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

امید دهشیری و حسن پاک نیت[۱*]

(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 آسیب های ناشی از تنش اُکسیداتیو را کاهش می‌دهند از اهمیت بسزایی در مقاومت گیاهان به تنش خشکی برخوردار می‌باشند. یکی از این سازوکارها آنزیم‌های آنتی اکسیدانی است. از این رو آزمایشی با ۹ ژنوتیپ پاییزه کلزا (طلایه، اکاپی، اپرا، مودنا، الایت، لیکورد، زرفام ، کوپر، Slm046) با سه سطح تنش خشکی (آبیاری در ۷۵،۱۰۰ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی خاک) به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به صورت گلدانی در سال۱۳۸۹ در گلخانه دانشکده کشاورزی شیراز انجام شد. نتایج آزمایش نشان داد که با افزایش شدت خشکی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی 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 آنتی اکسیدانی 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 آنتی اکسیدانی، 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 می شود 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 می کند. 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 پروتئین ها، 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 می تواند 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 بیو شیمیایی و فیزیولوژیکی در گیاه مورد استفاده محققان قرار گیرند(۱۱). سازوکارهایی که آسیب‌های ناشی از تنش اُکسیداتیو را کاهش می‌دهند از اهمیت بسزایی در مقاومت گیاهان به تنش خشکی برخوردارند. این سازوکارها در فرآیندهای بیو شیمیایی و فیزیولوژیکی گیاهان تغییراتی ایجاد می‌نمایند (۱۸). از این جهت، مکانیزم عمل حفاظت کننده‌های ضداُکسیداتیو در سلول‌های گیاهی به دو دسته آنزیمی و غیرآنزیمی تقسیم می‌شوند. دسته اول شامل آنتی اکسیدانت های آنزیمی مثل پراکسیداز(POD)،آسکوربیت پراکسیداز (APX)، گلوتاتیون ردوکتاز (GR) و دسته دوم شامل مواد محلول آلی مانند قندها، پرولین و فلاونوئیدها و ایجاد پلی آمین ها و پروتئین‌های جدید می‌باشد (۱۷).

پراکسیداز(POD) یک اکسیدوریدوکتاز است که دارای یک هم نوع b به عنوان گروه پروستتیک(Prosthetic) بوده که اکسیداسیون ترکیبات پروتون دهنده را به پراکسیدهیدروژن کاتالیز می کند 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). گلوتاتیون ردوکتاز یک آنزیم منحصر به فرد بوده که کاتالیز دی گلوتاتیون (GSSG) را به دو مولکول گلوتاتیون کاهش داده (GSH) و اکسیداسیون همزمان NADPH را می‌دهد. این عمل از طریق FAD و اتصال دی سولفید درون پروتئین‌ها صورت می‌گیرد. آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز یکی از آنزیم‌های مسیر گلوتاتیون – آسکوربات (میتوکندری) است که با مصرف NADPH به عنوان دهنده الکترون باعث احیای گلوتاتیون می‌شود (۱۴). آنزیم آسکوربات پراکسیداز در چرخه گلوتاتیون – 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 می باشند. علاوه بر کلروفیل‌ها غشاهای تیلاکوئیدی دارای رنگدانه های جذب نور ثانویه (رنگدانه‌های فرعی) یعنی کاروتنوئیدا هستند. رنگدانه های کاروتنوئیدی نور را در طول موج های ۴۵۰-۵۵۰ نانومتر

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، Slm046)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 درصدFC ، آبیاری در حد ۵۰ درصد FC) در ۳ تکرار انجام شد. اعمال تیمار خشکی به‌صورت وزنی- حجمی صورت گرفت. بعداز اعمال تنش در مرحله قبل از گل‌دهی از بافت‌های برگی 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 وسنجش آنزیم‌ها

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

سنجش فعالیت ویژه آنزیم‌های آنتی اکسیدان:

اندازه گیری فعالیت آنزیم آسکوربیک پراکسیداز(APX)

برای اندازه گیری 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 روش۵۰ میکرو لیتر از عصاره استخراج را با یک میلی لیتر محلول اندازه گیری 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_2O_2) 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 گلوتاتیون 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 و۲۰ 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 گوایکول توسط این آنزیم انجام می گیرد. در این روش۳۳ میکرولیتر از عصاره استخراج را با یک میلی

لیتر از محلول پراکسیداز که شامل ۱۳ میلی مولار گوایکول، ۵ میلی مولار پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و۵۰ میلی مولار بافر فسفات پتاسیم(pH=۷) است مخلوط نموده و به مدت یک دقیقه با فواصل۱۰ ثانیه در طول موج ۴۷۰ nm جذب آن قرائت شد.

اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها

برای اندازه‌گیری میزان کلرفیل 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 ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ قرائت کرده و با روابط زیر میزان کلروفیل a، کلروفیل b ، کلروفیل کل و میزان کاروتنوئید محاسبه شد.

Chl a = (12.25 A663 – 2.79 A646)

Chl b = (21.21 A646 – 5.1 A663)

Ch ll = Chl a + Chl b

Car = (1000 A470 – 1.8 Chl a – 85.02 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 محتوی کلروفیل b و car بیانگر محتوی کاروتنوییدهاست.

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 آنزیم های آنتی اکسیدانی مهارکننده گونه‌های فعال اکسیژن در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که با افزایش سطح خشکی و کاهش میزان آب فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی APX، POD و GR افزایش یافتند (جدول۱).

فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD)

با افزایش سطح خشکی میزان فعالیت این آنزیم افزایش یافت ولی بین سطح ۱۰۰FC٪ و ۷۵FC٪ تفاوت معنی داری وجود نداشت ولی با افزایش میزان خشکی این دو سطح با ۵۰FC٪ تفاوت معنی داری را نشان دادند. (جدول ۱). اثر متقابل بین اثر سطوح خشکی و ژنوتیپ‌ها برای آنزیم POD معنی دار نبود (جدول ۲) اما فعالیت این آنزیم در ژنوتیپ های کلزا تفاوت معنی داری را نشان داد ($P \leq ۰/۰۱$). میزان فعالیت آنزیمی در سطح ۵۰ د رصد 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. ژنوتیپ های 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 می یابد 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 گلوتاتیون ردوکتاز(GR)

سطوح مختلف تنش خشکی (۱۰۰FC٪ ، ۷۵FC٪ ، ۵۰FC٪) روی فعالیت آنزیم GR اثر معنی داری را نشان نداد ($P \leq ۰/۰۱$). با کاهش میزان آبیاری و افزایش سطح خشکی میزان فعالیت این آنزیم افزایش یافت ولی بین سطوح مختلف خشکی تفاوت

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

سطوح خشکی	POD (u/mg protein)	APX (u/mg protein)	GR (u/mg protein)	CHL (µg/g g fw)	CAR (µg/g g fw)
FC٪۱۰۰	۱/۲۱۶^{b}	۷۵۶/۳۷^{b}	۳۵/۴۹^{a}	۱۳/۲۱۴^{b}	۲/۵۵۴^{b}
FC٪۷۵	۱/۵۵۲^{b}	۷۶۵/۸۶^{b}	۳۷/۲۷^{a}	۱۳/۵۸۵^{b}	۲/۶۴۰^{b}
FC٪۵۰	۱/۸۴۳^{a}	۸۵۵/۰۱^{a}	۳۷/۹^{a}	۱۹/۵۰۷^{a}	۳/۹۴۴^{a}

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: گلوتاتیون ردوکتاز، CHL: کلروفیل، CAR: کاروتنوئید)

جدول ۲. جدول تجزیه واریانس آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در ژنوتیپ های کلزا

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

*، ns: به‌ترتیب معنی داری در سطح احتمال ۰/۵ درصد و عدم معنی‌داری

شکل ۱. فعالیت ویژه آنزیم POD در ژنوتیپ‌های مختلف کلزا

شکل ۲. فعالیت ویژه آنزیم APX در ژنوتیپ‌های مختلف کلزا

معنی‌داری دیده نشد. (جدول ۱). اثـر متقابـل بـین اثـر سـطوح خشکی و ژنوتیپ‌ها برای آنزیم GR معنی دار بود (جـدول ۲). با افزایش سطح خشکی فعالیت این آنـزیم در بـین ژنوتیـپ‌هـا افزایش یافت به‌طوری که بیشترین فعالیت در بین سطوح متعلق به ژنوتیپ اکاپی در سـطح ۵۰٪FC بـود و کمتـرین متعلـق بـه ژنوتیپ الایت در سطح ۱۰۰٪FC بود (شکل ۱-۳).

بررسی فعالیت کلروفیل و کاروتنوئید

سطوح مختلـف تـنش خـشکی (FC ، ۷۵٪FC ، ۵۰٪FC) روی فعالیت کلروفیل کل و کاروتنوئیـد اثـر معنـی‌داری را نـشان داد ($P\leq$ ۰/۰۱). با کاهش میزان آبیـاری و افـزایش سـطح خـشکی میزان کلروفیل کل افزایش می یابد (جـدول ۱). بـه طـور کلـی تیمار تنش خشکی محتوای کلروفیل بیشتری نـسبت بـه تیمـار آبیاری معمول داشت. اثـر متقابـل بـین اثـر سـطوح خـشکی و کلروفیل و کاروتنوئید معنی دار بود (جدول ۲). با افزایش سطح خشکی محتوای کلروفیـل و کاروتنوئیـدها در بـین ژنوتیـپ‌هـا افزایش یافت، بطوری که بیشترین فعالیت در بین سطوح متعلق به ژنوتیپ لیکورد در سطح ۵۰٪FC بود (شکل‌های ۴ و ۵).

بحث

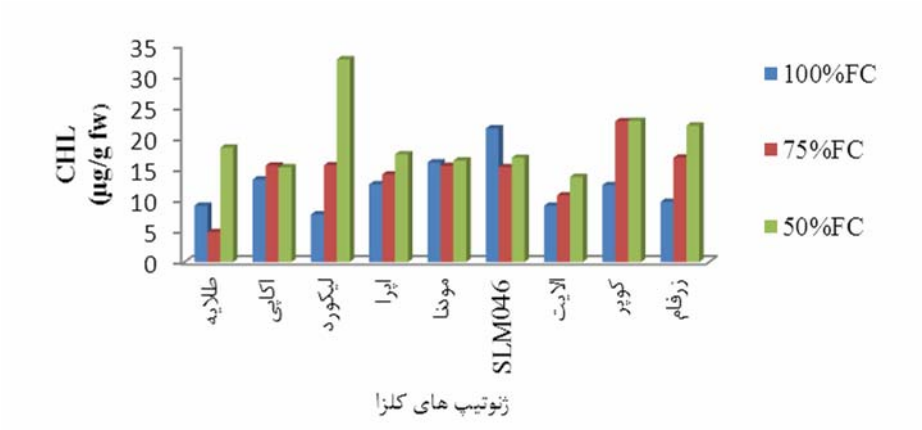
تنش خشکی، همانند سایر تنش‌های محیطی از قبیل: دمای زیاد و کم، شوری و سرما، باعث ایجاد تـنش اکـسیداتیو در گیاهـان می شود (۲۰). گیاهان جهت غلبه بر چنین شرایطی سیستم‌های آنتـی اکـسیدانی ماننـد آسـکوربیک پراکـسیداز، پراکـسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز، کاتالاز را دارا می باشند. این آنزیم های آنتی اکسیدانی و متابولیت‌ها تحت شرایط تنش افـزایش مـی یابـد و این فعالیت در ژنوتیپ‌های مقـاوم نـسبت بـه گیاهـان حـساس بیشتر می باشد. به عنوان تایید، در این مطالعه فعالیت آنزیم‌های آنتی اکـسیدانی در ژنوتیـپ‌هـای لیکـورد و SLM046 افـزایش داشت که نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها از مقاومت بیشتری نسبت بـه خـشکی برخـوردار هـستند. هـم چنـین فعالیـت آنـزیم هـای آسکوربیک پراکسیداز و پراکسیداز در ژنوتیپ مودنا نـسبت بـه بقیه ژنوتیپ‌ها کمتر بود که ناشی از حساسیت این ژنوتیـپ بـه تنش خشکی و توانایی پایین سیستم دفاعی این ژنوتیپ در برابر تنش خشکی می‌باشد. آنزیم آسـکوربیک پراکـسیداز در حـذف پراکـسید هیـدروژن توسـط چرخـه آب- آب و ASH-GSH و استفاده از ASH به عنوان دهنده الکترون نقـش اساسـی دارد. از آنجا که آسکوربیک پراکـسیداز بـا کمـک اسـید آسـکوربیک باعث حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن می شود، بـالاتر بـودن فعالیت این آنزیم به معنـی حـذف بیـشتر رادیکـال‌هـای 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 می باشد که به‌واسـطه دیـسموتاسیون رادیکـال آزاد سوپراکـسید کاتـالیز شـده توسـط سـوپر اکـسید دیسموتاز تولید می‌شود (۸). تفـاوت ناشـی از فعالیـت آنـزیم پراکسیداز در ژنوتیپ‌های کلزای بیانگر تفاوت پتانـسیل دفـاعی ژنوتیپ‌های مختلف کلزا در حذف پراکسید هیدروژن و مقابلـه آنها با تنش‌های خشکی است.

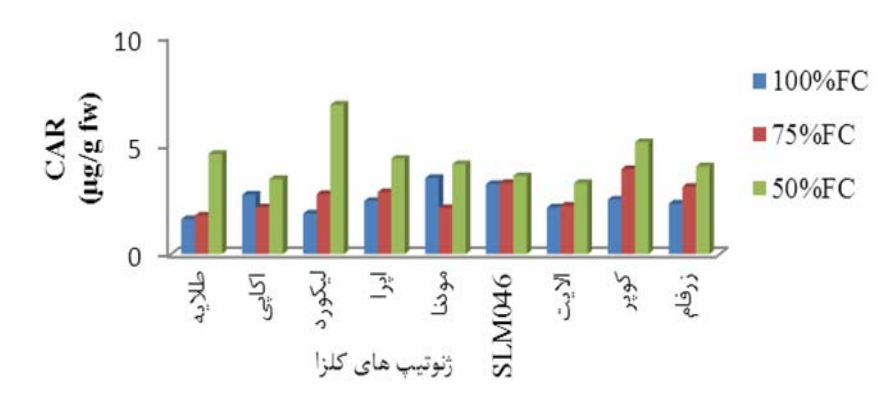
آنـزیم گلوتـاتیون ردوکتـاز نیـز نقـش اساسـی در حـذف گونه‌های فعال اکسیژن توسط چرخـه آسـکوربات- گلوتـاتیون دارد (۳) که در این تحقیق بین سطوح شوری تفاوت معنی‌داری دیده نشد اما، اثر متقابل تنش خشکی و ژنوتیپ‌ها معنی دار شد که نشان‌دهنده تنوع فعالیت ایـن آنـزیم در ژنوتیـپ‌هـای مـورد بررسی در سطوح مختلف تنش خشکی است. از نتایج به دست آمده افزایش میزان کارتنوئید می‌باشد که از سیستم های آنتـی اکسیدانی غیر آنزیمی و باعث افزایش مقاومت گیـاه بـه تـنش می‌شود که در ژنوتیپ لیکـورد بـالاترین میـزان کارتنوئیـد در سطح ۵۰٪FC دیده شد.

برید مایر (۹) گـزارش کـرد کلروفیـل در تـنش خـشکی نسبت بـه گیـاه شـاهد در ذرت و گنـدم بیـشتر اسـت. تـنش خشکی باعث افـزایش محتـوای کلروفیـل در ژنوتیـپ هـای مورد بررسی گردید که به نظـر مـی‌رسـد ایـن افزایـش در شرایـط تـنش خـشکی باعـث افـزایش شـدت تـأثیر تـنش

شکل۳. 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 کارتنوئید در ژنوتیپ‌های کلزا در سطوح مختلف خشکی

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 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

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

سپاسگزاری

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

منابع مورد استفاده

1. Ahmadi, M. and F. Javidfar. 1999. Plant Nutrition Oilseed Rape. Publishing Co. of certain oil seeds cultivars, Tehran, Iran.
2. 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
3. Asada, K. and M. Takahashi. 1987. Production and scavenging of active oxygen in chloroplasts. *Journal Elsevier* Amsterdam 25: 227 -287
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. Dehshiri, A. 2009. *Brassica napus* L. crop. *Extension of the Office programs.* P 65. (In Farsi).
8. Fadzilla, N and R. H. Finch. 1997. Oxidative stress and antioxidant responses in shoot cultures of rice. *Journal of Experimental Botany* 48 :325–331.
9. 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
10. 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
11. Grattan, S. R. and C. Grieve. 1999. Salinity- mineral nutrient relations in horticultural crops. *Scientia Horticulturae* 78:127-157
12. Halliwell, B. 1982. The toxic effects of oxygen on plant tissue. *In*: Oberley(Ed.), Superoxide Dismutase. CRC press Inc., Boca Raton, USA.
13. Hopkins, W.G. and N.P.A. Hopkins. 2004. Introduction to Plant Physiology. John Wiley & Sons Pub., New Jersey.
14. 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.
15. Kimber, D. and D. A. McGregor. 2000. *Brassica napus* L. *Mashhad University Jahad Publications*. P230. (In Farsi).
16. Mendham, N.J. and P.A. Salisbury. 1995. Production and development, growth and yield in *Brassica* oilseeds. *Crop* 45: 11-64.
17. Mittler, R. 2006. Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Plant Science* 11: 15-19.
18. 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.
19. Nakano, Y. and K. Asada. 1992. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology* 22: 867–880.
20. 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.
21. 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.
22. Sairam, R.K. 2000. Induction of oxidative stress and antioxidant activity by hydrogen peroxide trearment in tolerant and susceptible wheat genotypes. *Biologia Plantarum* 43:381-386.
23. 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)
24. Shirani Rad, A. H. and A. Dehshiri. 2003. *Brassica napus* L. guide. *Dissemination of Agricultural Education*. P9. (In Farsi).
25. Sung, J. M. 1996. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging in soybean seeds during aging. *Physioligia Plantarum* 97: 85-89