

## ارزیابی ژنوتیپ‌های کلزا از نظر محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها، و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش خشکی

امید دهشیری و حسن پاک نیت<sup>۱\*</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۰/۲۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۷/۱۵)

### چکیده

کلزا همانند بسیاری از گیاهان زراعی از تنش کم آبی خسارت می‌بیند. سازوکارهایی که آسیب‌های ناشی از تنش آکسیداتیو را کاهش می‌دهند از اهمیت بسزایی در مقاومت گیاهان به تنش خشکی برخوردار می‌باشند. یکی از این سازوکارها آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است. از این رو آزمایشی با ۹ ژنوتیپ پاییزه کلزا (طلایه، اکاپی، اپرا، مودنا، الایت، لیکورد، زرفام، کوپر، SIm046) با سه سطح تنش خشکی (آبیاری در ۷۵، ۱۰۰ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی خاک) به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به صورت گل‌دانی در سال ۱۳۸۹ در گلخانه دانشکده کشاورزی شیراز انجام شد. نتایج آزمایش نشان داد که با افزایش شدت خشکی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی آسکوربیک پراکسیداز، پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز و میزان کلروفیل و کاروتنوئیدها افزایش یافت. تنش خشکی باعث افزایش محتوای کلروفیل در ژنوتیپ‌های کلزای مورد بررسی شد که به نظر می‌رسد که این افزایش باعث افزایش شدت تأثیر تنش روی گیاه و کاهش بیشتر سطح برگ می‌گردد. می‌توان نتیجه گرفت که ژنوتیپ‌های لیکورد و SLM046 با افزایش تنش خشکی سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی و محتوای کلروفیل را جهت مقابله با خشکی افزایش داده و از مقاومت بالاتری نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها برخوردارند و ژنوتیپ مودنا حساسیت بالاتری نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها به تنش خشکی دارد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم آنتی‌اکسیدانی، تنش خشکی، ژنوتیپ، کلزا

۱. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

\*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: hassanpakniyat@gmail.com

## مقدمه

تنش‌های محیطی باعث کاهش تولید ماده خشک گیاه و یا محدود شدن رشد و نمو گیاه می‌شود (۲). به عبارت دیگر تنش یکی از شرایط تغییر یافته فیزیولوژی است که توسط فاکتورهای ایجاد شونده منجر بر هم خوردن تعادل گیاه می‌شود که این امر در نتیجه یک تغییر فیزیکی و شیمیایی است که توسط تنش ایجاد می‌شود (۱۰). تنش خشکی و شوری همراه با دمای پایین عمده‌ترین مشکل کشاورزی است چرا که این فاکتورهای مضر محیطی، گیاهان را از قابلیت‌های ژنتیکی کامل خود دور می‌کند. متوسط افت عملکرد سالانه به واسطه خشکی در جهان حدود ۱۷ درصد بوده که تا بیش از ۷۰ درصد در هر سال می‌تواند افزایش یابد. خشکی فرآیند فیزیولوژی- بیوشیمیایی پیچیده‌ای است که شامل ایجاد تغییراتی در پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، لیپیدها، هورمون‌ها، یون‌ها، رادیکال‌های آزاد و اسیدهای نوکلئیک می‌شود (۱۵). کلزا نیز همانند بسیاری از گیاهان زراعی از تنش کم آبی متأثر می‌شود. کمبود آب می‌تواند اثر سویی بر عملکرد کلزا بگذارد ولی این اثر بستگی به رقم، مرحله نمو و سازش گیاه به خشکی دارد (۱۶). یک ویژگی معمولی بین فاکتورهای متفاوت تنش (شوری، خشکی، آلودگی هوا، عناصر سنگین، اشعه فرابنفش و حمله عوامل بیماری)، پتانسیل آنها برای افزایش در تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در بافت- های گیاهی می‌باشد (۲۲). از آن جا که شرایط تنش‌زا سبب اختلال و تغییر فعالیت‌های گیاهی می‌شوند، بنابراین ممکن است این تنش‌ها به عنوان ابزاری برای مطالعه بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی در گیاه مورد استفاده محققان قرار گیرند (۱۱). سازوکارهایی که آسیب‌های ناشی از تنش اکسیداتیو را کاهش می‌دهند از اهمیت بسزایی در مقاومت گیاهان به تنش خشکی برخوردارند. این سازوکارها در فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاهان تغییراتی ایجاد می‌نمایند (۱۸). از این جهت، مکانیزم عمل حفاظت‌کننده‌های ضد اکسیداتیو در سلول‌های گیاهی به دو دسته آنزیمی و غیر آنزیمی تقسیم می‌شوند. دسته اول شامل آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی مثل

پراکسیداز (POD)، آسکوربیت پراکسیداز (APX)، گلوکاتایون ردوکتاز (GR) و دسته دوم شامل مواد محلول آلی مانند قندها، پرولین و فلاونوئیدها و ایجاد پلی آمین‌ها و پروتئین‌های جدید می‌باشد (۱۷).

پراکسیداز (POD) یک اکسیدوری‌دوکتاز است که دارای یک هم‌نوع b به عنوان گروه پروستتیک (Prosthetic) بوده که اکسیداسیون ترکیبات پروتون‌دهنده را به پراکسید هیدروژن کاتالیز می‌کند و در نتیجه باعث تجزیه پراکسید هیدروژن می‌گردد (۱۲). پراکسیدازهای گیاهی به علت نقش آنها در پروسه‌های مهم فیزیولوژیکی مانند کنترل رشد توسط چوبی شدن، پیوستن پکتین‌ها و پروتئین‌های ساختاری در دیواره سلولی و کاتابولیسم اکسین به عنوان نشانگرهای بیوشیمیایی برای انواع مختلف تنش‌های زیستی و غیر زیستی استفاده می‌گردد (۴). گلوکاتایون ردوکتاز یک آنزیم منحصر به فرد بوده که کاتالیز دی گلوکاتایون (GSSG) را به دو مولکول گلوکاتایون کاهش داده (GSH) و اکسیداسیون همزمان NADPH را می‌دهد. این عمل از طریق FAD و اتصال دی سولفید درون پروتئین‌ها صورت می‌گیرد. آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز یکی از آنزیم‌های مسیر گلوکاتایون - آسکوربات (میتوکندری) است که با مصرف NADPH به عنوان دهنده الکترون باعث احیای گلوکاتایون می‌شود (۱۴). آنزیم آسکوربات پراکسیداز در چرخه گلوکاتایون - آسکوربات با استفاده از آسکوربات به عنوان دهنده الکترون موجب تجزیه پراکسید هیدروژن می‌شود که با حذف پراکسید هیدروژن مانع تشکیل رادیکال خطرناک هیدروکسیل از پراکسید هیدروژن و رادیکال سوپر اکسید در طی واکنش هابر- وایس می‌شود (۲۵).

کلروفیل‌ها نیز از جمله ماکرومولکول‌هایی هستند که در شرایط تنش خشکی آسیب می‌بینند. مهم‌ترین رنگدانه جذب کننده نور در غشاهای تیلاکوئیدی کلروفیل‌ها می‌باشند. علاوه بر کلروفیل‌ها غشاهای تیلاکوئیدی دارای رنگدانه‌های جذب نور ثانویه (رنگدانه‌های فرعی) یعنی کاروتنوئیدها هستند. رنگدانه‌های کاروتنوئیدی نور را در طول موج‌های ۴۵۰-۵۵۰ نانومتر

میزان پروتئین براساس روش بیتس و فعالیت آنزیم‌ها جدا شد.

### سنجش فعالیت ویژه آنزیم‌های آنتی اکسیدان:

#### اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربیک پراکسیداز (APX)

برای اندازه‌گیری میزان غلظت کمی این آنزیم از روش ناکانو و آسادا (۱۹) استفاده شد. اساس این روش اکسید شدن اسید آسکوربیک توسط این آنزیم است. بر اساس این روش ۵۰ میکرو لیتر از عصاره استخراج را با یک میلی لیتر محلول اندازه‌گیری آسکوربیک پراکسیداز که شامل ۵۰ میلی مول بافر فسفات پتاسیم (pH=۷)، ۰/۱ میلی مول EDTA، ۰/۵ میلی مولار اسید آسکوربیک (ASA) و ۰/۱۵ میلی مولار پراکسید هیدروژن (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) است مخلوط شد. سپس جذب آن در طول موج ۲۹۰nm بعد از مدت یک دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل WPA S2100 diode) قرائت گردید. یک واحد آنزیمی آسکوربیک پراکسیداز برابر با تجزیه یک میلی مول اسید آسکوربیک در یک دقیقه است.

#### اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز (GR)

فعالیت این آنزیم مطابق با روش فویر و هالی ول (۹) اندازه‌گیری گردید. ۱ میلی لیتر از مخلوط واکنش شامل ۰/۱ مولار بافر تریس (pH=۷/۸)، ۲ میلی مولار EDTA، ۵۰ میکرومولار NADPH، ۰/۵ میلی مولار GSSG و ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیم می‌باشد. سنجش با اضافه شدن NADPH در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد شروع شده و میزان جذب نوری با اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۴۰ nm به مدت ۱ دقیقه صورت گرفت.

#### اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD)

برای اندازه‌گیری میزان فعالیت این آنزیم از روش چانس و ماهلی (۶) با اندکی تغییرات استفاده شد. اندازه‌گیری بر اساس میزان اکسید شدن گواپیکول توسط این آنزیم انجام می‌گیرد. در این روش ۳۳ میکرولیتر از عصاره استخراج را با یک میلی

جذب می‌کنند که توسط کلروفیل‌ها جذب نمی‌شوند و بنابراین گیرنده‌های نوری مکمل هستند (۱۳). با توجه به نقش بسیار مهم آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در مقاومت ژنوتیپ‌های کلزا به تنش خشکی و همچنین تغییر محتوای کاروتنوئید و کلروفیل ژنوتیپ‌های کلزا در برابر تنش خشکی، این پژوهش روی ۹ ژنوتیپ کلزای پاییزه در سه سطح تنش خشکی انجام گرفت تا ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس به خشکی را بتوان تشخیص داد.

### مواد و روش‌ها

انجام این آزمایش در سال ۱۳۸۹ در گلخانه بخش زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی شیراز انجام شد. در این آزمایش از ۹ ژنوتیپ پاییزه کلزا (طلایه، اکاپی، اپرا، مودنا، الایت، لیکورد، زرفام، کوپر، SIm046) که از بخش دانه‌های روغنی موسسه اصلاح و نهال بذر کرج تهیه شده بود، استفاده گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی شامل دو فاکتور، ژنوتیپ‌های مختلف کلزا و سطوح مختلف آبیاری (آبیاری در حد ظرفیت مزرعه (FC)، آبیاری در حد ۷۵ درصد FC، آبیاری در حد ۵۰ درصد FC) در ۳ تکرار انجام شد. اعمال تیمار خشکی به صورت وزنی-حجمی صورت گرفت. بعد از اعمال تنش در مرحله قبل از گل‌دهی از بافت‌های برگ ۰/۵ گرم نمونه‌های برگی توزین و جهت استخراج بافر برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها و کلروفیل و کاروتنوئید استفاده شد.

### عصاره‌گیری جهت اندازه‌گیری میزان پروتئین و سنجش

#### آنزیم‌ها

جهت عصاره‌گیری، ۰/۵ گرم نمونه برگ را در نیتروژن مایع کاملاً ساییده شد، سپس ۲ میلی لیتر بافر تریس-پلی و نیل پیرویدین (Tris-PVP) به آن اضافه شده و در داخل هاون چینی کاملاً هم‌وزنیزه گردید. مخلوط حاصل به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ سانتریفیوژ نموده و پس از آن فاز بالایی جهت قرائت

است. نتایج نشان داد که با افزایش سطح خشکی و کاهش میزان آب فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی APX، POD و GR افزایش یافتند (جدول ۱).

### فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD)

با افزایش سطح خشکی میزان فعالیت این آنزیم افزایش یافت ولی بین سطح ۱۰۰FC و ۷۵FC تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ولی با افزایش میزان خشکی این دو سطح با ۵۰FC تفاوت معنی‌داری را نشان دادند. (جدول ۱). اثر متقابل بین اثر سطوح خشکی و ژنوتیپ‌ها برای آنزیم POD معنی‌دار نبود (جدول ۲) اما فعالیت این آنزیم در ژنوتیپ‌های کلزا تفاوت معنی‌داری را نشان داد ( $P \leq 0/01$ ). میزان فعالیت آنزیمی در سطح ۵۰ درصد FC بیشترین و در سطح FC کمترین بود، این افزایش فعالیت در سطح ۵۰FC نسبت به سطح FC تقریباً ۲۱ درصد بود که تفاوت معنی‌داری را نشان داد. ژنوتیپ‌های کوپر و SLM 046 بیشترین و ژنوتیپ‌های لیکورد و مودنا کمترین فعالیت آنزیمی پراکسیداز را از خود نشان دادند (شکل ۲).

### فعالیت آنزیم آسکوربیک پراکسیداز (APX)

با افزایش سطح خشکی میزان فعالیت این آنزیم افزایش می‌یابد ولی بین سطح ۱۰۰FC و ۷۵FC تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، ولی با افزایش میزان خشکی و شدید شدن آن دو سطح با ۵۰FC تفاوت معنی‌داری را نشان دادند (جدول ۱). بیشترین فعالیت این آنزیم متعلق به ژنوتیپ لیکورد و کمترین متعلق به ژنوتیپ مودنا بود (شکل ۲).

### فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز (GR)

سطوح مختلف تنش خشکی (۱۰۰FC، ۷۵FC، ۵۰FC) روی فعالیت آنزیم GR اثر معنی‌داری را نشان نداد ( $P \leq 0/01$ ). با کاهش میزان آبیاری و افزایش سطح خشکی میزان فعالیت این آنزیم افزایش یافت ولی بین سطوح مختلف خشکی تفاوت

لیتر از محلول پراکسیداز که شامل ۱۳ میلی مولار گوایکول، ۵ میلی مولار پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) و ۵۰ میلی مولار بافر فسفات پتاسیم (pH=۷) است مخلوط نموده و به مدت یک دقیقه با فواصل ۱۰ ثانیه در طول موج ۴۷۰ nm جذب آن قرائت شد.

### اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها

برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل و کاروتنوئید از روش لیچتن تالر (۲۱) استفاده شد. طبق این روش ۰/۲۵ گرم برگ کلزا در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد کاملاً هموژنیزه و با کاغذ صافی واتمن شماره ۲ صاف گردید. سپس محلول حاصل را داخل کووت ریخته و با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج های ۶۴۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ قرائت کرده و با روابط زیر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و میزان کاروتنوئید محاسبه شد.

$$\text{Chl a} = (12.25 \text{ A663} - 2.79 \text{ A646})$$

$$\text{Chl b} = (21.21 \text{ A646} - 5.1 \text{ A663})$$

$$\text{Ch ll} = \text{Chl a} + \text{Chl b}$$

$$\text{Car} = (1000 \text{ A470} - 1.8 \text{ Chl a} - 85.02 \text{ Chl b})/198$$

در معادلات بالا chl a بیانگر محتوای کلروفیل a، A663 میزان ضریب جذب دستگاه در طول موج ۶۶۳، A646 میزان ضریب جذب دستگاه در طول موج ۴۶۴، chl b بیانگر محتوای کلروفیل b و car بیانگر محتوای کاروتنوئیدهاست.

### تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SAS 9.3 و برای رسم نمودارها از Excel استفاده گردید و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

### نتایج

تاثیر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مهارکننده گونه‌های فعال اکسیژن در جدول ۱ نشان داده شده

ارزیابی ژنوتیپ‌های کلزا از نظر محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها، ...

جدول ۱. میانگین میزان فعالیت آنتی اکسیدان‌های آنزیمی و کلروفیل، کاروتنوئید در سطوح مختلف تنش خشکی در ژنوتیپ‌های کلزا

CAR ( $\mu\text{g/g g fw}$ )	CHL ( $\mu\text{g/g g fw}$ )	GR ( $\text{u/mg protein}$ )	APX ( $\text{u/mg protein}$ )	POD ( $\text{u/mg protein}$ )	سطوح خشکی
۲/۵۵ <sup>b</sup>	۱۳/۲۱۴ <sup>b</sup>	۳۵/۴۹ <sup>a</sup>	۷۵۶/۳۷ <sup>b</sup>	۱/۲۱۶ <sup>b</sup>	FC/۱۰۰
۲/۶۴ <sup>b</sup>	۱۳/۵۸۵ <sup>b</sup>	۳۷/۲۷ <sup>a</sup>	۷۶۵/۸۶ <sup>b</sup>	۱/۵۵۲ <sup>b</sup>	FC/۷۵
۳/۹۴ <sup>a</sup>	۱۹/۵۰۷ <sup>a</sup>	۳۷/۹ <sup>a</sup>	۸۵۵/۰۱ <sup>a</sup>	۱/۸۴۳ <sup>a</sup>	FC/۵۰

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند بر مبنای آزمون دانکن اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد ندارند.  
(POD: پراکسیداز، APX: آسکوربیک پراکسیداز، GR: گلوکاتایون ردوکتاز، CHL: کلروفیل، CAR: کاروتنوئید)

جدول ۲. جدول تجزیه واریانس آنزیم‌های آنتی اکسیدان در ژنوتیپ‌های کلزا

میانگین مربعات					درجه آزادی	منابع تغییرات
CAR	CHL	GR	APX	POD		
۲۷/۵۲*	۵۴۷/۱۹*	۶۱/۵۴۵ <sup>ns</sup>	۱۳۱۸۱۲/۷۰۹*	۴/۴۲۹*	۲	خشکی
۲/۹۸*	۸۴/۸۳*	۲۵/۱۳۲*	۷۸۰۷۷/۶۱۱*	۱/۸۴۷*	۸	ژنوتیپ
۳/۱۸*	۷۵/۴۴*	۳۵/۱۰۳*	۵۰۳۶۵/۵۰۵ <sup>ns</sup>	۰/۹۱۳ <sup>ns</sup>	۱۶	خشکی × ژنوتیپ
۱/۶۵	۵۱/۸۲	۱۶/۵۵	۴۵۷۰۵/۷۹۸	۱/۰۵۲	۵۴	اشتباه
۴/۹۵	۴/۶۷	۱۶/۳۶	۶/۹۸	۶/۲۰		(/.)CV

\*، ns: به ترتیب معنی داری در سطح احتمال ۵٪ درصد و عدم معنی داری



شکل ۱. فعالیت ویژه آنزیم POD در ژنوتیپ‌های مختلف کلزا



شکل ۲. فعالیت ویژه آنزیم APX در ژنوتیپ‌های مختلف کلزا

بقیه ژنوتیپ‌ها کمتر بود که ناشی از حساسیت این ژنوتیپ به تنش خشکی و توانایی پایین سیستم دفاعی این ژنوتیپ در برابر تنش خشکی می‌باشد. آنزیم آسکوربیک پراکسیداز در حذف پراکسید هیدروژن توسط چرخه آب-آب و ASH-GSH و استفاده از ASH به عنوان دهنده الکترون نقش اساسی دارد. از آنجا که آسکوربیک پراکسیداز با کمک اسید آسکوربیک باعث حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود، بالاتر بودن فعالیت این آنزیم به معنی حذف بیشتر رادیکال‌های آزاد اکسیژن و در نتیجه کاهش مرگ سلولی و افزایش مقاومت به خشکی است (۲).

پراکسیداز نیز یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های مهارکننده پراکسید هیدروژن در کلروپلاست می‌باشد که به واسطه دیسموتاسیون رادیکال آزاد سوپراکسید کاتالیز شده توسط سوپر اکسید دیسموتاز تولید می‌شود (۸). تفاوت ناشی از فعالیت آنزیم پراکسیداز در ژنوتیپ‌های کلزای بیانگر تفاوت پتانسیل دفاعی ژنوتیپ‌های مختلف کلزا در حذف پراکسید هیدروژن و مقابله آنها با تنش‌های خشکی است.

آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز نیز نقش اساسی در حذف گونه‌های فعال اکسیژن توسط چرخه آسکوربات-گلوکاتایون دارد (۳) که در این تحقیق بین سطوح شوری تفاوت معنی‌داری دیده نشد اما، اثر متقابل تنش خشکی و ژنوتیپ‌ها معنی‌دار شد که نشان‌دهنده تنوع فعالیت این آنزیم در ژنوتیپ‌های مورد بررسی در سطوح مختلف تنش خشکی است. از نتایج به دست آمده افزایش میزان کارتنوئید می‌باشد که از سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی و باعث افزایش مقاومت گیاه به تنش می‌شود که در ژنوتیپ لیکورد بالاترین میزان کارتنوئید در سطح ۵۰FC دیده شد.

برید مایر (۹) گزارش کرد کلروفیل در تنش خشکی نسبت به گیاه شاهد در ذرت و گندم بیشتر است. تنش خشکی باعث افزایش محتوای کلروفیل در ژنوتیپ‌های مورد بررسی گردید که به نظر می‌رسد این افزایش در شرایط تنش خشکی باعث افزایش شدت تأثیر تنش

معنی‌داری دیده نشد. (جدول ۱). اثر متقابل بین اثر سطوح خشکی و ژنوتیپ‌ها برای آنزیم GR معنی‌دار بود (جدول ۲). با افزایش سطح خشکی فعالیت این آنزیم در بین ژنوتیپ‌ها افزایش یافت به طوری که بیشترین فعالیت در بین سطوح متعلق به ژنوتیپ اکاپی در سطح ۵۰FC بود و کمترین متعلق به ژنوتیپ الایت در سطح ۱۰۰FC بود (شکل ۱-۳).

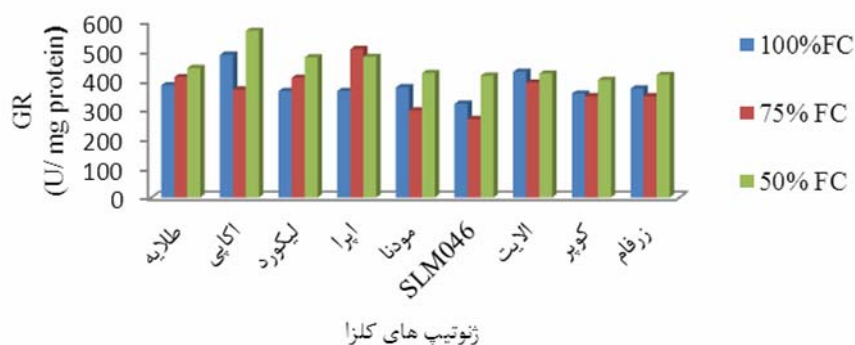
### بررسی فعالیت کلروفیل و کارتنوئید

سطوح مختلف تنش خشکی (FC، ۷۵FC، ۵۰FC) روی فعالیت کلروفیل کل و کارتنوئید اثر معنی‌داری را نشان داد ( $P \leq 0/01$ ). با کاهش میزان آبیاری و افزایش سطح خشکی میزان کلروفیل کل افزایش می‌یابد (جدول ۱). به طور کلی تیمار تنش خشکی محتوای کلروفیل بیشتری نسبت به تیمار آبیاری معمول داشت. اثر متقابل بین اثر سطوح خشکی و کلروفیل و کارتنوئید معنی‌دار بود (جدول ۲). با افزایش سطح خشکی محتوای کلروفیل و کارتنوئیدها در بین ژنوتیپ‌ها افزایش یافت، بطوری که بیشترین فعالیت در بین سطوح متعلق به ژنوتیپ لیکورد در سطح ۵۰FC بود (شکل‌های ۴ و ۵).

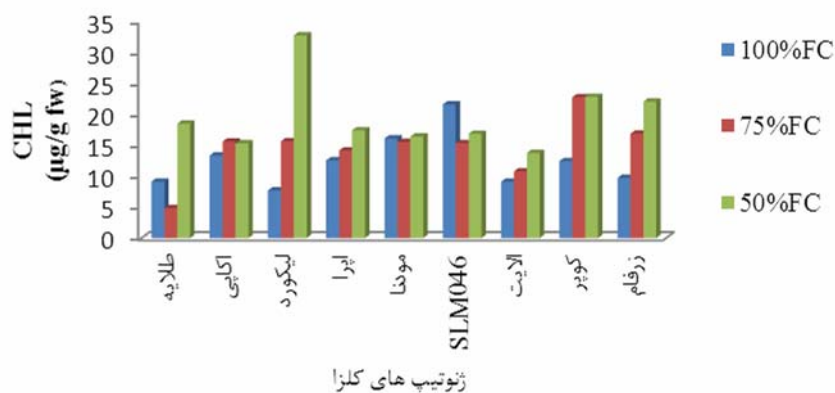
### بحث

تنش خشکی، همانند سایر تنش‌های محیطی از قبیل: دمای زیاد و کم، شوری و سرما، باعث ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شود (۲۰). گیاهان جهت غلبه بر چنین شرایطی سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند آسکوربیک پراکسیداز، پراکسیداز، گلوکاتایون ردوکتاز، کاتالاز را دارا می‌باشند. این آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و متابولیت‌ها تحت شرایط تنش افزایش می‌یابد و این فعالیت در ژنوتیپ‌های مقاوم نسبت به گیاهان حساس بیشتر می‌باشد. به عنوان تأیید، در این مطالعه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ژنوتیپ‌های لیکورد و SLM046 افزایش داشت که نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها از مقاومت بیشتری نسبت به خشکی برخوردار هستند. هم‌چنین فعالیت آنزیم‌های آسکوربیک پراکسیداز و پراکسیداز در ژنوتیپ مودنا نسبت به

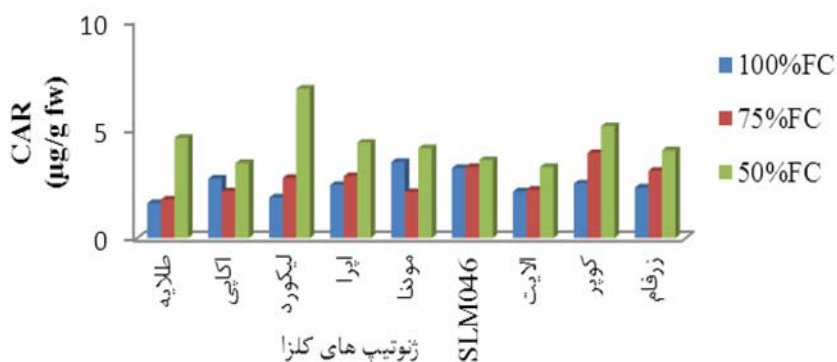
ارزیابی ژنوتیپ‌های کلزا از نظر محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها، ...



شکل ۳. فعالیت ویژه آنزیم GR در ژنوتیپ‌های مختلف کلزا در سطوح مختلف تنش خشکی



شکل ۴. میزان کلروفیل در ژنوتیپ‌های کلزا در سطوح مختلف خشکی در ژنوتیپ‌های مختلف کلزا



شکل ۵. میزان کاروتنوئید در ژنوتیپ‌های کلزا در سطوح مختلف خشکی

ژنوتیپ‌های لیکورد و SLM046 با افزایش تنش خشکی سیستم های آنتی اکسیدانی و محتوای کلروفیل را جهت مقابله با خشکی افزایش داده و از مقاومت بالاتری نسبت به بقیه

محتوای کلروفیل تحت شرایط تنش خشکی کوچک شدن سلول‌های برگ به علت کاهش سطح برگ و ضخیم شدن آنها گزارش شده است (۹). در مجموع می‌توان نتیجه گرفت که

## سیاسگزاری

بدین وسیله از زحمات مهندس ایزدی و راهنمایی‌های مهندس هاشمی نسب تشکر و قدرانی می‌نمایم.

ژنوتیپ‌ها برخوردارند و ژنوتیپ مودنا در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها حساسیت بالاتری نسبت به تنش خشکی دارد.

## منابع مورد استفاده

- Ahmadi, M. and F. Javidfar. 1999. Plant Nutrition Oilseed Rape. Publishing Co. of certain oil seeds cultivars, Tehran, Iran.
- Akhila, S.N., T. K. Abraham and D. S. Jaya. 2008. Studies on the changes in lipid peroxidation and antioxidants in drought stress induced cowpea *Vigna unguiculata* L. varieties. *Journal of Environmental Biology* 29(5): 689-691
- Asada, K. and M. Takahashi. 1987. Production and scavenging of active oxygen in chloroplasts. *Journal Elsevier Amsterdam* 25: 227 -287
- Bakalova, S., A. Nikolova and D. Wedera. 2004. Isoenzyme profiles of peroxidase catalase and superoxide dismutase as affected by dehydration stress and ABA during germination of wheat seeds. *Journal of Plant Physiology* 30: 64-77.
- Bredemeier, C. 2005. Laser-induced chlorophyll fluorescence sensing as a tool for site-specific nitrogen fertilizer evaluation under controlled environmental and field conditions in wheat and maize. PhD. Thesis, Technical University of Munich, Germany.
- Chance, B. and A.C. Maehly. 1995. Assay of catalase and peroxidase. PP. 764-765. In: S. P. Culowic and N. O. Kaplan (Eds.), *Methods in Enzymology*. Vol. 2. Academic Press. Inc., New York.
- Dehshiri, A. 2009. *Brassica napus* L. crop. *Extension of the Office programs*. P 65. (In Farsi).
- Fadzilla, N and R. H. Finch. 1997. Oxidative stress and antioxidant responses in shoot cultures of rice. *Journal of Experimental Botany* 48 :325-331.
- Foyer, CH. and B. Halliwell. 1979. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta* 133: 21-25
- Gaspar, T., T. Franck, B. Bisbis, C. Kevers, L. Jouve, J. F. Hausman and J. Dommes. 2002. Concepts in plant stress physiology. Application to plant tissue cultures. *Plant Growth Regulators* 37: 263-285
- Grattan, S. R. and C. Grieve. 1999. Salinity- mineral nutrient relations in horticultural crops. *Scientia Horticulturae* 78:127-157
- Halliwell, B. 1982. The toxic effects of oxygen on plant tissue. In: Oberley(Ed.), *Superoxide Dismutase*. CRC press Inc., Boca Raton, USA.
- Hopkins, W.G. and N.P.A. Hopkins. 2004. *Introduction to Plant Physiology*. John Wiley & Sons Pub., New Jersey.
- Khanna-Chopra, R. and D. S. Selote. 2007. Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than -susceptible wheat cultivar under field conditions. *Environmental and Experimental Botany* 60:276-283.
- Kimber, D. and D. A. McGregor. 2000. *Brassica napus* L. *Mashhad University Jahad Publications*. P230. (In Farsi).
- Mendham, N.J. and P.A. Salisbury. 1995. Production and development, growth and yield in *Brassica* oilseeds. *Crop* 45: 11-64.
- Mittler, R. 2006. Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Plant Science* 11: 15-19.
- Mohammadkhani, N. and R. Heidari. 2008. Drought-induced accumulation of soluble sugars and proline in two maize varieties. *World Applied Sciences Journal* 3: 448-453.
- Nakano, Y. and K. Asada. 1992. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology* 22: 867-880.
- Navari-Izzo F. and N. Rascio. 1999. Plant response to waterdeficit conditions. In: M. Pessarakli(Ed.), *Handbook of Plant and Crop Stress*. Marcel Dekker Inc, New York.
- Lichtenthaler, H. and A. R. Wellburn. 1983. Determination of total carotenoids and chlorophyll a and chlorophyll b leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 603: 591-592.
- Sairam, R.K. 2000. Induction of oxidative stress and antioxidant activity by hydrogen peroxide treatment in tolerant and susceptible wheat genotypes. *Biologia Plantarum* 43:381-386.
- Salehi, M., A. Kochaki and N. Mahallati. 2004. Leaf nitrogen and chlorophyll as indicators for salt stress. *Iranian Journal of Field Crops Research* 1(2): 199-205 (In Farsi)
- Shirani Rad, A. H. and A. Dehshiri. 2003. *Brassica napus* L. guide. *Dissemination of Agricultural Education*. P9. (In Farsi).
- Sung, J. M. 1996. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging in soybean seeds during aging. *Physiologia Plantarum* 97: 85-89