افزایش یافته و فعالیت آنزیم‌های α -آمیلاز و α -گلوکورونیداز رابطه منفی با افزایش مقدار تنش نشان داد (Muscolo *et al.*, 2014). تنش القا شده با پلی‌اتیلن گلیکول در گیاه آویشن لیمو^۱ به مقدار قابل توجه و معنی‌دار وزن تر ساقه، محتوای نسبی آب و مقدار کلروفیل کل را کاهش داد (Tatrai *et al.*, 2016). بررسی اثر پلی‌اتیلن گلیکول بر جوانه‌زنی و رشد گیاه سوروف^۲ نشان داد که با افزایش غلظت پلی‌اتیلن گلیکول درصد جوانه‌زنی، طول ریشه، منطقه سطح ریشه، قطر ساقه، حجم ریشه، وزن خشک ریشه، ارتفاع گیاه، سطح برگ و عملکرد کاهش می‌یابد (Wu *et al.*, 2019). محصولات روغنی از جمله کلزا از مهم‌ترین محصولات زراعی بوده و بخش مهمی از زنجیره غذایی انسان را به خود اختصاص می‌دهند. با توجه به بالا بودن سطح زیر کشت آن در کشور و با عنایت به اینکه کشور ایران در کمربند خشک و نیمه خشک قرار دارد، لذا مطالعه‌ها در زمینه مقاومت به خشکی این محصول حائز اهمیت است. تحمل به تنش آبی به‌طور نسبی در تمام گونه‌ها یا ارقام گیاهی مشاهده می‌شود، اما مقدار این تحمل از گونه به گونه یا رقم به رقم متفاوت است. شناسایی ژنوتیپ‌ها با تحمل به خشکی بیشتر می‌تواند به‌عنوان یک منبع با ارزش جهت استفاده در برنامه‌های اصلاحی مورد توجه قرار گیرد. از این‌رو هدف این پژوهش مطالعه اثر سطوح مختلف کمبود آب القا شده با پلی‌اتیلن گلیکول، بر جوانه‌زنی و برخی پارامترهای فیزیولوژیکی و فعالیت آنزیمی در گیاهچه‌های سه رقم پرمحصول کلزا می‌باشد.

مواد و روش‌ها

کشت بذور و اعمال تیمار

به‌منظور مطالعه اثر تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن گلیکول در گیاه کلزا، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. فاکتور اول شامل سطوح مختلف تنش خشکی (صفر، ۰/۳، ۰/۵، ۱- بار به‌دست آمده از پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ بر اساس روش Michel و Kaufmann (۱۹۷۳) و فاکتور دوم شامل سه رقم کلزا (تراپر^۳، آگامکس^۴ و هایولا^۵ ۶۱) می‌باشد. بذور ابتدا در الکل ۷۰ درصد به مدت ۱۰ ثانیه، بعد از آن در محلول هیپوکلرید سدیم ۱ درصد به مدت ۳۰ ثانیه و سپس شستشو با آب مقطر ضدعفونی گردید. تعداد ۳۰ بذر در هر پتری کشت و در انکوباتور

- 1- *Thymus citriodorus*
- 2- *Echinochloa crus-galli*
- 3- Traper
- 4- Agamax
- 5- Hyola61

دمای ۲۷ درجه سلسیوس در شرایط تاریکی قرار گرفت. جهت انجام تیمار از سطوح مختلف پلی‌اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ و آب مقطر (سطح شاهد) به مقدار مساوی روزانه در پتری‌دیش‌ها استفاده شد. پس از اندازه‌گیری صفات مرتبط با جوانه‌زنی، گیاهان به گلدان انتقال داده و در گلخانه جهت رشد قرار داده شد.

اندازه‌گیری صفات

صفات مرتبط با جوانه‌زنی

بذرهای جوانه‌زده هر پتری‌دیش روزانه شمارش و ثبت گردید. بذور هنگامی جوانه‌زده در نظر گرفته می‌شدند که ریشه‌چه‌های قابل مشاهده از پوسته بذر خارج شده بودند. شمارش روزانه در ساعات معین و در ۱۰ روز انجام گرفت. تعداد بذرهای جوانه‌زده در هر شمارش به صورت تجمعی محاسبه گردید. درصد جوانه‌زنی از طریق تعداد بذرهای جوانه زده شده در روز آخر (دهم) در نظر گرفته شد. شاخص بنیه بذر با استفاده از رابطه ۱ به دست آمد (Agrawal, 2003):

رابطه ۱: طول گیاهچه × درصد جوانه‌زنی نهایی = شاخص بنیه بذر

شاخص یا درصد جوانه‌زنی با تقسیم کردن تعداد تجمعی بذور جوانه‌زده در هر شمارش به کل بذور جوانه‌زده نهایی (N)، طبق رابطه ۲ تعیین شد (لطیفی و امیدی، ۱۳۹۸):

رابطه ۲: $100 \times \text{کل بذور جوانه‌زده نهایی} \div \text{تعداد تجمعی بذور جوانه‌زده در هر شمارش} = \text{درصد جوانه‌زنی}$

سرعت جوانه‌زنی بذر از مجموع نسبت تعداد کل بذرهای جوانه‌زده به تعداد روزهای پس از کاشت طبق رابطه ۳ به دست آمد (Tekrony and Egli, 1991):

رابطه ۳: $\text{تعداد روزهای پس از کاشت} \div \text{مجموع نسبت تعداد کل بذرهای جوانه‌زده} = \text{سرعت جوانه‌زنی}$

صفات طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه با استفاده از خط‌کش میلی‌متری، و وزن تر ساقه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه (پس از خشک شدن در دمای ۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت) با ترازوی حساس محاسبه شد.

سنجش مقدار پروتئین

جهت استخراج پروتئین، مقدار ۰/۵ گرم بافت تازه گیاه در ۵ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته برابر ۵/۷ حاوی یک درصد پلی‌وینیل پیرولیدین (PVP) و ۱ میلی‌مولار EDTA^۱ ساییده شد. تمام مراحل استخراج در یخ

1- Polyvinyl pyrrolidone

2- Ethylene diamine tetra acetic acid

انجام گرفت. سپس عصاره‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در ۵۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفوژ گردید. از محلول شفاف رویی برای سنجش مقدار پروتئین کل استفاده شد. سنجش غلظت پروتئین بر اساس روش Bradford (۱۹۷۶) انجام گردید. غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد آلبومین سرم گاوی^۱ حاصل از خوانش جذب نوری غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر به دست آمد.

سنجش مقدار پرولین

مقدار ۰/۰۲ گرم از برگ گیاه در ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳ درصد سولفوسالیسیلیک اسید ساییده و عصاره حاصل به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک اسید خالص مخلوط و یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس در حمام آب گرم و سپس بلافاصله در یخ سرد قرار داده شد. مقدار ۴ میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط اضافه و به خوبی تکان داده شد. با ثابت نگه داشتن لوله‌ها به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه دو لایه مجزا تشکیل گردید. مقدار جذب لایه رنگی در طول موج ۵۱۸ نانومتر تعیین و مقدار پرولین در هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد (غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۶ و ۸ میلی‌گرم بر لیتر از پرولین خالص) محاسبه گردید (Bates et al., 1973).

سنجش رنگی‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید)

ابتدا مقدار ۰/۲ گرم بافت تازه برگ با ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم وزن و در هاون چینی حاوی ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به خوبی ساییده شد و پس از ۱۵ دقیقه سانتریفوژ، خوانش جذب محلول رویی در طول موج-های ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲ و ۴۷۰ نانومتر انجام و مقدار رنگی‌ها و کاروتنوئید بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه بر اساس رابطه‌های ۴، ۵، ۶ و ۷ محاسبه گردید (Lichtenthaler, 1978):

$$\text{Chlorophyll a} = (12.7A_{663} - 2.69A_{645}) V/1000W \quad \text{رابطه ۴:}$$

$$\text{Chlorophyll b} = (22.9A_{645} - 4.68A_{663}) V/1000W \quad \text{رابطه ۵:}$$

$$\text{Chlorophyll T} = \text{Chlorophyll a} + \text{Chlorophyll b} \quad \text{رابطه ۶:}$$

$$\text{Carotenoids X+c} = 1000 (A_{470}) - 1.8 (\text{mg chl.a}) - 85.02 (\text{mg chl.b}) /198 \quad \text{رابطه ۷:}$$

که در رابطه‌های بالا A جذب خوانده شده، V حجم محلول و W وزن تر نمونه می‌باشند.

اندازه‌گیری مقدار قندهای محلول

محتوای قندهای محلول با استفاده از معرف آنترون تعیین گردید. ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم بافت تازه گیاه در ۲/۵ میلی-لیتر اتانول ۸۰ درصد ساییده شد و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس قرار داده شد و کربوهیدرات‌های محلول استخراج گردید. عصاره حاصل با استفاده از کاغذ صافی صاف گردید. سپس الکل آن تبخیر و رسوب حاصل در ۲/۵ میلی-لیتر آب مقطر حل گردید. به ۱ میلی‌لیتر از عصاره حاصل مقدار ۵ میلی‌لیتر معرف آنترون افزوده و پس از هم‌زدن به مدت ۱۷ دقیقه در بن‌ماری ۹۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. جذب محلول در طول موج ۶۲۵ نانومتر در دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد غلظت‌های ۲۰، ۴۰، ۸۰، ۱۲۰، ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر گلوکز استفاده گردید (Roe *et al.*, 1981).

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز

جهت تهیه عصاره مقدار ۰/۵ گرم از بافت تازه برگ در ۵ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۵/۷ حاوی پلی‌وینیل پیرولیدین یک درصد و ۱ میلی‌مولار EDTA ساییده شد. عصاره‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در ۵۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفوژ گردیده و از محلول شفاف رویی برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده شد. سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس کاهش جذب آب اکسیژنه در طول موج ۲۴۰ نانومتر انجام گرفت. بر اساس این روش مخلوط واکنش (۳ میلی‌لیتر) شامل بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷، آب اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی می‌باشد. مقدار فعالیت آنزیم بر اساس غلظت آب اکسیژنه تجزیه شده محاسبه شد، غلظت آب اکسیژنه مصرف شده با استفاده از ضریب خاموشی معادل $4.0 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ و رابطه ۸ محاسبه گردید (Velikova *et al.*, 2000).

$$A = \epsilon bc$$

رابطه ۸:

در این رابطه A جذب خوانده شده، ϵ ضریب خاموشی، c غلظت آب اکسیژنه و b طول کوت (۱ سانتی‌متر) می‌باشند.

سنجش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز (PPO)^۱

مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۲۰۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷/۶ و پیروگالول ۰/۰۲ مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی تهیه گردید. در حضور آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز، پیروگالول موجود در مخلوط واکنش، به پورپورگالین تبدیل می‌شود. کاهش در جذب پیروگالول در ۴۲۰ نانومتر، پس از ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نسبت به زمان شروع واکنش، محاسبه گردید. سپس با استفاده از ضرایب خاموشی پیروگالول $6.2 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ و رابطه ۸ مقدار بر جای مانده پیروگالول

1- Poly phenol oxidase

در مخلوط واکنش به دست آمد. فعالیت آنزیمی بر حسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل (میلی گرم) موجود در ۱۰۰ میکرولیتر عصاره محاسبه گردید (Kar and Mishra, 1981).

تجزیه و تحلیل آماری

برای انجام آنالیزهای آماری از نرم افزار SAS نسخه ۹ استفاده گردید. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که برهم کنش رقم در تنش در کلیه صفات مورد ارزیابی به جز صفت طول ساقه-چه در سطح آماری ۱ درصد معنی دار شد. در ارزیابی صفت طول ساقه‌چه اثر تنش در سطح آماری ۱ درصد معنی دار گردید (جدول ۱). مقایسات میانگین داده‌ها بر اساس روش دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد (جدول ۲).

مولفه‌های جوانه‌زنی بذر

در بررسی برهم کنش تنش و رقم بر صفت درصد جوانه‌زنی، بیش‌ترین مقدار این صفت (۷۸ درصد) در شرایط فاقد تنش در رقم آگامکس و کم‌ترین مقدار آن (۳۸ درصد) در سطح تنش پلی‌اتیلن گلیکول ۲۰ درصد در رقم هایولا ۶۱ مشاهده گردید. اعمال تنش کم‌آبی شدید (پلی‌اتیلن گلیکول ۲۰ درصد) مقدار جوانه‌زنی را به ترتیب ۲۵، ۴۱ و ۳۳ درصد در ارقام آگامکس، هایولا ۶۱ و تراپر نسبت به شرایط شاهد کاهش داده است. بیش‌ترین مقدار طول ریشه‌چه (۵/۷۸ سانتی-متر) در رقم آگامکس و سطح تیمار پلی‌اتیلن گلیکول ۱۰ درصد و کم‌ترین آن (۲/۳ سانتی-متر) در رقم هایولا ۶۱ در سطح تیمار پلی‌اتیلن گلیکول ۲۰ درصد مشاهده گردید و صرف‌نظر از اثر تنش، بیش‌ترین مقدار طول ریشه‌چه در رقم آگامکس مشاهده شد. اثر رقم و برهم کنش رقم و تنش در صفت طول ساقه‌چه از نظر آماری معنی دار نشد، اما مقایسات میانگین داده‌های حاصل از سطوح مختلف تنش نشان داد بیش‌ترین مقدار طول ساقه‌چه در سطح نرمال و کم‌ترین آن در تنش پلی‌اتیلن گلیکول ۱۵ و ۲۰ درصد می‌باشد. بیش‌ترین مقدار صفت وزن تر (۱/۸۳ گرم) و خشک ساقه‌چه (۰/۹۲۷ گرم) در رقم تراپر در شرایط نرمال و کم‌ترین (به ترتیب ۰/۰۱۸ و ۰/۰۰۶ گرم) در رقم آگامکس و سطح تیمار پلی‌اتیلن گلیکول ۲۰ درصد مشاهده شد. از آنجا که مقدار و درصد سبز شدن بذر و هم‌چنین یکنواختی آن بر عملکرد از نظر کمی و کیفی اثرگذار است، بنابراین مرحله جوانه‌زنی بذر، مرحله حساس و مهمی است که می‌تواند با استقرار مطلوب گیاهچه‌ها در فرآیند تولید نقش مهمی ایفا نماید (رحیمی و همکاران، ۱۳۹۷). نتایج نشان داد که با کاهش پتانسیل آب همه مولفه‌های جوانه‌زنی در ارقام مورد مطالعه کاهش می‌یابد. از نظر درصد جوانه‌زنی در بین تمامی رقم‌ها، رقم آگامکس مقاومت نسبی خوبی نشان داد. بذوری که در شرایط تنش خشکی جوانه‌زنی قابل قبولی داشته باشند، در مناطق خشک و نیمه‌خشک

ارزش زیادی خواهند داشت، زیرا احتمال گذر از این مرحله برای آن‌ها بیش‌تر است. کاهش مولفه‌های جوانه‌زنی (درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و وزن تر و خشک گیاه‌چه) در محیط‌های اسمزی را می‌توان به کاهش سرعت و میزان جذب اولیه آب و نیز اثر منفی پتانسیل‌های اسمزی پایین بر فرآیندهای بیوشیمیایی مراحل سوخت و ساز جوانه‌زنی نسبت داد (Poudineh *et al.*, 2018). نتایج بیانگر برهم‌کنش پتانسیل آب و نوع رقم بر طول ساقه‌چه و ریشه‌چه می‌باشد. در تمامی رقم‌ها طول ساقه‌چه و ریشه‌چه با کاهش پتانسیل آب کاهش یافت، اما طول ریشه‌چه کمتر از طول ساقه‌چه تحت تاثیر تنش خشکی قرار گرفت. این کاهش می‌تواند به دلیل ویسکوزیته بالای محیط رشد به واسطه حضور پلی‌اتیلن گلیکول باشد که باعث تشکیل یک لایه مرزی اطراف ریشه و ایجاد شرایط هیپوکسی برای محدود کردن رشد گیاه می‌شود. علاوه بر این در شرایط کمبود آب، غلظت هورمون اسید آبسزیک در ریشه بالا رفته و از طریق آوند به ساقه منتقل می‌شود (Sivakumar *et al.*, 2016). به دنبال افزایش غلظت اسید آبسزیک فعالیت اتیلن محدود شده و رشد گیاه کاهش می‌یابد (Tatrai *et al.*, 2016). نتایج حاصل با نتایج بررسی تنش خشکی در گیاه پنبه، گیاه کلزا و گیاه سوروف^۱ مطابقت دارد (Wang *et al.*, 2017; Rezayian *et al.*, 2016; Wu *et al.*, 2019).

رنگیزه‌های فتوسنتزی

در بررسی صفت کلروفیل a، بیش‌ترین مقدار این صفت (۹/۰۰۷) در رقم تراپر و سطح تیمار پلی‌اتیلن گلیکول ۱۵ درصد و کم‌ترین آن (۵/۵) در رقم آگامکس و سطح تیمار پلی‌اتیلن گلیکول ۱۰ درصد مشاهده گردید. مقایسه میانگین داده‌ها صفت کلروفیل b نشان داد که بیش‌ترین مقدار این صفت (۲/۵۶) در رقم تراپر و آگامکس در سطح تیمار پلی‌اتیلن گلیکول ۱۵ درصد و کم‌ترین مقدار آن (۱/۳۲) در رقم تراپر و سطح تیمار پلی‌اتیلن گلیکول ۲۰ درصد مشاهده شد. بیش‌ترین مقدار صفت کلروفیل کل در رقم تراپر (۱۰/۸۳) در سطح تیمار پلی‌اتیلن گلیکول ۱۵ درصد و کم‌ترین مقدار آن (۲/۸۸) در رقم هایولا در شرایط نرمال مشاهده گردید. در بررسی صفت مقدار کاروتنوئید، بیش‌ترین مقدار این صفت (۲/۶۴) در رقم تراپر در سطح تیمار پلی‌اتیلن گلیکول ۱۵ درصد و کم‌ترین مقدار آن (۱/۳۵) در رقم تراپر در سطح تیمار پلی‌اتیلن گلیکول ۲۰ درصد مشاهده گردید. نتایج نشان داد مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی به خصوص کلروفیل b تحت اثر غلظت‌های بالای تنش به شدت کاهش می‌یابد. کلروفیل b جز اساسی فتوسنتز است، بنابراین محتوای کلروفیل b شاخص مناسبی برای ارزیابی فتوسنتز است. Akram و همکاران (۲۰۱۳) نیز نشان دادند که مقدار فتوسنتز و به تبع آن محتوای کلروفیل a تحت تنش خشکی به شدت کاهش می‌یابد. یکی از بارزترین پاسخ‌های گیاهان به تنش‌های محیطی، کم شدن سرعت فتوسنتز ناشی از اختلال در فعالیت فتوسیستم II می‌باشد (Meng *et al.*, 2016). کاهش کلروفیل تحت اثر تنش

خشکی احتمالا به خاطر اثر کلروفیلز و در نتیجه تجزیه کلروفیل می‌باشد (شهبازی و همکاران، ۱۳۹۵). همچنین در زمان تنش خشکی روزنه برگ‌ها به طور کامل یا جزئی بسته می‌شود و این فرآیند طبیعی فتوسنتز را مختل می‌کند (نصراله‌زاده اصل و همکاران، ۱۳۹۵).

پرولین

رقم آگامکس با ۲/۳ برابر افزایش مقدار پرولین (۱/۳۱) در سطح تیمار پلی‌اتیلن گلیکول ۲۰ درصد نسبت به شاهد (۰/۵۵) بیش‌ترین مقدار افزایش پرولین را نشان داد و این در حالی است که کم‌ترین مقدار افزایش پرولین (۰/۱۱) در رقم تراپر و در سطح تیمار پلی‌اتیلن گلیکول ۱۰ درصد مشاهده گردید. نتایج حاکی از افزایش مقدار پرولین با افزایش سطح تنش می‌باشد. تجمع پرولین پاسخ عمومی بسیاری از گونه‌های گیاهی به کمبود آب است. اسید آمینه پرولین در بسیاری از گیاهان عالی شناسایی شده است و معمولاً در مقادیر زیاد در پاسخ به تنش‌های محیطی، تجمع می‌یابد. شکستن سریع پرولین بعد از پایان یافتن شرایط تنش، ممکن است خود تأمین‌کننده عوامل مورد نیاز فسفوریلاسیون اکسیداتیو میتوکندریایی و تولید ATP برای ترمیم صدمات ناشی از تنش باشد (میرزایی و همکاران، ۱۳۹۳).

پروتئین

در بررسی اثر تنش و رقم بر مقدار پروتئین‌های محلول برگ، بیش‌ترین مقدار این صفت (۰/۷۱۴) در رقم هایولا ۶۱ در شرایط شاهد و کم‌ترین مقدار آن (۰/۱۴۷) در رقم تراپر در سطح تیمار پلی‌اتیلن گلیکول ۲۰ درصد مشاهده شد. کاهش مقدار پروتئین‌های محلول برگ در شرایط تنش آبی شدید (پلی‌اتیلن گلیکول ۲۰ درصد) نسبت به شرایط عدم تنش به ترتیب ۶۳، ۷۴ و ۷۶ درصد در ارقام آگامکس، هایولا ۶۱ و تراپر مشاهده گردید. رقم آگامکس کم‌ترین اثرپذیری را در برابر تنش رطوبتی شدید نشان داد. سی و سه مرده و همکاران (۱۳۹۳) علت کاهش پروتئین‌های محلول کل برگ‌ها در گیاه نخود تحت تنش را نیاز دانه به پروتئین و انتقال پروتئین‌های محلول از برگ‌ها به دانه‌های در حال تشکیل در مرحله رشد زایشی اعلام کردند. در رقم مقاوم مقادیر این متابولیت به مقدار کم‌تری وجود داشت که ناشی از مصرف پروتئین‌های محلول به منظور تبدیل به اسیدهای آمینه آزاد به منظور به‌کارگیری در فرایند تنظیم اسمزی بوده و طی آن خسارت وارده به نخود کاهش یافت. همان‌طور که نتایج این تحقیق نیز نشان داد، کاهش مقدار پروتئین‌های محلول برگ با افزایش غلظت پرولین برگ همراه می‌باشد که با گزارش‌های ارائه شده در گیاه سویا و بادام‌زمینی مطابقت دارد (Shawquat *et al.*, 2015; Ranganayakulu *et al.*, 2015). مطالعه‌ها نشان می‌دهند که اعمال تنش خشکی از سنتز پروتئین جلوگیری می‌کند، اما برعکس هیدرولیز پروتئین‌ها تسریع می‌گردد. یکی از ترکیباتی که از این هیدرولیز به‌وجود می‌آید پرولین می‌باشد (Sivakomar *et al.*, 2016).

جدول ۱: تجزیه واریانس صفات ارزیابی شده کلزا در سطوح مختلف تنش خشکی و رقم

منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی	طول چهریشه	طول چه‌ساقه	وزن تر چه‌ساقه	وزن خشک چه‌ساقه	a کلروفیل	b کلروفیل	کلروفیل کل	کاروتنوئید	پروترین	قندهای محلول	پروتئین‌های محلول برگ	کاتالاز	پلی فنل اکسیداز
رقم	۲	۳۷۹/۶**	۳/۱۳**	۰/۰۹۷ ^{ns}	۰/۱۵**	۰/۲۱**	۵/۷۶**	۰/۰۳ ^{ns}	۲۷/۱۷**	۰/۸۵**	۰/۴۴۷**	۰/۲۹**	۰/۲۶**	۵/۰۳e ^{-۵} **	۰/۰۰۰۱ ^{ns}
تنش	۳	۱۲۷۱/۰۶**	۱۷/۷۹**	۱۳/۰۴**	۳/۷۸**	۰/۷۰۱**	۴/۷۵**	۰/۶۵**	۲۰/۵۹**	۰/۳۷**	۰/۲۹۶**	۰/۲۰**	۰/۱۰**	۱/۸۲e ^{-۵} **	۰/۰۰۱**
رقم*تنش	۶	۲۱/۷۳**	۲/۴۹**	۰/۰۴۸ ^{ns}	۰/۳۰**	۰/۱۵۳**	۵/۵۸**	۰/۴۰**	۱۰/۱۵**	۰/۵۷**	۰/۱۶۲**	۰/۳۴**	۰/۱۸**	۳/۵e ^{-۵} **	۰/۰۰۱**
خطا	۲۴	۴/۲۷	۰/۱۸	۰/۰۸	۰/۱۵	۰/۰۰۵	۰/۳۸	۰/۰۷	۰/۴۸	۰/۰۲	۰/۰۱۳	۰/۰۳	۰/۰۲	۵/۴۶e ^{-۵}	۶/۶۸ e ^{-۵}

**، * و ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد، ۵ درصد و عدم معنی‌داری.

جدول ۲: مقایسات میانگین داده‌های حاصل از برهم‌کنش رقم در تنش در صفات بررسی شده

رقم	سطح تنش	درصد جوانه‌زنی	طول چهریشه	وزن تر چه‌ساقه	وزن خشک چه‌ساقه	کلروفیل کل	a کلروفیل	b کلروفیل	کاروتنوئید	پروترین	قندهای محلول	پروتئین‌های محلول برگ	کاتالاز	پلی فنل اکسیداز
آگامکس	صفر	۷۸±۲ a	۱/۲۶±۰/۲ef	۱/۰۳۶±۰/۰۶b	۰/۰۷±۰/۰۰۷bc	۷/±۰/۰۰۱b	۵/۵±۰/۰۰۱c	۲/۰۲±۰/۰۰۱bcd	۱/۶۳±۰/۰۰۱c	۰/۵۵±۰/۰۰cd	۰/۴۲±۰/۰۰۷e	۰/۶۲±۰/۱۱ab	۰/۰۰۱۵±۰/۰۰f	۰/۰۴۲±۰/۰۰۱d
	PEG ۲۰	۵۸/۳±۰/۵d	۱/۴۵±۰/۴e	۰/۰۱۸±۰/۰۰۸e	۰/۰۰۶±۰/۰۰۳c	۱۰/۸۳±۰/۸۳a	۸/۲±۰/۲۹ab	۲/۲±۰/۱۳ abc	۲/۰۳±۰/۰۱b	۱/۳۱±۰/۱۸a	۰/۶۵±۰/۰۰۹a	۰/۲۳±۰/۰۱۸cd	۰/۰۰۴۶±۰/۰۰۱c	۰/۰۰۶۳±۰/۰۰۱a
	PEG ۱۵	۶۳/۳±۰/۵c	۳/۶۳±۰/۲bc	۰/۱۰۵±۰/۰۱e	۰/۰۴±۰/۰۰۴bc	۱۰/۳۶±۰/۷۲a	۷/۴۳±۱/۰۴b	۲/۵±۰/۲۳a	۱/۹۹±۰/۳۴b	۰/۷۶۷±۰/۱۱b	۰/۵۳±۰/۰۰۱bc	۰/۴۲±۰/۰۱۸bc	۰۰۸۰/۰۰۳۵±۰/۰d	۰/۰۰۵۷±۰/۰۰۶b
	PEG ۱۰	۷۱/۶±۱/۵	۵/۷۸±۰/۲a	۰/۷۹۹±۰/۰۵c	۰/۰۴±۰/۰۰۳bc	۶/۳۴±۰/۲۸b	۴/۹۷±۰/۱۹c	۱/۶±۰/۰۲de	۱/۳۷±۰/۱۶c	۰/۳۴۵±۰/۱۷d	۰/۴۸±۰/۰۰۹ cd	۰/۵۳±۰/۰۰۱b	۰/۰۰۲۸±۰/۰de	۰/۰۰۵۳±۰/۰۰۱c
هایلولا ۶۱	صفر	۶۵/۰±۱b	۱/۴۳±۰/۲۲e	۱/۸۳±۰/۱۹a	۰/۹۲۷±۰/۲a	۲/۸۸±۰/۰c	۵/۹۸±۰/۰۰۱c	۲/۱۱±۰/۰۰۱abcd	۱/۵۶±۰/۰۱c	۰/۱۴±۰/۰۱cd	۰/۴۷±۰/۰۰۱d	۰/۱۱۴±۰/۱a	۰/۰۰۰۶±۰/۰۰۱ab	۰/۰۰۳۸±۰/۰۱d
	PEG ۲۰	۳۸/۰±۱/۵g	۰/۵۶±۰/۱۷f	۰/۰۸±۰/۰۰۸e	۰/۰۳۲±۰/۰۰۹bc	۷/۲۴±۰/۸۳b	۵/۷۱±۱/۳c	۱/۹۵±۰/۰۹bcd	۱/۴۳±۰/۰۸c	۰/۴۸±۰/۰cd	۰/۶۱±۰/۰۲ab	۰/۱۸۴±۰/۰۱cd	۰/۰۰۰۸±۰a	۰/۰۰۵۳±۰/۰۱۸c
	PEG ۱۵	۵۲/۳±۲/۵e	۲/۳±۰/۲۴d	۰/۱۵۷±۰/۰۴۵e	۰/۰۴۹±۰/۰۰۷bc	۷/۵۵±۰/۸۷b	۵/۷±۱/۰۱c	۲/۱۹±۰/۴abc	۱/۴۶±۰/۰۱c	۰/۴۳±۰/۱۴e	۰/۵۴±۰/۰۱bc	۰/۳۹±۰/۱۶bc	۰/۰۰۷۸±۰a	۰/۰۰۵۲±۰/۰۱۲c
	PEG ۱۰	۵۹/۰±۱d	۳/۷۴±۰/۵۸b	۰/۷۸۳±۰/۰۱۴c	۰/۱۴±۰/۰۰۳b	۷/۴۶±۰/۰۱b	۵/۴±۰/۳۵c	۱/۷۳±۰/۰cde	۱/۵۴±۰/۰۲c	۰/۳۹±۰/۱۲cd	۰/۵±۰/۰c	۰/۴۸±۰/۰۱۸d	۰/۰۰۰۷±۰a	۰/۰۰۴۷±۰/۰cd
تراپر	صفر	۷۲±۰/۵c	۲/۷±۰/۶۲d	۱/۷۱±۰/۳۵a	۰/۸۲۹±۱a	۷/۵۲±۰/۰۱b	۵/۵±۰/۰۰۱c	۲/۰۲±۰/۰۰۱bcd	۱/۶۳±۰/۰c	۰/۱۱±۰/۰bc	۰/۴۶±۰/۰۰۱d	۰/۶۲±۰/۱۴ab	۰/۰۰۰۱۹±۰/۰f	۰/۰۰۴۱±۰/۰۱d
	PEG ۲۰	۴۷/۶±۲/۵f	۰/۷۱±۰/۱۵ef	۰/۰۹±۰/۰۰۴e	۰/۰۳۸±۰/۰۰۷bc	۷/۱۷±۰/۸۹b	۵/۸۴±۰/۰۲۱c	۱/۳۲±۰/۷e	۱/۳۵±۰/۱۵c	۰/۴۵±۰/۰۳cd	۰/۵۸±۰/۱۹b	۰/۱۴۷±۰/۰۱cd	۰/۰۰۰۳۸±۰/۰۱d	۰/۰۰۴۹±۰/۰۱cd
	PEG ۱۵	۵۴/۳±۰/۵e	۳/۱±۴/۵bcd	۰/۱۹±۰/۰۰۵e	۰/۰۵۲±۰/۰۰۵bc	۱۰/۹±۱/۲a	۹/۰۰۷±۰/۲۸a	۲/۵۶±۰/۱۹a	۲/۶۴±۰/۱a	۰/۳۸±۰/۱۸d	۰/۵۱±۰/۱۱cd	۰/۲۱۴±۰/۰۱cd	۰/۰۰۰۳۵±۰/۰۰۲d	۰/۰۰۴۷±۰/۰۰۹cd
	PEG ۱۰	۶۲±۲cd	۲/۸±۰/۸۷cd	۰/۵۰۴±۰/۷۱d	۰/۰۶±۰/۰۰۱bc	۱۰/۴۲±۰/۷۹a	۸/۰۶±۰/۵۶ab	۲/۳۶±۰/۲۹ab	۲/۴۹±۰/۲۲a	۰/۱۱±۰ bc	۰/۴۹±۰/۱۱cd	۰/۵۶۷±۰/۴ab	۰/۰۰۰۲۳±۰/۰۰e	۰/۰۰۴۳±۰/۰۱۲d

حروف مشابه در هر گروه بیان‌گر عدم اختلاف معنی‌دار می باشد (روش دانکن در سطح احتمال ۵ درصد).

قند محلول

بیشترین مقدار قند محلول برگ (۰/۶۵ و ۰/۶۱) به ترتیب در ارقام آگامکس و هایولا ۶۱ در سطح تیمار پلی اتیلن گلیکول ۲۰ درصد و کمترین مقدار آن (۰/۰۴۲) در شاهد رطوبتی رقم آگامکس مشاهده شد. با افزایش سطح تنش، مقدار قند محلول نیز افزایش یافت. اعمال تنش رطوبتی شدید (پلی اتیلن گلیکول ۲۰ درصد) به ترتیب در ارقام آگامکس، هایولا ۶۱ و تراپر، مقدار قندهای محلول را ۱/۵۴، ۱/۲۹ و ۱/۲۶ برابر نسبت به شرایط عدم تنش افزایش داد. مطالعه‌های زیادی افزایش تجمع قندهای محلول در واکنش به تنش خشکی را تایید می‌کنند (Tatrai *et al.*, 2016). به نظر می‌رسد که در اثر تنش خشکی فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز افزایش می‌یابد، در این شرایط افزایش هیدرولیز نشاسته سبب افزایش غلظت قندهای کل محلول می‌شود (Yang *et al.*, 2014). افزایش قندهای محلول نقش مهمی در پایداری غشای سلولی و پروتئین‌ها در شرایط تنش دارد (Ma *et al.*, 2015). تجمع قندها در برگ به دنبال برخی اختلالات متابولیکی بوده که نقش مهمی در ممانعت از فتوسنتز در شرایط تنش ایفا می‌کند (موقوفه و همکاران، ۱۳۹۷). آذری نصرآباد و همکاران (۱۳۹۶) اظهار داشتند که تنظیم اسمزی به حفظ تورژسانس سلول به منظور بقاء و یا کمک به رشد گیاه تحت کمبود آب کمک کرده و در گیاه سورگوم تحت شرایط تنش خشکی محتوای قندهای محلول و پرولین افزایش معنی‌داری را نشان داد.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

از مهم‌ترین آنزیم‌های اکسیدانی، پلی فنل اکسیداز (PPO) و کاتالاز می‌باشند. پلی فنل اکسیداز برخی فنل‌ها را به کینون اکسیده کرده و کاتالاز دی‌اکسید هیدروژن را به آب و مولکول اکسیژن تفکیک می‌کند (Rezayian *et al.*, 2018). نتایج حاصل از برهم‌کنش تنش و رقم بر مقدار آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز و کاتالاز نشان داد که بیشترین مقدار این آنزیم‌ها (به ترتیب ۰/۰۶۳ و ۰/۰۰۸) در ارقام آگامکس و هایولا ۶۱ در سطح تیمار پلی اتیلن گلیکول ۲۰ درصد و کمترین مقدار (۰/۰۳۸ و ۰/۰۰۱۵) به ترتیب در ارقام هایولا ۶۱ و آگامکس در تیمار عدم تنش می‌باشد. ارقام آگامکس، هایولا ۶۱ و تراپر به ترتیب ۳۳، ۲۸ و ۱۶ درصد افزایش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در شرایط تنش شدید (پلی اتیلن گلیکول ۲۰ درصد) نسبت به شرایط بدون تنش نشان دادند. همچنین افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز به مقدار ۶۷، ۵۰ و ۲۵ درصد به ترتیب در ارقام آگامکس، تراپر و هایولا ۶۱ مشاهده شد. افزایش مقدار فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در نتیجه بروز تنش اکسیدانی در شرایط کم‌آبی در گیاه است. در تنش خشکی انواعی از اکسیژن‌های فعال در گیاهان تجمع می‌یابند. گونه‌های فعال اکسیژن به عنوان سیگنال‌های سلولی عمل کرده و باعث تحریک ساخت و یا افزایش مقدار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه می‌شوند و گیاه به این روش از خود محافظت می‌کند (Rezayian *et al.*, 2018). نقش پلی فنل اکسیداز در

مقاومت به خشکی به دلیل دخالت آن در واکنش مهلر^۱ می‌باشد. تحت شرایط کم آبی مقدار جذب دی‌اکسیدکربن کاهش می‌یابد هر افزایش در انرژی نوری جذب شده می‌تواند تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن را تحریک کند. واکنش مهلر از کاهش بیش از حد انتقال خطی انتقال الکترون جلوگیری می‌کند (Rasti Sani *et al.*, 2018). نتایج ما در تطابق نتایج Kalantar Ahmadi و همکاران (۲۰۱۵) در افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و پلی‌فنل‌اکسیداز تحت شرایط تنش کم آبی در گیاه کلزا می‌باشد.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج حاصل از پژوهش حاضر، تنش خشکی باعث کاهش مولفه‌های جوانه‌زنی و فعالیت‌های فیزیولوژیک ارقام کلزای مورد مطالعه گردید. رقم آگامکس نسبت به ارقام تراپر و هایولا ۶۱ در شرایط کمبود آب بردبارتری بیشتری نشان داد. این احتمال وجود دارد که بردباری بهتر به تنش آب در رقم آگامکس با محتوای بیشتر پرولین و فعالیت بالاتر آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز همراه باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان مراتب قدردانی خود را از پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران به دلیل تامین هزینه مالی این تحقیق از محل طرح پژوهشی به شماره ۷/۹۷/۳۰۶۴ اعلام می‌دارند.

منابع

- آذری نصرآباد، ع.، موسوی نیک، س.م.، بهشتی، س.ع. و سیروس مهر، ع. ۱۳۹۶. بررسی اثر تنش خشکی در مراحل مختلف رشد بر عملکرد دانه، تجمع اسمولیت‌ها و رنگدانه‌های فتوسنتزی ژنوتیپ‌های سورگوم دانه‌ای. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران. ۱۵ (۳): ۶۹۰-۶۷۶.
- بهمه، ف.، دانش شهرکی، ع.، لری گوئینی، ز. و قبادی‌نیا، م. ۱۳۹۷. اثر تنش کمبود آب و تیمار بیولوژیک بذر بر شاخص‌های فیزیولوژیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی مخلصه (*Tanacetum persicum* (Boiss.) Mozaff). نشریه اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی. ۱۲ (۳): ۴۲۶-۴۱۱.
- لطیفی، س.ع. و امید، ح. ۱۳۹۸. اثر پرابیمینگ بر خصوصیات جوانه‌زنی بذر و گیاهچه برنج رقم عنبربو، تحت تنش کم آبی. نشریه علمی فیزیولوژی گیاهان زراعی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. ۱۱ (۴۴): ۲۱-۵.

1 -Mehler reaction

چگنی، ه.، گلدانی، م.، شیرانیراد، ا.ح. و کافی، م. ۱۳۹۴. بررسی اثر تنش خشکی بر شاخص‌های جوانه‌زنی لاین-های امیدبخش کلزا (*Brassica napus* L.). نشریه علمی فیزیولوژی گیاهان زراعی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. ۷ (۲۵): ۲۹-۴۱.

رحیمی، ع.ا.، مدحج، ع. و مجدم، م. ۱۳۹۷. مطالعه جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه ژنوتیپ‌های یونجه (*Medicago sativa* L.) تحت اثر تنش خشکی. نشریه علمی فیزیولوژی گیاهان زراعی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. ۱۰ (۴۰): ۱۲۹-۱۴۴.

سی و سه‌مرده، ع.، غلامی، س.، بهرام‌نژاد، ب.، کانونی، ه. و صادقی، ف. ۱۳۹۳. اثر تنش خشکی بر محتوای اسمولیت‌های سازگار، فعالیت آنزیمی و عملکرد دانه ژنوتیپ‌های نخود. نشریه علوم زراعی ایران. ۱۶ (۲): ۱۰۹-۱۲۴.

شهبازی، ه.، ارزانی، ا. و اسماعیل‌زاده مقدم، م. ۱۳۹۵. تاثیر تنش خشکی بر خصوصیات فیزیولوژیک در لاین‌های اینبرد نوترکیب گندم. نشریه فرایند و کارکرد گیاهی. ۵ (۱۵): ۱۳۱-۱۲۳.

عبدی، ح.، بی‌همتا، م.، عزیز اف، ا. و چوگان، ر. ۱۳۹۳. بررسی سطوح تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن‌گلیکول (PEG 6000) بر مولفه‌های جوانه‌زنی بذر و ارتباط آن با شاخص‌های تحمل به خشکی در ارقام و لاین‌های امید بخش گندم نان (*Triticum aestivum* L.). نشریه پژوهش‌های زراعی ایران. ۱۲ (۴): ۵۹۶-۵۸۲.

میرزایی، م.، معینی، ا. و قناتی، ف. ۱۳۹۳. اثر تنش خشکی بر مقدار پرولین و قندهای محلول گیاهچه‌های کلزا (*Brassica napus*). نشریه زیست‌شناسی ایران. ۲۶ (۱): ۹۸-۹۰.

موقوفه، ب.، سعیدی، م. و منصورفر، س. ۱۳۹۷. واکنش فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ارقام مختلف سویا به تنش کم‌آبی در مراحل رشد رویشی و زایشی. نشریه علمی فیزیولوژی گیاهان زراعی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. ۱۰ (۳۷): ۶۵-۸۱.

نصراله‌زاده اصل، و.، شیری، م.، محرم‌نژاد، س.ف.، یوسفی، م. و باغبانی، ف. ۱۳۹۵. اثر تنش خشکی بر خصوصیات زراعی و بیوشیمیایی سه هیبرید ذرت (*Zea mays* L.). نشریه علمی فیزیولوژی گیاهان زراعی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. ۸ (۳۲): ۴۵-۶۰.

Akram, H.M., Ali, A., Sattar, A., Rehman, H.S.U. and Bibi, A. 2013. Impact of water deficit stress on various physiological and agronomic traits of three Basmati rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. The Journal of Animal and Plant Sciences. 23(5): 1415-1423.

Agrawal, R. 2003. Seed technology. Publication . Co . PVT . LTD . New Delhi . India.

Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*. 29: 205-207.

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): 248-54.

Fang, Y. and Xiong, L. 2015. General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. *Journal Article Cellular and Molecular Life Sciences*. 72(4): 673-89.

Gull, A., Lone, A. and Wani, N. 2019. Biotic and Abiotic Stresses in Plants. In: Oliveira AB. (eds) *Abiotic and Biotic Stress in Plants*. IntechOpen. pp. 1046.

Kar, M. and Mishra, D. 1981. Catalase, peroxidase, and polyphenol oxidase activities during rice leaf senescence. *Plant physiology*. 57(2): 315-9.

Kalantar Ahmadi, S.A., Ebadi, A., Jahanbakhsh, S. Daneshian, J. and Siadat, S.A. 2015. Changes in enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense mechanisms of canola seedlings at different drought stress and nitrogen levels. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 39: 601-612.

Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*. 148: 350-382.

Ma, H., Xu, X., Zhao, X., Liu, H. and Chen, H. 2015. Impacts of drought stress on soluble carbohydrates and respiratory enzymes in fruit body of *Auricularia auricular*. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*. 29(1): 1014.

Meher, P., Shivakrishna, K., Ashok Reddy, D. and Manohar R. 2018. Effect of PEG-6000 imposed drought stress on RNA content, relative water content (RWC), and chlorophyll content in peanut leaves and roots. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 25: 285-289.

Meng, L.L., Song, J.F., Wen, J., Zhang, J. and Wei, J.H. 2016. Effects of drought stress on fluorescence characteristics of photosystem II in leaves of *Plectranthus scutellarioides*. *Photosynthetica*. 54(3): 414-421.

Michel, B. E. and Kaufmann, M. R. 1973. The Osmotic Potential of Polyethylene Glycol 6000. *Plant Physiology*. 51(5): 914-916.

Muscolo, A., Sidari, M., Anastasi, U., Santonoceto, C. and Maggio A. 2014. Effect of PEG-induced drought stress on seed germination of four lentil genotypes. *Journal of Plant Interactions*. 9 (1): 354-363.

Nasir, B., Razzaq, H. and Tahir, H.N. 2019. Development of Best Evelopment of Best Screening Method at Seedling Stage Under Drought Stress for *Brassica Napus* L. *Big Data In Agriculture*. 1(1): 11-14.

Poudineh, Z., Fakheri, B.A., Sirosmehr, A.R. and Shojaei, S. 2018. Effect of drought stress on the morphology and antioxidant enzymes activity of *Foeniculum vulgare* cultivars in Sistan. *Indian Journal of Plant Physiology*. 23: 283-292.

Ranganayakulu, G.S., Sudhakar, C. and Sivakumar Reddy, P. 2015. Effect of water stress on proline metabolism and leaf relative water content in two high yielding genotypes of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) with contrasting drought tolerance. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*. 3(1): 97-103.

Rasti Sani, M., Ganjeali, A., Lahouti, M. and Mousavi Kouhi, S.M. 2018. Morphological and physiological responses of two common bean cultivars to drought stress. *Journal of Plant Process and Function*. 6(22) :38-45.

Rezayian, M., Niknam, V. and Ebrahimzadeh, H. 2018. Differential responses of phenolic compounds of *Brassica napus* under drought stress. *Iranian Journal of Plant Physiology*. 8(3): 2417-2425.

Rezayian, M., Niknam, V. and Ebrahimzadeh, H. 2018. Effects of drought stress on the seedling growth, development, and metabolic activity in different cultivars of canola. *Soil Science and Plant Nutrition*. 64: 360–369.

Roe, B. and Bruemmer, J.H. 1981. Changes in pectic substances and enzymes during ripening and storage of “Keitt” mangos. *Journal of Food Science*. 46(1): 186-189.

Shawquat, A.K.M., Abdul Karim, M., Abullah, A.M., Shahana, P., Mahfuz, M.B. and Altaf, M.H. 2015. Plant water relations and proline accumulations in soybean under salt and water stress environment. *Journal of Plant Sciences*. 3(5): 272-278.

Sivakumar, R., Nandhitha, G.K. and Nithila S. 2016. Impact of Drought on Chlorophyll, Soluble Protein, Abscisic Acid, Yield and Quality Characters of Contrasting Genotypes of Tomato (*Solanum lycopersicum*). *British Journal of Applied Science and Technology*. 25(1): 1-10.

Tatrai, A.Z., Sanoubar, R., Pluhár, Z., Mancarella, S., Orsini, F. and Gianquinto, G. 2016. Morphological and Physiological Plant Responses to Drought Stress in *Thymus citriodorus*. *International Journal of Agronomy*. Article ID 4165750, 8 pages.

Tekrony, D.M. and Egli, D.B. 1991. Relationship of seed vigor to crop yield: a review. *Crop Science*. 31: 816-822.

Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A. 2000. Oxidative Stress and Some Antioxidant Systems in Acid Rain- Treated Bean Plants: Protective Role of Exogenous Polyamines. *Plant Scienc*. 151: 59-66.

Wang, L.F., Jin, S., Wu, L.M., Zhou, X.M., Liu, X.Y. and Bai, L.Y. 2017. Influence of environmental factors on seed germination and emergence of asia minor bluegrass (*Polypogon fugax*). *Weed Technology*. 30: 533–538.

Wu, L.M., Fang, Y., Yang, H.N. and Bai, L.Y. 2019. Effects of drought-stress on seed germination and growth physiology of quinclorac resistant *Echinochloa crusgalli*. PLoS One. 14 (4): 1-11.

Yang, R., Yang, T., Zhang, H., Qi, Y., Xing, Y., Zhang, N. and Guo, Y.D. 2014. Hormone profiling and transcription analysis reveal a major role of ABA in tomato salt tolerance. Plant Physiology and Biochemistry. 77: 23-34.

Effect of Drought Tension Application on the Germination, Physiological and Biochemical Characteristics of Rapeseed Cultivars (*Brassica napus* L.)

M. Abdoli Nasab*¹ and Z. Mohammadi Sedaran²

1) Assistant Professor of Department of Biotechnology, Research Institute of Environmental Sciences, Research Institute of Advanced Sciences and Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Industrial and Advanced Technology, Kerman, Iran.

2) MSc. Student of Department of Biotechnology, Research Institute of Environmental Sciences, Research Institute of Advanced Sciences and Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Industrial and Advanced Technology, Kerman, Iran.

* Corresponding author: m.abdolinassab@kgut.ac.ir

Received date: 21.06.2020

Accepted date: 26.09.2020

Abstract

Rapeseed is one of the most important oil crops in the world and Iran and water shortage is one of the most important factors limiting rapeseed growth and development in Iran. Plant growth in the early stages and its proper establishment can be considered as a selection criterion in the plant breeding. Since germination rate and percentage and growth-related traits are directly involved in the plant yielding, direct selection for growth traits under tension conditions is important in the identification of tolerant genotypes. A factorial experiment was conducted with four levels of osmotic tension (zero, -0.3, -0.5 and -1 bar) obtained from different concentrations of polyethylene glycol (zero, 20, 15 and 10 percent) and seeds of three rapeseed cultivars in a completely randomized design with three replications at the laboratory of Kerman Graduate University of Industrial and Advanced Technology for nine months in 2018-2019. After the seed's disinfection, they were planted in the petri dishes and the drought treatments were applied on them. The interaction of genotype and drought treatments was significant for all evaluated traits except for stem height trait at one percent probability level. Statistical analysis and mean comparisons showed that in the applied moisture tension the amount of germination percentage, seedling growth, root growth, photosynthetic pigments and the amount of protein decreased and the amount of proline and antioxidant enzymes increased. The highest amount of germination percentage (78 percent), root length (5.78 millimeter), proline content (1.33) and polyphenol oxidase enzyme (0.063) were observed in Agamax cultivar, the highest amount of fresh (1.83) and dry (0.927) stem weight, chlorophyll a (9.007), chlorophyll b (2.56), total chlorophyll (10.9), carotenoids (2.64) and soluble sugar (0.65) was evaluated in Traper cultivar and the highest amount of soluble protein (0.714) and catalase enzyme (0.008) in Hayola 61 cultivar. By applying sever osmotic tension, Agamex cultivar showed a 25 percent reduction in germination rate and 63 percent in soluble proteins content, increasing 2.3 times more proline content, 1.54 times more soluble sugar content, 33 percent polyphenol oxidase and 67 percent catalase enzymes in compare to normal moisture conditions and showed better response than Hayola 61 and Trapper cultivars.

Keywords: Antioxidant enzymes, Polyethylene glycol and Photosynthesis.