

مطالعه اثر کاربرد برگی کائولین بر فلئورسانس و میزان کلروفیل برگ نهال‌های

زیتون (*Olea europaea* L.) رقم دزفول تحت تنش کم آبی

اسمعیل خالقی^۱، کاظم ارزانی^{۲*}، نوراله معلمی^۳ و محسن برزگر^۴

۱ و ۴- به ترتیب دانشجوی دکتری علوم باغبانی و دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه تربیت مدرس، تهران
*۲- نویسنده مسوول: استاد گروه باغبانی گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه تربیت مدرس، تهران (arzani_k@modares.ac.ir)

۳- استاد گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز

تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۷

تاریخ دریافت: ۹۱/۴/۱۱

چکیده

با توجه به شرایط اقلیمی خشک و نیمه خشک کشور، استفاده از روش‌هایی که منجر به کاهش اثرات سوء کمبود آب بر محصولات باغی گردد، دارای اهمیت است. کائولین یکی از مواد ضد تعرق است که طی سالهای اخیر استفاده از آن گسترش یافته است. بدین منظور اثر سه سطح مختلف کائولین (۰، ۳ و ۶٪) و سه سطح آبیاری (۱۰۰، ۶۵ و ۴۰ درصد تبخیر و تعرق گیاه (ETcrop)) بر میزان کلروفیل و فلئورسانس کلروفیل برگ زیتون رقم دزفول بصورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه‌ای کاملاً تصادفی با سه تکرار (هر تکرار شامل سه گلدان) در گلخانه گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس تهران انجام شد. نتایج نشان داد که با اعمال تنش آبی از میزان کلروفیل a و کلروفیل کل کاسته شد و میزان کاهش کلروفیل a و کلروفیل کل در ۸۰ روز بعد از اعمال تیمار نسبت به ۴۰ روز بعد از اعمال تیمار بیشتر بود. علاوه بر این بیشترین میزان کلروفیل کل در ۸۰ روز بعد از اعمال تیمار به میزان ۱/۴۲۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ مربوط به نهال‌های محلول‌پاشی شده با کائولین ۶٪ بود و مشخص گردید که با کاهش مقدار آب به ۶۵ و ۴۰٪ تبخیر و تعرق گیاه، در نهال‌های محلول‌پاشی شده با غلظت‌های ۳ و ۶٪ کائولین، مقدار کلروفیل a از میزان بالاتری نسبت به شاهد برخوردار بود. نتایج مربوط به پارامترهای فلئورسانسی نیز نشان داد که شاخص‌های فلئورسانس بیشینه (F_m)، فلئورسانس متغیر (F_v) و نسبت فلئورسانس متغیر به فلئورسانس بیشینه (F_v/F_m) تحت تنش خشکی کاهش یافت. هرچند که تیمار کائولین بر این شاخص‌ها تأثیر معنی‌داری نداشت. بطور کلی می‌توان انتظار داشت که محلول‌پاشی باغ‌های زیتون کشور با کائولین به خصوص در مناطقی که با کمبود آب مواجه هستند می‌تواند سبب تعدیل تنش خشکی و کاهش اثرات سوء کمبود آب شده و همچنین می‌تواند باعث افزایش کارایی فتوسنتز برگ گردد.

کلید واژه‌ها: کائولین، تنش خشکی، فلئورسانس کلروفیل، محتوی کلروفیل، زیتون

مقدمه

رشد گیاه یکی از پیچیده‌ترین و حساس‌ترین پدیده‌های حیاتی نسبت به فاکتورهای محیطی می‌باشد که بازتاب پاسخ گیاه نسبت به متغیرهای محیطی است (برویدان و ایگلی^۱، ۲۰۰۳). در این میان، آب جایگاه ویژه‌ای داشته و همواره از آن به عنوان تأثیرگذارترین

عامل بر رشد گیاه یاد می‌شود (نیاکان و قربانعلی، ۱۳۸۶). مطالعات گسترده‌ای در مورد تنش خشکی بر خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان وجود دارد که نشان می‌دهد که برخی از گونه‌های گیاهی دامنه وسیعی از مکانیسم‌های تحمل به خشکی را از خود بروز می‌دهند که منجر به ایجاد سازگاری‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

احیاء شدن این مولکول‌ها، میزان فلئورسانس افزایش یافته و این روند تا احیای کامل مولکول‌ها ادامه پیدا می‌کند. در چنین حالتی مرکز واکنش فتوسیستم دو در حالت احیای کامل بوده و دارای بیشترین فلئورسانس (F_m) است. تنش خشکی با افزایش سطح تولید رادیکال‌های آزاد و خسارت به غشاء تیلاکوئید می‌تواند سبب نشت الکترون‌ها گردد که در نتیجه فلئورسانس افزایش می‌یابد. تنش اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی می‌تواند چرخه کالوین را متاثر ساخته و تثبیت کربن را کاهش دهد. علاوه بر این کاهش جذب دی‌اکسید کربن به دلیل بسته شدن روزنه‌ها طی تنش کم آبی نیز عاملی برای کاهش تثبیت دی‌اکسید کربن و فتوستتز محسوب می‌شود. در واقع تنش کم آبی، ظرفیت پذیرش و انتقال الکترون را کاهش داده، که در نتیجه سیستم به سرعت به (F_m) رسیده و منجر به کاهش فلئورسانس متغیر (F_v) خواهد شد. از این رو کارایی فتوشیمیایی سیستم نوری دو به صورت نسبت فلئورسانس متغیر به فلئورسانس حداکثر بیان می‌شود که در شرایط تنش این نسبت کاهش می‌یابد (ما و همکاران^۵، ۱۹۹۵). نتایج آزمایش‌های یزدانی (۱۳۸۳) و یزدانی و همکاران (۱۳۸۶) بر روی ارقام بلیدی و میشن زیتون نشان داد که اعمال تنش خشکی باعث کاهش نسبت فلئورسانس متغیر به فلئورسانس بیشینه کلروفیل، افزایش دمای سطح برگ و دمای پشت برگ، افزایش غلظت کربوهیدرات‌های محلول برگ گردید. تحقیقات نشان داد که تنش خشکی سبب کاهش کلروفیل a و b در ارقام بلیدی و میشن زیتون (ارزانی و یزدانی، ۲۰۰۸؛ یزدانی و همکاران، ۱۳۸۶) شد.

با توجه به مطالب فوق مشخص می‌شود که استفاده از روش‌های که منجر به کاهش اثرات سوء کمبود آب با توجه به شرایط اقلیمی خشک و نیمه خشک کشور، امری اجتناب ناپذیر و ضروری است. در این راستا تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که استفاده از ترکیبات

می‌گردد (کارتزولاکیس و همکاران^۱، ۲۰۰۰). ولی پژوهش‌های انجام شده بیانگر نقش تخریبی کاهش آب بر بسیاری از پارامترهای رشد، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان است. مشخص شده است که تنش خشکی همراه با افزایش دما باعث افزایش میزان بازدارندگی نوری در کلروپلاست سلول گردید و با عمل بازدارندگی در انتقال الکترون می‌تواند موجب اختلال و آسیب به عملکرد فتوشیمیایی سیستم نوری دو شود (لو و همکاران^۲، ۲۰۰۲). در واقع تنش خشکی علاوه بر محدودیت در فرآیند نوری، سبب کاهش ورود دی‌اکسید کربن و در نتیجه سبب کاهش میزان انتقال الکترون در فرآیند فتوستتزی می‌شود که این مهم می‌تواند به عنوان عامل محدودیت در قدرت اسیمیلسیون سلولی نقش خود را به جا بگذارد (بویر و همکاران^۳، ۱۹۸۷). در این راستا پژوهشگران به منظور تعیین میزان آسیب وارد شده به دستگاه فتوستتزی و تعیین میزان تحمل گیاهان نسبت به تنش‌های محیطی به ویژه تنش خشکی از روش اندازه‌گیری پارامترهای فلئورسانس کلروفیل، محتوی کلروفیل (میزان کلروفیل a و b) و پایداری غشاء سلولی بهره‌مند می‌شوند (لو و همکاران، ۲۰۰۲). در واقع فلئورسانس کلروفیل تابعی است از فعالیت فتوستتزی برگ (فرنچبود^۴، ۲۰۰۶) و اندازه‌گیری آن روشی است غیر تخریبی که در این سنجش، چندین مولفه از قبیل فلئورسانس حداقل، فلئورسانس حداکثر و فلئورسانس متغیر مورد توجه قرار می‌گیرد.

پژوهش‌های انجام شده نشان داد که در وضعیت باز مرکز واکنش سیستم نوری دو، زمانی که مولکول‌های کینون (A) اولین کینون گیرنده الکترون در سیستم نوری دو کاملاً اکسید شده باشند، سیستم دارای کمترین فلئورسانس (F_0) است که بتدریج با افزایش

1- Chartzoulakis *et al.*2- Lu *et al.*3- Boyer *et al.*

4- Fracheboud

5- Ma *et al.*

تبخیر و تعرق (ETcrop) [ارجی، ۱۳۸۲] بر محتوای کلروفیل و کلروفیل فلئورسانس برگ بصورت طرح آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار (هر تکرار شامل سه گلدان) در گلخانه گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس در سال ۱۳۹۰ به اجراء درآمد. در این پژوهش ۸۱ نهال دو ساله زیتون رقم دزفول با قطر و ارتفاع تقریباً یکسان از مرکز تولید و پرورش نهال امام رضا واقع در باغملک (۱۳۵ کیلومتری شرق اهواز) تهیه و پس از انتقال از خوزستان به دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس تهران، در مهرماه ۱۳۸۹ به منظور سازگاری با محیط به مدت ۸ ماه تا شروع آزمایش (خردادماه ۹۰) در گلخانه نگهداری گردید. پس از سازگاری، با آماده سازی مخلوط خاکی به نسبت یک سوم ماسه، یک سوم خاک زراعی و یک سوم کود حیوانی پوسیده، نهال‌های دو ساله رقم دزفول زیتون در ۸۱ گلدان ۱۱ کیلویی قرار داده شدند. کائولین مورد استفاده در این آزمایش از نوع کائولین فراوری شده (کائولین سپیدان WP) و از شرکت کیمیا سبز آور تهران تهیه شد و عمل محلول‌پاشی یک بار با سه غلظت کائولین (۰، ۳ و ۶٪) در ۱۵ خرداد ماه بر روی آنها صورت گرفت. سپس با توجه به میزان تبخیر و تعرق روزانه تحت رژیم‌های آبیاری ۱۰۰ (شاهد)، ۶۵ و ۴۰ درصد تبخیر و تعرق گیاه (ETc) قرار داده شدند و هر سه روز یکبار عمل آبیاری صورت گرفت و پس از گذشت یک ماه از شروع آزمایش (جهت موثر واقع شدن تیمارها) پارامترهای فلئورسانس کلروفیل ۴ مرتبه با فواصل هر ۲۰ روز یکبار و شاخص محتوی کلروفیل ۲ بار (۴۰ روز بعد از اعمال تیمار و ۸۰ روز بعد از اعمال تیمار) اندازه‌گیری شد. شایان ذکر است در طی آزمایش، نهال‌های زیتون در گلخانه تحت دماهای متوسط روزانه ۲۷-۳۳°C و شبانه ۱۹-۲۵°C، رطوبت نسبی ۵ ± ۳۳٪، قرار داده شده بودند.

ضدتعرق، می‌تواند سبب بهبود کارایی مصرف آب و کاهش صدمات تنش کم آبی شوند (صالح و الاشری^۱، ۲۰۰۶). یکی از این ترکیبات کائولین می‌باشد که به منظور کاهش اثرات منفی تنش گرما و آب بر فیزیولوژی و تولید گیاه مورد استفاده قرار می‌گیرد (روزاتی و همکاران^۲، ۲۰۰۶). این ماده با افزایش انعکاس نور، نور قابل‌دسترس و کاهش دمای برگ (ونچه و همکاران^۳، ۲۰۰۴) می‌تواند منجر به کاهش اثرات سوء تنش آبی گردد (گلن و پوترکا^۴، ۲۰۰۱). بطوری‌که نتایج یک آزمایش نشان داد که در ارقام دیجالت^۵ و دن^۶ دن^۶ زیتون، اسپری شده با کائولین نسبت به ارقام شاهد از نظر محتوای کلروفیل، تعداد شاخه‌ها و برگ، سطح برگ، قطر و ارتفاع با یکدیگر اختلاف معنی‌دار وجود داشت و در این ارقام محتوی کلروفیل زیادتر بود (ساوری^۷، ۲۰۰۶). همچنین در اثر محلول‌پاشی با کائولین بر روی گل مریم مشخص گردید که گیاهان تیمار شده با کائولین نسبت به شاهد از محتوای کلروفیل بالاتری برخوردار بودند (موفتا و الحومید^۸، ۲۰۰۵). با عنایت به مطالب ارائه شده مشخص می‌شود که در خصوص اثرات محلول‌پاشی با کائولین بر روی گیاه زیتون اطلاعات علمی مدون کمی وجود دارد از اینرو این آزمایش با هدف بررسی اثر ماده ضد تعرقی کائولین و تنش خشکی بر پارامترهای فلئورسانس کلروفیل و محتوی کلروفیل بر نهال‌های جوان زیتون رقم دزفول به اجراء درآمد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به منظور بررسی اثر سه سطح مختلف کائولین (۰، ۳ و ۶٪) (ساوری، ۲۰۰۶) و سه سطح آبیاری [۱۰۰ به عنوان شاهد، ۶۵ و ۴۰ درصد پتانسیل

- 1- Saleh & EL- Ashry
- 2- Rosati *et al.*
- 3- Wu'nsche *et al.*
- 4- Glenn & Puterka
- 5- Dejlet
- 6- Dan
- 7- Saour
- 8- Moftah *et al.*

خالقی و همکاران: مطالعه اثر کاربرد برگی کائولین بر فلئورسانس...

a ، کلروفیل b و کلروفیل کل بدست آمد (لیختنتالر و بلیرن^۹، ۱۹۸۳).

$$Chl_a (mg/g) = [12.15 A_{663} - 2.55 A_{646}] (V/W)$$

$$Chl_b (mg/g) = [18.29 A_{663} - 4.58 A_{646}] (V/W)$$

$$Chl_{Total} (mg/g) = Chl_a + Chl_b$$

که V حجم عصاره (میلی لیتر) و W که وزن بافت (میلی گرم) است.

نتایج و بحث

۱- میزان کلروفیل

با توجه به جدول تجزیه واریانس (۱) مشخص شد که تیمارهای آبیاری، کائولین و اثرات برهمکنش آبیاری × کائولین بر میزان کلروفیل a و کلروفیل کل در ۴۰ روز بعد از اعمال تیمار و ۸۰ روز بعد از اعمال تیمار در سطح ۱٪ معنی دار بود در حالی که اثر کائولین در دو نوبت نمونه برداری بر کلروفیل b معنی دار نبود. همچنین مشخص گردید که اثر برهمکنش آبیاری × کائولین بر روی کلروفیل b در دو نوبت نمونه برداری نیز معنی دار نبود. با توجه به جدول مقایسه میانگین شاخص‌های کلروفیل اندازه‌گیری شده تحت تاثیر سطوح مختلف آبیاری (جدول ۲) دیده شد که با اعمال تنش آبی از میزان کلروفیل a و کلروفیل کل کاسته شد و شدت کاهش میزان کلروفیل a و کلروفیل کل در ۸۰ روز بعد از اعمال تیمار نسبت به ۴۰ روز بعد از اعمال تیمار شدیدتر بود بدین معنا که درصد کاهش میزان کلروفیل a و کل در نوبت دوم نمونه برداری (۸۰ روز بعد از اعمال تیمار) در تیمار ۴۰ درصد تبخیر و تعرق نسبت به تیمار شاهد به ترتیب ۴۵/۷۳ و ۴۹/۹۵ درصد بدست آمد در حالی که در ۴۰ روز بعد از اعمال تیمار درصد کاهش میزان کلروفیل a و کل به ترتیب ۱۷/۲۴ و ۱۶/۴۵ درصد محاسبه گردید.

به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده های بدست آمده، از نرم افزار MSTATC و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵ و ۱ درصد استفاده گردید.

پارامترهای فلئورسانس کلروفیل

پارامترهای فلئورسانس کلروفیل شامل فلئورسانس کمینه (F_0)، فلئورسانس بیشینه (F_m)، فلئورسانس متغیر (F_v) و نسبت فلئورسانس متغیر به فلئورسانس بیشینه (F_v/F_m)، با استفاده از دستگاه تنش سنج گیاهی^۱ [مدل بیومانیاتور AB، ساخت کشور سوئد]، پس از یک دوره ۳۰ دقیقه‌ای سازگاری برگ‌های پنجم یا ششم از جوانه انتهایی با تاریکی^۲، به تعداد ۴ بار به فواصل زمانی هر ۲۰ روز یکبار، در طی آزمایش اندازه‌گیری شد. سطح نوری^۳ و زمان اندازه‌گیری^۴ دستگاه در طول موج ۶۹۵ نانومتر، به ترتیب روی شدت ۴۰۰ میکرو مول بر متر مربع بر ثانیه^۵ و زمان ۵ ثانیه تنظیم گردید.

استخراج کلروفیل و تعیین غلظت آن‌ها

به منظور استخراج و اندازه‌گیری میزان کلروفیل a ، کلروفیل b و کلروفیل کل، عصاره ۰/۵ گرم برگ تازه تهیه شده طی دو مرحله با ۱۰ میلی لیتر استن ۹۰ درصد در هاون چینی و در شرایط تاریکی استخراج گردید. بلافاصله روشناورها به مدت ۱۵ دقیقه در سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه در لوله‌های در بسته سانتریفیوژ گردید (این اسکپ و بلوم^۶، ۱۹۸۵). میزان جذب روشناورها در طول طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۶ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف سنج^۷ (مدل اسمارت اسپک ۳۰۰۰، ساخت شرکت بایو-راد آلمان) قرائت گردید. به منظور درجه بندی طیف سنج از استن ۹۰٪ به عنوان شاهد (بلنک) استفاده شد و با توجه به فرمول‌های زیر مقدار کلروفیل

1- Plant Stress Meter (PSM)

2- Dark adaptation period

3- Light level

4- Run time

5- $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$

6- Inskeep & Bloom

7- Spectrophotometer

8- Smart Specttm 3000

9- Lichtenthaler & Wellburn

جدول ۱ - نتایج تجزیه واریانس کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل

میانگین مربعات						درجه آزادی	منابع تغییرات
۸۰ روز بعد از اعمال تیمار			۴۰ روز بعد از اعمال تیمار				
کلروفیل کل	کلروفیل b	کلروفیل a	کلروفیل کل	کلروفیل b	کلروفیل a		
۱/۹۸۴ **	۰/۳۹۳ **	۰/۶۱۴ **	۰/۳۰۳ **	۰/۰۴۲ n.s	۰/۱۲۵ **	۲	آبیاری
۰/۳۱۵ **	۰/۰۳۰ n.s	۰/۱۵۲ **	۰/۳۵ **	۰/۰۳۵ n.s	۰/۱۶۴ **	۲	کاثولین
۰/۰۶۰ *	۰/۰۰۸	۰/۰۵۱ **	۰/۰۳۴	۰/۰۰۳ n.s	۰/۰۴۴ **	۴	آبیاری × کاثولین
۰/۰۲۰	۰/۰۱۸	۰/۰۰۲	۰/۰۲۰	۰/۰۱۸	۰/۰۰۲	۱۸	خطا
						۲۶	کل
۵/۲۰۲	۳۷/۹۰	۵/۶۷	۸/۸۶	۲۴/۸۶	۴/۶۸		ضریب تغییرات (%)

n.s، *، ** : به ترتیب غیر معنادار، معنی دار در سطح ۵٪ و ۱٪

ندارد در حالی که هر دو این تیمارها با تیمار شاهد (۱۰۰٪ پتانسیل تبخیر و تعرق) تفاوت معنی داری داشتند (جدول ۲).

همچنین نتایج نشان داد که بین تیمارهای ۶۵٪ و ۴۰٪ تبخیر و تعرق گیاه (ETcrop) از نظر کلروفیل a و کلروفیل کل در سطح ۵٪ در هر دو نوبت نمونه برداری (۴۰ و ۸۰ روز بعد از اعمال تیمار) تفاوت آماری وجود

جدول ۲ - مقایسه میانگین کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل تحت سطوح مختلف آبیاری

۸۰ روز بعد از اعمال تیمار			۴۰ روز بعد از اعمال تیمار			آبیاری
کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم)	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم)	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم)	کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم)	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم)	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم)	
۱/۷۷۷ a	۰/۵۹۴۱ a	۱/۱۸۳ a	۱/۸۱۷ a	۰/۶۱۴۱ a	۱/۲۰۳ a	100%ETcrop
۰/۹۴۹۷ b	۰/۲۱۴۵ b	۰/۷۳۵۲ b	۱/۴۸۳ b	۰/۴۸۱۲ a	۱/۰۰۲ b	65%ETcrop
۰/۹۷۸۱ b	۰/۲۵۲۳ b	۰/۷۲۵۸ b	۱/۵۱۸ b	۰/۵۲۲۳ a	۰/۹۹۵۸ b	40%ETcrop

میانگین ها با حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن ندارد.

رنگدانه‌هایی مانند کلروفیل و سایر ترکیبات رنگیزه ای در گیاه حادث می شود همچنین در اثر تنش خشکی به دلیل کاهش پتانسیل آب برگ و افزایش یافتن مواد تنظیم کننده رشد گیاهی نظیر اسید آبسازیک، فعالیت آنزیم کلروفیلاز بطور ناگهانی افزایش یافته که این آنزیم سبب تجزیه کلروفیل برگ می گردد (تورکان و همکاران^۶، ۲۰۰۵؛ میتلر^۷، ۲۰۰۲).

نتایج اثر کائولین بر شاخص‌های محتوی کلروفیل (جدول ۳) نشان داد که بین غلظت‌های کائولین در سطح ۵٪ فقط از نظر کلروفیل a و کلروفیل کل در هر دو نوبت نمونه‌برداری تفاوت معنی داری وجود داشت. در واقع با افزایش غلظت کائولین بر میزان کلروفیل a و کلروفیل کل افزوده شد. بطوری که بیشترین میزان کلروفیل کل در آخر آزمایش به میزان ۱/۴۲۵ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ مربوط به نهال‌های محلولپاشی شده با کائولین ۶٪ گزارش شد.

مطالعات انجام شده بر روی ارقام دیجلت^۸ و دن^۹ زیتون نشان داد که بین گیاهان محلولپاشی شده با کائولین با شاهد از نظر محتوای کلروفیل اختلاف معنی- دار وجود داشت و در این ارقام محتوی کلروفیل زیادتر بود (ساور^{۱۰}، ۲۰۰۶) که این نتایج با یافته‌های این آزمایش مطابقت داشت. پژوهشگران با بررسی بر سایر گونه‌های گیاهی بیان نمودند که پایین بودن دمای برگ (به خاطر انعکاس نور خورشید) و بالا بودن میزان آب و پتانسیل آب برگ در گیاهان اسپری شده با کائولین علت افزایش تشکیل کلروفیل و بالا بودن غلظت کلروفیل برگ است (ترکسکی و همکاران^{۱۱}، ۲۰۰۲).

گورفل و همکاران^۱ (۲۰۰۹ a, b) گزارش دادند که تنش خشکی تاثیر معنی‌داری بر کلروفیل کل ارقام چماللی^۲ و چتویی^۳ زیتون داشت، بطوری که میزان کاهش کلروفیل کل به ترتیب برابر ۲۹ و ۴۲٪ تحت شرایط تنش خشکی گزارش گردید.

مطالعات انجام شده بر روی ارقام بلیدی و میشن (ارزانی و یزدانی^۴، ۲۰۰۸) و ماری، زرد، روغنی زیتون (ارجی و ارزانی^۵، ۲۰۰۴؛ یزدانی و همکاران، ۱۳۸۶ و ارجی، ۱۳۸۲) نشان داد که میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل در این ارقام تحت تنش خشکی کاهش یافت. علاوه براین، ضرابی و همکاران (۱۳۸۹) نیز اشاره کردند که تحت تنش خشکی میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل در کلیه ارقام زرد، فیشمی، نبالی، گوردال، آربکین و روغنی زیتون کاهش یافت که این نتایج با یافته‌های این آزمایش مطابقت داشت.

به نظر می‌رسد در شرایط تنش آب با بسته شدن روزنه‌های برگ، غلظت دی اکسید کربن در بافت مزوفیل برگ کاهش یافته و در نتیجه با مختل شدن واکنش‌های تاریکی فتوسنتز، محصولات حاصل از واکنش‌های روشنایی نظیر ATP، NADPH مصرف نشده و در چنین شرایطی به دلیل عدم اکسید شدن مولکول NADPH، مصرف NADP⁺ جهت دریافت الکترون کاهش یافته و در نتیجه مولکول اکسیژن در مسیر زنجیره انتقال الکترون به عنوان گیرنده عمل کرده و منجر به شکل‌گیری رادیکال سوپر اکسید (O₂⁻)، پر اکسید هیدروژن (H₂O₂) و رادیکال هیدروکسیل (OH⁻) گردید که در اثر تولید رادیکال‌های آزاد صدماتی همچون اکسید شدن لیپیدها، تغییر ساختمان پروتئین‌ها و اکسید شدن گروه‌های سولفیدریل، غیر فعال شدن آنزیم‌ها، بی‌رنگ شدن و یا از بین رفتن

6- Turkan *et al.*

7- Mittler

8- Dejlet

9- Dan

10- Saour

11- Tworkoski *et al.*1- Guerfel *et al.*

2- Chemlali

3- Chetoui

4- Arzani & Yazdani

5- Arji & Arzani

جدول ۳ - مقایسه میانگین کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل تحت سطوح مختلف کائولین

۸۰ روز بعد از اعمال تیمار			۴۰ روز بعد از اعمال تیمار			کائولین
کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم)	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم)	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم)	کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم)	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم)	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم)	
۱/۰۵۱ c	۰/۳۰۱۸ a	۰/۷۴۹۲ c	۱/۴۱۱ c	۰/۴۸۱۸ a	۰/۹۲۹۲ c	شاهد (%)
۱/۲۲۸ b	۰/۳۴۳۲ a	۰/۸۸۵۳ b	۱/۶۰۲ b	۰/۵۲۹۸ a	۱/۰۷۲ b	%۳
۱/۴۲۵ a	۰/۴۱۶۰ a	۱/۰۰۹ a	۱/۸۰۵ a	۰/۶۰۶۰ a	۱/۱۹۹ a	%۶

میانگین ها با حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن ندارد.

حتی در تنش های شدید آبی گردد (گلن و پوترکا^۱، ۲۰۰۱؛ ونچه و همکاران^۲، ۲۰۰۴).

۲- فلئورسانس کلروفیل

نتایج تجزیه واریانس پارامترهای فلئورسانس کلروفیل (جدول ۴) نشان داد که فقط تیمار آبیاری بر برخی از پارامترهای فلئورسانسی شامل F_v ، F_v/F_m و F_m در سطح ۵ و ۱٪ معنی دار بود در حالی که تیمار کائولین و اثر برهمکنش آبیاری × کائولین بر پارامترهای فلئورسانس کلروفیل معنی دار نبود. بین سطوح مختلف آبیاری از نظر F_v/F_m در ۶۰ و ۸۰ روز بعد از اعمال تیمار در سطح ۱٪ و در ۲۰ و ۴۰ روز بعد از اعمال تیمار در سطح ۵٪ اختلاف معناداری وجود داشت. همچنین بین تیمارهای آبیاری به جزء ۲۰ روز بعد از اعمال تیمار، در بقیه روزهای نمونه برداری از نظر F_v نیز در سطح ۱٪ تفاوت معنی دار وجود داشت. از نظر F_m نیز مشخص شد که بین تیمارهای آبیاری در ۶۰ روز بعد از اعمال تیمار در سطح ۱٪ و در ۸۰ روز بعد از اعمال تیمار در سطح ۵٪ تفاوت معنی دار وجود داشت.

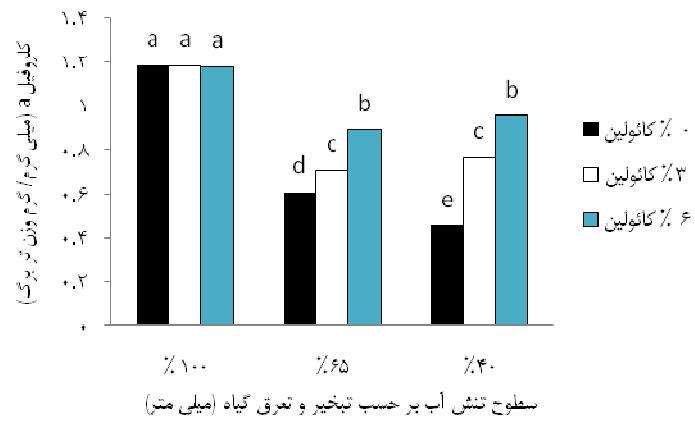
با توجه به جدول مقایسه میانگین پارامترهای فلئورسانس کلروفیل (جدول ۵) معلوم گردید که با کاهش مقدار آب از میزان F_v/F_m کاسته شد. بطوری- که تا ۴۰ روز بعد از اعمال تیمار بین تیمارهای ۱۰۰٪ و

با کاهش میزان آبیاری به ET_{crop} ۴۰٪ و به همراه محلول پاشی با کائولین (۶٪) نسبت به تیمار شاهد (اسپری بدون کائولین همراه با آبیاری کامل) از میزان کلروفیل a و کلروفیل کل برگ کاسته نشد و کمترین مقدار کلروفیل a و کلروفیل کل در ۴۰ روز بعد از اعمال تیمار مربوط به نهالهایی آبیاری شده با ۴۰ و ۶۵٪ تبخیر و تعرق گیاه و محلول پاشی نشده با کائولین بود (نمودارهای ۱ و ۲). با توجه به نمودار ۳ و ۴ مشخص شد که در ۸۰ روز بعد از اعمال تیمار، کمترین مقدار کلروفیل a و کلروفیل کل مربوط به گیاهان اسپری نشده با کائولین و آبیاری شده با ۴۰٪ پتانسیل تبخیر و تعرق بود و گیاهان اسپری شده با غلظت های ۳ و ۶٪ کائولین در چنین شرایط آبیاری (۴۰٪ پتانسیل تبخیر و تعرق) از مقادیر بالاتری کلروفیل a و کلروفیل کل برخوردار بودند. اثر متقابل کائولین و آبیاری بر مقدار کلروفیل b در ۴۰ و ۸۰ روز بعد از تیمار در سطح ۵٪ معنی دار نبود.

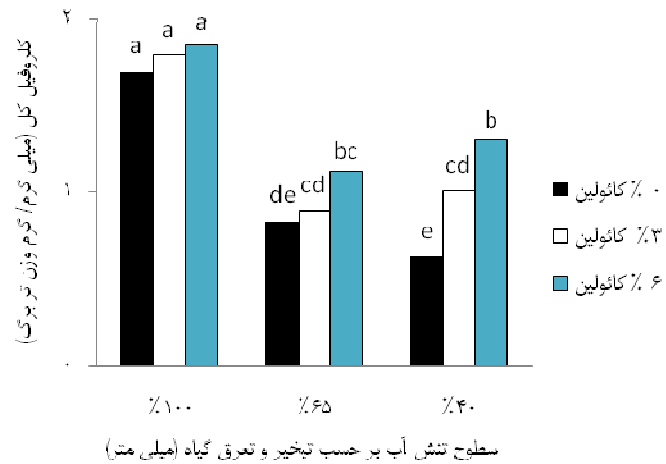
در این خصوص می توان انتظار داشت که به دلیل بازتاب و انعکاس بیشتر نور آفتاب و کاهش دمای سطح برگ و حفظ محتوی نسبی آب برگ توسط ماده کائولین بویژه در گیاهانی که تحت تنش شدید آبی قرار گرفته اند از اثرات مخرب تنش آبی و گرمای زیاد بر محتوی کلروفیل های a و کل کاسته شده و از این طریق کائولین می تواند سبب حفظ میزان و محتوی کلروفیل

1- Glenn & Puterka

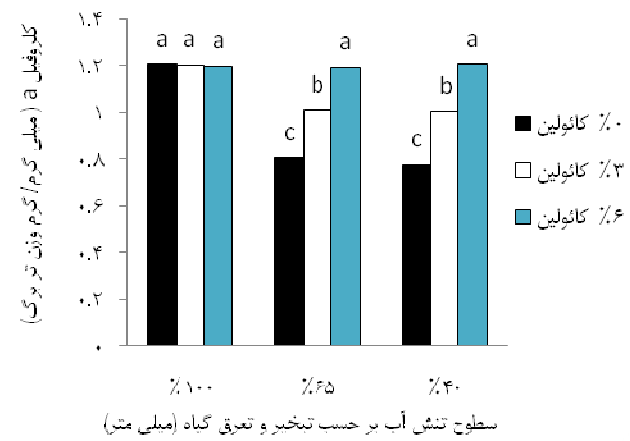
2- Wu'nsche et al.



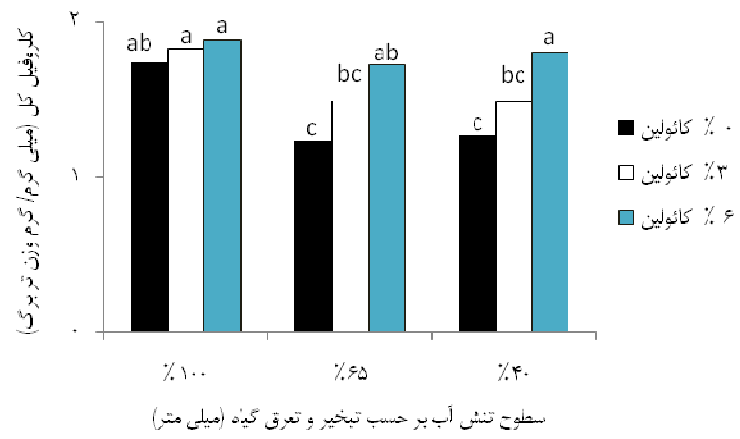
نمودار ۳- اثر برهمکنش آبیاری و کائولین بر میزان کلروفیل a در ۸۰ روز بعد از اعمال تیمار



نمودار ۴- اثر برهمکنش آبیاری و کائولین بر میزان کلروفیل کل در ۸۰ روز بعد از اعمال تیمار



نمودار ۱- اثر برهمکنش آبیاری و کائولین بر میزان کلروفیل a در ۴۰ روز بعد از اعمال تیمار



نمودار ۲- اثر برهمکنش آبیاری و کائولین بر میزان کلروفیل کل در ۴۰ روز بعد از اعمال تیمار

در این آزمایش مشخص گردید که با روند انجام آزمایش و سپری شدن زمان، شدت تنش آبی بر پارامترهای فلئورسانس کلروفیل بیشتر نمایان گشت و شاخص‌های فلئورسانس بیشینه (F_m)، فلئورسانس متغیر (F_v) و نسبت فلئورسانس متغیر به فلئورسانس بیشینه (F_v/F_m) تحت تنش خشکی کاهش نشان داد. انتظار می‌رود کاهش مقدار فلئورسانس متغیر (F_v) به علت ممانعت از فتواکسیداسیون فتوسیستم دو باشد و کاهش در فلئورسانس حداکثر (F_m) تحت تنش خشکی بواسطه اکسیداسیون کمتر QA (کینون A) باشد که منجر به کاهش واکنش‌های فتوستتزی می‌گردد (ویلسون و گریوز^۲، ۱۹۹۳).

بنابراین می‌توان انتظار داشت که پارامترهای اندازه‌گیری شده در این آزمایش تحت تنش خشکی می‌تواند معیاری در جهت تعیین شدت تنش باشد و همچنین شاخص‌های از قبیل فلئورسانس بیشینه (F_m)، فلئورسانس متغیر (F_v) و نسبت فلئورسانس متغیر به فلئورسانس بیشینه (F_v/F_m) به دلیل اینکه یک روش غیر تخریبی است می‌تواند معیار مناسبتری برای ارزیابی شدت تنش محسوب گردد.

۶۵٪ تبخیر و تعرق گیاه تفاوت معناداری وجود نداشت در حالی که این تیمارها با تیمار ۴۰٪ تبخیر و تعرق گیاه تفاوت داشتند. نتایج شان داد که از ۶۰ روز بعد از اعمال تیمار به بعد بین سه تیمار آبیاری، تفاوت معناداری در سطح ۱٪ وجود داشت. بدینگونه که میزان F_v/F_m در ۶۰ و ۸۰ روز بعد از اعمال تیمار در گیاهان آبیاری شده با به ترتیب برابر با ۰/۱۵ و ۰/۳۳ بدست آمد که نسبت به شاهد به ترتیب به میزان ۷۷/۹ و ۴۷/۶٪ کاهش داشته است. در ۲۰ و ۴۰ روز بعد از اعمال تیمار این کاهش به ترتیب ۱۴/۷ و ۱۸/۱۸٪ رسید که نشان داد که با روند انجام آزمایش تنش بر ساختار سیستم نوری فتوستتر گیاه تاثیر منفی برجا گذاشته است

در مورد F_m نیز فقط ۶۰ و ۸۰ روز بعد از اعمال تیمار بین تیمارهای آبیاری تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪ وجود داشت. بطوری‌که با کاهش مقدار آب از میزان F_m کاسته شد. در واقع در ۸۰ روز بعد از اعمال تیمار مقدار F_m در تیمار ۴۰٪ تبخیر و تعرق گیاه برابر با ۰/۲۱ و در تیمار شاهد برابر با ۰/۳۷ بود. بعد از گذشت ۴۰ روز بعد از اعمال تیمار از نظر F_v ، بین تیمارهای مختلف آبیاری اختلاف معنی‌دار وجود داشت. در تیمار ۴۰٪ تبخیر و تعرق گیاه در روز ۶۰ و ۸۰ روز بعد از اعمال تیمار این تفاوت بیشتر محسوس بود. نتایج ارجی (۱۳۸۲) که نشان داد تنش خشکی سبب افزایش فلئورسانس کمینه (F_0)، کاهش فلئورسانس بیشینه (F_m)، کاهش فلئورسانس متغیر (F_v) و نسبت فلئورسانس متغیر به فلئورسانس بیشینه (F_v/F_m) در ارقام ماری، بلیدی و روغنی زیتون شد با یافته‌های این آزمایش مطابقت دارد. در خصوص پارامترهای فلئورسانس می‌توان چنین استدلال کرد که تنش آبی سبب ایجاد اختلال در فعالیت فتوسیستم یک، دو و همچنین کل زنجیره انتقال الکترون شده و به نظر می‌رسد که فعالیت سیستم نوری دو بیشتر تحت تاثیر گرفته است (بویر و همکاران^۱، ۱۹۷۶)

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس فلئورسانس کمیته (F_0)، فلئورسانس بیشینه (F_m)، فلئورسانس متغیر (F_v) و فلئورسانس متغیر به فلئورسانس بیشینه (F_v/F_m)

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				۲۰ روز بعد از اعمال تیمار				۴۰ روز بعد از اعمال تیمار				۶۰ روز بعد از اعمال تیمار				۸۰ روز بعد از اعمال تیمار			
		F_v	F_0	F_m	F_v/F_m	F_v	F_0	F_m	F_v/F_m	F_v	F_0	F_m	F_v/F_m	F_v	F_0	F_m	F_v/F_m	F_v	F_0	F_m	F_v/F_m
آبیاری	۲	۰/۰۳۳ *	۰/۰۴۵	۰/۰۰۷	۰/۰۰۶	۰/۰۴۴ *	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۳۴**	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲
کاتولین	۲	۰/۰۳۸	۰/۰۴۱	۰/۰۰۹	۰/۰۵۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۷	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۷	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱
آبیاری × کاتولین	۴	۰/۰۰۷	۰/۰۲۳	۰/۰۰۳	۰/۰۱۴	۰/۰۰۱	۰/۰۲۹	۰/۰۰۱	۰/۰۱۷	۰/۰۰۲	۰/۰۲۹	۰/۰۰۱	۰/۰۱۴	۰/۰۰۳	۰/۰۲۳	۰/۰۰۱	۰/۰۰۵	۰/۰۰۱	۰/۰۱۹	۰/۰۰۱	۰/۰۰۹
خطا	۱۸	۰/۰۰۸	۰/۰۴۰	۰/۰۰۴	۰/۰۲۵	۰/۰۰۴	۰/۰۱۷	۰/۰۰۴	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۱۷	۰/۰۰۴	۰/۰۲۵	۰/۰۰۴	۰/۰۰۸	۰/۰۰۲	۰/۰۱۴	۰/۰۰۲	۰/۰۱۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۷
کل	۲۶																				
ضریب تغییرات (%)		۱۴/۱۸	۲۶/۹۰	۲۴/۵۲	۱۴/۵۲	۱۴/۳۷	۹/۷۱	۱۱/۷۹	۱۹/۹۵	۱۸/۲۳	۱۳/۰۹	۲۰/۱۹	۱۸/۱۴	۲۶/۰۲	۲۰/۵۲	۱۰/۲۷	۱۵/۴۶				

*، **، ***: به ترتیب غیر معنادار، معنی دار در سطح ۵٪ و ۱٪

جدول ۵- مقایسه میانگین پارامترهای فلئورسانس کلروفیل تحت سطوح مختلف تنش آب

آبیاری	۲۰ روز بعد از اعمال تیمار				۴۰ روز بعد از اعمال تیمار				۶۰ روز بعد از اعمال تیمار				۸۰ روز بعد از اعمال تیمار				
	F_v	F_0	F_m	F_v/F_m	F_v	F_0	F_m	F_v/F_m	F_v	F_0	F_m	F_v/F_m	F_v	F_0	F_m	F_v/F_m	
100%ETcrop	۰/۶۷ a	۰/۵۱ a	۰/۱۵ a	۰/۳۵ a	۰/۶۶ a	۰/۴۱ a	۰/۱۳ a	۰/۳۰ a	۰/۶۸ a	۰/۵۲ a	۰/۱۶ a	۰/۳۶ a	۰/۶۳ a	۰/۶۳ a	۰/۳۷ a	۰/۱۳ a	۰/۲۴ a
65%ETcrop	۰/۶۹ a	۰/۶۲ a	۰/۱۸ a	۰/۴۳ a	۰/۶۶ a	۰/۴۵ a	۰/۱۴ a	۰/۳۲ a	۰/۶۳ a	۰/۳۶ b	۰/۱۳ a	۰/۶۳ b	۰/۶۳ a	۰/۶۳ a	۰/۴۴ a	۰/۱۶ a	۰/۲۸ a
40%ETcrop	۰/۵۷ b	۰/۴۸ a	۰/۲۳ a	۰/۲۷ a	۰/۵۴ b	۰/۳۶ a	۰/۱۶ a	۰/۲۰ b	۰/۱۵ b	۰/۱۵ c	۰/۱۳ a	۰/۳۳ c	۰/۳۳ c	۰/۳۳ c	۰/۲۱ b	۰/۱۶ a	۰/۱۰ b

میانگین ها با حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن ندارد.

منابع

۱. ارجمی، ع. ۱۳۸۲. اثر تنش خشکی بر خصوصیات فیزیولوژیک، ریخت شناسی و بیوشیمیایی برخی از ارقام زیتون. رساله دکتری دانشکده کشاورزی. دانشگاه تربیت مدرس، ۲۱۳ ص.
۲. ضرابی، م.م.، طلایی، ع.، سلیمانی، ع. و حداد، ر. ۱۳۸۹. نقش فیزیولوژیکی و تغییرات بیوشیمیایی شش رقم زیتون (*Olea europaea* L.) در برابر تنش خشکی. نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)، ۲۴(۲): ۲۳۴-۲۴۴.
۳. نیاکان، م. و قربانعلی، م. ۱۳۸۶. اثر تنش خشکی بر شاخصهای رشد، فاکتورهای فتوسنتزی، میزان پروتئین و محتوای یونی در بخشهای هوایی و زیر زمینی دو رقم سویا. رستنیها، ۸(۱): ۱۷-۳۹.
۴. یزدانی، ن. ۱۳۸۳. تعدیل تنش خشکی بوسیله پاکلوبوترازول روی زیتون ارقام بلیدی و میشن. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی - دانشگاه تربیت مدرس، ۱۲۲ ص.
۵. یزدانی، ن.، ارزانی، ک. و ارجمی، ع. ۱۳۸۶. تعدیل تنش خشکی با کاربرد پاکلوبوترازول در دو رقم زیتون (*Olea europaea* L.) بلیدی و میشن. مجله علوم کشاورزی ایران، ۳۸(۲): ۲۸۷-۲۹۶.
6. Arji, I., and Arzani, K. 2004. The influence of water deficit on vegetative growth and physiological characteristics of five olive cultivars. 5th international symposium on olive growing. 25-30 September Izmir, Turkey.
7. Arzani, K., and Yazdani, N. 2008. The influence of drought stress and paclobutrazol on quantitative changes of proteins in olive (*Olea europaea* L.) cultivars 'Bladi' and 'Mission'. Acta Horticulturae, 791: 527-530.
8. Boyer, J.S., Armand, P.A., and Sharp, R.E. 1987. Light stress and leaf water relations. In: Kyle, D.J., C.B. Osmoud and C.J. Arntzen (eds), Photoinhibition, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, pp: 111-122
9. Brevedan, R.E., and Egli, D.B. 2003. Short periods of water stress during seed filling, leaf senescence and yield of soybean. Crop Science, 43: 2083-2088.
10. Fracheboud, Y. 2006. Using chlorophyll fluorescence to study photosynthesis. Institute of Plant Sciences ETH, Universitatstrass, CH-8092 Zurich.
11. Glenn, D.M., and Puterka, G.J. 2001. Particle Film Application Influences Apple Leaf Physiology, Fruit Yield, and Fruit Quality. Journal of American Society Horticultural, 126 (2): 175-181 .
12. Guerfel. M., Baccouri, O., Boujnah, D., Chai'bi, W., and Zarrouk, M. 2009a. Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars. Scientia Horticulturae, 119: 257-263

13. Guerfel, M., Ouni, Y., Boujnah, D., and Zarrouk, M. 2009b. Photosynthesis parameters and activities of enzymes of oxidative stress in two young 'Chemlali' and 'Chetoui' olive trees under water deficit. *Photosynthetica*, 47 (3): 340-346.
14. Inskip, W., and Bloom, P. 1985. Extinction Coefficients of Chlorophyll a and b in N,N-Dimethylformamide and 80% Acetone. *Plant Physiology*, 77: 483-485.
15. Lichtenthaler, H.K., and 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.
16. Lu, Q., Lu, C., Zhang, J., and Kuang, T. 2002. Photosynthesis and chlorophyll a fluorescence during flag leaf senescence of field-grown wheat plants. *Journal of Plant Physiology*, 159, 1173-1178.
17. Ma, L., Sun, N., Liu, X., Jiao, Y., Zhao, H., and Deng, X.W. 2005. Organspecific expression of Arabidopsis genome during development. *Plant Physiology*, 138: 80-91.
18. Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. *Annual Review of Plant Science*, 7: 405-415.
19. Moftah, A. E., and Al-Humaid, A.R. 2005. Effects of antitranspirants on water relations and photosynthetic rate of cultivated tropical plant (*Polianthes tuberosa* L.). *Polish Journal of Ecology*, 53(2): 165-175.
20. Rosati, A., Metcalf, S.G., Buchner, R.P., Fulton, A.E., and Lampinen, B.D. 2006. Physiological effect of kaolin application in well- irrigated and water- stressed walnut and almond trees. *Annals of Botany*, 98: 267- 275.
21. Saleh, M.M.S., and EL- Ashry, S.M. 2006. Effect of some antitranspirants on laef mineral content, fruit set, yield and fruit quality of Washington navel and succary orange trees. *Journal of Applied Science Research*, 2(8): 486- 490.
22. Saour, G. 2006. Morphological assessment of olive seedling treated with kaolin-based particle film and bstimulant. *Advances In Horticultural Science*, 20 (1): 1- 5.
23. Turkan, I., Bor, M., Ozdemir F., and Koca, H. 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought - tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Science*, 168: 223-231.
24. Tworkoski, T.J., Glenn, D.M., and Puterka, G.J. 2002. Response of bean to application of hydrophobic mineral particles. *Canadian Journal of Plant Science*, 82: 217-219.
25. Wilson, J.M., and Greaves, J.A. 1993. Development of and water stress in crop plants. In: *Adaptation of food crops to temperature and water stress*, AVRDC, Shanhua, Taiwan, pp: 389-398.

26. Wünsche, J.N., Lombardini, L., and Greer, D.H. 2004. Surround particle film application: effects on whole canopy physiology of apple. *Acta Horticulturae*, 636: 565–571.