

تأثیر برخی مواد موثر بر رشد و تنش کم آبیاری بر چگونگی تغییرات مکانسیم های دفاعی کلزا  
 سید احمد کلانتر احمدی<sup>۱</sup>\* و علی عبادی<sup>۲</sup>  
 ۱- پژوهشگر مرکز تحقیقات کشاورزی صفی آباد دزفول  
 ۲- دانشیار دانشگاه محقق اردبیلی

### چکیده

به منظور بررسی تأثیر محلول پاشی اسید آسکوربیک، اسید سالیسیلیک و متانول در شرایط تنش کم آبیاری آزمایشی بصورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مرکز تحقیقات کشاورزی صفی آباد دزفول به مورد اجرا گذاشته شد. عامل اصلی در سه سطح شامل آبیاری پس از ۷۰ میلیمتر تبخیر از تشتک به عنوان شاهد (آبیاری مطلوب)، قطع آبیاری در مرحله گلدهی و قطع آبیاری در مرحله خورجین‌دهی بود. عامل فرعی نیز در ۱۰ سطح شامل (اسید آسکوربیک با غلظت ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم در لیتر، اسید سالیسیلیک با غلظت ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرومول، متانول با غلظت ۱۰٪، ۲۰٪ و ۳۰٪ حجمی، و شاهد بصورت محلول پاشی با آب مقطر) بود. محلول پاشی نیز در دو مرحله غنچه دهی و شروع گلدهی انجام گردید. نتایج آزمایش نشان داد که واکنش آنزیم های آنتی اکسیدانت نسبت به تنش کم آبیاری و محلول پاشی متفاوت بود. حداکثر فعالیت آنزیم های کاتالاز و پلی فنل اکسیداز در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی و محلول پاشی با اسید سالیسیلیک (۳۰۰ میکرو مول) مشاهده گردید. بالاترین میزان فعالیت آسکورات پراکسیداز نیز در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی و محلول پاشی با اسید آسکوربیک (۳۰۰ میلی گرم در لیتر) بدست آمد. محتوی نسبی آب نیز در اثر تنش خشکی ناشی از قطع آبیاری کاهش یافت. واژه های کلیدی: تنش، خشکی، آنزیم، کلزا.

## مقدمه

عدم تحرک در گیاهان موجب گردیده که گیاهان براساس استراتژی های سازگاری به تنش‌های غیر زنده مختلف از قبیل شوری، خشکی، سرما و گرما و در نهایت تاثیر این عوامل بر رشد و تولید دسته بندی شوند (Gill et al., ۲۰۰۳). سازگاری به این گونه تنش ها همراه با تنظیمات متابولیکی می باشد که منجر به بروز آنزیمهای مختلف میشود (Strain and Fletcher, ۲۰۰۳). القای تحمل به خشکی در گیاهان از طریق استعمال اسید آسکوربیک می تواند کاربرد قابل توجهی در کشاورزی داشته باشد (Hamada, ۲۰۰۰). اسید آسکوربیک یکی از اجزای مهم سیستم دفاعی آنتی اکسیدانت بوده و بعنوان یک عامل کاهنده در حذف  $H_2O_2$  عمل می کند (Noctor and Foyer, ۱۹۹۸). برخی آنتی اکسیدانت های آنزیمی و غیر آنزیمی در پاسخ به تنش های غیر زنده، به منظور حفظ گیاه در مقابل صدمات ناشی از ROS ها، تولید میشوند (Ashraf, ۲۰۰۹). اسید سالیسیلیک بعنوان یک مولکول سیگنال دهنده داخلی که موجب القای تحمل تنش‌های غیر زنده در گیاهان میشود، عمل میکند. در شرایط تنش خشکی، اسید سالیسیلیک موجب القای فعالیت آنزیمهای آنتیاکسیدانت و افزایش میزان آنها در مقایسه با عدم کاربرد آن میگردد. استعمال خارجی اسید سالیسیلیک به کاهش تاثیر مخرب تنش خشکی کمک کرده و از نقش مهمی در تحمل تنش از طریق کاهش اتلاف آب برخوردار بوده و همچنین موجب القای سیستم آنتیاکسیدانی میشود (Saruhan et al., ۲۰۱۲). یکی از راهکارهای افزایش غلظت  $CO_2$  در گیاهان استفاده از ترکیباتی مانند متانول، اتانول، پروپانول و بوتانل میباشد (Ramberg et al., ۲۰۰۲) و نقش عمده این مواد، جلوگیری از کاهش اثر تنش‌های القا شده به گیاهان زراعی در طی تنفس نوری آنها میباشد (Downie et al., ۲۰۰۴). با توجه به بررسی های انجام شده، هدف از این آزمایش بررسی تاثیر تنش خشکی و محلول

پاشی با برخی مواد موثر بر رشد و چگونگی واکنش گیاه کلزا نسبت به آنها می باشد.

## مواد و روش ها

این تحقیق در ۱۳۹۱ در مرکز تحقیقات کشاورزی صفی آباد با عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۲۲ دقیقه، طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۳۲ دقیقه و ارتفاع ۸۲ متر از سطح دریا اجرا گردید. آزمایش به صورت کرت‌های یکبار خرد شده در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی در ۳ تکرار بود. فاکتور اصلی در سه سطح شامل آبیاری پس از ۷۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک به عنوان شاهد (آبیاری مطلوب: S۱)، قطع آبیاری در مرحله گلدهی (S۲) و قطع آبیاری در مرحله خورجین‌دهی (S۳) بود. عامل فرعی نیز در ۱۰ سطح شامل (اسید آسکوربیک با غلظت ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ میلی گرم در لیتر، سالیسیلیک اسید با غلظت ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ میکرومول، متانول با غلظت ۱۰٪، ۲۰٪ و ۳۰٪ حجمی، و شاهد بصورت محلول پاشی با آب مقطر) در ۳ تکرار اجرا گردید. محلول پاشی نیز در دو مرحله غنچه دهی و شروع گلدهی انجام گردید. رقم مورد آزمایش نیز Hyoka۴۰۱ بود.

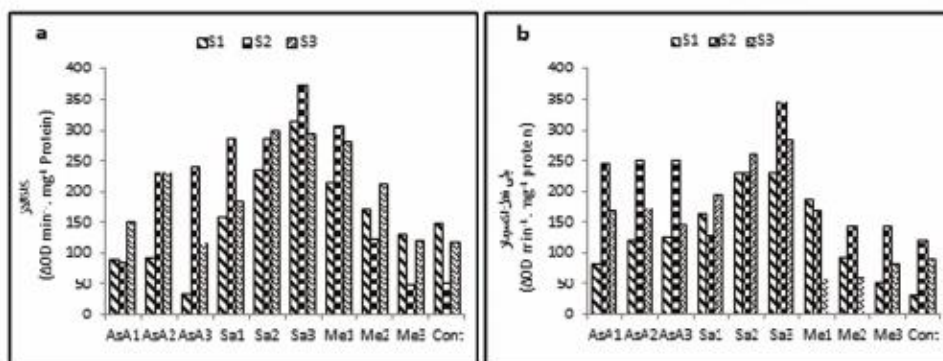
S۱: Optimum Irrigation	S۲: Cutting irrigation at flowering stage	S۳: Cutting irrigation at poding stage
AsA۱: ۱۰۰ mg.lit <sup>-۱</sup> ascorbic acid	AsA۲: ۲۰۰ mg.lit <sup>-۱</sup> ascorbic acid	AsA۳: ۳۰۰ mg.lit <sup>-۱</sup> ascorbic acid
Sa۱: ۱۰۰ μ mol salicylic acid	Sa۲: ۲۰۰ μ mol salicylic acid	Sa۳: ۳۰۰ μ mol salicylic acid
Me۱: ۱۰٪ methanol	Me۲: ۲۰٪ methanol	Me۳: ۳۰٪ methanol
Cont: Foliar with distil water		

## نتایج و بحث

حداکثر ((۳۷۲/۹۳)) تغییرات جذب بر میلی گرم پروتئین بر دقیقه) فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی و کاربرد ۳۰۰ میکرومول اسید سالیسیلیک مشاهده گردید (شکل a۱). حداقل ((۳۳/۶۳)) تغییرات جذب بر میلی گرم پروتئین بر دقیقه) فعالیت کاتالاز نیز به تیمار آبیاری مطلوب و کاربرد ۳۰۰ میلی گرم در لیتر اسید آسکوربیک اختصاص یافت (شکل a۱). تحت شرایط تنش شدید، ممکن است که سیستم آنتی اکسیدانی از ظرفیت کافی جهت کاهش تاثیر مضر آسیب های اکسیداتیو برخوردار نباشد. بنابراین، سنتز مولکولهای سیگنال

در گیاهان، مهمترین گام در جهت شناخت تنشهای محیطی توسط گیاهان میباشد. اسید آسکوربیک یکی از اجزای مهم سیستم دفاعی آنتی اکسیدانت بوده و بعنوان یک عامل کاهنده در حذف  $H_2O_2$  عمل می کند (Noctor and Foyer, ۱۹۹۸). نتایج برخی آزمایشات نیز نشان داده است که استفاده از مولکولهای سیگنال دهنده از جمله اسید سالیسیلیک بصورت خارجی، از پتانسیل بالایی در بهبود و تحمل تنش برخوردار میباشد (Wahid et al., ۲۰۰۷; Zhu, ۲۰۰۲).

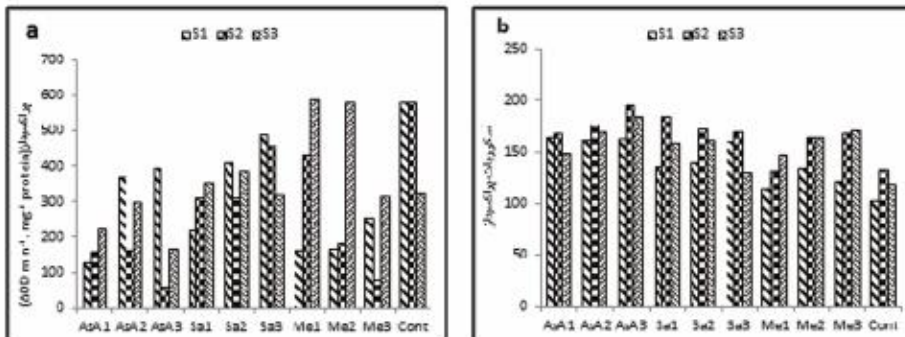
افزایش شدت تنش خشکی ناشی از قطع آبیاری در مرحله گلدهی موجب افزایش فعالیت پلی فنل اکسیداز گردید (شکل b۱). حداکثر فعالیت پلی فنل اکسیداز (۳۴۵/۲۹ تغییرات جذب بر میلی گرم پروتئین بر دقیقه) در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی و کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت ۳۰۰ میکرو مول مشاهده گردید (شکل b۱). کمترین میزان فعالیت پلی فنل اکسیداز (۳۰/۶۷ تغییرات جذب بر میلی گرم پروتئین بر دقیقه) نیز به تیمار آبیاری مطلوب و شاهد (محلول پاشی با آب مقطر) اختصاص یافت (شکل b۱). تاثیر اسید سالیسیلیک بر فعالیت پلی فنل اکسیداز در شرایط قطع آبیاری در مراحل گلدهی و خورجین دهی برخلاف اسید آسکوربیک بود و با افزایش غلظت محلول پاشی اسید سالیسیلیک میزان فعالیت پلی فنل اکسیداز نیز افزایش یافت (شکل b۱). افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت در اثر محلول پاشی با اسید سالیسیلیک می تواند به نوعی بیانگر کاهش تنش اکسیداتیو و پاکسازی ROS ها توسط آنزیم های آنتی اکسیدانت باشد. جلوگیری از وارد شدن زیان اکسیداتیو به سلولها در طول تنش خشکی بعنوان یکی از مکانیسمهای تحمل تنش پیشنهاد شده است و میزان این پیشگیری در ارتباط با فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش یافته میباشد.



شکل ۱- اثر متقابل قطع آبیاری و محلول پاشی بر میزان فعالیت کاتالاز (a) و پلی فنل اکسیداز (b)

حداکثر فعالیت پراکسیداز (۵۸۷ تغییرات جذب بر میلی گرم پروتئین بر دقیقه) در شرایط قطع آبیاری در مرحله خورجین دهی و محلول پاشی با متانول (غلظت ۱۰٪) مشاهده گردید و با تیمار قطع آبیاری در مراحل گلدهی و خورجین دهی و محلول پاشی با آب مقطر (شاهد) نیز در یک گروه آماری قرار گرفت (شکل ۲a). کمترین میزان فعالیت پراکسیداز (۵۶/۰۷ تغییرات جذب بر میلیگرم پروتئین بر دقیقه) نیز در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی و کاربرد اسید آسکوربیک با غلظت ۳۰۰ میلی گرم در لیتر مشاهده گردید (شکل ۲a). کاربرد اسید آسکوربیک تاثیر معنی داری بر فعالیت پراکسیداز در شرایط مطلوب (بدون تنش) نداشت، اما کاربرد اسید آسکوربیک موجب کاهش میزان فعالیت پراکسیداز در برگ های کلزای تحت تنش گردید (Dolatabadian et al., ۲۰۰۸). با توجه به اینکه افزایش غلظت محلول پاشی اسید سالیسیلیک در شرایط رطوبتی مطلوب موجب بیشتر شدن غلظت پراکسیداز گردید، بنظر میرسد که این افزایش غلظت محلول پاشی اسید سالیسیلیک در شرایط رطوبتی مطلوب به نوعی موجب وارد آمدن آسیب به گیاه گردیده است، اما در شرایط تنش رطوبتی ناشی از قطع آبیاری برای گیاه مفید بوده است.

بالاترین میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز (۱۹۴/۶۶ تغییرات جذب بر میلی گرم پروتئین بر دقیقه) در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی به محلول پاشی با اسید آسکوربیک (۳۰۰ میلی گرم در لیتر) اختصاص یافت (شکل ۲b). کمترین میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز (۱۰۱ تغییرات جذب بر میلی گرم پروتئین بر دقیقه) نیز در شرایط رطوبتی مطلوب و محلول پاشی با آب مقطر (شاهد) مشاهده گردید. کاربرد متانول در شرایط تنش موجب بیشتر شدن فعالیت آسکوربات پراکسیداز گردید (شکل ۲b). افزایش غلظت محلول پاشی اسید سالیسیلیک در شرایط تنش موجب کاهش میزان تولید آسکوربات پراکسیداز گردید (شکل ۲b Amin) و همکاران نیز اظهار داشتند که کاربرد اسید آسکوربیک، افزایش آسکوربات پراکسیداز را به همراه داشت (Amin et al., ۲۰۰۸).



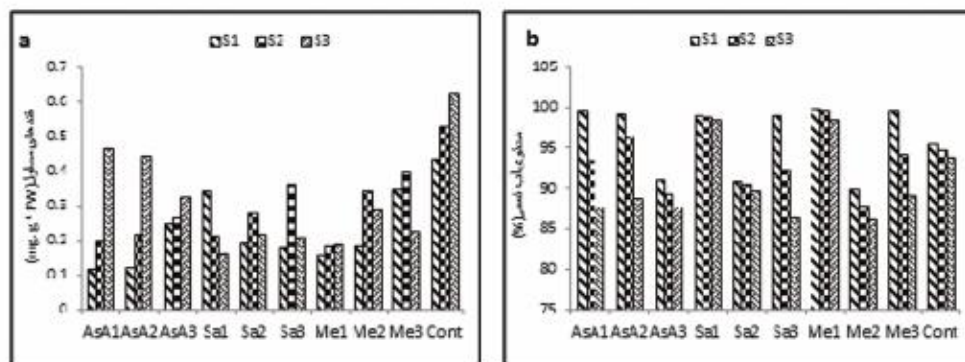
شکل ۲- اثر متقابل قطع آبیاری و محلول پاشی بر میزان فعالیت پراکسیداز (a) و آسکوربات اکسیداز (b)

مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر متقابل تیمارهای آزمایشی نشان داد که در تمامی شرایط رطوبتی میزان قند محلول در شرایط محلول پاشی با آب مقطر (شاهد) بیشتر بود. افزایش غلظت محلول پاشی اسید آسکوربیک، اسید سالیسیلیک و متانول در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی موجب افزایش میزان تولید قندهای محلول گردید (شکل ۳a). سازگاری به تنش آب همراه با تنظیم متابولیکی میباید که موجب تجمع محلولهای آلی، از جمله قندها میشود گیاهان از طریق افزایش میزان قند به کاهش پتانسیل اسمزی و جذب آب بیشتر

کمک میکند. به نظر میرسد که اسید آسکوربیک از طریق افزایش میزان کلروفیل موجب بهبود فتوسنتز شده و در نهایت آسیمیلانها (قندها) نیز افزایش مییابند (Bagheri, ۲۰۱۲, Ebrahimian and Bybordi) و همکاران نیز گزارش دادند که میزان قندهای محلول برگ در اثر محلول پاشی متانول افزایش یافت و بالاترین مقادیر نیز به تیمارهای ۱۰ و ۲۰ درصد متانول اختصاص یافت (Bagheri et al., ۲۰۱۴).

مقایسه میانگین های مربوط به اثر متقابل تیمارهای آزمایشی نشان داد که حداکثر محتوی آب نسبی در شرایط رطوبتی مطلوب (۹۹/۷٪) و قطع آبیاری در مرحله گلدهی (۹۹/۴۷٪) به تیمار محلول پاشی متانول با غلظت ۱۰٪ اختصاص یافت (شکل ۳b). کاهش غلظت محلول پاشی اسید آسکوربیک در شرایط رطوبتی مطلوب و قطع آبیاری در مرحله گلدهی موجب کاهش معنی دار محتوی نسبی آب گردید. با توجه به بیشتر بودن محتوی آب نسبی در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی در مقایسه با خورجین دهی به نظر میرسد که بدلیل فعال بودن بیشتر برگها در مرحله گلدهی در مقایسه با خورجین دهی، گیاه انرژی بیشتری را صرف حفظ پتانسیل آب برگها نموده است. از آنجا که تعادل آب سلول و گیاه از طریق اختلاف جذب آب از خاک و میزان تعرق صورت می گیرد، میزان محتوی نسبی آب نیز بواسطه افزایش تعرق تحت شرایط تنش خشکی کاهش می یابد و منجر به کاهش فشار تورگر سلول میشود (Tas and Raymond and VanTas, ۲۰۰۷). از این امر و با توجه با نتایج آزمایش می توان نتیجه گرفت که غلظت های مختلف اسید آسکوربیک در شرایط رطوبتی متفاوت خاک موجب تاثیر متفاوتی بر محتوی آب نسبی می شوند. برخی پژوهشگران نیز اظهار داشته اند که اسید سالیسیلیک موجب افزایش تولید دستگاه فتوسنتزی شده و این افزایش فعالیت دستگاه فتوسنتزی میزان شیره تولیدی در برگها را افزایش داده و در نهایت منجر به حفظ محتوی نسبی آب برگ و رشد بهتر میشود (He et al., ۲۰۰۵). Skhabutdinova et al., ۲۰۰۳). در شرایط کمبود آب، محلول پاشی با متانول میتواند

آسیب تنش خشکی را کاهش داده و میزان کاهش محتوی نسبی آب نیز کمتر باشد (Bayat et al., ۲۰۱۲).



شکل ۳- اثر متقابل قطع آبیاری و محلول پاشی بر میزان قندهای محلول (a) و محتوی آب نسبی (b)

### نتیجه گیری

سلول های گیاهی به واسطه ی دارا بودن آنزیم های آنتی اکسیدانت در برابر شرایط نامطلوب حاصل از تنش مقاومت می کند و بخش عمده ای سم زدایی ROS ها بواسطه سیستم آنتی اکسیدانتی انجام می شود. از آنجا که تحت شرایط کم آبیاری و تنش اکسیداتیو حاصل از آن، ممکن است که سیستم آنتی اکسیدانتی از ظرفیت کافی جهت کاهش تاثیر مضر آسیبهای اکسیداتیو برخوردار نباشد. بنابراین، سنتز مولکولهای سیگنال در گیاهان، مهمترین گام در جهت شناخت تنشهای محیطی توسط گیاهان میباشد. استفاده از مولکولهای سیگنال دهنده بصورت خارجی، از قبیل اسید سالیسیلیک، اسید آسکوربیک و متانول از پتانسیل بالایی در بهبود و تحمل تنش بر خوردار میباشد. با توجه به نتایج آزمایش، محلول پاشی اسید آسکوربیک (۳۰۰ میلیگرم در لیتر) جهت افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت (کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز) و همچنین محلول پاشی اسید سالیسیلیک (۳۰۰ میکرومول) و متانول (۱۰٪) برای بیشتر شدن فعالیت آنزیم های کاتالاز، پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی مناسب به نظر میرسد.