

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

کیوان آقائی*^۱، محبوبه برزلی^۱، وهب جعفریان^۱ و فرید شکاری^۲

^۱گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، ^۲گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۴/۲۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۱۱/۰۶)

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 کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در شرایط اتاق رشد و به صورت کشت گلخانه‌ای انجام شد. تیمارهای آبیاری جهت اعمال تنش عبارت بودند از: شاهد (۹۰ درصد ظرفیت زراعی)، T₁: ۶۰ درصد ظرفیت زراعی و T₂: ۴۰ درصد 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 T₂ 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 فتوستتزی (کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها) و مقدار پروتئین محلول کاهش یافت. بطور کلی می‌توان گفت: سطح آبیاری حتی در حد ۴۰٪ 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:

رشد، آب و هوای گرم و خشک و آفتاب کامل را ترجیح می‌دهد. زمستان‌های خیلی سرد و به خصوص خاک‌های سنگین ممکن است به ریشه گیاه لطمه بزند (یزدانی و همکاران، ۱۳۸۳).

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

ترخون (*Artemisia dracunculus*) گیاهی علفی، معطر، چندساله با ساقه‌های مستقیم، منشعب و ریزوم دار است که دارای مصارف خوراکی و دارویی می‌باشد (Bown, 1995). منشأ اصلی این گیاه روسیه مرکزی و جنوبی، سبزی، آسیای مرکزی و شمال و غرب آمریکا می‌باشد. امروزه در اکثر کشورها کشت می‌شود و معمولاً در نواحی مرطوب و در سواحل رودخانه‌ها می‌روید (امیدبیگی، ۱۳۷۹). ترخون برای

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 کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آبیاری جهت اعمال تنش عبارت بودند از: شاهد (آبیاری به میزان ۹۰ درصد ظرفیت زراعی)، T₁ (آبیاری به میزان ۶۰ درصد ظرفیت زراعی) و T₂ (آبیاری به میزان ۴۰ درصد ظرفیت زراعی). به منظور اعمال تنش خشکی از روش وزن کردن گلدان‌ها (گلدان‌های 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 نقلی 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، ۶۰ و ۴۰ 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، به دقت از گلدان خارج شده و صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آنها اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری 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 ۴۸ 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

عنوان ادویه مخصوص گوشت مورد توجه بوده و موجب کاهش فشار خون نیز می‌شود. در درمان برخی از بیماری‌های عفونی مانند طاعون و نیز در تسکین درد دندان و برطرف کردن برخی انگل‌های روده‌ای نیز از این گیاه استفاده شده است. اسانس ترخون دارای فعالیت ضد باکتری و ضد قارچی است که می‌تواند به علت وجود ترکیبات خاص تریپنوییدی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی 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 این میان کمبود آب بزرگترین چالش در تولید محصولات زراعی خصوصاً 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 CO₂ همراه است. از جمله واکنش‌های 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 می‌شود 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

مورد نظر در ۱۰ میلی لیتر اسیدسولفوسالیسیلیک ۳ درصد سائیده شد و سپس با کاغذصافی واتمن شماره ۲ صاف شد. ۲ میلی لیتر از عصاره با ۲ میلی لیتر معرف نین هیدرین و ۲ 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 ۴ میلی لیتر تولوئن به مخلوط اضافه شد و لوله ها 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 نمونه ها 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 میلی لیتر اتانول ۸۰ درصد در بن ماری با دمای ۹۵ °C به مدت ۶۰ دقیقه قرار گرفت و کربوهیدرات های محلول استخراج شدند. عصاره حاصل با استفاده از کاغذ صافی صاف گردید و سپس الکل آن تبخیر شد. رسوب حاصل در ۲/۵ میلی لیتر آب مقطر حل شد. ۰/۰۴ گرم آنترون در ۲۵ میلی لیتر اسید سولفوریک حل گردید. محلول فوق به تدریج و به آرامی به ظرف شیشه ای حاوی ۶۰ میلی لیتر آب مقطر و ۱۵ میلی لیتر 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 میلی لیتر معرف آنترون به آن اضافه گردید. پس از مخلوط شدن به مدت ۱۷ دقیقه در بن ماری دمای ۹۵ °C قرار گرفت و پس از سرد شدن، جذب نمونه ها در ۶۲۵ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه مقدار قند از منحنی استاندارد گلوکز استفاده شد.

اندازه گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز: برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش دو گهرمایه ای یعنی پراکسید هیدروژن ۰/۰۰۱۷ مولار و فنل آمینوآنتی 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، ۴۷۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن و ۴۷۵ میکرولیتر فنل آمینوآنتی پیرین و ۵۰ میکرولیتر بافر استخراج اضافه شد و

شظرنجی قرار داده شد و از آنها کپی کاغذی تهیه و سپس مساحت برگها با شمارش مربعات کوچک برحسب سانتیمترمربع محاسبه گردید. برای اندازه گیری طول ساقه، میانگین طول ساقه بوته ها در هر گلدان به وسیله خطکش اندازه گیری 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 ۴-۵ ساعت غوطه ور 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 ۲۴ 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 رنگیزه های کلروفیل و کاروتنوئید برگ: محتوای رنگیزه های کلروفیلی و کاروتنوئیدی برگ با روش Arnon (1967) انجام شد. بدین منظور ۰/۲۵ گرم بافت تازه در ۲۰ میلی لیتر استون ۸۰ درصد سائیده شد و محلول حاصل با کاغذصافی صاف گردید و حجم نهایی به ۲۰ میلی لیتر رسانده شد و جذب محلولها به طور جداگانه در طول موجهای ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a و ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و ۴۷۵ نانومتر برای کاروتنوئیدها توسط اسپکتروفتومتر (Beckman, Fullerton, CA) قرائت شد. در نهایت با استفاده از رابطه ی زیر میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها برحسب میلی گرم 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 ۰/۰۴ گرم از بافت

حاصل با استفاده از برنامه آماری SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و میانگین داده ها با استفاده از آزمون 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 ۴۰ 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 معنی دار بود به طوری که با افزایش کم‌آبی، سطح برگ در مقایسه با تیمار شاهد کاهش معنی داری داشته است. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین مقدار شاخص سطح برگ در تیمار شاهد با مقدار ۰/۳۴ سانتی‌متر مربع و کم‌ترین مقدار در تیمار ۴۰ 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 مقدار ۲۶/۲۱ سانتی‌متر و کمترین طول ساقه با مقدار ۲۳/۸ سانتی‌متر در تیمار ۴۰٪ ظرفیت زراعی مشاهده شد (جدول ۲).

محتوای نسبی آب برگ (RWC): نتایج به دست آمده از آنالیز واریانس داده‌ها 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 ۸۸/۶۱ و کمترین محتوای نسبی آب برگ با مقدار ۵۳/۶ در

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 ۴۷۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن و ۴۷۵ میکرولیتر فنل آمینواتی پیرین 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 پراکسید هیدروژن ۱۰ میلی‌مولار تهیه شد. سپس سنجش بدین صورت انجام شد: در نمونه شاهد ۹۷۵ میکرولیتر گهرمایه‌ی پراکسید هیدروژن و ۲۵ میکرولیتر از بافر استخراج اضافه شد و تغییرات جذب بر زمان در طول موج ۲۴۰ نانومتر در مدت زمان ۱۲۰ ثانیه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت و دستگاه صفر شد. برای تهیه نمونه تیمار نیز ۹۷۵ میکرولیتر گهرمایه‌ی 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 ۲۴۰ نانومتر صورت گرفت. یک واحد فعالیت آنزیمی مقدار آنزیمی است که یک میکرومول آب اکسیژنه را در مدت یک دقیقه تجزیه کند.

سنجش میزان پروتئین‌های 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 آلومین سرم گاوی محاسبه گردید. برای تهیه معرف برادفورد ۰/۱ گرم از پودر کوماسی بریلینت بلو G250 را در ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ 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 آب مقطر 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

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

میانگین مربعات					
منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن خشک اندام هوایی (g)	ارتفاع ساقه (cm)	سطح برگ (cm ²)	درصد محتوای نسبی آب برگ (RWC)
تیمار کم آبی	۲	۰/۰۰۳۲۷۲۱**	۲/۲۷۱۵۴۴**	۰/۰۰۰۱۷۳۶۱**	۹۲۸/۲۹۹۲۱۱**
خطای آزمایش	۶	۰/۰۰۱۹۶۷۸۹	۲/۵۲۱۰۱۵۵۶	۰/۰۰۰۰۰۳۱۷	۲۰۶۹۵۳۳
ضریب تغییرات	-	۱/۷۷۳۵	۵/۸۱۷۷	۴/۹۱۸۴	۲/۵۶۳۶

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

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 اندام هوایی (گرم در بوته)	سطح برگ (سانتی متر مربع)	ارتفاع ساقه (سانتی متر)	محتوای نسبی آب برگ (RWC)
ظرفیت ظراعی	۰/۳۷ ^a	۰/۳۴ ^a	۳۲/۸۳ ^a	۸۸/۶۱ ^a
تیمار ۶۰	۰/۳۳ ^b	۰/۳۰ ^b	۲۷/۵۵ ^b	۶۲/۶۳ ^b
تیمار ۴۰	۰/۲ ^c	۰/۲۷ ^c	۲۶/۲۱ ^c	۵۳/۶ ^c

حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی داری در سطح ۰/۰۱ درصد است.

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

میانگین مربعات						
منابع تغییرات	درجه آزادی	فعالیت آنزیم پراکسیداز	فعالیت آنزیم کاتالاز	پروکلین محلول	قندهای محلول	کاروتنوئیدها
خشکی	۲	۵/۵۵**	۱/۷۸**	۲/۴۰۵**	۰/۶۰۲**	۰/۰۰۰۸**
خطای آزمایش	۶	۸/۶۴	۳/۷۵	۰/۰۱۵	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۰۹۲
ضریب تغییرات		۳/۲۵	۴/۰۱۵	۱۲/۰۲	۱/۳۸	۲/۱۳۵

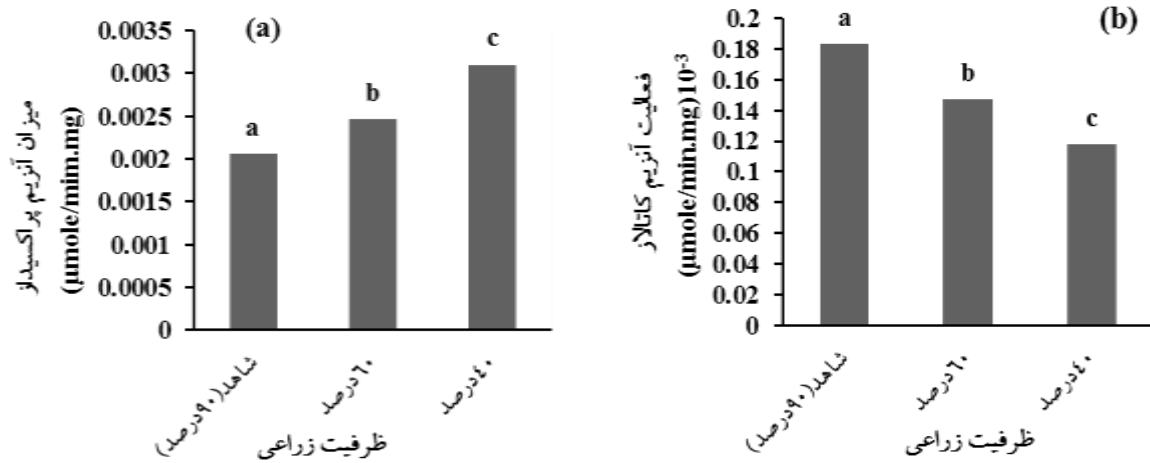
* اختلاف در سطح احتمال ۰/۰۵، ** اختلاف در سطح احتمال ۰/۰۱، ns: غیر معنی دار.

تیمار ۴۰٪ ظرفیت زراعی مشاهده شد (جدول ۲).

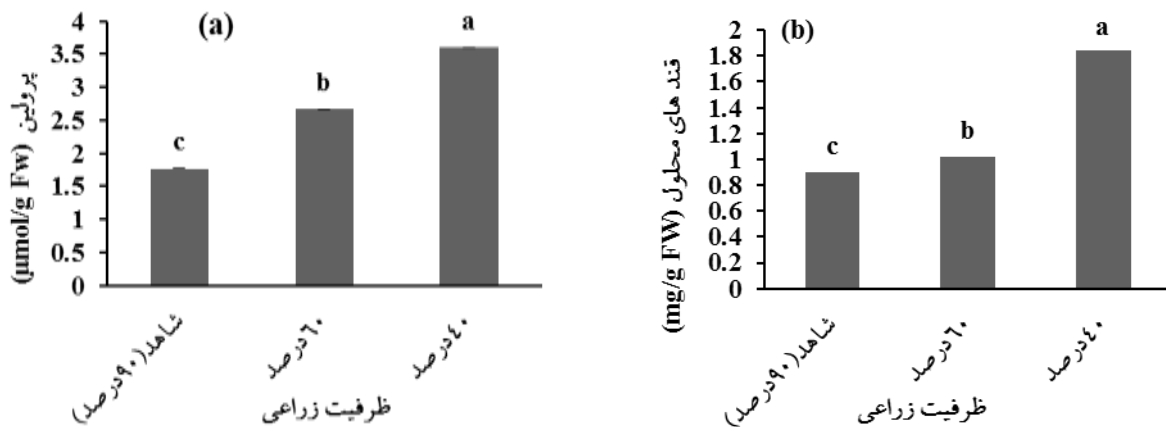
زراعی متفاوت بود.

فعالیت آنزیم پراکسیداز: نتایج به دست آمده از آنالیز تجزیه واریانس نشان داد که تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز اندام هوایی در گیاه ترخون تحت اثر سطوح مختلف آبیاری اختلاف معنی داری در سطح اطمینان ۹۹ درصد نشان داد (جدول ۳). با افزایش تنش کم آبی مقدار فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش یافت (شکل a ۱). میزان این صفت از ۰/۰۰۲ ماکرومول بر دقیقه در میلی گرم برای شاهد تا ۰/۰۰۳ ماکرومول بر دقیقه در میلی گرم برای تیمار ۴۰ درصد ظرفیت

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 معنی دار بود (جدول ۳). با افزایش تنش کم آبی فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش یافت به طوری که تیمار شاهد بیشترین مقدار و تیمار ۴۰ درصد ظرفیت زراعی کمترین مقدار را دارا بودند (شکل b ۱).
مقدار پروکلین: نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس نشان



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.



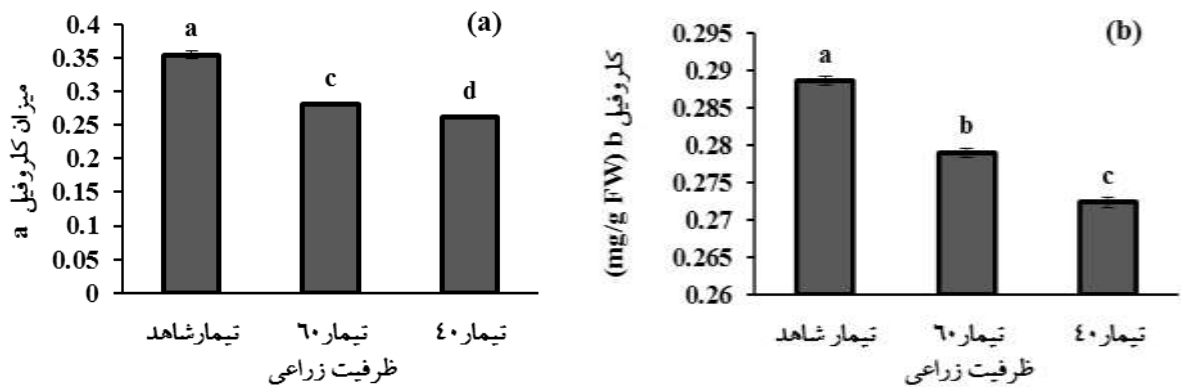
شکل ۲- مقایسه میانگین سطوح مختلف آبیاری بر مقدار پروتئین (a) و مقدار قندهای محلول (b) اندام هوایی گیاه ترخون، حروف مشابه نشان‌دهنده‌ی عدم معنی‌داری در سطح یک درصد.

گرم بر گرم وزن تر گیاه رسید در حالیکه تیمار ۶۰ درصد تنها کمی افزایش را نشان داد (شکل ۲ b).

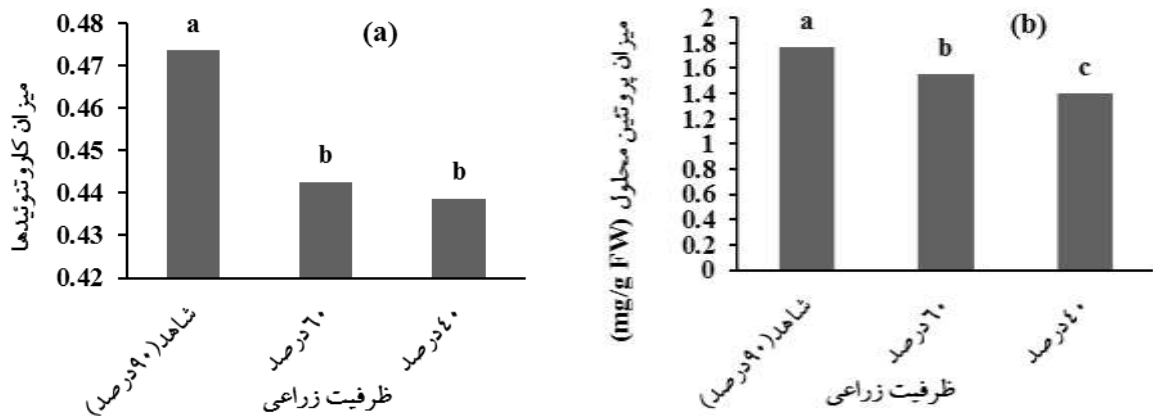
میزان کلروفیل a: نتایج به دست آمده از آنالیز تجزیه واریانس نشان داد که مقدار کلروفیل a در گیاه ترخون تحت اثر سطوح مختلف آبیاری در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). با افزایش تنش کم‌آبی مقدار کلروفیل a کاهش یافت به طوریکه تیمار شاهد (۹۰ درصد ظرفیت زراعی) با بیشترین مقدار و تیمار ۴۰ درصد (۴۰ درصد ظرفیت 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 ۴۰ درصد ظرفیت

داد که مقدار پروتئین اندام هوایی در گیاه ترخون در سطوح مختلف آبیاری اختلاف معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۹ درصد دارد (جدول ۳). با افزایش تنش کم‌آبی مقدار پروتئین افزایش یافت به طوریکه تیمار شاهد کمترین مقدار و تیمار ۴۰ درصد ظرفیت زراعی بیشترین مقدار پروتئین را داشت (شکل ۲ a).

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 شاهد کمترین مقدار و در تیمار ۴۰ درصد با حدود دو برابر به ۰/۸۳ میلی



شکل ۳- مقایسه میانگین سطوح مختلف آبیاری بر مقدار کلروفیل a (a) و کلروفیل b (b) گیاه ترخون، حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی داری در سطح یک درصد.



شکل ۴- مقایسه میانگین سطوح مختلف آبیاری بر مقدار کاروتنوئیدها (a) و مقدار پروتئین محلول (b) گیاه ترخون، حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی داری 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 معنی دار بود (جدول ۳). با افزایش تنش کم آبی مقدار کلروفیل b کاهش یافت به طوریکه در تیمار شاهد (۹۰ درصد ظرفیت زراعی) بیشترین مقدار و در تیمار ۴۰ درصد (۴۰ درصد 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 معنی دار بود (جدول ۳). با افزایش تنش کم آبی مقدار کاروتنوئیدها کاهش یافت به طوری که تیمار شاهد (۹۰ درصد ظرفیت زراعی) دارای بیشترین مقدار و تیمار ۴۰ درصد (۴۰ درصد ظرفیت زراعی) کمترین مقدار بود (شکل ۴ a).
 پروتئین محلول: با افزایش تنش کم آبی مقدار پروتئین محلول کاهش یافت به طوری که تیمار شاهد (۹۰ درصد ظرفیت زراعی) با ۱/۷۷ میلی گرم بر گرم وزن تر بیشترین مقدار و تیمار ۴۰ درصد با ۱/۳۹ میلی گرم بر گرم وزن تر کمترین مقدار بود (شکل ۴ b).

بحث:

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

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 ۴۰ 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 پروتئین‌های 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 احتمالاً نشان دهنده تجمع H_2O_2 در شرایط تنش خشکی می باشد (Jiang and Huang, 2001). با توجه به این که فعالیت آنزیم کاتالاز در این آزمایش تحت تنش کم آبی افزایش نشان نداد احتمالاً می توان گفت که از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در این گیاه تحت تنش کم آبی توسط مواد یا آنزیم های آنتی‌اکسیدان دیگر مانند آنزیم پراکسیداز صورت می گیرد و آنزیم کاتالاز در این فرایند نقش مهمی نداشته است. این نتیجه معیار 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 نموده است (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. اسیدآمینو پرولین یکی از مهمترین اسمولیت‌های آلی است که در گیاهان در واکنش به عوامل نامساعد محیطی تجمع می یابد. پرولین همچنین به عنوان یک محافظت کننده اسمزی می تواند 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

برگ با افزایش تنش کم آبی، کاهش معنی داری نشان دادند (جدول ۲). همچنین تاثیر سطوح مختلف تنش بر پارامترهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی اندازه گیری شده نیز معنی دار 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 ۴۰ درصد ظرفیت زراعی کاملاً مشخص است که این تیمار موجب کاهش رشد در گیاهان مورد بررسی شده است. تحت تنش کم آبی جذب مواد غذایی از طریق ریشه، به دلیل کاهش حجم آب خاک و همچنین کاهش توزیع عناصر غذایی در بافت خاک کاهش می یابد. علاوه بر این، انتقال مواد غذایی از ریشه‌ها به شاخه کاهش می یابد و در نتیجه وزن خشک اندام هوایی کاهش می یابد. از طرف دیگر تنش کم آبی باعث تولید گونه های فعال اکسیژن می شود. این رادیکال‌ها در نهایت سبب ایجاد آسیب به غشا سلولی، اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها 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 در نهایت کاهش رشد خواهد بود (Taiz and Ziger, 2006). در واقع گیاهان وقتی در معرض تنش‌های محیطی مانند کم آبی قرار می گیرند 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 می آید. گیاه با کاهش سطح برگ شدت نیاز آب را کم کرده و کمبود آب موجود را تعدیل می کند (Herralde et al., 1998).

تنش کم آبی باعث کاهش پتانسیل آب برگ و کاهش محتوای نسبی آب برگ شده که منجر به از دست دادن تورگور می شود، که به نوبه خود باعث بسته شدن روزنه‌ها و محدودیت‌های جذب دی‌اکسیدکربن و کاهش سرعت فتوسنتز می شود (Khan et al, 1998).

شده، نقش آنتی اکسیدانی خود را بروز دهند (Inze and Montagu, 2000). همچنین کاروتنوئیدها از جمله ترکیبات آنتی اکسیدانی 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 می توان گفت که کاهش میزان رنگیزه های کلروفیلی مشاهده شده در این آزمایش می تواند موجب کاهش تولید متابولیت های اولیه مهم مانند قندها و پروتئین ها شود. اگرچه تجزیه پروتئین ها 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 پلی زوم های سلولی نسبت داده اند. تنش آبی سطوح پروتئینی گیاهان را تحت تاثیر قرار داده و نتایج ضد و نقیضی را به همراه داشته است به طوری که برخی کاهش و گروهی افزایش در سطوح پروتئینی را تحت تنش آبی گزارش کرده اند (Roy-Macaulay et al., 1992; Svensson et al., 2002).

نتیجه گیری کلی:

بطور کلی می توان گفت که سطح آبیاری در حد ۴۰ درصد ظرفیت زراعی می تواند برای گیاه ترخون سطح تنش کم آبی بالایی به حساب بیاید. تنش خشکی حتی در سطح ۶۰ درصد ظرفیت زراعی نیز موجب کاهش میزان پروتئین کل، کاروتنوئیدها، کلروفیل های a و b و شاخص هایی 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 کم آبی در این گیاهان را نشان دادند.

علت افزایش قندهای محلول را در هنگام تنش های کم آبی به تخریب نشاسته نسبت می دهند. 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 قندها 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 پروتئین ها می شود تا واکنش آبدوستی در طی پسابدگی حفظ شود. در این راهکار قندها با پروتئین ها و غشاء پیوند هیدروژنی تشکیل می دهند و از تغییر شکل آنها جلوگیری می کنند (Leopold et al., 1994). همچنین برخی از کربوهیدرات ها با تاثیر روی نسخه برداری ژن های فتوسنتزی مانند ژن های کد کننده زیرواحدهای رایبوسکو، سبب تعدیل اثر خشکی روی فتوسنتز می شوند. با اینحال، مهمترین نقش افزایش در ترکیبات قندی به اثر آن بر تنظیمات اسمزی نسبت داده می شود (Ashraf and Mehmood, 1997).

کلروفیل ها مولکول های ضروری هستند که مسئول دریافت انرژی خورشیدی در سیستم های فتوسنتزی می باشند (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 می گیرد (Ahmadi and Ceioce mardeh, 2004).

کارایی کاروتنوئیدها در حفاظت از فتوسیستم ها و رنگیزه های فتوسنتزی مورد بررسی قرار گرفته است. کاروتنوئیدها قادرند انرژی زیاد طول موج های کوتاه را گرفته و اکسیژن یکتایی را به سه تایی تبدیل کنند و با گرفتن رادیکال های اکسیژن تولید

منابع:

امیدبیگی، ر. (۱۳۷۹) رهیافت های تولید و فرآوری گیاهان دارویی. چاپ دوم، طراحان نشر، جلد اول ۲۸۶ صفحه.

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 ۶: ۹۷-۱۸۹.

کافی، م. و مهدوی، ع. (۱۳۷۹) مکانیسم های مقاومت گیاهان به تنش های محیطی (ترجمه). انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. ۴۷۲ صفحه.

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

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 Sciences* 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*. Cornwall. 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. *Physiologia 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) Determination 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 Agriculture 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 Research* 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 proteolytic 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.