Archive of SID

تأثیر سایکوسل بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان مالون‌دی‌آلدئید در ارقام ماری و میشن زیتون (*Olea europaea* L.) تحت تنش خشکی

Effect of Cycocel on Antioxidative Activity and Malondialdehyde Content of Mary and Mission Olive (*Olea europaea* L.) Cultivars Under Drought Stress

وحید اکبری[1*]، رسول جلیلی‌مرندی[2] و علیرضا فرخزاد[3]

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۶/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۹/۲۱

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر سایکوسل بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی دو رقم زیتون (ماری و میشن) در شرایط تنش خشکی، آزمایش گلخانه‌ای با سه فاکتور شامل سه سطح سایکوسل (صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، سه سطح تنش خشکی (دور آبیاری فواصل ۵، ۱۰ و ۱۵ روز یک‌بار) و دو رقم زیتون (ماری و میشن) به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و در مدت چهار ماه انجام شد. در پایان آزمایش نتایج نشان داد که افزایش فواصل دور آبیاری، موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گوایاکول پراکسیداز به‌ترتیب ۱۰/۴۸۶، ۱۰/۱۲۹ و ۱۷/۸۷۹ میکرومول در دقیقه بر گرم وزن تر برگ در دور آبیاری ۱۵ روز یک‌بار شد، همچنین میزان آنتوسیانین، فنل کل و میزان مالون‌دی‌آلدئید در هر دو رقم افزایش یافت. تیمارهای مختلف سایکوسل نیز موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و گوایاکول پراکسیداز و کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید در مقایسه با شاهد شدند. تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر سایکوسل موجب کاهش معنی‌دار میزان آنتوسیانین برگ نسبت به شاهد شد (به‌ترتیب ۱۲/۱۳۷ و ۱۳/۶۲۹ میکرومول بر گرم وزن تر برگ). رقم میشن نسبت به رقم ماری مقاومت بیشتری به خشکی نشان داد. به‌طورکلی نتایج نشان داد که استفاده از سایکوسل می‌تواند برخی از اثرات منفی ناشی از تنش خشکی در ارقام ماری و میشن زیتون را بهبود دهد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گوایاکول پراکسیداز، فنل کل

۱. فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۲ و ۳. به‌ترتیب دانشیار و استادیارگروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
*: نویسنده مسئول Email: v.akbari.89@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

کمبود آب یکی از مهم‌ترین فاکتورهای محدودکنندهٔ رشد، فتوسنتز و بقاء گیاهان در مناطق خشک و نیمه‌خشک است (*باسلار*[1] و همکاران، 2009). امروزه با توجه به کاهش نزولات آسمانی و شرایط نیمه‌خشک ایران، رقابت برای تهیهٔ آب بین بخش‌های شهری، کشاورزی و صنعتی رو به افزایش است، این امر ایجاب می‌نماید که مصرف بهینهٔ آب و صرفه‌جویی در مصرف آب مدنظر قرار گیرد. نکتهٔ قابل‌توجه، استفاده از ارقام مقاوم و به‌کارگیری مکانیسم‌هایی است که بتوان مقاومت گیاهان را نسبت به کمبود آب در مناطق خشک و نیمه‌خشک افزایش داد (*دیچیو*[2] و همکاران، 2002). تنش‌آبی می‌تواند به غشاها آسیب برساند، نفوذپذیری غشاء را افزایش دهد و تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن[3] را در گیاهان القاء کند. این رادیکال‌ها از طریق پراکسیداسیون چربی‌ها و در نتیجه تخریب غشاء (*میتلر*[4]، 2002)، تخریب پروتئین‌ها (*توکیدا*[5] و همکاران، 1995)، غیرفعال کردن آنزیم‌ها (*تیو*[6] و همکاران، 2003) و تخریب رنگ‌دانه‌ها (*چن*[7] و همکاران، 2000) ایجاد تنش ثانویهٔ اکسیداتیو کرده که منجر به خسارت جدی به ساختارهای سلولی و گیاهی می‌گردند. عموماً گیاهان از طریق فعال‌سازی سیستم آنتی‌اکسیدانی شامل سیستم آنزیمی (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز) و سیستم غیرآنزیمی (فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها، آنتوسیانین و اسید آسکوربیک) موجب سمیت‌زدایی رادیکال‌های آزاد اکسیژن شده و مقاومت خود به تنش خشکی را افزایش می‌دهند (*ردی*[8] و همکاران، 2004). ترکیبات فنلی به‌عنوان اجزای موجود در گیاهان، سال‌هاست که شناخته شده‌اند و وظایف بسیاری به آن‌ها نسبت داده شده است. یکی از عملکردهای مهم و به‌خوبی شناخته شدهٔ فنل‌ها، شرکت آن‌ها در مکانیسم‌های دفاعی است. بررسی‌های انجام شده نشان داده است که هرگونه تنش در گیاه مقدار ترکیبات فنولی را افزایش می‌دهد (*بلوخینا*[9] و همکاران، 2003)، این ترکیبات به‌دلیل دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در از بین بردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن دارند (*بلوخینا* و همکاران، 2003). آنتوسیانین‌ها از ترکیبات فنلی گیاهان می‌باشند که هم در برگ‌های بالغ و هم در برگ‌های جوان وجود دارند و به‌عنوان یک گروه از فلاونوئیدهای محلول در آب در یک نقطهٔ پایانی در مسیر بیوسنتز فلاونوئیدها در سیتوپلاسم ساخته می‌شوند (*وودال و استیوارت*[10]، 1998). گزارش شده است که آنتوسیانین‌ها دارای نقش آنتی‌اکسیدانی بوده و باعث سمیت‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند (*هوکسترا*[11] و همکاران، 2001). زیتون یک درخت همیشه‌سبز با سرعت رشد پایین در اقلیم‌های نیمه‌گرمسیری دنیا در عرض‌های جغرافیایی ۳۰ تا ۴۵ درجه پرورش می‌یابد و یک محصول مهم برای اکثر کشورهای مدیترانه‌ای محسوب می‌شود (*هاگیدیمیتریو و پانتیکیس*[12]، 2004). زیتون به‌عنوان یک درخت مقاوم به خشکی شناخته شده است (*کانر*[13]، 2005). مکانیسم‌های سازگاری درختان زیتون در برابر تنش خشکی شامل کاهش پتانسیل آب برگ، تنظیم اسمزی، بسته شدن نسبی روزنه‌ها، کاهش سطح برگ، پیچیدگی برگ، افزایش ضخامت مزوفیل، تنظیم اسمزی، تجمع پرولین، تنظیم سیستم آنتی‌اکسیدانی، تجمع موسیلاژ و دیگر متابولیت‌های ثانویه است (*بوسابیلیدیش و کوفیدایس*[14]، 2002؛ *سوفو*[15] و همکاران، 20004). اگرچه زیتون از درختان مقاوم در برابر خشکی شناخته شده است اما در طی سال‌های اول پس از کاشت نهال، نیاز آبی آن بالا است (*کانر*، 2005)، همچنین نیاز آبی درختان زیتون بستگی به رقم و مرحلهٔ رشد آن‌ها دارد و ارقام مختلف پاسخ‌های متفاوت نشان می‌دهند (*چارتزولاکیس*[16] و همکاران، 1999). نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با مقاومت به تنش‌های محیطی در بسیاری از گیاهان ازجمله زیتون همبستگی دارد (*اینائه*[17] و همکاران، 2009). نتایج یک آزمایش نشان داد در اثر تنش خشکی میزان مالون دی آلدئید، ترکیبات فنلی و فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی ارقام زیتون شملالی[18]، زلماتی[19] و چیتویی[20] افزایش یافت، کمترین افزایش در میزان مالون‌دی‌آلدئید و بیشترین تجمع ترکیبات فنولی و آنزیم آسکوربات پراکسیداز در رقم زلماتی مشاهده شد، فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم چیتویی بیشتر از سایر ارقام بود، همچنین فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز در ارقام شملالی و زلماتی بیشتر از رقم چیتویی

1. Bacelar
2. Dichio
3. Reactive Oxygen Species
4. Mittler
5. Takeda
6. Tu
7. Chen
8. Reddy
9. Blokhina
10. Woodall and Stewart
11. Hoekstra
12. Hagidimitrio and Pontikis
13. Connor
14. Bosabalidis and Kofidis
15. Sofo
16. Chartzoulakis
17. Ennajeh
13. Chemlali
19. Zalmati
20. Chetoui

www.SID.ir

Archive of SID

کاهش پیدا کرد (*بوقالب و محامدی*[1]، 2011). ترکیبات شیمیایی مثل ۲-کلرو اتیل تری متیل آمونیوم کلراید[2] تحت نام تجاری سایکوسل[3]، یک کندکنندهٔ رشد مصنوعی می‌باشد که موجب افزایش مقاومت گیاهان مختلف نسبت به تنش خشکی می‌شود (*جانا*[4] و همکاران، 2002). سایکوسل با ایجاد اختلال در مسیر بیوسنتز جیبرلین، مانع از سنتز آنزیم انت کائورن سینتاز[5] سینتاز[5] شده و از طویل شدن و رشد سلول‌ها جلوگیری می‌کند که این امر موجب کاهش سطح تعرق و مقاومت گیاه به تنش می‌گردد (*رادماچر*[6] و همکاران، 2000). نتایج نشان داده است که تیمار سایکوسل با افزایش تراکم بافت گیاه و افزایش غلظت شیرهٔ سلولی در پایداری غشاء سلولی و حفظ مکانیسم‌های تصفیهٔ رادیکال‌های آزاد مؤثر است (*لاورر*[7]، 2003). محلول‌پاشی سایکوسل روی ارقام مختلف زیتون در شرایط تنش خشکی، باعث افزایش مقاومت روزنه‌ای، محتوای نسبی آب برگ، وزن خشک ریشه، کاهش سطح برگ و وزن خشک ساقه گردید (*نژادصاحبی*[8]و همکاران، 2010). در آزمایشی استفاده از سایکوسل تحت شرایط تنش خشکی موجب کاهش طول ساقه، سطح برگ، وزن تر و خشک برگ، میزان کلروفیل، افزایش پرولین، قندهای محلول، تعداد و وزن خوشه و بدون تأثیر بر میزان اسیدهای آلی در انگور رقم بارانی[9] شده است (*عبدالرحمن*[10]، 2010). پیش‌تیمار بذور ماش[11] با سایکوسل تحت هر دو شرایط تنش خشکی و بدون تنش موجب افزایش محتوای نسبی آب برگ، کاهش نسبت شاخساره به ریشه، افزایش پرولین، پروتئین، قندهای محلول، میزان کلروفیل و افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ‌ها شده است (*فاروق و بانو*[12]، 2006). در رابطه با تأثیر تعدیل‌کنندگی سایکوسل تحت شرایط تنش خشکی بر صفات بیوشیمیایی چون میزان مالون دی‌آلدئید و فعالیت سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی در درختان میوه مطالعه‌ای صورت نگرفته است. لذا هدف از انجام این پژوهش، بررسی اثر سایکوسل بر شاخص‌های بیوشیمیایی دو رقم زیتون تحت تنش خشکی بود.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایشی، مواد گیاهی، شرایط رشد و اعمال تیمارها

به‌منظور بررسی تأثیر کندکنندهٔ رشد سایکوسل بر تنش خشکی در دو رقم زیتون (ماری و میشن)، آزمایشی در سال ۹۰-۱۳۸۹ در گلخانهٔ گروه علوم باغبانی دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه ارومیه به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. در این پژوهش فاکتورهای مورد آزمایش شامل رقم با دو سطح (ماری و میشن)، دورهای مختلف آبیاری در سه سطح شامل دور آبیاری ۵ روز یک‌بار به‌عنوان شاهد (سطح آبیاری مطلوب)، دور آبیاری ۱۰ روز (تنش خشکی ملایم) و دور آبیاری ۱۵ روز (تنش خشکی شدید) و فاکتور سوم غلظت‌های مختلف محلول‌پاشی سایکوسل بود که در سه سطح (صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) اعمال شد. آزمایش دارای سه تکرار و برای هر تکرار دو گلدان و در مجموع ۱۰۸ گلدان (گیاه)، از دو رقم زیتون استفاده شد. در این پژوهش از نهال‌های دو سالهٔ ارقام ماری و میشن زیتون که از نهالستان نجفی واقع در ساوه تولید شده بود، استفاده شد. در طول مدت آزمایش دمای حداقل و حداکثر گلخانه به‌طور متوسط ۱۸/۷ و ۳۷/۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی گلخانه بین ۴۵ تا ۵۰ درصد بود. گلدان‌های مورد استفاده جهت کاشت از نوع پلاستیکی سیاه با قطر دهانهٔ ۲۲ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۴ سانتی‌متر بود. سه سوراخ به قطر یک سانتی‌متر در کف گلدان‌ها ایجاد شد. و به مقدار مساوی شن درشت به ابعاد حدوداً یک سانتی‌متر به میزانی که دو لایه از شن کف گلدان را بپوشاند جهت انجام زهکشی ریخته شد. مخلوط خاکی به کار رفته در گلدان نهال‌ها شامل خاک معمولی، خاک‌برگ و ماسه به‌ترتیب به نسبت ۲، ۱، ۱ قسمت بود. برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در جدول ۱ ارائه شده است.

1. Boughalleb and Mhamdi
2. 2-Chloroethyl Trimethylammonium Chloride
3. Cycocel
4. Jaana
5. Ent Kaurene Synthase
6. Rademacher
7. Laurer
8. Nejadsahebi
9. Barrani
10. Abd El-Rhman
11. *Vigna radiata*
12. Farooq and Bano

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱: خصوصیات خاک مورد استفاده برای آزمایش
Table 1: Characteristics of used soil for experiment

خصوصیات خاک مورد آزمایش Characteristics of soil for experiment	مقدار موجود در خاک Content in the soil	واحد (Unit)
شن (Sand)	54	درصد (Percent)
رس (Clay)	20.5	درصد (Percent)
سیلت (Silt)	25.5	درصد (Percent)
ازت کل (Total nitrogen)	0.15	درصد (Percent)
کربنات کلسیم (Calcium carbonate)	16.1	درصد (Percent)
فسفر (Phosphorus)	43	میلی‌گرم در کیلوگرم (mg/kg)
پتاسیم (Potassium)	634	میلی‌گرم در کیلوگرم(mg/kg)
هدایت الکتریکی (EC)	2.6	دسی‌زیمنس بر متر(dS/m)
اسیدیته (PH)	7.6	
بافت خاک (Soil texture)	شنی لومی (Sandy loam)	

در نیمه اسفند ماه ۱۳۸۹ نهال‌ها در گلدان‌ها کاشته شد و پس از دو ماه استقرار در محیط گلخانه، تیمارهای مورد آزمایش روی آن‌ها اعمال گردید. همزمان با شروع دورهای آبیاری (مقدار ۱/۵ لیتر آب در هر مرحله آبیاری برای هر نهال) در نیمهٔ اردیبهشت ماه، تیمارهای سایکوسل به‌صورت محلول‌پاشی دستی تا مرحلهٔ آب چک شدن از برگ‌ها و اندام هوایی، در چهار مرحله و با فاصلهٔ ۲۵ روز یک‌بار صورت گرفت (میزان محلول‌پاشی در هر مرحله به ازاء هر گیاه ۵۵ سی‌سی بود)، همچنین به‌جای سایکوسل صفر (شاهد) محلول‌پاشی با آب صورت گرفت.

صفات مورد بررسی و روش اندازه‌گیری آنها

در پایان آزمایش (۱۲۰ روز بعد از آغاز اعمال تیمارهای خشکی و سایکوسل)، صفات مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای تهیهٔ عصارهٔ گیاهی جهت تعیین میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات و گوایاکول پراکسیداز از روش پیشنهادی *کانگ و سالتیویت*[1] (2002) با اندکی تغییرات استفاده شد. نیم گرم وزن تر برگ از یک گلدان به‌طور تصادفی در هر تکرار توزین گردید و سپس به داخل هاون سرد منتقل شد و توسط ۳ میلی‌لیتر محلول بافر تریس با pH= ۷/۵ شامل اسید کلریدریک ۰/۰۵ مولار، ۳ میلی‌مولار کلرید منیزیم و ۱ میلی‌مولار EDTA در هاون خوب ساییده شد. بافر استخراجی برای استخراج آنزیم آسکوربات پراکسیداز شامل ۰/۲ میلی‌مولار آسکوربات نیز بود. مخلوط حاصل به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی به‌عنوان عصارهٔ خام برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مورد استفاده قرار گرفت.

فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش پیشنهادی *ابی*[2] (1984) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) شامل ۰/۲ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۱ درصد و ۰/۳ میلی‌لیتر عصارهٔ استخراجی بود. سپس فعالیت آنزیم کاتالاز به‌صورت کاهش در جذب طی ۱ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر محاسبه شد. برای سنجش فعالیت کاتالاز از ضریب خاموشی (۴۳/۶ $mM^{-1}cm^{-1}$) استفاده شد.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از روش پیشنهادی *ناکونا و آسادا*[3] (1981) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) شامل ۰/۱ میلی‌مولار EDTA، آسکوربات سدیم ۱ میلی‌مولار، ۰/۲ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۱۰ میلی‌مولار و ۰/۱ میلی‌لیتر عصارهٔ آنزیمی بود. سپس فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به‌صورت کاهش در جذب طی ۱ دقیقه در طول موج ۲۹۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر محاسبه شد. برای سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز از ضریب خاموشی (۲/۸ $mM^{-1}cm^{-1}$) استفاده شد.

فعالیت آنزیم گوایاکول پراکسیداز با استفاده از روش پیشنهادی *یوپادایا*[4] و همکاران (1985) انجام گرفت. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) شامل ۱ میلی‌لیتر گوایاکول ۱ درصد، ۱ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۱ درصد و ۰/۱ میلی‌لیتر عصارهٔ استخراجی

1. Kang and Saltiveit
2. Aebi
3. Nakano and Asada
4. Updhyaya

www.SID.ir

Archive of SID

بود. سپس فعالیت آنزیم گوایاکول پراکسیداز به‌صورت افزایش در جذب طی ۱ دقیقه در طول موج ۴۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر محاسبه شد. برای سنجش فعالیت گوایاکول پراکسیداز از ضریب خاموشی (۲۶/۶ $mM^{-1}cm^{-1}$) استفاده شد.

برای اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین برگ از روش *فولکی و فرانسیس*[1] (1968) استفاده شد. مقدار ۰/۱ گرم از وزن تر برگ به همراه ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (شامل ۹۹ درصد متانول و ۱ درصد اسید کلریدریک) ساییده شد. سپس عصارهٔ حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۶۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد و فاز بالایی آن به‌مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای اتاق نگه‌داری شد. بعد از ۲۴ ساعت جذب هر یک از نمونه‌ها در طول موج ۵۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای محاسبهٔ غلظت آنتوسیانین از ضریب خاموشی (۱۵۰ $mM^{-1}cm^{-1}$) استفاده شد.

برای استخراج عصاره جهت اندازه‌گیری میزان فنل کل، ۰/۵ گرم از بافت تر برگ به همراه ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد در هاون ساییده شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد (*هوری*[2] و همکاران، 2007). برای تعیین میزان فنل کل براساس روش پیشنهادی *مارینووا*[3] و همکاران (2005) استفاده گردید. به ۱ میلی‌لیتر از عصارهٔ استخراجی ۹ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتئو[4] اضافه و مخلوط به هم زده شد. بعد از ۵ دقیقه ۱۰ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷ درصد اضافه شد و به‌مدت ۹۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. سپس جذب هر یک از نمونه‌ها در طول موج ۷۵۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبهٔ میزان فنل کل، از منحنی استاندارد گالیک اسید استفاده گردید.

برای اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید[5] به‌عنوان شاخصی از پراکسیداسیون چربی‌ها، از روش پیشنهادی *هیت و پاکر*[6] (1968) استفاده شد. ۱ گرم بافت تر برگ در ۲/۵ میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد ساییده شد. هموژنات حاصل به‌مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۵۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. روی ۲ میلی‌لیتر از محلول رویی، ۲ میلی‌لیتر از محلول محتوی تری کلرو استیک اسید ۲۰ درصد و تیوباربیوریک اسید ۰/۵ درصد اضافه شد. نمونه‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۶ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس بلافاصله در آب یخ سرد شدند و به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند. در نهایت جذب محلول حاصل با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبهٔ غلظت مالون‌دی‌آلدئید از ضریب خاموشی معادل (۱۵۵ $mM^{-1}cm^{-1}$) استفاده شد و نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب وزن تر محاسبه و ارائه گردید. تجزیهٔ داده‌های به‌دست آمده از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SAS (9.1) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت، همچنین برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel (2007) استفاده گردید.

نتایج و بحث

میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی

نتایج تجزیهٔ آماری داده‌های آزمایش نشان داد که سطوح مختلف خشکی تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گوایاکول پراکسیداز داشت (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش فواصل آبیاری میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گوایاکول پراکسیداز به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد به‌طوری‌که بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های مذکور در تیمار خشکی شدید مشاهده شد (به‌ترتیب ۱۰/۴۸۶ و ۱۷/۸۷۹ میکرومول در دقیقه بر گرم وزن تر برگ)، همچنین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمارهای تنش خشکی ملایم و تنش خشکی شدید بدون اختلاف معنی‌دار نسبت به یکدیگر به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد افزایش یافت (به‌ترتیب ۹/۶۶۵، ۱۰/۱۲۹ و ۸/۸۰۸ میکرومول در دقیقه بر گرم وزن تر برگ) (جدول ۳). در شرایط تنش خشکی افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌تواند به علت تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در محیط سلول و افزایش میزان پراکسید هیدروژن باشد که باعث اختلال در اعمال فیزیولوژیک سلول می‌شود و سیستم ضداکسیداتیو را فعال می‌کند (*ردی* و همکاران، 2004). *میتوا*[7] و همکاران (2004) گزارش کردند که پراکسیدازها باعث خنثی‌کردن اثر سمی پراکسید هیدروژن می‌شوند. آنزیم کاتالاز به‌عنوان یک آنزیم محافظتی در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی علاوه‌بر تجزیهٔ پراکسید هیدروژن (*لاورر*، 2003)، در به تعویق انداختن پیری (*کاروسو*[8] و همکاران، 1999) و جلوگیری از تخریب دیوارهٔ سلولی (*جیانگ و زانگ*[9]، 2001) نیز نقش دارد. در آزمایشی فعالیت آنزیم‌های

1. Fulcki and Francis
2. Horii
3. Marinova
4. Folin Ciocalteu
5. Malondialdehyde
6. Heat and Packer
7. Mittova
8. Caruso
9. Jiang and Zhang

www.SID.ir

Archive of SID

سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گوایاکول پراکسیداز در هر دو بافت برگ و ریشهٔ زیتون تحت شرایط تنش خشکی، به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد افزایش یافت اما فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز کاهش نشان داد که این امر می‌تواند منجر به افزایش ترکیبات فنلی در طول دورهٔ تنش شود (*سوفو* و همکاران، 2005). همچنین در آزمایش دیگری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در اثر اعمال تنش آبی در برگ و ریشهٔ زیتون به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد افزایش پیدا کرد (*سوفو* و همکاران، 2008). تیمار سایکوسل تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گوایاکول پراکسیداز داشت اما فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تأثیر تیمار سایکوسل قرار نگرفت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به محلول‌پاشی سایکوسل نشان می‌دهد که میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گوایاکول پراکسیداز در گیاهان شاهد در مقایسه با گیاهان تیمار شده دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد و با افزایش غلظت سایکوسل بر فعالیت آنزیم‌های مذکور افزوده شده است (جدول ۴). سایکوسل از خانواده کولین‌ها می‌باشد. از ویژگی کولین‌ها این است که بدون اینکه اثری بر میزان تنفس داشته باشند، موجب کاهش باز و بسته شدن روزنه‌ها می‌شوند و در نتیجه سبب کاهش حساسیت به خشکی و سرمازدگی می‌گردند. کولین‌ها در غشاء چربی سلول وجود دارند و به‌عنوان جذب-کنندهٔ رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند که موجب کاهش بعضی از آسیب‌های ناشی از تنش‌های خشکی و سرما می‌گردد (*الفوینگ*[1]، 1988). استفاده از سایکوسل با غلظت ۱/۵ لیتر در هکتار موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ذرت تحت شرایط تنش خشکی شده است (ایلکایی و همکاران، ۱۳۸۹). در آزمایشی فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و گوایاگول پراکسیداز در برگ‌های دانهال‌های تیمار شدهٔ گندم با سایکوسل، قبل از تنش گرما به‌ترتیب ۱۰ و ۱۵ درصد نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد، اما پس از اعمال تنش گرمایی فعالیت آنزیم‌ها به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت (*کرسلاوسکی*[2] و همکاران، 2010). بین ارقام مورد آزمایش از نظر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گوایاکول پراکسیداز اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول ۲). فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گوایاکول پراکسیداز در رقم میشن بیشتر از رقم ماری بود (جدول ۵). نتایج این پژوهش نشان داد که در رقم میشن کاهش خسارت اکسیداتیوی به افزایش بیان سیستم‌های آنتی‌اکسیدان مرتبط است، و سلول‌های گیاهی که دارای مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی هستند می‌تواند در مقابل خسارت‌های اکسیداتیو محافظت شوند (*لیما*[3] و همکاران، 2002). اثر رقم و خشکی بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز و اثر متقابل خشکی و سایکوسل بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز وگوایاکول پراکسیداز معنی‌دار شد (جدول ۲). چنان‌که (شکل ۱) نشان می‌دهد فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم میشن تحت سطوح مختلف خشکی بیشتر از رقم ماری بود. همچنین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز فقط در رقم میشن در سطوح مختلف خشکی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در پژوهشی، اعمال تنش خشکی در دو رقم زیتون موجب افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در رقم مقاوم به خشکی شملالی شده است اما در رقم حساس چیتویی بی‌تأثیر بوده است (*گرفل*[4] و همکاران، 2009) که با نتایج پژوهش حاضر هماهنگ است. با توجه به نتایج اثرات متقابل (شکل ۲)، تیمارهای سایکوسل در سطوح مختلف خشکی به‌طور معنی‌داری موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گوایاکول پراکسیداز در مقایسه با شاهد شدند.

میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی

سطوح مختلف آبیاری تأثیر معنی‌داری بر میزان آنتوسیانین و فنل کل داشت (جدول ۳). مطابق نتایج مقایسه میانگین‌ها مربوط به سطوح مختلف خشکی، میزان آنتوسیانین با افزایش تنش به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد افزایش پیدا کرده است همچنین میزان فنل کل فقط در تیمار خشکی شدید (۱۳/۵۰۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) در مقایسه با تیمارهای تنش ملایم (۱۳ /۳۷۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) و شاهد (۱۳/۳۴۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) افزایش معنی‌داری داشته است (جدول ۳). ترکیبات فنلی گیاهان از متابولیت‌های ثانویه هستند که طی مسیر فنیل پروپانوئید تولید می‌شوند و به‌دلیل دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن دارند (*بلوخینا* و همکاران، 2003؛ *کسوری*[5] و همکاران، 2008).

1. Elfving
2. Kreslavski
3. Lima
4. Guerfel
5. Ksouri

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲: تجزیه واریانس اثر تنش خشکی و تیمار سایکوسل بر صفات مورد ارزیابی در دو رقم زیتون

Table 2: Variance analysis of the effects of drought stress and Cycocel treatment on evaluated traits of two olive cultivars

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df	میانگین مربعات (Mean of square)					
		کاتالاز Catalase	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	گوایاکول پراکسیداز Guaiacol peroxidase	آنتوسیانین Anthocyanin	فنل کل Total phenols	مالون‌دی‌آلدئید Malondialdehyde
بلوک (Block)	2	5.106**	5.511*	26.013**	1.621ns	0.016ns	0.109ns
رقم (Cultivar)	1	15.245**	95.960**	76.552**	19.572**	0.156*	34.560**
خشکی (Drought)	2	257.872**	8.085**	508.971**	216.256**	0.132*	24.024**
سایکوسل (Cycocel)	2	29.788**	1.498ns	75.679**	12.466**	0.023ns	17.306**
رقم × خشکی (Cultivar×Drought)	2	2.847*	4.997**	2.021ns	1.156ns	0.032ns	1.431*
رقم × سایکوسل (Cultivar × Cycocel)	2	0.274ns	1.301ns	1.952ns	2.219ns	0.010ns	0.151ns
خشکی × سایکوسل (Drought × Cycocel)	4	2.734*	0.529ns	9.906*	16.244**	0.020ns	2.349**
رقم × خشکی × سایکوسل (Cultivar × Drought × Cycocel)	4	0.664ns	0.283ns	1.243ns	1.778ns	0.015ns	0.116ns
خطای آزمایشی (Experimental Error)	34	0.829	1.386	2.782	1.803	0.026	0.421
ضریب تغییرات (cv) (٪)		13.67	12.347	13.003	10.255	1.215	4.351

ns، ** و * به‌ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد

ns, ** and *, Non-significant and Significant at 1 and 5% level of probability, respectively

جدول ۳: مقایسه میانگین تأثیر سطوح مختلف خشکی بر صفات مورد ارزیابی در دو رقم زیتون

Table 3: Mean comparison of the effect of different level of drought on evaluated traits in two olive cultivars

دور آبیاری Irrigation interval	کاتالاز Catalase (µm min^{-1}/g Fw^{-1})	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase (µm min^{-1}/g Fw^{-1})	گوایاکول پراکسیداز Guaiacol peroxidase (µm min^{-1}/g Fw^{-1})	آنتوسیانین Anthocyanin (µm/g FW)	فنل کل Total phenols (mg/g FW)	مالون‌دی‌آلدئید Malondialdehyde (µm/g FW)
5 Days (شاهد) (Control)	2.918c	8.808b	7.279c	10.013c	13.349b	13.850c
10 Days (تنش ملایم) (Mild stress)	6.574b	9.665a	13.325b	12.426b	13.372b	14.761b
15 Days (تنش شدید) (Severe stress)	10.486a	10.129a	17.879a	16.848a	13.508a	16.144a

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری در سطح ۵٪ براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن معنی‌دار نمی‌باشند

Means with the same letter in each column are not statistically significant at the 5% level using the Duncan's Multiple Range Test

جدول ۴: مقایسه میانگین تأثیر سطوح مختلف سایکوسل بر صفات مورد ارزیابی در دو رقم زیتون

Table 4: Mean comparison of the effect of different level of drought on evaluated traits in two olive cultivars

تیمار سایکوسل Cycocel treatment (mg/L^{-1})	کاتالاز Catalase (µm min^{-1}/g Fw^{-1})	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase (µm min^{-1}/g Fw^{-1})	گوایاکول پراکسیداز Guaiacol peroxidase (µm min^{-1}/g Fw^{-1})	آنتوسیانین Anthocyanin (µm/g FW)	فنل کل Total phenols (mg/g FW)	مالون‌دی‌آلدئید Malondialdehyde (µm/g FW)
0	5.364c	9.278a	10.789c	13.629a	13.452a	15.833a
500	6.678b	9.478a	12.803b	12.137b	13.387a	15.038b
1000	7.936a	9.847a	14.890a	13.520a	13.390a	13.883c

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری در سطح ۵٪ براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن معنی‌دار نمی‌باشند

Means with the same letter in each column are not statistically significant at the 5% level using the Duncan's Multiple Range Test

www.SID.ir

Archive of SID

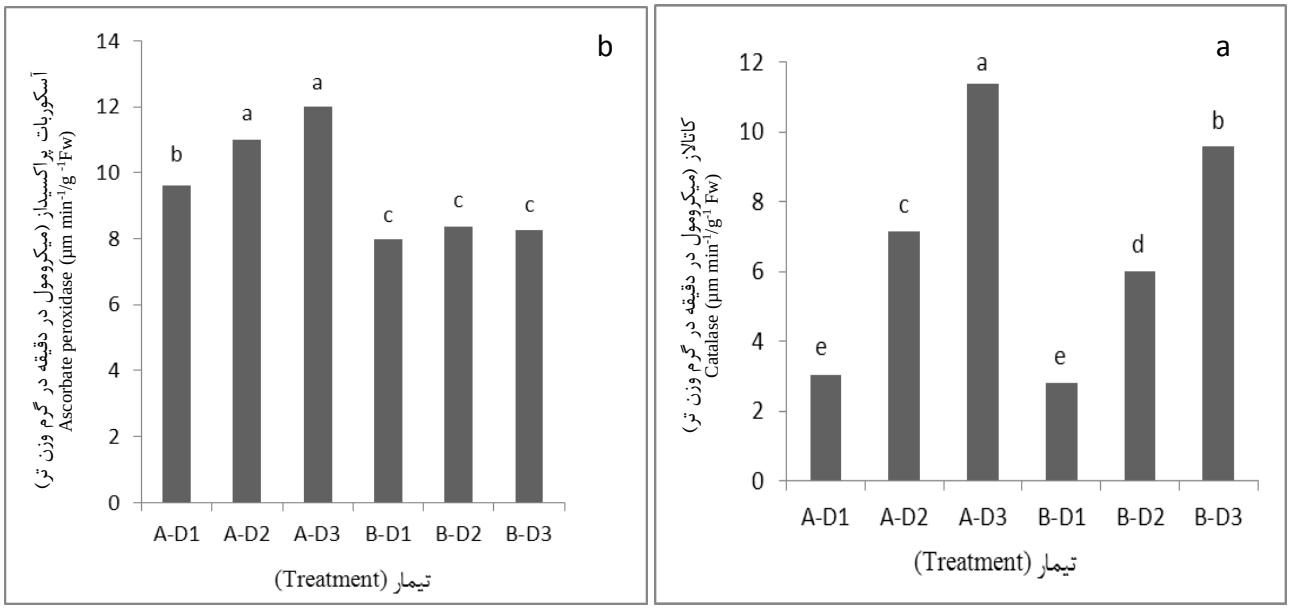
جدول ۵: مقایسه میانگین تأثیر رقم بر صفات مورد ارزیابی

Table 5: Mean comparison of the effect of cultivar on evaluated traits

رقم Cultivar	کاتالاز Catalase ($\mu m\ min^{-1}/g^{-1}\ Fw$)	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase ($\mu m\ min^{-1}/g^{-1}\ Fw$)	گواياکول پراکسیداز Guaiacol peroxidase ($\mu m\ min^{-1}/g^{-1}\ Fw$)	آنتوسیانین Anthocyanin ($\mu m/g\ FW$)	فنل کل Total phenols ($mg/g\ FW$)	مالون‌دی‌آلدئید Malondialdehyde ($\mu m/g\ FW$)
میشن (Mission)	7.191^{a}	10.867^{a}	14.018^{a}	13.697^{a}	12.464^{b}	14.118^{b}
ماری (Mary)	6.128^{b}	8.201^{b}	11.637^{b}	12.493^{b}	13.365^{a}	15.718^{a}

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری در سطح ۵٪ براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن معنی‌دار نمی‌باشند

Means with the same letter in each column are not statistically significant at the 5% level using the Duncan's Multiple Range Test



شکل ۱: مقایسه میانگین اثر برهمکنش بین رقم و خشکی بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (a) و آسکوربات پراکسیداز (b). میانگین‌های با حروف مشابه در سطح احتمال ۵٪ دارای اختلاف معنی‌دار براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن نمی‌باشند. A: رقم میشن، B: رقم ماری، D1: دور آبیاری ۵ روز یک‌بار، D2: دور آبیاری ۱۰ روز یک‌بار و D3: دور آبیاری ۱۵ روز یک‌بار

Fig. 1: Mean comparison of interaction effect between cultivar and drought on catalase (a) and ascorbate peroxidase (b) activity. Means with the same letters are not significantly different at the 5% level using the Duncan's Multiple Range Test. A: Mission cultivar, B: Mary cultivar, D1: irrigation intervals of 5 days, D2: irrigation intervals of 10 days and D3: irrigation intervals of 15 days

بوقالب و محامدی (2001) افزایش ترکیبات فنلی را در ارقام زیتون تحت شرایط تنش خشکی گزارش کرده‌اند. افزایش ترکیبات فنلی و آنتوسیانین‌ها در اثر تنش خشکی، احتمالاً به‌دلیل نقش آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در برابر رادیکال‌های آزاد تولید شده می‌باشد. *ناگوس* و بیکر[1] (2000) گزارش کردند که اعمال تنش خشکی به‌همراه تیمار UV، محتوای فلاونوئید و آنتوسیانین برگ گیاهان مدیترانه‌ای ازجمله زیتون را به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد افزایش داد. تأثیر تیمار سایکوسل بر میزان آنتوسیانین، در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود اما بر شاخص فنل کل تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۲). در بررسی مقایسه میانگین‌های مربوط به محلول‌پاشی سایکوسل مشاهده گردید که تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب کاهش معنی‌دار میزان آنتوسیانین نسبت به شاهد شد، اما تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر تأثیر معنی‌داری در مقایسه با شاهد نداشت (جدول ۴). در آزمایشی استفاده از سایکوسل تأثیر معنی‌داری بر میزان فلاونوئیدها و آنتوسیانین در سیب رقم جوناگلد[2] نداشت (*عواد و دجاگر*[3]، 2002). بین ارقام ماری و میشن اختلاف معنی‌داری از نظر میزان فنل کل و آنتوسیانین وجود داشت (جدول ۲). طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۵) رقم ماری از میزان فنل بیشتر و رقم میشن از آنتوسیانین

1. Nogues and Baker

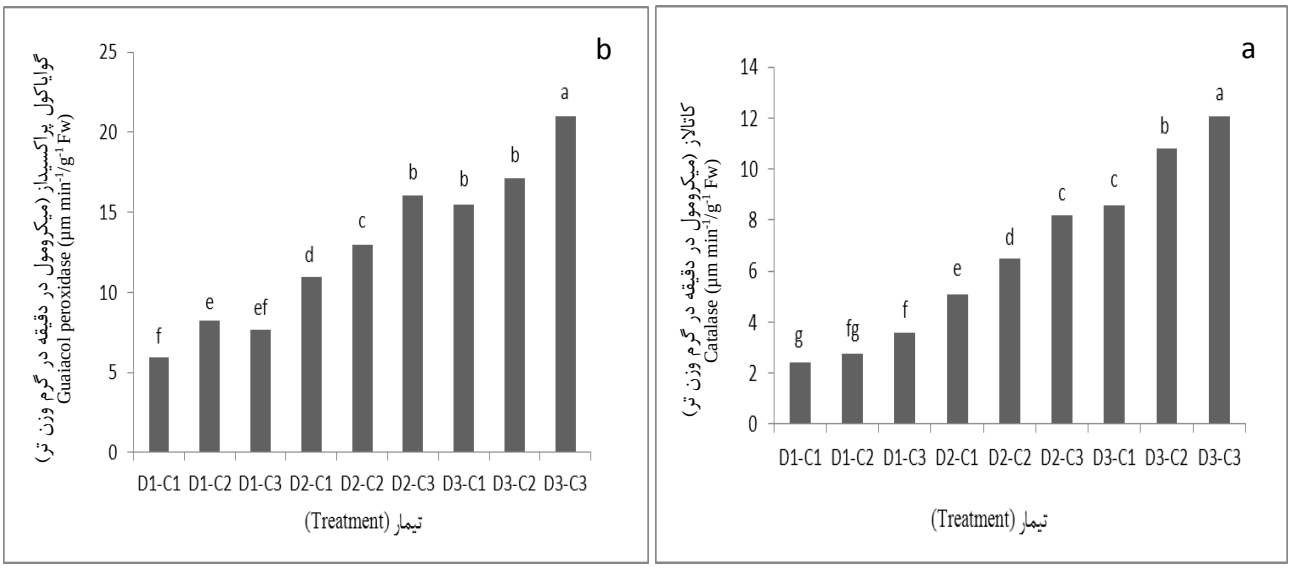
2. Jonagold

3. Awad and De-Jager

www.SID.ir

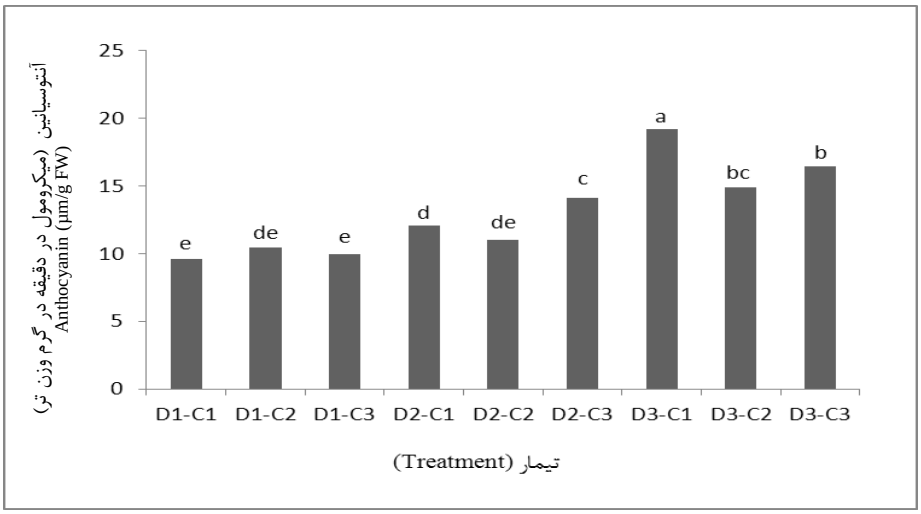
Archive of SID

بیشتری برخوردار بود. اثر متقابل خشکی و سایکوسل بر میزان آنتوسیانین معنی‌دار شد (جدول ۲). تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر سایکوسل در شرایط تنش ملایم خشکی به‌طور معنی‌داری موجب افزایش آنتوسیانین در مقایسه با شاهد شد اما در شرایط تنش شدید خشکی، تیمارهای سایکوسل موجب کاهش آنتوسیانین در مقایسه با شاهد شدند (شکل ۳).



شکل ۲: مقایسه میانگین‌های اثر برهمکنش بین خشکی و سایکوسل بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (a) و گواياکول پراکسیداز (b). میانگین‌های با حروف مشابه در سطح احتمال ۵٪ دارای اختلاف معنی‌دار براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن نمی‌باشند. C1: سایکوسل صفر میلی‌گرم در لیتر، C2: سایکوسل ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، C3: سایکوسل ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر، D1: دور آبیاری ۵ روز یک‌بار، D2: دور فواصل ۱۰ روز یک‌بار و D3: دور آبیاری ۱۵ روز یک‌بار

Fig. 2: Mean comparison of interaction effect between drought and cycocel on catalase (a) and guaiacol peroxidase (b) activity. Means with the same letters are not significantly different at the 5% level using the Duncan's Multiple Range Test. C1: Cycocel 0 mg L^{-1}, C2: Cycocel 500 mg L^{-1}, C3: Cycocel 1000 mg L^{-1}, D1: irrigation intervals of 5 days, D2: irrigation intervals of 10 days and D3: irrigation intervals of 15 days



شکل ۳: مقایسه میانگین‌های اثر برهمکنش بین خشکی و سایکوسل بر میزان آنتوسیانین. میانگین‌های با حروف مشابه در سطح احتمال ۵٪ دارای اختلاف معنی‌دار براساس آزمون چنددامنه‌ای نمی‌باشند. C1: سایکوسل صفر میلی‌گرم در لیتر، C2: سایکوسل ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، C3: سایکوسل ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر، D1: دور آبیاری ۵ روز یک‌بار، D2: دور آبیاری ۱۰ روز یک‌بار و D3: دور آبیاری ۱۵ روز یک‌بار

Fig. 3: Mean comparison of interaction effect between drought and cycocel on anthocyanin. Means with the same letters are not significantly different at the 5% level using the Duncan's Multiple Range Test. C1: Cycocel 0 mg L^{-1}, C2: Cycocel 500 mg L^{-1}, C3: Cycocel 1000 mg L^{-1}, D1: irrigation intervals of 5 days, D2: irrigation intervals of 10 days and D3: irrigation intervals of 15 days

www.SID.ir

Archive of SID

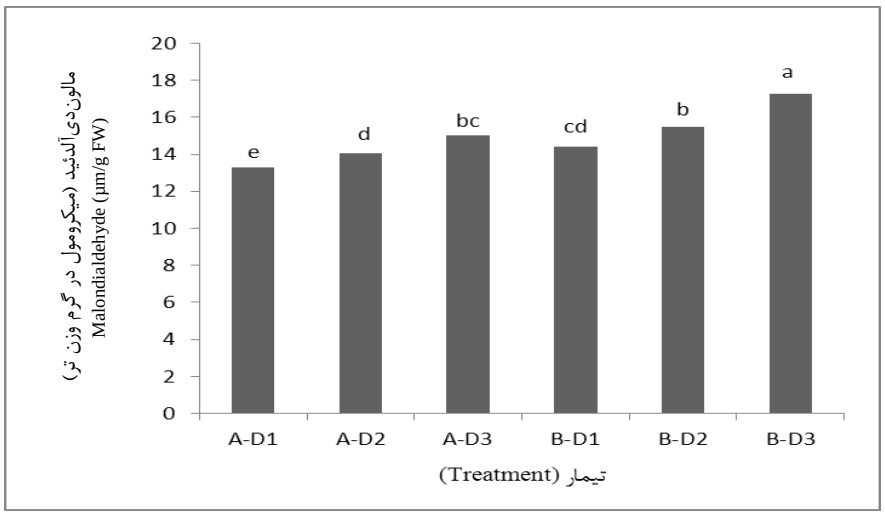
مالون‌دی‌آلدئید

نتایج به‌دست آمده در این پژوهش نشان داد که سطوح مختلف آبیاری تأثیر معنی‌داری بر میزان مالون‌دی‌آلدئید در سطح احتمال ۱ درصد داشت (جدول ۲). طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها، بیشترین و کمترین میزان مالون‌دی‌آلدئید به‌ترتیب در تیمار خشکی شدید (۱۶/۱۴۴ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) و تیمار شاهد (۱۳/۸۵۰ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) مشاهده شد (جدول ۳). کم‌آبی با تولید انواع گونه‌های فعال اکسیژن موجب بروز تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شود (*فاروق*[1] و همکاران، 2009). گونه‌های فعال اکسیژن مانند رادیکال سوپراکسید[2]، پراکسید هیدروژن[3] و رادیکال هیدروکسیل[4] می‌توانند به‌طور مستقیم موجب تخریب غشاء و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها شوند (*میتلر*، 2002). میزان مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان شاخصی از پراکسیداسیون چربی‌ها، تحت شرایط تنش مطرح است. *جیانگ و هوانگ*[5] (2001) افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدئید را نشان‌دهندهٔ افزایش واکنش پراکسیداسیون چربی‌ها و اکسید شدن اسیدهای چرب غشائی می‌دانند. نتایج مشابهی در رابطه با افزایش میزان مالون‌دی-آلدئید در برگ سه رقم زیتون در اثر تنش خشکی گزارش شده است (*بوقالب و محامدی*، 2011). نتایج یک آزمایش نشان داد که میزان مالون‌دی‌آلدئید در ریشه و برگ زیتون، در اثر تنش خشکی به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد افزایش یافت (*سوفو* و همکاران، 2008).با وجود اینکه فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی در ارقام زیتون در اثر تنش خشکی افزایش یافت، به نظر می‌رسد دلیل افزایش میزان مالون‌دی‌آلدئید کافی نبودن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان جهت جلوگیری از پراکسیداسیون چربی‌ها و حذف رادیکال‌های آزاد تولید شده باشد. تیمار سایکوسل تأثیر معنی‌داری بر میزان مالون‌دی-آلدئید داشت (جدول ۲). طبق جدول مقایسه میانگین‌ها، کاهش در تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر سایکوسل بیشتر از ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر آن بود (جدول ۴). این کاهش می‌تواند ناشی از افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحت اثر تیمار با سایکوسل و یا به دلیل کاهش عوامل تولیدکننده رادیکال‌های آزاد در گیاهان تیمار شده نسبت به شاهد در شرایط تنش خشکی باشد. از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری بین ارقام مشاهده شد (جدول ۲)، با توجه به نتیجهٔ مقایسه میانگین‌ها، رقم میشن مالون‌دی‌آلدئید کمتری در مقایسه با رقم ماری داشت (به‌ترتیب ۱۴/۱۱۸ و ۱۵/۷۱۸ ۱۶/۱۴۴ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) (جدول ۵). اثرات متقابل رقم در خشکی و خشکی در سایکوسل بر میزان مالون‌دی‌آلدئید معنی‌دار شد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر متقابل رقم و خشکی نشان می‌دهد که میزان مالون‌دی‌آلدئید در رقم ماری در سطوح مختلف خشکی بیشتر از رقم میشن است (شکل ۴). همچنین با توجه به نتایج اثر متقابل خشکی در سایکوسل، غلظت‌های مختلف سایکوسل در سطوح مختلف خشکی به‌طور معنی‌داری موجب کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید در مقایسه با شاهد شدند (شکل ۵).

1. Farooq
2. $O_2^{\cdot}$
3. H_2O_2
4. $OH^{\cdot}$
5. Jiang and Hung

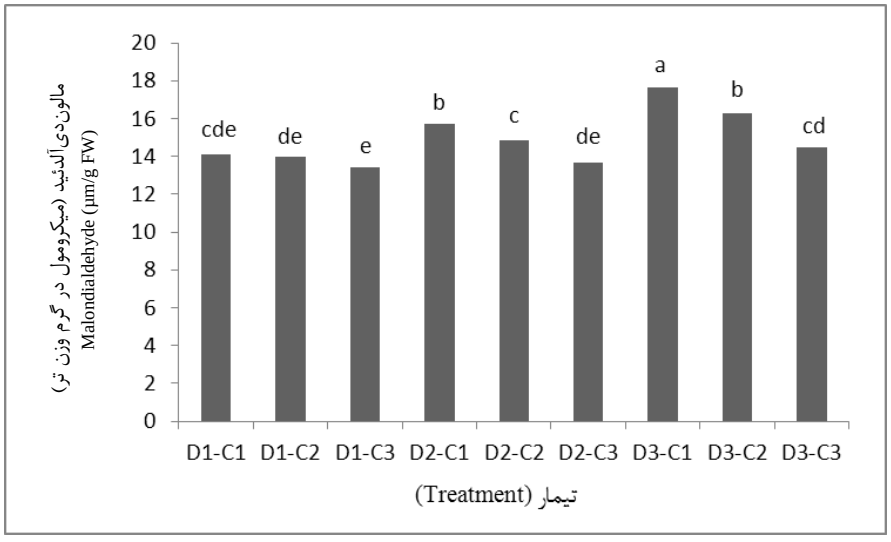
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۴: مقایسه میانگین‌های اثر برهمکنش بین رقم و خشکی بر میزان مالون‌دی‌آلدئید. میانگین‌های با حروف مشابه در سطح احتمال ۵٪ دارای اختلاف معنی‌دار براساس آزمون چنددامنه‌ای نمی‌باشند. A: رقم میشن، B: رقم ماری، D1: دور آبیاری ۵ روز یک‌بار، D2: دور آبیاری ۱۰ روز یک‌بار و D3: دور آبیاری ۱۵ روز یک‌بار

Fig. 4: Mean comparison of interaction effect between cultivar and drought on Malondialdehyde content. Means with the same letters are not significantly different at the 5% level using the Duncan's Multiple Range Test. A: Mission cultivar, B: Mary cultivar, D1: irrigation intervals of 5 days, D2: irrigation intervals of 10 days and D3: irrigation intervals of 15 days



شکل ۵: مقایسه میانگین‌های اثر برهمکنش بین خشکی و سایکوسل بر میزان مالون‌دی‌آلدئید. میانگین‌های با حروف مشابه در سطح احتمال ۵٪ دارای اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون چنددامنه‌ای نمی‌باشند. C1: سایکوسل صفر میلی‌گرم در لیتر، C2: سایکوسل ۵۰۰ میلی گرم در لیتر، C3: سایکوسل ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر، D1: دور آبیاری ۵ روز یک‌بار، D2: دور آبیاری ۱۰ روز یک‌بار و D3: دور آبیاری ۱۵ روز یک‌بار

Fig. 5: Mean comparison of interaction effect between drought and cycocel on Malondialdehyde content. Means with the same letters are not significantly different at the 5% level using the Duncan's Multiple Range Test. C1: Cycocel 0 mg L^{-1}, C2: Cycocel 500 mg L^{-1}, C3: Cycocel 1000 mg L^{-1}, D1: irrigation intervals of 5 days, D2: irrigation intervals of 10 days and D3: irrigation intervals of 15 days

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه‌گیری کلی

براساس نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که طولانی شدن فواصل آبیاری منجر به افزایش میزان مالون‌دی‌آلدئید و در نتیجه فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیدانی در ارقام زیتون مورد بررسی می‌شود. در این پژوهش، رقم میشن نسبت به رقم ماری مقاوم‌تر نسبت به تنش خشکی تشخیص داده شد، به‌طوری‌که از مالون‌دی‌آلدئید کمتر و سطوح بالاتر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برخوردار بود که این امر موجب کاهش خسارت اکسیداتیوی در اثر تنش خشکی می‌شود. بر طبق نتایج به‌دست آمده، استفاده از سایکوسل با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر از عملکرد بهتری برخوردار بود. همین‌طور این نکته قابل ذکر است که بین دو رقم از نظر پاسخ به کندکنندهٔ رشد سایکوسل تفاوتی مشاهده نشد. بدین‌ترتیب با توجه به گسترش روزافزون کم‌آبی و نیاز شدید کشور به فرآورده‌های روغنی، استفاده از رقم میش و غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر سایکوسل که توانایی مکانیسم‌های مقاومت به شرایط تنشی را در گیاه ایجاد می‌کند، توصیه می‌گردد.

سپاسگزاری

از معاونت تحصیلات تکمیلی دانشگاه ارومیه به جهت تأمین مالی پایان‌نامه قدردانی می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

ایلکایی، م. ن.، حبیبی، د.، پاک‌نژاد، ف.، خدابنده، ن.، علی‌اکبر بوجار، م. و صدیقی، ف. ۱۳۸۹. تأثیر کلروکولین کلراید (CCC) و زمان محلول‌پاشی بر عملکرد، صفات فیزیولوژیک و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت ذرت (*Zea mays* cv. Sc 704) در شرایط تنش خشکی. مجله دانش نوین کشاورزی، ۶ (۱۹): ۱۱-۱۸.

Abd El-Rhman, I. E. 2010. A study on some treatments which mitigate drought effects on Barrani grapevines, Journal of Applied Sciences Research, 6 (6): 704-711.

Aebi, H. 1984. Catalase *in vitro*. Methods in Enzymology, 105: 121-126.

Awad, M. A. and De-Jager, A. 2002. Formation of flavonoids, especially anthocyanin and chlorogenic acid in "Jonagold" apple skin: influences of growth regulators and fruit maturity. Scientia Horticulturae, 93: 257-266.

Bacelar, E. A., Moutinho-Pereira, J. M., Gonçalves, B. C., Lopes, J. I. and Correia, C. M. 2009. Physiological responses of different olive genotypes to drought conditions. Acta Physiologia Plantarum, 31: 611-621.

Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagersted, K. V. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress. A review. Annals of Botany, 91: 179-194.

Bosabalidis, A. M. and Kofidis, G. 2002. Comparative effects of drought on leaf anatomy of two olive cultivars. Pakistan Journal of Biological Science, 163: 375-379.

Boughalleb, F. and Mhamdi, M. 2011. Possible involvement of proline and the antioxidant defense systems in the drought tolerance of three olive cultivars grown under increasing water deficit regimes. Agricultural Journal, 6 (6): 378-391.

Caruso, C., Chilosi, G., Caporale, C., Leonardo, L., Bertini, L., Margo, P. and Buonocore, V. 1999. Induction of pathogenesis-related proteins in germinating wheat seeds infected with *fusarius culmorum*. Plant Science, 140: 87-97.

Chartzoulakis, K., Patakas, A. and Bosabalidis, A. M. 1999. Change in water relations, photosynthesis and leaf anatomy induced by intermittent drought in tow olive cultivars. Environmental and Experimental Botany, 42: 113-120.

Chen, W. P., Li, P. H. and Chen, T. H. H. 2000. Glycinebetaine increases chilling tolerance and reduces chilling-induced lipid peroxidation in *Zea mays* L., Plant Cell and Environment, 23: 609-618.

Connor, D.J. 2005. Adaptation of olive (*Olea europaea* L.) to water limited environments. Australian Journal of Agricultural Research, 56: 1181-1189.

Dichio, B., Romano, M., Nuzzu, V. and Xiloyannis, C. 2002. Soil water availability and relationship between canopy and roots in young olive trees cv. Coratana. Acta Horticulturae, 586: 419-422.

Elfving, D. 1988. Economic effects of excessive vegetative growth in deciduous fruit trees. Horticultural Science, 233: 461-463.

Ennajeh, M., Vadel, A. M. and Khemira, H. 2009. Osmoregulation and osmoprotection in the leaf cells of tow olive cultivars subjected to severe water deficit. Acta Physiologiae Plantarum, 31: 711-721.

Farooq, U. and Bano, A. 2006. Effect of abscisic acid and cholorocholine chloride on nodulation and biochemical content of *Vigna radiata* L. under water stress. Pakistan Journal of Botany, 38 (5): 1511-1518.

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra, S. M. A. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agronomy for Sustainable Development, 29: 185-212.

Fulcki, T. and Francis, F. J. 1968. Quantitive metod for anthocyanins extraction and determination of total anthocyanin in Cranberries. Journal of Food Science, 33: 72-77.

Guerfel, M., Ouni, Y., Boujnah, D. and Zarrouk, M. 2009. Photosynthesis parameters activities of enzymes of oxidative stress in two young Chemlali and Chetoui olive trees under water deficit. Photosynthetica, 47 (3): 340-346.

Hagidimitrio, M. and Pontikis, M. A. 2004. Seasonal changes on CO_2 assimilation in leaves of five major greek olive cultivars. Scientia Horticulturae, 104: 11-24.

Heath, R. L. and Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. Archives Biochemistry Biophysics, 125: 850-857.

Hoekstra, F. A., Golovina, E. A. and Buitink, J. 2001. Mechanisms of plant desiccation tolerance. Trends in Plant Science, 6: 431-438.

Horii, A., Mccup, P. and Shetty, K. 2007. Enhancement of seed vigour following insecticide and phenolic elicitor treatment. Bioresour Technology, 98: 623-632.

Jaana, L., Rikala, R. and Aphalo, P. J. 2002. Effect of CCC and daminozide on growth of silver birch container seedlings during three years after spraying. New Forests, 23: 71-80.

Jiang, Y. and Hung, B. 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism lipid peroxidaion. Crop Science, 41: 436-442.

Jiang, M. and Zhang, J. 2001. Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative offence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings. Plant and Cell Physiology, 42: 1265-1273.

Kang, H. M. and Saltiveit, M. E. 2002. Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling (leaves and roots) and differentially affected by salicylic acid. Physiologia Plantarum, 115: 577-576.

www.SID.ir

Archive of SID

Kreslavski, V. D., Balakhnina, T. I., Zharmukhamedov, S. K., Shabnova, N. I. Khristin, M. S. and Lyubimov, V. Y. 2010. Mechanism of enhancing photosystem 2 thermoresistance in wheat plants by chlorocholine chloride. Russian Agricultural Sciences, 36 (3): 156-159.

Ksouri, R., Megdiche, W., Falleh, H., Trabelsi, N., Boulaba, M., Srnaoui, A. and Abdelly, C. 2008. Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. Comptes Rendus Biologies, 331: 856-873.

Laurer, J. 2003. What happens within the corn plant when drought occurs? Wisconsin Crop Manager, 22: 153-155.

Lima, A. L. S., Damata, F. M., Pinheiro, H. A., Totola, M. R. and Loureio, M. E. 2002. Photochemical responses and oxidative, stress in tow clones of coffcanephora under water deficit conditions. Environmental and Experimental Botany, 47: 239-247.

Marinova, D., Ribarova, F. and Atanassova, M. 2005. Total phenolics and total flavonoids in Bulgaria fruits and vegetables. The University of Chemical Technology and Metallurgy, 40: 255-260.

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

Mittova, V., Guy, M., Tah, M. and Volokita, M. 2004. Salinity up-regulates the antioxidative system in root mitochonderia and proxisomes of the wild salt-tolerant tomato species *Lycopersicon pennellii.* Journal of Experimental Botany, 55: 1105-1113.

Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. Journal of Plant Cell Physiology, 22: 867-880.

Nejadsahebi, M., Moallemi, N. and Landi, A. 2010. Effects of cycocel and irrigation regimes on some physiological parameters of three olive cultivars. American Journal of Applied Sciences, 7 (4): 459-465.

Nogues, S. and Baker, N. R. 2000. Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean plants grown under enhanced UV-B radiation. Journal of Experimental Botany, 51 (348): 1309-1317.

Rademacher, W., Temple-smit, K. E., Griggs, D. L. and Hedden, P. 2000. Growth retardants: Effect on gibberellins biosynthesis and other metabolic pathways. Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology, 51: 501-531.

Reddy, A. R., Chaitanya, K. V. and Vivekanandan, M. 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Journal of Plant Physiology, 161: 1189-1202.

Sofo, A., Dichio, B., Xiloyannis, C. and Masia, A. 2004. Effects of different irradiance levels on some antioxidenzymes and on malondialdehyde content during rewatering in olive tree. Plant Science, 166: 293-302.

Sofo, A., Dichio, B., Xiloyannis, C. and Masia, A. 2005. Antioxidant defences in olive trees during drought stress: change in activity of some antioxidant enzymes. Functional Plant Biology, 32: 45-53.

Sofo, A., Manfreda, S., Fiorentino, M., Dichio, B. and Xiloyannis, C. 2008. The olive tree: a paradigm for drought tolerance in Mediterranean climates. Hydrology and Earth System Sciences, 12: 293-301.

Takeda, T., Yokota, A. and Shigeoka, S. 1995. Resistance of photosynthesis to hydrogen peroxide in algae. Plant and Cell Physiology, 36: 1089-1095.

Tu, J., Shen, W. B. and Xu, L. L. 2003. Regulation of nitric oxide on the aging process of wheat leaves. Acta Botanica Sinica, 45: 1055-1062.

Updhyaya, A., Sankhla, D., Davis, T. D., Sankhla, N. and Smidth, B. N. 1985. Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. Journal of Plant Physiology, 121: 453-461.

Woodall, G. S. and Stewart, G. R. 1998. Do antocyanins play a role in UV protection of the red juvenile leaves of syzygium? Journal of Experimental Botany, 49: 1447-1450.

www.SID.ir

Archive of SID

Effect of Cycocel on Antioxidative Activity and Malondialdehyde Content of Mary and Mission Olive (*Olea europaea* L.) Cultivars Under Drought Stress

Akbari[1*], V., Jalili Marandi[2], R. and Farokhzad[3], A. R.

Abstract

In order to investigate the effect of cycocel on some biochemical characteristics of two olive cultivars (Mary and Mission), a greenhouse experiment was conducted taking into account three factors of: cycocel at three levels (0, 500 and 1000 mg L^{-1}), drought stress of three levels (irrigated at 5, 10 and 15 days intervals) and tow olive cultivars (Mary and Mission) in a factorial experiment based on randomized complete block design with three replicates for the lasted four months. In the end of experiment the results showed that increased periods of drought have increased catalase activity (10.486 µm min^{-1}/g Fw^{-1}), ascorbate peroxidase (10.129 µm min^{-1}/g Fw^{-1}) and guaiacol peroxidase (17.879 µm min^{-1}/g Fw^{-1}). Anthocyanin content, total phenols and malondialdehyde content in both cultivars increased with drought stress too. Also, cycocel treatments increased the catalase and guaiacol peroxidase activity and decreased the malondialdehyde content as compared with the control. The plants treated with 500 mg L^{-1} cycocel, showed significant decreased in the anthocyanin content (12.137 µm/g FW) in leaf compared with the control (13.629 µm/g FW). Mission cultivar showed higher resistance to drought stress than the Mary cultivar. Results suggested that cycocel treatment can neutralize some negative effects of drought stress in Mary and Mission cultivars of olive.

Keywords: Catalase enzyme, Ascorbate peroxidase, Guaiacol peroxidase, Total phenols

1. M.Sc. Graduate, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
2 and 3. Associate and Assistant Professors, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
*: Corresponding author Email: v.akbari.89@gmail.com

www.SID.ir