تغییرات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در گیاهان جوان برخی از ارقام زیتون (*Olea europaea*L.) در شرایط تنش خشکی

صمیرا احمدی پور*[۱]، عیسی ارجی[۲] و علی عبادی[۳]

[۱]دانش آموخته دکتری علوم باغبانی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

[۲]دانشیار بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران

[۳]استاد گروه علوم باغبانی دانشگاه تهران

*نویسنده مسئول: *ahmadipors@gmail.com*

چکیده

به منظور بررسی مقاومت به خشکی برخی از ارقام تجاری زیتون، آزمایش گلدانی در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در شهرستان گیلانغرب واقع در استان کرمانشاه در سال ۱۳۹۴ در هوای آزاد به اجرا در آمد. تیمارها شامل سه سطح آبیاری به میزان ۱۰۰ ٪(شاهد)، ۷۵٪ و ۵۰ ٪ ظرفیت مزرعه و سه رقم زیتون (زرد، آمیگدالولیا و کنسروالیا) بودند. در رقم کنسروالیا تحت تنش کم آبی آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز بالاتری نسبت به بقیه ارقام داشت. بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز در رقم کنسروالیا و تیمار ۵۰٪ آبیاری مشاهده شد. بیشترین میزان مالون‌دی‌آلدهید در تیمار ۵۰٪ آبیاری در رقم کنسروالیا مشاهده شد. به‌طورکلی واکنش سه رقم به تیمارهای آبیاری متفاوت بود و با توجه به پایین بودن مقدار مالون دی آلدهاید و نشت یونی و بالا بودن میزان آنزیم پراکسیداز و کاتالاز تحت تنش خشکی، بترتیب ارقام کنسروالیا، زرد و آمیگدالولیا تحمل بهتری به شرایط تنش داشتند. در واقع در آبیاری کامل، رقم زرد بهتر بود اما زمانیکه تحت شرایط تنش قرار گیرد رقم کنسروالیا بهتر از رقم زرد بود.

کلمات کلیدی: زیتون، تنش خشکی، مالون‌دی‌آلدهید، پراکسیداز، کاتالاز.

مقدمه

زیتون با نام علمی (*Olea europaea* L.,) معروف‌ترین و تنها گونه از تیره زیتون می‌باشد که دارای میوه خوراکی بوده Loumou and Giourga (2003). برای توسعه کشت زیتون یکی از مهمترین مسائل آن تامین آب مورد نیاز باغات زیتون می‌باشد. با توجه به خطر جدی خشکی و کمبود آب بویژه طی چند سال اخیر، اتخاذ روش‌های مناسب در بهره‌برداری بهینه از منابع آبی مورد نیاز می‌باشد که استفاده از ارقام مقاوم Arzani and Arji (2000) و تعیین زمانهای بحرانی آبیاری غلامی و همکاران(۱۳۹۵) از روش‌های صرفه‌جویی در مصرف آب می‌باشد. آب یکی از عوامل محدودکننده مهم برای تولیدکنندگان محصولات کشاورزی در مناطق خشک و نیمه خشک جهان می‌باشد. این ماده از لحاظ اقتصادی در بسیاری از مناطق جهان به خصوص مناطق خشک و نیمه خشک به یکی از منابع بسیار مهم تبدیل شده و همواره خطرات کمبود آب گریبان‌گیر ملت‌ها است و در حال حاضر در همه بخش¬های صنعتی به¬خصوص صنعت باغبانی نیاز به آب در حال افزایش است.

پاسخ فیزیولوژیک ارقام زیتون به کم آبیاری بر حسب مرحله رشدی، شدت تنش، نوع رقم و سایر عوامل‌های محیطی متغیر می‌باشد (Pierantozzi *et al*., 2013). افزایش میزان مالون دی آلدهاید در اثر تنش خشکی در ارقام زیتون گزارش شده است و مقدار افزایش بسته به رقم و مدت زمان تنش خشکی متغییر بود(Boughalleb and Mhamdi, 2011).

پراکسیداز و کاتالاز گروهی از آنزیم‌ها دفاعی بوده که در گیاهان در واکنش به تنش‌های زیستی و غیر زیستی تولید می‌شوند. این آنزیم‌ها معمولاً واکنش اکسیداسیون و احیا را بین پراکسید هیدروژن به عنوان گیرنده الکترون و برخی مواد دیگر مانند مواد فنلی، آمین-های آروماتیک، آسکوربیک اسید و سیتوکروم C کاتالاز می‌کند و به‌عنوان آنزیم سم‌زدایی مواد واکنشگر اکسیژن (ROS) عمل می‌کنند. برخی نتایج نشان داد که در اثر تنش خشکی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت به ویژه پراکسیدازها افزایش نشان دادند .همچنین نتایج آزمایش نشان داده که میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ‌های دانهال‌های زیتون تنش

IrHC2019

دیده به طور معنی‌داری افزایش داشت که این افزایش بین ارقام مورد مطالعه متفاوت بود(Jiang and Hung, 2001). با توجه به اینکه ارقام زرد، کنسروالیا و آمیگدالولیا جزء ارقام تجاری مناسب کشت در ایران هستند و تا کنون تحقیقات کمی در مورد مقاومت به خشکی در آنها صورت گرفته است. از این‌رو هدف این تحقیق، بررسی میزان تحمل گیاهان جوان ارقام زرد، آمیگدالولیا و کنسروالیا در برابر تنش خشکی شناخت دقیق‌تر مکانیزم‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیائی دخیل در این ساز و کار بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۴ درشرایط فضای آزاد در شهرستان گیلان غرب بلافاصله بعد از آخرین بارندگی (۲۰ اردیبهشت لغایت ۳۰ شهریور) به مدت ۱۲۰ روز در اقلیمی با متوسط حداقل دما ۹/۵ درجه سانتی گراد و متوسط حداکثر دمای سالانه ۴۰/۳ درجه سانتی گراد و متوسط دمای سالیانه ۲۱/۵ درجه سانتی گراد، به اجرا در آمد. ارتفاع محل از سطح دریا ۸۹۰ متر بود. مواد آزمایشی این تحقیق شامل نهال‌های یک ساله ارقام زیتون زرد، کنسروالیا و آمیگدالولیا بود. این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار و دو فاکتور (رژیم‌های آبیاری و ارقام زیتون) به انجام رسید. هر واحد آزمایشی شامل سه نهال بود. ابتدا نهال‌های سه رقم در گلدان‌های ۱۲ لیتری در مخلوطی از خاک زراعی، ماسه و کود حیوانی به نسبت۱: ۱ : ۱ کشت شدند. تیمارهای آبیاری شامل آبیاری ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی (شاهد)، ۷۵٪ و ۵۰٪ ظرفیت زراعی بودند.

به‌منظور آبیاری تیمارها بسته به دور آبیاری آنها، پس از توزین گلدان‌ها و همچنین نمونه گیری دوره‌ای از خاک میزان رطوبت خاک گلدان‌ها تعیین گردید. برای هر رقم تعداد ۴ گلدان شاهد مورد استفاده قرار گرفت که با روش وزنی نسبت به تعیین میزان تبخیر و تعرق آنها اقدام شد. هر ۳ روز یک بار گلدانهای شاهد قبل از آبیاری و ۴ ساعت بعد از آبیاری بمنظور تعیین میزان آب از دست رفته و همچنین میزان آب نگهداری شده توزین شدند و بر اساس تفاوت کاهش وزن نسبت به اعمال تیمارهای آبی اقدام گردید. در زمان پایان اعمال تیمارها، ویژگیهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی بترتیب اندازه‌گیری شدند. به‌منظور اندازه‌گیری مقدار نشت یونی در پایان دوره تنش نمونه‌های برگی تیمارهای مختلف جمع‌آوری و هم‌زمان نمونه‌های برگی جهت اندازه‌گیری و صفات بیوشیمیایی به فریزر منهای ۸۰ درجه سلسیوس منتقل شدند. به منظور ارزیابی دوام غشاء سلولی، نشت الکترولیت‌ها با استفاده از روش(2007)Korkmaz *et al.*, انجام گرفت. بدین منظور دیسک‌های برگی گرفته شدند. سپس دیسک‌ها در لوله آزمایش مخصوص به خود قرار گرفته و به هر کدام ۱۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر (۱۵۰rpm) قرار گرفتند و پس از آن هدایت الکتریکی نمونه ها با استفاده از EC متر قرائت شد(EC1). پس از آن نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و پس از خنک شدن دوباره EC نمونه‌ها قرائت شد(EC2). نشت الکترولیت‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه و بر اساس درصد بیان شد.

$$\text{نشت الکترولیت‌ها} = \frac{EC1}{EC2} \times 100$$

فعالیت آنزیم پراکسیداز طبق روش Herzog and Fahimi (1973) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتردر طول موج ۴۶۵ نانومترانجام شد. فعالیت آنزیم کاتالاز طبق روش(1984) Aebi با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتردر طول موج ۲۴۰ نانومترانجام شد. غلظت مالون دی آلدهاید طبق روش(1980) Stewart and Bewley با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در دو طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومترانجام شد. تجزیه و تحلیل آماری و تجزیه واریانس با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه ۹/۱ کارولینای شمالی) و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

مالون دی آلدهاید

غلظت مالون دی آلدهاید برگ در ارقام زیتون تحت تاثیر کم آبیاری قرار گرفت به‌طوری‌که میزان آن بین ارقام تحت تاثیر تنش خشکی در سطح ۵ ٪ متفاوت بود (جدول۱). بیشترین مقدار مالون دی آلدهاید بین ارقام در رقم آمیگدالولیا و کمترین مقدار آن در رقم کنسروالیا مشاهده شد. با افزایش تنش خشکی میزان مالون دی آلدهاید افزایش یافت به‌طوری‌که کمترین

IrHC2019

مقدار مالون دی آلدهاید مربوط به تیمار ۱۰۰ ٪ آبیاری و بیشترین مقدار مربوط به تیمار ۵۰ ٪ آبیاری بود. در این پژوهش نیز تحت تنش کم آبیاری میزان مالون دی آلدهاید افزایش پیدا کرد و مقدار افزایش بسته به رقم و مدت زمان تنش خشکی متغییر بود که با نتایج Boughalleb and Mhamdi (2011) مطابقت دارد.

پراکسیداز و کاتالاز

اثر متقابل رقم و تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز برگ در سطح ۵ ٪ معنی‌دار بود. از نظر میزان فعالیت پراکسیداز و کاتالاز بیشترین میزان فعالیت مربوط به رقم کنسروالیا و کمترین میزان فعالیت آن در رقم آمیگدالولیا، مشاهده شد. هر دو رقم کنسروالیا و زرد در آنزیم پراکسیداز در تیمار آبیاری ۷۵ ٪ هیچ تفاوتی نداشتند ولی در تیمار ۵۰ ٪ تفاوت معنی دار بود و هر دو رقم بهتر از رقم آمیگدالولیا بودند. در رقم کنسروالیا میزان پراکسیداز و کاتالاز در تیمار ۵۰ % بالاتر بود (جدول۱). هرچند رقم زرد از نظر میزان فعالیت آنزیمی کمتر از رقم کنسروالیا است و با توجه به اینکه از نظر میزان رشد رقم زرد بهتر است نشاندهنده این است که رقم زرد از مکانیزم‌های دیگری جهت مقابله با تنش استفاده می‌کند.

در اثر کمبود آب در گیاه، علاوه بر اینکه تغییرات فیزیولوژیکی در گیاه ایجاد می شود، صدمات اکسیداتیو نیز از عوامل مهم محدود کننده رشد در گیاهان می باشد که در اثر تنش خشکی ایجاد می شوند. گیاهان جهت مقابله با تنش خشکی از مکانیزم‌های آنزیمی، مانند افزایش میزان آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز استفاده می‌کنند که میزان فعالیت این آنزیم‌ها از شاخص‌های ارزیابی مقاومت به خشکی در گیاهان محسوب می‌شود. در تحقیقات مختلف نشان داده شده که بین میزان افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و مقاومت به تنشهای اکسیداتیو ارتباط مستقیمی وجود دارد. در ارقام مقاوم به خشکی، میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان بیشتر می باشد (Liu *et al.*, 2011). آنزیم پراکسیداز و کاتالاز در شرایط تنش خشکی انواع ترکیبات اکسیژن فعال را خنثی می کنند و ضمن بهبود پایداری غشاء سلولی به ادامه رشد گیاه تحت شرایط تنش کمک می کنند. به نظر می‌رسد که بیشتر بودن میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز در ارقام زیتون مقاوم به تنش کم آبی باعث کاهش صدمات ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن، کاهش پراکسیداسیون چربی‌ها و افزایش پایداری در غشاء سلولی می‌شود. فعالیت بیشتر این دو آنزیم از مقدار تنش اکسیداتیو می‌کاهد و از فرآیندهای ساخت و ساز در سلول گیاهی که ضامن بقای سلول و گیاه می‌باشند، محافظت می‌کند(Jiang and Hung, 2001).

نشت یونی

براساس نتایج بدست آمده (جدول۱) بین سطوح آبیاری از نظر میزان نشت یونی تفاوت معنی داری وجود داشت به‌طوری‌که تیمار ۵۰ ٪ آبیاری نسبت به تیمار ۱۰۰ ٪ آبیاری باعث افزایش درصد نشت یونی در برگ گردید. اثرات متقابل تیمارها نشان داد تحت تیمار تنش خشکی شدید میزان نشت یونی در رقم آمیگدالولیا بیشترین و در رقم زرد کمترین بود. از اینرو ارقامی که حفظ ساختار بالایی داشته باشند متحمل‌تر به شرایط تنش خشکی هستند. در شرایط تنش خشکی، ارقام حساس به تنش دارای ثبات غشاء سلولی کمتری نسبت به ارقام مقاوم به خشکی می¬باشند که با نشت یونی بیشتر در آنها مشخص می¬گردد. نشت یونی یکی دیگر از پارامترهایی است که به عنوان شاخصی از تخریب غشاء اندازه‌گیری می‌شود. تنش خشکی باعث صدمه به بسیاری از ترکیبات سلول مانند پروتیین‌ها و چربی‌ها می‌شود. نشت الکترولیتی در اثر تخریب غشاء سلولی و خروج یونها صورت می‌گیرد و میزان این صفت بیانگر میزان صدمه تنش خشکی به گیاه می‌باشد (Jiang and Hung, 2001).

IrHC2019

جدول۱- مقایسه میانگین اثرات متقابل رقم و تنش خشکی بر میزان کاتالاز، پراکسیداز و مالون دی آلدهاید در برخی ارقام زیتون

ارقام	رژیم‌های آبیاری	کاتالاز (units/mg)	پراکسیداز (units/mg)	مالون دی آلدهاید (nmol/g FW)	نشت یونی (٪)
زرد	۱۰۰ درصد	۱/۸۱۷ b c	۱/۱۹۷ e	۸/۷۴۰ d	۲۲/۲۹ d
	۷۵ درصد	۲/۱۹۰ b	۱/۶۹۰ bc	۱۰/۳۹ c	۲۴/۳۸ d
	۵۰ درصد	۲/۴۴۷ b	۱/۸۹۰ b	۱۱/۸۸ b	۲۸/۲۸ c
آمیگدا لولیا	۱۰۰ درصد	۱/۲۶۰ d	۰/۸۶۰۰ f	۱۱/۶۴ b	۲۴/۹۶ d
	۷۵ درصد	۱/۴۳۰ d	۰/۹۶۰۰ f	۱۲/۴۱ b	۲۷/۷۴ c
	۵۰ درصد	۱/۷۸۰ c	۱/۳۱۰ de	۱۳/۵۸ a	۳۰/۳۶ bc
کنسروا لیا	۱۰۰ درصد	۲/۲۲۰ b	۱/۵۰۰ cd	۷/۰۹۳ e	۳۰/۱۲ bc
	۷۵ درصد	۲/۵۲۳ b	۱/۷۵۰ b	۷/۹۰۰ de	۳۲/۶۲ b
	۵۰ درصد	۳/۱۳۰ a	۲/۲۰۰ a	۱۰/۵۷ c	۳۵/۲۷ a

اعداد با حروف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون دانکن دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ نمی باشند.

نتیجه گیری کلی

در این پژوهش مشخص شد ارقام زرد، کنسروالیا و آمیگدالولیا دارای تفاوت در تحمل به خشکی می‌باشند. بر اساس نتایج آزمایشات می توان نتیجه گیری کرد که ارقام زیتون کنسروالیا و زرد(رقمی بومی) در تیمار ۵۰ ٪ در مقایسه با رقم آمیگدالولیا به علت داشتن نشت یونی کمتر و نیز تولید مالون دی‌آلدهاید کمتر دارای مقاومت بیشتری در برابر تنش خشکی می‌باشند. هرچند رقم زرد در برخی صفات مانند میزان پراکسیداز و کاتالاز در برخی سطوح تنش نسبت به رقم کنسروالیا کاهش نشان داد و لیکن این کاهش نمی‌تواند نشان‌دهنده ضعف رقم زرد باشد زیرا این رقم از مکانیزم‌های دیگری برای مقاومت در برابر تنش استفاده می‌کند.

منابع

غلامی، ر.، ساریخانی، ح. و ارجی، ع. ۱۳۹۵. اثر کم آبیاری بر برخی ویژگیهای فیزیولوژیکی و زیست شیمیایی شش رقم تجاری زیتون در شرایط مزرعه. مجله علوم و فنون باغبانی ایران، ۱۷ (۱): ۵۲-۳۹.

Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. Methods in Enzymology 105:121-126. Boughalleb, F. and Mhamdi, M. 2011. Possible involvement of proline and the antioxidant defense systems in drought tolerance of three olive cultivars grown under increasing water deficit regimes. Agricultural Journal, 6(6): 371-391.

Herzog, V. and Fahimi, H. 1973. Determination of the activity of peroxidase. Annual Biochemistry, 55: 554-562.

Jiang, Y. and Hung, B. 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. Crop Science, 6: 436-442.

Korkmaz, A., Uzunlu, M. and Demirkiran, A. R. 2007. Acetyl salicylic acid alleviates chilling-induced damage in muskmelon plants. Canadian Journal of Plant Science, 87: 581-585.

Liu, C., Liu, Y., Guo, K., Fan, D., Li, G., Zheng, Y., Yu, L. and Yang, R. 2011. Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in six woody plant species in Karst habitats of southwestern China. Environmental and Experimental Botany, 71: 174-183.

Loumou, A. and Giourga, C. 2003. Olive groves: The life and identity of the Mediterranean. Agriculture and Human Values, 8: 87-95.

Pierantozzi, P., Torres, M., Bodoira, R. and Maestr, D. 2013. Water relations, biochemical-physiological and yield responses of olive trees *Olea europaea* L., cvs. Arbequina and Manzanilla under drought stress during the pre-flowering and flowering period. Agricultural Water Management, 125: 13-25.

Stewart, R.R.C. and Bewley. J.D. 1980 . Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. Plant Physiology, 65: 245-248.

IrHC2019

Physiological and biochemical changes in some young olive cultivars (*Olea europaea* L.) under drought stress conditions

Samira Ahmadipour*[1], Isa Arji[2], Ali Ebadi[3]
[1]Graduated Ph.D Student of Horticultural Sciences of Tehran Science and Research Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2]Crop and Horticulture Science Research Department, Kermanshah Agricultural and Natural Resources Research and Education center, AREEO, Kermanshah, Iran
[3]Horticultural Sciences Department Campus of Agriculture, Tehran University, Karaj, Iran
** Corresponding Author : ahmadipors@gmail.com*

Abstract

In order to evaluate the drought resistance of some olive cultivars, a pot experiment was conducted in a completely randomized design in Gilan-Karg city in Kermanshah province during 2015 in the field condition. The treatments consisted of three irrigation levels of 100% (control), 75% and 50% field capacity, and three olive cultivars (Zard, Amygdalolia, and Konservolia). In the Konservolia cultivar, under the stress of dehydration, peroxidase and catalase enzymes were higher than the other cultivars. The highest levels of peroxidase and catalase activity were observed in Konservolia cultivar and 50% irrigation treatments. The highest amount of malondialdehyde was observed in 50% irrigation treatments in Konservolia cultivar. In general, the response of the three cultivars to different irrigation treatments was different. Due to the low level of malondialdehyde and ion leakage and high levels of enzyme peroxidase and catalase under drought stress, the Konservolia, Zard and amygdalolia cultivars have better tolerant to stress conditions respectively. In fact, in full irrigation, the Zard variety was better, but when it was under stress conditions, the Konservolia variety was better than the Zard variety.

Keywords: Olive, stress, malondialdehyde, electrolyte leakage and peroxidase and catalase.

11th IrHC 2019
IrHC2019