

## اثر تنش خشکی بر جوانه‌زنی بذر، کلروفیل، پرولین و فعالیت آنزیم اکسیدان دو رقم متحمل و حساس کلزا (*Brassica napus* L.)

بهروز صالحی اسکندری<sup>۱\*</sup>، جلیل عباس‌پور<sup>۲،۳</sup>، امیرحسین فرقانی<sup>۱</sup>

۱. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، ص.پ. ۴۶۹۷-۱۹۳۹۵، تهران، ایران

۲. دانش‌آموخته دکتری فیزیولوژی گیاهی دانشگاه اصفهان

۳. دبیر آموزش پرورش استان خوزستان

| مشخصات مقاله                                                                                               | چکیده                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| واژه‌های کلیدی:<br>اسموتیکوم<br>پلی‌اتیلن‌گلیکول ۶۰۰۰<br>رشد<br>رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی<br>گایاکول پراکسیداز | خشکی یکی از مهم‌ترین فاکتورهای محدودکننده رشد و نمو گیاهان است. این تحقیق به منظور شناسایی برخی مکانیسم‌های تحمل به تنش خشکی حاصل از کاربرد پلی‌اتیلن‌گلیکول (PEG) ۶۰۰۰ در دو رقم حساس (P04) و متحمل (Ag) گیاه کلزا به ترتیب در دو مرحله جوانه‌زنی (صفر، ۰/۱۴، ۰/۴۸، ۰/۷۱ و ۱/۱۷- مگاپاسکال) و مرحله رویشی (صفر، ۰/۲۹، ۰/۴۸، ۰/۷۱ و ۱/۱۷- مگاپاسکال)، انجام گرفت. نتایج مشخص نمود با افزایش خشکی درصد جوانه‌زنی و طول ساقه‌چه کاهش یافته، به طوری که در پایین‌ترین پتانسیل آبی به صفر رسید، در حالی که طول ریشه‌چه ابتدا در پتانسیل اسمزی ۰/۱۴- مگاپاسکال افزایش و سپس با کاهش پتانسیل آب محیط کاهش یافت. در مرحله دوم، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی با افزایش شدت تنش کم‌آبی روند افزایشی داشت، به طوری که بیشترین افزایش تحت تنش متوسط در رقم حساس و در رقم متحمل تحت تنش شدید مشاهده شد. همچنین میزان پرولین تا تنش خشکی متوسط افزایش یافت که مقدار افزایش در رقم متحمل به طور معنی‌داری بیش از رقم حساس بود. بررسی فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز نشان داد به غیر از سطح خشکی شدید بین سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد و فعالیت این آنزیم در ریشه گیاه متحمل بیش از گیاه حساس بود. در مجموع با توجه به بالا بودن میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، پرولین و فعالیت گایاکول پراکسیداز در رقم متحمل می‌توان پیشنهاد نمود افزایش کارایی فتوسنتز تحت تنش در نتیجه‌ی افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی، حذف مؤثرتر گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) به دلیل بالا بودن فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز، کاروتنوئیدها و سازگاری بیشتر حاصل از تجمع پرولین، بخشی از سازوکارهای مقاومت به کم‌آبی در رقم متحمل به حساب می‌آیند. |
| تاریخ دریافت:<br>۱۳۹۹/۰۶/۲۶                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| تاریخ پذیرش:<br>۱۳۹۹/۰۹/۲۹                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| تاریخ انتشار:<br>بهار ۱۴۰۱                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| ۱۵-۱۰۴ (۱): ۹۳                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |

### مقدمه

کلزا، گیاهی یک‌ساله علفی از خانواده شب‌بو (Brassicaceae) است که به علت توانایی جوانه‌زدن و رشد بذر در دماهای پایین در مناطق معتدله و ارتفاعات کشت می‌شود و جز معدود دانه‌های روغنی زمستانه است. روغن کلزا در بین روغن‌های گیاهی کمترین میزان اسیدهای چرب اشباع (۶ تا ۷ درصد) را دارد (Cartea et al., 2019). تنش خشکی به عنوان یک عامل محیطی محدودکننده است که به دلیل اثرات نامطلوب فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و مولکولی فراوانی که بر گیاهان دارد باعث کاهش شدید رشد و نمو و محصول گیاهان می‌شود (Salehi-Lisar and Bakhshayeshan-Agdam, 2016; Hadian et al., 2019). نخستین و حساس‌ترین واکنش گیاه نسبت به کمبود آب، کاهش در آماز و رشد یاخته (به‌ویژه طویل شدن) است. کمبود آب، سنتز آبسزیک اسید از کاروتنوئیدها را در ریشه تحریک می‌کند. آبسزیک اسید تولیدی به اندام‌های هوایی گیاه منتقل شده و پیری را تسریع می‌کند که به پژمرده شدن یاخته‌های گیاه، خشک شدن و ریزش برگ‌های مسن‌تر منجر

می‌شود و جز معدود دانه‌های روغنی زمستانه است. روغن کلزا در بین روغن‌های گیاهی کمترین میزان اسیدهای چرب اشباع (۶ تا ۷ درصد) را دارد (Cartea et al., 2019). تنش خشکی به عنوان یک عامل محیطی محدودکننده است که به دلیل اثرات نامطلوب فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و مولکولی فراوانی که بر گیاهان دارد باعث کاهش شدید رشد و نمو و محصول گیاهان می‌شود (Salehi-Lisar and Bakhshayeshan-Agdam, 2016; Hadian et al., 2019). نخستین و حساس‌ترین واکنش گیاه نسبت به کمبود آب، کاهش در آماز و رشد یاخته (به‌ویژه طویل شدن) است. کمبود آب، سنتز آبسزیک اسید از کاروتنوئیدها را در ریشه تحریک می‌کند. آبسزیک اسید تولیدی به اندام‌های هوایی گیاه منتقل شده و پیری را تسریع می‌کند که به پژمرده شدن یاخته‌های گیاه، خشک شدن و ریزش برگ‌های مسن‌تر منجر

زیادی دارد و از طرفی تنش خشکی به‌عنوان عاملی محدودکننده در تولیدات گیاهی محسوب می‌شود که می‌تواند رشد و بهره‌وری اقتصادی از این گیاه را کاهش دهد، در این تحقیق اثر تنش خشکی حاصل از پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) بر مراحل اولیه رشد، میزان کلروفیل و فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی در دو رقم متحمل و حساس کلزا ارزیابی شده است.

### مواد و روش‌ها

بذر دو رقم کلزا (*Brassica napus*) شامل رقم متحمل به خشکی با نام آگایی (Ag) و رقم حساس به خشکی (Po4) از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس تهیه شد.

### جوانه‌زنی در حضور پلی‌اتیلن گلیکول

در این آزمایش، بذرها با محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد به مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی شده، سپس چندین بار با آب معمولی شستشو داده شدند (Salehi et al., 2017). برای انجام آزمایش‌های درون پتری‌دیش ۱۰ سانتی‌متری پلاستیکی، بذرها ضدعفونی شده روی ۲ لایه کاغذ صافی در داخل پتری‌دیش‌های پلاستیکی قرار داده شدند و سپس ۶ میلی‌لیتر از محلول پلی‌اتیلن‌گلیکول با پتانسیل اسمزی ۰، ۰/۱۴، ۰/۴۸، ۰/۷۱ و ۱/۱۷- مگاپاسکال به آن‌ها اضافه شد. ظروف پتری حاوی بذر به‌طور تصادفی در انکوباتور با دمای حدود  $\pm 21.2$  درجه سانتی‌گراد در تاریکی قرار گرفت. پس از ۶ روز بذرها جوانه‌زده شمارش و درصد جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه و ساقه‌چه برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری و نسبت به گروه شاهد سنجیده شد. برای بذرها گروه شاهد از آب مقطر استفاده گردید.

در این آزمایش برای ایجاد تنش خشکی با استفاده از فرمول میشل (رابطه ۱) محلول ۰، ۹/۸، ۱۹/۷، ۲۴/۶ و ۳۲/۲ درصد از پلی‌اتیلن‌گلیکول ۶۰۰۰ در آب مقطر تهیه شد تا به ترتیب پتانسیل اسمزی ۰، ۰/۱۴، ۰/۴۸، ۰/۷۱ و ۱/۱۷- مگاپاسکال (Mpa) اعمال شود (Michel and Kaufmann, 1973).

$$\Psi_s = -(1.18 \times 10^{-2})C - (1.18 \times 10^{-4})C^2 + (2.67 \times 10^{-4})CT + (8.39 \times 10^{-7})C^2T \quad [1]$$

می‌شود. همچنین، متابولیسم پروتئین، سنتز اسیدهای آمینه، واکنش‌های ثانویه فتوسنتز و تنفس میتوکندری را مختل کرده و در نهایت باعث ایجاد اختلالات یاخته‌ای می‌شود. واکوئل مرکزی به چند واکوئل کوچک تجزیه شده، تیلاکوئیدها در کلروپلاست‌ها و کریستاها در میتوکندری متورم شده، سپس تجزیه می‌شوند و در نهایت به مرگ یاخته‌ای منجر می‌شود (Salehi-Lisar and Bakhshayeshan-Agdam, 2016; Basu et al., 2016). گیاهان در مواجهه با تنش خشکی، شروع به تجمع مواد محلول در سلول‌های خود کرده و پتانسیل آبی خود را بدون تغییر در فشار آماز، پایین می‌آورند. این مواد سازگار کننده شامل قندهای محلول و الکلی (سوربیتول)، بتائین، اسیدهای آلی، اسیدهای آمینه (پرولین و گلوسین) و یون‌هایی مانند پتاسیم ( $K^+$ ) بوده که با کاهش پتانسیل آب سلول‌ها، گیاه را قادر به جذب آب از محیط می‌کنند (Anjum et al., 2017).

در شرایط تنش خشکی، به دلیل آن‌که تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) از حذف آن‌ها فزونی می‌یابد سلول‌های گیاهی با تنش اکسیداتیو روبرو می‌شوند. ROS فوق‌العاده سمی بوده و می‌توانند متابولیسم طبیعی سلول را از طریق آسیب‌های اکسیداتیو به ماکرومولکول‌های ضروری مانند لیپیدها، اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها و رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی تحت تأثیر قرار دهند. گیاهان برای مقابله با گونه‌های اکسیژن فعال و حفاظت از سیستم‌های درون‌سلولی، سیستم‌های آنتی‌اکسیدان آنزیمی (آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و کاتالاز و ...) و غیر آنزیمی (کاروتنوئیدها، آلفا توکوفرول، ترکیبات فنولی و ...) خود را تکامل داده‌اند (Basu et al., 2016; Per et al., 2017). برای بررسی آثار تنش کم‌آبی در محیط کشت هیدروپونیک، اغلب از پلی‌اتیلن-گلیکول استفاده می‌شود تا با مولکول‌های آب در محیط کشت درگیر شده، آن‌ها را از دسترس گیاه خارج نماید. در ضمن وجود آن در محیط کشت، به علت عدم سمیت، فرآیندهای زیستی گیاه را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد. پلی‌اتیلن‌گلیکول ۶۰۰۰ به علت داشتن وزن مولکولی کم در تنظیم اسمزی مؤثرتر است. با این‌وجود به‌اندازه کافی بزرگ است و بنابراین توسط گیاه جذب نمی‌شود (Faisal et al., 2019).

با توجه به اقلیم خشک کشور ایران، یافتن گیاهان متحمل به خشکی از اهمیت فوق‌العاده برخوردار است (Hadian et al., 2019). با توجه به اینکه گیاه کلزا از نظر اقتصادی اهمیت

### اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز (EC, POD, 1.11.1.7)

جهت محاسبه فعالیت آنزیم ابتدا مقدار ۰/۱ بافت تازه گیاه را در ۱/۵ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار که حاوی پلی‌وینیل پیرولیدون ۲٪ و EDTA یک میلی‌مولار بود سائیده شد. تمام مراحل استخراج روی یخ انجام گرفت. عصاره‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ rpm و در دمای ۴ درجه سانتی-گراد سانتریفوژ شدند. از محلول شفاف رویی برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده شد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش پلوا و همکاران اندازه‌گیری شد (Plewa et al., 1991).

### تجزیه و تحلیل آماری

این آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل با سه تکرار طراحی شد. تجزیه و تحلیل آماری تمامی داده‌ها با استفاده از برنامه آماری SPSS نسخه ۱۶ و مقایسه میانگین‌ها نیز به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح  $\alpha = 0.05$  انجام شد. برای ترسیم نمودارها و منحنی استاندارد از برنامه Excel 2000 استفاده شد.

### نتایج و بحث

#### تأثیر سطوح خشکی بر صفات جوانه‌زنی

طبق اطلاعات ارائه شده در جدول ۱، اختلاف معنی‌داری در میزان جوانه‌زنی بذرهای در تنش خشکی کم (پتانسیل اسمزی ۰/۱۴- مگاپاسکال) و گروه شاهد وجود ندارد. ولی به تدریج با کاهش پتانسیل اسمزی محیط، کاهش جوانه‌زنی نسبت به گروه شاهد مشاهده شد به نحوی که این تفاوت‌ها نسبت به پتانسیل اسمزی بالاتر معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). در هر دو رقم تحت تنش خشکی متوسط (پتانسیل اسمزی ۰/۴۸-، جوانه‌زنی حدود ۸۰ درصد و در تنش خشکی خیلی شدید (پتانسیل اسمزی ۱/۱۷- مگاپاسکال) جوانه‌زنی به صفر رسیده است.

در این پژوهش کاهش جوانه‌زنی با افزایش تنش رابطه خطی داشت، به طوری که در بالاترین سطح تنش، بذر هیچ‌کدام از ارقام نتوانستند جوانه بزنند (جدول ۱). پلی‌اتیلن-گلیکول (PEG) اسموتیکوم غیرقابل جذب توسط گیاه است که با مولکول‌های آب درگیر شده و آن را از دسترس گیاه خارج می‌کند. دانه‌هایی که در بالاترین سطح تنش قرار دارند،

در این فرمول S, Ψ و C و T به ترتیب نشان‌دهنده پتانسیل اسمزی، غلظت PEG برحسب گرم در کیلوگرم آب و دما برحسب درجه سانتی‌گراد است.

#### کشت در محیط هیدروپونیک و اعمال تنش خشکی

برای رشد گیاهچه‌ها در محیط کشت هیدروپونیک، ابتدا بذرهای برای جوانه‌زنی به مدت ۳ روز در تاریکی و در دمای آزمایشگاه روی سبدهای کشت، درون ظرف پلاستیکی حاوی آب معمولی نگهداری شد به گونه‌ای که بذرهای در آب غوطه‌ور نشوند. سپس گیاهچه‌های حاصل از بذرهای به اتاق کشت با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با شدت نور ۷۰۰۰ لوکس منتقل شدند. پس از ۶ روز، گیاهچه‌ها به گلدان‌های پلاستیکی حاوی محلول غذایی هوگلند یک‌دوم منتقل شدند. سپس به محلول غذایی حاوی گیاهچه‌های ۶ روزه مقادیر مختلف پلی‌اتیلن‌گلیکول اضافه شد تا پتانسیل اسمزی صفر، -۰/۲۹، -۰/۴۸ و -۰/۷۱ مگاپاسکال (Mpa) حاصل شود که به ترتیب به عنوان گروه فاقد تنش (صفر)، تنش خشکی کم، متوسط و زیاد معرفی شدند. البته در آزمایش‌های تعیین وزن تر و خشک به جز تیمارهای فوق تیمار ۱- مگاپاسکال (Mpa) نیز استفاده شد که به علت عدم رشد کافی اندام‌های هوایی، در آزمایش‌های بعدی حذف گردید. محلول‌های غذایی در هر ساعت ۱۵ دقیقه هوادهی شدند تا از کمبود اکسیژن در محیط ریشه جلوگیری شود. برای ثابت نگه‌داشتن پتانسیل اسمزی، هرروز مقدار کاهش وزن با آب مقطر جایگزین شد و محلول‌های غذایی هر ۵ روز تجدید گردید. ده روز پس از شروع تیمارها، وزن اندام‌های هوایی و ریشه گیاهچه‌های ۱۶ روزه دو رقم به تعیین گردید.

#### اندازه‌گیری کلروفیل و کاروتنوئید

برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل کل و کاروتنوئید به ترتیب از روش آرنون (Arnon, 1949) و ریچتنتالر و ولبرن (Lichtenthaler and Wellburn, 1983) با استفاده از استن ۸۰ درصد انجام شد.

#### سنجش پرولین

برای اندازه‌گیری پرولین از روش بیت استفاده شد (Bate, 1973).

معنی‌داری با گروه شاهد نداشت ولی با افزایش تنش خشکی این کاهش معنی‌دار شد ( $P < 0.05$ ).

بیشترین اثر بازدارندگی تنش خشکی مربوط به طول ساقه‌چه است که در هر دو رقم مشاهده شد. منفی‌تر شدن پتانسیل آبی در تنش خشکی، محتوای آبی یاخته‌ها را کاهش داده که با کم شدن فعالیت آنزیم‌های هیدرولیکی نظیر آلفا آمیلاز، پروتئاز و لیپاز همراه می‌گردد. آنزیم‌های هیدرولیکی در مراحل اولیه رشد مسئول تجزیه ذخیره دانه و تولید انرژی هستند؛ بنابراین، کاهش رشد ناشی از تنش کم‌آبی در مراحل اولیه رشد، به عوامل متابولیکی ناشی از کاهش محتوای آبی مربوط می‌شود (Gholami et al., 2010). لو و همکاران (Luo et al., 2020) گزارش کردند که تنش خشکی، رشد برگ و اندام‌های هوایی را سریعاً متوقف می‌کند. در پژوهش حاضر نیز کاهش وزن خشک ساقه‌چه که با افزایش تنش رابطه خطی داشت، مشاهده شد (جدول ۱).

به علت کاهش جذب آب نسبت به گروه شاهد افزایش وزن کمی داشتند. به همین علت هرچه پتانسیل اسمزی منفی‌تر می‌شود، درصد جوانه‌زنی دانه‌ها کاهش می‌یابد (Mickky and Aldesuquy, 2017). در پژوهشی مشابه، بررسی پاسخ جوانه‌زنی دانه‌ها در واریته‌های مختلف گندم نسبت به تنش کم‌آبی القاء شده با PEG نشان داد که جوانه‌زنی تمام ارقام با کاهش پتانسیل اسمزی کاهش می‌یابد (Abido and Zsombik, 2018).

نتایج تغییرات میانگین رشد طولی ساقه‌چه نشان داد که رشد طولی ساقه‌چه هر دو رقم متحمل و حساس با افزایش تنش کاهش داشت. در بالاترین سطح تنش (پتانسیل اسمزی  $-1/17$  - مگاپاسکال) میانگین رشد طولی ساقه‌چه در هر دو رقم صفر بود. در تنش خشکی کم و متوسط (پتانسیل اسمزی  $-0/14$  و  $-0/48$  - مگاپاسکال)، در رقم حساس ( $Po4$ ) کاهش معنی‌دار میانگین ساقه‌چه نسبت به سطح قبلی مشاهده شد. در رقم متحمل طول ساقه‌چه در تنش خشکی کم اختلاف

جدول ۱. اثر تنش خشکی حاصل از PEG بر درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه (بر حسب میلی‌متر) در دو رقم کلزا.

Table 1. The effect of PEG-induced drought stress on percentage of seed germination, radical and pedicel length (mm) in two tolerant and sensitive cultivar of canola (*B. napus*)

| شاخص                | گیاه  | شاهد              | $-0/14$ مگاپاسکال | $-0/48$ مگاپاسکال | $-0/71$ مگاپاسکال | $-1/17$ مگاپاسکال |
|---------------------|-------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Factor              | Plant | Control           | -0.14 MPa         | -0.48 MPa         | -0.71 MPa         | -1.17 MPa         |
| درصد جوانه‌زنی      | Ag    | 100 <sup>a</sup>  | 100 <sup>a</sup>  | 83.3 <sup>b</sup> | 71.7 <sup>c</sup> | 0 <sup>d</sup>    |
| Germination%        | Po4   | 100 <sup>a</sup>  | 97 <sup>a</sup>   | 80.3 <sup>b</sup> | 70.6 <sup>c</sup> | 0 <sup>d</sup>    |
| طول ساقه‌چه         | Ag    | 17.2 <sup>a</sup> | 16.1 <sup>a</sup> | 1.3 <sup>b</sup>  | 1.2 <sup>b</sup>  | 0 <sup>b</sup>    |
| Pedicel length (mm) | Po4   | 20.4 <sup>a</sup> | 14.8 <sup>b</sup> | 2.1 <sup>c</sup>  | 1.1 <sup>c</sup>  | 0 <sup>c</sup>    |
| طول ریشه‌چه         | Ag    | 46.7 <sup>b</sup> | 53.7 <sup>a</sup> | 11.6 <sup>c</sup> | 9.5 <sup>c</sup>  | 0 <sup>d</sup>    |
| Radical length (mm) | Po4   | 49.2 <sup>b</sup> | 58.7 <sup>a</sup> | 21.6 <sup>c</sup> | 19.8 <sup>c</sup> | 0 <sup>d</sup>    |

هر عدد میانگین سه تکرار است. حروف غیرمشابه در هر ردیف، بیان‌گر اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها بر اساس آزمون دانکن ( $P < 0.05$ ) است. Each point is mean. Significant differences between means ( $p < 0.05$ ) are indicated with different letters in each row using Duncan's ( $P < 0.05$ ).

اولین سطح تنش (پتانسیل اسمزی  $-0/14$ ) باعث رشد ریشه‌چه‌ها شد، اما پتانسیل اسمزی منفی‌تر، اثر بازدارنده بر رشد ریشه‌چه‌ها داشت. در مورد افزایش رشد ریشه‌چه‌ها در تنش خشکی کم، نتایج مشابه موجود است که این افزایش رشد ریشه احتمالاً به برهم خوردن توازن هورمونی سلول‌های ریشه در واکنش به تنش خشکی است. با منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی، فشار تورژسانس (آماس) کاهش می‌یابد که باعث کاهش یافتن فعالیت متابولیکی سلول‌ها شده، در نتیجه می‌توان گفت کاهش رشد طولی ریشه‌ها به علت کاهش

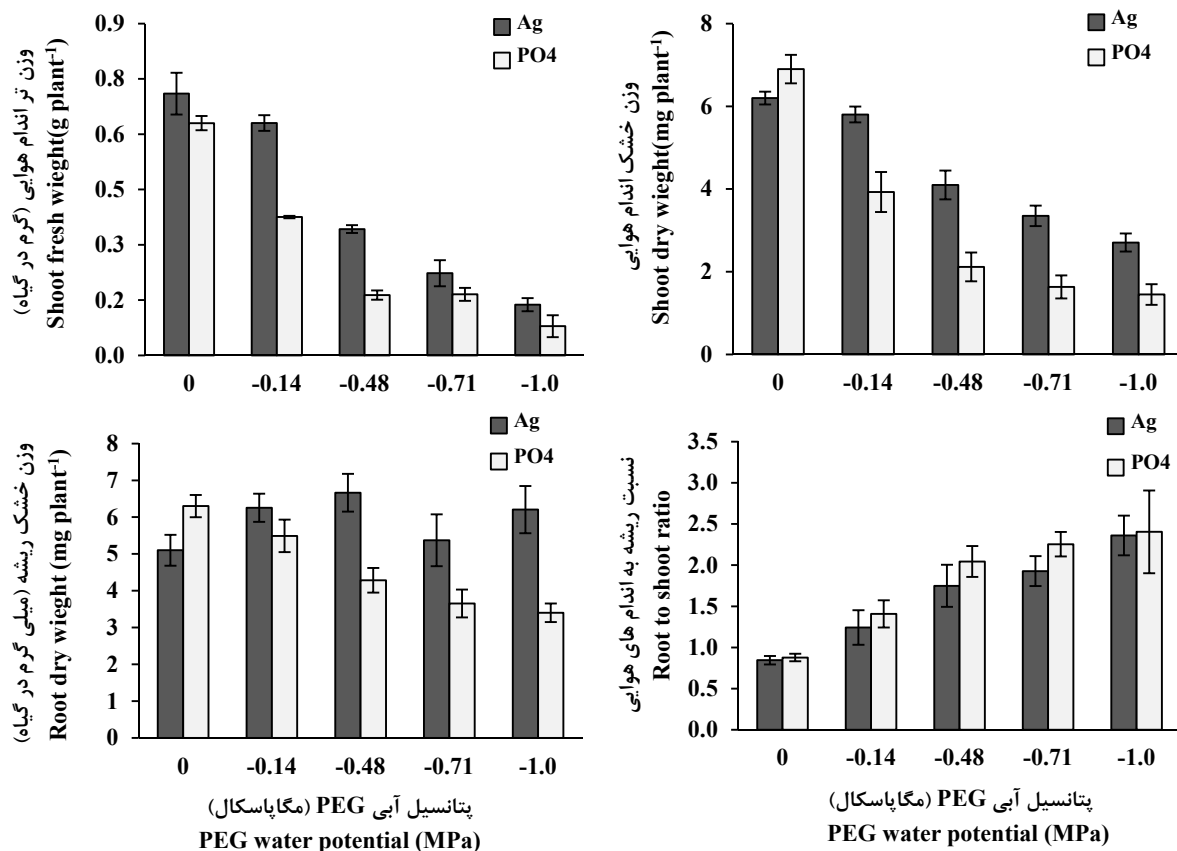
میانگین رشد طولی ریشه‌چه در هر دو رقم برخلاف ساقه‌چه در تنش خشکی کم نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار داشت ( $P < 0.05$ ) ولی با کاهش پتانسیل اسمزی و افزایش تنش، طول ریشه‌چه در هر دو رقم نسبت به پتانسیل اسمزی بالاتر و گروه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد، به‌طوری‌که در تنش خشکی شدید طول ریشه‌چه صفر بود. روند تغییرات طولی ساقه‌چه، ریشه‌چه و درصد جوانه‌زنی هر دو رقم نسبت به تنش خشکی مشابه هم بود بنابراین اثر متقابل خشکی حاصل از PEG و واریته‌ها در این صفات معنی‌دار نشد (جدول ۲).

میزان کاهش همواره در رقم حساس بیشتر از رقم متحمل بود و هر دو رقم، کمترین وزن تر اندام هوایی را در بیشترین تنش خشکی (۱- مگاپاسکال) داشتند. کاهش وزن ساقه گیاهان تحت تنش همراه با کاهش رشد طولی سلول‌هاست که از پایین آمدن فشار تورگر و نهایتاً حجم سلول‌ها ناشی می‌شود (Time et al., 2018) و یا به علت مسدود شدن آوندهای چوبی و آبکش است که از هرگونه انتقال جلوگیری می‌شود (Haworth et al., 2017; Sevanto, 2018).

تقسیم و رشد سلول‌ها است (Ullah et al., 2018; Saidi et al., 2010).

### تأثیر سطوح خشکی بر صفات رویشی

طبق اطلاعات ارائه‌شده در شکل ۱- A، با افزایش تنش خشکی، وزن تر در هر دو رقم کاهش یافت به‌غیر از وزن تر رقم حساس که دو تیمار ۰/۷۱- و مگاپاسکال و ۰/۴۸- مگاپاسکال در یک سطح قرار داشتند ( $P > 0.05$ ). همچنین



شکل ۱. اثر تنش خشکی حاصل از PEG 6000 بر وزن تر و خشک اندام‌های هوایی (A, B)، وزن خشک ریشه (C) و نسبت ریشه به اندام‌های هوایی (D) ارقام متحمل (Ag) و حساس (Po4) کلزا (*B. napus*). میله‌ها نشان‌دهنده خطای استاندارد می‌باشند.

Fig. 1. Effect of PEG-induced drought stress on shoot fresh weight (A), shoot dry weight (B), root dry weight (C) and root to shoot ratio (D) in two tolerant and sensitive cultivar of canola (*B. napus*). Bars show the standard error.

داشت ( $P < 0.05$ ) که این کاهش نسبت به گروه شاهد در پتانسیل اسمزی ۰/۱۴-، ۰/۴۸-، ۰/۷۱- و ۱- مگاپاسکال به ترتیب در رقم متحمل ۶، ۳۳/۵، ۴۵/۵، ۵۶ درصد و در رقم حساس ۴۱، ۶۷/۳، ۷۴/۳ و ۷۷ درصد بود که موجب معنی‌دار شدن اثر متقابل خشکی حاصل از PEG و واریته‌ها بر وزن خشک اندام‌های هوایی شد ( $P < 0.05$ ).

نتایج تغییرات وزن خشک اندام‌های هوایی نشان داد که وزن خشک در هر دو رقم با کاهش پتانسیل اسمزی نسبت به گروه شاهد کاهش داشت (شکل ۱- B). در تنش خشکی کم (۰/۱۴- مگاپاسکال) این کاهش فقط در رقم حساس معنی‌دار بود. با کاهش پتانسیل اسمزی و افزایش تنش، وزن خشک ساقه‌چه در هر دو رقم نسبت به گروه شاهد کاهش

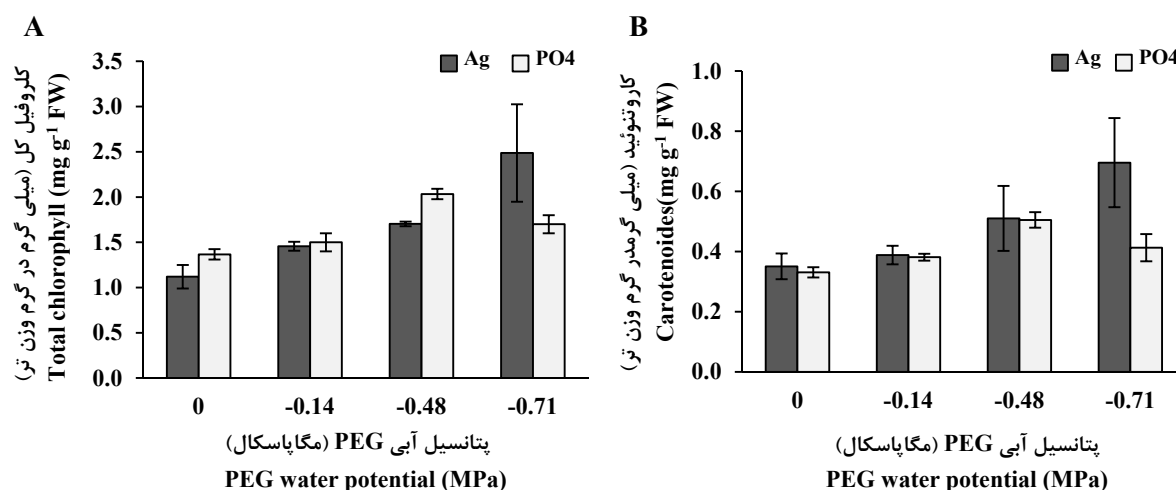
متوسط تا شدید (پتانسیل اسمزی  $-0.48$ ،  $-0.71$  و  $-1$  مگاپاسکال) در رقم  $PO_4$  از لحاظ آماری در یک سطح قرار داشتند ( $P>0.05$ ). نتایج این تحقیق با پژوهش کاسگرو و ویو (Cosgrove and Wu, 2000) مطابقت دارد. آن‌ها بیان کردند که ریشه‌ها در پتانسیل آبی  $0.02$  مگاپاسکال تا  $1/6$  مگاپاسکال قادر به رشد هستند. گرچه میزان رشد آن‌ها در پتانسیل‌های پایین (نزدیک به  $1/6$  مگاپاسکال) کاهش یافت، با این‌وجود رشد ساقه در پتانسیل‌های پایین کاملاً متوقف شده بود. همچنین، گیاهان تحت تنش خشکی با افزایش نسبت وزن ریشه به وزن اندام هوایی توانایی خود را برای جذب آب از خاک افزایش داده که این افزایش منجر به بالا بردن مقاومت گیاه به خشکی می‌شود (Xu et al., 2015; Luo et al., 2020). تغییرات وزن خشک ریشه و ساقه در تمام تیمارهای تنش خشکی در این آزمایش‌ها متحمل و حساس بودن ارقام را تأیید کرد.

#### تأثیر خشکی بر میزان کلروفیل کل و کاروتنوئیدها

نتایج حاصل از تنش خشکی بر تغییرات میزان کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در برگ رقم حساس و متحمل نشان داد که با کاهش پتانسیل اسمزی (افزایش تنش) میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ هر دو رقم افزایش می‌یابد (شکل ۲).

تغییرات چشمگیری در افزایش وزن خشک ریشه رقم متحمل تحت تنش خشکی کم ( $-0.14$  مگاپاسکال) نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. همان‌طور که در شکل ۱-C، مشاهده می‌شود، وزن خشک ریشه در رقم متحمل (Ag) در اکثر تیمارها برخلاف رقم حساس ( $PO_4$ ) با کاهش پتانسیل اسمزی، افزایش نشان داد. با افزایش تنش، وزن خشک ریشه رقم حساس ( $PO_4$ ) کاهش یافت. این کاهش تنها در پایین‌ترین سطح تنش خشکی معنی‌دار نبود ( $P>0.05$ ). با توجه به پاسخ متفاوت وزن خشک ریشه دو رقم مطابق جدول ۲، اثر متقابل خشکی حاصل از PEG و واریته‌ها بر وزن خشک ریشه معنی‌دار شد ( $P<0.05$ ). در تحقیقی روی دو گونه متحمل و حساس به تنش خشکی گندم مشخص شد وزن خشک و تعداد ریشه‌های فرعی هر دو گونه، برای دسترسی بهتر به آب در پاسخ به تنش خشکی، افزایش قابل‌توجهی داشتند و همواره این افزایش در رقم متحمل بیشتر از رقم حساس بود (Abdalla and Khoshiban, 2007).

نسبت ریشه به ساقه در هر دو رقم با کاهش پتانسیل آبی افزایش یافت. در رقم متحمل (Ag) در پتانسیل اسمزی  $-0.14$ ،  $-0.48$ ،  $-0.71$  و  $-1$  مگاپاسکال به ترتیب  $1.06/9$ ،  $1.28/1$  و  $1.79/3$  درصد و در رقم حساس ( $PO_4$ ) به ترتیب  $1.06/5$ ،  $1.33/1$  و  $1.57/1$  درصد نسبت به گروه شاهد افزایش داشت (شکل ۱-D). البته تنش خشکی



شکل ۲. اثر تنش خشکی حاصل از PEG 6000 بر میزان کلروفیل کل (A) و کاروتنوئیدها (B) در واریته‌های مقاوم (Ag) و حساس ( $PO_4$ ) کلزا (B. napus). میله‌ها نشان‌دهنده خطای استاندارد می‌باشند.

Fig. 2. Effect of PEG-induced drought stress on the concentration of total chlorophyll (A) and the concentration of carotenoids (B) in two tolerant and sensitive cultivar of canola (B. napus). Bars show the standard error

این افزایش در پایین‌ترین سطح تنش (پتانسیل اسمزی -۰/۱۴ مگاپاسکال) در هر دو رقم معنی‌دار نبود درحالی‌که در سطوح بالاتر تنش، میزان رنگیزه‌ها در هر دو رقم نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری نشان دادند. بیشترین افزایش رنگیزه‌ها در رقم حساس (Po4) در پتانسیل اسمزی -۰/۴۸ مگاپاسکال مشاهده شد ( $P < 0.05$ ) اما در رقم متحمل (Ag) حداکثر افزایش مربوط به پتانسیل اسمزی -۰/۷۱ بود. رقم حساس در بالاترین سطح تنش نسبت به پتانسیل اسمزی

۰/۴۸- مگاپاسکال برای کلروفیل کل و کاروتنوئیدها به ترتیب کاهش ۱۸ و ۲۷/۸ درصد را نشان داد ( $P < 0.05$ ) درحالی‌که میزان کلروفیل کل و کاروتنوئیدها برگ‌های رقم متحمل در این شرایط (پتانسیل اسمزی -۰/۷۱) افزایش قابل‌توجهی (بیشتر از ۲ برابر گروه شاهد) داشت. همچنین با توجه به پاسخ متفاوت رنگیزه‌های فتوسنتزی دو گونه نسبت به تنش، برهمکنش آن‌ها با تنش خشکی (رقم  $\times$  PEG) معنی‌دار شد (جدول ۲).

جدول ۲. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر خشکی و واریته و برهمکنش آن‌ها بر صفات جوانه‌زنی، رویشی و میزان رنگیزه‌های کلروفیلی، پرولین و فعالیت آنزیم پراکسیداز

Table 2. The analysis of variance (Mean of square) of drought, variety and their interaction on germination, vegetative traits and chlorophyll pigments, proline content and peroxidases activity

| وزن خشک         | وزن خشک          | وزن تر ساقه         | طول ساقه‌چه       | طول ریشه‌چه        | درصد جوانه‌زنی         | درجه آزادی | منابع تغییرات                        |
|-----------------|------------------|---------------------|-------------------|--------------------|------------------------|------------|--------------------------------------|
| ریشه            | ساقه             | Shoot fresh weight  | Hypocotyl length  | Root length        | Germination percentage | df         | S.O.V                                |
| Root dry weight | Shoot dry weight |                     |                   |                    |                        |            |                                      |
| 1.8*            | 21.6***          | 0.323***            | 482.9***          | 3414.1***          | 10129.8***             | 4          | خشکی<br>Drought (D)                  |
| 14.7***         | 11.4***          | 0.114***            | 2.1 <sup>ns</sup> | 232.4***           | 14.7 <sup>ns</sup>     | 1          | واریته<br>Cultivar (C)               |
| 3.9**           | 1.7***           | 0.012 <sup>ns</sup> | 4.3 <sup>ns</sup> | 31.2 <sup>ns</sup> | 3.5 <sup>ns</sup>      | 4          | واریته $\times$ خشکی<br>D $\times$ C |
| 84.2            | 0.23             | 0.005               | 2.7               | 11.1               | 11.9                   | 20         | خطا<br>Error                         |
| 4.4             | 9.3              | 12.04               | 20                | 15                 | 9.7                    |            | CV (%)                               |

Table 2. Continued

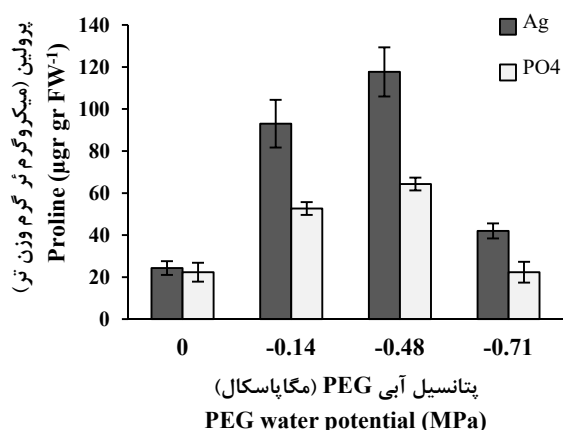
جدول ۲. ادامه

| فعالیت پراکسیداز      | فعالیت پراکسیداز      | میزان پرولین    | میزان کاروتنوئید   | میزان کلروفیل کل   | درجه آزادی | منابع تغییرات                        |
|-----------------------|-----------------------|-----------------|--------------------|--------------------|------------|--------------------------------------|
| ریشه                  | ساقه                  | Proline content | Carotenoid content | Total chlorophyll  | df         | S.O.V                                |
| POD activity in root  | POD activity in shoot |                 |                    |                    |            |                                      |
| 0.006***              | 0.002***              | 4750.8***       | 0.06***            | 0.88***            | 3          | خشکی<br>Drought (D)                  |
| 0.00003 <sup>ns</sup> | 0.001***              | 7812***         | 0.02 <sup>ns</sup> | 0.01 <sup>ns</sup> | 1          | واریته<br>Cultivar (C)               |
| 0.005***              | 0.00003 <sup>ns</sup> | 1541.2***       | 0.04**             | 0.39**             | 3          | واریته $\times$ خشکی<br>D $\times$ C |
| 0.00008               | 0.00002               | 53.5            | 0.004              | 0.04               | 16         | خطا<br>Error                         |
| 3.5                   | 9.86                  | 13.9            | 5.96               | 5.4                |            | CV (%)                               |

ns, \*, \*\* و \*\*\* به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و ۰/۱ درصد

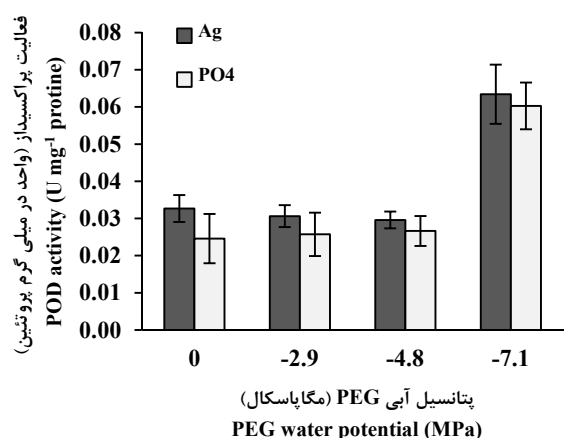
ns, \*, \*\* and \*\*\*: non-significant, significant at probability level 5%, 1% and 0.1% respectively

با افزایش تنش خشکی محتوای کلروفیل و کاروتنوئید برگ گیاهچه‌ها افزایش یافت که در مجموع این افزایش در رقم متحمل (Ag) بیشتر از رقم حساس (Po4) بود (شکل ۲). محتوای کلروفیل و کاروتنوئید در تنش خشکی وابسته به ژنوتیپ است. تحت تأثیر تنش خشکی، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در بعضی گونه‌ها افزایش و در بعضی دیگر کاهش



شکل ۳. اثر تنش خشکی حاصل از PEG 6000 بر میزان پرولین حاصل از برگ ارقام متحمل (Ag) و حساس (Po4) کلزا (*B.napus*) (میلها نشان‌دهنده خطای استاندارد می‌باشند).

Fig. 3. Effect of PEG-induced drought stress on the concentration of proline in two tolerant and sensitive cultivar of canola (*B. napus*). Bars show the standard error.



شکل ۴. اثر تنش خشکی حاصل از PEG 6000 بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (POX) حاصل از برگ ارقام متحمل (Ag) و حساس (Po4) کلزا (*B.napus*). میلها نشان‌دهنده خطای استاندارد می‌باشند.

Fig. 4. Effect of PEG-induced drought stress on the activities guaiacol peroxidase (POD) of leaves, in two tolerant and sensitive cultivar of canola (*B. napus*). Bars show the standard error

یکی از واکنش‌هایی که گیاهان به پتانسیل‌های آبی پایین محیطی نشان می‌دهند ساخت و تجمع اسیدهای آمینه غیرضروری مانند پرولین است که توسط آن پتانسیل آبی خود را نسبت به محیط منفی‌تر ساخته و می‌تواند از محیط آب

را نشان می‌دهد. علت افزایش آن‌ها در تنش خشکی کاهش آب در یاخته‌های مزوفیلی است که باعث افزایش تراکم سلول‌ها در واحد سطح شده و در نهایت باعث افزایش محتوای کلروفیل و کاروتنوئید می‌شود (Zhou et al., 2017). شوانز و همکاران (Schwanz et al., 1996) تنش خشکی را با تنظیم آبیاری بر درختان بلوط و کاج اعمال کردند. آن‌ها دریافتند گیاهان تحت تنش خشکی در مقایسه با گیاهانی که خوب آبیاری شده‌اند دارای محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها (در واحد گرم بر وزن خشک) بیشتری هستند. بنابراین، افزایش رنگ‌دانه‌های گیاهی در تنش خشکی، نوعی مکانیسم سازشی محسوب می‌شود. ساتوک و همکاران (Satoch et al., 2001) نیز در آزمایشی مشابه متوجه شدند که محتوای کلروفیل *Brassica* (کلزا هم‌جنسی از این خانواده است) توسط تنش کم‌آبی افزایش می‌یابد. در گیاهانی که در شرایط تنش خشکی با کاهش کلروفیل مواجه می‌شوند، فعال شدن آنزیم کلروفیل‌از و افزایش گونه فعال اکسیژن که به پراکسیداسیون لیپیدی و صدمه به غشاهای داخلی منجر شده، در نهایت با افزایش نشت الکترولیت‌ها باعث کاهش میزان کلروفیل می‌شود (Pirzad, 2011). در این پژوهش به نظر می‌رسد گیاه کلزا در تنش کم‌آبی با کاهش آب در یاخته‌های مزوفیلی، غلظت کلروفیل در واحد سطح را افزایش داده تا با ادامه فتوسنتز و ماده‌سازی بتواند این تنش را بهتر تحمل نماید.

### تأثیر سطوح خشکی بر میزان پرولین

نتایج حاصل از سنجش پرولین نشان داد (شکل ۳) که تنش خشکی کم و متوسط (به ترتیب پتانسیل اسمزی ۰/۱۴- و ۰/۴۸- مگاپاسکال) در هر دو رقم حساس و متحمل باعث افزایش معنی‌دار پرولین نسبت به گروه شاهد شد به نحوی که بیشترین مقدار پرولین در پتانسیل اسمزی ۰/۴۸- مگاپاسکال مشاهده شد. باین وجود در بالاترین سطح تنش (پتانسیل اسمزی ۰/۷۱- مگاپاسکال) هر دو رقم نسبت به سطوح تنش کم و متوسط کاهش معنی‌داری را نشان دادند به طوری که در رقم حساس (Po4) با گروه شاهد هم‌سطح شد ( $P > 0.05$ ). مقایسه میزان پرولین در هر دو رقم نشان داد که به جز گروه شاهد در مابقی سطوح تنش پتانسیل اسمزی، میزان پرولین در رقم متحمل (Ag) بیشتر از حساس (Po4) بود (شکل ۴). به همین دلیل مطابق جدول ۲ برهمکنش رقم بر تنش خشکی معنی‌دار بود ( $P < 0.01$ ).

به الگوی متفاوت فعالیت آنزیم در دو رقم، اثر متقابل رقم با PEG برای این آنزیم در ریشه معنی‌دار شد (جدول ۲).

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز ریشه گیاهچه‌های رقم حساس و متحمل بیشتر از فعالیت آن در برگ گیاهچه‌های هر دو رقم است. با افزایش تنش خشکی (تا پتانسیل اسمزی  $-0.48$  - مگاپاسکال) در برگ گیاهچه‌های رقم حساس و متحمل اختلاف معنی‌داری در فعالیت آنزیم با گروه شاهد مشاهده نشد. در حالی که در تنش خشکی شدید (پتانسیل‌های اسمزی  $-0.71$  - مگاپاسکال) فعالیت آنزیم نسبت به گروه شاهد و پتانسیل‌های اسمزی بالاتر در برگ گیاهچه‌های هر دو رقم به دو برابر افزایش یافت. تنش خشکی باعث به وجود آمدن گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود که باعث اکسیده شدن رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی، غشاهای لیپیدی و اسیدهای نوکلئیک سلول‌های گیاهی می‌شود (You and Chan, 2015; Laxa et al., 2019). در حالی که در تنش خشکی شدید (پتانسیل‌های اسمزی  $-0.71$  - مگاپاسکال) فعالیت آنزیم نسبت به گروه شاهد و پتانسیل‌های اسمزی بالاتر در برگ گیاهچه‌های هر دو رقم به دو برابر افزایش یافت. تنش خشکی باعث به وجود آمدن گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود که باعث اکسیده شدن رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی، غشاهای لیپیدی و اسیدهای نوکلئیک سلول‌های گیاهی می‌شود (You and Chan, 2015; Laxa et al., 2019).

گیاهان توسط سنتز آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند کاروتنوئیدها، آسکوربات، آلفا توکوفرول ( $\alpha$ -tocopherol)، گلوکاتایون، فلاونوئیدها و افزایش آنزیم‌های اکسیدکننده مثل پراکسیدازها، سوپراکسیدازها و کاتالاز از صدمات حاصل از ROS در امان می‌مانند (Laxa et al., 2019). سیستم آنتی‌اکسیدان چندین گیاه مانند توت آمریکایی (Khaleghi et al., 2019)، چغندرقد (Ghaffari et al., 2019) و ارقام سیب‌زمینی (Alhoshan et al., 2019) در واکنش به تنش خشکی بررسی شده است که هر کدام از آن‌ها با سیستم محافظتی مخصوص به خود عمل می‌نمایند. در تنش‌ها فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با کاهش رشد همراه شده که با نتایج حاصل از آزمایش‌های این تحقیق مطابقت دارد. فعالیت بیشتر آنزیم گایاکول پراکسیداز ریشه نسبت به برگ می‌تواند به علت تولید اکسیژن رادیکالی بیشتر در قسمت‌های زیرزمینی باشد که در تماس مستقیم با تیمار موردنظر هستند. باین‌حال با افزایش تنش میزان اکسیژن فعال در برگ‌ها با داشتن نقش فتوسنتزی، بیش از

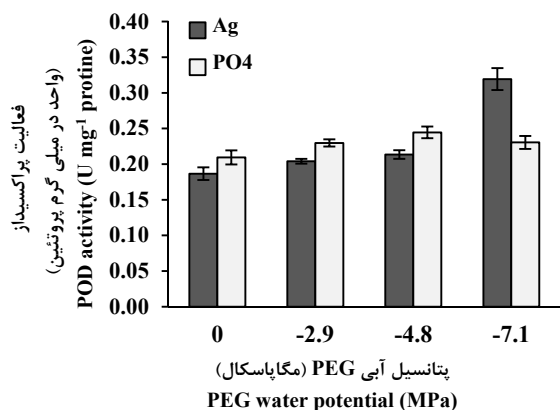
جذب نمایند (Moreno-Galván et al., 2020) که با نتایج این تحقیق در تنش خشکی کم و متوسط مطابقت دارد.

تجمع پرولین در گیاهان رابطه مستقیم با افزایش مقاومت به اغلب تنش‌ها دارد. گزارش‌های مشابهی در مورد تنش کم‌آبی و تجمع پرولین در گیاه نیشکر، برنج و ریحان وجود دارد که تجمع پرولین در سیتوپلاسم را به‌عنوان اسموتیکم و عامل حفاظت ساختار ماکرومولکول‌ها در محیط‌هایی که تعادل یونی به‌هم‌خورده معرفی می‌کنند (Devi et al., 2018; Dien et al., 2019; Taha et al., 2020). طبق گزارش‌های یادشده در بالا، گیاهان تحت تنش با افزایش پرولین، عملکرد سازشی خود را از طریق حفظ فشار تورگر، حمایت از ماکرومولکول‌ها و غشاهای سلولی اعمال می‌کنند که در رقم متحمل این سازگاری بارزتر است. باین‌حال کاهش بیش‌ازحد پتانسیل آبی محیط (در پتانسیل اسمزی  $-0.71$  - مگاپاسکال)، اثر بازدارنده بر بیوسنتز پرولین اعمال می‌کند. بنابراین، سنتز پرولین کاهش‌یافته ولی باین‌حال مقدار پرولین در رقم متحمل (Ag) بیش از گروه شاهد است.

#### تأثیر سطوح خشکی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز

در حضور تنش‌های خشکی مختلف فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (POX) حاصل از برگ رقم حساس ( $Po4$ ) و متحمل (Ag) نسبت به گروه شاهد فقط در بالاترین سطح تنش (پتانسیل اسمزی  $-0.71$  - مگاپاسکال) افزایش معنی‌دار را نشان داد (شکل ۴) و در مابقی تیمارها با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت ( $P>0.05$ ). الگوی مشابه فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز حاصل از برگ رقم حساس ( $Po4$ ) و متحمل (Ag) باعث شد تا مطابق جدول ۲، برهمکنش رقم و تنش خشکی (PEG) معنی‌دار نشود.

داده‌های حاصل از تنش خشکی بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز استخراج‌شده از ریشه مطابق شکل ۵ نشان داد که فعالیت آنزیم رقم متحمل (Ag) در تنش خشکی کم (پتانسیل اسمزی  $-0.14$ ) با گروه شاهد از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نداشت ( $P>0.05$ ) اما در سطح خشکی متوسط و به‌ویژه در سطح خشکی بالا (پتانسیل اسمزی  $-0.71$  - مگاپاسکال)، افزایش  $1/7$  برابری فعالیت آنزیم نسبت به گروه شاهد مشاهده شد ( $P<0.05$ ). فعالیت آنزیم در رقم حساس ( $Po4$ ) در تمام سطوح تنش نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار داشت اما تیمارها باهم اختلاف نداشته و از لحاظ آماری در یک سطح قرار گرفتند ( $P>0.05$ )؛ بنابراین با توجه



شکل ۵. اثر تنش خشکی حاصل از PEG 6000 بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (POX) حاصل از ریشه ارقام متحمل (Ag) و حساس (Po4) کلزا (B.napus). میله‌ها نشان‌دهنده خطای استاندارد می‌باشند.

Fig. 5. Effect of PEG-induced drought stress on the activities guaiacol peroxidase (POD) of roots, in two tolerant and sensitive cultivar of canola (B. napus). Bars show the standard error.

#### تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه پیام نور استان اصفهان به دلیل حمایت مالی از این تحقیق صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

ریشه‌ها شده است در نتیجه فعالیت آنزیم در این قسمت بیشتر افزایش می‌یابد.

#### نتیجه‌گیری نهایی

نتایج حاصل از فاکتورهای جوانه‌زنی در این تحقیق نشان داد که این عوامل نمی‌توانند تأییدی بر حساس و متحمل بودن ارقام مورد مطالعه در این پژوهش باشند بلکه آزمایش‌های بعدی در محیط کشت هیدروپونیک تأیید کننده متحمل و حساس بودن ارقام بود. رقم متحمل، تحت تنش شدید خشکی به کمک سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی گایاکول پراکسیداز و غیر آنزیمی کاروتنوئیدی و پرولین به‌طور مؤثری ROS را حذف کرده و کارایی فتوسنتز آن در نتیجه‌ی تجمع بیشتر رنگیزه‌های فتوسنتزی افزایش یافت. انباشت بیشتر اسموتیکوم پرولین، باعث حفظ تعادل آبی شده که این مکانیسم‌ها بخشی از سازوکارهای مقاومت به کم‌آبی در رقم متحمل به حساب می‌آیند.

#### منابع

- Abdalla, M.M., El-Khoshiban, N.H., 2007. The influence of water stress on growth, relative water content, photosynthetic pigments, some metabolic and hormonal contents of two Triticum aestivum cultivars. Journal of Applied Sciences Research. 3, 2062-2074.
- Abido, W.A.E., Zsombik, L., 2018. Effect of water stress on germination of some Hungarian wheat landraces varieties. Acta Ecologica Sinica. 38, 422-428.
- Alhoshan, M., Zahedi, M., Ramin, A.A., Sabzalian, M.R., 2019. Effect of soil drought on biomass production, physiological attributes and antioxidant enzymes activities of potato cultivars. Russian Journal of Plant Physiology. 66, 265-277.
- Anjum, S.A., Ashraf, U., Tanveer, M., Khan, I., Hussain, S., Shahzad, B., Wang, L.C., 2017. Drought induced changes in growth, osmolyte accumulation and antioxidant metabolism of three maize hybrids. Frontiers in Plant Science, 8.
- Arnon, D.I., 1959. Photosynthesis by isolated chloroplast. IV. Central concept and comparison of three photochemical reactions. Biochemica et Biophysica Acta. 20, 40-446.
- Basu S, Ramegowda V, Kumar A and Pereira A. Plant adaptation to drought stress [version 1; peer review: 3 approved]. F1000Research 2016, 5(F1000 Faculty Rev),1554 <https://doi.org/10.12688/f1000research.7678.1>
- Bate, L.S., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil. 39, 205-207.
- Cartea, E., Haro-Bailón, D., Padilla, G., Obregón-Cano, S., del Rio-Celestino, M., Ordás, A., 2019. Seed oil quality of *Brassica napus* and *Brassica rapa* germplasm from Northwestern Spain. Foods. 8, 292.
- Devi, K., Gomathi, R., Kumar, R.A., Manimekalai, R., Selvi, A., 2018. Field tolerance and recovery potential of sugarcane varieties subjected to drought. Indian Journal of Plant Physiology. 23, 271-282.

- Dien, D.C., Thu, T.T.P., Moe, K., Yamakawa, T., 2019. Proline and carbohydrate metabolism in rice varieties (*Oryza sativa* L.) under various drought and recovery conditions. *Plant Physiology Reports*. 24(3), 376-387.
- Faisal, S., Mujtaba, S.M., Mahboob, W., 2019. Polyethylene Glycol Mediated Osmotic Stress Impacts on Growth and Biochemical Aspects of Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Crop Science and Biotechnology*. 22, 213-223.
- Ghaffari, H., Tadayon, M.R., Nadeem, M., Cheema, M., Razmjoo, J. 2019. Proline-mediated changes in antioxidant enzymatic activities and the physiology of sugar beet under drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum*. 41, 23. <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2815-z>
- Gholami, M., Rahemi, M., Kholdebarin, B., 2010. Effect of drought stress induced by polyethylene glycol on seed germination of four wild almond species. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 4, 785-791.
- Hadian, F., Jafari, R., Bashari, H., Tarkesh, M., Clarke, K.D., 2019. Effects of drought on plant parameters of different rangeland types in Khansar region, Iran. *Arabian Journal of Geosciences*. 12, 93.
- Haworth, M., Centritto, M., Giovannelli, A., Marino, G., Proietti, N., Capitani, D., Loreto, F., 2017. Xylem morphology determines the drought response of two *Arundo donax* ecotypes from contrasting habitats. *Gcb Bioenergy*. 9, 119-131.
- Khaleghi, A., Naderi, R., Brunetti, C., Maserti, B.E., Salami, S.A., Babalar, M., 2019. Morphological, physiochemical and antioxidant responses of *Maclura pomifera* to drought stress. *Scientific Reports*. 9, 1-12.
- Laxa, M., Liebthal, M., Telman, W., Chibani, K., Dietz, K. J., 2019. The role of the plant antioxidant system in drought tolerance. *Antioxidants*. 8, 94.
- Lichtenthaler, H.K., Wellburn, A.R., 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*. 11, 591-592.
- Luo, Y.Z., Li, G., Yan, G., Liu, H., Turner, N.C., 2020. Morphological Features and Biomass Partitioning of Lucerne Plants (*Medicago sativa* L.) Subjected to Water Stress. *Agronomy*. 10, 322.
- Mac-Adam, J.W. Nelson Sharp, C.J., 1992. Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue. *Plant Physiology*. 99, 872-878.
- Michel, B.E., Kaufmann, M.R., 1973. The osmotic potential of polyethylen glycol 6000. *Plant Physiology*. 67, 64-67.
- Mickky, B.M., Aldesuquy, H.S., 2017. Impact of osmotic stress on seedling growth observations, membrane characteristics and antioxidant defense system of different wheat genotypes. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*. 4, 47-54.
- Moreno-Galván, A.E., Cortés-Patiño, S., Romero-Perdomo, F., Uribe-Vélez, D., Bashan, Y., Bonilla, R. R., 2020. Proline accumulation and glutathione reductase activity induced by drought-tolerant rhizobacteria as potential mechanisms to alleviate drought stress in Guinea grass. *Applied Soil Ecology*. 147, 103367.
- Per, T.S., Khan, N.A., Reddy, P.S., Masood, A., Hasanuzzaman, M., Khan, M.I.R., Anjum, N.A., 2017. Approaches in modulating proline metabolism in plants for salt and drought stress tolerance: Phytohormones, mineral nutrients and transgenics. *Plant Physiology and Biochemistry*. 115, 126-140.
- Pirzad, A., Shakiba, M.R., Zehtab-Salmasi, S., Mohammadi, S.A., Darvishzadeh, R., Samad, R., 2011. Effect of water stress on leaf relative water content, chlorophyll, proline and soluble carbohydrates in *Matricaria chamomilla* L. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5, 2483-2488.
- Plewa, M.J., Smith, S.R., Wagner, E.D., 1991. Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. *Mutation Research-Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 247:57-64.
- Saidi, A., Ookawa, T., Hirasawa, T., 2010. Responses of root growth to moderate soil water deficit in wheat seedlings. *Plant Production Science*. 13, 261-268.
- Salehi-Eskandari, B., Ghaderian, S.M., Ghasemi, R., Schat, H., 2017. Optimization of seed germination in an Iranian serpentine endemic, *Fortuynia garcinii*. *Flora*. 231, 38-42.
- Salehi-Lisar S.Y., Bakhshayeshan-Agdam H. (2016) Drought stress in plants: causes, consequences, and tolerance. In: Hossain, M., Wani, S., Bhattacharjee, S., Burritt, D., Tran,

- LS. (eds), Drought Stress Tolerance in Plants, Vol 1. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-28899-4\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-28899-4_1)
- Satoch, H., Uchid, A., Nakayaina, K. Okada, M., 2001. Water-soluble chlorophyll protein in Brassicaceae plant is a stress induce chlorophyll-binding protein. Plant and Cell Physiology. 42, 906-911.
- Schwanz, P., Picon, C., Vivin, P., Dreyer, E., Guchl, J. M. Polle, A., 1996. Response of antioxidative system to drought stress in pendaculate oak and maritime pine as modulated by elevated CO<sub>2</sub>. Plant Physiology. 110, 393-402.
- Sevanto, S., 2018. Drought impacts on phloem transport. Current Opinion in Plant Biology. 43, 76-81.
- Taha, R.S., Alharby, H.F., Bamagoos, A.A., Medani, R.A., Rady, M.M., 2020. Elevating tolerance of drought stress in *Ocimum basilicum* using pollen grains extract; a natural biostimulant by regulation of plant performance and antioxidant defense system. South African Journal of Botany. 128, 42-53.
- Time, A., Garrido, M., Acevedo, E., 2018. Water relations and growth response to drought stress of *Prosopis tamarugo* Phil. A review. Journal of Soil Science and Plant Nutrition. 18, 329-343.
- Ullah, A., Manghwar, H., Shaban, M., Khan, A.H., Akbar, A., Ali, U., Fahad, S., 2018. Phytohormones enhanced drought tolerance in plants: a coping strategy. Environmental Science and Pollution Research. 25, 33103-33118.
- Wu, Y., Cosgrove, D. J., 2000. Adaptive of root to low water potential by change in cell wall extensibility and cell wall proteins. Journal of Experimental Botany. 51, 1543-1553.
- Xu, W., Cui, K., Xu, A., Nie, L., Huang, J., Peng, S., 2015. Drought stress condition increases root to shoot ratio via alteration of carbohydrate partitioning and enzymatic activity in rice seedlings. Acta Physiologiae Plantarum. 37, 9.
- You, J., Chan, Z., 2015. ROS regulation during abiotic stress responses in crop plants. Frontiers in plant science. 6, 1092.
- Zhou, R., Yu, X., Ottosen, C. O., Rosenqvist, E., Zhao, L., Wang, Y., Wu, Z., 2017. Drought stress had a predominant effect over heat stress on three tomato cultivars subjected to combined stress. BMC Plant Biology. 17, 1-13.