Archive of SID

اثر سطوح مختلف آبیاری بر خصوصیات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و خواص آنتی‌اکسیدانی وسمه

شهرزاد رفیع‌نژاد[۱]، نعمت‌اله اعتمادی[۲*]، علی نیکبخت[۳] و مهدی قیصری[۴]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۲/۲۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱/۲۷)

چکیده

Isatis cappadocica* Desv.** یک گیاه علفی بومی منطقه مرکزی ایران و متعلق به خانواده ***Brassicaceae می‌باشد. در تحقیق حاضر به بررسی اثر سطوح مختلف آبیاری بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه شامل سطح تاج پوشش، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه‌ها ،طول ریشه‌ها، میزان پرولین، محتوای کربوهیدرات‌های محلول موجود در اندام هوایی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار پرداخته شده است. سطوح تیمار آبیاری شامل تأمین ۱۰۰٪، ۷۵٪ و۵۰٪ کمبود آب خاک (I_{100}، I_{75} و I_{50}) بودند. نتایج نشان داد که تیمار آبیاری تأثیر معنی‌داری بر میزان سطح تاج پوشش گیاه نداشته است. بیشترین و کمترین مقدار وزن تر و خشک اندام هوایی به‌ترتیب در سطوح I_{100}و I_{75}و I_{50} مشاهده گردید. وزن تر و خشک ریشه و میزان محتوای پرولین در تیمار I_{50} بیشتر از دو تیمار دیگر بود. محتوای کربوهیدرات‌های محلول و طول ریشه‌ها در تیمار I_{50} بیشتر از I_{75}و آن نیز بیشتر از تیمار I_{100} بود. هم‌چنین فعالیت همه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از هفته دوم تا هفته چهارم روند افزایشی داشت. فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و کاتالاز در تیمار I_{50} بیشتر از سایر تیمارها و این مقدار برای آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمار I_{50} و I_{75} بیشترین بود.

واژه‌های کلیدی: تنش خشکی، پرولین، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز

۱، ۲ و ۳. به‌ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۴. استادیار گروه مهندسی آب، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

*. مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: etemadin@cc.iut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

کشور ایران با میانگین درازمدت سالانه بارندگی حدود ۲۵۰ میلی‌متر جزء مناطق خشک و نیمه خشک دنیا به‌حساب می‌آید (۲۹). با توجه به محدودیت منابع آبی، استفاده از گونه‌های مقاوم به تنش خشکی امری اجتناب‌ناپذیر می باشد. وسمه (*Isatis cappadocica* Desv.) گیاهی علفی زینتی و بومی منطقه ایران – توران است که ارتفاع آن ۰/۸ تا ۱/۲ متر می‌باشد. این گیاه دارای ساقه‌ای مستقیم، استوانه‌ای شکل و به رنگ سبز بوده که شاخه‌های متعددی از آن منشعب می‌گردد. گل‌ها، دو جنسی و به رنگ زرد است و در گل‌آذین خوشه مرکب به طول ۵ تا ۱۵ سانتی‌متر در انتهای ساقه ظاهر می‌شود. وزن هزار دانه این گیاه ۱۰/۸ گرم می‌باشد و گرده‌افشانی آن توسط حشرات انجام می‌شود (۲۵). این گیاه به‌طور معمول در طب چینی استفاده می‌شود. عصاره استخراج شده از ریشه گیاه به اسم Ban lang gen و عصاره حاصل از برگ‌ها به اسم Da qing ye و عصاره رنگی (Indigo) استخراج شده از برگ‌ها به‌نام Qing dai شناخته می‌شود. سابقه استفاده دارویی از این گیاه به قبل از میلاد مسیح برمی‌گردد. هر دوی برگ‌ها و ریشه این گیاه استفاده دارویی دارند. وسمه همانند سایر گیاهان خانواده *Brassicaceae* حاوی ترکیبات ایندولی می‌باشد که اثرهای ضد سرطانی دارد. مادهٔ مؤثر موجود در برگ‌ها آلکالوئیدی به اسم تریپتانترین بوده که تا حد زیادی از انواع عفونت و آلرژی جلوگیری می‌کند. مادهٔ مؤثر موجود در ریشه گیاه به اسم ایندروبین که فعالیت ضد سرطانی داشته و از همانندسازی DNA در سلول‌های نئوپلاستیک جلوگیری می‌کند (۳). هم‌چنین به‌علت دارا بودن تاج پوشش مناسب و گل‌های متراکم به‌عنوان گیاه زینتی در فضای سبز کاربرد دارد (۲۵). از آنجایی که دسترسی به آب یک فاکتور تأثیرگذار بر رشد و عملکرد گیاهان به‌خصوص در مناطق خشک و نیمه خشک می‌باشد، پاسخ‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک به تنش خشکی بین گونه‌های مختلف گیاهی متفاوت است. به‌طورکلی استراتژی‌های فرار از خشکی یا تحمل آن، گیاه را قادر به رشد و دوام آوردن تحت شرایط خشکی می‌کند (۳۲). تجمع اسمولیت‌ها مثل پرولین باعث حفاظت از ساختارهای زیر سلولی، پروتئین و غشاءهای سلولی از تنش‌های اسمزی و اکسیداتیو می‌شود (۱۵). هم‌چنین رشد نسبی ریشه نیز افزایش یافته تا جذب آب بیشتری از لایه‌های عمقی خاک صورت بگیرد (۲۴). خشکی باعث آسیب اکسیداتیو به گیاه شده که به‌دنبال آن گونه‌های فعال و غیر فعال اکسیژن شکل می‌گیرند. تولید این گونه‌ها در سطوح بالاتر باعث آسیب به غشاء سلولی و دیگر ترکیبات حیاتی سلول مانند کلروفیل، DNA، پروتئین و لیپید می‌شود. به‌دنبال آن سیستم آنزیمی گیاه شروع به فعالیت کرده که از غشاءهای سلولی و دیگر ترکیات حیاتی گیاه محافظت می‌کند. بین ترکیبات آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز (SOD) نقش کلیدی را در سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی داشته به‌طوری‌که رادیکال‌های آزاد را به H_2O_2 تبدیل می نماید. H_2O_2 نیز توسط کاتالاز (CAT) به H_2O و O_2 تبدیل می‌شود (۱). با توجه به آنکه مکانیسم‌های مقاومت به خشکی و سیستم آنتی‌اکسیدانی *Isatis cappadocica* تاکنون شناخته نشده است، تحقیق حاضر با هدف بررسی اثرات سطوح مختلف آبیاری بر خصوصیات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی این گیاه و سیستم آنتی‌اکسیدانی آن صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق طی سال‌های ۱۳۹۱- ۱۳۹۰ در محوطهٔ دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان صورت گرفت. بذور گیاه *Isatis cappadocica* در بهمن ماه ۱۳۹۰ در گلدان‌های پلاستیکی کشت شدند و در فروردین ماه ۱۳۹۱ به هر گلدان بزرگ‌تر به حجم ۷۲۰۰ سانتی‌متر مکعب، تعداد یک گیاه با ۴ تا ۶ برگ حقیقی انتقال یافت. خاک گلدان‌ها بافت رسی لومی با ظرفیت زراعی ۳۰/۷، نقطه پژمردگی دائمی ۱۰/۲ و میزان مواد آلی معادل ۲/۲۸ درصد داشت. در طول فصل رشد علف‌های هرز به‌صورت مکانیکی و حشرات و آفات با استفاده از حشره‌کش‌های شیمیایی کنترل شدند. طی هفته های اول رشد

www.SID.ir

Archive of SID

تمامی گلدان‌ها به‌میزان یکسانی آبیاری شدند تا گیاهان به‌خوبی مستقر شوند. تیمارهای آبیاری شامل سه سطح تأمین ۱۰۰ درصد کمبود آب خاک (I_{100})، تأمین ۷۵ درصد کمبود آب خاک (I_{75}) و تأمین ۵۰ درصد کمبود آب خاک (I_{50}) بود که در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا گردید. زمان آبیاری گلدان‌های تیمار I_{100} وقتی است که ۵۰٪ آب قابل استفاده خاک توسط گیاه تخلیه شود. عمق آب آبیاری در این تیمار با هدف تأمین کمبود رطوبت خاک تا حد ظرفیت زراعی محاسبه شد. تیمارهای آبیاری I_{75} و I_{50} هم‌زمان با تیمار شاهد آبیاری شدند اما حجم آب دریافتی آنها معادل ۷۵ و ۵۰ درصد تیمار آبیاری کامل بود. برای اندازه‌گیری میزان رطوبت خاک و تعیین زمان آبیاری از دستگاه رطوبت‌سنج خاک (GMK-770S) استفاده شد. نمونه‌برداری از گیاهان، سه‌بار در طول دوره آزمایش به فواصل دو هفته یک‌بار و حدود سه هفته بعد از شروع اعمال تیمارها صورت گرفت. کل دوره آزمایش از زمان شروع تیمارها ۴۲ روز و در مرحلهٔ رویشی گیاه در متوسط دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد. اندازه‌گیری سطح تاج پوشش با خط‌کش به‌صورت میانگین گرفتن بین بزرگ‌ترین قطرهای سطح تاج پوشش و سپس محاسبه مساحت تاج پوشش صورت گرفت. بعد از خارج ساختن گیاهان از گلدان، ریشه‌ها شستشو و از محل طوقه از اندام هوایی جدا شده و اندازه‌گیری‌های لازم انجام گردید. برای تعیین محتوای کلروفیل برگ‌ها از روش شیمیایی به کمک استون ۸۰٪ استفاده شد (۳۳). اندازه‌گیری میزان کربوهیدرات‌های محلول در برگ‌ها با کمک روش اسید سولفوریک و فنل صورت گرفت (۲۲). میزان پرولین برگ‌ها به روش بیتز و همکاران استخراج شد (۷).

همهٔ مراحل تهیه عصارهٔ آنزیمی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و فعالیت آنزیم‌ها به روش اسپکتروفتومتری (UV-600A) در دمای آزمایشگاه (۲ ± ۲۵ درجهٔ سیلسیوس) ارزیابی شد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از طریق اندازه‌گیری توانایی آن در جلوگیری از احیای نوری نیتروبلو تترازولیوم کلراید (NBT) به روش دهیندسا و همکاران صورت گرفت (۱۲). یک واحد فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، مقدار آنزیمی در نظر گرفته می‌شود که می‌تواند ۵۰٪ مانع از احیای نوری نیتروبلو تترازولیوم کلراید گردد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به روش ناکانو و اسدا اندازه‌گیری گردید (۲۷). فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز براساس میزان اکسید شدن آسکوربات در طول موج ۲۹۰ نانومتر تعیین گردید. به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش بییر و سیزر استفاده شد (۸). فعالیت آنزیم کاتالاز براساس میزان تجزیه شدن آب اکسیژنه در طول موج ۲۴۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت. اندازه‌گیری آنزیم پراکسیداز به روش همدا و کلین انجام پذیرفت (۱۹). فعالیت آنزیم پراکسیداز براساس میزان اکسید شدن گایاکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر تعیین گردید. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری SAS و برای انجام مقایسات میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطوح ۱ و ۵ درصد استفاده شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار EXCEL استفاده گردید.

نتایج و بحث

سطح تاج پوشش

نتایج (جداول ۱ و ۳) نشان داد که با افزایش تنش خشکی سطح تاج پوشش کاهش پیدا کرد ولی این تأثیر معنی‌دار نبود. آنجلینی و همکاران (۳) تأثیر سطوح مختلف آبیاری را روی *Isatis tinctoria* بررسی کردند و در پایان مشخص شد تنش خشکی بر روی سطح تاج پوشش این گیاه تأثیر معنی‌داری نداشته است که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. مقاومت گیاه به خشکی به‌دلیل داشتن برگ‌های واکس‌دار، ریشه عمودی عمیق و ریشه‌های موئین گسترده می‌باشد. در نتیجه، از دست دادن آب از طریق تبخیر و تعرق از اندام هوایی به حداقل و استفاده بهینه از آب موجود در خاک افزایش یافته و گیاه می‌تواند در شرایط تنش خشکی سطح تاج پوشش خود را حفظ کند (۳).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱. تجزیه واریانس تأثیر سطوح مختلف آبیاری بر خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک وسمه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		سطح تاج پوشش	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	طول ریشه	پرولین	قند اندام هوایی
سطوح آبیاری	۲	۰/۳۱^{ns}	۶/۰۵**	۳/۲*	۲۳/۵*	۱۳/۱۹**	۱۴۱۷**	۸/۹**	۹۹/۹**
خطا	۶	۰/۴۳	۰/۵	۰/۳	۳/۳	۱/۱۹	۶/۵	۰/۶	۰/۳
C.V %		۰/۳۴	۸/۶۲	۱۴/۲	۱۳/۴	۱۸/۸۳	۱۰/۲	۲۱/۱	۴/۶

*،**. معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد، ns : عدم اختلاف معنی‌دار

جدول ۲. تجزیه واریانس تأثیر سطوح مختلف آبیاری بر خواص آنتی‌اکسیدانی وسمه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		آسکوربات پراکسیداز هفته ۲	آسکوربات پراکسیداز هفته ۴	پراکسیداز هفته ۲	پراکسیداز هفته ۴	کاتالاز هفته ۲	کاتالاز هفته ۴	سوپراکسید دسیموتاز هفته ۲	سوپراکسید دسیموتاز هفته ۴
سطوح آبیاری	۲	۰/۴۳**	۱/۰۱۱**	۱۰/۴۴**	۱۱/۳۴**	۱۱۰۶/۵۵**	۱۱۰۰/۶۹**	۲۴۲۳۱۱۷*	۳۱۵۸۱۳۴**
خطا	۶	۰/۰۱	۰/۰۰۶	۰/۱۹۳	۰/۱۱۱	۱/۴۱	۰/۷۸	۲۷۹۰۳۰	۲۷۷۷۲۰
C.V %		۲/۶۱	۱/۷۲	۴/۰۸	۳	۶/۲۱	۴/۴۲	۳/۰۹	۳/۰۲

*،**. معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد، ns. عدم اختلاف معنی‌دار

وزن تر و خشک اندام هوایی

تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثر تیمار خشکی بر وزن تر و خشک اندام هوایی ایزاتیس به‌ترتیب در سطح یک درصد و پنج درصد معنی‌دار بوده است. بیشترین وزن تر و خشک (۹/۵۷ گرم و ۵/۳۹ گرم) مربوط به تیمار I_{100} و کمترین آن (۷/۱۵ گرم و ۳/۶۳ گرم) مربوط به تیمار I_{50} می‌باشد. امیدبیگی و سورستانی (۲۹) تأثیر سطوح متفاوت خشکی را بر روی گل مکزیکی بررسی کردند که در پایان مشخص شد تنش خشکی به‌نحو معنی‌داری موجب کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی گشته است. کامپل و همکاران (۱۰) گزارش کردند تنش خشکی موجب کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی در *Isatis tinctoria* می‌گردد. ران و همکاران (۳۱) نتیجه گرفتند، تنش خشکی با جلوگیری از توسعه و رشد سلول ناشی از کاهش فشار تورگر موجب کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی می‌گردد. نتایج بات و سرینیواسا (۹) نشان داد کاهش وزن خشک ناشی از تنش خشکی به‌علت بسته شدن روزنه‌ها و کاهش فتوسنتز است.

وزن تر و خشک ریشه

تنش خشکی به‌ترتیب در سطح پنج و یک درصد دارای اثر معنی‌دار روی وزن تر و خشک یک رشته ریشه در هر گیاه بود (جدول ۱). تیمار I_{100} دارای کمترین وزن تر و خشک ریشه (۱۱/۶۸ و ۴/۱۷ گرم) و این مقدار در تیمار I_{50} بیشترین (۱۶/۳۹ و ۷/۷۶ گرم) بود. بین تیمارهای I_{100} و I_{75} اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳). خاکشور مقدم و همکاران (۲۳) تأثیر تنش خشکی تا پتانسیل اسمزی ۳- بار را بر روی گیاه شوید بررسی کردند و در پایان مشخص شد خشکی موجب افزایش وزن تر و خشک ریشه در این گیاه شده

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف آبیاری بر خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک وسمه

تیمار آزمایشی	سطح تاج پوشش (cm^2)	وزن تر اندام هوایی (g)	وزن خشک اندام هوایی (g)	وزن تر ریشه یک گیاه (g)	وزن خشک ریشه یک گیاه (g)	طول ریشه یک گیاه (cm)	پرولین ($\mu mol\ g^{-1}\ FW$)	قند اندام هوایی ($mg\ g^{-1}\ DW$)
I_{100}	۷۹/۵۵ a	۹/۵۷ a	۵/۳۹ a	۱۱/۶۸ b	۴/۱۷ b	۱۱/۵ c	۲/۵۰ b	۷/۸۵ c
I_{75}	۷۹/۲۵a	۸ b	۴/۱۶ b	۱۳/۰۲ b	۵/۴۷ b	۱۷ b	۳/۸۵ b	۱۱/۴۸ b
I_{50}	۷۹/۱۷a	۷/۱۵ b	۳/۶۳ b	۱۶/۳۹ a	۷/۷۶ a	۴۶/۵ a	۵/۴۹ a	۱۷/۷۳ a

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک باشند براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.
I_{100}، I_{75} و I_{50} به‌ترتیب تأمین ۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد کمبود آب خاک می‌باشند.

است. نیو و همکاران به قلمه‌های ریشه‌دار شده چهار رقم رز دوره‌های خشکی ۱۰ روزه داده و نتیجه آزمایش افزایش وزن خشک اندام هوایی *R. fortuniana* را نشان داد. بررسی منابع نشان می‌دهد که گیاه میزان ریشه‌های خود را به‌منظور استفاده حداکثر از رطوبت موجود در خاک افزایش می‌دهد (۲۸).

طول ریشه

در این تحقیق تیمار خشکی به‌طور معنی‌داری موجب افزایش طول هر رشتهٔ ریشهٔ هر گیاه شده است. کمترین طول ریشه (۱۱/۵ سانتی‌متر) در تیمار I_{100} به‌دست آمد که با تیمار I_{50} (۴۶/۵ سانتی‌متر) تفاوت معنی‌داری نشان داد. بین تیمارهای I_{100} و I_{75} اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳). در تحقیق وود و همکاران (۳۸) یک دوره ۳۶ روزه خشکی به گیاه *Viburnum plicatum* باعث افزایش طول ریشه‌های گیاه شد. علت افزایش طول ریشه‌ها در شرایط تنش خشکی جستجوی آب در خاک و استفاده حداکثر از آن به‌منظور گذراندن شرایط تنش می‌باشد.

پرولین

جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) معنی‌دار بودن اثر تنش خشکی بر پرولین وسمه را نشان می‌دهد. مقدار پرولین در تیمار I_{50} (۵/۴۹ میکرومول بر گرم وزن تر) به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای شاهد و I_{75} (۳/۸۵ و ۲/۵۰ میکرومول بر گرم وزن تر) بود (جدول ۳). همبستگی مثبت و معنی‌داری نیز بین پرولین با وزن تر، وزن خشک و طول ریشه‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مشاهده گردید (جدول ۴). اشرف و فولاد (۴) علت افزایش پرولین را تنظیم فشار اسمزی در گیاه و در نتیجه بهبود مقاومت به خشکی می‌دانند. شارما و کوهاد (۳۴) بیان داشتند در شرایط تنش خشکی افزایش پیدا می‌کند. پرولین علاوه بر آنکه یک محافظت کنندهٔ اسمزی است، به‌عنوان یک منبع انرژی جهت تنظیم پتانسیل ردوکس و از بین‌برندهٔ گونه‌های رادیکالی اکسیژن و محافظت کننده از مولکول‌های بزرگ در مقابل تغییر ماهیت دادن و کاهش اسیدیته سلول عمل می‌کند. مشخص شده که تنش خشکی از اکسیداسیون پرولین در میتوکندری جلوگیری می‌نماید و نفوذپذیری غشاءهای میتوکندریایی را تغییر می‌دهد (۱۷). تجمع پرولین در اثر تنش خشکی در نتیجهٔ سنتز پرولین در بافت‌های مختلف، ممانعت از اکسیداسیون پرولین و جلوگیری از شرکت پرولین در ساخت پروتئین‌ها می‌باشد (۳۵).

کربوهیدرات‌های محلول

با افزایش سطوح تنش خشکی، میزان کربوهیدرات‌های محلول افزایش یافته است به‌طوری‌که در تیمار I_{100} کمترین میزان

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴. همبستگی میان صفات مختلف وسمه تحت تأثیر سطوح مختلف آبیاری

	کلروفیل A	کلروفیل B	کارتنوئید	قند محلول	پرولین	سطح تاج
کلروفیل B	۰/۷۸۴۷**					
کارتنوئید	۰/۷۳۶۱**	۰/۵۹۹۱*				
قند محلول	۰/۱۳۲۴ns	۰/۰۸۵۶ns	۰/۰۵۳۰ns			
پرولین	−۰/۰۰۰۳ns	−۰/۰۶۲۱ns	۰/۸۸۷۰**	−۰/۰۸۷۲ns		
سطح تاج	−۰/۰۸۷۲ns	−۰/۲۵۰۹ns	۰/۰۳۰۲ns	−۰/۷۰۷۸**	−۰/۵۱۱۶ns	
کلروفیل کل	۰/۱۶۱۹ns	−۰/۰۰۶۱ns	۰/۱۵۳۹ns	۰/۸۸۸۰**	۰/۷۹۷۶**	−۰/۵۸۷۴*
وزن تر هوایی	۰/۹۷۹۳**	۰/۸۹۳۹**	۰/۷۲۷۹**	۰/۱۲۳۷ns	−۰/۵۳۲ns	−۰/۱۴۵۰ns
وزن تر ریشه	−۰/۰۵۹۱ns	°/۲۱۷۴ns	−۰/۰۵۱۷ns	۰/۶۱۵۵*	−۰/۷۳۳۵**	۰/۵۶۸۶ns
وزن خشک هوایی	۰/۰۳۱۰ns	۰/۰۲۲۶ns	۰/۱۶۶۰ns	۰/۸۴۳۵**	۰/۷۸۰۱**	−۰/۷۶۰۷**
وزن خشک ریشه	۰/۱۹۲۳ns	−۰/۰۵۸۳ns	۰/۱۵۰۰ns	۰/۶۸۰۳*	۰/۵۰۷۵*	−۰/۴۶۷۰ns
آسکوربات پراکسیداز	۰/۰۰۱۷ns	−۰/۰۲۹۰ns	−۰/۰۹۰۷ns	۰/۶۸۵۰*	۰/۵۰۲۰*	−۰/۴۴۲۲ns
پراکسیداز	۰/۴۳۶۸ns	۰/۲۸۵۶ns	۰/۲۲۳۱ns	۰/۸۲۶۵**	۰/۶۲۸۳*	−۰/۷۲۱۸ns
کاتالاز	۰/۱۶۱۰ns	۰/۰۱۲۴ns	۰/۱۵۳۹ns	۰/۸۶۸۴**	۰/۷۷۶۱*	−۰/۶۳۹۰**
سوپراکسید دیسموتاز	۰/۰۱۸۵ns	−۰/۵۰۴ns	۰/۰۶۶۳ns	۰/۷۱۱۰**	۰/۶۴۲۴*	−۰/۱۷۶۱ns

*،**. همبستگی معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد، ns. عدم همبستگی

ادامه جدول ۴.

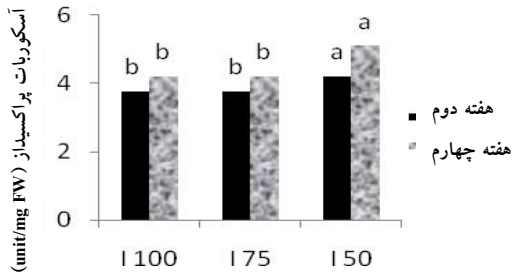
	کلروفیل کل	وزن تر هوایی	وزن تر ریشه	وزن خشک هوایی	وزن خشک ریشه
وزن تر هوایی	۰/۰۲۸۲ns				
وزن تر ریشه	۰/۰۲۹۸ns	−۰/۵۳۴۲ns			
وزن خشک هوایی	۰/۰۷۹۲ns	۰/۶۳۴۳*	−۰/۵۹۱۱*		
آسکوربات پراکسیداز	۰/۱۲۰۰ns	−۰/۶۸۹۸*	−۰/۵۸۵۱*	−۰/۶۰۳۵*	
پراکسیداز	−۰/۰۰۸۲ns	−۰/۴۳۷۷ns	۰/۶۶۷۸*	−۰/۸۱۰۸**	۰/۶۰۶۱*
کاتالاز	۰/۴۰۹۰ns	−۰/۵۵۶۹ns	−۰/۶۸۹۸*	۰/۸۲۳۰**	۰/۶۲۸۱۰*
سوپر اکسید دیسموتاز	۰/۱۲۰۵ns	−۰/۶۰۸۵*	−۰/۵۹۹۸*	۰/۸۲۳۷**	۰/۷۴۰۰**

*،**. همبستگی معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد، ns. عدم همبستگی

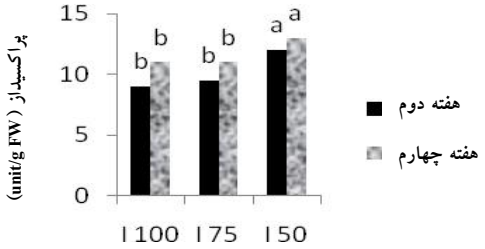
کربوهیدرات‌های محلول (۷/۸۵ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) و این مقدار در تیمار I_{50} بیشترین میزان (۱۷/۷۳ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) بود. هم‌چنین بین تیمارهای I_{75} و I_{50} تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۳). براساس نتایج جدول ۴، همبستگی مثبت و معنی‌داری بین قندهای محلول با وزن تر، وزن خشک و طول ریشه‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مشاهده گردید. ژانگ و همکاران (۳۹) بعد از اعمال ۳ دوره خشکی تا مشاهده پژمردگی برگ‌ها و به‌دنبال آن دوره‌های بهبود بر گیاه *Fragaria chiloensis*، تجمع کربوهیدرات‌های محلول در برگ‌ها را مشاهده نمودند. نتایج تحقیق داکوستا و همکاران (۱۱)

www.SID.ir

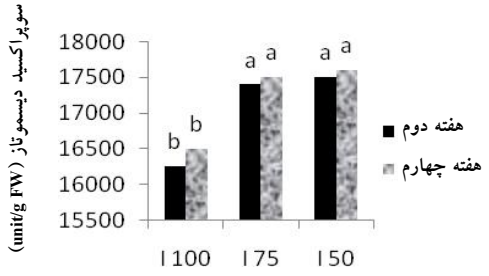
Archive of SID



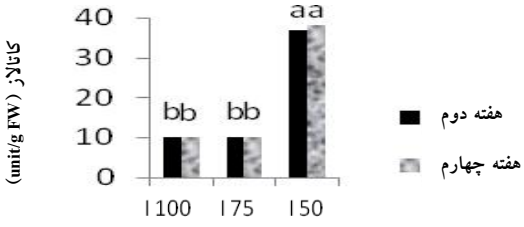
A. روند تغییرات فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز



B. روند تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز



C. روند تغییرات فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز



D. روند تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز

شکل ۱. روند تغییرات آنزیم‌ها در گیاه وسمه تحت سه رژیم آبیاری در گیاهچه‌های ۳۵ روزه در گلدان. (A): آسکوربات پراکسیداز، (B): پراکسیداز، (C): سوپراکسید دیسموتاز و (D): کاتالاز. (ستون‌های دارای حرف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند).

نشان می‌دهد بعد از اعمال ۳ رژیم آبیاری کامل، سه‌بار در هفته و توقف کامل آبیاری کربوهیدرات‌های محلول در برگ‌های گیاه *Agrostis canina* تجمع می‌یابند. تنظیم اسمزی یک مکانیسم مهم در گونه‌های جنس براسیکا تحت تنش خشکی است (۱۴). حکمت شعار (۱۸) بیان کرد نقش و اهمیت تجمع قندها به این دلیل است که تجمع این مواد سبب تنظیم فشار اسمزی و کاهش از دست دادن آب سلول و نگهداری آماس می‌شود. گیاه برای ایجاد سازگاری با شرایط کم‌آبی و حفظ تورژسانس سلول‌های خود، از مکانیسم تحمل خشکی به‌صورت تنظیم اسمزی استفاده می‌کند و به این طریق اثرهای کشندهٔ تنش خشکی را به حداقل می‌رساند (۳۶). به این جهت کربوهیدرات‌ها (به‌ویژه ساکارز، گلوکز، سوربیتول، مانیتول، گلیسرول و ترهالوز) در سیتوپلاسم سلول‌ها تجمع پیدا کرده و از طریق کاهش فعال پتانسیل اسمزی سلول، پتانسیل آب گیاه را کاهش داده و به جذب آب توسط ریشه‌ها و حفظ تورژسانس سلول‌ها که شرط لازم برای رشد آنها است کمک می کند (۱۸ و ۴۰).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

فعالیت همهٔ آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از هفته دوم تا چهارم خشکی افزایش می‌یابد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با افزایش سطوح خشکی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، به‌طوری‌که بیشترین میزان فعالیت این آنزیم (۱۸۲۰۶ واحد به ازای گرم وزن تر) مربوط به تیمار I_{50} در هفتهٔ چهارم تنش و کمترین مقدار آن (۱۶۲۵۵ واحد به ازای گرم وزن تر) متعلق به تیمار I_{100} مربوط به هفتهٔ دوم تنش بود که بین تیمار I_{50} و I_{75} در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۱- C). بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (۵/۱۱۹۷ واحد به ازای گرم وزن تر) مربوط به تیمار I_{50} در هفته چهارم تنش بود که در سطح یک درصد با تیمارهای شاهد و I_{75} تفاوت معنی‌داری داشت (شکل ۱-A). بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار I_{50} در هفتهٔ چهارم

www.SID.ir

Archive of SID

تنش (۱۳/۰۴ واحد به ازای گرم وزن تر) مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد با تیمار های I_{100} و I_{75} در هفتهٔ دوم و چهارم تنش نشان داد (شکل B-۱). بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۳۸/۹۲ واحد به ازای گرم وزن تر) مربوط به تیمار I_{50} در هفتهٔ چهارم و کمترین آن (۷/۹۰ واحد به ازای گرم وزن تر) متعلق به تیمار I_{100} بود که بین سه تیمار در سطح اختلاف یک درصد تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید (شکل D-۱). هم‌چنین فعالیت آنزیم کاتالاز همبستگی منفی و معنی‌داری را با وزن تر و خشک بخش هوایی گیاه نشان داد (جداول ۲ و ۴). اسفندیاری و همکاران (۱۳) گزارش کردند که در اثر تنش خشکی به گندم میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. گائو و همکاران (۱۵)، با اعمال تنش خشکی روی برنج باعث افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز شدند. جیانگ و همکاران (۲۰) ثابت کردند که توقف آبیاری باعث افزایش سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز در *Festuca arundinaceae* و *Poa pratensis* می‌شود. خشکی همانند دیگر تنش‌های محیطی می‌تواند سبب تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن همانند سوپراکسید، هیدروژن پراکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل درون سلول شود. این ترکیبات خسارت زیادی از طریق اکسیداسیون چربی‌ها، پروتئین و اسیدهای نوکلئیک به سلول وارد می‌کنند. به‌منظور کاهش اثرات سوء تنش اکسیداتیو، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در سلول گیاهان بالا می‌رود. این آنزیم‌ها نقش مهمی در غیر فعال کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول گیاهان دارند.

نتیجه‌گیری

در این تحقیق سطح تاج پوشش گیاه تحت تأثیر تنش خشکی قرار نگرفته است ولی گیاه با تنظیم اسمزی که متضمن افزایش تعداد مولکول‌های محلول درون سلول‌ها در پاسخ به کاهش پتانسیل آب خارجی است و تجمع مواد حل‌شونده‌ای نظیر اسیدهای آلی، آمینواسیدهای آزاد (به‌ویژه پرولین، آلانین و آسپارتین) و کربوهیدرات‌ها (به‌ویژه ساکارز، گلوکز، سوربیتول، مانیتول، گلیسرول و ترهالوز) در سیتوپلاسم سلول‌ها و از طریق کاهش فعال پتانسیل اسمزی سلول، پتانسیل آب گیاه را کاهش داده و به جذب آب توسط ریشه‌ها و حفظ تورژسانس سلول‌ها که شرط لازم برای رشد آنها بوده کمک کرده است. هم‌چنین افزایش فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو باعث غیر فعال شدن رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول‌ها شده است (۳۶ و ۳۸). به این ترتیب گیاه توانسته است میزان خشکی تا سطح ۵۰ درصد کمبود آب خاک را تحمل نماید.

منابع مورد استفاده

1. Ahmad anjum, S., M. Farooq, X. Xie, X. Liu and M. Furqan ljaz. 2010. Antioxidant defence system and proline accumulation enables hot pepper to perform better under drought. *Scientia Horticulture* 140:66-73
2. Amini, Z., R. Hadad and F. Moradi. 2009. Investigation on effects of drought stress on antioxidant enzymes function in flowering phase of *Hordeum vulgare*. *Journal of Agricultural and Natural Resources Science* 46:65-75. (In Farsi).
3. Angelini, L. G. and M. Bertolacci. 2008. Response of woad (*Isatis tinctoria* L.) to different irrigation levels to optimise leaf and indigo production. *Options Mediterraneennes* 84:185-194
4. Ashraf, M. and M. R. Foolad. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany* 59:206-216
5. Babaee, K., M. Amini Dehghani, S. A. M. Modares and R. Jabbari. 2010. Water deficit effect on morphology, proline content and thymol percentage of Thyme (*Thymus vulgaris* L). *Iranian Journal of Medical and Plants* 26:251-264. (In Farsi).
6. Bagheri, M., M. Kamel manesh and SH. Javan mardi. 2011. Effects of drought stress on proline accumulation, soluble carbohydrates, and sodium and potassium changes on *Phaseolous vulgaris* genotypes. *Journal of Investigation on Agricultural Science* 8:83-95(In Farsi).
7. Bates, L. S. R., P. Waldern and I. D. Teave. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant*

www.SID.ir

Archive of SID

and Soil 39: 205-207.
8. Beers, R. and I. Sizer. 1952. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen by catalase. *Journal of Biochemistry* 195:133-140
9. Bhatt, R. M. and N. K. Srinivasa Rao. 2005. Influence of pod load on response of okra to water stress. *Indian Journal of Plant Physiology* 10: 54–59.
10. Campeol, E., L. Angelini, S. Tozzi and M. Bertolacci. 2006. Seasonal variation of indigo precursors in *Isatis tinctoria* and *Polygonum tinctorium* as affected by water deficit. *Environmental and Experimental Botany* 58:223-233.
11. Dacosta, M. and B. Huang. 2006. Osmotic adjustment associated with variation in Bent grass tolerance to drought stresses. *HortScience* 131: 338-344.
12. Dhindsa, R. A., P. Plumb- dhimdsa and T. A. Thorpe. 1981. Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid per oxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany* 126:93-101.
13. Esfandiari, E., M. R. Shakiba, S. A. Mahboob, H. Alyari and B. Firozabadi. 2010. Effects of water stress on antioxidant enzymes activities and lipid per oxidation of wheat seedlings. *Journal of Agriculture Science* 19: 129-139. (In Farsi).
14. Fanaee, H., M. Golvi, M. Kafi, A. Ghanbari and A. Shiranirad. 2012. Effects of stress and different levels of potassium on osmolytes and chlorophyll accumulation on *Brassica napus* and *Sinapis* L. *Journal of Agriculture, Natural Sources, Soil and Water Sciences* 57:141-157. (In Farsi).
15. Gao, J., Q. Xiao, L. Ding, M. Chen, L. Yin, J. Li, S. Zhou and G. He. 2008. Differential responses of lipid per oxidation and antioxidants in *Alternanthera philoxeroides* and *Oryza sativa* subjected to drought stress. *HortScience* 56:89-95.
16. Huang, B., 2001. Nutrient accumulation and associated root characteristics in response to drought stress in tall fescue cultivars. *HortScience* 36: 148-152.
17. Huang, B., J. Fry and B. Wang. 1998. Water relations and canopy characteristics of tall fescue cultivars and after drought stress. *HortScience* 33:837-840.
18. Hekmat shoar, H. 1994. Plant Physiology in Difficult Situation. Niknam Press. Tabriz. (In Farsi).
19. Hemeda, H. M. and B. P. Klein. 1990. Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidise activity of vegetables extracts. *Journal of Food Science* 55:184-185.
20. Jiang, Y. and B. Huang. Drought and heat stress injury to two cool-season turf grasses in relation to antioxidant metabolism and lipid per oxidation. *Crop Science* 41: 436-442.
21. Jiang, Y., E. Watkins, S. Liu, X. Yu and N. Luo. 2010. Antioxidative responses and candidate gene expression in Prairie Junegrass under drought stress. *HortScience* 135:303-309.
22. Kimberley, A. and C. Taylor. 1995. A modification of phenol / sulphuric acid assay for total carbohydrate giving more comparable absorbencies. *Biochemistry and Biotechnology* 53:207-215.
23. Khakshour Moghaddam, Z., M. Lahuti and A. Ganjali. 2011. Effects of drought stress induced by polyethylene glycol on germination and morphological characteristics of *Anethum graveolens* L. *Journal of Horticultural Science* 25:185-193. (In Farsi).
24. Mahajan, S. and N. Tuteja. 2005. Cold, salinity and drought stresses: An interview. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 444:139-158.
25. Moazzeni, H., S. Zarre, I. Al-Shehbaz and K. Mummenhoff. 2010. Phylogeny of *Isatis (Brassicaceae)* and allied genera based on ITS sequences of nuclear ribosomal DNA and morphological character. *Flora* 205:337-343.
26. Marler, T. and M. Mickelbart. 1998. Drought, leaf exchange and chlorophyll fluorescence of field grown papaya. *HortScience* 123: 714-718.
27. Nakano, Y. and K. Asada. 1987. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplast: in activation in ascorbate - depleted medium and reactivation by monodehydro ascorbate radicals. *Plant Cell Physiology* 28:131-140.
28. Niu, G. and D. Rodriguez. 2009. Growth and physiological response of four Rose root stocks to drought stress. *HortScience* 134:202-209
29. Omid beigi, R., M. Mahmoudi. 2011. Effects of drought stress on morphological characteristics and essence amount of *Agastache foeniculum*. *Iranian Journal of Horticultural Science* 2:153-161. (In Farsi).
30. Rahmani, M., D. Habibi, A. Shiranirad, J. Daneshian, A. Valadabadi, M. Mashhadi and A. Khalatbari. 2010. Effects of different amounts of super absorbance polymer on function of antioxidant enzymes in *Sinapis alba* in drought stress situation. *Journal of Environmental Stress in Plant Science* 1:23-399. (In Farsi).
31. Rane, J., M. Maheshwari and S. Nagarajan. 2001. Effect of pre-anthesis water stress on growth, photosynthesis and yield of six wheat cultivars differing in drought tolerance. *Indian Journal of Plant Physiology* 6: 53-60.
32. Silva, E., R. Ribeiro, S. Ferreira, S. Vieira, L. Ponte and J, Silveira. 2012. Coordinate changes in photosynthesis,

www.SID.ir

Archive of SID

sugar accumulation and antioxidant enzymes improve the performance of *Jatropha curcus* plants under drought stress. *Biomass and Bioenergy* 45:270-279.
33. Saini, R. S., K. D. Sharma, O. P. Dhankar and R. A. Kaushik. 2001. Laboratory manual analysis techniques in horticulture. *HortScience* 7:101-105.
34. Sharma, K. D. and M. S. Kuhad. 2006. Influence of potassium level and soil moisture regime on biochemical metabolites of *Brassica* species. *Brassica Journal* 8:71-74.
35. Taylor, C. B. 1996. Proline and water deficit: ups, downs, ins and outs. *The Plant Cell* 8:1221-1224.
36. Volkmar, K. M., Y. Hu and H. Steppuhn. 1997. Physiological responses of plants to salinity: A review. *Plant Physiology* 78:19-27.
37. Wise, R. R. and A. W. Naylor. 1989. Chilling – enhanced photo oxidation the per oxidative destruction of lipids during chilling injury to photosynthesis and ultra structure. *Plant Physiology* 83:278-282
38. Wood, C., T. Smalley, M. Rieger and D. Radcliffe. 1994. Growth an drought tolerance of *Viburnum plicatum* var *tomentosum' Mariesii'* in pine bark-amended soil. *HortScience* 119:687-692.
39. Zhang, B. and D. Archbold. 1993. Solute accumulation in leaves of a *Fragaria chiloensis* and a *F. virginiana* selection responds to water deficit stress. *HortScience* 118:280-285.
40. Zollinger, N., R. Kjelgren, T. Cerny-Koenig, K. Kopp and R. Koenig. 2006. Drought responses of six ornamental herbaceous perennials. *HortScience* 109:267-274.

www.SID.ir