نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد 31، شماره 3، پاییز 1396، ص. 598-590
شاپا: 4730 - 2008

Journal of Horticultural Science
Vol. 31, No. 3, Fall 2017, P. 590-598
ISSN: 2008 - 4730

تأثیر سطوح مختلف کم‌آبی بر برخی صفات بیوشیمیایی دو گونه گل جعفری آفریقایی و فرانسوی

سید موسی موسوی[1] - مهرانگیز چهرازی[2*] - اسمعیل خالقی[3]

تاریخ دریافت: 1395/08/05
تاریخ پذیرش: 1395/12/10

چکیده

با عنایت به کاهش نزولات جوی و پراکنش نامناسب بارندگی در طول سال، پدیده خشکی، یکی از معضلات فضای سبز شهری به شمار می‌رود. در واقع تنش خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی می‌باشد که در مراحل مختلف رشد و نمو گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. به‌منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف کم‌آبی بر سیستم آنتی‌اکسیدان و پراکسیداسیون چربی در گل جعفری، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با 3 تکرار در دانشگاه شهید چمران اهواز در سال 1393 به اجرا درآمد. تیمارهای آزمایش شامل آبیاری در 3 سطح ETcrop 100 درصد (بدون تنش)، 75ETc درصد (تنش متوسط) و 50ETc درصد (تنش شدید) و ارقام گل جعفری آفریقایی و فرانسوی بود؛ در این پژوهش فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز) ، غلظت مالون دی آلدهید و رنگیزه های فتوسنتزی، 63 روز پس از اعمال تیمار اندازه‌گیری شدند؛ که طبق نتایج: تیمار آبیاری تاثیر معناداری بر کلروفیل a، b ، کل، شاخص محتوی کلروفیل ، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و غلظت مالون دی آلدهید داشت. در حالیکه تفاوت معناداری بین دو گونه از گل جعفری بر هر یک از شاخص های اندازه گیری شده وجود نداشت. همچنین نتایج نشان داد میزان کلروفیل a و کلروفیل کل با افزایش تنش خشکی کاهش یافت، نتایج فعالیت آنزیمی نیز مشابه رنگیزه های فتوسنتزی و شاخص محتوی کلروفیل تحت تاثیر تنش خشکی، کاهش نشان داد. در کل طبق این پژوهش بین سطوح مختلف تیمار آبیاری از نظر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، غلظت مالون دی آلدهید، کلروفیل a، کلروفیل کل و غلظت کلروفیل تفاوت معنادار آماری وجود داشت به‌گونه‌ای که با کاهش مقدار آبیاری بر فعالیت آنزیم کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و غلظت مالون دی آلدهید افزوده شد و میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی کاهش یافت. هرچند که تفاوتی بین دو گونه گل جعفری و اثر متقابل بین گونه و سطوح آبیاری از نظر شاخص‌های اندازه‌گیری شده به‌جز کلروفیل کل و کلروفیل b وجود نداشت.

واژه‌های کلیدی: آبیاری، آنزیم، تنش خشکی، تنش اکسیداتیو، مالون دی آلدهید

مقدمه

گل جعفری با نام علمی *Tagetes* spp (آفریقایی *T. erecta* L؛ و فرانسوی *T. patula* L.) متعلق به خانواده آستراسه می‌باشد که به‌عنوان گیاهی فصلی و یک‌ساله در فضای سبز مورد استفاده قرار می‌گیرد (18). روش تکثیر آن از طریق بذر بوده و pH مناسب محیط کشت آن 6/5-6 می‌باشد. با عنایت به کاهش نزولات جوی و پراکنش نامناسب بارندگی در طول سال پدیده خشکی یکی از معضلات فضای سبز شهری به شمار می‌آید. درواقع تنش خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی می‌باشد که در مراحل مختلف رشد و نمو گیاه مانند مرحله جوانه‌زنی، استقرار گیاه چه و تولید محصول را تحت تأثیر قرار می‌دهد (5). در اثر تنش خشکی، فعالیت‌های فتوشیمیایی گیاه متوقف شده و محتوای کلروفیلی برگ تغییر می‌کند همچنین فعالیت آنزیم‌های چرخه کالوین در فرآیند فتوسنتز تحت تنش خشکی کاهش می‌یابد (32). تنش خشکی باعث تولید اکسیژن فعال همراه با کاهش و تجزیه کلروفیل می‌شود که در طی تنش،کلروفیل ها در کلروپلاست تجزیه و ساختارهای تیلاکوئید ناپدید می‌گردند (26) بر اساس نظر اسچوتز و فنگ میر (2001) کاهش میزان کلروفیل در اثر تنش خشکی مربوط به افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن آزاد در سلول می‌باشد. این رادیکال‌های آزاد

1، 2 و 3- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد و استادیاران گروه علوم باغبانی، دانشگاه شهید چمران اهواز
(*- نویسنده مسئول: (Email: chehrazi _m@yahoo.com
DOI: 10.22067/jhorts4.v31i3.59172

سبب پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه این رنگیزه می‌شوند و باکاهش میزان کلروفیل تغییرات زیادی در مقدار تولید در گیاهان به وجود می‌آید (40) همچنین تنش خشکی تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)مانند پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، رادیکال‌های سوپر اکسید ($O_2^{\bullet-}$)و هیدروکسید ($OH^{\bullet}$) را افزایش داده که تجمع آن‌ها در سلول می‌تواند منجر به تنش اکسیداتیو شود (31). در غیاب هرگونه مکانیسم حفاظتی، ROS می‌تواند از طریق آسیب اکسیداتیو به لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک، متابولیسم طبیعی سلول را مختل کرده و به غشا سلولی آسیب رساند که درنهایت، موجب مرگ سلولی می‌شود (35). یکی از اثرات بارز رادیکال‌های آزاد اکسیژن بر سلامت سلول‌ها، تخریب غشاهای سلولی می‌باشد مالون دی آلدهید تحت تأثیر تخریب و پراکسیده شدن غشا سلولی آزادشده پس می‌تواند بیانگر میزان تخریب غشا سلولی باشد (7). به‌منظور خنثی کردن ROSدر گیاه سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی مانند سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POD)، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX) فعال می‌شوند (12). پاسخ آنتی‌اکسیدانی، فرآیندی مهم برای محافظت گیاهان در مقابل آسیب‌های اکسیداتیوی است که در اثر طیف وسیعی از تنش‌های محیطی شامل شوری، خشکی، فلزات سنگین و سرما ایجاد می‌شود (31). مقاومت گیاه به تنش های مختلف محیطی ممکن است با سطح فعالیت آنزیم‌های مسئول به دام انداختن رادیکال‌های آزاد اکسیژن مرتبط باشد (30). پاسخ آنتی‌اکسیدان‌ها به کمبود آب، به‌شدت تنش و نوع گونه گیاهی بستگی دارد. گونه های گیاهی مقاوم معمولاً ظرفیت حفاظتی کارآمدتری در مقابل تنش اکسیداتیو القاشده توسط تنش کم‌آبی دارند که می‌تواند از طریق بالا بردن میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان افزایش پیدا کند (22). ارتباط بین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و بالا رفتن مقاومت گونه‌های گیاهی تحت تنش‌های محیطی در چندین گونه گیاهی مانند برنج تأیید شده است (19). با عنایت به اثرات تنش کم‌آبی بر میزان کلروفیل و غلظت آن و درنتیجه کاهش میزان فتوسنتز و بیومس گیاه و همچنین نبود اطلاعات کافی در خصوص تأثیر تنش کم آبی بر فعالیت های آنزیم های آنتی‌اکسیدانی در مورد گیاهان زینتی، پژوهشی باهدف بررسی تأثیر تنش کم‌آبی بر میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پراکسیداسیون چربی، کلروفیل a، b، کلروفیل کل و شاخص محتوی کلروفیل برگ دو گونه از گل جعفری (آفریقایی و فرانسوی) جهت انتخاب گونه برتر انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز در سال 1393 به اجرا درآمد. سه رژیم مختلف آبیاری (100 شاهد، 75 و 50 درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه (ETcrop)) و دو گونه از گل جعفری (فرانسوی و آفریقایی) به عنوان تیمارهای آزمایش در نظر گرفته شد (2 و 24). در این آزمایش بذور دو گونه از گل جعفری (آفریقایی و فرانسوی) درون سینی‌های کشت با بستر کوکوپیت کشت گردید. بستر کشت مورد استفاده در این آزمایش شامل ماسه، کود حیوانی کاملاً پوسیده و خاک مزرعه با نسبت مساوی (1:1:1) بود (خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک در جدول 1 آمده است) پس از انتقال نشا، به منظور سازگاری گیاهان با محیط به مدت سه هفته بطور کامل آبیاری صورت گرفت. سپس گیاهان به مدت دو ماه با توجه به میزان تبخیر و تعرق صورت گرفته توسط گیاه تحت رژیم های آبیاری 100(شاهد)، 75 و 50 درصد تبخیر و تعرق گیاه (ETc) قرار داده شدند (2 و 27) و در پایان آزمایش فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، غلظت کلروفیل و همچنین میزان غلظت مالون‌دی آلدهید برگ اندازه‌گیری شد و به‌منظور تجزیه‌و تحلیل آماری داده‌ها، از نرم‌افزار MSTATC و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح 5 درصد استفاده گردید.

جدول 1- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

Table 1- Selected physical and chemica charactristics of the studied soil.

بافت خاک Soil texture	رس Clay (%)	سیلیت Silty (%)	شن Sand (%)	عمق نمونه Samplingdepth (cm)	اسیدیته خاک Soil acidity	نیتروژن N (%)	پتاسیم P (mg/kg)	فسفر P (mg/kg)	کلر CL (mg/l)	ماده آلی Organic matter (%)	هدایت الکتریکی EC (ds/m)
Sand clay	7.5	6.5	84	0-30	7.08	0.088	194.4	8	910	4.9	1.63

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT; EC 1.11.1.6) بر اساس کاهش جذب در طول موج 240 نانومتر به‌واسطه کاتابولیزه شدنH_2O_2 طبق روش پیشنهاد شده بیرز و سیزر (1952) اندازه‌گیری شد. فعالیت این

آنزیم برحسب میکرومولار H_2O_2 در دقیقه در هر میلی‌گرم پروتئین و ضریب خاموشی $39/4 mM^{-1}cm^{-1}$ گزارش شد.

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم پر اکسیداز (POX)

فعالیت آنزیم پراکسیداز (POX, EC 1.11.1.7) بر اساس کاهش جذب در طول موج 470 نانومتر به روش همدا و کلین (1990) اندازه‌گیری شد (20).

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز (APX)

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX, EC 11, 1, 11, 1) استخراج شده از عصاره برگی بر اساس کاهش جذب در طول‌موج 290 نانومتر به روش ناکانو و اسدا (1987) اندازه‌گیری شد (33).

اندازه‌گیری غلظت مالون‌دی آلدهید (MDA)

میزان آسیب غشا توسط اندازه‌گیری میزان مالون دی آلدهید (MDA)به‌عنوان محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدهای غشا تخمین زده شد. غلظت مالون‌دی آلدهید طبق روش واکنش تیوباربیتوریک اسید (TBA) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری کلروفیل

جهت اندازه گیری کلروفیل به روش پیشنهادی آرنون (1967)، 0/1 گرم از بافت گیاهی توزین و با 5 میلی‌لیتر استون 80 درصد در هاون چینی ساییده شد سپس مخلوط همگن به‌دست‌آمده را درون فالکن ریخته و با اضافه کردن استون 80 درصد حجم عصاره به 10 میلی‌لیتر رسانده شد، پس ازآن نمونه ها به مدت 20 دقیقه، در سانتریفیوژ با دور 5000 قرار داده شدند و در آخر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Shimadzu-1201 میزان جذب روشناور در طول‌موج‌های 663 و 645 قرائت گردید. محاسبه میزان کلروفیل کل از رابطه زیر صورت گرفت همچنین به‌منظور اندازه‌گیری شاخص محتوی کلروفیل از دستگاه کلروفیل‌متر (SPAD-502) استفاده گردید (3).

Chlorophyll a (mg/g fresh weight)=(12.7 A663)–(2.69 A645)/W×V

Chlorophyll b (mg/g fresh weight)=(22.9 A645) –(4.68 A663)/W ×V

Chlorophyll a+b (mg/g freshweight)=(20.08A645)+(8.02A663)/W×V

V= حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)

A= جذب نور در طول موج‌های 663، 645 و 470 نانومتر

W= وزن تر نمونه بر حسب گرم

نتایج و بحث

1- آنزیم کاتالاز

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که (جدول 2) بین سطوح مختلف آبیاری ازنظر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح 5 درصد تفاوت معنی‌داری وجود داشت درحالی‌که بین دو گونه گل جعفری تفاوت معنادار آماری مشاهده نشد همچنین اثر متقابل رقم و آبیاری بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز مؤثر نبود. با عنایت به جدول مقایسه میانگین (جدول 3) بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار آبیاری 50ETc درصد (تنش شدید) مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری را با تیمار 100ETc درصد (بدون تنش) داشت و کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز مربوط به تیمار شاهد (100ETc درصد) (23×10^{-8} میکرومول پراکسید هیدروژن در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) بود. درواقع با کاهش 50 درصد آب از حالت نرمال 3/13 برابر فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافت. ایلکایی و همکاران (2010) در رابطه با تأثیر تیمار آبیاری بر فعالیت آنزیم کاتالاز، نشان دادند که افزایش تنش خشکی باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد (15). محققین معتقدند که در شرایط تنش، در گیاه، غلظت آنزیم کاتالاز با هدف تجزیه پراکسید هیدروژن و افزایش تحمل در مقابل رادیکال‌های فعال اکسیژن افزایش می یابد. آنزیم کاتالاز به‌عنوان یک آنزیم محافظتی در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانت باعث تجزیه پر اکسید هیدروژن شده و افزایش فعالیت آن در گندم پس از قرار گرفتن در معرض خشکی، گزارش شده است به طوری‌که ارقام حساس به خشکی فعالیت بیشتری نشان دادند (41). پژوهش‌ها در مورد چمن پوآ نشان داد که با افزایش تنش خشکی فعالیت آنزیم CAT در ابتدا افزایش و سپس کاهش پیدا می‌کند (17). همچنین گزارشاتی حاکی از آن است که کاهش فعالیت آنزیم CAT منجر به تجمع پراکسید هیدروژن شده که این ماده می‌تواند با سوپر اکسید برای تولید رادیکال های آزاد هیدروکسیل واکنش دهد (10). مک کریسی و کندال (1989) و کافی و همکاران (2000) گزارش کردند که افزایش فعالیت کاتالاز جهت کاهش اثرات پراکسیداز در هنگام تنش‌های محیطی در گیاهان گندم، جو، سویا و نخود نقش مهمی دارد (30 و 24). نتایج ساعی و همکاران (2005) بر روی سورگوم علوفه‌ای نشان داد که فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر تنش خشکی نسبت به شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت که نتایج ما با آن آزمایش نیز مطابقت داشت (39).

2- آنزیم پراکسیداز

نتایج نشان داد که بین دو گونه گل جعفری ازنظر میزان آنزیم پراکسیداز تفاوت معنادار آماری وجود داشت. همچنین برهمکنش تیمار آبیاری در گونه نیز بر میزان آنزیم پراکسیداز مؤثر نبود (جدول 2). با عنایت به جدول مقایسه میانگین (جدول 3) مشخص شد

بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار آبیاری 50 درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه و کمترین فعالیت این آنزیم در تیمار آبیاری 100 درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه به دست آمد هرچند که تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تأثیر سطوح مختلف آبیاری مشاهده نشد. امینی و همکاران نشان دادند که تنش کم‌آبی در گیاه جو، موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های APX،SOD، CATو POD شد و همچنین بیان کردند در بین آنزیم‌های مورد ارزیابی، آنزیم POD مهم‌ترین آنزیم برای افزایش مقاومت گیاه جو در مقابل تنش اکسایشی ناشی از کم‌آبی می‌باشد و گزارش کردند که فعالیت آنزیم POD در گیاه گندم با افزایش سطح تنش افزایش یافته است (1). همچنین در چمن پوآ گزارش‌شده است که با پیشرفت خشکی، فعالیت آنزیمPOD در ابتدا افزایش و سپس کاهش پیدا کرد (17). آنزیمPOD نقش کلیدی در سم‌زدایی H_2O_2، حذف مالون دی آلدهید و حفظ ثبات و پایداری دیواره سلولی بازی می‌کند (21).

جدول 2- تجزیه واریانس اثر تیمار آبیاری و رقم بر صفات بیوشیمیایی دو گونه گل جعفری آفریقایی و فرانسوی

Table 2- Analysis of variance effect of irrigation and species on biochemical traits of of two species Tagetes erecta and Tagetes patula

		میانگین مربعات Mean of Squares (MS)			
منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate Peroxidase	مالون دی آلدهید Malondialdehyde	کاتالاز Catalase	پراکسیداز Peroxidase
بلوک Block	2	2.71×10^{-11} ns	0.0021 ns	3.175×10^{-11} ns	9.734×10^{-10} ns
آبیاریIrrigation	2	1.49×10^{-9} **	0.021 **	3.87×10^{-11} *	1.733×10^{-9} ns
گونهSpecies	1	3.89×10^{-11} ns	0.0096 ns	9.90×10^{-12} ns	3.892×10^{-11} ns
گونه×آبیاری Irrigation× Species	2	1.620×10^{-9} ns	0.0041 ns	3.37×10^{-10} ns	1.920×10^{-9} ns
خطا Error	10	9.4×10^{-12}	0.00025	4.48×10^{-13}	2.7×10^{-11}
(C.V%)		11.82	14.64	16.8	14.9

ns، * و **: به ترتیب تفاوت غیر معنادار و معنادار در سطح 5و 1 درصد

n.s ,*, **: non-significant and Significant at 1and 5% , respectively

ادامه جدول2- تجزیه واریانس اثر تیمار آبیاری و رقم بر صفات بیوشیمیایی دو گونه گل جعفری آفریقایی و فرانسوی

Continued Table 2- Analysis of variance effect of irrigation and species on biochemical traits of two species Tagetes erecta and Tagetes patula

		میانگین مربعات Mean of Squares (MS)				
منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	کلروفیلa Chlorophyll (a)	کلروفیلb Chlorophyll (b)	کلروفیل کل Chlorophyll (Total)	غلظت کلروفیل Chlorophyll concentration	کلروفیل کل Chlorophyll (Total)
بلوکBlock	2	0.09 *	0.01 ns	0.006 ns	50.75 ns	0.006 ns
آبیاریIrrigation	2	1.48 **	0.5 *	0.489 **	117.55 *	0.489 **
گونهSpecies	1	0.03 ns	0.02 ns	0.219 **	37.78 ns	0.219 **
گونه×آبیاری Irrigation× Species	2	0.51 **	0.1 ns	0.061 ns	6.23 ns	0.061 ns
خطاError	10	0.01	0.0072	0.013	23.3	0.013
(C.V%)		15.96	11.81	21.08	14.41	21.08

ns، * و **: به ترتیب تفاوت غیر معنادار و معنادار در سطح 5و 1 درصد

n.s ,*, **: non-significant and Significant at 1and 5% , respectively

3- آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز

با توجه به جدول 2، بین سطوح مختلف آبیاری از نظر آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز تفاوت معناداری در سطح 1 درصد مشاهده شد درحالی‌که بین دو گونه از گل جعفری و برهمکنش گونه در آبیاری تفاوت معناداری وجود نداشت. کمترین و بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات به ترتیب مربوط به تیمارهای آبیاری کامل (شاهد) و 50 درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه (50ETc درصد) بود. با کاهش مقدار آب آبیاری از 100ETc درصد به 50ETc درصد میزان فعالیت

آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز به میزان 3/81 برابر افزایش یافت. در مطالعه مشابهی گزارش شده است که تحت شرایط شدید تنش خشکی، رقم مقاوم به خشکی گندم فعالیت بالاتری از آسکوربات پراکسیداز را در مقایسه با رقم حساس به خشکی نشان داد (29). در بررسی انجام شده روی چمن پوآ مشخص شد که فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در مواجه شدن با تنش خشکی افزایش یافت (8)؛ که نتایج ما با آن نیز مطابقت داشت. پژوهش ها نشان داد که گلوتاتیون و اسکوربات از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های محلول در آب می‌باشند که در اکثر اندامک‌های سلول حضور دارند (41). این آنتی‌اکسیدان‌ها توانایی واکنش مستقیم با رادیکال‌های فعال اکسیژن نظیر سوپراکسید و هیدروکسیل را داشته و آن‌ها را جمع‌آوری می‌کنند (31). در واقع آنزیم آسکوربات پراکسیداز از طریق سیکل آسکوربات - گلوتاتیون باعث متابولیزه شدن H_2O_2 می‌شود. همچنین سایر پژوهش‌ها حاکی از آن است که نسبت احیا به اکسید آنتی‌اکسیدان‌های گلوتاتیون و اسکوربات بیانگر وضعیت سلول در شرایط تنش است به‌طوری‌که هرچه این نسبت بیشتر باشد سلول از پتانسیل ردوکس مطلوبی برخوردار بوده و مکانیسم‌های تدافعی آن در شرایط تنش بهتر عمل می‌کند (9). آنتی‌اکسیدان‌های محلول در آب گلوتاتیون و آسکوربات در چرخه‌های بسیار مهمی نظیر گلوتاتیون-آسکوربات (14)، مهلر (4) و گزانتوفیل (23) حضور دارند. آنتی‌اکسیدان‌های مذکور به‌عنوان کوفاکتور آنزیم‌های درگیر در این چرخه‌ها عمل می‌کنند به‌عبارت‌دیگر فرم احیای این آنتی‌اکسیدان‌ها پتانسیل هیدروژن لازم برای احیای کامل پراکسید هیدروژن را در چرخه‌های گلوتاتیون‌آسکوربات و مهلر تأمین می‌کنند همچنین فرم احیا آنتی‌اکسیدان‌های محلول در آب مذکور در چرخه گزانتوفیل هیدروژن لازم برای احیا کامل اکسیژن اتمسفری و تبدیل آن به آب نقش بسیار مؤثری دارند. هرگاه آنتی‌اکسیدان‌های اسکوربات و گلوتاتیون کاهش یابند و یا نسبت احیا به‌کل آن‌ها در حد پائین باشد سبب کاهش کارایی مکانیسم‌های مذکور شده و انواع اکسیژن فعال تجمع می‌یابد (16).

جدول 3- مقایسه میانگین اثر سطوح آبیاری بر برخی صفات بیوشیمیایی دو گونه گل جعفری آفریقایی و فرانسوی

Table 3- Comparison of mean effect of level irrigation on some biochemical traits of two species Tagetes erecta and Tagetes patulA

آبیاری Irrigation	پراکسیداز Peroxidase (uM H_2o_2 $min^{-1}mg^{-1}$ Pro)	کاتالاز Catalase (uM H_2o_2 $min^{-1}mg^{-1}$ Pro)	مالون دی آلدهید Malondialdehyde (nM g^{-1} F W)	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate Peroxidase (uM H_2o_2 $min^{-1}mg^{-1}$ Pro)
100%ET_C	19×10^{-6} b	23×10^{-8} b	0.495 b	11×10^{-6} b
75%ET_C	30×10^{-6} ab	35×10^{-8} ab	0.1065 ab	25×10^{-6} ab
50% ET_C	53×10^{-6} a	72×10^{-8} a	0.1683 a	42×10^{-6} a

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف یکسان بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح 5 درصد معنادار نیستند.

Means followed by the same letter are not significantly different (P<0.05) based on Duncan's multiple range test.

ادامه جدول 3- مقایسه میانگین اثر سطوح آبیاری بر برخی صفات بیوشیمیایی دو گونه گل جعفری آفریقایی و فرانسوی

Continued Table 3- Comparison of mean effect of level irrigation on some biochemical traits of two species Tagetes erecta and Tagetes patulA

آبیاری Irrigation	کلروفیلa Chlorophyll (a) (mg/ g^{-1} F W)	کلروفیلb Chlorophyll (b) (mg/ g^{-1} F W)	غلظت کلروفیل chlorophyll concentration	کلروفیل کل Chlorophyll (Total) (mg/ g^{-1} F W)
100%ET_C	1.308 a	0.838 a	38.192 a	1.085 a
75%ET_C	0.760 b	0.535 ab	32.875 ab	0.760 b
50% ET_C	0.314 c	0.258 b	29.403 b	0.515 c

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف یکسان بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح 5 درصد معنادار نیستند

Means followed by the same letter are not significantly different (P<0.05) based on Duncan's multiple range test..

4- غلظت مالون‌دی آلدهید (MDA)

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که (جدول 2) مقدار آبیاری بر غلظت مالون دی آلدهید ، در سطح 1 درصد مؤثر بود درحالی‌که بین دو گونه از گل جعفری و برهمکنش گونه در آبیاری تفاوت معناداری وجود نداشت. طبق جدول مقایسه میانگین (جدول 3) بیشترین میزان مالون دی آلدهید در تیمار آبیاری 50 پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه و کمترین آن در تیمار آبیاری 100 پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه به دست آمد. به‌عبارت‌دیگر با کاهش مقدار آب بر غلظت مالون دی آلدهید

افزوده شد. این نتایج با گزارش های سیرام و همکاران مبنی بر افزایش مالون دی آلدهید در شرایط تنش خشکی مطابقت داشت (37). این محققین معتقدند زمانی که دفاع آنتی‌اکسیدانتی کاهش و یا تشکیل رادیکال های آزاد افزایش می یابند، تنش های اکسیداتیو پدید می‌آید که می‌توانند منجر به افزایش پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع لیپیدها، تخریب غشاء لیپیدها و درنتیجه تولید آلدهیدهای گوناگونی ازجمله مالون دی آلدهید شود. مالون دی آلدهید به عنوان یکی از محصولات اصلی اکسیداسیون غشا است که تجمع آن نشان دهنده اثرات مخرب رادیکال های آزاد اکسیژن می‌باشد و این بیومارکر با افزایش تنش خشکی افزایش می یابد (11). در تنش‌های کم‌آبی رادیکال‌های آزاد تولید شده که با دخالت و تغییر در فرایندهای بیولوژیک و تبدیل آن ها به فرایندهای غیرقابل کنترل، سبب تولید سلول‌های تخصصی جدید و خسارت به بخش‌های مختلف سلول (DNA، پروتئین ها و لیپیدها) می‌شوند که درنهایت میزان فتوسنتز را کاهش می‌دهند. پراکسیداسیون لیپیدهای غشا را می‌توان به‌عنوان نشانه‌ای از آسیب اکسیداتیو در نظر گرفت و اغلب از آن به‌عنوان شاخصی برای تعیین میزان آسیب وارده به غشا تحت تنش استفاده می‌شود (28).

5- رنگیزه های فتوسنتزی و شاخص محتوی کلروفیل

با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول 1) اثر سطوح مختلف آبیاری، بر مقدار رنگیزه های فتوسنتزی شاخص محتوی کلروفیل تأثیر معنی‌دار داشته و همچنین بین دو گونه از گل جعفری از نظر کلروفیل کل اختلاف معنی‌داری وجود داشت. برهمکنش آبیاری و گونه نیز فقط بر کلروفیل a موثر بود. طبق جدول مقایسه میانگین ها، کمترین میزان شاخص محتوی کلروفیل با مقدار 29/403 و کمترین میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل به ترتیب با مقدار 0/31467، 0/2585 و 0/5153 در تیمار 50ETc درصد و بیشترین میزان شاخص محتوی کلروفیل با مقدار 38/192 و بیشترین میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل به ترتیب با مقدار 1/30867، 1/0185، 1/0850 میلی‌گرم برگرم وزن تر برگ و در تیمار 100ETc درصد مشاهده گردید. فتوسنتز یکی از فرآیندهای مهم فیزیولوژیکی گیاه می‌باشد که دوام آن و حفظ کلروفیل برگ ازجمله شاخص‌های فیزیولوژیکی مقاومت به تنش می‌باشد (13). تنش خشکی باعث کاهش و تجزیه کلروفیل و همچنین تولید اکسیژن فعال می‌شود که در طی تنش، کلروفیل ها در کلروپلاست تجزیه و ساختارهای تیلاکوئید ناپدید می‌گردند (44) نتایج تحقیقات نشان داده است که تنش خشکی باعث ایجاد اختلال در سیستم‌های آنزیمی، کاهش‌دهنده فعالیت اکسیژن فعال و افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها و درنتیجه خسارت به غشای سلولی و تخریب رنگ‌دانه‌ها نیز می‌گردد همچنین کاهش میزان کلروفیل، می‌تواند به دلیل بازدارندگی مراحل مختلف بیوسنتز کلروفیل نیز باشد که نشان‌دهنده وسعت آسیب‌های اکسیداتیو است (3). پازکی (2001) با مطالعه تأثیر تنش آبی بر بخش نوری فتوسنتز و سیستم رنگیزه‌ای، به این نتیجه رسید که با افزایش شدت تنش آبی، روند تخریب رنگیزه‌های کلروفیل با سرعت بیش‌تری صورت می‌گیرد (36). پژوهشگران اظهار داشتند با افزایش فواصل آبیاری در گیاه آمارانتوس زینتی (25) و ذرت (34) شاخص کلروفیل کاهش یافت. طبق پژوهش‌ها آنزیم‌های کلروفیلاز و پراکسیداز از عوامل مؤثر در کاهش کلروفیل در شرایط تنش رطوبتی هستند همچنین ممکن است کاهش و تجزیه کلروفیل در شرایط طولانی مدت به دلیل کاهش جریان نیتروژن به بافت‌ها و فعالیت نیترات ردوکتاز باشد (38).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که تیمار آبیاری در تمام شاخص های اندازه‌گیری شده به‌جز آنزیم پراکسیداز تأثیر معنی‌دار داشته و بین دو گونه از گل جعفری فقط در صفت کلروفیل کل اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. درواقع با کاهش سطح آبیاری از 100ETc درصد به 50ETc درصد میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و غلظت مالون دی آلدهید افزایش و میزان کلروفیلa، کلروفیل b، کلروفیل کل و شاخص کلروفیل کاهش یافت.

منابع

1- Amini Z., Hadad R., and Moradi F. 2008. The effect of drought stress on antioxidant enzymes activity in reproductive growth stages (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 46, 74-65.

2- Arji A. 2003. Effects of drought stress on physiological characteristics, morphological and biochemical some olive varieties. Thesis Faculty of Agriculture. Tarbiat Modarres University, 213 p. (in Persian)

3- Arnon A. N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23,112-121.

4- Asada K. 2000. The water–water cycle as alternative photon and electron sinks. Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: *Biological Sciences*, 355(1402), 1419-1431.

5- Bacelar E. A., Santaos D. L., Moutinho-Pereira J. M., Lopes J. I., Goncalves B. C., Ferreira T. C., and Correia C. M. 2007. Physiological behavior, oxidative damage and antioxidative protection of olive trees grown under different irrigation regimes. *Plant Soil*, 292 (1-2), 1-12.

6- Ben Ahmed C., Ben Rouina B., Sensoy S., Boukhris M., and Ben Abdallah F. 2009. Changes in gas exchange, proline accumulation and antioxidative enzyme activities in three olive cultivars under contrasting water availability regimes. *Environmental and Exprimental Botany*, 67(2), 345-352.

7- Bhattacharjee S., and Mukherjee A. K. 2002. Salt stress induced cytosolute accumulation, antioxidant response and membrane deterioration in three rice cultivars during early germination. *Seed Science and Technology*, 30(2), 279-287.

8- Bian S., and Jiang Y. 2009. Reactive oxygen species, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in leaves and roots of Kentucky bluegrass in response to drought stress and recovery. *Scientia Horticulturae*, 120(2), 264-270.

9- Breusegem F.V., Vranova E., Dat J.F., and Inze D. 2001. The role of active oxygen species in plant signal transduction. *Plant Science*, 161(3), 405-414.

10- Cook D., Fowler S., Fiehn, O. and Thomashow, M. F. 2004. A prominent role for the CBF cold response pathway in configuring the low temperature metabolome of Arabidopsis. *Plant Biology*, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(42), 15243-15248.

11- Cunhua S., Joui-jie S., Dan W., Wei B., and Sun Dong L. 2011. Effects on physiological and biochemical characteristic of medicinal plant pigweed by drought stress. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(17), 4041-4048.

12- Dabrowska G., Kata A., Goc A., Hebda M.S., and Skrzypek E. 2007. Characteristics of the plant ascorbate peroxidase family. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 49(1), 7-17.

13- Draikewicz M. 1994. Chlorophylase occurrence functions, mechanism of action, effect of extra and internal factors. Phtosyth, 30, 321-337.

14- Edreva A. 2005. Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts: A submolecular approach. Agriculture, *Ecosystems and Environment*, 106(2), 119-133.

15- Eilkaei M. N., Habibi F., Paknejad F., Gol zardi F., Mohebbati M.A., Mashhadi akbar bojar, M. and Taleghani, F. 2010. The effects of foliar application of selenium on drought tolerance in different cultivars of red beans. *Agronomy and Plant Breeding*, 5 (2), 61-71. (in Persian)

16- Esfandiari A., Mahboob S., Shakiba M., and Lyary H. 2009. The role of the Treasury and proline in water-soluble antioxidants protect cell membranes in water stress. *Journal of Agricultural Science*, 19 (2), 139-147. (in Persian)

17- Fu, J. and Huang, B. 2001. Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. *Environment Experimental Botany*, 45(2), 105-114.

18- Ghasemi Ghehsareh, M., and Kafi M. 2010. *Practical potting, Practical potting*, Volume I, Tenth Edition, p. 55. (in persian)

19- Guo Z., Ou W., Lu S., and Zhong Q. 2006. Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. *Plant Physiology Biochemistry*, 44(11), 828-836.

20- Hemeda H.M., and Kelin B.P. 1990. Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetables extracts. *Journal of food Science*. 55(1), 184-185.

21- Hojati M., Modarres-Sanavy S. A. M., Karimi M., and Ghanati F. 2011. Responses of growth and antioxidant systems in Carthamus tinctorius L. under water deficit stress. *Acta Physiologia Plantarum*, 33(1), 105-112.

22- Hosseini Boldaji S. A., Khavari-Nejad R. A., Sajedi R. H., Fahimi H., and Saadatmand S. 2012. Water availability effects on antioxidant enzyme activities lipid peroxidation, and reducing sugar contents of alfalfa (*Medicago sativa L.*). *Acta Physiologia Plantarum*, 34(3), 1177-1186.

23- Jiang C. D., Gao H. Y., Zou, Q., Jiang G. M., and Li L. H. 2006. Leaf orientation, photorespiration and xanthophyll cycle protect young soybean leaves against high irradiance in field. *Environmental and Experimental Botany*, 55(1), 87-96.

24- Kafi M., and Mahdavi Damghani, a. 2000. *Mechanisms of resistance of plants to drought stress*. Press Ferdowsi University of Mashhad. The second edition, p 472. (in Persian)

25- Kamali M., Goldani M., and Farzaneh A. 2013. The effect of different irrigation regimes on growth parameters and photosynthesis and hydrogen peroxide in Amaranthus tricolor. *Journal of Soil and Water (Agricultural Science and Technology)*, 26(2), 309-318. (in Persian)

26- Kendall E. J., and McKersie B. D. 1989. Free radical and freezing injury to cell membrance of winter physiol. *Physiologia Plantarum*, 76(1), 86-94.

27- Khaleghi E., arzani K., Moalemi N., and barzegar M. 2014. Effect of kaolin on fluorescence and chlorophyll content in olive *(olea europaea L.)* cultivars under water stress conditions Dezful. Journal of Plant (*Journal of Agriculture*), 37 (2), 139-127. (in Persian)

28- Khan M. H., and Panda S. K. 2008. Alternations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars underNaCl-salinity stress. *Acta Physiologia Plantarum*, 30(1), 81-89.

29- Khanna-Chopra R., and Selote D. S. 2007. Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than -susceptible wheat cultivar under field conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 60(2), 276-283.

30- Mckersie B. D., Bowley S. R., Harjanto E., and Leprince O. 1996. Water-deficit tolerance and field performance of transgenic alfalfa overexpressing superoxide dismutase. *Plant Physiology*, 111(4), 1177-1181.
31- Mittler R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405-410.
32- Monakhova O. F., and Chernyadev I. I. 2002. Protective role of kartolin-4 in wheat plants exposed to soil drought. *Applied Environmental Microbiology*, 38(4), 373-380.
33- Nakano Y., and Asada K. 1987. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplast: its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant and Cell Physiology*, 28(1): 131-140.
34- Oneill P., Shanahan J.F., and Schepers J.S. 2006. Use of chlorophyll fluorescence differentiate corn hybrid response to variable water conditions. *Crop Science*. 46: 681-687
35- Ozkur O., Ozdemir F., Bor M., and Turkan I. 2009. Physiochemical and antioxidant responses of the perennial xerophyte *Capparis ovata* Desf to drought. *Environmental and Experimental Botany*, 66(3), 487-492.
36- Pazoki A. 2001. Evaluation and measurement of water stress on physiological traits and drought resistance indexes of two cultivars of rapeseed. Crop Physiology PhD thesis. Islamic Azad University, Science and Research Branch of Ahvaz. 258. (in Persian)
37- Sairam R., Rao K., and Srivastava C. 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science*, 163(5), 1037-1046
38- Salehi M., Kouchaki A., and Nasiri mahallati M. 1382. The amount of nitrogen and chlorophyll content as an indicator of drought stress in wheat. *Journal of agricultural research,* 1(2), 205-199.
39- Sayee M., Habibi D., Mashhadi akbar bojar M., Mahmoudi A., and Ardakani M.R. 2005. Determine the level of activity of antioxidant enzymes as a parameter in determining forage sorghum varieties resistant to drought stress. *Background papers of the International Conference on Life Sciences Iran*. (in Persian)
40- Schutz M., & Fangmeier A. 2001. Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Minaret) to elevated CO_2 and water limitation. Environmental Pollution, 114(2): 187-194.
41- Simova–stoilova L., Vaseva I., Grigorova B., Demirevska K., and Fel1er, U. 2010. Proteolytic activity and cysteine protease expression in wheat leaves under severe soil drought and recovery. *Plant physiology Biochemistry*, 48(2), 200-206.
42- Smirnoff, N. 2000. Ascorbic acid: Metabolism and functions of a multi-facetted molecule. *Current Opinion Plant Biologica*, 3(3), 229-235.
43- Stewart R.R.C., and Bewley J.D. 1980. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant Physiol*, 65(2), 245-248.
44- Xiao X., Xu X., and Yang F. 2008. Adaptive responses to progressive drought stress in two *Populus cothayana* populations. *Silva Fennica*, 42, 705-719.

Journal of Horticultural Science
Vol. 31, No. 3, Fall 2017, P. 590-598
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد 31، شماره 3، پاییز 1396، ص. 598-590
شاپا: 2008 - 4730

The Effect of Water Deficit Different Levels on Antioxidant System and Lipid Peroxidation in two Species *Tagetes erecta* and *Tagetes patu*la of Marigold

S. M. Mousavi[1]- M. Chehrazi[2*]- E. Khaleghi[3]

Received: 26-10-2016
Accepted: 280-02-2017

Introduction: With regard to decrease of precipitation and poor distribution of rainfall during the dry phenomenon of urban, green spaces face problems. In fact, one of the most important environmental stress is drought stress at different stages of plant growth such as seed germination, seedling establishment and crop production. The effect of drought stress, plants photochemical activity ceased Calvin cycle enzymes and chlorophyll content also varies in the process of photosynthesis under drought stress. Under drought stress, reactive oxygen species (ROS) such as hydrogen peroxide (H_2O_2), superoxide radicals ($O_2^{\bullet -}$) and hydroxide ($OH^{\bullet}$) increase their accumulation in cells that can lead to oxidative stress. To neutralize ROS, antioxidant enzymes systems in plant such as superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX) are active. The response of antioxidants depends on the lack of water, the intensity of the stress and the type of plant species. Also, it is well known that photosynthetic systems in higher plants are most sensitive to drought stress. Indeed, drought is one of the factors affecting photosynthesis and chlorophyll content. Some of researchers reported that chlorophyll might estimate influence of environmental stress on growth because these parameters were closely correlated with the rate of carbon exchange. The aim of this study was an investigation of effect of water deficit different levels on antioxidant system and lipid peroxidation in two species of marigold. Therefore, an experiment was carried out as factorial in a randomized complete block design with three replication at Shahid Chamran University of Ahvaz in 2014 year.

Materials and Methods: Experimental treatments were irrigation with three levels: 100% ETcrop (no stress), 75% ETcrop (moderate stress) and 50% ETcrop (severe stress) and two species of marigold (African and French). Catalase activity decreased absorption at a wavelength of 240 nm through catabolizing on the basis of H_2O_2 according to Beers and Sizer (1952). Peroxidase activity decreased absorption at a wavelength of 470 nm that was measured by using Hemeda and Kelin (1990). Ascorbate peroxidase enzyme extracted from leaf based on defects in the wavelength of 290 nm that was measured by Nakano and Asada (1987). The final product of membrane lipid peroxidation malondialdehyde concentration as the reaction thiobarbituric acid (TBA) was measured. Also, chlorophyll a, b and total chlorophyll were calculated by Arnon's equations and chlorophyll content index (C.C.I) was measured by chlorophyll content meter (SPAD-502).

Results and Discussion: Results of analysis of variance showed that irrigation treatment had significant effect on chlorophyll a, total chlorophyll (Chl a+b), chlorophyll content index and catalase peroxidase, ascorbate peroxidase enzymes activity and malondialdehyde while there was not significantly difference between two species of marigold on any of the measured biochemical characteristics. Also, results revealed that amount of leaf chlorophyll a and total chlorophyll (chl a+b) were reduced by increasing water deficit. In fact, amount of total chlorophyll, chlorophyll a, b and chlorophyll content index were higher in plants that were received 100% ETcrop than 75 and 50% ETcrop. ,The results of enzyme activity were similar to total chlorophyll and chlorophyll a and b. Amount of decreased chlorophyll a and total chlorophyll in plants were received 50% ETcrop were 24% and 47.46%, compared with 100% ETcrop, respectively.

Conclusion: Result showed that different levels of irrigation were significantly different at 5% level on catalase, peroxidase, ascorbate peroxidase enzymes activity and malondialdehyde concentration. Catalase, peroxidase, ascorbate peroxidase enzymes activity and malondialdehyde concentration were increased by reducing the amount of irrigation while there were no different between two species of marigold and interaction between species and irrigation was not effective on measured indexes.

Keywords: Drought stress, Enzymes, Irrigation, Malondialdehyde, Oxidative stress

1, 2 and 3- Graduated and Assistant Professors, Department of Horticultural Science, Shahid Chamran University of Ahvaz
(*- Corresponding Author Email: chehrazi _m@yahoo. com)