مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۲۱ شماره ۴ صفحه های ۳۵۷ تا ۳۶۸ (۱۳۹۹)
مقاله پژوهشی

نقش اسکوربیک اسید در مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از کم آبی در نهال‌های زیتون رقم محلی باغملک[1]

The Role of Ascorbic Acid Against Oxidative Stress Caused by Water Deficit in Olive Tree cv. Mahali Baghmalek

نوراله معلمی*، اسماعیل خالقی و زینب جعفری زاده[2]

چکیده

گیاهان در شرایط کم‌آبی زیر تاثیر تنش‌های اکسیداتیو قرار می‌گیرند که رشد و نمو آن‌ها را کاهش می‌دهد. این پژوهش با هدف بررسی اثر اسکوربیک اسید به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی در مقابله با تنش‌های اکسیداتیو ایجاد شده توسط تنش کم‌آبی در نهال‌های زیتون رقم محلی باغملک صورت پذیرفت. در این پژوهش نهال‌های دوساله زیتون در معرض سه سطح آبیاری (۱۰۰، ۶۶ و ۳۳ ٪ تبخیر و تعرق گیاه) و چهار سطح اسکوربیک اسید (صفر، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم در لیتر) قرار گرفتند و برخی از ویژگی‌های زیست‌شیمیایی و فعالیت آنزیمی اندازه‌گیری شد. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای در سال زراعی ۹۴-۹۵ اجرا شد. نتیجه‌ها نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل a به مقدار ۱/۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ مربوط به نهال‌های تیمار شده با ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسکوربیک اسید بود. هم‌چنین بیشترین میزان کربوهیدرات محلول کل (۹/۵ میلی‌گرم در هر گرم وزن تازه برگ) و پرولین (۲/۱۷ میکرومول در هر گرم وزن تازه برگ) در نهال‌های آبیاری شده با ۳۳ و ۶۶ ٪ تبخیر و تعرق گیاه به دست آمد. به طور کلی برای کاهش اثرهای مخرب تنش کم‌آبی در نهال‌های زیتون پیشنهاد می‌شود از اسکوربیک اسید به غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر استفاده گردد و برای صرفه‌جویی در مصرف آب تیمار ۶۶٪ توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پرولین، کاتالاز، کربوهیدرات، کلروفیل.

مقدمه

کمبود آب یکی از مسائل جدی در کشاورزی است که بر کمیت و کیفیت فراورده‌های تولیدی تاثیر مستقیم دارد. این مسئله به‌دلیل تغییرهای شرایط آب و هوایی جهان در سال‌های اخیر از اهمیت بیشتری برخوردار است (۵). در این شرایط برخی پژوهشگران به دنبال مدیریت مصرف آب از راه کم آبیاری تنظیم‌شده هستند تا با مصرف کمتر آب عملکرد و کیفیت میوه آسیب نبیند (۲۳). برای نهال‌های تازه کشت‌شده به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک که بیشتر زیر تاثیر تنش خشکی قرار می‌گیرند، یکی از راه‌های مقابله با تنش خشکی توسط گیاه مسدود نمودن روزنه‌ها جهت جلوگیری از خروج آب از راه تعرق می‌باشد. با ادامه تنش خشکی به علت تغییرهای زیست‌شیمیایی حاصل در کلروپلاست‌ها، تثبیت گاز دی‌اکسید کربن کاهش می‌یابد (۳۵). با ادامه تنش خشکی و کاهش شدید تثبیت گاز دی‌اکسید کربن، احیای شدید زنجیره انتقال الکترونی فتوسنتز انجام می‌گیرد که در نهایت گونه‌های فعال اکسیژن[3] تشکیل می‌گردند (۹، ۴۵ ،۴۹). گونه‌های فعال اکسیژن از راه

۱- تاریخ دریافت: ۹۹/۲/۲ تاریخ پذیرش: ۹۹/۴/۱۲

۲- به‌ترتیب استاد، دانشیار و دانشجوی پیشین کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (n.moallemi@scu.ac.ir).

۳- Reactive Oxygen Species

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]
[DOR: 20.1001.1.16807154.1399.21.4.21.1]

تخریب اکسیداتیو چربی‌های غشاء (۱۴)، پروتئین‌ها[۱](۲۹) و اسیدهای نوکلئیک[۲] (۱۰) به یاخته صدمه می‌زنند. یاخته‌های گیاهی برای مقابله با این‌گونه اثرهای مخرب از ساز و کارهای مختلفی از جمله آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی استفاده می‌کنند. از جمله ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی می‌توان به گلوتاتیون[۳]، توکوفرول[۴]، فلاونوئیدها[۵] و اسکوربات[۶] (۴۴) و آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی مانند سوپراکسیددیسموتاز[۸]، کاتالاز[۹]، اسکوربات پراکسیداز[۱۰] و گلوتاتیون رودکتاز[۱۱] اشاره کرد (۱). پژوهش‌های انجام شده نشان می‌دهد که افزون بر خشکی، تنش‌های سرما و شوری باعث تشکیل انواع اکسیژن‌های فعال و به دنبال آن افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود (۴، ۲۴). برخی پژوهش‌ها نشان می‌دهد که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش خشکی در گیاهان متحمل به خشکی بیش از گیاهان حساس می‌باشد. بنابراین، احتمال دارد که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در افزایش تحمل گیاهان به خشکی نقش مهمی را ایفا نمایند (۲۲، ۲۶).

گیاهان در شرایط تنش خشکی برای کمک به برقرار نمودن جریان پیوسته آب در خود از ساز و کارهای مختلفی برای تنظیم اسمزی استفاده می‌کنند که از جمله می‌توان به انباشت مواد محلول در سیتوپلاسم خود مانند اسیدهای آلی، پرولین[۱۲]، گلیسین[۱۳]، بتائین[۱۴] و قندهایی مشابه ساکاروز[۱۵] و مانیتول[۱۶] اشاره کرد (۴۴). اسیدآمینه پرولین در یاخته‌های گیاهی بدون اینکه مولکول‌های بزرگ را تخریب کند به عنوان یک اسمولیت سازگار عمل می‌کند و در غلظت‌های زیاد در یاخته افزایش می‌یابد (۲۴). پرولین نقش محافظتی از یاخته را دارد، زیرا در هنگام تنش خشکی شدید از آسیب رسیدن به غشاء و رهایی پروتئین‌ها جلوگیری می‌کند (۲۵).

اسکوربیک اسید که یک مولکول کوچک و قابل حل در آب می‌باشد، یکی از آنتی‌اکسیدان‌های قوی است که با در اختیار قرار دادن اتم‌های هیدروژن به رادیکال‌های اکسیژن فعال، اکسیژن منفرد تشکیل شده در اثر تنش را خنثی می‌کند. به عبارت دیگر این ماده به عنوان سوبسترای[۱۰] اولیه در سم‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن مانند پراکسید هیدروژن نقش دارد (۱۵، ۱۹ ،۴۰). هم‌چنین اسکوربیک اسید برخی فرایندهای گیاهی مانند تقسیم یاخته‌ای، بزرگ شدن یاخته، توسعه دیواره یاخته و رشد را زیر تاثیر قرار می‌دهد (۳۴).

بررسی‌ها نشان داده است که از اسکوربیک اسید نه تنها برای کاهش اثرهای تنش خشکی استفاده می‌شود، بلکه تیمار گیاهان با اسکوربیک اسید اثرهای مثبت دیگری را نیز به‌همراه دارد. به عنوان مثال استفاده از اسکوربیک اسید در گیاه الترانترا[۱۷] باعث افزایش محتوای نسبی آب (۳۶)؛ در سیب‌زمینی باعث افزایش ارتفاع بوته، وزن خشک برگ و عملکرد (۱۶)؛ در فلفل دلمه‌ای باعث افزایش سطح برگ و کیفیت میوه (۱۸) و در انگور موجب افزایش سطح برگ، قطر ساقه میوه دهنده و کیفیت میوه گردید (۴۶). در نهال‌های زیتون به منظور بهبود ویژگی‌های رویشی و عملکرد در شرایط تنش استفاده از اسکوربیک اسید در مقایسه با ترکیب‌هایی مانند پرولین و جاسمونیک اسید[۱۸] (۱۷) و یا استفاده همزمان آن با کود زیستی (۳۲) گزارش شده است. افزون بر این، در گیاه سویا استفاده از اسکوربیک اسید در شرایط تنش تیمار نیکل باعث کاهش انتقال نیکل به بخش هوایی و بهبود ویژگی‌های رویشی گردید (۸). هم‌چنین، استفاده از اسکوربیک اسید در سیاه‌دانه موجب کاهش اثرهای شوری گردید (۲۰).

با عنایت به اینکه گیاه زیتون از نظر تولید روغن از اهمیت زیادی در صنعت میوه‌کاری و اقتصاد برخوردار است و با توجه به اینکه نهال‌های تازه کشت‌شده این گیاه از حجم ریشه کافی در مرحله اولیه کشت برخوردار نبوده و نمی‌تواند زیر تاثیر تنش خشکی قرار گیرند، بنابراین، این پژوهش با هدف استفاده از اسکوربیک اسید به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی در کاهش اثرهای تنش‌های اکسیداتیو در گیاه زیتون صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش از آبان‌ماه ۱۳۹۴ تا خردادماه ۱۳۹۵ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز با میانگین دمای روزانه ۳۵ و شبانه ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۳۳ ٪ انجام شد. نور گلخانه به صورت طبیعی و به مقدار ۵۰۰

۱- Proteins ۲- Nucleic acid ۳- Glutathion ۴- Tocopherol ۵- Flavonoids ۶- Ascorbate
۷- Superoxide dismutase ۸- Catalase ۹- Ascorbate peroxidase ۱۰- Glutation reduktase ۱۱- Proline
۱۲- Glycine ۱۳- Betaeine ۱۴- Sacharoze ۱۵- Mannitol ۱۶- Substrate ۱۷- Alternanthera
۱۸- Jasmonic acid

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1399.21.4.21.1]

میکرومول در متر مربع در ثانیه تامین شد و دما در فروردین ماه تا پایان آزمایش به کمک سیستم پوشال و فن تنظیم گردید. نهال‌های دو ساله زیتون رقم محلی باغملک از مرکز تولید نهال در شهرستان باغملک تهیه شد و نهال‌هایی که دو سال از ریشه‌دار شدن آن‌ها گذشته بود به گلخانه منتقل شدند، گلدان آن‌ها تعویض و در گلدان‌هایی بزرگتر و به ابعاد ۲۲ سانتی‌متر قطر و ۳۵ سانتی‌متر ارتفاع و با ترکیب یک سوم خاک زراعی، یک سوم ماسه و یک سوم کود حیوانی پوسیده، قرار داده شدند. به منظور سازگاری نهال‌ها به شرایط گلخانه تا اول بهمن‌ماه آبیاری نهال‌ها به طور معمول و براساس نیاز آبی آن‌ها انجام شد. از بین نهال‌های موجود، نهال‌های سالم که از نظر اندازه مشابه بودند برای انجام آزمایش انتخاب شدند. نهال‌ها از ابتدای بهمن‌ماه با سه روش آبیاری ۱۰۰٪، ۶۶٪ و ۳۳٪ تبخیر و تعرق (آب مورد نیاز گیاه) و چهار سطح اسکوربیک اسید صفر، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم در لیتر تیمار شدند (۱۸ و ۲۰). این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و در سه تکرار اجرا شد. در هر واحد آزمایشی دو نهال و برای سه تکرار با توجه به تعداد تیمارها ،۷۲ نهال استفاده شد. محلول‌پاشی با اسکوربیک اسید تهیه شده از شرکت مرک در نیمه دوم اسفند و ۳۰ روز بعد در فروردین‌ماه انجام شد. برای اعمال تنش کم آبی از روش خالقی و همکاران (۳۰) و با استفاده از شش گلدان مرجع و به روش وزنی استفاده شد. شیوه محاسبه آب قابل استفاده بدین صورت بود که ۲۴ ساعت بعد از آبیاری کامل گلدان‌های مرجع (زمانی که میزان رطوبت گلدان‌ها به حالت ظرفیت مزرعه رسید) گلدان‌ها وزن شدند. این وزن به عنوان وزن اولیه در نظر گرفته شد. پس از ده روز دوباره گلدان‌های مرجع وزن و به عنوان وزن ثانویه در نظر گرفته شد. اختلاف وزن اولیه و ثانویه به عنوان ۱۰۰ ٪ آب مورد نیاز (ناشی از تبخیر و تعرق) مد نظر قرار گرفت. سپس گلدان‌ها با توجه به نوع تیمار آبیاری۱۰۰٪، ۶۶٪ و ۳۳٪ آب قابل استفاده، آبیاری شدند. بدین ترتیب گلدان‌ها هر ۱۰ روز یکبار آبیاری شدند.

در پایان آزمایش ویژگی‌های زیست‌شیمیایی شامل رنگیزه کلروفیل[۱] میزان پرولین، کربوهیدرات محلول کل، پروتئین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری کلروفیل، پس از نمونه‌گیری از برگ‌های توسعه یافته از روش Arnon استفاده شد (۸). اندازه‌گیری پرولین پس از استخراج عصاره از برگ به روش Bates و همکاران (۱۱) انجام گرفت. میزان کل کربوهیدرات محلول به روش Irigoyen و همکاران (۲۸) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی بعد از استخراج عصاره خام از برگ به روش Sofa و همکاران (۴۵)، میزان پروتئین به روش Bradford (۱۳) و میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT , EC 1.11.1.6) بر اساس کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به وسیله متابولیزه شدن H_2O_2 به روش Beers and sizer (۱۲)، آنزیم اسکوربات پراکسیداز (APX, EC 1. 11.1.11) بر اساس کاهش جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر به روش Nakono and Asada (۳۳) و آنزیم پراکسیداز (POX, EC 1.11. 1.7) بر اساس کاهش جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر Shimatdzu مدل UV-1200 به روش Kelin and Hameda (۲۷) اندازه‌گیری شد.

در این آزمایش تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزارهای MSTATC، SPSS 14 و SAS 9.1 و مقایسه میانگین داده‌ها با روش چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ و ۱٪ انجام گردید.

نتایج

با توجه به اثر اسکوربیک اسید بر میزان کلروفیل a مشخص گردید (شکل ۱) که بیشترین مقدار کلروفیل a به میزان ۱/۳۰ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسکوربیک اسید به‌دست آمد که با شاهد و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌دار داشت. برهمکنش تیمار آبیاری و اسکوربیک اسید بر میزان کلروفیل b نشان داد (شکل ۲) که در تیمار ۱۰۰٪ آب قابل استفاده بیشترین میزان کلروفیل b به میزان ۰/۵۳ میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ مربوط به غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسکوربیک اسید بود که با این غلظت در تیمار ۶۶٪ اختلاف معنی‌داری نداشت، اما با سایر غلظت‌های اسکوربیک اسید در تیمار ۳۳٪ آبیاری اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ٪۱ داشت. با کاهش میزان آب قابل استفاده نهال زیتون از ۱۰۰ به ۶۶ و ۳۳٪ میزان کلروفیل b در نهال کاهش یافت و کمترین میزان کلروفیل b به میزان ۰/۱ میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ مربوط به شاهد و تیمار ۳۳٪ آب قابل استفاده بود.

۱- Chlorophyll pigment

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1399.21.4.21.1]

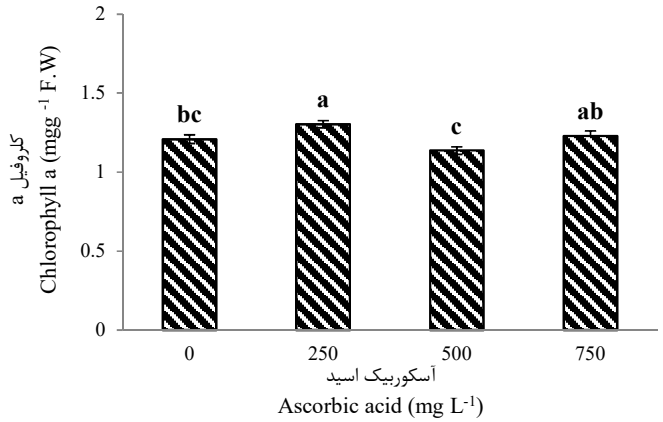

Fig. 1. The effect of ascorbic acid on the leaf chlorophyll a content in olive leaf. Mean with the same letters are not significant at level of 5% probability.

شکل ۱- اثر اسکوربیک اسید بر میزان کلروفیل a برگ زیتون. میانگین های دارای حرف‌های مشترک در سطح احتمال ۵٪ معنی دار نیستند.

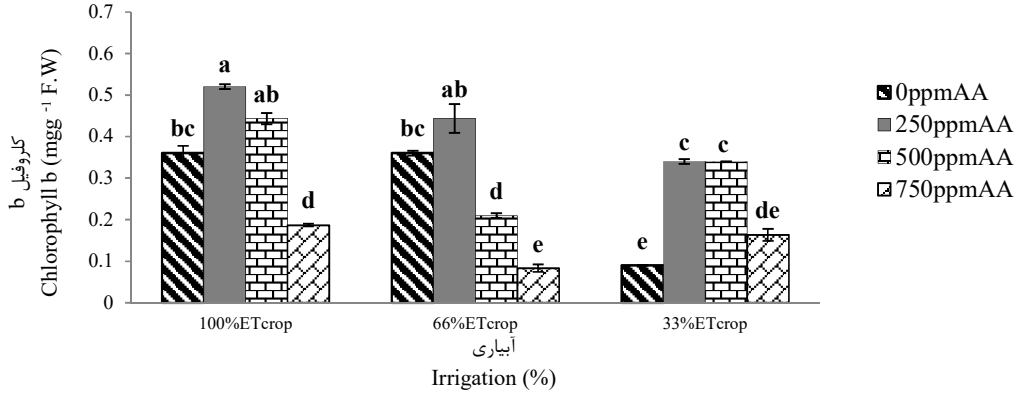

Fig. 2. The interaction effect of irrigation and ascorbic acid on the leaf chlorophyll b content in olive leaf. Mean with the same letters are not significant at level of 5% probability.

شکل ۲- اثر برهمکنش آبیاری و اسکوربیک اسید بر میزان کلروفیل b برگ زیتون. میانگین های دارای حرف‌های مشترک در سطح احتمال ۵٪ معنی دار نیستند.

برهمکنش تیمار آبیاری و اسکوربیک اسید بر میزان کربوهیدرات محلول کل (شکل ۳) نشان داد که بیشترین میزان کربوهیدرات به مقدار ۹/۵ میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ در تیمار ۳۳٪ آب قابل استفاده در گیاهان شاهد به‌دست آمد و با سایر تیمارها در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌داری داشت. اثر تیمار آبیاری بر میزان پرولین برگ (شکل ۴) نشان داد که با کاهش میزان آب قابل استفاده از ۱۰۰٪ به ۶۶٪ و ۳۳٪ میزان پرولین برگ افزایش یافت. بیشترین میزان پرولین برگ به مقدار ۲/۱۷ میکرومول در گرم وزن تازه برگ در تیمار ۶۶٪ آب قابل استفاده بود، اما بین تیمارهای ۶۶ و ۳۳٪ از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. اثر تیمار اسکوربیک اسید بر میزان پرولین برگ (شکل۵) نشان داد که در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسکوربیک‌اسید، کمترین میزان پرولین به میزان ۱/۴ میکرومول در گرم وزن تازه برگ تولید شد. بین میزان پرولین برگ در غلظت‌های دیگر اسکوربیک اسید و شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. برهمکنش تیمار آبیاری و اسکوربیک اسید بر میزان پروتئین محلول برگ (شکل ۶) نشان داد که در نهال‌های تیمار نشده با اسکوربیک اسید، بتدریج با اعمال تنش کم آبی میزان پروتئین محلول برگ کاهش یافت. هم‌چنین با تیمار اسکوربیک اسید در شرایط نبود تنش (۱۰۰٪ آب قابل استفاده)

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1399.21.4.21.1]

میزان پروتئین محلول برگ در تیمارهای ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسکوربیک اسید بیشترین مقدار (به ترتیب به میزان ۴/۴۵ و ۴/۴۰ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) را به خود اختصاص داد و با میزان پروتئین برگ نهال‌های تیمار شده با ۷۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسکوربیک اسید و تنش شدید کم آبی از نظر آماری در یک سطح قرار داشتند.

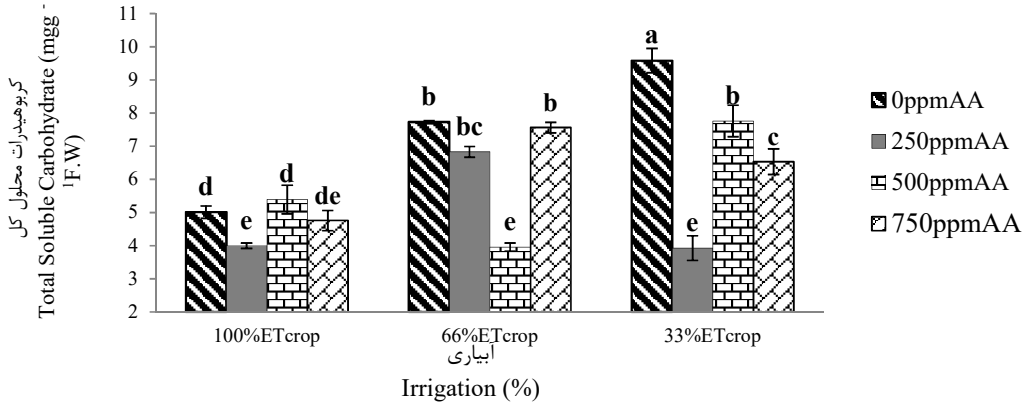

Fig. 3. The effect of interaction between irrigation and ascorbic acid on total soluble carbohydrate in olive leaf. Mean with the same letters are not significant at level of 5% probability.

شکل ۳- برهمکنش آبیاری و اسکوربیک اسید بر کربوهیدرات محلول کل در برگ زیتون. میانگین های دارای حرف‌های مشترک در سطح احتمال ۵٪ معنی دار نیستند.

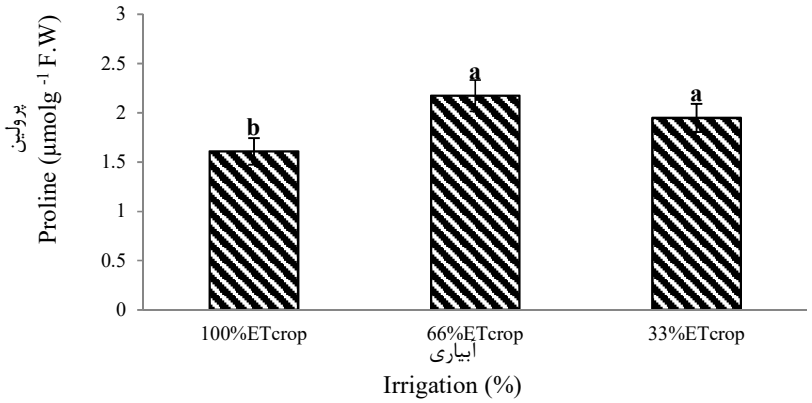

Fig. 4. The effect of irrigation on the leaf proline content in olive leaf. Mean with the same letters are not significant at level of 5% probability.

شکل ۴- اثر آبیاری بر میزان پرولین برگ زیتون. میانگین های دارای حرف‌های مشترک در سطح احتمال ۵٪ معنی دار نیستند.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1399.21.4.21.1]

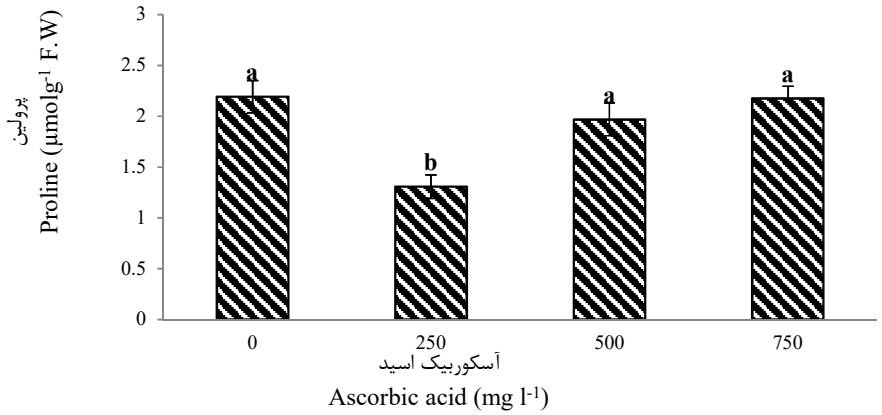

Fig. 5. The effect of ascorbic acid on the leaf proline content in olive leaf. Mean with the same letters are not significant at level of 5% probability.

شکل ۵- اثر اسکوربیک اسید بر میزان پرولین برگ زیتون. میانگین های دارای حرف‌های مشترک در سطح احتمال ۵٪ معنی دار نیستند.

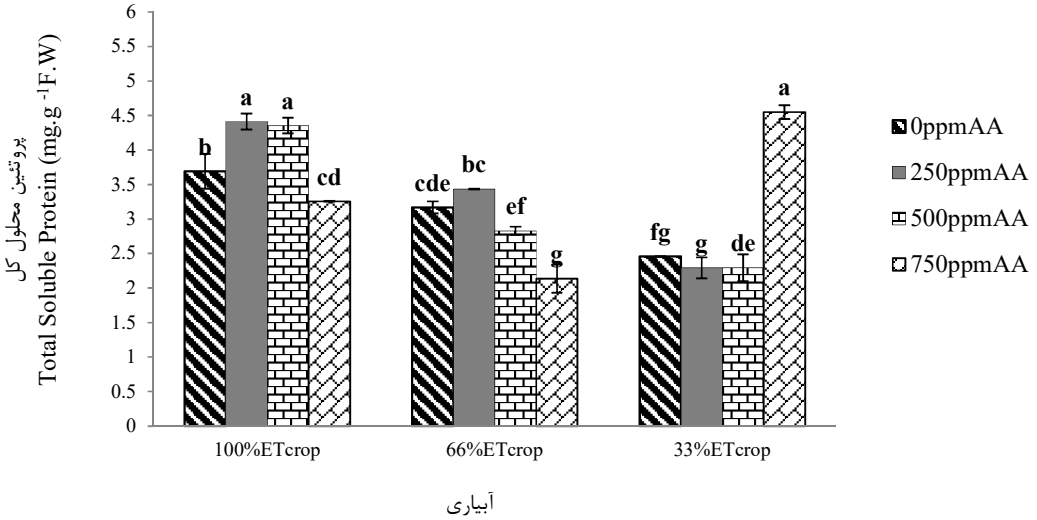

Fig. 6. The effect of interaction between irrigation and ascorbic acid on total soluble protein in olive leaf. Mean with the same letters are not significant at level of 5% probability.

شکل ۶- برهمکنش آبیاری و اسکوربیک اسید بر پروتئین محلول کل برگ زیتون. میانگین های دارای حرف‌های مشترک در سطح احتمال ۵٪ معنی دار نیستند.

برهمکنش تیمار آبیاری و اسکوربیک اسید بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (شکل۷) نشان داد که بیشترین میزان فعالیت این آنزیم مربوط به نهال‌های شاهد در تیمارهای آبیاری ۶۶٪ و ۳۳٪ و غلظت ۷۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسکوربیک اسید و تیمار ۱۰۰٪ آبیاری می‌باشد. استفاده از اسکوربیک اسید در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر باعث کاهش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز گردید. در نهال‌هایی که بیشتر در شرایط تنش کم آبی قرار داشتند، کاهش فعالیت این آنزیم در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر بیشتر مشهود بود.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1399.21.4.21.1]

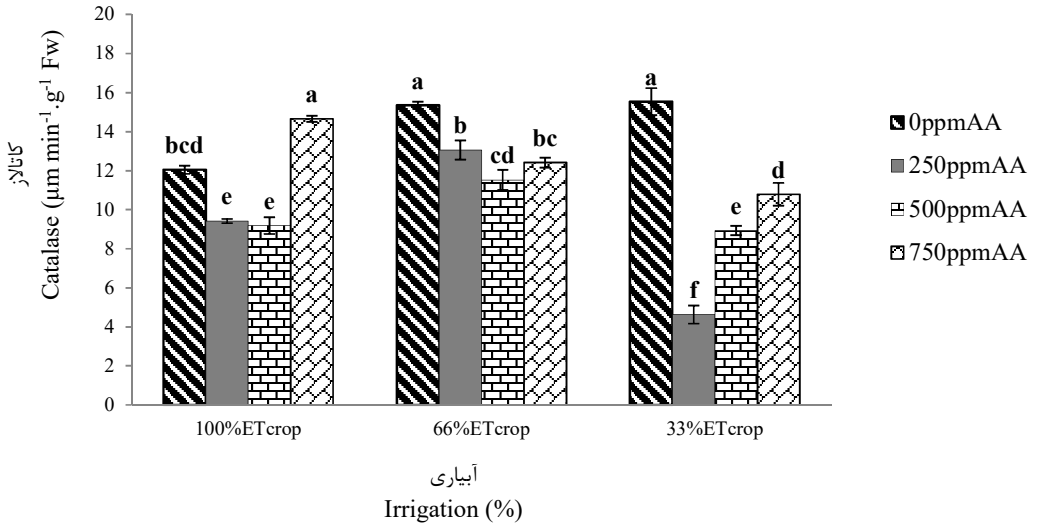

Fig. 7. The effect of interaction between irrigation and ascorbic acid on catalase enzyme activity in olive leaf. Mean with the same letters are not significant at level of 5% probability.

شکل ۷- برهمکنش آبیاری و اسکوربیک‌اسید بر فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در برگ زیتون. میانگین های دارای حرف‌های مشترک در سطح احتمال ۵٪ معنی دار نیستند.

برهمکنش تیمار آبیاری و اسکوربیک اسید بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (شکل ۸) نشان می‌دهد که میزان فعالیت این آنزیم در تیمارهای شاهد اسکوربیک اسید و تیمارهای آبیاری ۶۶٪ و ۳۳٪ و هم‌چنین در تیمار ۷۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسکوربیک اسید و تیمار ۱۰۰٪ و ۳۳٪ آبیاری افزایش یافت، اما بین آن‌ها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. کمترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز مربوط به غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسکوربیک اسید در هر دو تیمار آبیاری ۶۶٪ و ۳۳٪ آب قابل استفاده بود. در تیمار ۳۳٪ آبیاری بین تیمار شاهد و غلظت ۷۵۰ میلی‌گرم درلیتر اسکوربیک اسید از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، اما میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار ۳۳٪ آبیاری و در غلظت های ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم درلیتر به طور معنی‌داری کاهش یافت.

برهمکنش تیمار آبیاری و اسکوربیک اسید بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (شکل ۹) نشان داد که میزان فعالیت این آنزیم در نهال‌های زیتون تیمار نشده با اسکوربیک اسید بیشتر می‌باشد و این افزایش فعالیت با شدت تنش کم آبی (۳۳٪ آب قابل استفاده) بیشتر مشهود بود. کمترین میزان فعالیت این آنزیم مربوط به غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسکوربیک اسید و در تیمار ۳۳٪ آب قابل استفاده مشاهده شد.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1399.21.4.21.1]

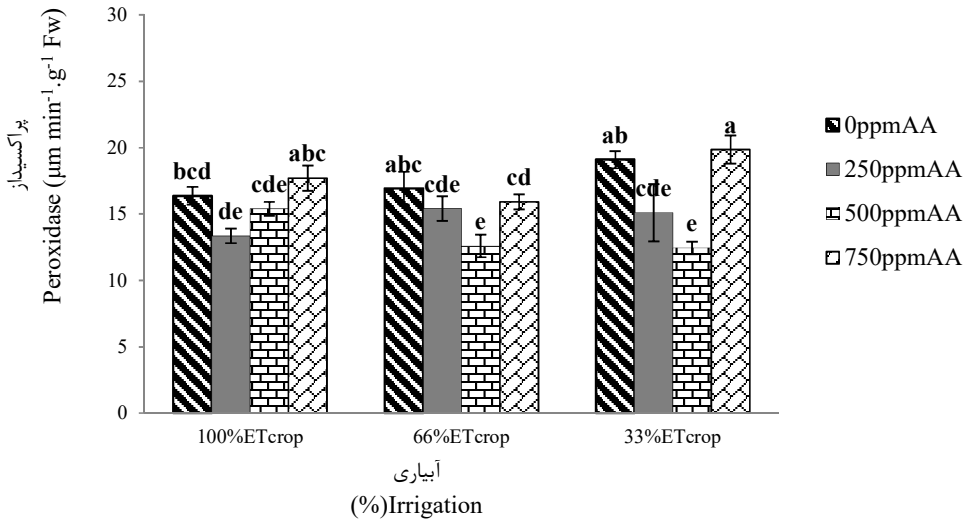

Fig. 8. The effect of interaction between irrigation and ascorbic acid on peroxidase enzyme in olive leaf. Mean with the same letters are not significant at level of 5% probability.

شکل ۸- برهمکنش آبیاری و اسکوربیک‌اسید بر آنزیم پراکسیداز (POD) در برگ زیتون. میانگین های دارای حرف‌های مشترک در سطح احتمال ۵٪ معنی دار نیستند.

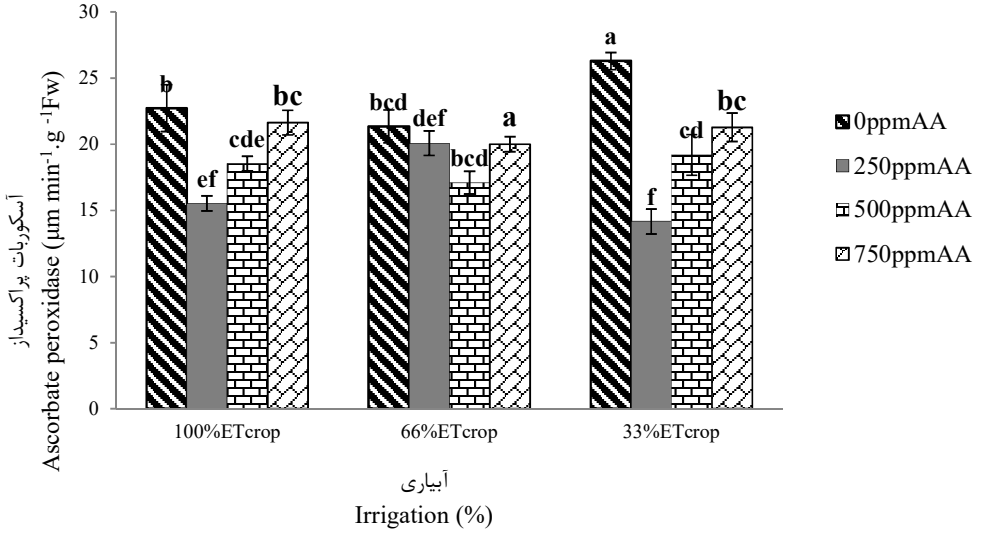

Fig. 9. The effect of interaction between irrigation and ascorbic acid on ascorbate peroxidase in olive leaf. Mean with the same letters are not significant at level of 5% probability.

شکل ۹- برهمکنش آبیاری و اسکوربیک‌اسید بر آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز (APX) در برگ زیتون. میانگین های دارای حرف‌های مشترک در سطح احتمال ۵٪ معنی دار نیستند.

بحث

نتیجه‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که میزان کلروفیل برگ زیر تاثیر تنش کم‌آبی قرار گرفت و هر قدر شدت این تنش بیشتر شد (در شرایط ۳۳٪ آب قابل استفاده) میزان کلروفیل b به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۲). در برخی موارد تیمار نهال‌های زیتون با اسکوربیک اسید در این پژوهش باعث بهبود میزان کلروفیل a و b گردید (شکل‌های ۱ و ۲). نتایج

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1399.21.4.21.1]

پژوهش حاضر با یافته‌های پژوهش‌های انجام شده روی رقم‌های دزفولی، زرد، فیشمی، نبالی[1] کوردال[2]، آربیکن[3] و روغنی زیتون (۳۰ ،۴۷) در یک راستا می‌باشند. در طی تنش خشکی که منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود، تخریب کلروفیل ناشی از وسعت آسیب‌های اکسیداتیو به دلیل اثر بازدارنگی مراحل مختلف بیوسنتز کلروفیل می‌باشد (۴۲).

در نهال‌های زیتون رقم محلی باغملک که زیر تاثیر تنش خشکی و کاربرد برگی آسکوربیک اسید قرار داشتند، مشاهده شد که میزان کل کربوهیدرات محلول در اثر تنش خشکی افزایش یافت. این افزایش متناسب با شدت تنش، بیشتر شد (شکل ۳). نتیجه‌های حاصل با نتیجه‌های ارجی (۶) و خالقی و همکاران (۳۰) و شفیعی و همکاران (۳۹) روی نهال‌های برخی از ارقام زیتون همخوانی داشت. بررسی‌های انجام شده نشان داد که به دلیل تجزیه نشاسته و تبدیل آن به قندهای ساده در گیاهان زیر تنش خشکی، میزان کربوهیدرات افزایش می‌یابد که یک علت آن تجزیه نشاسته و علت دیگر، انتقال کمتر ساکاروز به خارج از برگ‌ها بیان شده است (۳۵).

میزان پرولین یکی دیگر از موادی بود که در برگ‌های نهال‌های زیتون رقم محلی باغملک زیر تاثیر تنش کم‌آبی قرار گرفت (شکل‌های ۳،۴). استفاده از اسکوربیک اسید به غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر در نهال‌های بیان‌شده، میزان پرولین را در مقایسه با نهال‌های شاهد کاهش داد. یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج پژوهش‌های انجام شده روی ارقام بلیدی[4]، میشن[5]، دزفولی و کنسروالیا[6] زیتون (۷، ۳۰، ۳۹) همسو می‌باشند. به احتمال، افزایش میزان پرولین برگ به دلیل تحریک ساخت آن و یا جلوگیری از تجزیه آن می‌باشد و یا ممکن است به دلیل تجزیه پروتئین‌ها باشد (۳۹ ،۲۱).

نتیجه‌های این پژوهش نشان داد که اعمال تنش کم‌آبی روی نهال‌ها باعث گردید تا میزان پروتئین محلول برگ به طور معنی‌داری کاهش یابد، اما استفاده از اسکوربیک اسید منجر به افزایش میزان پروتئین برگ گیاهان زیر تنش گردد (شکل ۶). کاهش میزان پروتئین محلول برگ در اثر تنش‌های خشکی و شوری در گیاهان توسط پژوهشگران دیگر گزارش شده است (۲۰ ، ۴۱). بررسی‌های انجام شده در لوبیا که در آن‌ها میزان پروتئین برگ در اثر تنش خشکی کاهش یافت، نشان داد که بین میزان فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین و نیز حساسیت گیاه به تنش خشکی یک رابطه مستقیمی وجود دارد (۲۶ ، ۳۷).

وقتی گیاهان زیر تاثیر تنش قرار می‌گیرند و مکانیسم حفاظتی لازم در گیاه وجود نداشته باشد، گونه‌های فعال اکسیژن می‌توانند با آسیب اکسیداتیو به لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک به متابولیسم طبیعی یاخته صدمه بزنند و یا به غشاء یاخته آسیب برسانند که در نهایت، مرگ یاخته را به دنبال خواهد داشت (۱۰، ۱۴ ، ۲۹). در چنین شرایطی آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی مانند سوپراکسیددیسموتاز، اسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و گلوتاتیون رودکتاز افزایش می‌یابد (۴۲). بررسی‌های انجام شده روی نهال‌های زیتون رقم محلی باغ‌ملک نشان داد که آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و اسکوربات پراکسیداز در اثر تنش خشکی افزایش یافت (شکل‌های ۷، ۸ ، ۹). نتیجه‌های پژوهش حاضر با نتیجه‌های امینی و همکاران (۴) روی سه رقم زیتون دزفولی، T2 و کرونیکی که در شرایط تنش خشکی میزان فعالیت این آنزیم‌ها افزایش داشت، همسو بود. هم‌چنین، پژوهش‌های انجام شده روی جو در شرایط تنش خشکی حاکی از افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، اسکوربات پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز می‌باشد (۳). اولین خط دفاعی علیه رادیکال‌های فعال اکسیژن که در یاخته گیاهان زیر تنش خشکی تشکیل می شود، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز است (۲) که احیای سوپر اکسید را به پراکسید هیدروژن و اکسیژن مولکولی کاتالیز می‌کند. در مرحله بعدی پراکسید هیدروژن تولید شده به وسیله آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و اسکوربات پراکسیداز، پاک‌سازی می‌شود (۴۸). در نهال‌های زیتون رقم محلی باغ‌ملک فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و اسکوربات پراکسیداز در شرایط تنش برای پاک‌سازی پراکسید هیدروژن مشاهده شد. به نظر می‌رسد که استفاده از اسکوربیک اسید به عنوان یک انتی‌اکسیدان در پاک‌سازی پراکسید هیدروژن موثر می‌باشد، زیرا با استفاده از اسکوربیک اسید در غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر از میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به دلیل کاهش اثرهای سو تنش کم‌آبی کاسته شد.

نتیجه گیری

نهال‌های تازه کشت شده زیتون ممکن است در مراحل اولیه رشد دچار تنش کم‌آبی شوند. نتیجه‌های این بررسی نشان داد که در اثر تنش کم آبی از میزان کلروفیل و پروتئین محلول برگ کاسته شد، در حالی‌که به مقدار پرولین و کربوهیدرات

۱- Nabali ۲- Cordal ۳- Arbequine ۴- Baladi ۵- Mission ۶- Konservalia

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1399.21.4.21.1]

محلول کل برگ اضافه گردید. هم‌چنین میزان فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو گیاهان زیر تنش کم‌آبی افزوده گردید. درحالی‌که استفاده از اسکوربیک اسید موجب کاهش فعالیت این گونه آنزیم‌ها شد. بنابراین، می‌توان پیشنهاد نمود که برای کاهش اثرهای مخرب تنش کم‌آبی در نهال‌های زیتون از اسکوربیک اسید به غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر استفاده گردد و برای صرفه‌جویی در مصرف آب تیمار ۶۶٪ توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به خاطر تامین هزینه انجام این پژوهش در قالب پایان‌نامه کارشناسی ارشد و هم‌چنین از گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی به خاطر همکاری در انجام آزمایش‌های مربوطه، کمال تشکر و قدردانی را به عمل می‌آورند.

References منابع

1. Agarwal, S. and V. Pandey. 2004. Antioxidant enzyme responses to Nacl stress in *Cassia angustifolia*. Bio. Plant. .48: 555-560.
2. Alscher, R.G., A.N.D. Erturk, and L.S. Heath. 2002. Role of superoxide (SODs) in controlling oxidative stress in plants. J. Exp. Bot. 372: 1331-1341.
3. Amini, Z., R. Haddad, and F. Moradi. 2008. The effect of water deficit stress on antioxidant enzymes during generative growth stages in barley (*Hordeum vulgare* L.). J. Agr. Sci. Nat. Res. 37 (2): 156-166 (In Persian).
4. Amini, Z., N. Moallemi, and S. Saadati. 2014. Effects of water deficit on proline content and activity of antioxidant enzymes among three olive (*Olea europaea* L.) cultivars. J. Plant Res. (Iranian j. Biol.) 27(2): 156-167(in Persian).
5. Anand, A., H. N. Gill and B.S. Trick. 2003. Stable transgene expression and random gene silencing in wheat. Plant Bio. J.1 (4): 241-251.
6. Arji I. 2003. Effects of drought stress on Physiological characteristics, morphological and biochemical some of olive varieties. Ph.D. thesis. Faculty of Agriculture Tarbiat Modares University, 213 p (In Persian).
7. Argi, I., and K. Arzani. 2003. Evaluation of the growth responses and proline accumulation of three Iranian native olive cultivars under drought stress. J. Agric. Sci. Nat. Res. 2 (10)2: 91-101 (In Persian).
8. Arnon, D. I. 1949.Copper enzyme in isolated chloroplasts, polyphenol oxidase in *Beta vulgaris.* Plant Phys. 24 (1):1-15.
9. Bahttacharjee, S. 2005. Reactive oxygen species and oxidative burst: Roles in stress, senescence and signal transduction in plants. Cur. Sci. 98(7): 1113-1121.
10. Basaga H. S. 1989. Biochemical aspects of free radicals. J. Bio. Cell Bio. 68: 989-998.
11. Bates, L.S., R. P. Waldren, and I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil, 39: 205-207.
12. Bates, L.S., R. P. Waldren, and I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil, 39: 205-207.
13. Bradford, M. M. 1979. A rapid and sensitive method for the quantitation of mincrogram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Ana. Bio. 72:248-254
14. Chen W. P., P. H. Li and T. H. H. Chen. 2000. Glycinbetaine increases chilling tolerance controlled water stress to manipulate growth of container-grown Rhododendron CV. Happy. J. Hort. Sci. Bio. 47:161-169.
15. Conklin P. L. and C. Barth. 2004. Ascorbic acid, a familiar small molecule intervened in the response of plants to ozone, pathogens, and the onset of senescence. Plant Cell Environ. 27: 959-971.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1399.21.4.21.1]

16. EL- Banna, E. N., S. A. Ashour and H. Z. Abd Al Salam. 2006. Effect of foliar application with organic compounds on growth yield and tubers quality of potato (*Solanum tubersoum* L.). j. Agri. Sci., Monsoura University, 31(2): 1165-1173
17. El Sayed M. A., O. H. M. El-Gammal and A. S. M. Salama. 2014. Effect of ascorbic acid, proline and jasmonic acid foliar spraying on fruit set and yield of Manzanillo olive trees under salt stress. Sci. Hor. 176: 32–37.
18. Fateh M., T. Barzegar and F. Razavi. 2019. The effect of foliar application of ascorbic acid and calcium lactate of growth, yield and fruit quality of sweet pepper. J. Hor. Sci. 33:1, 79- 87 (In Persian).
19. Fotouhi Ghazvini, R. and J. Fattahi Moghaddam. 2016. Growing Citrus in Iran. University of Guilan Press
20. Ghorbanli, M., N. Adib Hashemi and M. Pyvandi. 2010. Study of salinity and ascorbic acid on some physiological responses of *Nigella sativa* L. Iran. J. Medici. & Aroma. Plants. 26(3): 370- 388. (In Persian).
21. Gomes, F. P., M. A. Oliva, M. S. Mielke, A. A. F. Almeida, and L. A. Aquino. 2010. Osmotic adjustment, proline accumulation and membrane stability in leaves of *Cocos nucifera* submitted to drought stress. Sci. Hor. 126:379-383.
22. Guo, Z., W .Ou. S. Lu and Q. Zhong. 2006. Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rive cultivars differing in sensitivity. Plant Phys. Bio. 44: 828-836.
23. Hajan, G., M. Ghasemnzhad, R. Fotouhi Ghazvini, and M. Khaledian.2019. Effect of Regulated Deficit Irrigation on Yield and Quality of Japanese Plum (*Prunus salicina* Lindell cv. Friar) Growth Characteristics and Fruit. Iran. J. Hor. Sci. Tech. 20 (3) 265-274. (In Persian).
24. Hare, P.D., W. A. Cress and J. Van Staden.1998. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. Plant, Cell Environ. 21: 535-553
25. Hare, P.D., W. A. Cress and J. Van Staden.1998. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. Plant Cell Environ. 21: 535-553
26. Heing, B., K. Ugrinovie, J. Sustar-vozlic and M. Kidric. 2004. Different classes of proteases are involved in the response to drought of *Phaseolus vulgaris* L. cultivars differing in sensitivity. J. Plant Phys. 161 (5): 519-530.
27. Hemeda, H. M. and B. P. Kelin . 1990. Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetables extracts. J. Food Sci. 55: 184-192.
28. Irigoyen, J. J., D. W. Emerich, and M. Sanchex-Diaz, 1992. Alfalfa leaf senescence induced by drought stress. Photosynthesis hydrogen peroxidase metabolism. Lipid peroxidation and ethylene evolution. Phys. Plant. 84(1): 67–72.
29. Jiang M. and J. Zhang . 2001. Effect of abscisic acid on active oxygen species, Plant Cell Phys. 42(11): 1265-1273.
30. Khaleghi E., K. Arzani, N. Moallemi and M. Barzegar. 2014. Studying the effect of kaolin on fluorescence and chlorophyll content in leaves of olive plants (*Olea europaea* L. cv Dezful) under water deficit stress. Plant Pro. (Sci. J. Agri.). 37 (2): 127-139 (In Persian with English abstract).
31. Kameli, A. and D. M. Losel. 1993. Carbohydrates and water status in wheat plants under water stress. New Phytologist, 125: 609-614.
32. Maksoud M. A., M. A. Saleh, M. S. El-Shamma and A. A. Fouad, 2009. The beneficial effect of biofertilizers and antioxidants on olive trees under calcareous soil conditions. World J. Agri. Sci. 5 (3): 350–352.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1399.21.4.21.1]

33. Nakano Y. and K. Asada. 1987. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplast: in inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. Plant Cell Ph. 28: 131-140.
34. Pignocchi C. and C. H. Foyer. 2003. Apoplastic ascorbate metabolism and its role in the regulation of cell signaling. Cur. Op. Plant Bio. 6:379-387.
35. Pinherio, H. A., F.M. Damatta, A. R. M. Chaves, E. P. B. Fontes and M. E. Loureior. 2004. Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought. Plant Sci. 167: 1307-1314.
36. Porghasemi D. Rezaeinejad A. Chehrazi M. 2015. Effect of salinity stress on some quantitative and qualitative characteristics of *Alternanthera repens* genotypes: "Entine leaf "and "Undulate leaf. Plant prod. (Sci. J. Agric.), 38(2) 65-76 (In Persian).
37. Roy-Macauley, H., Y. Zuily-Fodil, M. Kidric, A.T.P. Thi and J.V. de Silva. 1992. Effect of drought stress on proteolytic activities in Phaseolus and Vigna leaves from sensitive and resistant plants. Physiol. Plant. 85:90–96.
38. Saeidi- Sar, S., R. A. Khavari-Nejad, H. Fahimi, M. Ghorbanli, and A. Majd, 2006. Ascorbic acid protects soybean plants against Ni induced oxidative stress. Pajohesh and Sazandegi. 70 (4) 80-87 (In Persian)
39. Shafiei, N., E. Khaleghi, and N. Moallemi. 2019. Effect of Salicylic Acid on Some Morphological and Biochemical Characteristics of Olive (*Olea europaea* cv. 'Konservalia') Under Water Stress. 42 (1) 15-30 (In Persian).
40. Shalata A. and P. M. Neumann. 2001. Exogenous ascorbic acid (Vitamin C) increase resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation. J. Exp. Bot. 52:2207-2228.
41. Sharma P. and R. S. Dubey. 2005. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedling. Plant Growth Reg. 46: 209-221.
42. Smirnoff. N. 1993. The role of active oxygen in response of plants to water deficit and desiccation. New Phytologist, 125: 27-58
43. Smirnoff. N. 1998. Plant resistance to environmental stress. Cur. Opin. Biotech. 9: 214-219.
44. Sofo, A., B. Dichio, C. Xiloyannis and A. Masia. 2004. Effects of different irradiance levels on some antioxidant enzymes and on malondialdehyde content during rewatering in olive tree. Plant Sci. 166: 293–302.
45. Sofo, A., B. Dichio, C. Xiloyannis and A. Masia. 2004. Lipoxygenase activity and prolin accumulation in leaves and roots of olive tree in response to drought stress. Physiol. Plant.121: 56-58
46. Wassel A. H., M. A. EL-Hameed, A. Gobara and M. Attia . 2007. Effect of micronutrients, gibberellic acid and ascorbic acid on growth, yield and quality of white Banaty seedless grapevines. African Crop Sci. Conference Proceeding, 8: 547-553.
47. Zarrabi, M. M., A. Telaei, A. Soleimani, and R. Haddad. 2010. The Physiological role and biochemical changes of six olive cultivars under drought stress. J. Hor. Sci. 24(2): 234-244. (In Persian).
48. Zeid, I.M. and Z. A. Shedeed,. 2006. Response of alfalfa to putrescine treatment under drought stress. Bio. Plant. 50 (4): 635-640.
49. Zhu J. K. 2000. Genetic analysis of plant salt tolerance using Arabidopsis. Plant Phys. 124: 941-948.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1399.21.4.21.1]

Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 21(4): 357 – 368 (2020)
Research article

The Role of Ascorbic Acid Against Oxidative Stress Caused by Water Deficit in Olive Tree cv.' Mahali Baghmalek'

N. Moallemi*, E. Khaleghi and Z. Jafaryzadeh [1]

The plant growth and development are affected by oxidative stress under water deficit condition. The aim of this study was to investigate the effect of ascorbic acid as a strong antioxidant against oxidative stress caused by dehydration stress in olive trees cv. Mahali Baghmalek. In this study, two-year-old potted olive plants were exposed to three irrigation levels (100, 66 and 33% of plant evapotranspiration) and four levels of ascorbic acid (0, 250, 500 and 750 mg L^{-1}). Some biochemical parameters and enzymes activities were measured. This experiment was done as factorial experiment based on a randomized complete blocks design with three replications in 2015-2016. The highest chlorophyll a content (1.3 mg g^{-1} FW) was related to trees treated with 250 mg L^{-1} of ascorbic acid. Also, the highest amount of total soluble carbohydrates (9.5 mg g^{-1} FW) and proline (2.17 µmol g^{-1} FW) were obtained in plants irrigated with 33 and 66 % ET crop. Foliar application of ascorbic acid at 250 and 500 mg L^{-1} resulted in the accumulation of total soluble carbohydrates and reduction in the activity of antioxidant enzymes such as catalase, peroxidase and oscorbat peroxidase. Therefore, according to the results of this experiment, it can be suggested that the use of ascorbic acid at a concentration of 250 and 500 mg L^{-1} improved some biochemical properties and reduced the activity of antioxidant enzymes in olive cv. Mahali Baghmalek under water deficit stress (33 and 66% evapotranspiration).

Keywords: Carbohydrate, Catalase, Chlorophyll, Proline.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-09]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1399.21.4.21.1]

1. Professor, Associate Professor and Former M.Sc. student, Department of Horticultural Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran, respectively.
* Corresponding Author, Email: (n.moallemi@scu.ac.ir).