

## اثر مصرف زئولیت بر میزان بیومارکرهای تخریب، محتوی نسبی آب برگ، نشت الکتrolیتها و

### کلروفیل کلزا تحت شرایط تنش کم آبی

علیرضا پازکی\*

گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد یادگار امام خمینی<sup>(ه)</sup> شهرری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

\* نویسنده مسئول: Pazoki@iausr.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۴/۱۶

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۲/۰۱

#### چکیده

به منظور بررسی اثر تنش کم آبی و مصرف زئولیت بر میزان بیومارکرهای تخریب، محتوی نسبی آب برگ، نشت الکتrolیتها و کلروفیل کلزا (*Brassica napus* L.) رقم Okapi، این آزمایش در پاییز ۹۱-۱۳۹۰ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی<sup>(ه)</sup> شهرری به صورت اسپلیت پلات در قالب بلوکهای کامل تصادفی با چهار تکرار اجرا گردید. آبیاری در سه سطح (آبیاری بر اساس ۸۰، ۱۳۰ و ۱۸۰ میلی متر تبخیر از سطح تشتک تبخیر کلاس A) به عنوان کرت اصلی، مصرف زئولیت در سه سطح (عدم مصرف، مصرف ۶ و ۱۲ تن در هکتار) به عنوان کرت فرعی در نظر گرفته شد. نتایج آزمایش نشان داد که از نظر تمامی صفات مورد آزمون بین سطوح آبیاری و کاربرد زئولیت تفاوت معنی داری مشاهده شد و اثر برهمکنش تیمارهای آزمایشی تنها بر نشت الکتrolیتها و محتوی کلروفیلها معنی دار بود. مقایسه میانگین اثر اصلی آبیاری نشان داد، انجام آبیاری بر اساس ۱۸۰ میلی متر تبخیر از سطح تشتک تبخیر کلاس A، بیشترین میزان مالون دی آلدئید (۲/۵۴ نانومول بر میلی گرم پروتئین)، دی هیدروکسی گوانوزین (۱۷/۶۰ نانومول بر میلی گرم پروتئین)، دی تیروزین (۲۷/۰۲ نانومول بر میلی گرم پروتئین) و نشت الکتrolیتها (۱/۵۵ میلی زیمنس بر سانتی متر) و کمترین محتوی نسبی آب برگ (۰/۶۱ درصد) و کلروفیل کل (۴/۳۲ میلی گرم در لیتر) را ایجاد نمود. ایجاد نمود. در شرایط تنش خشکی شدید ۱۸۰ میلی متر، مصرف ۱۲ تن در هکتار زئولیت با بهبود وضعیت رطوبتی گیاه منجر به ممانعت از اثر تخریبی تنش خشکی و کاهش میزان نشت الکتrolیتها تا ۰/۹۹ میلی زیمنس بر سانتی متر و کلروفیل a+b تا ۴/۷۵ میلی گرم در لیتر گردید.

واژه‌های کلیدی: تنش خشکی، دی تیروزین و مالون دی آلدئید.

## مقدمه

کلزا به عنوان گیاه روغنی پاییزه یک‌ساله در بین دانه‌های روغنی دیگر به راحتی در تناوب با غلات قرار می‌گیرد و دانه آن به‌طور متوسط دارای ۴۵-۴۰ درصد روغن است (Carmody, 2001). در شرایط بروز تنش خشکی در غیاب هر گونه سازوکار حفاظتی، ROS ها (گونه‌های فعال اکسیژن) می‌تواند از طریق ایجاد خسارت‌های اکسیداتیو به چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک متابولیسم طبیعی سلول را مختل کنند و به غشای سلولی آسیب وارد کند که در نهایت این امر می‌تواند به مرگ سلولی منجر گردد (Ozkur et al., 2009). گروهی از گیاهان دارای یک سیستم آنتی‌اکسیدانی هستند که تولید اضافی گونه‌های فعال اکسیژن را تحت شرایط تنش خشکی کنترل می‌کند و آن‌ها را در مقابل اثر نامطلوب گونه‌های فعال اکسیژن محافظت می‌کند و از طرف دیگر سطح مطلوبی از ROS را برای رشد و مسیر انتقال پیام حفظ می‌نماید (Mittler et al., 2004). مالون‌دی‌آلدئید از جمله بیومارکرهای تخریبی است که در شرایط تنش خشکی افزایش می‌یابد که این امر نشانگر پراکسیداسیون لیپیدها بوده و می‌تواند ناشی از کاهش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان باشد (Jin et al., 2006). بر اثر تنش کم‌آبی و به دنبال افزایش رادیکال‌های آزاد، سطح فعالیت دی‌هیدروکسی‌گوانوزین افزوده شده و تخریب DNA بیش‌تر می‌شود. افزایش سطح فعالیت آسکوربات پراکسیداز و ویتامین E، باعث کاهش فعالیت دی‌هیدروکسی‌گوانوزین تا حدود ۵۰ درصد می‌گردد. اکسیژن فعال و عواملی که تولید رادیکال‌های اکسیژن می‌کنند، سبب خسارت‌های بسیار زیادی به DNA می‌گردد که از جمله آن حذف قسمتی از توالی، جهش و دیگر اثرهای ژنتیکی کشنده می‌باشد. توصیف صفات اختصاصی این آسیب‌ها به DNA نشان می‌دهد که هم قندها و هم بازها به اکسیداسیون حساس هستند. علت تخریب بازها جدا شدن و تشکیل پیوند در پروتئین‌ها است (پازکی، ۱۳۸۹). استفاده از ژئولیت یکی از روش‌های مقابله با کاهش رطوبت خاک است. ژئولیت آمینوسیلیکاتی با ساختار داربستی است که یون‌های بزرگ و مولکول‌های آب فضاهای آن را اشغال کرده و در ساختار آن متحرک می‌باشند. به‌طوری که واکنش‌های تعویض و آبدگیری آن‌ها به‌صورت برگشت‌پذیر انجام می‌پذیرد (Franz, 1983). ژئولیت به دلیل داشتن تخلخل بالا و ساختار کریستالی می‌تواند تا بیش از ۶۰ درصد وزنی خود آب را جذب کرده و به تدریج آن را در اختیار گیاه قرار دهد (Polat et al., 2004). بنابراین با توجه به موارد ذکر شده به منظور بررسی اثر مصرف ژئولیت بر میزان بیومارکرهای تخریب، محتوی نسبی آب برگ، نشت الکترولیت‌ها و کلروفیل کلزا (*Brassica napus* L.) در شرایط تنش خشکی این تحقیق انجام پذیرفت.

## مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر تنش کم‌آبی و مصرف ژئولیت بر میزان بیومارکرهای تخریب، محتوی نسبی آب برگ، نشت الکترولیت‌ها و کلروفیل کلزا (*Brassica napus* L.) رقم اکاپی، آزمایشی در پاییز ۹۱-۱۳۹۰ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه

آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی<sup>(۶)</sup> شهری این آزمایش به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار اجرا گردید که در آن دور آبیاری در سه سطح (آبیاری بر اساس ۸۰، ۱۳۰ و ۱۸۰ میلی‌متر تبخیر از سطح تشتک تبخیر کلاس A) به عنوان کرت اصلی، مصرف زئولیت در سه سطح (عدم مصرف و مصرف ۶ و ۱۲ تن در هکتار) به عنوان کرت فرعی و Okapi به عنوان رقم مورد آزمایش در نظر گرفته شد. برای انجام این تحقیق از زئولیت طبیعی کلینوپتیلولیت ( $\text{Na}_3\text{K}_3 (\text{Al}_6\text{Si}_{30}\text{O}_{72}) \cdot 24\text{H}_2\text{O}$ ) که توصیه شده برای کشاورزی است، به صورت مخلوط با خاک روی پشته‌ها به صورت یکسان و متوازن استفاده گردید.

هر کرت آزمایشی دارای شش خط کاشت شش متری با فاصله ۲۵ سانتی‌متر و تراکم ۹۰ بوته در مترمربع پس از زمستان گذرانی بود. بین هر دو کرت اصلی چهار خط و بین کرت‌های فرعی دو خط به صورت کشت نشده رها و فاصله بین تکرارها سه متر در نظر گرفته شد. قبل از اجرای آزمایش به منظور تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری نمونه‌برداری گردید که نتایج آن در جدول ۱ مشاهده می‌گردد.

جدول ۱: ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

عمق سانتی‌متر	شوری دسی‌زیمنس بر متر	آهک		کربن آلی		نیترژن رس لای ماسه		فسفر		پتاسیم آهن روی		مس منگنز	pH	بافت	
		درصد	درصد	درصد	درصد	میلی‌گرم بر کیلوگرم	میلی‌گرم بر کیلوگرم	میلی‌گرم بر کیلوگرم	میلی‌گرم بر کیلوگرم	میلی‌گرم بر کیلوگرم					
۳۰ تا صفر	۱/۹	۱۶/۷۵	۰/۶۰	۰/۰۹	۲۶	۴۰	۳۴	۱۹/۸	۳۴۰/۷	۶/۱۲	۰/۵۰	۰/۶۶	۶/۴۰	۷/۶۰	لوم، لوم-رسی

در این طرح به منظور تأمین حاصلخیزی شیمیایی و بر اساس نتایج آزمون خاک، ۶۰ کیلوگرم در هکتار نیترژن خالص از منبع اوره (۴۶ درصد) به صورت پایه و ۷۰ کیلوگرم در هکتار فسفات خالص ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) از منبع فسفات آمونیم همراه با ۲/۵ لیتر در هکتار علف‌کش ترفلان در زمان آماده‌سازی زمین مورد استفاده قرار گرفت (پازکی، ۱۳۸۹). هم‌چنین کود سرک نیترژن به میزان ۵۰ کیلوگرم در هکتار نیترژن خالص در دو مرحله آغاز ساقه رفتن و آغاز گل‌دهی مورد استفاده قرار گرفت. پس از در نظر گرفتن خط اول، آخر و ۵۰ سانتی‌متر ابتدا و انتهای هر خط کاشت به عنوان حاشیه، از چهار خط مرکزی هر کرت برای اندازه‌گیری صفات استفاده گردید.

جهت محاسبه محتوی نسبی آب برگ، تعداد پنج برگ کاملاً جوان و رسیده استفاده گردید. این نمونه‌ها بلافاصله در محیط آزمایشگاهی با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شده و در ادامه به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر قرار گرفتند، دوباره وزن گردیدند و در نهایت در آون ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک و وزن آن‌ها محاسبه گردید. محتوی نسبی آب برگ (RWC) با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد (Niki Esfahlan et al., 2013).

$$\text{رابطه ۱:} \quad \text{محتوی نسبی آب برگ} = \frac{\text{وزن خشک برگ} - \text{وزن تر برگ}}{\text{وزن خشک برگ} - \text{وزن برگ اشباع تورژسانس}} \times 100$$

نشت الکترولیت‌ها با قراردادن دیسک‌های پنج نمونه برگ رسیده در محلول 2Bar-مانیتول و تعیین میزان هدایت الکتریکی محلول با استفاده از دستگاه هدایت سنج الکتریکی (مدل Inolab 720) بر اساس واحد میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر مشخص گردید (عباس‌زاده و همکاران، ۱۳۸۶).

### سنجش میزان کلروفیل a+b

برای سنجش کلروفیل a+b از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) استفاده گردید. برای این منظور ۰/۲ گرم بافت تازه را از اندام هوایی جدا کرده با ۱۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد هم‌وزن کرده و پس از سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه جداسازی صورت پذیرفت و میزان جذب آن توسط اسپکتروفوتومتر (Carry 100) در طول موج ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (پازکی، ۱۳۸۹).

$$(chl\ a+b) = \%202\ A_{645}^b + 0/00802\ A_{663}^a$$

(میلی‌گرم در لیتر) a+b غلظت کلروفیل

جهت سنجش مالون‌دی‌آلدئید (MDH) از روش کروماتوگرافی (HPLC) (Steven, 1988؛ پازکی، ۱۳۸۹) و برای اندازه‌گیری دی‌هیدروکسی‌گونوزین (DHG) و دی‌تیروزین (TYS) از واکنش تیوبار به تیوریک‌اسید با اسکترفوتومتر (Carry 10) استفاده شد (Bogdanov *et al.*, 2000).

تجزیه‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام گردید. جهت رسم نمودارها نیز از برنامه آماری Excell استفاده گردید.

### نتایج و بحث

#### مالون‌دی‌آلدئید

از نظر میزان مالون‌دی‌آلدئید بین سطوح آبیاری تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد مشاهده گردید، به‌صورتی که متوسط مقدار مالون‌دی‌آلدئید در شرایط تنش کم‌آبی شدید و آبیاری معمول به ترتیب معادل ۲/۵۴ و ۱/۳۹ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین بود (جدول‌های ۲ و ۳). اثر زئولیت بر میزان مالون‌دی‌آلدئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید، به‌صورتی که عدم کاربرد زئولیت با ۲/۳۳ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین دارای بیش‌ترین و کاربرد ۱۲ تن در هکتار زئولیت با ۱/۸۲ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین، دارای کم‌ترین میزان صفت ذکر شده بود (جدول‌های ۲ و ۳). گزارش شده است افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدئید نیز بر اثر پراکسیداسیون لیپیدها در شرایط بروز تنش خشکی حاصل می‌شود (پازکی، ۱۳۸۹؛ Bingru and Jinmin, 2000). نتایج آزمایش‌ها به منظور بررسی تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و محصول تخریبی مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در آفتابگردان و سورگوم در شرایط تنش خشکی نشان داد، مالون‌دی‌آلدئید در شرایط تنش نسبت به آبیاری مطلوب افزایش می‌یابد (Zhang and Kirkham, 2006; Fereres *et al.*, 1986). تنش

کم آبی سبب افزایش میزان مالون دی آلدئید می‌گردد، در حقیقت بیشترین میزان مالون دی آلدئید، در شرایط بروز تنش مشاهده گردید که نشانگر افزایش تجزیه لیپیدها در این وضعیت است (پازکی، ۱۳۸۹). در حقیقت تنش کم آبی موجب افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش مقاومت غشایی و کلروفیل و کاروتنوئید گندم می‌شود. همچنین ارقامی که بیشترین میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند گلوکاتایون ردوکتاز و پراکسیداز را داشتند، کمترین پراکسیداسیون لیپیدها یعنی محتوی مالون دی آلدئید را به خود اختصاص دادند (Sairam and Saxena, 2000). اثر متقابل آبیاری و زئولیت بر میزان فعالیت مالون دی آلدئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار نگردید (جدول ۲).

### دی تیروزین

از نظر مقدار دی تیروزین به عنوان بیومارکر نشان‌دهنده تخریب پروتئین‌ها، بین سطوح آبیاری تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد مشاهده گردید، به صورتی که متوسط مقدار دی تیروزین در شرایط تنش کم آبی و آبیاری مطلوب به ترتیب معادل ۲۷/۰۲ و ۱۸/۵۵ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین بود (جدول‌های ۲ و ۳). با افزایش تنش خشکی رادیکال‌های آزاد اکسیژن به پروتئین‌ها حمله کرده و باعث تغییرات جزئی در مکان‌های مخصوص اسیدهای آمینه و تجزیه زنجیره پپتیدی می‌شوند. در این شرایط رادیکال‌های آزاد، باعث تخریب پروتئین‌ها شده، اسیدهای آمینه مختلف آزاد می‌شوند و از اتصال دو اسید آمینه تیروزین از محل اکسیژن‌های شان دی پپتیدی با نام دی تیروزین ایجاد می‌شود (پازکی، ۱۳۸۹). اثر زئولیت بر میزان دی تیروزین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱). در این شرایط، عدم کاربرد زئولیت با ۲۵/۷۹ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین دارای بیشترین و کاربرد ۱۲ تن در هکتار زئولیت با ۲۰/۸۵ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین دارای کمترین میزان صفت ذکر شده بود (جدول ۲). از جمله روش‌های جدیدی که برای افزایش تأثیرگذاری و جلوگیری از هدر روی رطوبت و کودهای شیمیایی مورد استفاده قرار گرفته به کارگیری ترکیبات طبیعی چون کانی‌های زئولیت در زراعت گیاهان است (Polate *et al.*, 2002). بر این اساس Ramachandra و همکاران (۲۰۰۴) اظهار داشتند در شرایطی نظیر تنش کم آبی و یا در رقمی که از بالاترین میزان آنزیم ذکر شده برخوردار بود، میزان بیومارکرهای تخریب نیز به صورت موازی تغییر می‌کند. اثر متقابل آبیاری و زئولیت بر میزان دی تیروزین معنی‌دار نگردید (جدول ۲).

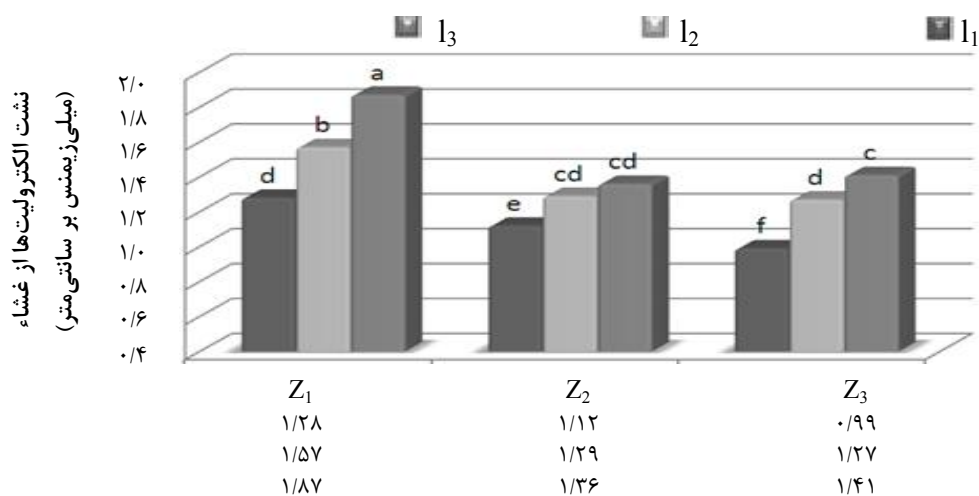
### دی هیدروکسی گوانوزین

از نظر مقدار دی هیدروکسی گوانوزین بین سطوح آبیاری تفاوت معنی‌داری در سطح پنج درصد مشاهده گردید (جدول ۲)، به صورتی که متوسط مقدار دی هیدروکسی گوانوزین در شرایط تنش آبی شدید و آبیاری مطلوب به ترتیب معادل ۱۷/۶۰ و ۱۰/۷۹ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین بود (جدول ۳). اثر زئولیت بر میزان دی هیدروکسی گوانوزین در سطح احتمال یک

درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲). در این شرایط عدم کاربرد زئولیت با ۱۸/۰۶ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین دارای بیش‌ترین و کاربرد ۱۲ تن در هکتار زئولیت با ۱۲/۶۱ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین دارای کم‌ترین میزان صفت ذکر شده بود (جدول ۳). افزایش میزان دی‌هیدروکسی‌گوانوزین به دلیل افزایش میزان تولید رادیکال‌های آزاد سوپر اکسید بر اثر بروز تنش اکسایشی در گیاه است. افزایش دی‌هیدروکسی‌گوانوزین در شرایط بروز تنش خشکی و توسعه آن، مؤید آسیب به ساختارهای ژنتیکی گیاه و تخریب اسیدهای نوکلئیک می‌باشد (Liu *et al.*, 1998). اثر متقابل آبیاری و زئولیت بر میزان دی‌هیدروکسی‌گوانوزین معنی‌دار نشد (جدول ۲).

### نشت الکترولیت‌ها

اثر سطوح آبیاری بر نشت الکترولیت‌ها از غشای سیتوپلاسمی تفاوت معنی‌داری را در سطح پنج درصد نشان داد (جدول ۲). به‌صورتی‌که متوسط نشت الکترولیت‌ها در شرایط تنش‌آبی شدید و آبیاری مطلوب به ترتیب معادل ۱/۵۵ و ۱/۱۳ میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر بود (جدول ۳). در تحقیقی بر روی گیاه گندم نشان دادند که تنش خشکی به‌طور معنی‌داری رطوبت نسبی را کاهش و شاخص نشت الکترولیت‌ها را افزایش داد. ضمن این‌که در ارقام چمران و الوند که دارای فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بیش‌تری بودند، محتوی رطوبت نسبی و پایداری غشای بیش‌تری وجود داشت (Khazaei and Borzoei, 2006). اثر زئولیت بر پایداری غشای سیتوپلاسمی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید، به‌صورتی‌که عدم کاربرد زئولیت با ۱/۵۷ میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر دارای بیش‌ترین و کاربرد ۱۲ تن در هکتار زئولیت با ۱/۲۳ میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر دارای کم‌ترین میزان صفت ذکر شده بود (جدول‌های ۲ و ۳). اثر متقابل آبیاری و زئولیت بر پایداری غشای سیتوپلاسمی در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر متقابل این دو عامل بر صفت مذکور نشان داد که انجام آبیاری مطلوب و کاربرد ۱۲ تن در هکتار زئولیت با ۰/۹۹ کم‌ترین و آبیاری بر اساس ۱۸۰ میلی‌متر تبخیر و عدم کاربرد زئولیت با ۱/۸۷ میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر، بیش‌ترین نشت الکترولیت‌ها را ایجاد کرد (شکل ۱). Samirnof (۱۹۸۹) اظهار داشتند که مصرف زئولیت از طریق فراهم نمودن مقادیر بیش‌تری از آب آبیاری برای ریشه‌ها و اندام‌های هوایی، باعث ایجاد شرایط رشد و نمو بهتری برای گیاهان شده و با کاستن از شدت تخریب غشای سلولی، باعث افزایش مقاومت غشای سیتوپلاسمی و دوام آن می‌گردد. Lee و همکاران (۲۰۰۶) اظهار داشتند که در گیاه یونجه در شرایط تنش خشکی، رطوبت نسبی خاک و گیاه کاهش یافتند و نشت الکترولیت‌ها افزایش نشان دادند. دلیل آسیب دیدگی گیاه در شرایط تنش علی‌رغم افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، اختلال در انتقال الکترون در فتوسیستم ۲ و تغییر حالت غشای سلول و نشت الکترولیت‌ها بر اثر کمبود آب می‌باشد. جباری و همکاران (۱۳۸۵) اظهار داشتند، بین تنش خشکی و میزان خسارت به غشای سلولی و تولید بیومارکرهای تخریبی یک همبستگی مثبت معنی‌دار وجود دارد.



شکل ۱: مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری و زئولیت بر نشت الکترولیت‌ها از غشا

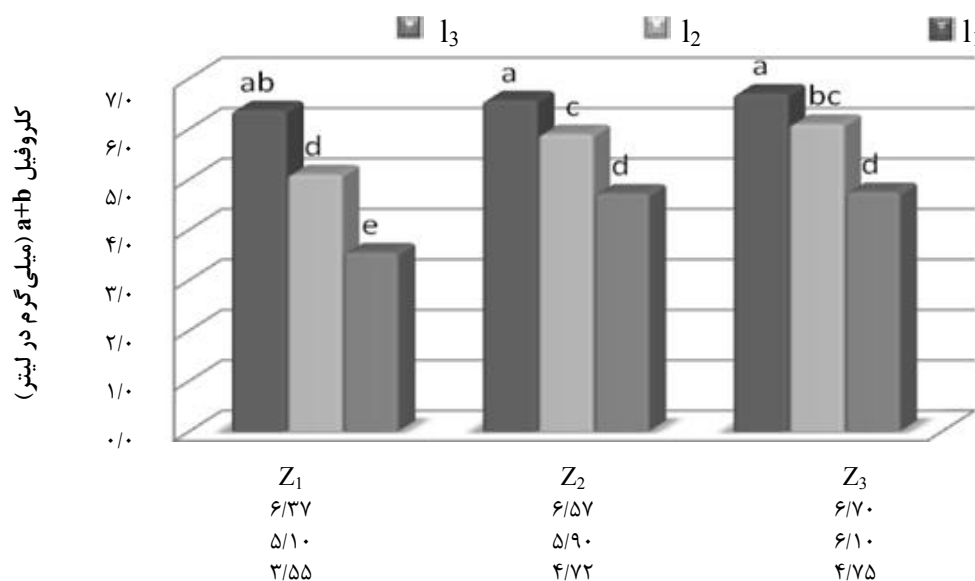
### محتوی نسبی آب برگ

تأثیر سطوح آبیاری بر محتوی نسبی آب برگ در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). متوسط محتوی نسبی آب برگ ارقام در شرایط تنش‌آبی شدید ۱۸۰ میلی‌متر و آبیاری معمول به ترتیب معادل ۶۱ و ۷۷ درصد بود (جدول ۳). اثر زئولیت بر محتوی نسبی آب برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲). در این وضعیت کاربرد ۱۲ تن در هکتار زئولیت با ۸۲/۵۰ دارای بیش‌ترین و عدم کاربرد زئولیت با ۷۲/۲۷ درصد دارای کم‌ترین محتوی نسبی آب برگ بود (جدول ۳). پتانسیل آب گیاه به‌طور مستقیم با تورم سلول و پتانسیل اسمزی گیاه ارتباط دارد. از طرف دیگر تورم در ارتباط نزدیک با توسعه و تقسیم سلولی است و بدین ترتیب ارتباط نزدیکی بین پتانسیل آب گیاه، محتوی نسبی آب برگ و در نهایت تولید بیوماس و عملکرد آن وجود دارد (Kumar and Singh, 1996). تنش کم‌آبی موجب کاهش مقاومت غشایی و محتوی نسبی آب برگ می‌گردد (Sairam and Saxena, 2000). مالون‌دی‌آلدئید در شرایط تنش خشکی افزایش یافته که نشانه پراکسیداسیون لیپیدها بوده و می‌تواند ناشی از کاهش سوپراکسیدسموتاز و کاتالاز باشد (Jin et al., 2006). در بررسی اثر تنش خشکی در لوبیا نیز چنین نتیجه‌گیری شد که در طول دوره‌ی کمبود آب، پتانسیل آب و محتوای آب نسبی برگ کاسته شد (Castrillo and Trujillo, 1994).

### مقدار کلروفیل

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر سطوح آبیاری بر مقدار کلروفیل  $a+b$  در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). متوسط مقدار کلروفیل  $a+b$  ارقام در شرایط تنش‌آبی شدید و آبیاری معمول به ترتیب معادل ۴/۳۴ و ۶/۵۵ میلی‌گرم در لیتر بود (جدول ۳). اثر زئولیت بر مقدار کلروفیل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید، در این شرایط کاربرد ۱۲ تن در هکتار زئولیت با ۵/۸۵ میلی‌گرم در لیتر دارای بیش‌ترین و عدم کاربرد زئولیت با ۵/۰۰

میلی گرم در لیتر دارای کم‌ترین میزان مقدار کلروفیل  $a+b$  بود (جدول‌های ۲ و ۳). جباری و همکاران (۱۳۸۵) نشان دادند که فعالیت بیش‌تر پراکسیداز در شرایط بوز تنش خشکی منجر پایداری بیش‌تر کلروفیل شده و با مقاومت زئوتیپ‌ها به تنش خشکی مرتبط است. دلخوش و همکاران (۱۳۸۱) به منظور ارزیابی تنش خشکی بر مقدار کلروفیل ارقام کلزا به این نتیجه رسیدند در سطوح آبیاری بر اساس ۸۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک کلاس A و قطع آبیاری از مرحله‌ی ساقه دهی، کلروفیل کل، کلروفیل  $b$  و کلروفیل  $a$  معنی‌دار شدند. پاک نژاد و همکاران (۱۳۸۵) و Lee و همکاران (۲۰۰۶) در بررسی اثر رژیم‌های مختلف آبیاری بر میزان فلورسانس کلروفیل در ارقام گندم نشان دادند، محتوی کلروفیل، محتوی نسبی آب برگ و عملکرد دانه به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت. به‌صورتی‌که ارقام با عملکرد بالا دارای میزان کلروفیل و محتوی نسبی آب برگ بیش‌تری بودند و از بروز خشکی در مرحله پر شدن دانه اجتناب کردند. اثر متقابل آبیاری و زئولیت بر میزان کلروفیل  $a+b$  در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲). در این شرایط، انجام آبیاری مطلوب و کاربرد ۱۲ تن در هکتار زئولیت با ۶/۷۰ میلی‌گرم در لیتر منجر به بیش‌ترین و تنش کم‌آبی شدید و عدم کاربرد زئولیت با ۳/۵۵ میلی‌گرم در لیتر منتهی به کم‌ترین میزان کلروفیل  $a+b$  گردید (شکل ۲). نظری و همکاران (۱۳۸۶) و فرهمند و همکاران (۱۳۸۶) با انجام آزمایش‌هایی به ترتیب بر روی گل جعفری و گل نرگس، اظهار داشتند که استفاده از زئولیت در محیط کشت باعث افزایش میزان فتوسنتز، کارایی یاخته‌های مزوفیل، کارایی مصرف آب و میزان کلروفیل شده است. تنش کم‌آبی موجب افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش مقاومت غشایی، کلروفیل و کاروتنوئید می‌شود (Sairam and Saxena, 2000). در تحقیقی بر روی گیاه گندم نشان دادند که تنش خشکی به‌طور معنی‌محتوی کلروفیل برگ را کاهش داد (Khazaie and Borzooei, 2006).



شکل ۲: مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری و زئولیت بر میزان کلروفیل  $a+b$

در بررسی فعالیت کلروفیل تحت شرایط تنش خشکی به این نتیجه رسید که در طول دوره‌ی کمبود آب از فعالیت آنزیم روبیسکو و محتوای کلروفیل کاسته شد (Castro and Trujillo, 1994). تحقیقات Ward و همکاران (۱۹۹۲) در بررسی اثر محیط بر تجزیه‌ی کلروفیل گیاه کلزا نشان دادند که از دست رفتن سریع رطوبت دانه می‌تواند، موجب بالاتر رفتن مقدار کلروفیل آن شود، در صورتی که وقتی سرعت کاهش رطوبت دانه کند است، مقدار کلروفیل دانه نیز کم‌تر می‌باشد.

**جدول ۲: تجزیه واریانس اثر آبیاری و ژنوتیپ بر میزان بیومارکرهای تخریب، نشت الکترولیت‌ها، محتوای نسبی آب برگ و کلروفیل a+b**

میانگین مربعات						درجه آزادی	منابع تغییرات
کلروفیل a+b	محتوای نسبی آب برگ	نشت الکترولیت‌ها	دی‌هیدروکسی‌گوانوزین (نانومول بر میلی‌گرم پروتئین)	دی‌تیروزین (نانومول بر پروتئین)	مالون‌دی‌آلدئید (نانومول بر پروتئین)		
۰/۰۰۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۱۴ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۶ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۶ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۸ <sup>ns</sup>	۳	تکرار
۰/۵۹۵**	۰/۰۲۷۱ <sup>*</sup>	۰/۰۵۵ <sup>°</sup>	۰/۱۲۵ <sup>°</sup>	۰/۰۸۰ <sup>°°</sup>	۰/۳۵۱ <sup>°°</sup>	۲	آبیاری
۰/۰۴۹	۰/۰۰۳۲	۰/۰۰۵	۰/۰۲۷	۰/۰۰۳۹	۰/۰۱۳	۶	خطا (a)
۰/۱۰۵**	۰/۰۰۴۷ <sup>°°</sup>	۰/۰۴۴ <sup>°°</sup>	۰/۰۵۷ <sup>°°</sup>	۰/۰۲۵۳ <sup>°°</sup>	۰/۰۶۶ <sup>°°</sup>	۲	ژنوتیپ
۰/۰۱۶**	۰/۰۰۰۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۳ <sup>*</sup>	۰/۰۱۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۲۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۸ <sup>ns</sup>	۴	آبیاری × ژنوتیپ
۰/۰۰۳	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۴	۰/۰۰۱۲	۰/۰۰۳	۱۸	خطا (b)
۱۱/۰۲	۹/۰۱	۶/۶۴	۱۹/۱۰	۷/۳۳	۱۰/۰۶	—	ضریب تغییرات (درصد)

ns، \* و \*\*؛ به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

**جدول ۳: مقایسه میانگین اثر آبیاری و مصرف ژنوتیپ بر میزان بیومارکرهای تخریب، نشت الکترولیت‌ها، محتوای نسبی آب برگ و کلروفیل a+b**

میانگین مربعات						عامل
کلروفیل a+b (میلی‌گرم در لیتر)	محتوای نسبی آب برگ (درصد)	نشت الکترولیت‌ها (میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر)	دی‌هیدروکسی‌گوانوزین (نانومول بر میلی‌گرم پروتئین)	دی‌تیروزین (نانومول بر پروتئین)	مالون‌دی‌آلدئید (نانومول بر پروتئین)	
دور آبیاری (I)						
۶/۵۵ a	۰/۷۷ a	۱/۱۳ b	۱۰/۷۹ b	۱۸/۵۵ c	۱/۳۹ b	آبیاری بر اساس ۸۰ میلی‌متر تبخیر (I1)
۵/۷۰ a	۰/۶۹ a	۱/۳۸ a	۱۶/۷۶ a	۲۳/۱۸ b	۲/۱۳ a	آبیاری بر اساس ۱۳۰ میلی‌متر تبخیر
۴/۳۴ b	۰/۶۱ b	۱/۵۵ a	۱۷/۶۰ a	۲۷/۰۲ a	۲/۵۴ a	آبیاری بر اساس ۱۸۰ میلی‌متر تبخیر
ژنوتیپ (Z)						
۵/۰۰ b	۰/۶۵ b	۱/۵۷ a	۱۸/۰۶ a	۲۵/۷۹ a	۲/۳۳ a	صفر تن در هکتار (V0)
۵/۷۳ a	۰/۷۰ a	۱/۲۶ b	۱۴/۴۸ b	۲۲/۱۱ b	۱/۹۱ b	۶ تن در هکتار (V1)
۵/۸۵ a	۰/۷۲ a	۱/۲۳ b	۱۲/۶۱ c	۲۰/۸۵ b	۱/۸۲ b	۱۲ تن در هکتار (V2)

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

**نتیجه‌گیری**

نتایج تحقیق نشان داد که از نظر صفات محتوای نسبی آب برگ و محتوای کلروفیل a+b، بین دور آبیاری ۸۰ و ۱۳۰ میلی‌متر اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید و همین شرایط برای تمامی بیومارکرهای تخریب مورد آزمون و نشت الکترولیت‌ها در دور آبیاری ۱۳۰ و ۱۸۰ میلی‌متر وجود داشت. در عین حال بجز صفت دی‌هیدروکسی‌گوانوزین، در سایر موارد تنها با کاربرد ۶ تن در هکتار ژنوتیپ اثر مطلوب ارتقای مقاومت به تنش کم‌آبی مشاهده گردید.

## منابع

- پازکی، ع. ر. ۱۳۸۹. اثر مصرف زئولیت و سطوح تنش کم‌آبی بر صفات فیزیولوژیکی، زراعی و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ارقام پاییزه کلزا (*Brassica napus* L.). گزارش نهایی طرح پژوهشی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری. ۱۴۲ ص.
- پاک‌نژاد، ف.، وزان، س.، مجیدی، ا. نورمحمدی، ق. و سیادت، س. ع. ۱۳۸۵. بررسی تأثیر تنش خشکی بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل، محتوی کلروفیل و عملکرد دانه ارقام مختلف گندم. نشریه علوم کشاورزی ایران. ۳: (۳۷-۱): ۴۸۱-۴۹۲.
- جباری، ف.، احمدی، ع.، پوستینی، ک. و علیزاده، ه. ۱۳۸۵. بررسی ارتباط فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با پایداری غشای سلولی و کلروفیل در ارقام گندم نان مقاوم و حساس به تنش خشکی. نشریه علوم کشاورزی ایران. ۲: (۳۷): ۳۱۶-۳۰۷.
- دلخوش، ب.، شیرانی‌راد، ا. ح.، نورمحمدی، ق. و درویش، ف. ۱۳۸۳. تأثیر تنش خشکی بر عملکرد و مقدار کلروفیل ارقام کلزا. هشتمین کنگره‌ی علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران. دانشکده‌ی علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، گیلان، ایران. ۳-۵ شهریور ماه ۱۳۸۳، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.
- عباس‌زاده، ب.، شریفی‌عاشورآبادی، ا.، لباسچی، م. ح.، نادری‌حاجی‌بافرکنندی، م. و مقدمی، ف. ۱۳۸۶. اثر *Melissa officinalis* L. (بادرنجبویه (RWC) تنش خشکی بر میزان پرولین، قندهای محلول، کلروفیل و آب نسبی. فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۳ (۴): ۵۱۲-۵۰۴.
- فرهمند، ه.، ف. نظری، س. عشقی و م. خوشخوی. ۱۳۸۶. کاربرد مقادیر مختلف زئولیت طبیعی و اتفن بر تولید گل نرگس شیراز. خلاصه مقالات پنجمین کنگره علوم باغبانی ایران. ۱۵-۱۲ شهریور ۱۳۸۶، دانشگاه شیراز، ایران.
- Bingru, H. and Jinmin, F. 2000.** Involvement of antioxidant and lipid peroxidation in the adoption of two cool- season grasses to localized drought stress. pp. 372-396, biosynthesis of rice and in relation to its stress resistance. *Plant Physiol Biochem* 43: 955-962.
- Bogdanov, M. B., Beal, M. F, McCabe, D. R, Griffin, R. M. and Matson, W. R. 1999.** A carbon column based LCEC approach to routine 8-hydroxy-2-deoxyguanosine measurements in urine and other biological matrices. *Free Radical Biology and Medicine* 27: 647-666.
- Carmody, O. 2001.** Why grow canola in the central grain belt. Bulliten 4492, Agricultural Western Australia, South Perth, Australia.

**Castrillo, M. and Trujillo I. 1994.** Ribulose-1-5, biphosphate caboxylase activity & chlorophyll & protein content in two cultivars of French bean plants under water stress & rewatering. *Photosynthetica* 30: 175-181.

**Fereres, E., Gimenez, C. and Fernandez, J. M. 1986.** Genetic variability in sunflower cultivars under drought. I. Yield relation. *Australian journal of Agricultural Research* 57: 573-582.

**Franz, CH. 1983.** Nutrient and water managent for medicinal and aromatic plants. *Acta Hort* 132: 203 – 215.

**Jin, J., Ningwei, Sh., Jinhe, B. and Junping, G. 2006.** Regulation of ascorbate peroxidase at the transcript level is involved in tolerance to postharvest water deficit stress in the cut Rose (*Rose Hybrida* L.) CV. Samantha. *Postharvest Biology and Technology* 40 (3): 236-243.

**Khazaie, H. R. and Borzooei, A. 2006.** Effects of water stress on antioxidant activity and physiological characteristics of wheat. The first international conference on the theory and practices in Biological Water Saving (ICTPB), 21-25 May, 2006. Beijing China.

**Kumar, A. and Singh, D. P. 1996.** Profile of leaf conductance and transpiration in Brassica species and influenced by water stress at different plant growth stage. *Annals of Biology ludhiana* 12(2): 255-263.

**Li, W. R., Zhang, S. Q. and Shan, L. 2006.** Effect of water stress on chlorophyll II fluorescence parameters and activity of antioxidant enzyme in Alfaalfa (*Medicago sativa* L.) seedlings. The first international conference on the theory and practices in Biological Water Saving (ICTPB), Beijing China.

**Liu, Z., Lu Y., Rosenstein, B., Lebwohl, M. and Wei, H. 1998.** Benzo[a]pyrene Enhances the Formation of 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine by Ultraviolet A Radiation in Calf Thymus DNA and Human Epidermoid Carcinoma Cells, *Biochemistry* 37 (28): 10307-10312.

**Mittler, R. 2002.** Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7: 405-410.

**Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. and Vanbreusegem, F. 2004.** Reactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Science* 9: 490-498.

**NiKi Esfahlan, E., Pazoki A. R, Rezaei, H, Eradatmande Asli, D. and Usefirad, M. 2013.** Effects of ascorbate foliar application on morphological traits, relative water content and extract yield of Purslane (*Portulaca oleracea* L.) under salinity stress. *Iranian Journal of Plant Physiology* 4 (1): 889-898.

**Ozkur, O., Ozdemir, F., Bor, M. and Turkan, I. 2009.** Physiochemical and antioxidant responses of the perennial xerophyte *Capparis ovata* Desf to drought. *Environmental and Experimental Botany* 66: 487-492.

**Polat, E., Karaca, M., Demir, H. and Nacio Onus, A. 2004.** Use of natural zeolite (Clinoptilolite) in agriculture. *J. Fruit Ornam. Plant Res* 12:183-189.

**Ramachandra, R., Chaitanya, K. V., Jutur, P. P. and Sumithra, K. 2004.** Differential antioxidative response to weather stress among five mulberry cultivars. *Environmental and Experimental Botany* 52: 33-42.

**Sairam, R. K. and Saxena, D. C. 2000.** Oxidative stress and antioxidants in wheat Genotypes: Possible Mechanism of water stress Tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science* 184 (1): 55-61.

**Samironof, N. 1998.** Drought influence the activity of enzymes of the chloroplast hydrogen peroxide system. *Journal of Experimental botany* 39:1097-1108.

**Ward, K., Scarth, R., Daun, J. and Mcvetty, P. B. E. 1992.** Effects of genotype and environment on seed chlorophyll gradation during ripening in four cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Canadian Journal of Plant Science* 72: 643-649.

**Zhang, Z. and Kirkham, M. B. 2006.** Enzymatic responses of the ascorbate-glutathione cycle to drought in Sorghum and sunflower plants. *Plant Science* 113 (2): 139-147.