



## مطالعه آسیب‌های اکسایشی سیستم فتوسنتزی چهار پایه دانه‌های مرکبات در پاسخ به تنش خشکی و پس از آبیاری مجدد

پدرام عصار<sup>۱\*</sup>، اختر شکافنده<sup>۱</sup>، لیلا تقی‌پور<sup>۲</sup>

<sup>۱\*</sup> گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

<sup>۲</sup> گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم، صندوق پستی: ۷۴۱۳۵-۱۱۱، جهرم، ایران

\*نویسنده مسئول: Pedramassar@gmail.com, Pedramassar@jahromu.ac.ir

### چکیده

به منظور ارزیابی شاخص‌های معرف شدت آسیب‌پذیری اکسایشی سیستم فتوسنتزی تحت تاثیر تنش خشکی، پژوهش حاضر بر روی چهار پایه دانه‌های مرکبات در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. پایه‌های مکزیکن لایم یا لیموی آب (Citrus aurantifolia Swingle)، نارنج (Citrus aurantium L.)، ولکامریانا (Citrus volkameriana Ten & Pasq) و رانگپورلایم (Citrus limonia Osbeck) مورد مقایسه قرار گرفتند. رژیم آبیاری به صورت ۱۴ روز قطع کامل آبیاری و سپس ۳ روز آبیاری در حد ظرفیت مزرعه بود. شاخص حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم ۲ (Fv/Fm)، میزان کلروفیل و پراکسید هیدروژن (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) برگ‌ها در نیمه و پایان دوره تنش و نیز پس از آبیاری مجدد مورد ارزیابی قرار گرفتند. تنش خشکی سبب آسیب اکسایشی و در نتیجه کاهش کارایی فتوسنتزی در دانه‌های ولکامریانا نشد. افزون‌براین، میزان کلروفیل برگ‌های دانه‌های ولکامریانا در طول دوره تنش افزایش یافت که با تفاوتی معنی‌دار در پایان این دوره همراه بود. پس از انجام آبیاری مجدد، دانه‌های رانگپورلایم و لیموی آب در تضاد با نارنج قادر به بهبودیابی از آسیب معنی‌دار اکسایشی و کاهش معنی‌دار در شاخص Fv/Fm و محتوای کلروفیل خود بودند. کاهش میزان پراکسید هیدروژن در پاسخ به تنش در برگ‌های ولکامریانا می‌تواند معرف کارایی قابل توجه سیستم ضد اکسایشی در این پایه باشد. همچنین در مورد پایه‌های رانگپورلایم و لیموی آب شواهدی به دست آمد که می‌تواند مؤید نقش مولکول H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> به عنوان پیام‌رسان در فعال‌سازی سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی مسئول وقوع بهبودیابی از آسیب تنش باشد.

**کلمات کلیدی:** رانگپورلایم، کارایی فتوسنتزی، لیموی آب، نارنج، ولکامریانا.

### مقدمه

در شرایط تنش شدید، محدودیت عملکرد چرخه کالوین-بسنس و کاهش تثبیت CO<sub>2</sub> می‌تواند به عدم توازن بین میزان فعالیت فتوشیمیایی سیستم نوری ۲ (PS II) و میزان نیاز به NADPH منجر شود. بنابراین، تشکیلات فتوسنتزی در معرض آسیب ناشی از نور اضافی قرار می‌گیرند که به آن بازدارندگی نوری گفته می‌شود. در این وضعیت، تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) افزایش می‌یابد که می‌تواند دلیل افزایش در حساسیت PS II به تخریب نوری باشد. به بیان دیگر، کاهش در کارایی فتوسنتزی PS II می‌تواند به دلیل آسیب‌های وارد شده به ساختار و عملکرد غشاءهای تیلاکوئیدی باشد (Kalaji et al., 2014). در چنین شرایطی، فلورسانس PS II می‌تواند دچار تغییر شود (Maxwell and Johnson, 2000) افزون بر این، کمبود آب می‌تواند به صورت چشمگیری مقدار کلروفیل را کاهش دهد (Zheng et al., 2009).

فیزیولوژیست‌های گیاهی و متخصصین باغبانی از تکنیک آنالیز فلورسانس کلروفیل به‌عنوان یکی از سریع‌ترین و قدرتمندترین روش‌های کسب آگاهی در زمینه وضعیت PS II و کارایی فتوشیمیایی آن بهره می‌برند. در حال حاضر، نسبت Fv/Fm که بیانگر حداکثر کارایی کوانتومی PS II است، یکی از پارامترهای ارزیابی فلورسانس کلروفیل است که به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان شاخص و زیست‌نشانگر قابل‌اعتماد وقوع بازدارندگی نوری مورد استفاده قرار می‌گیرد (Maxwell and Johnson, 2000) و از رابطه مقابل محاسبه می‌شود:  $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$

در رابطه مذکور، نشانه‌های F<sub>0</sub> و F<sub>m</sub> به ترتیب معرف فلورسانس حداکثر و حداقل مربوط به برگ‌های سازش یافته به تاریکی هستند و F<sub>v</sub> نیز فلورسانس متغیر است (Pérez-Pérez et al., 2007). دامنه عددی عددی شاخص نسبت Fv/Fm برای

برگی با عملکرد طبیعی بین ۰/۷۵ و ۰/۸۵ است و هرگونه کاهش در این نسبت بیانگر وقوع بازدارندگی نوری و آسیب‌دیدگی برخی از اجزای تشکیلات فتوسنتزی در گیاهان تحت تنش است (Bonhomme et al., 2009).

پایه لیموی آب، پایه غالب مورد استفاده در صنعت پرورش مرکبات منطقه جنوب کشور است. نارنج قدیمی‌ترین پایه مورد استفاده در ایران است. رانگپور لایم (*Citrus limonia* Osbeck) دو رگ نارنگی و لایم است و از حیث ساختار رشد و تولید میوه شبیه لیموها است و غیر از برزیل، در سایر مناطق مرکبات خیز دنیا گسترش چندانی نیافته است. پایه لیموی ولکامریانا (*Citrus volkameriana* Ten & Pasq) نیز دو رگ بین نارنج و لیموترش ایتالیایی است. در ایران هنوز کاربرد دوپایه اخیر مرسوم نیست، اما به نظر می‌رسد انجام پژوهش‌های کاربردی بر روی آن‌ها ارزشمند است. هدف از پژوهش حاضر، ارزیابی شاخص‌های آسیب‌پذیری اکسایشی سیستم فتوسنتزی در چهار پایه دانه‌الی لیموی آب (*Citrus aurantifolia* Swingle)، نارنج (*Citrus aurantium* L.)، ولکامریانا (*Citrus volkameriana* Ten & Pasq) و رانگپور لایم (*Citrus limonia* Osbeck) در شرایط تنش خشکی و پس از آبیاری مجدد بود.

## مواد و روش‌ها

پس از تهیه میوه‌های نارنج، لیموی آب، ولکامریانا و رانگپور لایم از ایستگاه تحقیقات کشاورزی شهرستان داراب، بذرگیری، شستشو و جداسازی ماده زله‌ای اطراف بذرها و خیساندن آن‌ها در قارچ‌کش بنومیل (به مدت ۵ دقیقه) و رطوبت‌گیری در دمای اتاق انجام شد. سپس بذره‌های مرغوب‌تر انتخاب و در دمای ۵ درجه سلسیوس تا زمان کشت در بهمن ماه نگهداری شدند. بذرها در گلدان‌های نایلونی سیاه مناسب (قطر دهانه گلدان ۲۵ سانتی‌متر - حجم گلدان ۴/۲ لیتر) پر شده از مخلوط خاکی شامل ماسه‌بادی، خاک و خاک‌برگ به نسبت حجمی مساوی و لایه‌ای از سنگریزه در کف گلدان کشت شدند. ظرفیت مزرعه مخلوط خاکی به کار رفته با استفاده از دستگاه صفحه فشاری تعیین شد. گلدان‌های کشت شده تا زمان شروع آزمایش در گلخانه شیشه‌ای بخش علوم باغبانی دانشگاه شیراز نگهداری شدند. آبیاری گلدان‌ها به صورت مستمر و در حد ظرفیت مزرعه اجرا شد. در طول مدت آزمایش، محدوده دمایی شبانه و روزانه گلخانه به ترتیب، ۱۴ الی ۱۸ و ۳۰ الی ۳۴ درجه سلسیوس بود و میانگین رطوبت نسبی گلخانه حدود ۶۷ درصد بود. شروع آزمایش با فلاش رشدی تابستانه در شهریورماه همزمان بود. بر اساس پیش‌تیماری که قبل از شروع آزمایش انجام شد، طول دوره‌های تنش خشکی و آبیاری مجدد تعیین شد. در این زمان، ۱۶ گیاه از هر نوع پایه با قطع کامل آبیاری در معرض تنش خشکی ۱۴ روزه (تا زمانی که اغلب گیاهان آزمایشی کاهشی آشکار در شادابی و تورژسانس خود نشان دادند و بخش اعظم برگ‌ها پژمرده شدند)، و سپس آبیاری مجدد ۳ روزه (در حد ظرفیت مزرعه، تا زمان برطرف شدن علائم ظاهری مذکور) قرار گرفتند. در مورد دانه‌های شاهد نیز، با انجام آبیاری روزانه در حد ظرفیت مزرعه (به کمک ترازی دیجیتال)، وضعیت بهینه میزان آب در خاک در طول دوره اجرای آزمایش تأمین و حفظ شد. اندازه‌گیری‌های فیزیولوژیک در دو یا سه زمان انجام شدند: اول: نیمه دوره تنش (S/2) در گیاهان شاهد (S/2 C) و تنش دیده (S/2 D)؛ دوم: پایان دوره تنش (S) در گیاهان شاهد (SC) و تنش دیده (SD)؛ و سوم: پس از دوره آبیاری مجدد (R) در گیاهان شاهد (RC) و تنش دیده (RD).

ارزیابی شاخص حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم ۲ (PS II)، با استفاده از دستگاه سنجش‌کننده فلورسانس کلروفیل (*OS-30p hand held portable modulated chlorophyll fluorometer* (Opti-Sciences, Inc., Hudson, NH, USA)) انجام شد. زمان و نحوه کار با دستگاه، بر اساس دستورالعمل منتشر شده توسط شرکت سازنده آن برنامه‌ریزی شد و در نهایت شاخص

$$F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$$

مذکور از رابطه مقابل به دست آمد. در رابطه فوق،  $F_0$  و  $F_m$  به ترتیب معرف فلورسانس حداکثر و حداقل مربوط به برگ‌های سازش یافته به تاریکی، و  $F_v$  معرف فلورسانس متغیر بود (Pérez-Pérez et al., 2007).

برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل، ابتدا با استفاده از دستگاه سنجش کلروفیل (SPAD-502, Minolta, Japan)، قرائت شاخص سبزیگی برگ‌های جوان به طور کامل توسعه یافته گیاهان مورد ارزیابی انجام شد. سپس، بیست برگ منتخب برای سنجش شیمیایی میزان کلروفیل و رسم منحنی استاندارد مورد استفاده قرار گرفتند. برای سنجش شیمیایی (Lichtenthaler, 1987)، ۰/۲ گرم از بافت تازه برگ توزین و در هاون چینی با استفاده از استون ۸۰ درصد سائیده و عصاره‌گیری شد. حجم نهایی عصاره با استفاده از استون ۸۰ درصد به ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. محلول حاصل با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به



مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و در نهایت محلول رویی برای اندازه‌گیری مقدار کلروفیل مورد استفاده قرار گرفت. توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (BioWave II UV/vis spectrophotometer, Biochrom Ltd, Cambridge, UK)، جذب عصاره در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر قرائت شد و از فرمول مقابل برای تعیین میزان کلروفیل کل (بر حسب میکروگرم در هر گرم وزن تازه) استفاده شد:  $\text{Total chlorophyll} = 7.15A_{663} + 18.71A_{645}$

در نهایت، منحنی استاندارد تهیه شد و برای تبدیل دقیق مابقی قرائت‌های برگ‌گی به مقادیر شیمیایی کلروفیل مورد استفاده قرار گرفت.

ارزیابی غلظت پراکسید هیدروژن ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) با روش Singh و همکاران (۲۰۰۷) انجام شد. مقدار ۰/۲۵ گرم نمونه برگ در هاون چینی خنک با ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (TCA) ۱۰٪ (وزنی به حجمی) عصاره‌گیری شد. محلول همگن حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد. سپس، ۲۵۰ میکرو لیتر از محلول رویی با ۲۵۰ میکرو لیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH = ۷) مخلوط شد و به این مخلوط مقدار ۵۰۰ میکرو لیتر یدید پتاسیم ۱ مولار افزوده شد و جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۳۹۰ نانومتر قرائت شد. در نهایت، با استفاده از ضریب خاموشی  $\mu\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  ۰/۲۸<sup>۱</sup> محتوای پراکسید هیدروژن بر حسب میکرو مول در هر گرم وزن تازه محاسبه و گزارش شد.

آزمایش به صورت فاکتوریل بر اساس طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار (۴ گیاه در هر تکرار) انجام شد. تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1.3 service pack 4 (SAS institute, Cary, NC, USA) انجام شد و به کمک آزمون LSD، تفاوت‌های موجود بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد تعیین شد.

## نتایج و بحث

در حال حاضر، شاخص حداکثر کارایی فتوشیمیایی PS II ( $F_v/F_m$ ) یکی از پارامترهای ارزیابی فلورسانس کلروفیل است که به طور گسترده‌ای به عنوان شاخص و زیست نشانگر قابل اعتماد تشخیص وقوع صدمات ناشی از بازدارندگی نوری مورد استفاده قرار می‌گیرد (Maxwell and Johnson, 2000). دامنه عددی این شاخص برای برگ‌گی با عملکرد طبیعی بین ۰/۷۵ و ۰/۸۵ است و هرگونه کاهش در این نسبت، بیانگر وقوع بازدارندگی نوری و آسیب‌دیدگی برخی از اجزای تشکیلات فتوسنتزی در گیاهان تحت تنش است (Bonhomme *et al.*, 2009). در این پژوهش، اعمال تنش خشکی اثر منفی معنی‌داری بر حداکثر کارایی فتوسنتزی فتوسیستم ۲ در گیاهان ولکامریانا نداشت. اما در مورد سایر پایه‌های تیمار شده، کارایی فتوسنتزی به صورت معنی‌داری کاهش یافت و مقدار عددی این شاخص به کمتر از رنج مربوط به برگ‌های با عملکرد طبیعی رسید. البته پس از آبیاری مجدد، فقط دانهال‌های نارنج قادر به بهبودی کامل نبودند (شکل ۱). بنابراین، تنها بر اساس آنالیز اطلاعات مربوط به فلورسانس کلروفیل چنین مفروض بود که دانهال‌های ولکامریانا متحمل‌ترین پایه‌ها به تنش بودند و افزون بر این، لیموی آب و رانگپورلایم قادر به بهبودی کامل پس از آبیاری مجدد بودند. مطلوب بودن رنج عددی شاخص مذکور دال بر کارآ بودن سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی است (Liu *et al.*, 2011).

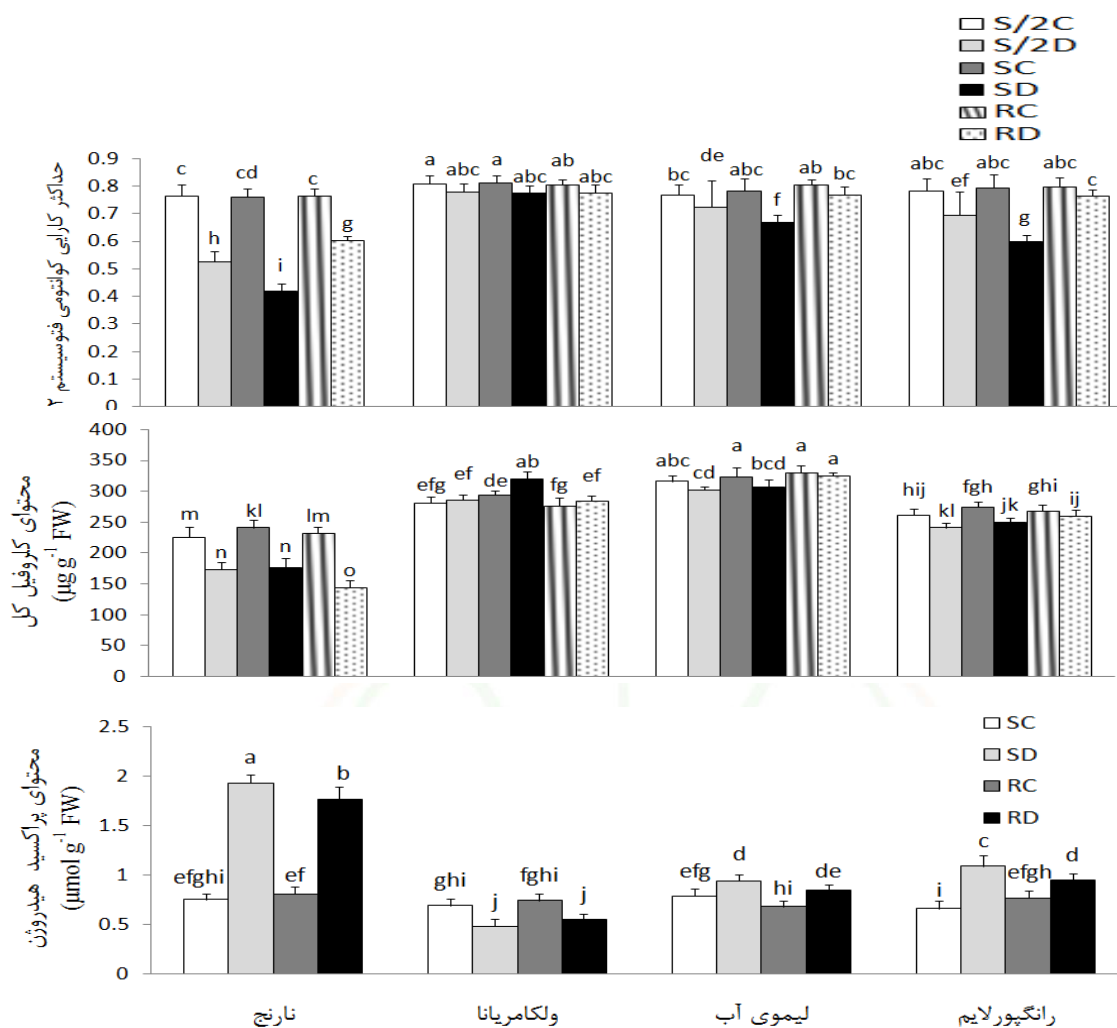
ارزیابی روند تغییرات میزان کل کلروفیل بیانگر این بود که تحت تأثیر تنش، مقدار کلروفیل دانهال‌های نارنج به صورت برگشت ناپذیری کاهش یافت. افزون بر این، کاهش برگشت پذیر میزان این شاخص در مورد گیاهان تنش دیده رانگپورلایم و لیموی آب مشاهده شد که وقوع کاهش معنی‌دار برای ۲ پایه مذکور به ترتیب در روزهای ۷ و ۱۴ تنش ثبت شد (شکل ۱). کاهش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، به دلیل کاهش سرعت سنتز و یا تجزیه فوری آن‌ها، به عنوان یکی از نشانه‌های بارز وقوع تنش اکسایشی گزارش شده است (Anjum *et al.*, 2011). به عبارت دیگر، کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش خشکی می‌تواند به وقوع آسیب‌های اکسایشی ساختاری کلروپلاست و تخریب نوری این رنگیزه مربوط باشد (Anjum *et al.*, 2011). Liu و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که در شرایط تنش خشکی ملایم تا متوسط، کاهش در محتوای رنگیزه‌های گیاهان تنش دیده بدون کاهش در نسبت  $F_v/F_m$  اتفاق می‌افتد و ارتباطی بین کاهش این دو شاخص وجود ندارد. برخی پژوهشگران بر این عقیده هستند که این رفتار، سازوکاری محافظتی است، به این مفهوم که با کاهش محتوای رنگیزه‌ها، میزان جذب نور و احتمال وقوع آسیب ناشی از پدیده بازدارندگی نوری به تشکیلات فتوسنتزی کاهش می‌یابد (Elsheery and Cao, 2008). در روز هفتم از دوره تنش خشکی، با وجود کاهش معنی‌دار شاخص  $F_v/F_m$  در گیاهان تنش دیده لیموی آب، میزان کاهش محتوای کل کلروفیل معنی‌دار نبود (شکل ۱). افزون بر این، با وجود تشدید معنی‌دار آسیب اکسایشی تشکیلات



فتوسنتزی از منظر شاخص  $F_v/F_m$ ، بین غلظت کلروفیل این گیاهان در روز هفتم و چهاردهم دوره تنش تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۱). به صورت مشابه، روند اخیر در گیاهان تنش دیده رانگپورلایم نیز ثبت شد (شکل ۱). بنابراین، این احتمال وجود دارد که کاهش محتوای کلروفیل این پایه‌ها به دلیل تخریب آن در اثر تنش اکسایشی نباشد، بلکه به عنوان سازوکار محافظتی، یکی از دلایل تخفیف شدت تنش وارده و برگشت پذیر بودن صدمات وارده به تشکیلات فتوسنتزی آن‌ها در شرایط این آزمایش باشد. به هر حال، نکته قابل توجه در مورد پایه‌های لیموی آب و رانگپورلایم این است که در شرایط آبیاری مجدد، از نظر شاخص‌های میزان کلروفیل و حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم ۲ وضعیت بهبودی کامل را به دست آوردند (شکل ۱).

در مورد گیاهان تنش دیده ولکامریانا، در طول دوران تنش روند افزایشی در میزان کلروفیل مشاهده شد که مقدار این افزایش در روز ۱۴ تنش معنی‌دار بود. افزون بر این، میزان کلروفیل این گیاهان در پایان دوره بهبودیابی نیز بیش از دانهال-های شاهد بود که تفاوت موجود معنی‌دار نبود (شکل ۱). شاید دلیل افزایش کلروفیل دانهال‌های تنش دیده ولکامریانا در شرایط این آزمایش، کاهش محتوای آب نسبی و میزان آب درونی در شرایط تنش باشد که سبب افزایش غلظت این رنگیزه در این شرایط شده است. گزارشاتی مبنی بر افزایش میزان کلروفیل در اثر تیمار خشکی (Šircelj *et al.*, 2005) وجود دارند. پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) یکی از انواع گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و مولکولی پیام‌رسان و مهم در گیاهان است که البته میزان آن تحت فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده آن کنترل می‌شود. افزایش متعادل میزان پراکسید هیدروژن در شرایط تنش‌های محیطی مانند تنش خشکی، می‌تواند به عنوان سیگنال محرک بیان ژن‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان عمل کند و افزایش بیش از حد آن نیز می‌تواند برهم زننده توازن اکسیداسیون و احیای درون سلول‌ها باشد و بنابراین خود سبب وقوع تنش اکسایشی بیش‌تر به اجزای سلولی شود که وقوع این وضعیت، بیانگر عملکرد غیر بهینه آنزیم‌های تجزیه‌کننده مسئول است (Bhatt *et al.*, 2011). پراکسید هیدروژن تولیدشده در شرایط تنش می‌تواند با رادیکال سوپراکسید واکنش دهد و به این ترتیب، رادیکال هیدروکسیل، که به شدت واکنش‌پذیر است و محرک وقوع واکنش‌های سریالی منجر به پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و تخریب پروتئین‌ها است، تولید شود (Bhatt *et al.*, 2011). بررسی روند تغییرات میزان پراکسید هیدروژن (شکل ۱) در شرایط پژوهش حاضر بیانگر افزایش معنی‌دار میزان آن نسبت به شاهد در گیاهان تنش دیده نارنج، لیموی آب و رانگپورلایم بود (به ترتیب ۲/۵۷، ۱/۱۹ و ۱/۶۵ برابر) بود. روند فوق در پایان دوره بهبودیابی نیز برقرار بود و مقادیر غلظت پراکسید هیدروژن گیاهان مذکور به ترتیب ۲/۱۸، ۱/۲۵ و ۱/۲۳ برابر بیش‌تر از گیاهان شاهد بود. از سوی دیگر، در پایان دوره تنش، در دانهال‌های تنش دیده ولکامریانا کاهش معنی‌دار میزان پراکسید هیدروژن مشاهده شد که این روند در پایان دوره آبیاری مجدد نیز صادق بود.

2019



شکل ۱- شاخص‌های ارزیابی شدت آسیب‌پذیری اکسایشی سیستم فتوسنتزی برگ‌های دانه‌های مرکبات در شرایط تنش خشکی و پس از انجام آبیاری مجدد. نشانه‌های S/2, S, R, C و D به ترتیب معرف: نیمه دوره تنش خشکی، پایان دوره تنش خشکی، پایان دوره آبیاری مجدد، گیاهان شاهد و تنش دیده هستند. بارهای عمودی معیار از میانگین‌ها را نشان می‌دهند. بر اساس آزمون LSD، ستون‌های دارای حروف مشابه فاقد تفاوت‌های معنی‌دار آماری در سطح احتمال ۵ درصد هستند.

به علت ناتوانی دانه‌های تنش دیده نارنج در بازیابی وضعیت طبیعی خود در زمینه حداکثر کارایی فتوشیمیایی PS II، این امکان وجود دارد که بخشی از آسیب ناشی از تنش با افزایش چشمگیر محتوای پراکسید هیدروژن به عنوان عامل وقوع تنش اکسایشی به غشاءهای زیستی مربوط باشد. روند تغییرات میزان پراکسید هیدروژن در برگ‌های ولکامریانا می‌تواند بر کارایی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در این پایه صحه بگذارد. در مورد دانه‌های تنش دیده لیموی آب و رانگپورلایم نیز روند افزایش معنی‌دار میزان H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> در هر دو زمان انجام ارزیابی‌ها مشاهده شد که البته شدت افزایش نسبت به آنچه در مورد نارنج مشاهده شد کمتر بود. همان‌طور که بیان شد آسیب اکسایشی ناشی از تنش به این گیاهان قابل ترمیم بود و در نهایت بازیابی کامل شرایط طبیعی در مورد صفات حیاتی پایه‌های مذکور اتفاق افتاد. بنابراین، چنین نتیجه‌گیری شد که به احتمال، تفسیر و قضاوت عادلانه این است که در پایه‌های مذکور میزان افزایش پراکسید هیدروژن در حد ایجاد صدمات اکسایشی برگشت‌ناپذیر ناشی از تنش نبوده است و در نهایت، در صورت پذیرفتن نقش H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> به عنوان عامل وقوع تنش اکسایشی، سازوکار آنتی‌اکسیدانی این گونه‌ها در برقراری توازن اکسیداسیون و احیای سلولی موفق بوده است. این احتمال نیز وجود دارد که H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> در زمینه پیام‌رسانی‌های دفاعی ایفای وظیفه نموده است که نقشی مثبت در برقراری مجدد توازن اکسیداسیون و احیای سلول تنش دیده محسوب می‌شود. پس از انجام آبیاری مجدد، مقدار پراکسید هیدروژن دانه‌های تنش دیده مذکور،



نسبت به گیاهان شاهد، به صورت معنی‌دار بیش‌تر بود که این خود می‌تواند گواه اثبات ادعای فوق باشد. به عبارت دیگر، مقدار بیش‌تر  $H_2O_2$  در حالی که گیاهان تنش دیده وضعیت طبیعی خود را در زمینه کارآیی فتوسنتزی فتوسیستم ۲ بازیابی نموده‌اند می‌تواند مؤید نقش پیام‌رسانی این مولکول در فعال‌سازی سازوکار آنتی‌اکسیدانی آنزیمی مسئول وقوع بهبودیابی در این دو پایه باشد.

## منابع

- Anjum, S.A., Wang, L.C., Farooq, M., Hussain, M., Xue, L.L. and Zou, C.M. 2011. Brassinolide application improves the drought tolerance in maize through modulation of enzymatic antioxidants and leaf gas exchange. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 197(3): 177–185.
- Bhatt, D., Negi, M., Sharma, P., Saxena, S.C., Dobriyal, A.K. and Arora, S. 2011. Responses to drought induced oxidative stress in five finger millet varieties differing in their geographical distribution. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 17(4): 347–353.
- Bonhomme, L., Monclus, R., Vincent, D., Carpin, S., Claverol, S., Lomenech, A.-M., Labas, V., Plomion, C., Brignolas, F. and Morabito, D. 2009. Genetic variation and drought response in two *Populus×euramericana* genotypes through 2-DE proteomic analysis of leaves from field and glasshouse cultivated plants. *Phytochemistry*, 70(8): 988–1002.
- Elsheery, N.I., Cao, K.F. 2008. Gas exchange, chlorophyll fluorescence, and osmotic adjustment in two mango cultivars under drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30(6): 769–777.
- Kalaji, H.M., Jajoo, A., Oukarroum, A., Brestic, M., Zivcak, M., Samborska, I.A., Cetner, M.D., Lukasik, I., Goltsev, V., Ladle, R.J., Dąbrowski P. and Ahmad, P. 2014. Chapter 15 - The use of chlorophyll fluorescence kinetics analysis to study the performance of photosynthetic machinery in plants, in: Ahmad, P. and Rasool, S. (Eds.), *Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance*, volume 2. A Sustainable Approach. Academic Press, Elsevier, USA. pp: 347-384.
- Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148: 350–382.
- 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(2): 174–183.
- Maxwell, K. and Johnson, G.N. 2000. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51(345): 659–668.
- Pérez-Pérez, J.G., Syvertsen, J.P., Botía, P. and García-Sánchez, F. 2007. Leaf water relations and net gas exchange responses of salinized Carrizo citrange seedlings during drought stress and recovery. *Annals of Botany*, 100(2): 335–345.
- Singh, H.P., Batish, D.R., Kohli, R.K. and Arora, K. 2007. Arsenic-induced root growth inhibition in mung bean (*Phaseolus aureus* Roxb.) is due to oxidative stress resulting from enhanced lipid peroxidation. *Plant Growth Regulation*, 53(1): 65–73.
- Šircelj, H., Tausz, M., Grill, D. and Batič, F. 2005. Biochemical responses in leaves of two apple tree cultivars subjected to progressing drought. *Journal of Plant Physiology*, 162(2): 1308–1318.
- Zheng, C., Jiang, D., Liu, F., Dai, T., Jing, Q. and Cao, W. 2009. Effects of salt and waterlogging stresses and their combination on leaf photosynthesis, chloroplast ATP synthesis, and antioxidant capacity in wheat. *Plant Science*, 176(4): 575–582.



## Study on the Oxidative Damages to Photosynthesis Apparatus of Four Citrus Seedling Rootstocks Under Drought Stress and After Rewatering

Pedram Assar<sup>1,2\*</sup>, Akhtar Shekafandeh<sup>1</sup>, Leila Taghipour<sup>2</sup>

<sup>1\*</sup> Department of Horticultural Science, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

<sup>2</sup> Department of Horticultural Science, College of Agriculture, Jahrom University, PO BOX: 74135-111, Jahrom, Iran

\*Corresponding Author: [Pedramassar@gmail.com](mailto:Pedramassar@gmail.com); [Pedramassar@jahromu.ac.ir](mailto:Pedramassar@jahromu.ac.ir)

### Abstract

In order to evaluate the indices representing the severity of oxidative damage to photosynthesis apparatus under drought, this research was conducted by a greenhouse experiment for four citrus seedling rootstocks. Rootstocks of Mexican lime (*Citrus aurantifolia* Swingle), sour orange (*Citrus aurantium* L.), volkameriana (*Citrus volkameriana* Ten & Pasq) and rangpur lime (*Citrus limonia* Osbeck) were compared with each other. Watering regime was water withholding for 14 days and then 3 days rewatering at field capacity. Maximum quantum yield of photosystem II (Fv/Fm), chlorophyll and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> contents were evaluated at the mid and the end of drought period, as well as after rewatering period. Drought stress caused no oxidative damage and as a result reduction in photosynthesis efficiency in volkameriana seedlings. Moreover, during the drought period the chlorophyll content of leaves in volkameriana seedlings increased with significant difference detected at the end of this period. After rewatering period, in contrast with sour orange, rangpur lime and Mexican lime seedlings had the ability to recover from significant oxidative damage and reduction in Fv/Fm and chlorophyll contents. In volkameriana leaves, reduction in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content under drought stress could be representative of notable efficiency of the antioxidant system in this rootstock. Also, there was evidence with rangpur lime and Mexican lime seedlings which H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> molecule could have a signaling role in activation of enzymatic antioxidant systems responsible for recovery from stress induced damage.

**Keywords:** Rangpur Lime, Photosynthetic Efficiency, Mexican Lime, Sour Orange, Volkameriana.

