

## اثر مصرف زئولیت بر میزان بیومارکرهای تخریب، محتوى نسبی آب برگ، نشت الکتروولیت‌ها و

### کلروفیل کلزا تحت شرایط تنفس کم‌آبی

\*علیرضا پازکی\*

گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد یادگار امام خمینی<sup>(د)</sup> شهری، 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 تنفس کم‌آبی و مصرف زئولیت بر میزان بیومارکرهای تخریب، محتوى نسبی آب برگ، نشت الکتروولیت‌ها و کلروفیل کلزا (*Brassica napus L.*) رقم Okapi، این آزمایش در پاییز ۱۳۹۰-۹۱ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی<sup>(د)</sup> شهری 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 میلی‌متر 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 معنی‌داری مشاهده شد و اثر برهمکنش تیمارهای آزمایشی تنها بر نشت الکتروولیت‌ها و محتوى کلروفیل‌ها معنی‌دار بود. مقایسه میانگین اثر اصلی آبیاری نشان داد، انجام آبیاری بر اساس ۱۸۰ میلی‌متر تبخیر از سطح تشتک تبخیر کلاس A، بیشترین میزان مالون‌دی‌آلدئید (۲/۵۴ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین)، دی‌هیدروکسی گوانوزین (۰/۶۰ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین)، دی‌تیروزین (۲۷/۰۲ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین) و نشت الکتروولیت‌ها (۱/۵۵ میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر) و کمترین محتوى نسبی آب برگ (۰/۶۱ درصد) و کلروفیل کل (۴/۳۲ میلی‌گرم در لیتر) را ایجاد نمود را ایجاد نمود. در شرایط تنفس خشکی شدید ۱۸۰ میلی‌متر، مصرف ۱۲ تن در هکتار زئولیت با بهبود وضعیت رطوبتی گیاه منجر به ممانعت از اثر تخریبی تنفس خشکی و کاهش میزان نشت الکتروولیت‌ها تا ۰/۹۹ میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر و کلروفیل a+b تا ۴/۷۵ میلی‌گرم در لیتر گردید.

واژه‌های کلیدی: تنفس خشکی، دی‌تیروزین و مالون‌دی‌آلدئید.

## مقدمه

کلزا به عنوان گیاه روغنی پاییزه یک‌ساله در بین دانه‌های روغنی دیگر به راحتی در تناب و غلات قرار می‌گیرد و دانه آن به طور متوسط دارای ۴۰-۴۵ 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). مalon دی‌آلدئید 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 پراکسید از 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 زئولیت یکی از روش‌های مقایله با کاهش رطوبت خاک است. زئولیت آمینوسیلیکاتی با ساختار دارپستی است که یون‌های بزرگ و مولکول‌های آب فضاهای آن را اشغال کرده و در ساختار آن متحرک می‌باشند. به‌طوری که واکنش‌های تعویض و آبگیری آن‌ها به صورت برگشت‌پذیر انجام می‌پذیرد (Franz, 1983). زئولیت به دلیل داشتن تخلخل بالا و ساختار کربستالی 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 زئولیت بر میزان بیومارکرهای تخریب، محتوی نسبی آب برگ، نشت الکتروولیتها 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 زئولیت بر میزان بیومارکرهای تخریب، محتوی نسبی آب برگ، نشت الکتروولیتها و کلروفیل کلزا (*Brassica napus* L.) رقم اکاپی، آزمایشی در پاییز ۹۱-۱۳۹۰ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه

آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی<sup>(۵)</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 تشک 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 ( $\text{Na}_3\text{K}_3(\text{Al}_6\text{Si}_{30}\text{O}_{72})_{24}\text{H}_2\text{O}$ ) که توصیه شده برای کشاورزی است، به صورت مخلوط با خاک روی پشت‌های 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 سانتی‌متر نمونه‌برداری گردید که نتایج آن در جدول ۱ مشاهده می‌گردد.

**جدول ۱: ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش**

صفراحت	۱/۹	۳۰ سانتی‌متر	ساختی متر دسی‌زیمس بر متر	عمق شوری		آهک کربن آلی نیتروژن رس لای ماسه	فسفر پتانسیم آهن روی مس منگنز	آهک کربن آلی نیتروژن رس لای ماسه	فسفر میلی‌گرم بر کیلوگرم	pH	بافت
				درصد	درصد						
لوم، لوم-رسی	۷/۶۰	۶/۴۰	۱۶/۷۵	۰/۰۹	۰/۰۶۰	۰/۰۶	۰/۰۹	۰/۰۶	۰/۰۶۶	۳۴۰/۷	۱۹/۸

در این طرح به منظور تأمین حاصلخیزی شیمیایی و بر اساس نتایج آزمون خاک، ۶۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن خالص از منبع اوره (۴۶ درصد) به صورت پایه و ۷۰ کیلوگرم در هکتار فسفات خالص ( $\text{P}_{205}$ ) از منبع فسفات‌آمونیم همراه با ۲/۵ لیتر در هکتار علف‌کش ترفلان در زمان آماده‌سازی زمین مورد استفاده قرار گرفت (پازکی، ۱۳۸۹). همچنین کود سرک نیتروژن به میزان ۵۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن 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 بلا فاصله در محیط آزمایشگاهی با دقت ۱/۰۰۰ 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).

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

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 720 Inolab) بر اساس واحد میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر مشخص گردید (عباس‌زاده و همکاران، ۱۳۸۶).

### سنچش میزان کلروفیل a+b

برای سنچش کلروفیل a+b از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) استفاده گردید. برای این منظور  $\frac{1}{2} \times 0.00802 A_{663}^b + 0.202 A_{645}^a$  (میلی‌گرم در لیتر) اندام هوایی جدا کرده با ۱۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد هموزن کرده و پس از سانتریفیوز 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 اندازه گیری شد (پازکی، ۱۳۸۹).

$$(chl\ a+b) = \%202 \times A_{663}^b + 0.00802 A_{645}^a$$

جهت سنچش مالون‌دی‌آلدئید (MDH) از روش کروماتوگرافی (HPLC) (Steven, 1988) و دی‌تیروزین (DHG) و دی‌گوانوزین (TYS) از واکنش تیوبار به تیوریک‌اسید با اسکتروفوتومتر (Bogdanov *et al.*, 2000) استفاده شد (Carry 10).

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 آنتی اکسیدانت 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

کم‌آبی سبب افزایش میزان مالون دی‌آلدئید می‌گردد، در حقیقت بیشترین میزان مالون دی‌آلدئید، در شرایط بروز تنش مشاهده گردید که نشانگر افزایش تجزیه لیپیدها در این وضعیت است (پازکی، ۱۳۸۹). در حقیقت تنش کم‌آبی موجب افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش مقاومت غشایی و کلروفیل و کاروتونویید گندم می‌شود. همچنین ارقامی که بیشترین میزان آنزیمهای آنتی‌اکسیدان مانند گلوتاتیون ردوکتاز و پراکسیداز را داشتند، کمترین پراکسیداسیون لیپیدها یعنی محتوی مالون دی‌آلدئید را به خود اختصاص دادند (Sairam and Saxena, 2000).

اثر متقابل آبیاری و زئولیت بر میزان فعالیت مالون دی‌آلدئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار نگردید (جدول ۲).

### دی‌تیروزین

از نظر مقدار دی‌تیروزین به عنوان بیومارکر نشان‌دهنده تخربی پروتئین‌ها، بین سطوح آبیاری تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد مشاهده گردید، بهصورتی که متوسط مقدار دی‌تیروزین در شرایط تنش کم‌آبی و آبیاری مطلوب به ترتیب معادل ۰/۰۷۲ و ۵۵/۱۸ 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 تخربی پروتئین‌ها شده، اسیدهای آمینه مختلف آزاد می‌شوند و از اتصال دو اسید آمینه تیروزین از محل اکسیژن‌های شان دی‌پپتیدی با نام دی‌تیروزین ایجاد می‌شود (پازکی، ۱۳۸۹). اثر زئولیت بر میزان دی‌تیروزین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱). در این شرایط، عدم کاربرد زئولیت با ۷۹/۲۵ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین دارای بیشترین و کاربرد ۱۲ تن در هکتار زئولیت با ۸۵/۲۰ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین دارای کمترین میزان صفت ذکر شده بود (جدول ۲). از حمله 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 کم‌آبی و یا در رقمی که از بالاترین میزان آنزیم ذکر شده برخوردار بود، میزان بیومارکرهای تخربی نیز بهصورت موازی تغییر می‌کند. اثر متقابل آبیاری و زئولیت بر میزان دی‌تیروزین معنی‌دار نگردید (جدول ۲).

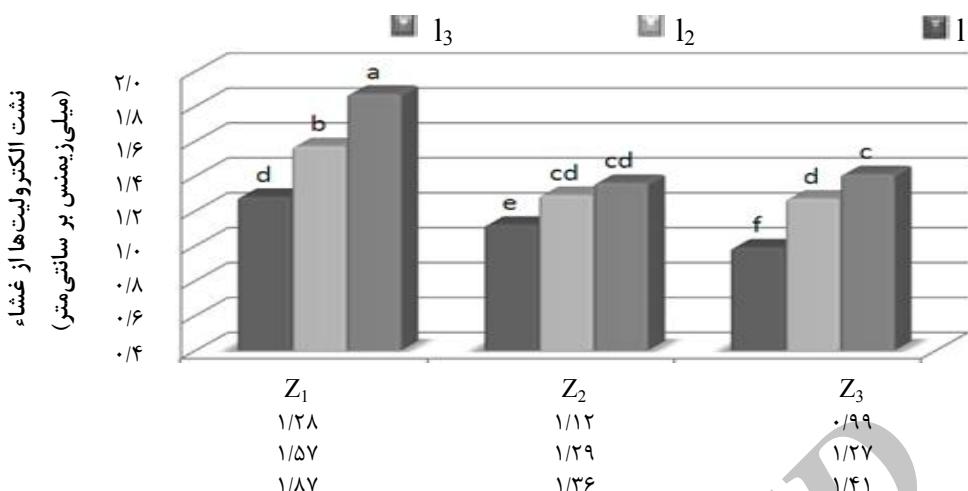
### دی‌هیدروکسی‌گوانوزین

از نظر مقدار دی‌هیدروکسی‌گوانوزین بین سطوح آبیاری تفاوت معنی‌داری در سطح پنج درصد مشاهده گردید (جدول ۲)، بهصورتی که متوسط مقدار دی‌هیدروکسی‌گوانوزین در شرایط تنش‌آبی شدید و آبیاری مطلوب به ترتیب معادل ۶۰/۱۷ و ۷۹/۱۰ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین بود (جدول ۳). اثر زئولیت بر میزان دی‌هیدروکسی‌گوانوزین 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 تنفس اکسایشی در گیاه است. افزایش دی‌هیدروکسی‌گوانوزین در شرایط بروز تنفس 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 الکتروولیتها

اثر سطوح آبیاری بر نشت الکتروولیتها از غشای سیتوپلاسمی تفاوت معنی‌داری را در سطح پنج درصد نشان داد (جدول ۲). بهصورتی که متوسط نشت الکتروولیتها در شرایط تنفس آبی 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 تنفس خشکی به‌طور معنی‌داری رطوبت نسبی را کاهش و شاخص نشت الکتروولیتها را افزایش داد. ضمن این که در ارقام چمران و الوند که دارای فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اسیدان 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، بهصورتی که 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 الکتروولیتها را ایجاد کرد (شکل ۱). Samirnof (۱۹۸۹) اظهار داشتند که مصرف زئولیت از طریق فراهم نمودن مقداری 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 سیتوپلازمی و دوام آن می‌گردد. Lee و همکاران (۲۰۰۶) اظهار داشتند که در گیاه یونجه در شرایط تنفس خشکی، رطوبت نسبی خاک و گیاه کاهش یافتند و نشت الکتروولیتها افزایش نشان دادند. دلیل آسیب دیدگی گیاه در شرایط تنفس علی‌رغم افزایش آنزیم‌های آنتی‌اسیدان، اختلال در انتقال الکترون در فتوسیستم ۲ و تغییر حالت غشای سلول و نشت الکتروولیتها بر اثر کمبود آب می‌باشد. جباری و همکاران (۱۳۸۵) اظهار داشتند، بین تنفس 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 غشاء

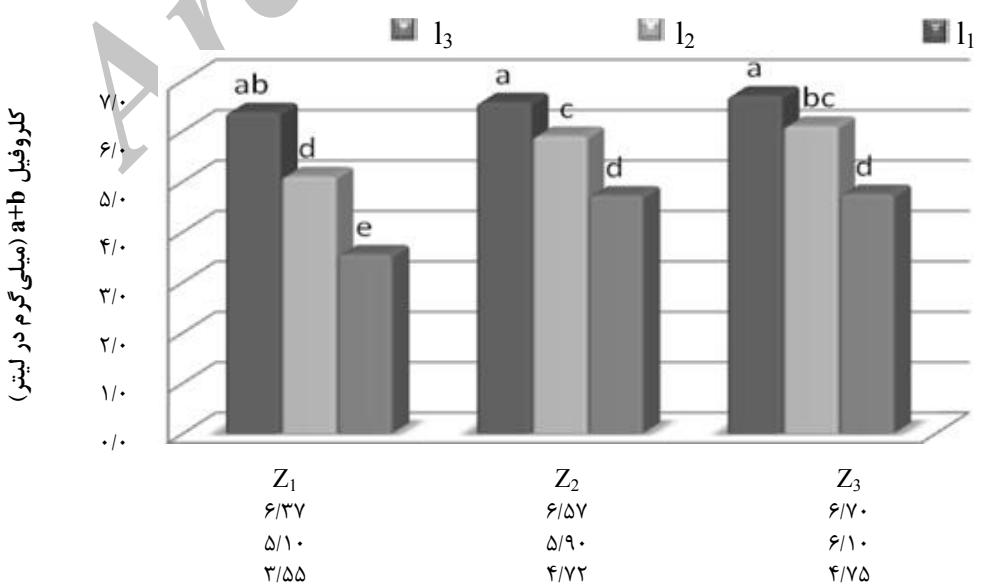
#### محتوی نسبی آب برگ

تأثیر سطوح آبیاری بر محتوی نسبی آب برگ در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). متوسط محتوی نسبی آب برگ ارقام در شرایط تنفس آبی 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 به طور 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). تنفس کم‌آبی موجب کاهش مقاومت غشایی و محتوی نسبی آب برگ می‌گردد (Sairam and Saxena, 2000). مالون دی‌آلدید در شرایط تنفس خشکی افزایش یافته که نشانه پراکسیداسیون لیپیدها بوده و می‌تواند ناشی از کاهش سوپراکسیدیسموتاز و کاتالاز باشد (Jin *et al.*, 2006). در بررسی اثر تنفس خشکی در لوپیا نیز چنین نتیجه‌گیری شد که در طول دوره‌ی کمبود آب، پتانسیل آب و محتوی 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 تنفس آبی 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

میلی‌گرم در لیتر دارای کمترین 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 ژنتیکی‌ها 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 تشک کلاس A و قطع آبیاری از مرحله 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 به صورت معنی‌داری کاهش یافت. به صورتی که 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 فتوسنتر، کارایی یاخته‌های مزوپلیمر، کارایی مصرف آب و میزان کلروفیل شده است. تنش کم‌آبی سایرایم و Saxena, (2000) موجب افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش مقاومت غشایی، کلروفیل و کاروتینویید می‌شود (Khazaie and Borzooei, 2006).



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

در بررسی فعالیت کلروفیل تحت شرایط تنفس خشکی به این نتیجه رسید که در طول دوره‌ی کمبود آب از فعالیت آنزیم روبیسکو و محتوای کلروفیل کاسته شد (Castrillo and Trujillo, 1994) 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 زئولیت بر میزان بیومارکرهای تخریب، نشت الکتروولیت‌ها، محتوی نسبی آب برگ و کلروفیل a+b**

منابع تغییرات	آزادی	درجه	میانگین مربعات	دی‌تیبروزین	مالون دی‌آلدئید	دی‌هیدروگوسی‌گوانوزین	نشت الکتروولیت‌ها	محتوی نسبی آب برگ	کلروفیل a+b
تکرار	۳			۰/۰۰۰۶ ns	۰/۰۰۸ ns	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۰۶ ns	۰/۰۰۱۴ ns	۰/۰۰۷ ns
آبیاری	۲			۰/۰۸۰ **	۰/۳۵۱ **	۰/۱۲۵ *	۰/۰۵۵ *	۰/۰۲۷۱ *	۰/۵۹۵ **
(a)	۶			۰/۰۰۳۹	۰/۰۱۳	۰/۰۲۷	۰/۰۰۵	۰/۰۰۳۲	۰/۰۴۹
زئولیت	۲			۰/۰۲۵۳ **	۰/۰۶۶ **	۰/۰۵۷ **	۰/۰۴۴ **	۰/۰۰۴۷ **	۰/۱۰۵ **
آبیاری × زئولیت	۴			۰/۰۰۲۵ ns	۰/۰۰۸ ns	۰/۰۱۱ ns	۰/۰۰۳ *	۰/۰۰۰۲ ns	۰/۰۱۶ **
(b)	۱۸			۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۳
ضریب تغییرات (درصد)	—			۷/۳۳	۱۰/۰۶	۱۹/۱۰	۶/۶۴	۹/۰۱	۱۱/۰۲

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 زئولیت بر میزان بیومارکرهای تخریب، نشت الکتروولیت‌ها، محتوی نسبی آب برگ و کلروفیل a+b**

عامل	دور آبیاری (I)	دور آبیاری بر اساس میلی‌متر تبخیر (II)	آبیاری بر اساس میلی‌متر تبخیر (III)	آبیاری بر اساس میلی‌متر تبخیر (IV)	زئولیت (Z)
کلروفیل a+b (میلی‌گرم در لیتر)	۱/۳۹ b	۱۸/۵۵ c	۲۳/۱۸ b	۲۷/۰۲ a	۱/۳۹ a
محتوی نسبی آب برگ (درصد)	۰/۷۷ a	۱/۱۳ b	۱۶/۷۶ a	۱۷/۶۰ a	۰/۶۹ a
نشت الکتروولیت‌ها (میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر)	۱/۳۸ a	۱۰/۷۹ b	۱۸/۰۶ a	۱۴/۴۸ b	۱/۵۵ a
دی‌هیدروگوسی‌گوانوزین (نانومول بر میلی‌گرم پروتئین)	۱/۵۵ a	۱/۰۵ a	۲۵/۷۹ a	۲۲/۱۱ b	۰/۶۹ a
دی‌تیبروزین (نانومول بر میلی‌گرم پروتئین)	۱/۰۵ a	۱/۰۵ c	۱/۰۸ a	۱/۰۸ a	۰/۷۰ a
مالون دی‌آلدئید (نانومول بر میلی‌گرم پروتئین)	۱/۰۶ a	۱/۰۶ a	۱/۰۶ a	۱/۰۶ a	۰/۷۳ a

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

### نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق نشان داد که از نظر صفات محتوی نسبی آب برگ و محتوی 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 الکتروولیت‌ها در دور آبیاری ۱۳۰ و ۱۸۰ میلی‌متر وجود داشت. در عین حال بجز صفت دی‌هیدروگوسی‌گوانوزین، در سایر موارد تنها با کاربرد ۶ تن در هکتار زئولیت اثر مطلوب ارتقا مقاومت به تنفس 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) شهری. 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: ۴۹۲-۴۸۱ (۱-۳۷).
- 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: ۳۰۷-۳۱۶ (۳۷).
- 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.. نادری‌ حاجی‌بافرکندي، م. و مقدمی، ف. ۱۳۸۶. اثر فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۳ (۴): ۵۰۴-۵۱۲.
- فرهمند، ه.. ف. نظری.. س. عشقی و م. خوشخوی. ۱۳۸۶. کاربرد مقادیر مختلف زئولایت طبیعی و اتنی 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 carboxylase activity & chlorophyll & protein content in two cultivars of French bean plants under water stress & rewatering. *Photosynthetica* 30: 175-181.
- Fereres, E., Gimenz, 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 Esfahanl, 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 Turkcan, I.** 2009. Physicochemical 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 amoung 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 Mechanismof water stress Tollerance. *Journal of Agronomy and Crop Science* 184 (1): 55-61.
- Samironof , N.** 1998. Drought influence the activity of enzymes of the cholorplast hydrogenproxide 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.