به‌زراعی کشاورزی
دوره ۲۰ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۷
صفحه‌های ۳۴۳-۳۲۹

تأثیر تغذیه روی بر کاهش خسارت اکسیداتیو ناشی از تنش شوری در دو رقم زیتون

محمدرضا نائینی[۱]، محمود اثنی‌عشری[۲*]، امیرحسین خوشگفتار منش[۳]، محمدهادی میرزاپور[۴]

۱. دانش‌آموخته دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.
۲. استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.
۳. استاد، گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.
۴. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، بخش تحقیقات زراعی باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان قم، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، قم، ایران.

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۴/۰۵/۰۶ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۰۵/۰۴

چکیده

از اثرهای مخرب شوری، افزایش رادیکال‌های آزاد در سلول‌ها و در نتیجه افزایش نشت یونی در آنها است. به‌منظور بررسی تأثیر عنصر روی بر برخی آنزیم‌های مهارکننده رادیکال‌های آزاد (کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز) و کاهش صدمات ناشی از تنش شوری حاصل از کلرید سدیم در دو رقم زیتون (’فرانتویو‘ و ’کنسروالیا‘) آزمایشی گلدانی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه‌های مزرعه فدک قم در سال ۱۳۹۳ انجام شد. در این آزمایش، نهال‌های یک ساله دو رقم زیتون به‌مدت ۸ هفته در معرض چهار سطح شوری صفر، ٤٠، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و سه غلظت صفر، یک و پنج میکرومولار روی از منبع سولفات روی قرار گرفتند. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، با افزایش سطح شوری، وزن خشک ریشه و برگ و ارتفاع نهال‌ها کاهش یافت، ولی نشت یونی پتاسیم و روی در ریشه و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در برگ افزایش یافت. همچنین با افزایش سطوح روی، نشت یونی پتاسیم و روی کاهش و وزن خشک ریشه و برگ، ارتفاع نهال، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز افزایش یافت. نتایج نشان داد که بافت ریشه رقم ’فرانتویو‘ در مقایسه با رقم ’کنسروالیا‘ غلظت گروه‌های سولفهیدریل، بیشتر و نیز نشت یون‌های پتاسیم و روی کمتری دارد. بر همین اساس، رقم ’فرانتویو‘ در مقایسه با رقم ’کنسروالیا‘ در برابر تنش اکسیداتیو حاصل از تنش شوری متحمل‌تر است.

کلیدواژه‌ها: آسکوربات پراکسیداز، آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو، سولفهیدریل، کاتالاز، نشت یونی.

* نویسنده مسئول
Email: m.esnaashari@basu.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

۱. مقدمه

درخت زیتون مناسب کشت در نواحی مدیترانه‌ای می‌باشد و ۹۶ درصد روغن زیتون دنیا در این نواحی تولید می‌شود. شوری منابع آب و خاک مساله‌ای جدی در نواحی خشک و نیمه‌خشک از جمله نواحی مدیترانه‌ای است. در این ناحیه، گیاهان در معرض دماهای بالا و کمبود شدید آب در طول فصل خشک می‌باشند. در این شرایط، تبخیر زیاد و افزایش غلظت یون‌ها، سبب انباشتگی نمک در خاک می‌شود [۱۳]. تحمل درختان زیتون به شوری در حد متوسط می‌باشد [۲۱] و توسعه کشت آن در نواحی با آب و خاک شور اهمیت ویژه‌ای دارد.

تنش شوری به‌وسیله القای کمبود آب و در نتیجه بستن روزنه‌ها، کاهش قابلیت دسترسی دی‌اکسیدکربن[1] و فتوسنتز سبب تنش اکسیداتیو می‌گردد. بنابراین، احتمال تشکیل گونه‌های واکنش‌گر[2] اکسیژن را در کلروپلاست‌ها افزایش می‌دهد. هنگامی‌که غلظت دی‌اکسیدکربن درون کلروپلاست در اثر بسته‌شدن روزنه کاهش می‌یابد، از قابلیت دسترسی نیکوتین‌آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات[3] برای پذیرش الکترون‌های سیستم نوری یک[4] کاسته شده و بنابراین احیای اکسیژن با تولید همزمان گونه‌های اکسیژن فعال‌شده شروع می‌گردد [۱۵]. گونه‌های اکسیژن فعال‌شده، می‌توانند سوخت‌وساز طبیعی سلول را از طریق تخریب اکسیداتیو چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک به مخاطره اندازند. سوپر اکسید[5] به محض تولید، یا به‌صورت آنزیمی یا غیرآنزیمی دیسموته می‌شود و پراکسید هیدروژن[6] و اکسیژن تولید می‌کند. تبدیل سوپر اکسید به پراکسید هیدروژن مشکلاتی برای گیاهان ایجاد می‌کند، به‌طوری‌که پراکسید هیدروژن، بازدارنده قوی چرخه کلوین می‌باشد [۱۶].

بررسی‌های مختلف نشان داده است که ساختمان و عملکرد غشاهای سلول‌های گیاهی به‌شدت تحت تأثیر کمبود روی قرار می‌گیرد [۷]. روی هم در تکامل ساختار غشا و هم در حفاظت آن در برابر صدمات ناشی از تنش‌های محیطی مختلف، نقش به‌سزایی ایفا می‌کند. روی با اتصال به فسفولیپیدها و گروه‌های سولفهیدریل غشای سلولی، سبب پایداری این غشاها و ممانعت از تخریب آنها می‌شود. اکسایش لیپیدهای غشای سلولی سبب افزایش نفوذپذیری غیرانتخابی غشا و در نتیجه، افزایش نشت یون‌ها از داخل سلول‌های ریشه به بیرون از سلول می‌شود [۳]. روی می‌تواند توسط آنزیم نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات هیدروژن – اکسیداز[7] متصل به غشای سلولی به گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر حمله کند. بنابراین عنصر روی، آنتی‌اکسیدان حفاظتی قوی در برابر اکسیداسیون اجزای حیاتی سلولی مثل کلروفیل، چربی‌ها و پروتئین غشا (شامل آنزیم‌های پیوندشده با روی، آنزیم‌های سولفهیدریل[8]، پروتئین‌های متصل به دزوکسی ریبونوکلئیک اسید[9] و پروتئین‌های غشا) می‌باشد [۶]. گیاهان برای محافظت از خود در برابر این شرایط، سازوکارهای ویژه حفاظتی دارند که شامل تولید مولکول‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌باشد. تغذیه روی با افزایش غلظت گروه‌های سولفهیدریل و کاهش نفوذپذیری غشا ریشه، پراکسیداسیون چربی توسط رادیکال‌های آزاد تولیدشده در شرایط تنش را کاهش می‌دهند [۲۳ و ۲۶]. نتایج برخی آزمایش‌ها نشان داده که

1. CO_2
2. ROS
3. $NADP^+$
4. PS1
5. O_2^{-1}
6. H_2O_2
7. NADPH-oxidase
8. SH
9. DNA

Archive of SID
www.SID.ir

کاربرد روی در شرایط شور باعث افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد می‌گردد [٤ و ٥]. همچنین، کاربرد سولفات روی به‌صورت چالکود یک راه مؤثر برای افزایش میزان محصول و کیفیت انار در خاک‌های آهکی و نیمه‌شور می‌باشد [١٩]. اگرچه، نقش مثبت کاربرد روی در کاهش خسارت شوری در گیاهان مختلف بررسی شده است، اطلاعات اندکی پیرامون تأثیر این عنصر بر خسارت اکسیداتیو و پاسخ آنتی‌اکسیداتیو زیتون در شرایط تنش شوری وجود دارد. بنابراین، هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی اثر تغذیه روی بر پاسخ آنتی‌اکسیداتیو و اثر آن بر خسارت ناشی از شوری در دو رقم زیتون (‘فرانتویو’[1] و ‘کنسروالیا’[2]) بود.

۲. مواد و روش‌ها

آزمایش در گلخانه‌های مزرعه فدک قم در سال ۱۳۹۳ انجام شد. نهال‌های یک ساله دو رقم زیتون (*Olea europea* L. ‘کنسروالیا’ و ‘فرا نتویو’ [۱ و ۲]) در معرض چهار سطح شوری صفر، ٤٠، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و سه غلظت روی از منبع سولفات روی آبدار[3] شامل صفر، یک و پنج میکرومولار قرار گرفتند. سطوح مختلف کلرید سدیم و سولفات روی به محلول غذایی نیم هوگلند اضافه شدند. هر واحد آزمایشی شامل پنج گلدان و در هر گلدان یک نهال کشت شد. نهال‌های یک‌ساله با ارتفاع یکسان (۵۰ سانتی‌متر) که به‌صورت تک‌شاخه هرس شده بودند از مزرعه فدک قم تهیه شدند. ریشه‌های آن‌ها با آب مقطر شستشو و سپس به بستر کشت (گلدان‌های پلاستیکی ۱۰ لیتری محتوای ماسه و پرلیت با نسبت یک به یک) در داخل گلخانه با درجه حرارت روز و شب به‌ترتیب ۲۵ و ۲۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ٦٥٪ انتقال داده شدند. پس از استقرار نهال‌ها، تنش شوری اعمال شد. تیمارهای شوری به‌تدریج و تا رسیدن به غلظت مورد نظر طی ۱۰ روز به محلول غذایی نیم هوگلند[4] اضافه شد. محلول غذایی به‌همراه تیمارهای کلرید سدیم و سولفات روی، به‌میزان ۳۰۰ میلی‌لیتر یک روز در میان به گلدان‌ها داده شد. پس از رسیدن سطوح نهایی شوری هریک از تیمارها، گیاهان در همین شرایط به‌مدت دو ماه نگهداری شدند.

وزن خشک ریشه و برگ‌ها و طول شاخه‌های فرعی و اصلی اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری وزن خشک ریشه و برگ، ابتدا آنها به‌طور جداگانه برداشت شدند و با آب مقطر شستشو و به‌مدت ٤٨ ساعت در دمای ٦٥ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت در خشک‌کن قرار گرفتند. سپس وزن خشک ریشه و برگ محاسبه شد. حدود یک گرم از بافت خشک گیاهی پودر شده (ریشه و برگ) در دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد کوره الکتریکی خاکستر شد و سپس عصاره‌گیری با استفاده از اسید کلریدریک انجام شد. غلظت روی، در عصاره‌های ریشه و برگ توسط دستگاه جذب اتمی (واریان، اسپکترا ۲۲۰)[5] اندازه‌گیری شد.

حدود دو ماه پس از انتقال نهال‌ها به محلول‌غذایی، یک نهال از هر تکرار جدا شد و ریشه‌های آن به‌مدت ۱۵ دقیقه در محلول سولفات کلسیم نیم میلی‌مولار به همراه اسید بوریک ۰/۰۱ میلی‌مولار قرار داده شد تا محلول‌غذایی چسبیده به ریشه گیاه از آن جدا شود. سپس ریشه‌ها به خوبی با آب مقطر شسته و به‌مدت چهار ساعت در ظروف ٤٠٠ میلی‌لیتری حاوی محلول نشت یونی (سولفات کلسیم نیم میلی‌مولار به‌همراه اسید بوریک

1. Frontoio
2. Conservolea
3. $ZnSO_4.7H_2O$
4. Half-strength Hoagland's Solution
5. Varian-spectra 220

Archive of SID
www.SID.ir

۰/۰۱ میلی‌مولار) قرار داده شدند [۲۲]. غلظت عنصر روی در محلول نشت یافته از ریشه گیاه با استفاده از دستگاه جذب اتمی (واریان، اسپکترا ۲۲۰) و غلظت پتاسیم با استفاده از دستگاه شعله‌سنج جی-٤٠٥[1] شرکت فاطر الکتریک، اندازه‌گیری شد.

جهت تهیه عصاره آنزیمی برگ برای تعیین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از روش دیندسا و همکاران استفاده شد [۸]. به این منظور، ابتدا نیم گرم از نمونه برگ تازه با آب مقطر شسته و خشک شد سپس با پنج میلی‌لیتر از محلول استخراج، حاوی ۰/۱ مول فسفات پتاسیم بافر (واکنش=۷/۵) و نیم میلی‌مول اتیلن دی آمین تترا استیک اسید[2]، توسط هاون نرم ساییده و مخلوط حاصل از تنظیف عبور داده شد. سپس این محلول داخل تیوپ‌های ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته شد و به‌مدت ۱۵ دقیقه توسط سانتریفوژ یخچال‌دار با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه و دمای چهار درجه سانتی‌گراد جداسازی گردید. مایع شفاف داخل تیوپ که حاوی عصاره آنزیمی موردنظر بود، جهت تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها مورد استفاده قرارگرفت.

فعالیت آنزیم کاتالاز طبق روش کک‌مک (۲۰۰۰) تغییر یافته اندازه‌گیری شد [٦]. حجم مخلوط برای اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز سه میلی‌لیتر شامل بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار (واکنش= هفت) و پراکسید هیدروژن ۱۰ میلی‌مولار بود. واکنش با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر محلول آنزیمی استخراج‌شده شروع شد و فعالیت آنزیم با ناپدید شدن پراکسید هیدروژن در ۷۰ ثانیه در طول موج ۲٤۰ نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنج شیمادزواوال ٦۰[3] اندازه‌گیری شد. ضریب خاموشی به‌کاررفته در این آزمایش (۳۹/٤ میلی‌مول بر سانتی‌متر) بود. در نهایت فعالیت آنزیم کاتالاز برحسب میلی‌مولار آب اکسیژنه تجزیه‌شده در گرم وزن مرطوب در دقیقه بیان شد.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز طبق روش ناکانو و آسادا (۱۹۸۱) اندازه‌گیری شد [۲۰]. کل مخلوط به‌کاررفته برای اندازه‌گیری فعالیت آسکوربات پراکسیداز، سه میلی‌لیتر شامل بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار (اسیدیته=۷/۸)، پراکسید هیدروژن ۰/۱ میلی‌مولار، آسکوربات نیم میلی‌مولار و ۰/۱ میلی‌مولار اتیلن دی آمین تترا استیک اسید بود. واکنش با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر محلول استخراج شده شروع شد و کاهش جذب نور در طول موج ۲۹۰ نانومتر و در زمان صفر، ۳۰ و ۷۰ ثانیه اندازه‌گیری شد.

غلظت گروه‌های سولفهیدریل با استفاده از معرف المان (دی تیو بیس نیتروبنزوئیک اسید)[4] به روش سدلاک و لیندزی (۱۹٦۸) اندازه گیری شد [۲۵]. مواد گیاهی تازه در اتیلن دی آمین تترا استیک اسید ۰/۰۲ مولار پودر شده و مقدار نیم میلی‌لیتر محلول رویی با ۱/۵ میلی‌لیتر بافر تریس ۰/۲ مولار (واکنش=۸/۲) و ۰/۱ میلی‌لیتر دی تیو بیس نیتروبنزوئیک اسید ۰/۰۱ مولار مخلوط گردید. با افزودن ۷/۹ میلی‌لیتر متانول خالص، حجم مخلوط به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد و بعد از ۱۵ دقیقه مقدار جذب در طول موج ٤۱۲ نانومتر قرائت گردید.

$$SH = ۵/۰۲ \times Abs \times ۷۳/۵۳ / x \quad (۱)$$

(غلظت نمونه)

Abs = جذب نوری

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTATC و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۱٪ آماری انجام شد.

1. G-405
2. EDTA
3. Shymadzo Ual 60
4. DTNB

Archive of SID
www.SID.ir

۳. نتایج و بحث

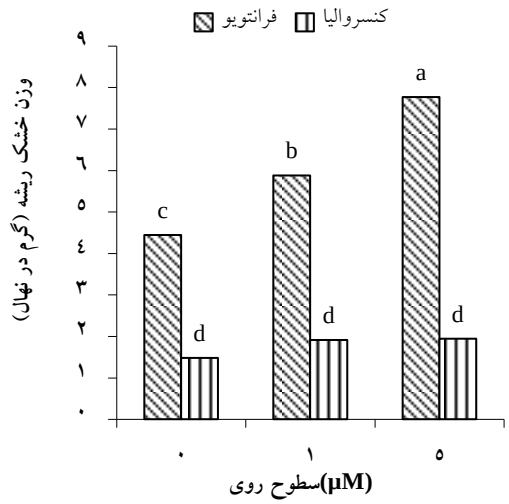
۳.۱. وزن خشک ریشه و برگ

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر رقم، روی، شوری و برهمکنش رقم × روی، رقم × شوری و روی × شوری بر وزن خشک ریشه معنی‌دار شد. همچنین تنها اثرات اصلی رقم، روی و شوری بر وزن خشک برگ معنی‌دار گردید. نتایج برهمکنش رقم × روی (شکل ۱-الف) نشان داد که در واریته فرانتویو با افزایش سطح روی از صفر (شاهد) به ۱ و ۵ میکرومولار روی، وزن خشک ریشه به‌ترتیب ۲۵ و ۴۳ درصد نسبت به شاهد افزایش یافته است، درحالی‌که وزن خشک ریشه رقم کنسروالیا افزایش معنی‌داری نیافت. با افزایش شوری متناسب با غلظت کلرید سدیم، وزن خشک ریشه زیتون کاهش یافت (شکل ۱-ب)، اگرچه شدت اثر سطوح شوری بر وزن خشک ریشه دو رقم مورد مطالعه متفاوت بود. در رقم 'فرانتویو' افزایش شوری تا سطح ۴۰ میلی‌مولار تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک ریشه نداشت، درحالی‌که کاهش معنی‌دار وزن خشک ریشه رقم 'کنسروالیا' در تیمار ۴۰ میلی‌مولار در مقایسه با شرایط غیر شور مشاهده شد.

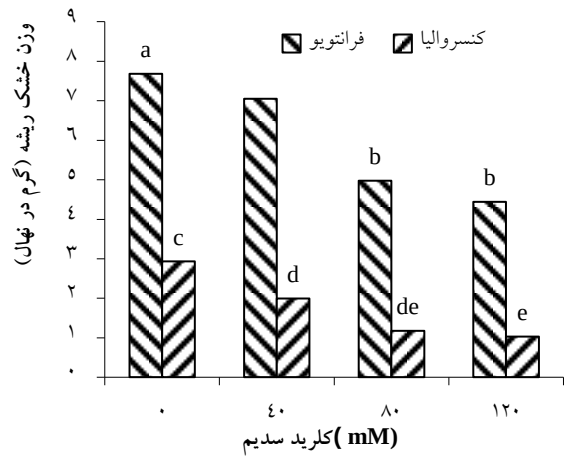
با افزایش شوری، وزن خشک ریشه کاهش یافت (شکل ۲-الف). با افزایش سطح روی از صفر به ۱ و ۵ میکرومولار در تمام سطوح شوری، وزن خشک ریشه افزایش یافت، که این افزایش تا سطح ۸۰ میلی‌مولار کلرید سدیم معنی‌دار بود. شکل ۲-ب نیز نشان داد که با افزایش شوری وزن خشک برگ کاهش یافت، از طرفی با افزایش سطح روی از صفر به ۱ و ۵ میکرومولار در تمام سطوح شوری، وزن خشک برگ افزایش یافت که این افزایش تا سطح ۸۰ میلی‌مولار کلرید سدیم معنی‌دار بود.

۳.۲. ارتفاع نهال

نتایج تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان‌دهنده اثر معنی‌دار رقم، روی، شوری و نیز برهمکنش رقم × شوری در سطح احتمال یک درصد آزمون دانکن و بر همکنش روی× شوری در سطح ۵٪ آزمون دانکن بر ارتفاع نهال بود.



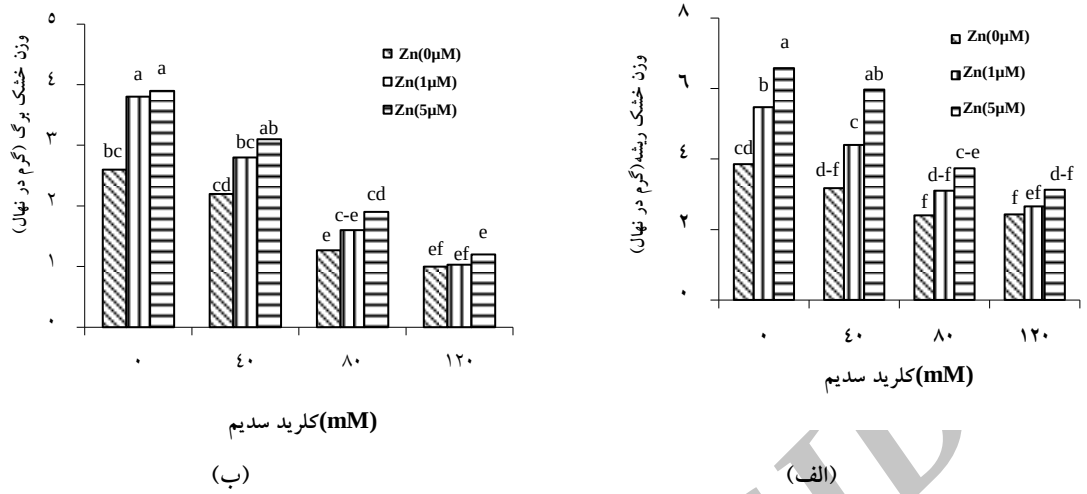
(الف)



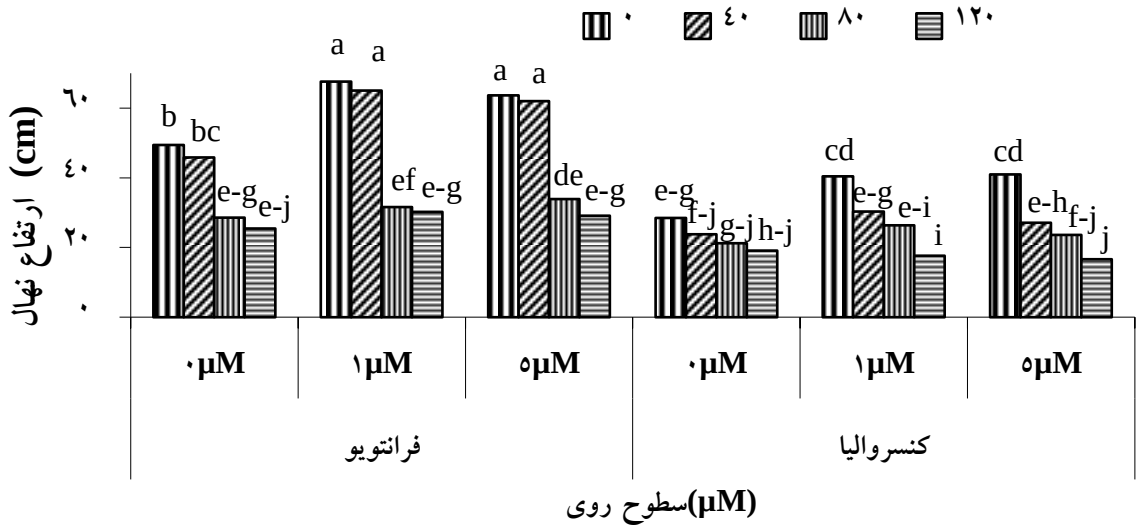
(ب)

شکل ۱. مقایسه میانگین اثر روی بر وزن خشک ریشه تحت تنش شوری ناشی از کلرید سدیم (الف) و اثر شوری ناشی از کلرید سدیم بر وزن خشک ریشه دو رقم زیتون (ب)

www.SID.ir



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر روی بر وزن خشک ریشه (الف) و برگ (ب) زیتون تحت تنش شوری ناشی از کلرید سدیم



شکل ۳. مقایسه میانگین تأثیر روی بر ارتفاع دو رقم زیتون تحت تنش شوری ناشی از کلرید سدیم

نتایج برهمکنش رقم × روی × شوری نشان داد که در هر دو رقم 'فرانتویو' و 'کنسروالیا' در تمام سطوح روی با افزایش شوری، ارتفاع نهال کاهش یافت (شکل ۳). لازم به ذکر است در رقم 'فرانتویو' با افزایش شوری تا ۴۰ میلی‌مولار، ارتفاع نهال کاهش معنی‌داری نیافت، درحالی‌که در رقم 'کنسروالیا' با افزایش شوری تا ۴۰ میلی‌مولار، ارتفاع نهال کاهش معنی‌داری یافت (شکل ۳). همچنین با افزایش سطح روی از صفر به ۱ میکرو مولار در کلیه سطوح شوری، ارتفاع نهال در هر دو رقم افزایش یافت، ولی افزایش سطح روی تا ۵ میکرومولار تأثیر معنی‌داری بر ارتفاع نهال نداشت (شکل ۳).

بر اساس نتایج پژوهش حاضر، افزایش سطح شوری

www.SID.ir

باعث کاهش معنی‌دار تعداد برگ، ارتفاع نهال و وزن خشک برگ در رقم 'فرانتویو' نسبت به سطح صفر آن در مقایسه با رقم 'کنسروالیا' گردید، این در حالی است که روند کاهش وزن خشک ریشه برعکس بود. ازآنجاکه ریشه، محل جذب عناصر و آب می‌باشد، بنابراین کاهش بیشتر وزن ریشه در رقم 'کنسروالیا' می‌تواند در کاهش رشد این رقم مؤثر باشد، ولی بررسی تعداد برگ و ارتفاع 'کنسروالیا' نشان داد که با افزایش سطح کلرید سدیم، کاهش این ویژگی‌ها نسبت به 'فرانتویو' کمتر بود که احتمالاً نشان‌دهنده آن است که در رقم 'فرانتویو'، اندام هوایی به‌ویژه برگ‌ها و نیز ارتفاع گیاه، به نفع ریشه‌ها کاهش یافته تا گیاه بتواند به جذب خود ادامه دهد و شرایط تنش شوری را بهتر تحمل کند. این نتایج با بررسی میزان گروه‌های سولفیدریل و نشت یونی پتاسیم و روی نیز همخوانی دارد (شکل‌های ٦، ٧ و ٨)، به‌گونه‌ای‌که مقدار گروه‌های سولفهیدریل در رقم 'کنسروالیا' کمتر از 'فرانتویو' بود و از طرف دیگر نشت یونی ریشه در رقم 'کنسروالیا' بیشتر از رقم 'فرانتویو' بود.

مصرف روی اثر مثبت و معنی‌داری بر ویژگی‌های رویشی مورد بررسی در دو رقم زیتون داشت، به‌گونه‌ای‌که در رقم 'فرانتویو' تا شوری ٤٠ میلی‌مولار کلرید سدیم، مصرف ٥ میکرومولار روی باعث افزایش وزن خشک ریشه، وزن خشک برگ، ارتفاع نهال و تعداد برگ‌ها گردید. درحالی‌که در رقم 'کنسروالیا'، مصرف ٥ میکرومولار روی تنها بر وزن خشک ریشه و برگ تا سطح ٤٠ میلی‌مولار کلرید سدیم، اثرگذار بود و ارتفاع نهال و تعداد برگ از مصرف روی متأثر نگردید. به‌نظر می‌رسد اختلاف این تأثیرپذیری از روی می‌تواند به اختلاف ژنتیکی دو رقم مربوط باشد، به‌گونه‌ای‌که رقم 'فرانتویو' توانایی جذب روی و به‌کارگیری آن در آنزیم‌های مهارکننده رادیکال‌های آزاد تولیدشده در شرایط تنش شوری را دارا بود، درحالی‌که رقم 'کنسروالیا' فاقد این توانایی بود [١٨].

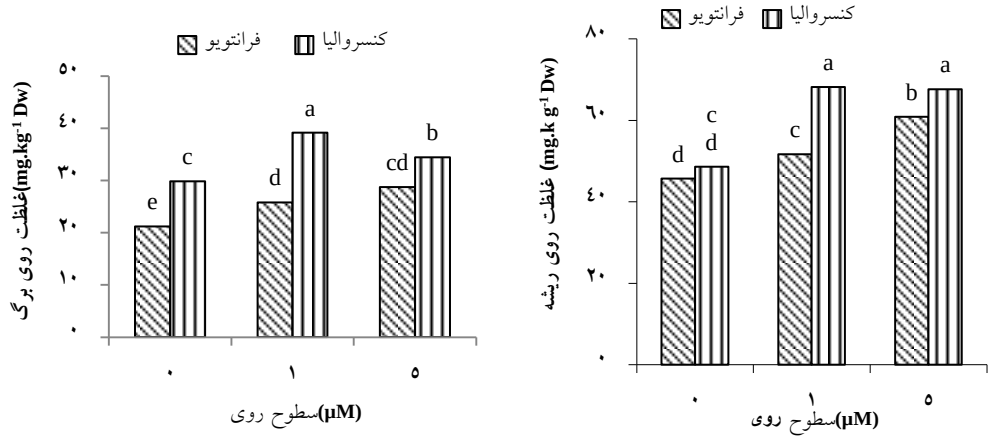
٣.٣. غلظت عنصر روی در ریشه و برگ

نتایج تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان داد که اثرات اصلی و متقابل رقم، روی، رقم × روی و شوری بر غلظت روی ریشه و برگ معنی‌دار شد. نتایج برهمکنش رقم × روی نشان داد که در هر دو رقم با افزایش سطح روی، غلظت روی در ریشه و برگ به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در این میان، غلظت روی ریشه و برگ در رقم 'کنسروالیا' نسبت به 'فرانتویو' بالاتر بود (شکل ٤). برهمکنش روی × شوری نیز نشان داد که با افزایش سطوح روی در تمامی سطوح شوری، غلظت روی ریشه و برگ افزایش معنی‌داری یافت (شکل ٥). نتایج غالب مطالعات نشان داده است که شوری، غلظت روی در اندام هوایی را افزایش می‌دهد [١٧]. در این آزمایش نیز با افزایش شوری، غلظت روی ریشه و برگ افزایش یافت. افزایش غلظت روی در شرایط شور به‌دلیل اثر غلظت ناشی از کاهش ماده خشک گیاه می‌باشد.

٣.٤. غلظت گروه سولفهیدریل (SH) ریشه

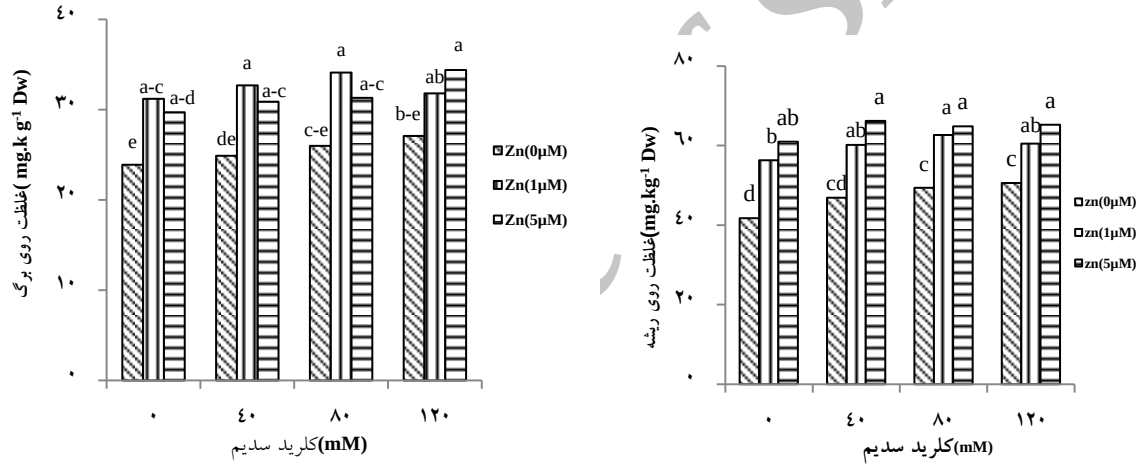
نتایج تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان داد که اثر رقم، شوری و رقم × شوری بر گروه سولفهیدریل ریشه در سطح ٥ درصد آزمون دانکن معنی‌دار است. نتایج بر همکنش رقم × شوری بر گروه سولفهیدریل ریشه نشان داد (شکل ٦) که با افزایش شوری، غلظت گروه‌های سولفهیدریل ریشه در هر دو رقم زیتون کاهش معنی‌داری یافت (شکل ٦). غلظت گروه‌های سولفهیدریل در ریشه رقم 'فرانتویو' بالاتر از رقم 'کنسروالیا' بود.

www.SID.ir
Archive of SID



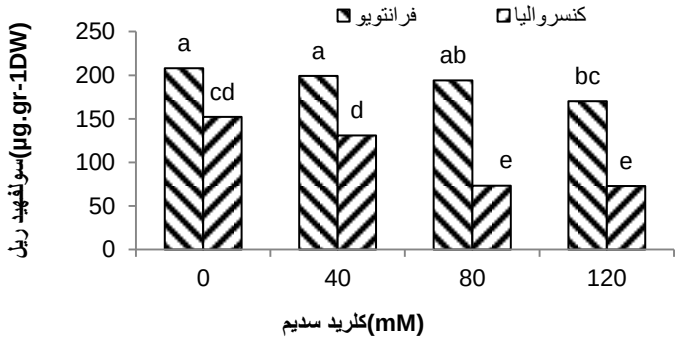
(الف) (ب)

شکل ٤. مقایسه میانگین اثر روی بر غلظت روی ریشه (الف) و برگ (ب) دو رقم زیتون



(الف) (ب)

شکل ٥. مقایسه میانگین اثر روی بر غلظت روی ریشه (الف) و برگ (ب) زیتون تحت تنش شوری ناشی از کلرید سدیم



شکل ٦. مقایسه میانگین اثر شوری ناشی از کلرید سدیم بر غلظت گروه‌های سولفهیدریل ریشه دو رقم زیتون

www.SID.ir

یکی از سازوکارهای عمده که تحمل به شوری توسط گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد افزایش ظرفیت دفاعی آنتی‌اکسیداتیوی گیاهان است [٦]. در این میان، غلظت گروه‌های سولفهیدریل ریشه‌های ارقام مقاوم‌تر نسبت به رقم‌های حساس‌تر به شوری، بالاتر گزارش شده است [٧]. گروه‌های سولفهیدریل یکی از اجزای مهم در کاهش اثرهای مخرب رادیکال‌های آزاد در داخل سلول‌های گیاه هستند. غالب گروه‌های سولفهیدریل غیر پروتئینی در گیاهان شامل گلوتاتیون بوده که آنتی‌اکسیدانی مهم در سلول‌های گیاهی است و باعث سمیت‌زدایی گونه‌های اکسیژن واکنشگر[1] می‌گردد [١٤]. در این آزمایش با افزایش شوری، گروه‌های سولفهیدریل ریشه هر دو رقم، کاهش معنی‌داری یافت، که این نتیجه با نتایج سایر محققان [٧] همخوانی دارد. در آزمایش حاضر، نتایج اثر سطوح مختلف روی بر غلظت گروه‌های سولفهیدریل ریشه نشان داد که با افزایش سطح روی، غلظت گروه‌های سولفهیدریل ریشه افزایش می‌یابد، اگرچه این افزایش معنی‌دار نبود. مطالعات نشان داده است که تغذیه روی از طریق افزایش غلظت سولفهیدریل در ریشه‌ها سبب کاهش نفوذپذیری غشای ریشه و کاهش پراکسیده شدن چربی حاصل از تنش رادیکال‌های آزاد می‌شود [٢٣]. روی نقشی کلیدی در غشای سلولی در شرایط تنش دارد که این نقش، عمدتاً از طریق محافظت از اکسیداسیون گروه‌های سولفهیدریل توسط گروه‌های رادیکال آزاد (مثل سوپراکسیدو هیدروکسیل) یا عناصر سنگین مثل کادمیوم اعمال می‌شود [٦].

٣.٥. نشت پتاسیم و روی غشای ریشه

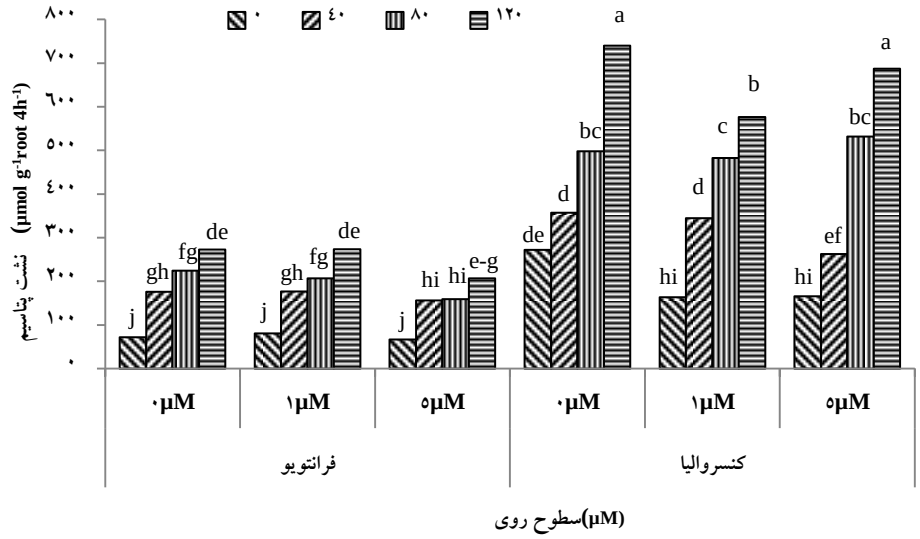
نتایج تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان داد که اثر رقم، روی، رقم × روی، شوری، رقم × شوری و برهمکنش رقم × روی × شوری بر نشت یون پتاسیم معنی‌دار بود. نتایج برهمکنش اثر رقم × روی × شوری نشان داد که در هر دو رقم با افزایش سطح روی نشت پتاسیم کاهش یافت (شکل ٧). در هر دو رقم و در تمام سطوح شوری، با افزایش مصرف روی، نشت پتاسیم کاهش یافت. لازم به ذکر است که در تمام سطوح روی و شوری میزان نشت پتاسیم در رقم 'کنسروالیا' بالاتر از 'فرانتویو' بود که نشان‌دهنده این است که غشای سلولی 'فرانتویو' نسبت به 'کنسروالیا' کمتر تحت تأثیر اثرات مخرب اکسیداتیوی قرار گرفت و در نتیجه نسبت به شوری متحمل‌تر بود [٣].

نتایج تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان داد که اثر رقم، روی، رقم × روی، شوری و رقم × شوری بر نشت یون روی معنی‌دار است. نتایج برهمکنش رقم × روی بر نشت یون روی نشان داد که با افزایش سطح روی در رقم 'فرانتویو'، نشت روی کاهش معنی‌داری نیافت، ولی در رقم 'کنسروالیا'، تا سطح ١ میکرومولار کاهش معنی‌داری یافت و سپس بدون تغییر باقی ماند (شکل ٨- الف). این نتایج حاکی از نقش روی در حفاظت از سلامت و یکپارچگی دیواره سلول‌های گیاهی دارد و نشان می‌دهد که وجود غلظت کافی روی برای حفاظت سلول‌ها در برابر صدمات اکسیداتیوی القاء شده توسط شوری اثر دارد [٦]. همچنین، در تمام سطوح روی، میزان نشت روی در 'کنسروالیا' بیشتر از 'فرانتویو' بود. نتایج برهمکنش رقم × شوری بر نشت یون روی نشان داد که با افزایش سطوح شوری، در هر دو رقم نشت یون روی (Zn) ریشه افزایش یافت (شکل ٨- ب). البته این افزایش در 'فرانتویو' معنی‌دار نبود، لازم به ذکر است در تمام سطوح شوری نشت یونی روی در رقم 'کنسروالیا' بالاتر از 'فرانتویو' بود که حاکی از این است که غشای سلولی رقم 'کنسروالیا' نسبت به 'فرانتویو' بیشتر تحت تأثیر اثرات مخرب

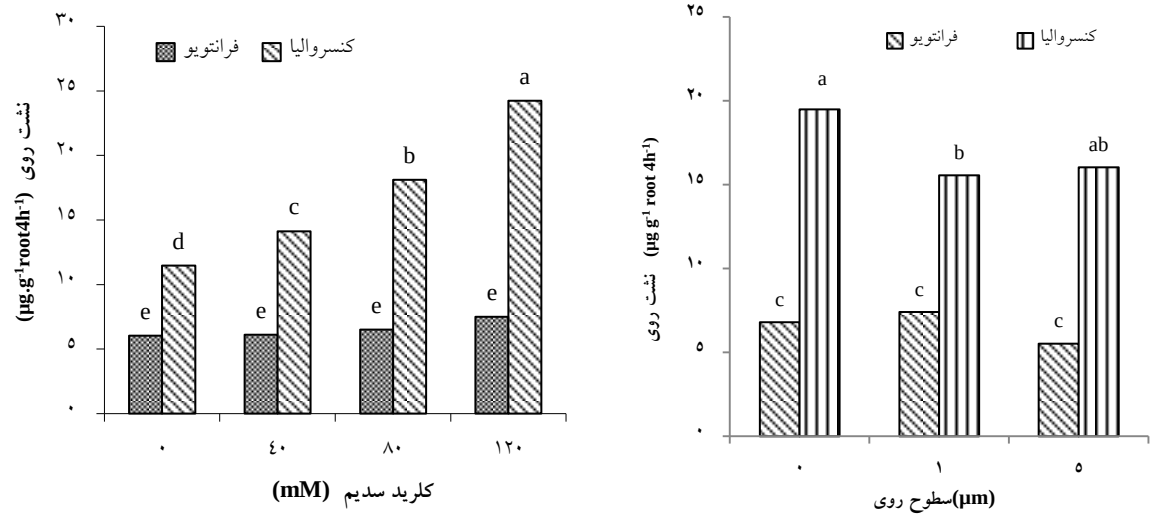
1. Reactive oxygen species

www.SID.ir
Archive of SID

اکسیداتیوی قرار گرفته است. نشت یونی به‌عنوان یکی از شاخص‌های نفوذپذیری غشای ریشه می‌باشد [۷]. در شرایطی که این نفوذپذیری افزایش یابد، نشانگر وجود اختلال در دیواره سلول‌های ریشه می‌باشد. لذا، رقم 'کنسروالیا' در مقایسه با رقم 'فرانتویو'، از صدمات ناشی از رادیکال‌های آزاد، بیشتر متأثر شده است.



شکل ۷. مقایسه میانگین تأثیر روی بر نشت پتاسیم ریشه دو رقم زیتون تحت تنش شوری ناشی از کلرید سدیم



شکل ۸. مقایسه میاتگین اثر روی بر میزان نشت روی در دو رقم زیتون (الف) ومقایسه میانگین اثر شوری ناشی از کلرید سدیم بر نشت روی دو رقم زیتون (ب)

www.SID.ir

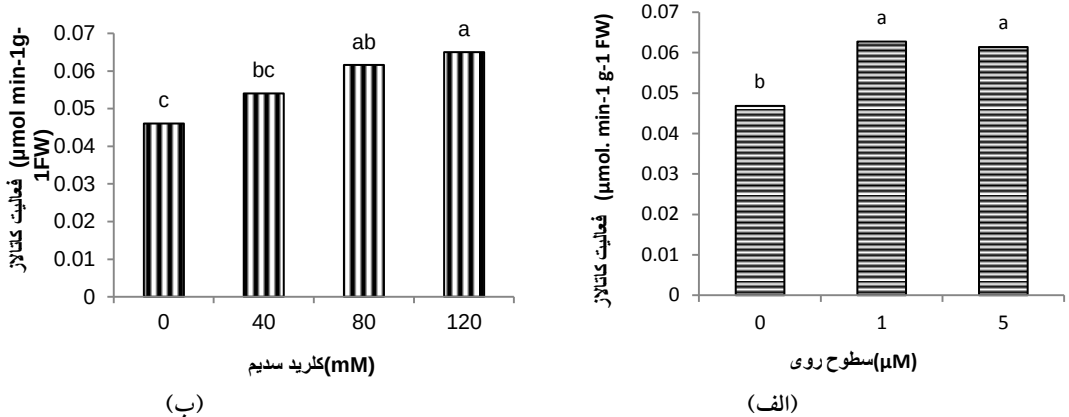
۳.٦. فعالیت آنزیم کاتالاز

نتایج تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان داد که اثر روی و شوری بر فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح ۵ درصد آزمون دانکن معنی‌دار بود. نتایج اثر سطوح مختلف روی بر فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد که با افزایش سطح روی، فعالیت کاتالاز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۹). نتایج اثر سطوح مختلف شوری بر فعالیت کاتالاز نشان داد که با افزایش سطوح شوری، فعالیت کاتالاز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۹).

یکی از سازوکارهایی که تحمل به نمک را تحت تأثیر قرار می‌دهد، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی مثل کاتالاز می‌باشد. گزارش شده که شوری می‌تواند منجر به افزایش فعالیت‌های کاتالاز، گلوتاتیون ردوکتاز و پراکسیداز در برنج [۹] و پنبه گردد [۱۲]. افزایش سریع و پیوسته در فعالیت کاتالاز، نشان‌دهنده آن است که این آنزیم می‌تواند نقش مهمی در سمیت‌زدایی پراکسید هیدروژن در گیاه تحت تنش شوری داشته باشد [۲٤]. میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در سطوح بالای شوری در نهال‌های پسته تیمارشده با روی نسبت به عدم مصرف روی بالاتر بود. در نهال‌های پسته که تنها با کلرید سدیم تیمار شده‌اند (بدون مصرف روی) فعالیت هر دو آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز افزایش یافت، ولی اثر آنها معنی‌دار نبود. همین روند در مورد نهال‌های پسته تیمارشده با روی تنها (بدون شوری) نیز مشاهده شد که نشان می‌دهد، افزایش در فعالیت آنزیمی در پاسخ به تیمار کلرید سدیم + روی به‌واسطه تنش اکسیداتیوی زیادی است که توسط کلرید سدیم ایجاد شده و محافظت در برابر تنش شوری توسط سطوح بالای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان القاشده توسط روی می‌باشد [۲۷].

۳.۷. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

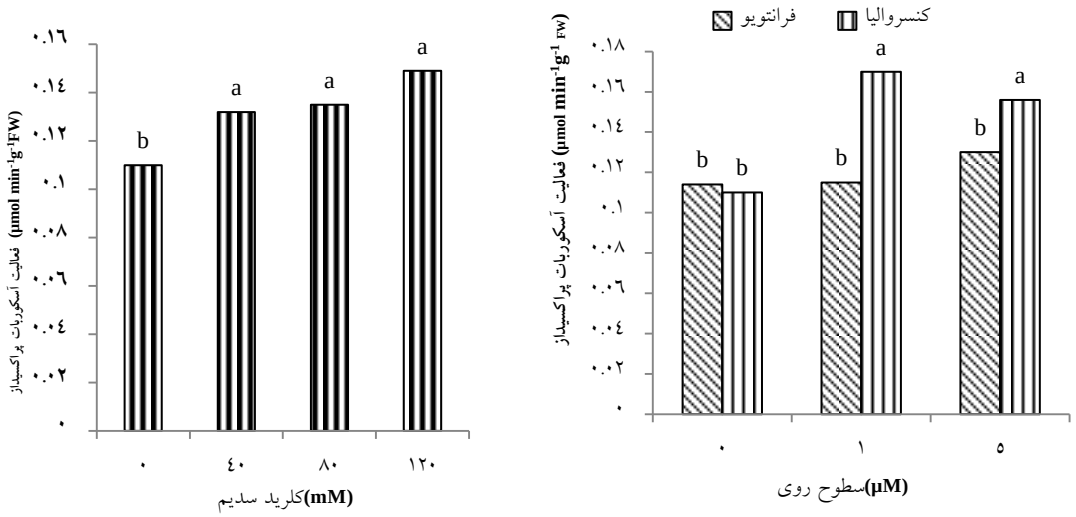
نتایج تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان داد که اثر رقم، روی، رقم × روی و شوری بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار بود. نتایج برهمکنش رقم × روی نشان داد که با افزایش سطوح روی، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در هردو رقم 'فرانتویو' و 'کنسروالیا' افزایش یافت، ولی این افزایش تنها در رقم 'کنسروالیا' معنی‌دار بود (شکل ۱۰). نتایج اثر سطوح مختلف شوری بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نشان داد که با افزایش سطوح شوری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز افزایش معنی‌داری داشت (شکل ۱۰).



شکل ۹. مقایسه میانگین اثر روی بر فعالیت آنزیم کاتالاز (الف)

و مقایسه میانگین اثر شوری ناشی از کلرید سدیم بر فعالیت آنزیم کاتالاز (ب)

www.SID.ir



(الف) (ب)

شکل ۱۰. مقایسه میانگین اثر روی (الف) و اثر شوری ناشی از کلرید سدیم بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (ب) در دو رقم زیتون

نتایج اثر تنش شوری بر روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گندم نشان داد که با افزایش شوری، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به‌شدت افزایش یافت. درحالی‌که، مصرف روی، تغییر قابل‌توجهی در فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ندارد [۱۱]. این نتایج، با نتایج حاصل‌شده در این تحقیق هم‌خوانی نداشت. آسکوربات پراکسیداز نسبت به کاتالاز در سمیت‌زدایی پراکسید هیدروژن مهم‌تر بود [۱۰]. افزایش فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز) و همچنین تجمع اسید اسکوربیک و پرولین به‌عنوان بخشی از دفاع در برابر این تنش اکسیداتیوی می‌باشد [۱۰]. در شرایط شوری، سازوکارهای دفاعی آنتی‌اکسیداتیوی فعال می‌شود تا ساختمان غشای ریشه را در برابر اکسیداسیون محافظت کند [۷].

٤. نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش سطوح شوری، غلظت روی ریشه و برگ، نشت یونی پتاسیم و روی، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز افزایش یافت. درحالی‌که وزن خشک ریشه و برگ، ارتفاع نهال وگروه سولفهیدریل ریشه کاهش یافت. با افزایش سطوح روی مصرف‌شده، وزن خشک ریشه و برگ، ارتفاع نهال، غلظت گروه سولفهیدریل ریشه، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز و نیز غلظت روی ریشه و برگ افزایش معنی‌داری یافت، این در حالی است که نشت یونی پتاسیم و روی کاهش یافت. این نتایج بیانگر اثر مثبت روی در افزایش مقاومت گیاه و مهار بهتر رادیکال‌های آزاد تولیدشده در شرایط تنش شوری است. در این تحقیق با توجه به بالاتر بودن غلظت گروه سولفهیدریل ریشه رقم 'فرانتویو' نسبت به 'کنسروالیا' و همچنین پایین‌تر بودن میزان نشت یون پتاسیم و روی، تحمل به شوری رقم فوق نسبت به 'کنسروالیا' بالاتر بود.

Archive of SID
www.SID.ir

منابع

۱. ارجی ع، زینانلو ع، حاجی امیری ا و نجفی م (۱۳۹۱) بررسی سازگاری و خصوصیات رویشی و زایشی برخی از ارقام زیتون در شرایط آب‌وهوایی سر پل ذهاب. مجله علمی کشاورزی تولیدات گیاهی. ۳۵ (۴):۱۸-۲۸.

۲. زینانلو ع ا (۱۳۸۹) ارزیابی خسارت سرمازدگی و انتخاب ارقام متحمل به سرما در زیتون. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی. مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر. بخش تحقیقات باغبانی. کرج. شماره ثبت ۸۹/۱۲۴۶ ۶۱ ص.

۳. خوشگفتار منش ا ح (۱۳۸۶) مبانی تغذیه گیاه. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان. ۴۶۳ ص.

۴. سعادتی ص و معلمی ن (۱۳۹۰) بررسی تأثیر محلول‌پاشی عنصر روی بر رشد و عملکرد گیاه توت‌فرنگی در شرایط تنش شوری. مجله علوم باغبانی ایران. ۲ (۳): ۲۷۵-۲۶۳.

۵. عسکری م، امینی ف و جمالی ف (۱۳۹۳) اثرات روی بر رشد، مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی، پرولین، پروتئین و کربوهیدرات‌های گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری. فصلنامه فرآیند و کارکرد گیاهی. ۳ (۹): ۵۸-۴۵.

6. Cakmak I (2000) Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. New Phytologist. 146: 185-205.
7. Daneshbakhsh B, Khoshghoftarmanesh A H, Shariatmadari H and Cakmak I (2012) Effect of Zinc nutrition on salinity-induced oxidative damages in wheat genotypes differing in zinc deficiency tolerance. Acta Physiologiae Plantarum. 5(1): 1131-7.
8. Dhindsa RA, Plumb-Dhindsa P and Thorpe TA (1981) Leaf Senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. Journal of Experimental Botany. 126: 93-101.
9. Dionisio-Sese M L and Tobita S (1998) Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. Plant Science. 135: 1-9.
10. Eraslan F, Inal A, Savasturk O and Gunes A (2007) Changes in antioxidative system and membrane damage of lettuce in response to salinity and boron toxicity. Scientia Horticulturae. 114 : 5-10.
11. Esfandiari E, Shekari F, shekari F and Esfandiari M (2007) The effect of salt stress on antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation on the wheat seedling.Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. 35(1): 48-56.
12. Gossett DR, Millhollon EP and Lucas MC (1994) Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant and salt sensitive cultivars of cotton. Crop Science. 34: 706-714.
13. Gucci R and Tattini M (1997) Salinity tolerance in olive. Horticultural Reviews. 21:177-213.
14. Hall JL (2002) Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. Journal of Experimental Botany. 53: 1-11.
15. Halliwell B (1982) The toxic effects of activated oxygen on plant tissues, *In*: Oberley LW (Ed.), Superoxide Dismutase, CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 89-123.
16. Kaiser W (1976) The effect of hydrogen peroxide on CO2 fixation of isolated intact chloroplast. Biochimica et Biophysica Acta. 440: 476-482.
17. Kamrani 1R, Ardalan M and Farahbakhsh M (2013) The interaction Zn application and salinity on the yield and zinc concentration in grain wheat. International Journal of Agronomy and Plant Production. 4(8): 2075-2080.
18. Khoshgoftarmanesh A H and Naeini M R (2008) Salinity Effect on Concentration, Uptake, and Relative Translocation of Mineral Nutrients in Four Olive Cultivars. Journal of Plant Nutrition. 31: 1243-1256.
19. Mirzapour M H and Khoshgoftarm anesh A H (2013) Effect of soil and foliar application of iron and zinc on quantitative and qualitative yield of pomegranate. Journal of Plant Nutrition. 36: 55-66.
20. Nakano Y and Asada K (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology. 22: 867-880.
21. Rugini E and Fedeli E (1990) Olive as an oilseed crop. *In*: Bajaj YPS (Ed.). Biotechnology in Agriculture and Forestry, Legumes and oilseed Crops. Springer-Verlag, Berlin, Germany. pp. 593-641.

Archive of SID

www.SID.ir

22. Sairam RK, Rao KV and Srivastava GC (2002) Differential response of wheat genotypes to longterm salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science. 163: 1037-1046.
23. Sanaeiostovar A, Khoshgoftarmanesh AH, Shariatmadari H, Afyuni M and Schulin R (2012) Combined effect of zinc and cadmium levels on root antioxidative responses in three different zinc efficiency wheat genotypes. Journal of Agronomy and Crop Science. 198(4): 276-285.
24. 24 .Sang YK, Lim JH, Park MR, Kim YJ, Yong TP, Seo W, Choi KG and Yun SJ (2005) Enhanced antioxidant enzymes are associated with reduced hydrogen peroxide in barley roots under saline stress. Journal of Biochemistry and Molecular Biology. 38(2): 218-224.
25. Sedlak J and Lindsay RH (1968) estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryle groups in tissue by ellman's reagent. Analytical Biochemistry. 25: 192-208.
26. Weisany W, Sohrabi Y, Heidari G, Siosemardeh A and hassemi- Golezani K (2012) Changes in antioxidant enzymes activity and plant performance by salinity stress and zinc application in soybean (*Glycine max* L.). Plant Omics. 5(2): 60-67.
27. Tavallali V, Rahemi M, Eshghi S, Kholdebarin B and Ramezanian A (2010) Zinc alleviates salt stress and increases antioxidant enzyme activity in the leaves of pistachio (*Pistacia vera* L. 'Badami') seedlings. Turkish Journal of Agriculture and Forestry. 34: 349-359.

Archive of SID

www.SID.ir

Crops Improvement
(Journal of Agricultural Crops Production)
Vol. 20 ■ No. 2 ■ Summer 2018

The effect of zinc nutrition on alleviating oxidative damages induced by salinity stress on olive

Mohammad Reza Naeini[1], Mahmood Esna-Ashari[2*], Amir Hossein Khoshgoftar Manesh[3], Mohammad Hadi Mirzapoor[4]

1. Former Ph.D. Student, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.
2. Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.
3. Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.
4. Former M.Sc. Student, Department of Horticultural crops research, Qom Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Qom, Iran.

Received: July 28, 2015 Accepted: July 25, 2016

Abstract

Raising free radicals in root cells and thus increasing ions leakage is from destructive effects of salinity. In order to study the effect of zinc on the some of free radicals' inhibitor enzymes (Catalase [CAT], Ascorbat Peroxidase [APX]) and decreasing induced damages of salinity stress by NaCl, in two cultivars of olive (*Olea europea* L.) (Frontoio and Conservollea), this pot experiment conducted, in factorial arrange and completely randomized design in three replication. In this experiment, a one-year seedling of two olive cultivars treated with nutrition solutions involved different levels of sodium chloride (0, 40, 80, 120 mM) and zinc (0, 1, 5µ molar) of zinc sulfate ($ZnSO_4$. $7H_2O$). The results showed that with increasing of salinity levels decreased root and leaf dry weight and plant height, but increased ion leakage of potassium and zinc in root and activity of CAT and APX enzymes in leaf, as well, using Zn, decreased ion leakage of potassium and zinc; whereas root and leaf dry weight, plant height, CAT and APX activity increased. Based on the results, the greater the concentration of sulfhydryl groups in roots in Frontoio variety compared to Conservolea was in acceptance with less leakage of potassium and zinc ions on the Frontoio compared to Conservolea. Therefore, the Frontoio variety was more resistant to salinity in comparison with Conservolea.

Keywords: Antioxidative enzymes, ascorbat peroxidase, catalase, ion leakage, sulfhydryl.

Corresponding author: m.esnaashari@basu.ac.ir

www.SID.ir