بررسی برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه ترخون (*Artemisia dracunculus*) به تنش کم‌آبی

کیوان آقائی*[1]، محبوبه برزلی [1]، وهب جعفریان[1] و فرید شکاری[2]

[1]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، [2] گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

(تاریخ دریافت: ١٣٩٤/٠٤/٢١، تاریخ پذیرش نهایی: ١٣٩٤/١١/٠٦)

چکیده:

کمبود آب یکی از مهمترین عوامل غیر زنده‌ی محدودکننده‌ی عملکرد گیاهان محسوب می‌شود که اثر نامطلوبی بر رشد و تولید گیاهان دارویی نیز دارد. در این پژوهش به منظور بررسی تاثیر تنش کم‌آبی بر گیاه دارویی ترخون، آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی با ٣ تکرار در شرایط اتاق رشد و به صورت کشت گلدانی انجام شد. تیمارهای آبیاری جهت اعمال تنش عبارت بودند از: شاهد(٩٠درصد ظرفیت زراعی)، T_1: ٦٠درصد ظرفیت زراعی و T_2: ٤٠درصد ظرفیت زراعی. چهار هفته پس از اعمال تنش، شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد، تنش کم‌آبی تاثیر معنی‌داری بر صفات اندازه‌گیری شده داشت و میانگین داده‌های صفاتی مانند وزن خشک، سطح برگ، محتوای نسبی آب برگ و طول ساقه در مقایسه با تیمار شاهد کاهش نشان دادند. کمترین مقادیر میانگین صفات مربوط به تیمار T_2 بود. بررسی داده‌های بیوشیمیایی نیز نشان داد که میزان پرولین، قندهای محلول و میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهان تحت تنش افزایش یافت. در حالیکه میزان فعالیت آنزیم کاتالاز، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها) و مقدار پروتئین محلول کاهش یافت. بطور کلی می‌توان گفت: سطح آبیاری حتی در حد ٤٠٪ ظرفیت زراعی می‌تواند برای گیاه ترخون سطح تنش کم‌آبی بالایی محسوب شود و گیاه در مواجهه با تنش با افزایش مقدار پرولین و قندهای محلول و همچنین با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند پراکسیداز، به تنش کم‌آبی پاسخ می‌دهد.

کلمات کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پرولین، ترخون، تیمار آبیاری، قندهای محلول.

مقدمه:

ترخون (*Artemisia dracunculus*) گیاهی علفی، معطر، چندساله با ساقه‌های مستقیم، منشعب و ریزوم دار است که دارای مصارف خوراکی و دارویی می‌باشد (Bown, 1995). منشاء اصلی این گیاه روسیه مرکزی و جنوبی، سیبری، آسیای مرکزی و شمال و غرب آمریکا می باشد. امروزه در اکثر کشورها کشت می شود و معمولاً در نواحی مرطوب و در سواحل رودخانه ها می‌روید (امیدبیگی، ١٣٧٩). ترخون برای رشد، آب و هوای گرم و خشک و آفتاب کامل را ترجیح می‌دهد. زمستان های خیلی سرد و به خصوص خاک‌های سنگین ممکن است به ریشه گیاه لطمه بزند (یزدانی و همکاران، ١٣٨٣).

ترخون یکی از گیاهان معطر پراستفاده در صنایع غذایی می‌باشد و این گیاه بطور گسترده در صنعت تولید مواد اولیه آشپزی و همچنین کنسروسازی کاربرد دارد. ترخون به دلیل افزایش ترشح اسید معده و خاصیت اشتها آوری از قدیم به

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: keyvanaghaei@znu.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.13.1]

عنوان ادویه مخصوص گوشت مورد توجه بوده و موجب کاهش فشار خون نیز می شود. در درمان برخی از بیماری های عفونی مانند طاعون و نیز در تسکین درد دندان و برطرف کردن برخی انگل های روده ای نیز از این گیاه استفاده شده است. اسانس ترخون دارای فعالیت ضد باکتری و ضد قارچی است که می تواند به علت وجود ترکیبات خاص ترپنوئیدی دارای فعالیت آنتی اکسیدانی باشد (Kordali *et al.*, 2005).

امروزه تنش کم‌آبی و خشکی از مهمترین عوامل محدودکننده ازدیاد محصول در نواحی خشک و نیمه‌خشک می‌باشد و کاهش رشد در اثر تنش کم‌آبی به مراتب بیشتر از تنش‌های محیطی دیگر است .گیاهان در طول دوره رشد خود در معرض تنش‌های گوناگونی قرار دارند و در این‌میان کمبود آب بزرگترین چالش در تولید محصولات زراعی خصوصا در مناطق خشک و نیمه‌خشک دنیا از جمله ایران می‌باشد (Munns, 2002).

واکنش گیاهان به تنش خشکی به ماهیت کمبود آب وابسته است و می‌تواند به صورت پاسخ‌های فیزیولوژیکی کوتاه مدت، میان‌مدت غیر قابل توارث و بلندمدت قابل توارث طبقه‌بندی شود. پاسخ کوتاه‌مدت به تنش آب با کاهش حداکثر جذب CO_2 همراه است. از جمله واکنش های میان‌مدت به تنش خشکی، تنظیم اسمزی به وسیله تجمع نمکهای آلی و پاسخ بلندمدت به خشکی شامل الگوهای ژنتیکی تسهیم زیست‌توده می‌باشد (Pessark, 1999). گیاه تا حد ممکن از طریق مکانیزم‌های مختلف از جمله بستن روزنه‌ها، ضخیم شدن کوتیکول، کاهش سطح تعرق‌کننده‌ها، افزایش وزن و طول ریشه، جلوگیری از کاهش پروتئین، بالا نگهداشتن فتوسنتز و کاهش تنفس و تنظیم اسمزی می‌تواند در برابر خشکی مقاومت کند (Hajar *et al.*, 1997) .

اگر چه گیاه ترخون از نظر دارویی و غذایی اهمیت زیادی دارد و بطور وسیعی در کشور ایران کشت می شود اما اطلاعات چندانی در مورد آستانه‌ی تحمل تنش خشکی و مکانیسم تحمل آن وجود ندارد. بنابراین به منظور تعیین میزان سطوح تحمل این گیاه به تنش کم‌آبی و شناسایی مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دخیل در تحمل به تنش کم‌آبی در این گیاه مهم تحقیق حاضر انجام شد.

مواد و روش‌ها:

به منظور ارزیابی اثر کم‌آبی بر روی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه ترخون آزمایشی در اتاقک رشد به صورت کشت گلدانی در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آبیاری جهت اعمال تنش عبارت بودند از: شاهد (آبیاری به میزان۹۰درصد ظرفیت زراعی), T_1 (آبیاری به میزان٦۰درصد ظرفیت زراعی) و T_2 (آبیاری به میزان٤۰ درصد ظرفیت زراعی). به منظور اعمال تنش خشکی از روش وزن کردن گلدان‌ها (گلدان های پلاستیکی به ارتفاع ۱۸ و قطر ۲۰ سانتی متر) استفاده شد. به این ترتیب که ابتدا یکی از گلدان‌ها که از خاک مورد آزمایش پر شده بود، توزین شد. سپس گلدان از آب اشباع گردید و برای جلوگیری از تبخیر، سطح گلدان توسط یک پلاستیک پوشیده شد. با خروج آب ثقلی وزن گلدان به طور مرتب کم شد تا زمانی که وزن آن ثابت ماند. سپس با تفاضل وزن اخیر و وزن خاک خشک مقدار آب لازم برای رسیدن خاک هر گلدان به حد ظرفیت زراعی ۹۰، ٦۰ و ٤۰ درصد ظرفیت زراعی مشخص شد و برای اعمال تنش گلدان‌ها روزانه وزن می‌شدند و مقدار آب لازم برای رسیدن به هر کدام از سطوح اضافه می‌شد (خزاعی و همکاران، ۱۳۸۷). ابتدا در هر گلدان بین ۸ تا ۱۰ بوته وجود داشت که پس از تنک کردن به ۵ بوته در هر گلدان رسید. چهار هفته پس از اعمال تنش گیاهانی که به طول بیش از ۲۵ سانتی متر رسیده بودند، به همراه ریشه، به‌دقت از گلدان خارج شده و صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آنها اندازه‌گیری شد.

اندازه گیری صفات مورد مطالعه: توزین وزن خشک گیاه برای هر تیمار با سه تکرار با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱ محاسبه شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک نمونه‌ها، پس از جدا کردن ریشه‌ها از اندامهای هوایی، نمونه‌ها در پاکت کاغذی قرار داده شدند و به مدت ٤۸ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس وزن خشک نمونه‌ها اندازه‌گیری و بر حسب گرم گزارش گردید. برای اندازه‌گیری سطح برگ، تمام برگهای یک بوته از هر تیمار جدا و بر روی کاغذ

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.13.1]

شطرنجی قرار داده شد و از آنها کپی کاغذی تهیه و سپس مساحت برگها با شمارش مربعات کوچک برحسب سانتیمترمربع محاسبه گردید. برای اندازه‌گیری طول ساقه، میانگین طول ساقه بوته ها در هر گلدان به وسیله خط‌کش اندازه‌گیری شده و طول ساقه برحسب سانتیمتر محاسبه گردید.

محتوای نسبی آب برگ (RWC): پس از جدا کردن برگ سوم، از هر برگ سه دیسک مشابه با قطر یک سانتیمتر تهیه شد و با ترازوی دقیق آزمایشگاهی با دقت ۰/۰۰۰۱ وزن گردیدند (FW) . سپس دیسکها در ظروف پتری حاوی آب مقطر برای مدت ۵-٤ ساعت غوطه‌ور گردیدند. دیسکها پس از این مدت، از پتری خارج شده و با استفاده از کاغذ صافی خشک گردیدند، دوباره وزن شدند تا وزن حالت تورژسانس کامل (TW) به دست آید. برای محاسبه وزن خشک (DW)، دیسکها درون پاکت کاغذی قرار داده شدند و به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس وزن گردیدند. محتوای نسبی آب برگ از رابطه زیر محاسبه شد.

$$RWC = \frac{Fw-Dw}{Tw-Dw} \times 100$$

محتوای رنگیزه‌های کلروفیل و کاروتنوئید برگ: محتوای رنگیزه‌های کلروفیلی و کاروتنوئیدی برگ با روش Arnon (1967) انجام شد. بدین منظور۰/۲۵ گرم بافت تازه در ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد سائیده شد و محلول حاصل با کاغذصافی صاف گردید و حجم نهایی به ۲۰ میلی‌لیتر رسانده شد و جذب محلولها به طور جداگانه در طول موجهای ٦٦٣ نانومتر برای کلروفیل a و٦٤٥ نانومتر برای کلروفیل b و ٤٧٥ نانومتر برای کاروتنوئیدها توسط اسپکتروفتومتر (Beckman, Fullerton, CA)قرائت شد. در نهایت با استفاده از رابطه‌ی زیر میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه محاسبه شد.

Chlorophyll a = (19.3A663 - 0.86A645) V/100W
Chlorophyll b = (19.3A645 - 3.6A663) V/100W
Carotenoides = 100 (A470) - 3.27 (mg chl.a) – 104 (mg chl.b) /227
Chlorophyll (a+b) = Chlorophyll a + Chlorophyll b

مقدار پرولین: مقدار پرولین در برگ با روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) انجام شد. در این روش ۰/۰٤ گرم از بافت مورد نظر در ۱۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوسالیسیلیک ۳ درصد سائیده شد و سپس با کاغذصافی واتمن شماره ۲ صاف شد. ۲ میلی‌لیتر از عصاره با ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و۲ میلی لیتر اسیداستیک گلاسیال مخلوط گردید و یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد حمام آب گرم قرار گرفت و سپس واکنش بر روی یخ متوقف گردید. سپس ٤ میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط اضافه شد و لوله‌ها به خوبی مخلوط شدند. پس از چند دقیقه از محلول صورتی رنگ فوقانی برای قرائت جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر (Beckman, Fullerton, CA) استفاده شد. میزان پرولین با استفاده از منحنی استاندارد پرولین خالص محاسبه شد.

مقدار قندهای محلول: محتوای قندهای محلول نمونه‌ها با استفاده از معرف آنترون و بر اساس روش Irigoyen و همکاران (1992) تعیین گردید. ۰/۵ گرم بافت تر برگ و ریشه در ۲/۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد در بن‌ماری با دمای $^{\circ}C$ ۹۵ به مدت٦۰ دقیقه قرار گرفت و کربوهیدرات‌های محلول استخراج شدند. عصاره حاصل با استفاده از کاغذ صافی صاف گردید و سپس الکل آن تبخیر شد. رسوب حاصل در ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. ۰/۰٤گرم آنترون در۲۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک حل گردید. محلول فوق به تدریج و به آرامی به ظرف شیشه‌ای حاوی ٦۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد اضافه شد و ضمن سرد شدن به هم زده شد. ۲۰۰ میکرولیتر از هر نمونه در یک لوله آزمایش ریخته شد و ۵ میلی‌لیتر معرف آنترون به آن اضافه گردید. پس از مخلوط شدن به مدت ۱۷ دقیقه در بن‌ماری دمای $^{\circ}C$ ۹۵ قرار گرفت و پس از سرد شدن، جذب نمونه‌ها در ٦۲۵ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه مقدار قند از منحنی استاندارد گلوکز استفاده شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز: برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش دو گهرمایه‌ای یعنی پراکسید هیدروژن ۰/۰۰۱۷ مولار و فنل‌آمینوآنتی پیرین ۰/۰۰۲۵ مولار استفاده شد (Sariri *et al.*, 2006). هر دو گهرمایه در محلول بافر فسفات ۰/۲ مولار با pH=۷ تهیه شدند. در نمونه شاهد، ٤۷۵ میکرولیتر پراکسیدهیدروژن و ٤۷۵ میکرولیتر فنل‌آمینوآنتی‌پیرین و ۵۰ میکرولیتر بافر استخراج اضافه شد و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.13.1]

تغییرات جذب بر زمان در طول موج ۵۱۰ نانومتر در مدت زمان ۱۲۰ ثانیه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت و دستگاه صفر شد. برای تهیه نمونه تیمار نیز ٤۷۵ میکرولیتر پراکسیدهیدروژن و ٤۷۵ میکرولیتر فنل‌آمینوآنتی‌پیرین آماده و سپس ۵۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی اضافه شده و جذب نمونه تحت شرایط نمونه شاهد قرائت شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز: برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز، ابتدا بافر فسفات ۲۵ میلی‌مولار حاوی EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و پراکسیدهیدروژن ۱۰ میلی‌مولار تهیه شد. سپس سنجش بدین صورت انجام شد: در نمونه شاهد ۹۷۵ میکرولیتر گهرمایه‌ی پراکسیدهیدروژن و ۲۵ میکرولیتر از بافر استخراج اضافه شد و تغییرات جذب بر زمان در طول موج ۲٤۰ نانومتر درمدت زمان ۱۲۰ ثانیه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت و دستگاه صفر شد. برای تهیه نمونه تیمار نیز ۹۷۵ میکرولیترگهرمایه‌ی پراکسید هیدروژن و سپس ۵۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی اضافه شده و جذب نمونه تحت شرایط نمونه شاهد قرائت شد. سنجش فعالیت کاتالاز بر اساس کاهش جذب آب اکسیژنه در طول موج ۲٤۰ نانومتر صورت گرفت. یک واحد فعالیت آنزیمی مقدار آنزیمی است که یک میکرومول آب اکسیژنه را در مدت یک دقیقه تجزیه کند.

سنجش میزان پروتئین های محلول: برای سنجش غلظت پروتئین به ۵۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی، ۲/۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد اضافه شد و سریع مخلوط شدند. سپس جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد آلبومین سرم گاوی محاسبه گردید. برای تهیه معرف برادفورد ۰/۱گرم از پودر کوماسی‌بریلیانت‌بلو G250 را در۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹٦ درصد حل کرده و حداقل بعد از یک ساعت هم زدن، ۱۰۰ میلی‌لیتر اسیدارتوفسفریک ۸۵ درصد به صورت تدریجی به آن اضافه شد. بعد از چند دقیقه هم خوردن، حجم نهایی آن با آب‌مقطر به یک لیتر رسانده شد. محلول نهایی از کاغذصافی عبور داده شد و در ظرف تیره و در یخچال نگهداری شد.

آنالیز آماری: این آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در هر تیمار انجام شد و داده‌های حاصل با استفاده از برنامه آماری SAS مورد تجزیه وتحلیل قرار گرفت و میانگین داده ها با استفاده ازآزمون چنددامنه‌ای دانکن مقایسه شدند. رسم نمودارها بوسیله نرم افزار Excel 2007 صورت گرفت.

نتایج:

وزن خشک اندام‌هوایی: نتایج نشان داد که اثر سطوح مختلف آبیاری تاثیر معنی داری در سطح احتمال یک درصد بر میزان وزن خشک گیاه ترخون دارد (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین مقدار وزن خشک اندام‌هوایی در تیمار شاهد با مقدار ۰/۳۷ گرم و کم‌ترین مقدار در تیمار ٤۰ با مقدار ۰/۲ گرم مشاهده گردید (جدول ۲).

سطح برگ: مطابق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) تغییرات سطح برگ تحت اثر سطوح مختلف آبیاری در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود به طوری که با افزایش کم‌آبی ، سطح برگ در مقایسه با تیمار شاهد کاهش معنی‌داری داشته است. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین مقدار شاخص سطح برگ در تیمار شاهد با مقدار ۰/۳٤ سانتی‌متر مربع و کم‌ترین مقدار در تیمار ٤۰ با مقدار ۰/۲۷ سانتی‌متر مربع مشاهده گردید (جدول ۲).

طول ساقه: نتایج به دست آمده از آنالیز تجزیه واریانس نشان داد که تغییرات طول ساقه تحت اثر سطوح مختلف آبیاری در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که بیشترین طول ساقه در تیمار شاهد با مقدار۲٦/۲۱ سانتی‌متر وکمترین طول ساقه با مقدار ۲۳/۸ سانتی‌متر در تیمار ٤۰٪ ظرفیت زراعی مشاهده شد (جدول ۲).

محتوای نسبی آب برگ (RWC): نتایج به دست آمده از آنالیز واریانس داده ها نشان داد که محتوای نسبی آب برگ تحت اثر سطوح مختلف آبیاری در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که بیشترین محتوای نسبی آب برگ در تیمار شاهد با مقدار ۸۸/٦۱ وکمترین محتوای نسبی آب برگ با مقدار ۵۳/٦ در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.13.1]

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تیمارهای مختلف آبی بر برخی پارامترهای رشد گیاه ترخون

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		وزن خشک اندام هوایی (g)	ارتفاع ساقه (cm)	سطح برگ (cm^2)	درصد محتوای نسبی آب برگ (RWC)
تیمار کم‌آبی	۲	۰/۰۰۳۲۷۲۱**	۲/۲۷۱۵٤٤**	۰/۰۰۰۱۷۳٦۱**	۹۲۸/۲۹۹۲۱۱**
خطای آزمایش	٦	۰/۰۰۱۹٦۷۸۹	۲/۵۲۱۰۱۵۵٦	۰/۰۰۰۰۰۳۱۷	۲۰٦۹۵۳۳
ضریب تغییرات	-	۱/۷۷۳۵	۵/۸۱۷۷	٤/۹۱۸٤	۲/۵٦۳٦

***اختلاف در سطح احتمال ۰/۰۵، **: اختلاف در سطح احتمال ۰/۰۱ ، ns : عدم اختلاف معنی‌دار.**

جدول ۲- اثر سطوح مختلف آبیاری بر وزن خشک، شاخص سطح برگ، طول ساقه و محتوای نسبی آب برگ گیاه ترخون.

سطوح آبیاری	وزن خشک اندام‌هوایی (گرم در بوته)	سطح برگ (سانتی‌متر مربع)	ارتفاع ساقه (سانتی‌متر)	محتوای نسبی آب برگ (RWC)
ظرفیت ظراعی	۰/۳۷[a]	۰/۳٤[a]	۳۲/۸۳[a]	۸۸/٦۱[a]
تیمار ٦۰	۰/۳۳[b]	۰/۳۰[b]	۲۷/۵۵[b]	٦۲/٦۳[b]
تیمار٤۰	۰/۲[c]	۰/۲۷[c]	۲٦/۲۱[c]	۵۳/٦[c]

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری در سطح ۰/۰۱ درصد است.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تیمارهای مختلف آبی بر برخی پارامترهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاه ترخون

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		فعالیت آنزیم پراکسیداز	فعالیت آنزیم کاتالاز	پرولین	قندهای محلول	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئیدها
خشکی	۲	۵/۵۵**	۱/۷۸**	۲/٤۰۵**	۰/٦۰۲**	۰/۰۰٤۸**	۰.۰۰۰۱۳**	۰.۰۰۰۸**
خطای آزمایش	٦	۸/٦٤	۳/۷۵	۰/۰۱۵	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۰۷	۰/۰۰۰۰۳۱	۰/۰۰۰۰۹۲
ضریب تغییرات		۳/۲۵	٤/۰۱۵	۱۲/۰۲	۱/۳۸	۲/۸۲	۲/۰۰۰۹	۲/۱۳۵

*** اختلاف در سطح احتمال ۰/۰۵، **: اختلاف در سطح احتمال ۰/۰۱، ns: غیر معنی‌دار.**

تیمار ٤۰٪ ظرفیت زراعی مشاهده شد (جدول ۲).

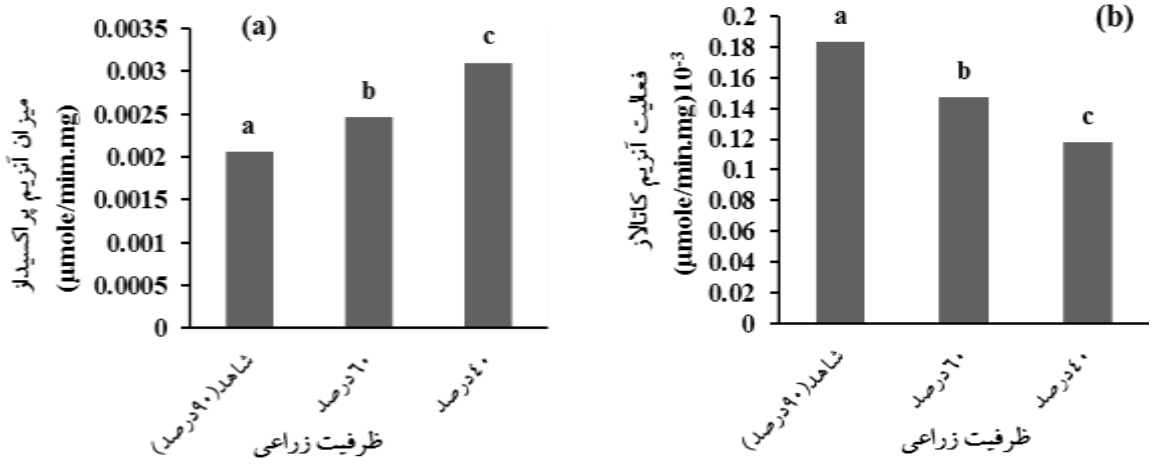
فعالیت آنزیم پراکسیداز: نتایج به دست آمده از آنالیز تجزیه واریانس نشان داد که تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز اندام‌هوایی در گیاه ترخون تحت اثر سطوح مختلف آبیاری اختلاف معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۹درصد نشان داد (جدول ۳). با افزایش تنش کم‌آبی مقدار فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش یافت (شکل a ۱). میزان این صفت از ۰/۰۰۲ ماکرومول بر دقیقه در میلی گرم برای شاهد تا ۰/۰۰۳۱ ماکرومول بر دقیقه در میلی گرم برای تیمار ٤۰ درصد ظرفیت زراعی متفاوت بود.

فعالیت آنزیم کاتالاز: نتایج به دست آمده از آنالیز تجزیه واریانس نشان داد که اثر سطوح مختلف آبیاری بر تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز اندام هوایی در گیاه ترخون در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). با افزایش تنش کم‌آبی فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش یافت به طوریکه تیمار شاهد بیشترین مقدار و تیمار ٤۰درصد ظرفیت زراعی کمترین مقدار را دارا بودند (شکل b ۱).

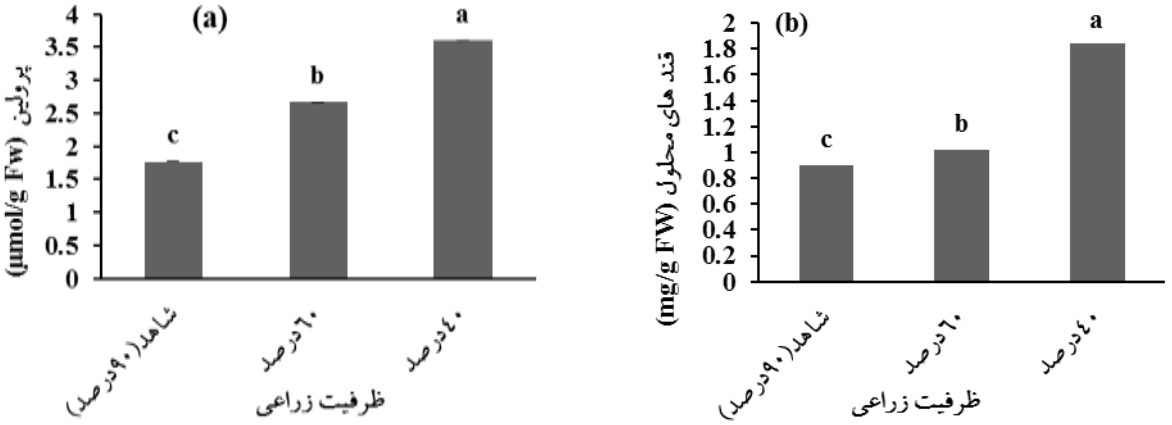
مقدار پرولین: نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس نشان

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.13.1]



شکل ۱- مقایسه میانگین سطوح مختلف آبیاری بر مقدار فعالیت آنزیم پراکسیداز (a) و کاتالاز (b) اندام هوایی گیاه ترخون، حروف مشابه نشان‌دهنده‌ی عدم معنی‌داری در سطح یک درصد.



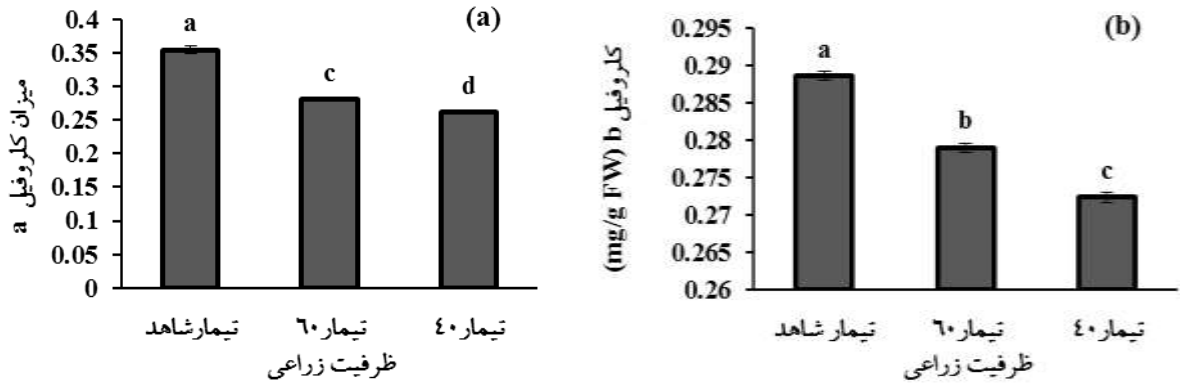
شکل ۲- مقایسه میانگین سطوح مختلف آبیاری بر مقدار پرولین (a) و مقدار قندهای محلول (b) اندام هوایی گیاه ترخون، حروف مشابه نشان‌دهنده‌ی عدم معنی‌داری در سطح یک درصد.

داد که مقدار پرولین اندام هوایی در گیاه ترخون در سطوح مختلف آبیاری اختلاف معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۹ درصد دارد (جدول ۳). با افزایش تنش کم‌آبی مقدار پرولین افزایش یافت به طوریکه تیمار شاهد کمترین مقدار وتیمار ٤۰ در صد ظرفیت زراعی بیشترین مقدار پرولین را داشت (شکل a ۲).

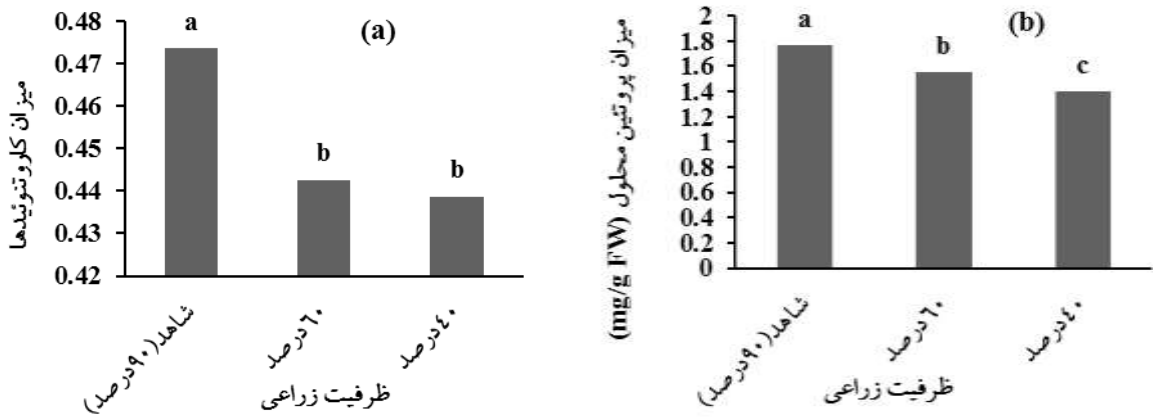
مقدار قندهای محلول: نتایج به دست آمده از آنالیز تجزیه واریانس نشان داد که مقدار قندهای محلول اندام هوایی در گیاه ترخون تحت اثر سطوح مختلف آبیاری در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). با افزایش تنش کم‌آبی مقدار قندهای محلول افزایش یافت به طوریکه در تیمار شاهدکمترین مقدار و در تیمار ٤۰ درصد با حدود دو برابر به ۰/۸۳ میلی گرم بر گرم وزن تر گیاه رسید در حالیکه تیمار ٦۰ درصد تنها کمی افزایش را نشان داد (شکل b ۲).

میزان کلروفیل a: نتایج به دست آمده از آنالیز تجزیه واریانس نشان داد که مقدار کلروفیل a در گیاه ترخون تحت اثر سطوح مختلف آبیاری در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). با افزایش تنش کم‌آبی مقدار کلروفیل a کاهش یافت به طوریکه تیمار شاهد (۹۰درصدظرفیت زراعی) با بیشترین مقدار و تیمار ٤۰ درصد (٤۰در صد ظرفیت زراعی) با کمترین مقدار همراه بود. میزان این صفت از ۰/۳۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ برای شرایط آبیاری کامل تا ۰/۲۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ برای میزان آبیاری ٤۰ درصد ظرفیت

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.13.1]



شکل۳ – مقایسه میانگین سطوح مختلف آبیاری بر مقدار کلروفیل a (a) و کلروفیل b (b) گیاه ترخون، حروف مشابه نشان‌دهنده‌ی عدم معنی‌داری در سطح یک درصد.



شکل ٤– مقایسه میانگین سطوح مختلف آبیاری بر مقدار کاروتنوئیدها (a) و مقدار پروتئین محلول (b) گیاه ترخون، حروف مشابه نشان‌دهنده‌ی عدم معنی‌داری در سطح یک درصد.

زراعی متفاوت بود (شکل ۳ a).

میزان کلروفیل b: نتایج به دست آمده از آنالیز تجزیه واریانس نشان داد که مقدار کلروفیل b در گیاه ترخون تحت اثر سطوح مختلف آبیاری در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). با افزایش تنش کم‌آبی مقدار کلروفیل b کاهش یافت به طوریکه در تیمار شاهد (۹۰درصد ظرفیت زراعی) بیشترین مقدار و درتیمار ٤۰ درصد (٤۰درصد ظرفیت زراعی) کمترین مقدار بود (شکل ۳ b).

میزان کاروتنوئیدها: نتایج به دست آمده از آنالیز تجزیه واریانس نشان داد که مقدار کاروتنوئیدها در گیاه ترخون تحت اثر سطوح مختلف آبیاری در سطح اطمینان ۹۹ درصد معنی‌دار بود (جدول۳). با افزایش تنش کم‌آبی مقدار کاروتنوئیدها کاهش یافت به‌طوری که تیمار شاهد (۹۰درصدظرفیت زراعی) دارای بیشترین مقدار و تیمار ٤۰ درصد (٤۰درصد ظرفیت زراعی) دارای کمترین مقدار بود (شکل ٤ a). مقدار کاروتنوئیدها در دو تیمار ٤۰ و ٦۰ درصد ظرفیت زراعی اختلاف معنی‌داری نداشت.

نتایج سنجش پروتئین اندام‌هوایی: با افزایش تنش کم‌آبی مقدار پروتئین محلول کاهش یافت به طوریکه تیمار شاهد (۹۰درصدظرفیت زراعی) با ۱/۷۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بیشترین مقدار و تیمار ٤۰ درصد با ۱/۳۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر کمترین مقدار بود (شکل ٤ b).

بحث:

بر اساس نتایج حاصل از مطالعه حاضر، پارامترهای رشد شامل وزن خشک، ارتفاع، محتوای نسبی آب برگ و شاخص سطح

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.13.1]

برگ با افزایش تنش کم‌آبی، کاهش معنی‌داری نشان دادند (جدول۲). همچنین تاثیر سطوح مختلف تنش بر پارامترهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی اندازه گیری شده نیز معنی‌دار بود (جدول ۳).

با توجه به کاهش پارامترهای رشدی مانند وزن خشک، طول ساقه و سطح برگ در گیاه ترخون تحت تنش کم آبی و بخصوص با تیمار آبیاری ٤٠ درصد ظرفیت زراعی کاملا مشخص است که این تیمار موجب کاهش رشد در گیاهان مورد بررسی شده است. تحت تنش کم‌آبی جذب مواد غذایی از طریق ریشه ، به دلیل کاهش حجم آب خاک و همچنین کاهش توزیع عناصرغذایی در بافت خاک کاهش می‌یابد. علاوه بر این ، انتقال مواد غذایی از ریشه‌ها به شاخه کاهش می‌یابد و در نتیجه وزن خشک اندام هوایی کاهش می‌یابد. از طرف دیگر تنش کم‌آبی باعث تولید گونه های فعال اکسیژن می‌شود. این رادیکال‌ها در نهایت سبب ایجاد آسیب به غشا سلولی، اسیدهای نوکلئیک و پروتیئن‌ها شده و به عدم تعادل متابولیکی منجر خواهند شد. نتیجه آسیب‌های حاصل از تولید گونه‌های فعال اکسیژن توقف در رشد طولی سلول، کاهش طول گیاه، کاهش ماده‌سازی، کاهش سطح برگ و درنهایت کاهش رشد خواهد بود (Taiz and Ziger, 2006). درواقع گیاهان وقتی در معرض تنش‌های محیطی مانند کم‌آبی قرار می‌گیرند آسیب‌های بیولوژیکی داخلی در نهایت منجر به کاهش تقسیم و گسترش سلول‌ها خواهد شد. به اعتقاد برخی محققین این کاهش اندازه طولی گیاه و همچنین سطح برگ و به دنبال آن زیست توده تولیدی در برخی مواقع یک راهکار حفاظتی برای گیاه به حساب می‌آید. گیاه با کاهش سطح برگ شدت نیاز آب را کم کرده و کمبود آب موجود را تعدیل می-کند (Herralde *et al*., 1998).

تنش کم‌آبی باعث کاهش پتانسیل آب برگ و کاهش محتوای نسبی آب برگ شده که منجر به از دست‌دادن تورگور می‌شود، که به نوبه خود باعث بسته‌شدن روزنه‌ها و محدودیت‌های جذب دی‌اکسیدکربن و کاهش سرعت فتوسنتز می‌شود(Khan *et al*, 1998).

در بررسی اثر تنش کم آبی بر پارامترهای بیوشیمیایی مشخص شد که فعالیت آنزیم پراکسیداز برخلاف کاتالاز در اندام هوایی گیاه ترخون با آبیاری به اندازه ٤٠ درصد ظرفیت زراعی به شدت افزایش می یابد. پراکسیداز در فرآیندهای متابولیکی مانند کاتابولیسم هورمون، دفاع در برابر عوامل بیماریزا، اکسیداسیون فنل، ایجاد پیوند با پروتیئن‌های ساختاری سلول و پلی ساکاریدهای دیواره سلولی نقش دارد. آنزیم پراکسیداز که هم در سیتوسول و هم در کلروپلاست وجود دارد، می تواند به گونه مؤثری H_2O_2 را حذف نماید بنابراین افزایش فعالیت این آنزیم در شرایط تنش خشکی احتمالا نشان دهنده تجمع H_2O_2 در شرایط تنش خشکی می‌باشد (Jiang and Huang, 2001). با توجه به این‌که فعالیت آنزیم کاتالاز در این آزمایش تحت تنش کم‌آبی افزایش نشان نداد احتمالا می توان گفت که از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در این گیاه تحت تنش کم‌آبی توسط مواد یا آنزیم های آنتی‌اکسیدان دیگر مانند آنزیم پراکسیداز صورت می‌گیرد و آنزیم کاتالاز در این فرایند نقش مهمی نداشته است. این نتیجه مغایر نتایج برخی از محققین بر روی سایر گیاهان است. بعنوان نمونه: برخی از دانشمندان نشان دادند که افزایش فعالیت کاتالاز با کاهش اثرات پراکسید هیدروژن در هنگام مواجهه با تنش‌های مختلف در گیاهان زراعی مانند گندم، جو، سویا و نخود در ایجاد مقاومت این گیاهان به تنش نقش مهمی ایفا نموده‌است (کافی و مهدوی، ۱۳۷۹).

نتایج این مطالعه حکایت از ارتباط مستقیم بین افزایش تنش کم آبی و تولید پرولین داشت. بطوریکه با افزایش سطح تنش میزان پرولین برگ نیز افزایش یافت. اسیدآمینه پرولین یکی از مهمترین اسمولیت‌های آلی است که در گیاهان در واکنش به عوامل نامساعد محیطی تجمع می‌یابد. پرولین همچنین به عنوان یک محافظت‌کننده اسمزی می‌تواند از ساختار پروتئین‌ها محافظت کند و ذخیره نیتروژنی مناسبی را در شرایط تنش و کاهش میزان قندهای ساده فراهم نماید (Ren *et al*., 2006).

مطالعه حاضر نشان داد که قندهای محلول نیز مانند پرولین ارتباط مستقیمی با افزایش تنش داشتند. برخی پژوهشگران

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.13.1]

علت افزایش قندهای محلول را در هنگام تنش‌های کم آبی به تخریب نشاسته نسبت می‌دهند. یکی از راهکارهای افزایش قندهای ساده در شرایط تنش خشکی و کم آبی و سایر تنش های محیطی که در آن بازده فتوسنتزی گیاه کاهش می یابد تجزیه ذخایر پلی ساکاریدی گیاه و انتقال این قند ها به برگها می باشد (During, 1984). همسو بودن تولید قندهای محلول و پرولین در شرایط تنش توسط برخی محققین به اثبات رسیده است (Baghizadeh *et al*., 2009). یکی از دلایلی که برای ایفای نقش حفاظتی قندها در تنش خشکی ذکر شده است این است که، گروههای هیدروکسیل قندها جایگزین آب غشاها و پروتئین‌ها می‌شود تا واکنش آبدوستی در طی پسابیدگی حفظ شود. در این راهکار قندها با پروتئین‌ها و غشاء پیوند هیدروژنی تشکیل می‌دهند و از تغییر شکل آنها جلوگیری می‌کنند (Leopold *et al*., 1994). همچنین برخی از کربوهیدات‌ها با تاثیر روی نسخه برداری ژن‌های فتوسنتزی مانند ژن‌های کد کننده زیرواحدهای رابیسکو، سبب تعدیل اثر خشکی روی فتوسنتز می‌شوند. بااینحال، مهمترین نقش افزایش در ترکیبات قندی به اثر آن بر تنظیمات اسمزی نسبت داده می‌شود (Ashraf and Mehmood, 1997).

کلروفیل‌ها مولکول‌های ضروری هستند که مسئول دریافت انرژی خورشیدی در سیستم‌های فتوسنتزی می‌باشند (Tanaka and Tanaka, 2006). تغییرات محتوای رطوبتی برگ و غلظت کلروفیل a و b به عنوان یک واکنش کوتاه مدت به تنش، بصورت معیاری از توان حفظ قدرت منبع در شرایط تنش خشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Ahmadi and Ceioce mardeh, 2004).

کارایی کاروتنوئیدها در حفاظت از فتوسیستم‌ها و رنگیزه‌های فتوسنتزی مورد بررسی قرار گرفته است. کاروتنوئیدها قادرند انرژی زیاد طول موج‌های کوتاه را گرفته و اکسیژن یکتایی را به سه تایی تبدیل کنند و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولید شده، نقش آنتی‌اکسیدانی خود را بروز دهند (Inze and Montagu, 2000). همچنین کاروتنوئید ها از جمله ترکیبات آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی هستند که می توانند در کاهش غلظت یون سوپراکسید نقش داشته و تشکیل رادیکال هیدروکسید را نیز کاهش دهند (Candan and Tarhan, 2003). در رابطه با کاهش پروتئین در گیاهان ترخون تحت تنش خشکی می‌توان گفت که کاهش میزان رنگیزه های کلروفیلی مشاهده شده در این آزمایش می‌تواند موجب کاهش تولید متابولیت های اولیه مهم مانند قندها و پروتئین‌ها شود. اگرچه تجزیه پروتئین‌ها نیز در هنگام مواجه شدن با تنش خشکی در گیاهان مشاهده می شود (Aghaei *et al*., 2009)، اما برخی از پژوهشگران رکود سنتز پروتئین را به کاهش تعداد پلی‌زوم‌های سلولی نسبت داده‌اند. تنش آبی سطوح پروتئینی گیاهان را تحت تاثیر قرار داده و نتایج ضد و نقیضی را به همراه داشته است به طوریکه برخی کاهش و گروهی افزایش در سطوح پروتئینی را تحت تنش آبی گزارش کرده‌اند (Roy-Macaulay *et al*., 1992; Svensson *et al*., 2002).

نتیجه‌گیری کلی:

بطور کلی می‌توان گفت که سطح آبیاری در حد ٤٠ درصد ظرفیت زراعی می‌تواند برای گیاه ترخون سطح تنش کم‌آبی بالایی به حساب بیاید. تنش خشکی حتی در سطح ٦٠ درصد ظرفیت زراعی نیز موجب کاهش میزان پروتئین کل، کاروتنوئید ها، کلروفیل های a و b و شاخص‌هایی مانند طول ساقه و سطح برگ و وزن خشک در گیاهان ترخون مورد مطالعه گردید. اما در همین شرایط میزان پرولین و قندهای محلول در گیاهان تیمار دیده به شدت افزایش یافت و افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در کنار کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز نیز عوامل بیوشیمیایی دخیل در واکنش به تنش کم‌آبی در این گیاهان را نشان دادند.

منابع:

امیدبیگی، ر. (۱۳۷۹) رهیافت های تولید و فرآوری گیاهان دارویی. چاپ دوم، طراحان نشر، جلد اول ۲۸٦ صفحه.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.13.1]

خزاعی، ح.، پارسا، م. و حسین پناهی، ف. (۱۳۸۷) اثرات تلقیح نژادهای بومی ریزوبیوم بر گره‌زایی ژنوتیپهای دسی و کابلی نخود تحت رژیمهای رطوبتی در مراحل رشد رویشی مختلف. مجله پژوهشهای زراعی ایران ٦: ۹۷-۱۸۹.

کافی، م. و مهدوی، ع. (۱۳۷۹) مکانیسم های مقاومت گیاهان به تنش های محیطی(ترجمه). انتشارات دانشگاه فردوسی مشـهد. ٤۷۲ صفحه.

یزدانی، د.، شهنازی ،س. و سیفی، ح.(۱۳۸۳) کاشت، داشت و برداشت گیاهان دارویی. چاپ اول انتشارات جهاد دانشگاهی شهید بهشتی. ۱۷۸صفحه.

Aghaei, K., Ehsanpour, A. A. and Komatsu, S. (2008) Proteome analysis of potato under salt stress. Journal of Proteome Research 7: 4858-4868.

Ahmadi, A. and Ceioce mardeh, A. (2004) Effect of drought stress on soluble carbohydrate, chlorophyll and proline in four adopted Wheat cultivars with various climate of Iran. Iranian Journal of Agricultural Sceinces 35: 735-763.

Arnon, A. N. (1967) Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal 23:112-121.

Ashraf, A. and Mehmood, S. (1990) Response of four Brassica species to drought stress. Environmental and Experimental Botany 30(1): 93-100.

Baghizadeh, A., Ghorbanli, M., Haj Mohammad Rezaei, M. and Mozafari, H. (2009) Evaluation of Interaction Effect of Drought Stress with Ascorbate and Salicylic Acid on some of Physiological and Biochemical Parameters in Okra (*Hibiscus esculentus* L.). Research Journal of Biological Sciences 4: 380-387.

Bates, L. S., Waldern, R. P. and Tear, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil 39: 205-207.

Bown, D. (1995) Encyclopedia of herbs & their uses. Dorling Kindersley. London.

Candan, T. and Tarhan, L. (2003) Changes in chlorophyll-carotenoid contents, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation level in Zn-stressed. *Pulegium.* Turkish Journal of Chemistry 27: 21-30.

During, H. (1984) Evidence of osmotic adjustment to drought in grapevines. Vitis 23: 1-10.

Hajar, A. S., Khafagi, O.A. and Ibrahim, S. M. (1997) Response of grain sorghum to water deficit. Alexandrian Journal of Agricultural Researches 42: 37 – 47.

Herralde, F. D., Bile, C., Sava, R., Morales, M. A. Alarcon, J. J. and Sanchez-Blanco, M. J. (1998) Effect of Water and salt stresses on the growth gas exchange and water relation. Plant Science 139: 9-17.

Inze, D. and Montagu. M. V. (2000) Oxidative stress in plants. Cornawall. Great Britain. 321 pages.

Irigoyen, J. J., Emerich, D. W. and Sanchez-Diaz, M. (1992) Water stress induced changes concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Phiysiologia Plantarum 84: 5-60.

Jiang, Y. and Huang, N. (2001) Drought and Heat stress injury to two cool-season turf grasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. Crop Science 41:436-442.

Khan, M. G., Silberbush, M. and Lips, S. H. (1998) Response of alfalfa to potassium, calcium and nitrogen under stress induced by sodium chloride. Biologia Plantarum 40: 251-259.

Kordali, S., Kotan, R. and Mavi, A. (2005) Detrmination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium, A. dracunculus, A. santonicum,* and *A.spicigera* essential oils. Journal of Agricalture Food Chemistry 53: 9452-9458.

Leopold, A. C., Sun, W. Q. and Bernal-lugo, L. (1994) The glassy state in seeds: analysis and function. Seed science Reasearch 4: 267-274.

Munns, R. (2002) Comparative physiology of salt and water stress. Tropical Agriculture 25: 239-250.

Pessark, M. (1999) Handbook of plant and crop stress. Academic press. New York. 187-211.

Ren, J., Yao, Y., Yang, Y., Korpelainen, H., Junttila, O. and Li, C. (2006) Growth and physiological responses of two contrasting poplar species to supplemental reproductive growth. I: Evaluation by chlorophyll fluorescence. Crop Science 881-885.

Roy-Macaulay, H., Zuily-Fodil, Y., Kidric, M., Pham Thi, A.T. and Vieira da Silva, J. (1992) Effect of drought stress on proteolitic activities in Phaseolus and Vigna leaves from sensitive and resistant plants. Physiologia Plantarum 85:90-96.

Sariri, R., Sajedi, R. H., Jafarian, V. and Khaje, Kh. (2006) Inhibition of horse-radish peroxidase by thiol type inhibitors. Journal of Molecular Liquids 123: 20-23.

Svensson, J., Ismail, A. M., Palva, E. T. and Close, T. J. (2002) Dehydrins. In: sensing, signaling and cell adaptation (eds. Storey, K. B. and Storey, J. M.) Pp. 155-171. Elsevier Science BV.

Taiz, L. and Zeiger, E. (2006) Plant physiology. 4th ed. Sinauer Associates, Sunderland.

Tanaka, A. and Tanaka, R. (2006) Chlorophyll metabolism. Plant Biology 9: 248-255.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.13.1]