دانشگاه گنبد کاووس
نشریه "تحقیقات کاربردی اکوفیزیولوژی گیاهی"
دوره چهارم، شماره اول، فروردین و اردیبهشت ۹۶
http://arpe.gonbad.ac.ir

تأثیر محلول‌پاشی پرولین بر ویژگی‌های بیوشیمیایی بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.) در شرایط تنش آبی

حکیمه درویژه[1*]، محسن زواره[2]، محمود قاسم‌نژاد[3]
[1]دانشجوی دکترای گروه زراعت، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
[2]استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان
[3]دانشیارگروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان
تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۲/۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۵/۲۸

چکیده

مقدمه: تنش کم‌آبی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزنده است که به‌طور جدی تولید گیاهان را کاهش می‌دهد. به‌همین دلیل، راهکارهای مختلفی برای کاهش آسیب‌های سلولی ایجاد شده در طی تنش و بهبود تحمل به کم‌آبی پیشنهاد می‌شود. بنابراین، هدف از این تحقیق بررسی اثر محلول‌پاشی پرولین بر عملکرد کمی و کیفی بابونه آلمانی در شرایط تنش کم آبی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور تنش کم آبی (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ تخلیه از حد ظرفیت زراعی) و محلول‌پاشی پرولین (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و با سه تکرار در دانشگاه گیلان در سال ۱۳۹۱ انجام شد. مقدار پرولین درون‌زاد، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز، میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کلروفیل a/b و کاروتنوئیدها اندازه‌گیری شدند.

نتایج: نتایج نشان داد که، کم‌آبی به تنهایی روی مقدار کلروفیل a، فعالیت کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و پرولین درون‌زاد تاثیر معنی‌دار داشت. هم‌چنین کاربرد پرولین برون‌زاد بر همه ویژگی‌های اندازه‌گیری شده تاثیر معنی‌دار داشت. در این آزمایش کلروفیل a، کلروفیل کل، کلروفیل a/b، فعالیت کاتالاز و

*نویسنده مسئول: hdarvizhe@yahoo.com

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-12-05]

پراکسیداز تحت تاثیر معنی‌دار برهمکنش کم‌آبی و کاربرد پرولین قرار گرفت. مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبی و پرولین نشان داد که، بیشترین مقدار کلروفیل a، کلروفیل کل و کلروفیل a/b مربوط به تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر پرولین در شرایط عدم تنش (شاهد) بود. هم‌چنین بیشترین میزان آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در تنش خشکی ۷۵ درصد ظرفیت زراعی با کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پرولین بدست آمد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که، با افزایش شدت کم‌آبی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و میزان پرولین زیاد شده؛ در حالی‌که مقدار کلروفیل برگ‌ها کاهش می‌یابد. هم‌چنین مشاهد شد که افزایش شدت کمبود آب مقدار پرولین درون‌زاد را هم بیشتر می‌کند که یک پاسخ دفاعی در برابر کمبود آب می‌باشد. در کل، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در کنار افزایش مقدار پرولین درون‌زاد در شرایط کم‌آبی و با کاربرد پرولین برون‌زاد بیانگر آن است که کاربرد پرولین برون‌زاد می‌تواند اثرات نامطلوب کم‌آبی را تا حدودی جبران کند.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تنش کم‌آبی، عملکرد کمی و کیفی، پرولین، بابونه

مقدمه

گیاهان در طول دوره رشد خود با تنش‌های مختلفی روبه‌رو می‌شوند که اثر آن‌ها بر رشد و عملکرد گیاه بسته به شدت تنش، حساسیت و مرحله رشد گونه گیاهی متفاوت خواهد بود. تنش خشکی به‌عنوان یکی از عوامل مهم محدودکننده زراعت و رشد گیاهان مناطق خشک و نیمه‌خشک از جمله ایران محسوب می‌شود که بر مقدار تولیدات کشاورزی تأثیر منفی می‌گذارد، در چنین شرایطی کشت گیاهان دارویی ممکن است با تولید ماده مؤثره بیشتر، بازده اقتصادی بالاتری داشته باشد (Askari and Ehsanzadeh, 2015).

رادیکال‌های آزاد، واکنش‌گرهای بسیار قوی هستند که در طی تنش افزایش یافته و موجب آسیب به مولکول‌های دیگر شده و یا عملکرد آن‌ها را تغییر می‌دهند. گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از تنش‌های غیرزنده، دارای سیستم دفاعی با کارایی بالایی هستند که می‌تواند رادیکال‌های آزاد را از بین برده و یا خنثی کنند (Smirnoff, 2005). این سیستم دفاعی شامل آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند آسکوربات، گلوتاتیون، توکوفرول و کاروتنوئیدها و آنزیم‌های سمیت‌زدایی مانند سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیداز و پراکسیداز می‌باشد (Smirnoff, 2005). علت تنوع سیستم‌های دفاعی به این خاطر است که، انواع اکسیژن‌های واکنش‌زا در سلول‌ها و بخش‌های مختلف تولید شده از نظر ویژگی‌هایی، چون توانایی انتشار، حلالیت و تمایل به شرکت در واکنش با مولکول‌های بیولوژیک باهم متفاوت هستند.

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-12-05]

تحقیقات نشان داده است که، ارتباط بسیار قوی بین میزان تحمل به تنش‌های اکسیداتیو ایجاد شده توسط تنش‌های محیطی و افزایش میزان غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان فتوسنتز کننده وجود دارد (Sairam and Srivastava, 2002). کاتالاز و پراکسیداز دو آنزیم مهم در مقابله با پراکسید هیدروژن می‌باشند. گزارش شده که پراکسیداز پس از کاتالاز در درجه دوم اهمیت در حذف پراکسید هیدروژن قرار دارد (Cook *et al*., 2004). تولید کاتالاز در گیاهانی که تحت شرایط تنش قرار گرفته‌اند افزایش مقاومت گیاهان به شرایط تنش را به‌دنبال خواهد داشت (Guan *et al*., 2009). در شرایط تنش خشکی میزان کاتالاز در گوجه‌فرنگی (Sanchez-Rodriguez *et al*., 2010)، یونجه (Wang *et al*., 2009) و بادام‌زمینی (Akcy *et al*., 2010) افزایش پیدا کرده است.

آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز نیز از مهم‌ترین آنزیم‌های درگیر در تبدیل پراکسید هیدروژن به آب می‌باشند. آنزیم آسکوربات پراکسیداز در چرخه گلوتاتیون-آسکوربات حضور دارد که این چرخه معمولاً در کلروپلاست، سیتوسل (Mittler, 2002)، پراکسی زوم (Del Rio *et al*., 2006) و میتوکندری فعال می‌باشد. گیاهان برای مقابله با تنش‌های اکسیداتیو مقدار آنزیم آسکوربات پراکسیداز را افزایش می‌دهند. افزایش مقدار این آنزیم در شرایط تنش خشکی در گندم (Abdullah and Ghamdi, 2009)، زیتون (Sofo *et al*., 2008) گزارش شده است. هم‌چنین در شرایط تنش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز افزایش پیدا کرده و از گیاه در برابر آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن محافظت می‌کند (Moussa and Abdel-Aziz, 2008). افزایش میزان آنزیم پراکسیداز در مواجهه با تنش در علف تال (گیاه آرابیدوبسیس) (Jung, 2004) و گندم (Shao *et al*., 2007) گزارش شده است.

کلروفیل‌ها و رنگیزه‌های کمکی جمع‌آوری‌کننده نور، در غشای تیلاکوئیدی قرار دارند که انتقال انرژی به مجموعه‌های جمع‌آوری‌کننده و انتقال در مرکز واکنشی را تسریع می‌کند. هم‌چنین فتوسنتز تنها فرآیند زیستی مهمی است که قادر است از این انرژی بهره‌برداری کند (kafi *et al*., 2009). مقدارکلروفیل برگ به‌عنوان یکی از مهم‌ترین معیارهای تعیین‌کننده فشار محیطی وارد بر گیاهان است که در شرایط تنش مقدار آن کاهش یافته و به دنبال آن میزان جذب نور توسط گیاه روند کاهشی پیدا خواهد کرد (Zarco-Tejada *et al*., 2000). کاروتنوئیدها نیز به‌عنوان رنگدانه‌های فرعی، نقش جمع‌کننده نور فتوسنتز را بر عهده دارند و تا حدود زیادی از سلول‌ها در مقابل آثار زیان‌بار تنش نوری محافظت می‌کنند (Carter and Knapp., 2001). این رنگدانه‌ها نقش مهمی در جذب نور و هم‌چنین بازتاب نور از سطح برگ را برعهده دارند (Arnon and Sairam, 2002).

بابونه آلمانی گیاهی از تیره کاسنی و از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی شناخته شده است که بومی منطقه مدیترانه، اروپا و آسیای صغیر می‌باشد. اسانس آن آرام‌بخش و تحریک‌کننده گلبول‌های سفید

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-12-05]

خون، تقویت‌کننده سیستم دفاعی بدن ضد باکتری گرم مثبت (استرپتوکوکوک و لاکتوباسیل)، ضد حساسیت، ضد اسپاسم از بین برنده نفخ و کولیک می‌باشد (Alexandra, 2005).

میزان کلروفیل در گیاه بابونه آلمانی در شرایط تنش خشکی به مقدار قابل توجهی نسبت به شرایط بدون تنش کاهش یافت (Pirzad *et al*., 2009). نتایج نشان می‌دهد که، تنش خشکی، توانایی کاهش غلظت کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدهای بافت را دارد و این کاهش به‌طور عمده با تولید رادیکال‌ها در تیلاکوئید در ارتباط می‌باشد (Jaleel *et al*., 2009). صفی‌خانی و همکاران (Safikhani *et al*., 2007) در تحقیقات خود با اعمال تیمارهای ۴۰، ۶۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی در گیاه بادرشبو نتیجه گرفت که بیش‌ترین عملکرد اسانس، قند محلول، کلروفیل a و کلروفیل کل به ترتیب مربوط به تیمارهای ۴۰، ۶۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی بود. مطالعه فاتیان (Fathian, 2008) بر روی گیاه گلرنگ، نشان داد که تنش خشکی منجر به افزایش ۸۳ درصدی پرولین نسبت به حالت شاهد شده است،که این افزایش به تداوم رشد گیاه تا پایان دوره رشد کمک می‌کند.

راهکارهای متعددی برای کاهش میزان آسیب سلولی ناشی از تنش‌های غیرزنده و افزایش تحمل به آن وجود دارد که یکی از این راهکارها استفاده از مواد اسمولیت مانند پرولین، گلایسین بتائین، ترهالوز و غیره به‌صورت محلول‌پاشی می‌باشد؛ که به‌طور چشم‌گیری باعث کاهش اثرات مخرب تنش در گیاهان می‌شوند. از این میان کاربرد پرولین (برون‌زاد)، روش کارآمدی برای کاهش اثرات نامطلوب تنش‌ها بوده و میزان تأثیر محلول‌پاشی پرولین بر گیاهان، به گونه گیاهی، مرحله رشد گیاه، زمان استفاده و میزان غلظت پرولین بستگی دارد (Ashraf and Foolad, 2007). استفاده از اسید آمینه پرولین به‌صورت محلول‌پاشی در غلظت‌های کم تا حدود بسیار زیادی تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی را بهبود می‌بخشد (Deivanai *et al*., 2011). درعین‌حال غلظت بالای پرولین در بسیاری از موارد برای گیاهان بوده و در مواردی نیز بر روی متابولیسم‌های حیاتی گیاهان اثرات منفی و جبران‌ناپذیر را بر جای می‌گذارد و باعث مهار رشد می‌شود (Nanjo *et al*., 2003).

کارایما و همکاران (Karima *et al*., 2005) در آزمایشی دریافتند که محلول‌پاشی اسیدهای آمینه باعث افزایش قابل توجه ارتفاع بوته، تعداد ساقه‌های فرعی، وزن تر و خشک گیاه بابونه می‌شود که این یافته مشابه یافته‌های (Attoa *et al*., 2002) در گیاه بابونه است. محلول‌پاشی پرولین در شرایط تنش خشکی به‌طور قابل توجهی درصد و عملکرد اسانس را در گیاهان ریحان و بابونه افزایش داد (*et al*., Gamal EL-Din 2005). محلول‌پاشی پرولین به‌طور قابل توجهی اثرات منفی تنش شوری بر درصد جوانه‌زنی، رشد و محتوای کلروفیل دو رقم گندم را کاهش داد (Talat *et al*., 2013). خلیل و ال‌نومنی (Khalil and El-Noemani., 2012) در مطالعه دیگری که بر روی رشد، عملکرد و برخی از فعالیت‌های متابولیک در گیاه (*Lepidium sativum* L.) تحت فواصل مختلف آبیاری (۵، ۱۰ و ۱۵

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-12-05]

روز) و محلول‌پاشی پرولین (۱، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار) در افزایش تحمل به خشکی انجام دادند، دریافتند که محلول‌پاشی پرولین باعث بهبود مقاومت گیاهان تحت سطوح مختلف کم‌آبی می‌شود. آزمایشی که کایا و همکاران (Kaya *et al*., 2007) بر روی گیاه خربزه در شرایط تنش شوری انجام دادند نشان داد که کاربرد پرولین خارجی تا حدود بسیار زیادی اثر تنش شوری را کاهش می‌دهد؛ و باعث افزایش عملکرد میوه، وزن خشک بوته، مقدار کلروفیل، تعداد روزنه و محتوای آب نسبی نسبت به شرایط تنش و عدم مصرف پرولین شده است. هوکو و همکاران (Hoque *et al*., 2007) در آزمایشی که بر روی تنباکو انجام دادند، دریافتند که استفاده از پرولین برون‌زاد به‌علت افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، نقش مهمی در کاهش اثرات تنش ایفا می‌کند. علی و همکاران (Ali *et al*., 2007) در پژوهشی که بر روی ذرت انجام شد، بیان داشتند که تنش خشکی باعث کاهش رشد، میزان کلروفیل a و b شد. اما محلول‌پاشی پرولین در شرایط تنش خشکی، بهبود رشد و افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی را به‌دنبال داشت.

این پژوهش با هدف بررسی تأثیر سطوح مختلف تنش کم‌آبی و کاربرد پرولین برون‌زاد بر ویژگی‌های بیوشیمیایی بابونه آلمانی و تعیین میزان مقاومت این گیاه در برابر سطوح مختلف کم‌آبی و این‌که آیا کاربرد پرولین برون‌زاد می‌تواند به‌عنوان روشی کارآمد برای کاهش اثرات نامطلوب تنش‌ها در گیاهان، مورد استفاده قرار گیرد. صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در بهار و تابستان سال ۱۳۹۱ در دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان با عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۱۶ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۳ دقیقه‌ی شرقی از نصف النهار گرینویچ با ارتفاع ۷ متر از سطح دریای آزاد با هدف بررسی اثر چهار سطح رژیم آبیاری (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد تخلیه رطوبت ظرفیت زراعی) و محلول‌پاشی با پرولین در سه سطح (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به‌صورت گلدانی اجرا شد.

بذور تهیه شده از شرکت پاکان بذر اصفهان با قوه نامیه حدود ۹۵ درصد، سال ۱۳۹۰ در گلدان‌های کوچک (خاک گلدان مخلوطی به نسبت ۱:۱:۲ از خاک رس، کمپوست و ماسه و بافت لومی رسی با چگالی ظاهری ۱/۴۹ گرم بر سانتی‌متر مکعب و رسانایی الکتریکی ۱/۲۲ دسی‌زیمنس بر متر و هم‌چنین ظرفیت زراعی و نقطه پژمردگی خاک به‌ترتیب ۲۳ و ۱۰ درصد وزنی) با قطر متوسط شش و ارتفاع هشت سانتی‌متر کشت و سپس نشاءها در اردیبهشت ۱۳۹۱ به گلدان‌های با ارتفاع و قطر متوسط ۳۰ سانتی‌متر منتقل شدند. بوته‌های اضافه از استقرار کامل نشاءها تنک شدند؛ به‌گونه‌ای که

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-12-05]

در هر گلدان دو بوته باقی گذاشته شد. میزان رطوبت و دمای محیط به کمک دستگاه رطوبت‌سنج و دماسنج استفاده شد.

تیمار محلول‌پاشی پرولین از شرکت مرک با درصد خلوص ۹۵ درصد به شکل پودر (محلول در آب)، در دو مرحله، ۳۰ روز پس از کشت بذر (مرحله دو تا سه برگی) قبل از انتقال به گلدان اصلی و پس از اعمال تنش کم‌آبی در مرحله ساقه‌روی، در عصر و در هوای ملایم و صاف با استفاده از سم‌پاش دستی اعمال گردید؛ به‌طوری که برگ‌های گیاه کاملاً خیس شده و به‌منظور بهبود جذب برگی پرولین، از تریتون X100 با غلظت ۰/۰۱ درصد (Arab *et al.*,2017) استفاده شد. هم‌چنین تیمار کم‌آبی تا مرحله‌ی پایان گل‌دهی ادامه داشت. برای تعیین وضعیت رطوبتی خاک از TDR استفاده استفاده گردید. نمونه‌برداری نیز در مراحل گلدهی کامل انجام شد.

میزان پرولین به روش بتیس و همکاران (Bates *et al.*, 1973) با استفاده از اسکپتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای تعیین میزان مقدار کلروفیل a، b و کلروفیل کل و کاروتنوئید برگ از روش لیچتن‌تالر و ولبورن (Lichtenthaler and Wellburn, 1983) استفاده گردید. بدین منظور ۰/۱ گرم بافت تازه با کمک نیتروژن مایع در داخل هاون چینی آسیاب شده و به آن یک میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد اضافه گردید. محلول حاصل صاف شده و حجم آن به یک میلی‌لیتر رسانده شد و سپس جذب محلول صاف شده در طول موج‌های ۶۴۶/۲، ۶۶۳/۲ و ۴۷۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید، و با استفاده از روابط زیر مقدار کلروفیل و کاروتنوئید محاسبه شد.

$$\text{Cholorophyll a (mg/ml)} = 12.25(A_{663.2})-2.79(A_{646.8}) \quad \text{(رابط ۱)}$$

$$\text{Cholorophyll b (mg/ml)} = 21.50(A_{646.2})-5.10(A_{663.2}) \quad \text{(رابطه ۲)}$$

$$\text{Cholorophyll a+b(mg/ml)} = Chl_a + Chl_b \quad \text{(رابطه ۳)}$$

$$\text{Carotenoid } (\mu g/ml) = (1000(A_{470})-1.8(Chl_a) -85.02(Chl_b))/198 \quad \text{(رابط ۴)}.$$

در این روابط؛ رابطه ۱، رابطه ۲، رابطه ۳ و رابطه ۴ به‌ترتیب کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید را نشان می‌دهد. $A_{663.2}$، $A_{646.8}$ و A_{470} به‌ترتیب جذب در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر هستند.

فعالیت آنزیم کاتالاز به روش چینس و ماهلی (Chance and Maehly, 1955) با اندکی تغییرات اندازه‌گیری شد. ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی (برای اندازه‌گیری فعالیت ویژه‌ی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت گیاه در یک هاون سرد شده، با یک میلی‌لیتر بافر استخراج مخلوط و به‌طور کامل یکنواخت شد. بافر استخراج از پلی‌وینیل‌پیرولیدون یک درصد، تریتون X100 نیم درصد و بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH = ۷) تشکیل شده بود. عصاره‌ی حاصل با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-12-05]

دقیقه و در دمای چهار درجه‌ی سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. بخش شفاف واقع در بالای عصاره برای سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به کار گرفته شد، با ۹۸۰ میکرولیتر از بافر فسفات حاوی پراکسید هیدروژن دو میلی مولار مخلوط و تغییرات جذب آن‌ها در طول موج ۲۴۰ نانومتر از راه اندازه‌گیری تجزیه پراکسید هیدروژن توسط اسپکتروفتومتر به‌صورت تغییرات جذب بر زمان ثبت شد. فعالیت آنزیمی با استفاده از قانون بیرلامبرت و با ضریب خاموشی کاتالاز $Mm^{-1}cm^{-1}$ ۳۹/۴ محاسبه و در نهایت بر حسب میکرومول بر گرم بافت تازه در دقیقه بیان شد.

برای سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز از روش ناکانو و آسادا (Nakano and Asada, 1981) استفاده شد. مخلوط واکنش شامل: ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۷۷۰ میکرولیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار،۱۰۰ میکرولیتر EDTA ۰/۱ میلی مولار، ۱۰۰ میکرولیتر آسکوربیک اسید پنج میلی‌مولار و ۱۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۰/۱ میلی مولار بود. سرعت واکنش آنزیمی به‌صورت تغییرات جذب بر زمان (OD/min) در طول موج ۲۹۰ نانومتر در مدت یک دقیقه ثبت گردید. فعالیت آنزیمی با استفاده از قانون بیرلامبرت و با ضریب خاموشی آسکوربات پراکسیداز $Mm^{-1}cm^{-1}$ ۲/۸ محاسبه و در نهایت بر حسب میکرومول بر گرم بافت تازه در دقیقه بیان شد.

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از روش سزار و همکاران (Cesar *et al*., 2010) با کمی تغییرات اندازه‌گیری شد. ۴۹۰ میکرولیتر بافر فسفات ۰/۵ مولار و ۴۹۰ میکرولیتر پیروکاتکول ۰/۲۰ مولار به ۲۰ میکرولیتر عصاره‌ی آنزیمی اضافه شد. پس از بهم زدن مخلوط واکنش، تغییرات جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر در مدت یک دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. فعالیت این آنزیم با استفاده از قانون بیرلامبرت و ضریب خاموشی۲۶/۶ آنزیم پراکسیداز با پیش ماده پیروکاتکول بر حسب میکرومول بر گرم بافت تازه در دقیقه محاسبه شد.

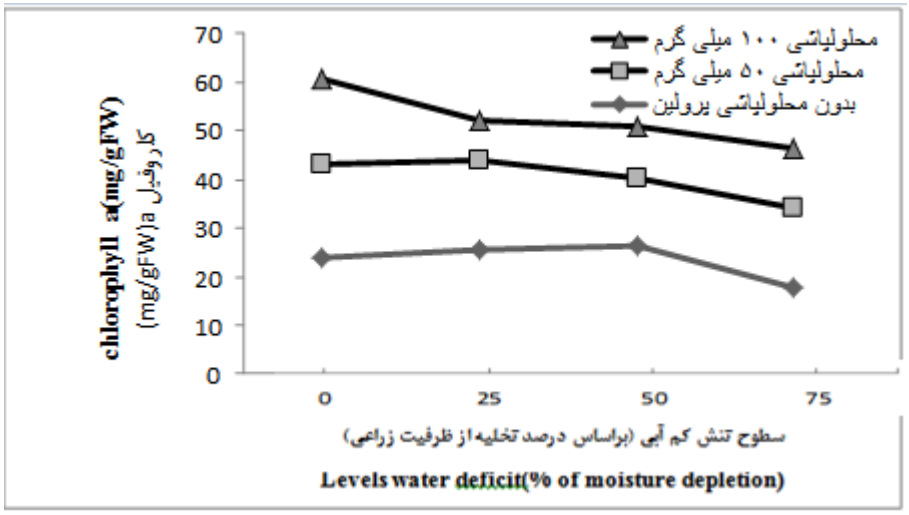
داده‌های به‌دست آمده با استفاده از رویه‌های برنامه SAS نسخه ۹/۲ تجزیه شدند و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی، ضریب همبستگی با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Microsoft Excel 2010 انجام شد.

نتایج و بحث

کلروفیل a: تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که سطوح تنش کم‌آبی، پرولین و برهم‌کنش آن‌ها بر میزان کلروفیل a تأثیر معنی‌داری داشت (جدول ۱). با افزایش سطح تنش کم‌آبی از مقدار کلروفیل a کاسته شد؛ درحالی‌که در همه سطوح تنش کم‌آبی بیشترین میزان کلروفیل a در محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پرولین به‌دست آمد (شکل ۱). برش‌دهی فیزیکی برهم‌کنش پرولین و تنش کم‌آبی بر صفت کلروفیل a نشان داد که همه سطوح کم‌آبی اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشتند

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-12-05]

(جدول‌های ۲ و ۳). هم‌چنین محلول‌پاشی پرولین نیز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود؛ که این امر نشان می‌دهد که محلول‌پاشی پرولین تا حدود زیادی می‌تواند اثر تنش خشکی را کاهش دهد (جدول ۱). نتایج همبستگی داده‌ها (جدول ۴) نشان داد که، بین کلروفیل a با کلروفیل کل ($r=0.990^{**}$)، نسبت کلروفیل a/b ($r=0.989^{**}$) و کاروتنوئید ($r=0.873^{**}$) همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد (جدول ۳).



شکل ۱- برهم‌کنش تنش کم‌آبی و پرولین بر میزان کلروفیل a

Figure 1- Interaction effects of water deficit×prolin application on chlorophyll a content

این نتایج با یافته‌های جونز و تاردیو (Jones and Tardieu., 1998) و سارکر و همکاران (Sarker *et al*., 2005) مطابقت دارد. عباس‌زاده و همکاران (Abbaszadeh *et al*., 2008) در پژوهشی به این نتایج دست یافتند که تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل داشته است، به‌طوری‌که بیشترین مقدار کلروفیل a در شرایط بدون تنش (شاهد) بوده است. به‌نظر می‌رسد که کاهش میزان کلروفیل a در اثر تنش خشکی، به‌علت افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن باشد، که این رادیکال‌های آزاد باعث پراکسیداسیون (Wise and Naylor, 1989) و در نتیجه تجزیه این رنگیزه می‌شوند. سانتوز (Santos, 2004) گزارش کرد که، در روزهای اول بعد از تنش، فعالیت آنزیم کلروفیلاز که باعث تخریب کلروفیل می‌شود، افزایش می‌یابد؛ ولی با گذشت زمان کاهش ساخت کلروفیل عامل اصلی کاهش کلروفیل می‌باشد.

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-12-05]

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-12-05]

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی پرولین بر صفات بابونه آلمانی

Table 1- Analysis of variance (ANOVA) of the effects of water deficit and exogenous prolin application on traits of German chamomil

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی DF	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Chlorophyll a+b	کلروفیل a/b Chlorophyll a/b	کاروتنوئید Carotenoid	کاتالاز Catalase	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	پراکسیداز Peroxidase	پرولین Proline
تنش Strres	3	37.20 **	0.05ns	36.35ns	0.01*	0.60ns	18.60**	775**	1.86**	0.251**
پرولین Prolin	2	375**	0.37**	591**	0.15**	2.65**	201**	9605**	0.22**	4.18**
تنش × پرولین Strees × Prolin	6	37.4**	0.13ns	90.9**	0.02**	0.66ns	4.10**	42.4ns	0.03**	0.01ns
خطا Error	24	1.01	0.09	21.3	0.004	10.7	0.44	19.1	0.0005	0.015
ضریب تغییرات CV(%)	-	5.77	12.2	15.3	4.3	19.3	16.8	9.25	4.30	10.7

ns، * و **: به‌ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد.

ns,* and **: non-significant difference,significant difference at the lenel of five and percent probability,respectively.

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-12-05]

جدول ۲- برش‌دهی برهم‌کنش تنش کم‌آبی در پرولین بر ویژگی‌های بیوشیمیایی بابونه آلمانی

Table 2- Sliceing interaction effects of water deficit at prolin on biochemistry characteristics of German chamomil

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	کلروفیلa Chlorophyll a	کلروفیل کل Chlorophyll a+ b	کلروفیل a/b Chlorophyll a/b	کاتالاز Catalase	پراکسیداز Peroxidase
شاهد Control	2	30.07**	42.2ns	0.03ns	20.8**	0.34**
رژیم آبیاری (۲۵درصد تخلیه رطوبت) Irrigation (25% of moisture depletion)	2	227**	477**	0.73*	49.2**	0.37**
رژیم آبیاری (۵۰درصد تخلیه رطوبت) Irrigation (50% of moisture depletion)	2	206**	320**	0.66*	55.6**	0.90**
رژیم آبیاری (۷۵درصد تخلیه رطوبت) Irrigation (75% of moisture depletion)	2	23.9**	23.6ns	0.21ns	87.5**	1.06**

ns، * و **: به‌ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد.

ns,* and **: non-significant difference,significant difference at the lenel of five and percent probability,respectively.

جدول ۳- برش‌دهی برهم‌کنش پرولین در تنش کم‌آبی بر ویژگی‌های بیوشیمیایی بابونه آلمانی

Table 3- Sliceing interaction effects of prolin at water deficit on biochemistry characteristics of German chamomil

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل کل Chlorophyll a+ b	کلروفیل a/b Chlorophyll a/b	کاتالاز Catalase	پراکسیداز Peroxidase
عدم محلول پاشی Non- Spray	3	44.6**	38.7ns	0.23ns	0.48ns	0.019**
محلول‌پاشی پرولین (۵۰ میلی‌گرم در لیتر) Prolin application(50 mg/L)	3	17.8**	41.1ns	0.20ns	5.71**	0.063**
محلول‌پاشی پرولین (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) Prolin application(100 mg/L)	3	49.6**	138*	0.30ns	20.6**	0.314**

ns، * و **: به‌ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد.

ns,* and **: non-significant difference,significant difference at the lenel of five and percent probability, respectively.

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-12-05]

جدول ۴- ضرایب همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده

Table 4- Correlation coefficients among measured traits

صفات Traits	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Chlorophyll a+b	کلروفیل a/b Chlorophyll a/b	کاروتنوئید Carotenoid	کاتالاز Catalase	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	پراکسیداز Peroxidase	پرولین Proline
کلروفیل a Chlorophyll a	1								
کلروفیل b Chlorophyll b	0.245	1							
کلروفیل کل Chlorophyll a+ b	0.990**	0.379	1						
کلروفیل a/b Chlorophyll a/b	0.989**	0.103	0.959**	1					
کاروتنوئید Carotenoid	0.873**	0.591	0.919**	0.811**	1				
کاتالاز Catalase	-0.968**	-0.415	-0.984**	-0.933**	-0.918**	1			
آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	-0.972**	-0.343	-0.977**	-0.950**	-0.902**	0.984**	1		
پراکسیداز Peroxidase	-0.954**	-0.418	-0.971**	-0.922**	-0.927**	0.988**	0.994**	1	
پرولین Proline	-0.963**	0.409	0.979**	-0.931**	-0.923**	0.990**	0.997**	0.997**	**1**

* و **: به‌ترتیب وجود اختلاف معنی دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد.

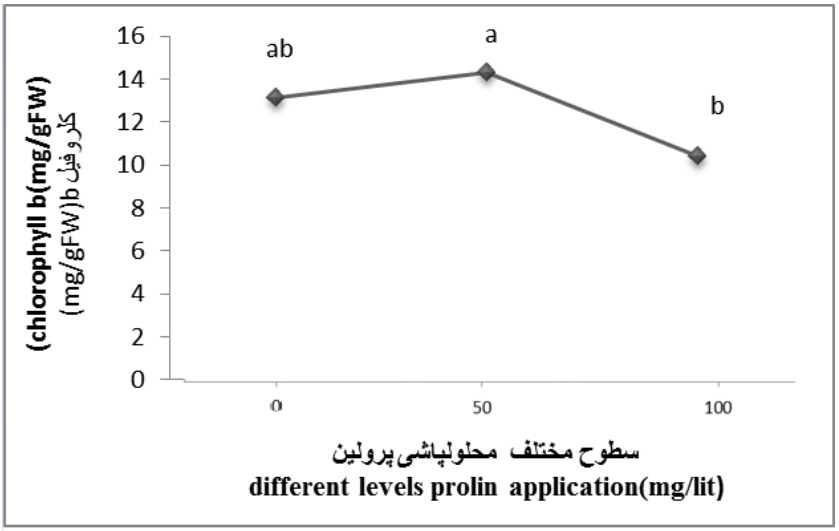
* and **: significant at 0.05 and 0.01 probability level, respectively.

در شرایط کمبود آب، غلظت اسیدآمینه پرولین افزایش می‌یابد از آن‌جایی‌که کلروفیل و پرولین هر دو از پیش ماده مشترکی به‌نام گلوتامات سنتز می‌شوند. بنابراین می‌توان گفت افزایش سنتز پرولین در شرایط تنش خشکی به کاهش سنتز کلروفیل منجر می‌شود. آسپینال وپیلگ (Aspinall and Paleg., 1981) و هم‌چنین اگرت و توینی (Egert and Tevini., 2002) اظهار داشتند که کاهش کلروفیل که در گیاهان تحت تنش خشکی مشاهده می‌شود، یک علامت مشخصه‌ی تنش اکسیداتیو است.

کلروفیل b: نتایج تجزیه وایانس داده‌ها حاکی از معنی‌داری اثر ساده سطوح مختلف محلول‌پاشی پرولین بر میزان کلروفیل b بود (جدول ۱). مقایسه میانگین میزان کلروفیل b در سطوح مختلف محلول‌پاشی پرولین نشان داد که بیشترین مقدار کلروفیل b در سطح محلول‌پاشی ۵۰ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمده است (شکل ۲). نتایج همبستگی داده‌ها نشان داد که، بین کلروفیل b با کاروتنوئید ($r=0.591^{*}$) همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد (جدول ۴).

تنش خشکی باعث کاهش میزان کلروفیل a و b می‌شود. تنش کم‌آبی، با افزایش پراکسیداسیون در غشاء کلروپلاست‌ها و تیلاکوئیدها، هم‌چنین خسارت به پروتئین‌های متصل به فتوسیستم‌ها (Lawlor, 2002) تا حدود زیادی باعث کاهش میزان کلروفیل a، b و کاهش ظرفیت فتوسنتزی می‌شود. در واقع کاهش میزان کلروفیل می‌تواند به واسطه کاهش سنتز کلروفیل و تخریب آن در گیاه باشد. تخریب مولکولی کلروفیل‌ها در گیاهان تحت شرایط تنش می‌تواند به‌علت جدا شدن زنجیره فیتولی از حلقه پورفیرین در اثر تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و یا فعالیت آنزیم کلروفیلاز (Parvaiz and Satyawati., 2008) و هم‌چنین افزایش مقدار اتیلن در شرایط تنش باشد. در این پژوهش محلول‌پاشی پرولین، باعث افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاه شد،که با نتایج علی و همکاران (Ali *et al*., 2007) مطابقت دارد. در واقع محلول‌پاشی پرولین باعث افزایش بیوسنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی و حفاظت از رنگدانه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش می‌شود. هم‌چنین محلول‌پاشی پرولین در گیاهان باعث افزایش هدایت روزنه‌ای شده و میزان دی‌اکسیدکربن را در فضای روزنه افزایش می‌دهد که به‌دنبال آن میزان فتوسنتز گیاه افزایش یافته و افزایش عملکرد را به‌دنبال خواهد داشت (Ali *et al*., 2007).

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-12-05]



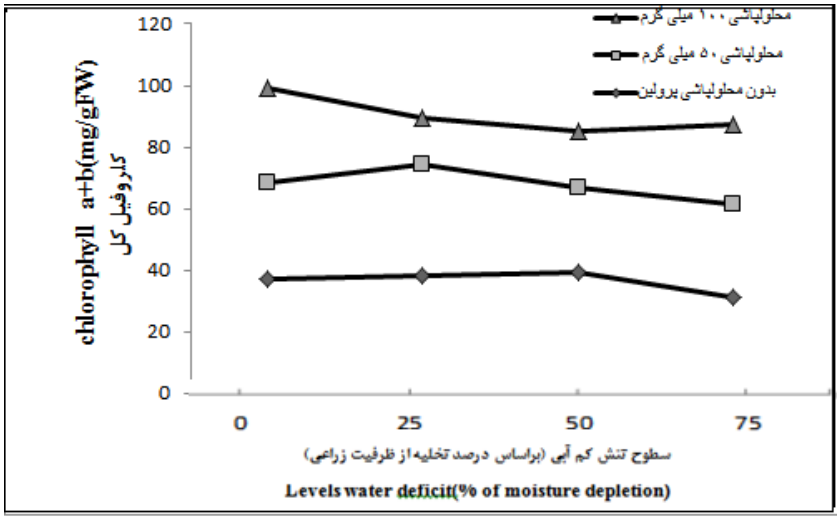
شکل ۲- تأثیر سطوح محلول‌پاشی پرولین بر مقدار کلروفیل b

Figure 2- Effects of different levels prolin application on chlorophyll b content

کلروفیل کل: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد (جدول ۱) که اثر پرولین و برهم‌کنش آن با تنش کم‌آبی بر کلروفیل کل معنی‌دار بوده است. با افزایش سطوح تنش کم‌آبی میزان کلروفیل کل کاهش یافت و بیشترین مقدار کلروفیل کل در تیمار محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد (شکل ۳). برش‌دهی فیزیکی برهم‌کنش پرولین و تنش کم‌آبی بر صفت کلروفیل کل نشان داد که سطوح کم‌آبی ۲۵ و ۵۰ درصد تخلیه از ظرفیت زراعی اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشته است (جدول‌های ۲ و ۳). همچنین محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی‌گرم پرولین در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود که بیانگر این است که تا حدودی می‌تواند اثر تنش خشکی را کاهش دهد. نتایج همبستگی داده‌ها نشان داد که بین کلروفیل کل با نسبت کلروفیل a/b ($r=0.959^{**}$) و کاروتنوئید ($r=0.919^{**}$) همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد (جدول ۴).

در شرایط کمبود آب به‌طور قابل توجهی میزان کلروفیل و ظرفیت فتوسنتزی کاهش پیدا می‌کند. که علت این کاهش در ظرفیت فتوسنتزی، می‌تواند به‌علت بسته شدن روزنه‌ها و یا از طریق اختلال و آسیب به پروتئین‌های ساختاری که در فتوسیستم‌ها به‌کار رفته‌اند؛ باشد (Lawlor, 2002)، در حالی‌که محلول‌پاشی پرولین، می‌تواند باعث افزایش هدایت روزنه‌ای شده و میزان دی‌اکسیدکربن را افزایش دهد و در نتیجه فتوسنتز افزایش یابد (Ali *et al*., 2007).

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-12-05]

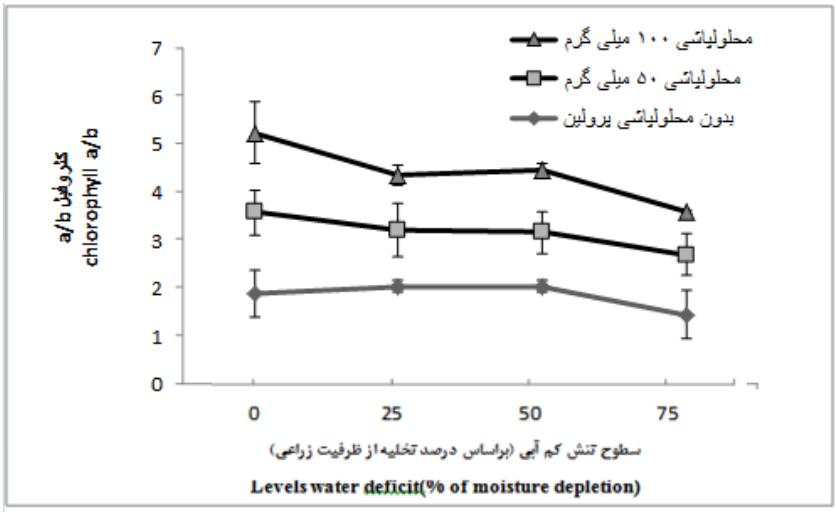


شکل ۳- برهم‌کنش تنش کم‌آبی و پرولین بر میزان کلروفیل کل

Figure 3- Interaction effects of water deficit × prolin application on chlorophyll a+b content

نسبت کلروفیل a/b: تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تنش کم‌آبی، پرولین و برهم‌کنش سطوح کم‌آبی در پرولین بر نسبت کلروفیل a/b معنی‌دار بود (جدول ۱). کمترین میزان نسبت کلروفیل a/b درسطح ۷۵درصد تخلیه براساس ظرفیت زراعی به‌دست آمد و محلول‌پاشی پرولین تا حدود زیادی اثر تنش کم‌آبی را کاهش داد (شکل ۴). برش‌دهی فیزیکی برهم‌کنش پرولین و تنش کم‌آبی بر صفت کلروفیل a/b نشان داد که سطوح کم‌آبی ۲۵ و ۵۰ درصد تخلیه از ظرفیت زراعی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول‌های ۲ و ۳). نتایج همبستگی داده‌ها نشان داد که بین نسبت کلروفیل a/b ($r=0.959^{**}$) با کاروتنوئید ($r=0.811^{**}$) همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت (جدول ۴). در شرایط تنش خشکی نسبت کلروفیل a/b افزایش یافت، به‌عبارت دیگر تنش خشکی، غلظت کلروفیل b را بیشتر از کلروفیل a کاهش داد. نتایج این مطالعه با نتایج اشرف و همکاران (Ashraf *et al*., 1994) و استایل و همکاران (Estill *et al*., 1991) مغایرت داشت.

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-12-05]

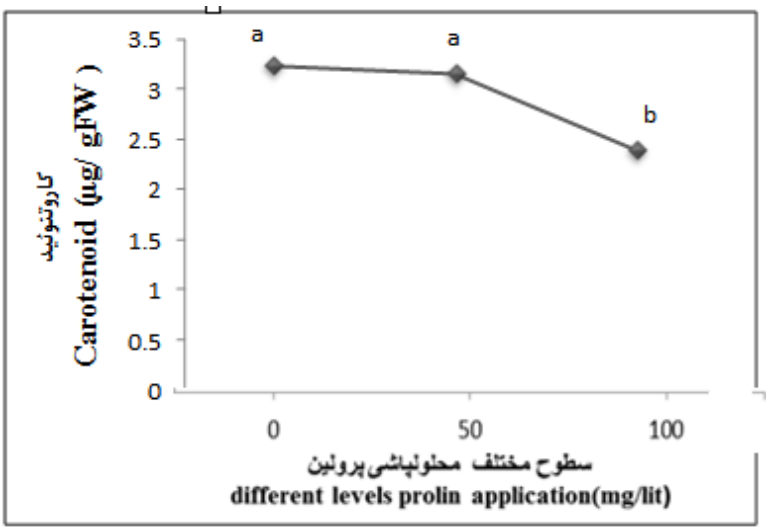


شکل ۴- برهم‌کنش تنش کم‌آبی و پرولین بر نسبت کلروفیل a/b

Figure 4- Interaction effects of water deficit × prolin application on chlorophyll a/b content

کاروتنوئید: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها حاکی از معنی‌داری اثر پرولین بر کاروتنوئید بود (جدول ۱). مقایسه میانگین کاروتنوئید در سطوح مختلف محلول‌پاشی پرولین نشان داد که بیشترین مقدار در سطح صفر (عدم) محلول‌پاشی و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد (شکل ۵). در تنش‌های شدید، مقدار کاروتنوئید که به‌عنوان حمایت کننده‌ای برای کلروفیل‌ها در برابر اکسیداسیون نوری به‌شمار می‌روند؛ افزوده می‌شود تا مانع تخریب بیشتر کلروفیل‌ها شود. از آن‌جائی‌که محلول‌پاشی پرولین باعث افزایش بیوسنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی و حفاظت از رنگدانه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش می‌شود (Ali *et al.*, 2007). استنباط می‌شود؛ شاید محلول‌پاشی پرولین تا حدود زیادی اثر تنش کم‌آبی را کاهش داده و در نتیجه میزان کاروتنوئید در سطوح مختلف کم‌آبی اختلاف معنی‌داری را نشان نداده است.

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-12-05]



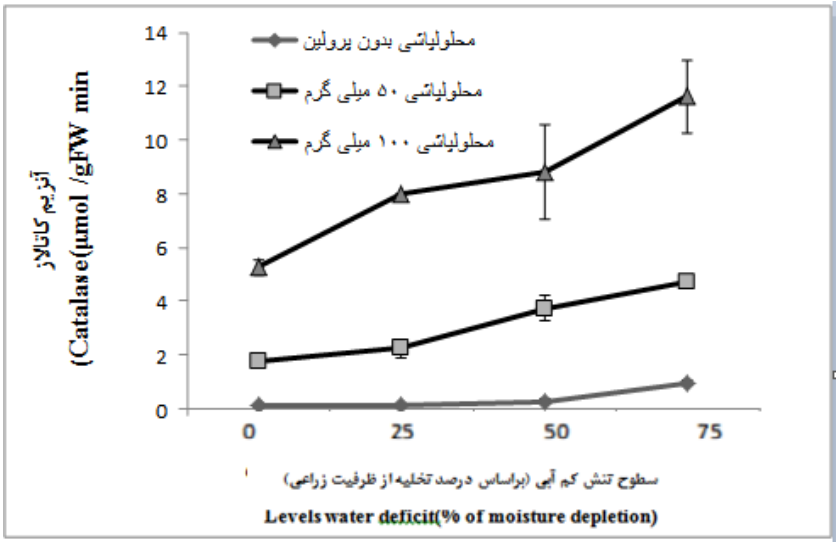
شکل ۵- تأثیر سطوح مختلف محلول‌پاشی پرولین بر کاروتنوئید

Figure 5- Effects of different levels prolin application on carotenoid content

آنزیم کاتالاز: مقایسه میانگین داده‌های برهم‌کنش تنش کم‌آبی در پرولین نشان داد که میزان آنزیم کاتالاز تحت شرایط کم‌آبی افزایش پیدا کرد (شکل ۶). برش‌دهی فیزیکی برهم‌کنش پرولین و تنش کم‌آبی بر صفت آنزیم کاتالاز نشان داد که همه سطوح کم‌آبی اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر میزان آنزیم کاتالاز داشته است و در این شرایط محلول‌پاشی پرولین تأثیر زیادی نداشت (جدول‌های ۲ و ۳). محلول‌پاشی در هر دو سطح (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). نتایج همبستگی داده‌ها نشان داد که بین کاتالاز با آسکوربات پراکسیداز ($r=0.984^{**}$)، پراکسیداز ($r=0.988^{**}$) و پرولین ($r=0.990^{**}$) همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد (جدول ۴).

میتلر (Mittler, 2002) گزارش کرد که سنتز آنزیم کاتالاز، پاسخ سازگار یافته در برابر تنش اکسیداتیو می‌باشد. برش‌دهی فیزیکی برهم‌کنش پرولین و تنش کم‌آبی بر صفت آنزیم کاتالاز نشان داد که همه سطوح کم‌آبی اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد، داشته است (جدول ۳). افزایش پرولین درون‌زاد در شرایط تنش کم‌آبی، علاوه بر حفاظت از آنزیم‌ها، ساختمان سه بعدی پروتئین‌ها و غشاء، انرژی لازم برای رشد را در شرایط کم‌آبی تأمین کرده و به تحمل گیاهان در چنین شرایطی کمک می‌کند (Hoque *et al*., 2007).

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-12-05]



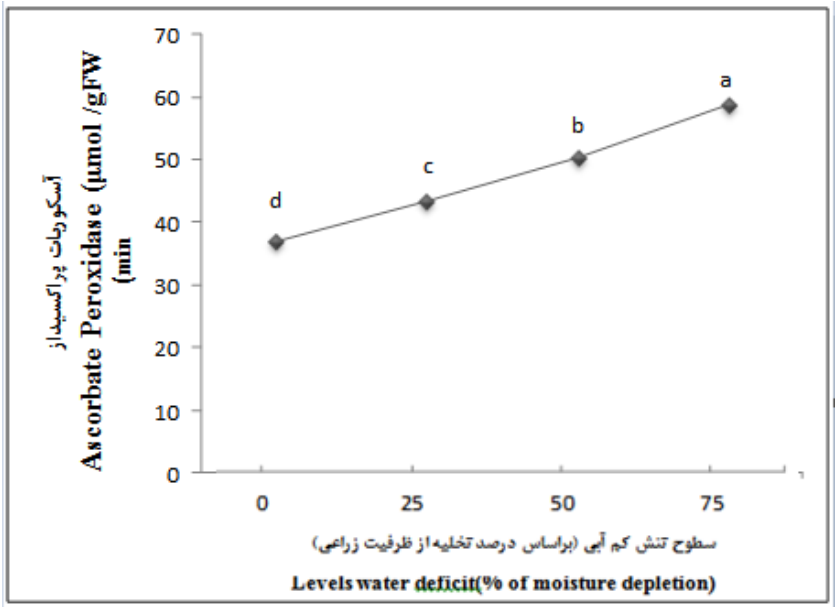
شکل ۶- برهم‌کنش تنش کم‌آبی و پرولین بر مقدار کاتالاز

Figure 6- Interaction effects of water deficit × prolin application on catalase content

آنزیم آسکوربات پراکسیداز: نتایج مقایسه میانگین اثرات ساده تنش کم‌آبی نشان داد که با افزایش سطوح تنش، میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز افزایش یافته است (شکل ۷). هم‌چنین با افزایش سطوح محلول‌پاشی پرولین مقدار آنزیم آسکوربات پراکسیداز افزایش چشم‌گیری پیدا کرد (شکل ۸). نتایج همبستگی داده‌ها نشان داد که بین آسکوربات پراکسیداز با پراکسیداز ($r=0.994^{**}$) و پرولین ($r=0.997^{**}$) همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد (جدول ۴).

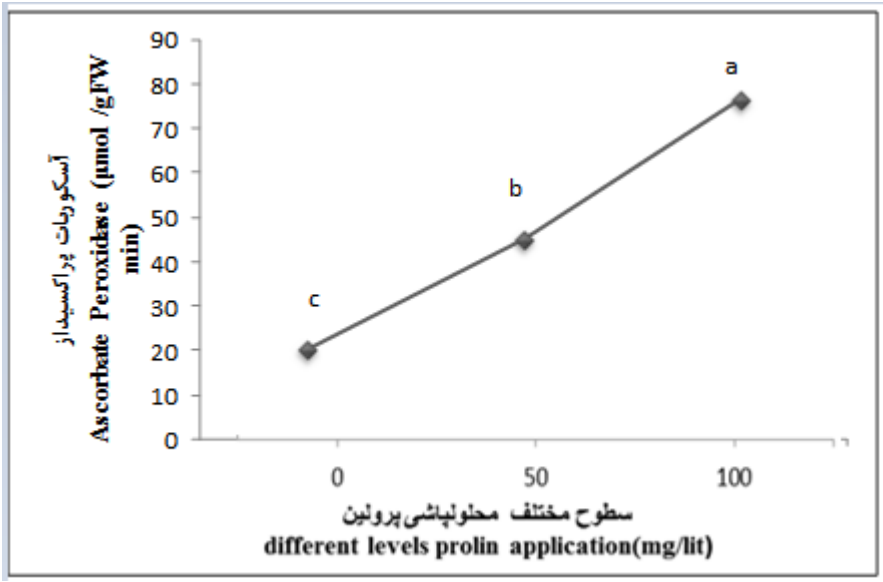
آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و کاتالاز نقش موازی و مشابهی را در سیستم دفاعی گیاه ایفا می‌کنند و وظیفه هر سه آنزیم فوق سم‌زدایی و تجزیه پراکسید هیدروژن تولید شده در سلول می‌باشد (Ariano *et al.*, 2005). در مطالعه حاضر میزان آنزیم آسکوربات اکسیداز تحت شرایط تنش افزایش یافت که با نتایج شارما و دوبی (Sharma and Dubey., 2005) و سیرام و همکاران (Sairam *et al.*, 2001) مطابقت دارد. به‌طورکلی در شرایط تنش خشکی رونویسی از برخی ژن‌های مربوط به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند گلوتاتیون ردوکتاز یا آسکوربات پراکسیداز برای بهبود وضعیت گیاه در چنین شرایطی، افزایش پیدا می‌کند که نقش مهمی در کاهش گونه‌های اکسیژن فعال و آسیب‌های ناشی از آن، ایفا می‌کند (Ratnayaka *et al.*, 2003).

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-12-05]



شکل ۷- تأثیر سطوح مختلف تنش کم‌آبی بر مقدار آسکوربات پراکسیداز

Figure 7- Effects of different levels water deficit on ascorbate peroxidase content



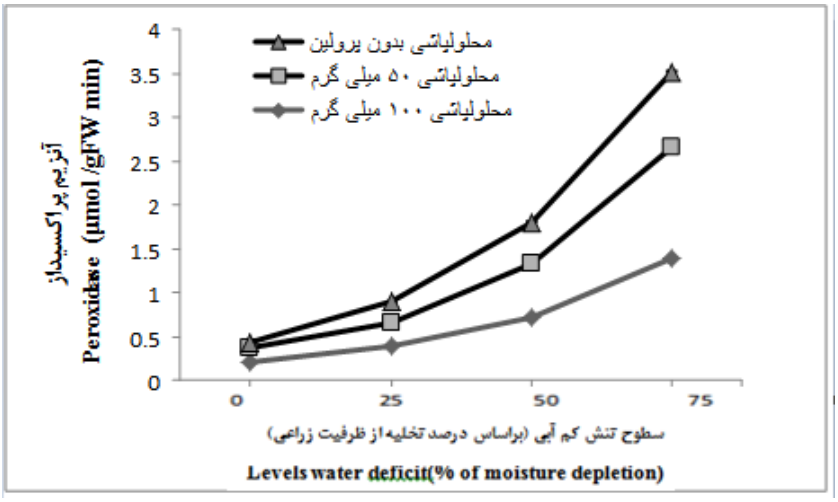
شکل ۸- تأثیر سطوح مختلف محلول‌پاشی پرولین بر مقدار آسکوربات پراکسیداز

Figure 8- Effects of different levels prolin application on ascorbate peroxidase content

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-12-05]

آنزیم پراکسیداز: تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تنش کم‌آبی و پرولین و برهم‌کنش آن‌ها بر میزان آنزیم پراکسیداز معنی‌دار بوده است (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌های برهم‌کنش تنش کم‌آبی در پرولین نشان داد که میزان آنزیم پراکسیداز تحت شرایط کم‌آبی افزایش پیدا کرد (شکل ۹). برش‌دهی فیزیکی برهم‌کنش پرولین و تنش کم‌آبی بر آنزیم پراکسیداز نشان داد که همه سطوح کم‌آبی اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشته‌اند و در این شرایط محلول‌پاشی پرولین تأثیر زیادی نداشته است (جدول‌های ۲ و ۳).

بین سطوح مختلف محلول‌پاش پرولین در هر سه سطح اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول ۵)؛ که نتایج به‌دست آمده با نتایج حیات و احمد (Hayat and Ahmad., 2007)، ژانگ (Jung, 2004) و بای و سوی (Bai and Sui., 2006) مطابقت دارد. تنش خشکی موجب القاء تنش اکسیداتیو در گیاهان شده که نتیجه آن افزایش ترکیبات گونه‌های اکسیژن فعال می‌باشد. که در این شرایط فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند پراکسیداز و کاتالاز افزایش می‌یابد. گیاهان می‌توانند از طریق القاء آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، به طیف وسیعی از تنش‌ها پاسخ دهند. هم‌چنین افزایش پراکسیداز در شرایط تنش، از طریق لیگنینی شدن دیواره سلولی تا حدود زیادی می‌تواند خسارت ناشی از تنش و آسیب‌های اکسیداتیو را کاهش دهد (Moussa and Abdel-Aziz., 2008).



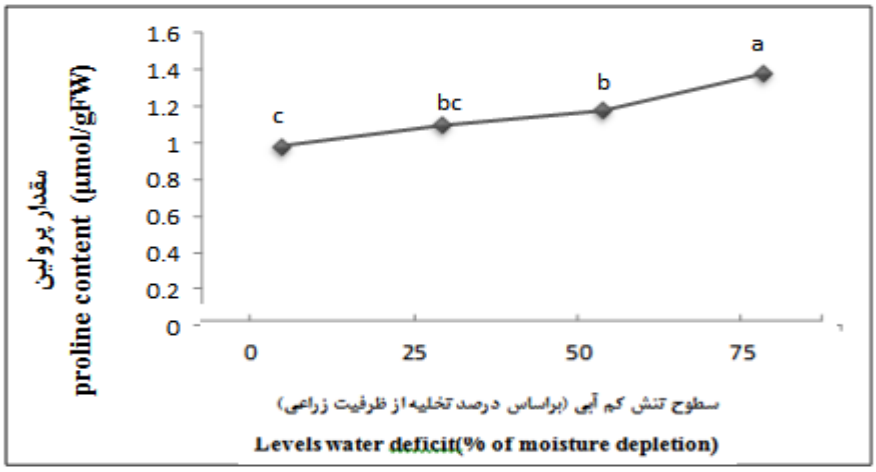
شکل ۹- برهم‌کنش تنش کم‌آبی و پرولین بر مقدار پراکسیداز

Figure 9- Interaction effects of water deficit × prolin application on peroxidase

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-12-05]

میزان پرولین: تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تنش کم‌آبی و پرولین بر میزان پرولین معنی‌دار بوده است (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین اثرات ساده تنش کم‌آبی نشان داد که با افزایش شدت تنش، میزان پرولین افزایش پیدا می‌کند (شکل ۱۰). مقایسه اثرات ساده محلول‌پاشی پرولین نشان داد که بیشترین میزان پرولین در سطح محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی‌گرم پرولین به‌دست آمده است (شکل ۱۱).

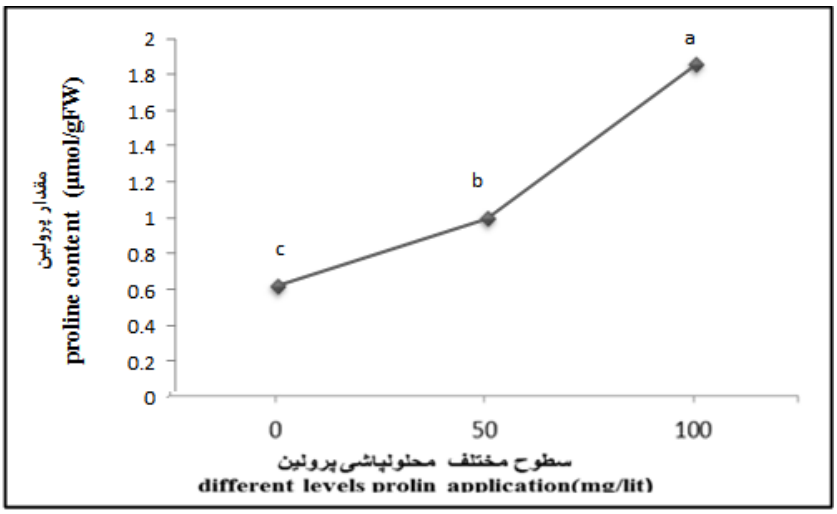
عمده‌ترین راهکار تحمل به تنش در گیاهان تولید یکسری املاح آلی سازگار می‌باشد. این املاح با وزن مولکولی کم، ترکیبات بسیار مهمی هستند که حتی در غلظت‌های بالای سیتوزولی هم برای گیاهان غیرسمی هستند. در شرایط تنش میزان پرولین افزایش نشان داد که، با نتایج عبدالعزیز و همکاران (Abd EL-Aziz *et al*., 2006) مطابقت دارد. نتایج نشان می‌دهد که افزایش پرولین در شرایط تنش خشکی، نیازمند مصرف انرژی می‌باشد که در صورت ادامه روند تولید پرولین، میزان عملکرد گیاه کاهش پیدا می‌کند. حبیبی و همکاران (Habibi *et al*., 2010) اظهار داشتند که افزایش پرولین در طی تنش خشکی ممکن است به‌خاطر تجزیه‌ی پروتئین‌ها باشد. فاروق و همکاران (Farooq *et al*., 2009) بیان نمودند که در شرایط تنش کم‌آبی و در نتیجه تجمع مواد محلول، پتانسیل اسمزی سلول‌ها کاهش می‌یابد که این حالت آب را به داخل سلول جذب و به حفظ حالت تورگر کمک می‌کند. با تدبیر تعدیل اسمزی، فعالیت‌های سیتوپلاسمی و اندامک‌ها، به گیاه کمک می‌کند تا به‌صورت کارآمدتری بتواند دوره رشد، فتوسنتز و تسهیم آسمیلات را تا پر شدن دانه به انجام برساند. افزایش غلظت و محتوای پرولین تحت شرایط تنش کم‌آبی ممکن است نشان دهنده نقش احتمالی این اسید آمینه در تنظیم اسمزی باشد.



شکل ۱۰ – تأثیر سطوح مختلف تنش کم‌آبی بر محتوای پرولین

Figure 10- Effects of different levels water deficit on proline content

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-12-05]



شکل ۱۱- تأثیر سطوح مختلف محلول‌پاشی پرولین بر محتوای پرولین
Figure 11- Effects of different levels prolin application on proline content

نتیجه‌گیری

استفاده از پرولین برون‌زاد به علت افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل (آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز) و افزایش میزان پرولین گیاه، نقش مهمی در کاهش مقدار رادیکال‌های آزاد اکسیژن (هیدروکسیل، پراکسیدهیدروژن و سوپراکسید) تولید شده تحت شرایط تنش خشکی، ایفا می‌کند. محلول‌پاشی پرولین با افزایش بیوسنتز و حفاظت از رنگدانه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش، میزان کلروفیل را افزایش می‌دهد. از این‌رو می‌توان پیشنهاد کرد که کاربرد پرولین برونزاد به‌عنوان یک عامل دفاعی در گیاهان به‌صورت محلول‌پاشی در شرایط تنش، می‌تواند قدم موثری در جهت صرفه‌جویی در مصرف آب با توجه به بحران کم‌آبی در کشاورزی بردارد. و با کاهش میزان خسارت ناشی از تنش کم‌آبی، افزایش عملکرد را به دنبال داشته باشد.

منابع

Abbaszadeh B., Sharifi ashourabadi E., Lebaschi M.H., Naderi hajibagher M., Moghadami F. 2008. The effect of drought stress on proline contents, soluble sugars, chlorophyll and relative water contents of balm (*Melissa officinalis* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 23: 504-513.

Abd EL-Aziz N.G., Mazher Azz A.M., EL-Habba E. 2006. Effect of foliar spraying ascorbic acid on growth and chemical constituents of Khaya

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-12-05]

senegalensis growth under salt condition. American Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Sciences, 3: 207-214.

Abdullah A., Ghamdi A.L.A. 2009. Evaluation of oxidative stress in two wheat (*Triticum aestivum*) cultivars in response to drought. International Journal Agricultural and Biological, 11: 7-12.

Akcay U.C., Ercan O., Kavas M., Yildiz L., Oktem H.A., Yucel M. 2010 .Drought-induced oxidative damage and antioxidant responses in peanut (*Arachis hypogaea* L.) seedlings. Plant Growth Regulation, 61 (1): 21-28.

Alexandra S. 2005. German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) population morphological and chemical diversity. Budapest Doktorin Thesis, Budapest University, Department of Horticulture, 135 p.

Ali Q., Ashraf M., Athar H.R. 2007. Exognously applied proline at different growth stges enhances growth of two maize cultivars grown under water deficit conditions. Pakistan Journal of Botany, 39: 1133-1144.

Arab S., Firoozabadi M., Gholami A., Aghari H.R., Rahimi M. 2017. Effect of ascorbic acid and sodium nitroposide associating on protein content, grain yield and some traits of safflower under irrigation stress. Journal of Crop Production, 9 (1): 69-87.

Ariano S., Bartolomeo D., Cristos X., Andras M. 2005. Antioxidant defenses in olive trees during drought stress: changes in activity of some antioxidant enzmes. Functional Plant Biology, 32: 45-53.

Arnon A., Sairam R.K. 2002. Oxidative stress and anti oxidative systems in plants. Current Science, 82: 1227-1238.

Ashraf M., Foolad M.R. 2007. Roles of glycinebetaine and proline in improving plant abioti stress tolerance. Environmental and Experimental Botany, 59: 206-216.

Ashraf M.Y., Azmi A.R., Khan A.H., Ala S.A. 1994. Effect of water stress on total phenols, peroxidase activity and chlorophyll content in wheat. Acta Physiologiae Plantarum, 16: 185-191.

Askari E., Ehsanzadeh P. 2015. Drought stress mitigation by foliar application of salicylic acid and their interactive effects on physiological characteristic of fennel (*Foeniculum vulgare Mill.*) genotypes. Acta Physiologiae Plantarum, 37: 2-14.

Aspinall D., Paleg I.G. 1981. Proline accumulation: physiological aspects. Physiology and biochemistry of drought resistance. Academic Press. Sydney, Pp: 205-241.

Attoa G.E., Wahba H.E., Frahat A.A. 2002. Effect of some amino acids and sulphur fertilizers on growth and chemical composition of *Iberis amara* L. plant. Egyptian Journal of Horticultural, 29: 17-37.

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-12-05]

Bai L.P., Sui F.G. 2006. Effect of soil drought stress on leaf water status, membrane permeability and enzymatic antioxidant system of maize. Pedosphere Journal, 16: 326-332.

Bates L.S., Waldran R.P., Teare I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water studies. Plant Siol, 39: 205-207.

Carruba A., LaTorre R., Matranga A. 2002. Cultivation trials of aromatic and medicinal plants in semiarid Mediterranean environment. Acta Horticultural, 576: 207-216.

Carter A.C., Knapp A.K. 2001. Leaf optical properties in higher plants: linking spectral characteristics to stress and chlorophyll concentration. American Jounal of Botany, 88: 677-684.

Cesar Ferreira L., Catarina Cataeo A., Ramazzini Remaeh M., Corniani N., Defumis T., Andreode Souza Y., Scavroni J., Jose B. 2010. Nitric oxide reduces oxidative stress generated by lactofen in Soybean Plants. Pesticide Biochemistry and Physiology, 97: 47-54.

Chance B., Maehly A.C. 1955. Assay of catalases and peroxidases. Methods in Enzymologist, 11: 764-755.

Cook D., Fowler S., Fiehnand O., Etval A. 2004. prominent role for the CBF cold response pathway in configuring the low temperature metabolome of arabidopsis. Plant Biology, 101: 15243-8.

Deivanai S., Xavier R., Vinod V., Timalata K., Lim O.F. 2011. Role of exogenous proline in ameliorating salt stress at early stage in two rice cultivars. Journal of Stress Physiology and Biochemistry, 7 (4): 157-174.

Del Rio L., Sandalio L., Corpas F., Palma J., Barroso J. 2006. Reactive oxygen specie and reactive nitrogen species in paroxysms. Production scavenging and role in cell signaling. Plant Physiology, 141: 330-335.

Egert M., Tevini M. 2002. Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). Environmental and Experimental Botany, 48: 43-49.

Estill K., Delany R.H., Smith W.K., Ditterline R.L. 1991. Water relations and productivity of alfalfa leaf chlorophyll variants. Crop Science, 31: 1229-1233.

Farooq M., Wahid A., Kobayashi N., Fujita D., Basra S.M.A. 2009. Plant drought stress effevts, mechanisms and management. Agronomy for Sustainable Development, 29: 185-212.

Fathian S. 2008. Physiological limitations to safflower photosynthesis under two different moisture regimes. M.Sc. Dissertation, Isfahan University of Technology, Iran. (In Persian).

Gamal EL-Din K.M., Abd EL-Wahed M.S.A. 2005. Effect of some amino acids on growth and essential oil content of chamomile plant. International Journal of Agriculture and Bioogy, 7 (3): 376-380.

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-12-05]

Guan Z. Q., Chai T., Zhang Y.X., Xu J., Wei W. 2009. Enhancement of Cd tolerance in transgenic tobacco plants overexpressing a Cd-induced catalase cDNA. Chemosphere, 76: 623-630.

Habibi D., Ardakani M.R., Mahmoudi A., Asgharzadeh A. 2010. Effects of super absorbent polymer and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield and oxidative damage of maize under drought stress. International Conference on Chemistry and Chemical Engineering, Pp: 253-257.

Hayat S., Ahmad A., 2007. Salicylic Acid: A Plant Hormone, Springer. Pp: 97-99.

Hoque M.A., Okuma E., Banu M.N.A., Nakamura Y., Shimoishi Y., Murata N. 2007. Exogenous proline mitigates the detrimental effects of salt stress more than exogenous betaine by increasing antioxidant enzyme activities. Journal of Plant Physiology, 164: 553-561.

Jaleel C.A., Manivannan P., Wahid A., Farooq M., Al-Juburi H.J., Somasundarm R., Panneersel Vam R. 2009. Drought stress in plants: A review on morphological characterisistics and pigments composition. International Journal of Agriculture and Biology, 11 (1): 100-105.

Jones H.G., Tardieu F. 1998. Modeling water relations of horticultural crops: a review. Scientia Horticulture, 74: 21-46.

Jung S. 2004. Variation in antioxidant metabolism of young and mature leaves of arabidopsis thaliana subjected to drought. Plant Science, 166: 459-466.

Kafi M., Zand E., kamkar B., Mahdavi Damghani A., Abbasi F., Sharifi H.R. 2009. Plant Physiology, 265 p. (In Persian).

Karima M., EL-DIN Gamal., Abdel-wahed M.S.A. 2005. Effect of some amino acids on growth and essential oil content of chamomile plant. International of Journal of Agriculture and Biology, 15 (3): 376-380.

Kashfi Bonab A. 2010. Relative economic advantage cultivation and trade of medicinal plants in Iran and its value on world markets. Journal of Evaluation of Commerce, 8 (44): 67-78.

Kaya C., Levent Tuna A., Ashraf M., Altunlu H. 2007. Improved salt tolerance of melon (*Cucumis melo* L.) by the addition of proline and potassium nitrate. Environmental and Experimental Botany, 60: 397-403.

Khalil S.E., El-Noemani A.A. 2012. Effect of irrigation intervals and exogenous proline application in improving tolerance of garden cress plant (*Lepidium sativum* L.) to water stress. Journal of Applied Sciences Research, 8 (1): 157-167.

Lawlor D.W. 2002. Limitation to photosynthesis in water stressed leaves: stomata versus metabolism and the role of ATP. Annals of Botany, 89. 1-15.

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.

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-12-05]

Mittler R. 2002. Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. Annual Review of Plant Science, 7: 405-415.

Moussa H., Abdel-Aziz S.M. 2008. Comparative response of drought tolerant and drought sensitive maize genotypes to water stress. Australian Journal of Crop Science, 1: 31-36.

Nakano Y., Asada K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in Spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology, 22: 867-880.

Nakhai A., 2011. Investment capabilities in the production of medicinal herbs to create jobs and economic prosperity in Kerman province. National Conference on Employment of Graduates of Agriculture and Natural Resources, 11 p.

Nanjo T., Fujita M., Seki M., Kato M., Tabata S., Shinozaki K. 2003. Toxicity of free proline revealed in an arabidopsis TDNA- agged mutant deficient in proline dehydrogenase. Plant Cell Physiology, 44: 541-548.

Parvaiz A., Satyawati S. 2008. Salt stress and Phyto-biochemical responses of plants. Plant Soil Environment, 54: 89-99.

Pirzad A., Alyari H., Shakiba M. R., Zehtab-Salmasi S., Mohammadi A. 2009. Effect of water stress on chlorophyll amounts in German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). Pp. 315-317.

Ramawat K.G., Dass S., Mathur M. 2009. The Chemical Diversity of Bioactive Molecules and Therapeutic Potential of Medicinal Plants. In: Ramawat K.G. (Ed.), Herbal Drugs: Ethnomedicine to Modern Medicine, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, Pp: 7-32.

Ratnayaka H.H., Molin W.T., Sterling T.M. 2003. Physiological and antioxidant responses of cotton and spurred anoda under interference and mild drought. Journal of Experimental Botany, 54: 2293-2305.

Safikhani F., Heydari Sharifabad H., Syadat A., Sharifi Ashorabadi A., Syednedjad M. 2007. The effect of drought stress on percentage and yield of essential oil and physiological characteristics of *Deracocephalum moldavica* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 23 (1): 86-99.

Sairam R.K., Chandrasekhar V., Srivastava G.C. 2001. Comparison of hexaploid and tetraploid wheat cultivars in their response to water stress. Biologia Plantarum, 44: 89-94.

Sairam R.K., Srivastava G.C. 2002. Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. Plant Science, 162: 897-904.

Sanchez-Rodriguez E., Rubio-Wilhelmi M., Cervilla L.M., Blasco B., Rios J.J., Rosale M.A.S., Romero L., Ruiz J.M. 2010. Genotypic differences in some physiological parameters symptomatic for oxidative stress under moderate drought in tomato plants. Plant Science, 178: 30-40.

Santos C.V. 2004. Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. Science Horticulture, 103: 93-99.

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-12-05]

Sarker B.C., Hara M., Uemura M. 2005. Proline synthesis, physiological responses and biomass yield of eggplants during and after repetitive soil moisture stress. Science Horticulture, 103: 387-402.

Shao H.B., Chu L. Y., Wu G., Zhang J.H., Lu Z.H., Hu Y.C. 2007. Changes of Some anti-oxidative physiological indices under soil water deficits among 10 wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes at tillering stage. Colloids Surf, 54. 143-149.

Sharma P., Dubey R.S. 2005. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. Plant Growth Regulation, 46: 209-221.

Smirnoff N. 2005. Antioxidants and reactive oxygen species in plants. Blackwell Publishing Ltd, OxfordUK, Pp: 53-86.

Sofo A., Manfreda S., Dichio B., Xiloyannis, C. 2008. The Olive Tree: A paradigm for drought tolerance mediterranean climates. Hydrology and Earth System Sciences, 12: 293-301.

Talat A., Nawaz K., Hussian K., Hayat Bhatti K. 2013. Foliar application of proline for salt tolerance of two wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. World Applied Sciences Journal, 22 (4): 547-554.

Wang W.B., Kim Y.H.S., Lee H., Kim K.Y., Deng X.P., Kwak S.S. 2009. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stress. Plant Physiology and Biochemistry, 47: 570-577.

Wise R.R., Naylor A.W. 1989. Chilling enhanced photo-oxidation, the peoxidative destruction of lipids during chilling injury to photosynthesis and ultrasracture. Plant physiology, 83. 278-282.

Zarco-Tejada P.J., Miller J.R., Mohammad G.H., Noland T.L., Sampson P.H. 2000. Chlorophyll fluorescence effects on vegetation apparent reflectance. Remote Sensing Environment, 74: 596-60.

[Downloaded from arpe.gonbad.ac.ir on 2025-12-05]