نشریه دانش زراعت/ سال پنجم/ شماره ۱۰/ اسفند ۱۳۹۳/ صفحه ۱-۱۲

ارزیابی تأثیر کمبود آب بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه دارویی زوفا

قربانعلی رسام[1*]، علیرضا دادخواه[2] و اصغر خوشنود یزدی[3]

۱. استادیار گروه تولیدات گیاهی، مجتمع آموزش عالی شیروان، ایران.
۲. دانشیار گروه تولیدات گیاهی، مجتمع آموزش عالی شیروان، ایران.
۳. استادیار گروه تولیدات گیاهی، مجتمع آموزش عالی شیروان، ایران.

چکیده

کمبود آب، عامل اصلی محدودکننده رشد و عملکرد گیاهان در مناطق خشک و نیمه‌خشک محسوب می‌شود. زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) از مهم‌ترین گیاهان دارویی خانواده نعناعیان است که مصارف دارویی متعددی دارد. به منظور بررسی تأثیر کمبود آب بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه دارویی زوفا، آزمایشی در سال ۱۳۹۱ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی شیروان در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. سطوح مختلف کمبود آب شامل شرایط ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (شاهد)، ۷۵ درصد ظرفیت زراعی (تنش ملایم)، ۵۰ درصد ظرفیت زراعی (تنش متوسط) و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی (تنش شدید) بود. نتایج نشان داد که تشدید کمبود آب (سطح تنش متوسط و شدید) سبب کاهش ارتفاع بوته، وزن برگ، وزن ساقه و اندام هوایی، وزن و حجم ریشه شد. با این وجود نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی با افزایش سطوح کمبود آب افزایش پیدا کرد. با اعمال کمبود آب، افزایش در میزان نشت الکترولیت‌ها و کاهش در محتوی آب نسبی برگ مشاهده گردید.تنش ملایم کمبود آب با افزایش در غلظت کلروفیل a، b و کل همراه شد ولی تشدید کمبود آب غلظت این رنگیزه‌ها را در مقایسه با شاهد کاهش داد. مکانیزم‌های تحمل به خشکی شامل افزایش قندهای محلول، افزایش غلظت کاروتنوئیدها و آنتوسیانین‌ها با افزایش کمبود آب در گیاهان تحت تنش مشاهده گردید. به‌طور کلی نتایج آزمایش بیانگر تحمل نسبی زوفا در مواجهه با تنش ملایم کمبود آب بود.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، کمبود آب، کلروفیل، زوفا، صفات مورفولوژیک، قندهای محلول.

[*] نویسنده مسئول:

E-mail: rassammf@yahoo.com

تاریخ وصول: ۱۳۹۲/۲/۲۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱/۲۴

مقدمه

گیاهان در دوران رشد با انواعی از تنش‌های زیستی و غیرزیستی مواجه می‌شوند. تنش کمبود آب از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی به‌شمار می‌رود که سبب کاهش رشد و عملکرد در بسیاری از گیاهان زراعی و دارویی به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک می‌گردد (۳۰). در گیاهان تحت تنش بسته به ماهیت کمبود آب، پاسخ‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی متنوعی ظاهر می‌شود. برای مثال کاهش دسترسی به رطوبت خاک در نعناع منجر به کاهش ارتفاع بوته، وزن خشک برگ، ساقه و ریشه شد (۸). از واکنش‌های مهم گیاهان در مواجهه با تنش خشکی، تخصیص سهم بیشتری از مواد فتوسنتزی به ریشه و افزایش نسبت ریشه به اندام هوایی معرفی شده است (۵). تحت شرایط خشک، تغییر در محتوای آب نسبی (RWC) Relative Water Content برگ در بسیاری از گیاهان گزارش شده است. تحقیق روی گیاه دارویی بادرنجبویه نشان داد که اعمال تنش کمبود آب سبب کاهش ۳٤ درصدی محتوای آب گردید (۲۵). استحکام بیشتر دیواره سلولی و توانایی آن برای تحمل آسیب‌های ناشی از اتلاف آب از عوامل ثبات RWC در شرایط خشکی ذکر شده است (۱۸). در نتیجه افزایش برخی ترکیبات فعال اکسیژن نظیر رادیکال‌های سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل غشای سلولی در گیاهان تحت تنش آسیب می‌بیند و الکترولیت‌های سلول به بیرون تراوش می‌کند (۱۲).

نتایج متفاوتی در رابطه با تأثیر تنش کمبود آب بر غلظت کلروفیل گیاهان بدست آمده است. به‌طور کلی حفظ غلظت کلروفیل و دوام فتوسنتز در شرایط تنش کمبود آب یکی از شاخص‌های فیزیولوژیکی تحمل خشکی است (۲۹). در شرایط تنش به واسطه افزایش فعالیت آنزیم‌های کلروفیلاز و پراکسیداز، افزایش ترکیبات فنلی و کاهش جذب نیتروژن از غلظت کلروفیل برگ کاسته می‌شود (۱۰، ۳٦).

گیاهان در مواجهه با کمبود آب از ساز و کارهای مختلفی سود می‌جویند. تنظیم اسمزی و افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از مهم‌ترین ساز و کارها به‌شمار می‌رود (۲۲). تنظیم اسمزی با هدف حفظ تورژسانس سلولی، تداوم جذب از محیط ریشه و پایداری غشاها انجام می‌گیرد (۱۳). قندهای محلول از مهم‌ترین ترکیبات دخیل در ایجاد تنظیم اسمزی محسوب می‌شوند (۲۳).

آنتوسیانین‌ها و کارتنوئیدها رنگیزه‌های گیاهی هستند که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند (۱۷). این رنگیزه‌ها با جذب رادیکال‌های فعال اکسیژن سبب محافظت کلروفیل در برابر تنش‌ها می‌گردند.

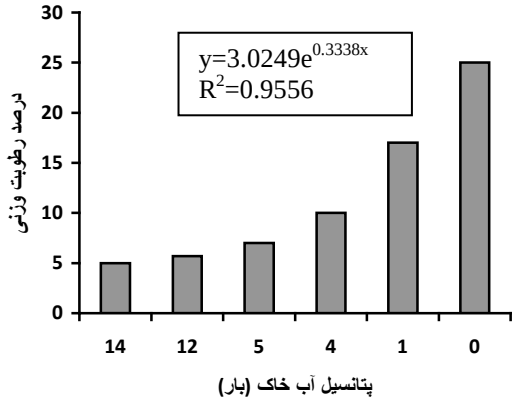
زوفا (*Hyssopus officinalis*) متعلق به خانواده نعناعیان و بومی مناطق گرم و نیمه‌خشک است. این گیاه دارویی برای تقویت دستگاه گوارش، رفع ناراحتی‌های عصبی و افسردگی، ضدباکتری و درمان سرماخوردگی استفاده می‌شود (۱۹). بسیاری از مناطق کشور تحت اقلیم خشک و نیمه خشک قرار دارند و بروز کمبود آب طی فصل رشد گیاهان بسیار متداول است. بنابراین در مدیریت زراعی این مناطق، ارزیابی تأثیر کمبود آب می‌تواند به بهینه‌سازی تولید کمک شایانی نماید. گرچه تحقیقات وسیعی در زمینه تأثیر کمبود آب بر گیاهان زراعی به انجام رسیده است با این وجود واکنش گیاهان دارویی به کمبود آب، به‌ویژه زوفا کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است. تحقیق حاضر با هدف بررسی کمبود آب بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis*) به انجام رسید.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۱ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی شیروان در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل چهار سطح شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)، کمبود آب ملایم (۷۵ درصد ظرفیت زراعی)، کمبود آب متوسط (۵۰ درصد

ظرفیت زراعی) و کمبود آب شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) بودند (۳). کشت در گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۱۹ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر با گنجایش ٤ کیلوگرم خاک انجام شد. خاک مورد استفاده بر اساس نتایج آزمون خاک دارای ۲۳٪ رس، ٤۷٪ شن، ۳۰٪ سیلت، pH معادل ۷/۷ و EC برابر ۱/۲ دسی زیمنس برمتر بود. در هر گلدان ۱۰ عدد بذر ضد عفونی شده کشت شد که با شروع اعمال تیمارها به دو بوته تقلیل یافت. آبیاری گلدان‌ها از کاشت تا استقرار کامل گیاهچه‌ها در حد ظرفیت زراعی انجام شد. تیمارهای تنش به روش وزنی اعمال شدند. برای این منظور نمونه‌هایی از خاک مورد نظر انتخاب و به کمک دستگاه صفحات فشاری منحنی رطوبتی خاک تهیه گردید (شکل ۱). با مشخص شدن درصد رطوبت وزنی در محدوده ظرفیت زراعی (۱٦/۷ درصد رطوبت وزنی)، سطوح مختلف تنش با توزین روزانه گلدان‌ها و افزودن آب مصرفی به گلدان‌ها اعمال می‌گردید.

برداشت بوته‌ها چهار ماه بعد از اعمال تنش‌ها و در شروع گلدهی انجام شد. در این زمان بوته‌های هر گلدان از خاک خارج گردید و به دو بخش ریشه و اندام هوایی تقسیم شدند. ریشه‌ها بعد از شستشو بلافاصله به یخچال منتقل شدند.



شکل ۱- منحنی رطوبت خاک مورد استفاده

در آزمایشگاه صفاتی شامل حجم ریشه، چگالی ریشه (نسبت وزن خشک ریشه به حجم ریشه) و وزن خشک ریشه تعیین گردید. برای تعیین حجم ریشه‌ها از روش تعیین اختلاف حجم آب استفاده شد، بدین ترتیب که ریشه‌ها در داخل استوانه مدرجی که دارای حجم معینی آب بود فرو برده شدند اضافه حجم استوانه مدرج به عنوان حجم ریشه منظور گردید. بعد از اندازه‌گیری ارتفاع بوته، اندام هوایی به دو بخش ساقه و برگ تفکیک شد. نمونه‌های برگ و ساقه به مدت ٤۸ ساعت در آون خشک شدند تا وزن خشک آن‌ها تعیین شود.

در زمان برداشت و قبل از خارج کردن بوته‌ها از خاک، صفات فیزیولوژیک شامل محتوای آب نسبی برگ، پایداری غشا، غلظت کلروفیل، مقدار قندهای محلول، مقدار آنتوسیانین و محتوای کاروتنوئید اندازه‌گیری شد.

محتوای آب نسبی برگ

برای اندازه‌گیری محتوای آب نسبی برگ از هر بوته دو برگ جوان توسعه یافته و در موقعیتی یکسان جدا گردید. در آزمایشگاه بعد از تمیز کردن سطح برگ‌ها وزن تازه (FW) آن‌ها تعیین شد. نمونه‌ها به مدت چهار ساعت در ظروف حاوی آب مقطر در تاریکی و دمای ٤ درجه سانتی‌گراد شناور شدند. بعد از آبگیری، برگ‌ها مجددا توزین تا وزن آماس (TW) تعیین شود. در ادامه وزن خشک برگ‌ها (DW) با قرارگیری در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد آون برای ٤۸ ساعت بدست آمد. از رابطه (۱) مقدار محتوای آب نسبی برگ محاسبه شد (۳۲).

$$RWC\% = \frac{FW - DW}{TW - DW} \times 100 \qquad (۱)$$

پایداری غشا

برای تعیین پایداری غشا، میزان نشت الکترولیت برگ‌ها اندازه‌گیری شد. برای این منظور از هر بوته دو برگ جوان توسعه یافته قطع شد و بعد از انتقال به

آزمایشگاه معادل ۰/۱ گرم از آن‌ها تهیه گردید. نمونه‌ها بعد از شستشو با آب مقطر برای ۲٤ ساعت داخل لوله‌های محتوی ۲۵ میلی‌متر آب مقطر در دمای ٤ درجه قرار گرفتند. سپس هدایت الکتریکی محلول با دستگاه EC متر اندازه‌گیری شد (EC1). در ادامه لوله‌های حاوی نمونه به مدت ۲۵ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه اتوکلاو شدند و دوباره هدایت الکتریکی محلول با دستگاه EC متر اندازه‌گیری شد (EC2). برای محاسبه میزان نشت الکترولیت برگ از رابطه (۲) استفاده شد (۳۳).

$$EC = \left(\frac{EC1}{EC2}\right) \times 100 \qquad (۲)$$

غلظت کلروفیل و کاروتنوئیدها

میزان کلروفیل و کاروتنوئیدها به روش آرنون(۱۹٤۹) تعیین شد. مطابق این روش، ۰/۵ گرم برگ تازه در داخل هاون چینی با ۱۰ میلیمتر استن ۸۰ درصد سائیده گردید. عصاره حاصل برای ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفوژ با دور ٦۰۰۰ قرار داده شد. از محلول رویی مقدار سه میلی‌متر به داخل کووت (Cuvette) اسپکتروفتومتر ریخته شد و مقدار جذب در طول موج‌های ٦٦۳، ٦٤۵، ٤۸۰ و ۵۱۰ نانومتر قرائت گردید. از روابط زیر برای غلظت کلروفیل a، کلروفیل b، کل کلروفیل و کارتنوئید استفاده شد:

Chl.a mg/g FW= [۱۲/۷ (A٦٦۳) – ۲/٦۹ (A ٦٤۵)] × V/W

Chl.b mg/g FW= [۲۲/۹ (A٦٤۵) – ٤/٦۸ (A ٦٦۳)] × V/W

Chl. total mg/g FW= [۲۰/۲ (A٦٤۵) + ۸/۰۲ (A ٦٦۳)]×V/W

C mg/g FW= [۷/٦ (A٤۸۰) + ۱/٤۹ (A ۵۱۰)] × V/W

که در آن A٦٦۳، A٦٤۵ ، A٤۸۰ و A۵۱۰ به ترتیب مقدار جذب قرائت شده در طول موج های ٦٦۳، ٦٤۵، ٤۸۰ و ۵۱۰ نانومتر، V حجم نهایی استن مصرفی بر حسب میلی‌لیتر و FW وزن تازه برگ بر حسب میلی‌گرم می‌باشد.

آنتوسیانین

برای اندازه‌گیری آنتوسیانین از روش واگنر (۱۹۷۹) استفاده شد. برای این منظور ۰/۱ گرم برگ تازه در ۱۰ میلی‌متر متانول اسیدی (متانول خالص و اسید کلریدریک به نسبت حجمی ۱:۹۹) کاملا ساییده شد. عصاره حاصل برای مدت ۲٤ ساعت در تاریکی و دمای ٤ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ٤۰۰۰ دور سانتریفوژ و با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب محلول رویی در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. غلظت آنتوسیانین از رابطه (۳) بدست آمد:

$$A = b\varepsilon c \qquad (۳)$$

که در آن A مقدار جذب، ε ضریب خاموشی ۳۳۰۰۰ مول بر سانتی‌متر، b عرض کووت بر حسب سانتی‌متر و c غلظت آنتوسیانین بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر برگ است.

قندهای محلول

استخراج قندهای محلول با استفاده از معرف آنترون انجام گرفت (۲٤). برای این منظور ۰/۰۵ گرم برگ تازه داخل لوله‌های حاوی ۵ میلی لیتر اتانول ۸۰ درصد قرار داده شد و برای مدت ٤۰ دقیقه در حمام آب گرم قرار گرفتند. پس از سرد شدن، لوله‌ها برای ۱۵ دقیقه با دور ۵۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. عصاره فوقانی به بشری منتقل گردید و رسوبات داخل لوله دوباره با ۵ میلی لیتر اتانول ۸۰ درصد مخلوط شدند. عملیات مذکور برای سه بار تکرار گردید تا تمامی قندهای محلول از بافت تازه برگ جدا شود. از عصاره حاصله پس از جداسازی الکل، مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر داخل لوله آزمایش ریخته شده و به آن ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون اضافه گردید. پس از مخلوط شدن به مدت ۲۰ دقیقه در بن ماری ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از سرد شدن مقدار جذب نمونه در طول موج ٦۲۰ نانومتر قرائت شد. برای محاسبه مقدار قندها از منحنی استاندارد گلوکز استفاده شد.

تجزیه واریانس داده ها به کمک نرم افزار SAS انجام گرفت و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD استفاده شد.

نتایج

صفات مورفولوژیک

نتایج تجزیه واریانس نشان داد کمبود آب بر تمامی صفات مورفولوژیک بجز چگالی ریشه تأثیر معنی‌داری به لحاظ آماری داشت (جدول ۱). با افزایش کمبود آب از ارتفاع بوته کاسته شد به‌نحوی‌که در تنش شدید، متوسط و ملایم ارتفاع بوته‌ها به ترتیب به میزان ۴۳، ۲۹ و ۱ درصد نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد (جدول ۲).

گرچه در وزن خشک برگ بین تیمار شاهد و تنش ملایم اختلاف معنی‌داری دیده نشد ولی با تشدید در تنش متوسط و شدید این صفت به ترتیب با کاهش ۶۳ و ۳۴ درصدی نسبت به شاهد مواجه شد (جدول ۲). اعمال تنش ملایم نسبت به شاهد با افزایش معنی‌داری در وزن خشک ساقه، اندام هوایی و ریشه همراه گردید ولی در تنش متوسط و شدید وزن خشک این اندام‌ها کاهش نشان داد (جدول ۲). بیشترین (۲۶/۵ سانتی‌مترمکعب) و کمترین حجم ریشه (۱۲/۳ سانتی‌متر مکعب) به ترتیب در تنش ملایم و شدید مشاهده شد (جدول ۲). حجم ریشه‌های رشد کرده در تیمار شاهد با ریشه‌های برداشت شده از گلدان‌های تحت تنش ملایم و متوسط تفاوتی نشان ندادند (جدول ۲). نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی روند متفاوتی را نسبت به سایر صفات مورفولوژیک بروز داد به‌طوری‌که با افزایش تنش این نسبت افزایش پیدا کرد و در تنش شدید به میزان ۲۲/۶ درصد بیشتر از شاهد بود (جدول ۲).

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی تحت تاثیر تنش آبی در گیاه دارویی زوفا

منابع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع بوته	وزن خشک برگ	وزن خشک ساقه	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	حجم ریشه	چگالی ریشه	نسبت ریشه به اندام هوایی
تنش	۳	۲۱۳/۱**	۲/۴۵**	۱/۱۱**	۶/۸۴**	۵/۴۵**	۱۴۷/۷**	۰/۰۰۰۲ns	۰/۱۲*
خطا	۱۲	۱۳/۵۶	۰/۰۷	۰/۰۳	۰/۰۸	۰/۲۱	۱۰/۰۴	۰/۰۰۰۸	۰/۰۳
ضریب تغییرات	۱۵	۱۳/۲	۱۵/۱۴	۱۳	۹/۴۳	۱۳/۴۰	۱۶/۱۴	۱۶/۵	۱۶/۱۶

ns، غیرمعنی‌دار و ** معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد را نشان می‌دهند.

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات مورد بررسی در سطوح مختلف تنش خشکی در گیاه دارویی زوفا

سطوح تنش	ارتفاع بوته (cm)	وزن خشک برگ (mg)	وزن خشک ساقه (mg)	وزن خشک اندام هوایی (mg)	وزن خشک ریشه (mg)	حجم ریشه (cm^3)	نسبت ریشه به اندام هوایی
شاهد (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی)	۳۴/۲a	۲/۲۴a	۱/۵۷b	۳/۸۱b	۳/۹۶b	۲۲ab	۱/۰۶b
تنش ملایم (۷۵٪ ظرفیت زراعی)	۳۳/۸a	۲/۵۸a	۱/۸۸a	۴/۴۶a	۴/۷۷a	۲۶/۵a	۱/۰۷b
تنش متوسط(۵۰٪ ظرفیت زراعی)	۲۴/۲b	۱/۴۹b	۱/۰۴c	۲/۵۳c	۲/۹۷c	۱۷/۸b	۱/۱۷ab
تنش شدید (۲۵٪ ظرفیت زراعی)	۱۹/۵b	۰/۸۳c	۰/۷d	۱/۵۴d	۲/۰۹d	۱۲/۳c	۱/۳۷a

حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بین میانگین‌ها می‌باشد.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس صفات فیزیولوژی مورد بررسی تحت تاثیر تنش کم آبی

منابع تغییر	درجه آزادی	محتوی آب نسبی برگ	نشت الکترولیت	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	نسبت به کلروفیل a کلروفیل b	کارتنوئید	آنتوسیانین	قندهای محلول
تنش	۳	۱۲۷/۲**	۲۴۸/۲**	۰/۰۲**	۰/۰۱**	۰/۰۶**	۰/۱۲**	۰/۰۱**	۱۸/۷**	۵۰/۹**
خطا	۱۲	۰/۹۲	۱/۶۷	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۸	۰/۱	۰/۰۰۰۳	۰/۰۸	۰/۵
ضریب تغییرات	۱۵	۱/۲	۲/۵۳	۴/۱۸	۸/۴۷	۴/۸	۵/۶۰	۵/۶۷	۴/۰۷	۹/۶۴

** معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد را نشان می‌دهند.

صفات فیزیولوژیک

تنش کمبود آب بر تمامی صفات فیزیولوژیک تأثیر بسیار معنی‌داری بر جای گذاشت (جدول ۳). محتوی آب برگ در گیاهانی که تحت کمبود شدید آب قرار داشتند معادل ۱۶/۵ درصد کمتر از گیاهان شاهد بود. با این وجود تنش ملایم اختلافی در محتوی آب نسبی برگ نسبت به شاهد ایجاد نکرد (جدول ٤). با افزایش کمبود آب بر میزان نشت الکترولیت‌ها افزوده شد به نحوی که در تنش شدید مقدار آن ۲۳ درصد بیشتر از تیمار شاهد گردید (جدول ٤).

نتایج نشان داد اگرچه در گیاهان تحت تنش ملایم غلظت‌های کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل اختلاف معنی‌داری با گیاهان شاهد نداشت ولی با کاهش آب قابل دسترس به نصف ظرفیت زراعی از غلظت رنگیزه‌ها کاسته شد (جدول ٤). افزایش تنش از حد متوسط و رسیدن به تنش شدید واکنش محسوسی در غلظت رنگیزه‌های کلروفیلی ایجاد نکرد. اعمال تنش کمبود آب نسبت کلروفیل a به کلروفیل b را افزایش داد، با این وجود اختلافی بین تنش ملایم تا شدید مشاهده نگردید (جدول ٤).

جدول ٤- نتایج مقایسه میانگین‌ها صفات فیزیولوژیکی مورد بررسی تحت تأثیر تنش کم‌آبی

سطوح تنش	آب نسبی برگ (%)	نشت الکترولیت (%)	کلروفیل a (میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ)	کلروفیل b (میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ)	کلروفیل کل (میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ)	نسبت کلروفیل a به کلروفیل b	کاروتنوئید (میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ)	آنتوسیانین (میکرومول در گرم وزن تر برگ)	قند های محلول (میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ)
شاهد	۸۵a	۴۱/۳d	۰/۴۴a	۰/۲۷a	۰/۷۱a	۱/۶۷b	۰/۲۵b	۵/۱۵c	۳/۳d
تنش ملایم	۸۴a	۴۶c	۰/۴۷a	۰/۲۴a	۰/۷۱a	۲/۰۱a	۰/۲۷b	۵/۲۲c	۴/۷c
تنش متوسط	۷۷b	۵۵b	۰/۳۲b	۰/۱۶b	۰/۴۹b	۲/۰۹a	۰/۳۷a	۷/۹۳b	۹b
تنش شدید	۷۱c	۶۱/۷a	۰/۳۱b	۰/۱۵b	۰/۴۶b	۲/۰۹a	۰/۳۸a	۱۰/۳۶a	۱۲/۳a

حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بین میانگین‌ها می‌باشد.

روند نسبتاً یکسانی در مقدار کاروتنوئیدها، آنتوسیانین‌ها و قندهای محلول در سطوح مختلف کمبود آب اتفاق افتاد به‌طوری‌که با افزایش تنش بر مقدار این ترکیبات افزوده شد (جدول ٤). با این وجود، اختلاف بین تیمارها به لحاظ مقدار قندهای محلول محسوس‌تر از مقدار کاروتنوئیدها و آنتوسیانین‌ها بود و مقدار آن در گیاهانی که کمبود شدید آب را تجربه کرده بودند نزدیک به چهار برابر گیاهان تیمار شاهد بود (جدول ٤).

بحث

صفات مورفولوژیک

کمبود آب تأثیرمحسوسی بر صفات مورفولوژیک زوفا داشت. وزن خشک ساقه، برگ و اندام هوایی با شدیدتر شدن کمبود آب دچار کاهش گردید. اثر کاهنده کمبود آب بر وزن برگ و ساقه ریحان (٣٤) و عملکرد اندام هوایی بادرشبو (٤) نیز گزارش شده است. انتظار می‌رود در شرایط کم‌آبی، از یک سو جذب عناصر غذایی محدود شود و از سویی دیگر در چنین شرایطی گیاهان برای کاهش تعرق اقدام به بسته نمودن روزنه‌های خود نمایند که نتیجه آن ممانعت از ورود CO_2 و کاهش فتوسنتز خواهد بود (٢١). بروز این رویدادها منجر به کاهش رشد و گسترش اندام هوایی در گیاه می‌گردد. بوته‌های زوفا که تحت تنش کمبود آب قرار داشتند از ارتفاع کمتری برخوردار بودند. بررسی تأثیرتنش کمبود آب روی نعناع فلفلی نیز حاکی از کاهش ارتفاع در گیاهان تحت تنش بود (٨). جذب کمتر آب با کاهش تورژسانس سلولی همراه خواهد شد (٢٧) و بنابراین فرآیندهایی نظیر رشد و طویل شدن ساقه که مستلزم بزرگ شدن سلول هستند دچار نقصان خواهند شد.

حجم و وزن ریشه با تشدید کمبود آب کاهش پیدا کردند و در تیمار ٢٥ درصد ظرفیت زراعی به حداقل رسید. طی تحقیقی روی نخود، گزارش شد کاهش سطح برگ، بسته شدن روزنه‌ها، کاهش جذب و انتقال آب و مواد غذایی به دنبال کاهش رطوبت در منطقه ریشه و بطور کلی بکارگیری ساز و کارهای تحمل و مقاومت به خشکی توسط گیاه منجر به کاهش تولید و انتقال مواد فتوسنتزی به ریشه‌ها می‌شود و بنابراین حجم و وزن خشک ریشه به لحاظ کمّی کاهش می‌یابد (٦). به نظر می‌رسد در گیاه زوفا نیز کاهش حجم و وزن ریشه در شرایط کمبود آب ناشی از عوامل مذکور باشد. نتایج آزمایش نشان داد نسبت ریشه به اندام هوایی همگام با افزایش کمبود آب افزایش پیدا کرد و حداقل آن در تیمار شاهد مشاهده گردید. در تحقیقی روی آویشن شیرازی، کاکوتی، آویشن باغی و کلپوره نیز این نتیجه حاصل شد (٥). اگرچه بروز کمبود آب سبب کاهش رشد در اندام هوایی و ریشه می‌گردد با این وجود در این شرایط، کاهش رشد اندام هوایی بیشتر از ریشه می‌باشد (٢٠). به‌نظر می‌رسد گیاه در شرایط کمبود آب مواد فتوسنتزی بیشتری را به ریشه‌های خود اختصاص می‌دهد و بدین طریق با حفظ نسبی رشد ریشه و افزایش نسبت ریشه به اندام هوایی زمینه ادامه جذب آب را برای گیاه فراهم می‌کند (٥).

صفات فیزیولوژیک

با افزایش شدت کمبود آب از محتوای آب نسبی برگ کاسته شد. از بارزترین علایم فیزیولوژیک کمبود رطوبت خاک، کاهش محتوای رطوبت نسبی در برگ‌ها ذکر شده است (٢٦). گرچه گیاهان در معرض تنش برای جذب آب از خاک به مکانیزم‌های مختلفی نظیر افزایش نسبت وزن ریشه به اندام هوایی متوسل می‌شوند با این وجود احتمال می‌رود این مکانیزم‌ها قادر به جبران مقدار کافی آب نسبت به شرایطی که رطوبت فراهم است نمی‌باشند. پیامد کاهش جذب آب از خاک کاهش محتوی آب نسبی برگ خواهد بود. نتایج سایر محققان نیز بیانگر کاهش آب نسبی برگ در گیاهان در شرایط کمبود آب است (١١).

از راهبردهـای مهـم توسـعه مقاومـت بـه خشـکی در گیاهان، حفاظت غشاء سلولی در زمـان مواجهـه بـا کمبـود آب می‌باشـد. در ایـن آزمـایش تشـدید کمبـود آب سـبب خسارت به غشا سلولی زوفا گردید کـه نتیجـه آن افـزایش نشـت الکترولیـت‌هـا بـود. از اخـتلالات فیزیولـوژیکی در گیاهان تحت تنش تولید و تجمع ترکیبـات سـمّی اکسـیژن نظیـر سوپراکسـید، هیـدروژن اکسـید و رادیکـال‌هـای هیدروکسـید گـزارش شـده اسـت (١٦). افـزایش غلظـت رادیکال‌هـای سوپراکسـید سـبب پراکسیداسـیون ترکیبـات لیپیدی بافت‌ها نظیر فسفولیپیدهای غشای سلولی می‌شـود. فرآورده‌هایی هم‌چون پروپانول، بوتانال و هگزانال حاصـل پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی می‌باشد. شکل‌گیری این فرآورده‌ها سبب تغییر در ساختار غشای سلول می‌شـود که در نتیجه آن تراوایی سـلول افـزایش و الکترولیـت‌هـای سلول به بیرون تـراوش مـی‌کنـد و گیـاه دچـار پرمردگـی مـی‌گـردد (١٢). بعـلاوه، در شـرایط کمبـود آب فعالیـت آنزیم‌های مسئول در خنثی کـردن ترکیبـات فعـال اکسـیژن مختـل مـی‌شـود کـه در نهایـت پراکسیداسـیون چربـی و خسارت غشای سلولی را تشدید می‌نماید (١٥).

حداکثر مقدار کلروفیل a، b و کلروفیل کل در شـاهد و تنش ملایم حاصل شد ولـی بـا تشـدید تـنش مقـدار ایـن رنگیزه‌ها نسبت به شاهد کاسـته شـد. در ارزیـابی واکـنش گندم به کمبود آب نیز این روند گزارش شد (٢). بـه نظـر می‌رسد محتمل‌تـرین علّـت افـزایش غلظـت کلروفیـل در شاهد و تنش ملایم افـزایش وزن مخصـوص بـرگ باشـد. بدین ترتیب که وقوع تنش ملایم بـا کـاهش انـدازه سـلول سبب کاهش سـطح بـرگ مـی‌گـردد کـه نتیجـه آن تجمـع سلول‌های بیشتری در واحد وزن بـرگ و افـزایش غلظـت کلروفیل برگ است (٢٨). با این وجود در تنش‌های شـدید ترکیباتی تولید و فرآیندهایی فعـال مـی‌شـوند کـه علیـرغم افزایش وزن مخصوص برگ بـه کـاهش غلظـت کلروفیـل نسبت به شاهد می‌انجامد. کـاهش سـنتز کمـپلکس اصـلی رنگدانه کلروفیل، تشدید فعالیت آنـزیم‌هـای کلـروفیلاز و پراکسیداز، تولید ترکیبات فنلی، افزایش رادیکال‌های فعـال اکسیژن و آسیب رساندن به غشاء کلروپلاست و اختلال در جذب نیتروژن از خاک به عنوان مهم‌تـرین عوامـل کاهنـده غلظت کلروفیل در تنش‌های شدید شـناخته شـده‌انـد (٣٥، ٣٦).

گزارش شده اسـت کمبـود آب غلظـت کلروفیـل b را بیش از کلروفیل a کاهش می‌دهد بنابراین منجر به افـزایش نسبت کلروفیل a به b می‌گـردد (١٠). در آزمـایش حاضـر نیز با افزایش کمبود آب نسبت کلروفیل a به b افزایش پیدا نمود و مشابه نتیجه‌ای است که در بررسی تاثیر کمبـود آب روی گندم حاصل گردید (٢).

در شرایط کمبود آب پتانسیل آب خاک کاهش می‌یابد. به‌طور معمول در این شرایط گیاهان برای ادامـه جـذب بـه تنظیم اسمزی روی می‌آورند که برای تحقق آن مجموعه‌ای از ترکیبات اسمزی نظیر کربوهیدرات‌های محلول، پـرولین و یون‌های غیرآلی در سـلول‌هـا تجمـع مـی‌یابـد (٢٣). بـا افزایش کمبـود آب بـر مقـدار کربوهیـدرات‌هـای محلـول افزوده شد. افزایش قندهای محلول در پاسخ به وقوع تـنش کمبود آب مـی‌توانـد بـا افـزایش فعالیـت آنـزیم آمـیلاز و هیدرولیز نشاسته به قندهای ساده و کند شدن انتقال قنـدها از برگ به سایر مراکز رشد گیاه مرتبط باشـد (٣٩). در هـر صورت افزایش قندهای محلول با مقاومت بـه خشـکی در گیاهان مرتبط اسـت زیـرا از یـک‌سـو بـا کـاهش پتانسـیل اسمزی سلول بـه تـداوم جـذب آب و حفـظ تورژسـانس کمک می‌کند و از سویی دیگر با تشکیل پیوند هیدروژنی با دنباله‌های قطبی و پلی‌پپتیدها و گروه‌های فسـفات لیپیـد از پروتئین‌ها و غشاهای سلولی حفاظت می‌کنند (١٤).

افـزایش تـنش کمبـود آب بـا افـزایش در مقـدار کاراتنوئیدها و آنتوسیانین‌هـا همـراه شـد. نتیجـه‌ای کـه بـا یافته‌های بدسـت آمـده در گنـدم مطابقـت داشـت (٧). در بررسی روی بابونه نشان داده شد که با افزایش کمبـود آب از میـزان کلروفیـل کاسـته شـد و در مقابـل بـر مقـدار کاروتنوئیدهای برگ افزوده گردید (١). هم راستا بـا نتیجـه

آزمایش حاضر تحقیقاتی نیز به افزایش مقدار آنتوسیانین در شرایط تنش اشاره کرده‌اند (۳۹). افزایش کاروتنوئیدها و آنتوسیانین‌ها در گیاهان تحت تنش به واسطه نقش حفاظتی این رنگیزه‌ها است که باعث محافظت کلروفیل در برابر اکسیداسیون نوری می‌شوند (۱۷).

به‌طور کلی از نتایج آزمایش حاضر چنین می‌توان استنباط نمود که گیاه دارویی زوفا تنش‌های ملایم را با حفظ رشد ریشه، رشد اندام هوایی و غلظت رنگیزه‌های کلروفیلی در سطحی معادل با شرایط بدون تنش تحمل می‌نماید. از طرفی دیگر، اگرچه وارد آمدن تنش متوسط تا شدید کمبود آب به گیاه منجر به کاهش بیشتر شاخص‌های رشد و تولید گردید ولی بکارگیری مکانیزم‌های تحمل به خشکی نظیر افزایش نسبت ریشه به اندام هوایی، محتوای قندهای محلول، آنتوسیانین‌ها و کاروتنوئیدها از سوی گیاه نشان از توان تطابق زوفا با شرایط کمبود آب می‌باشد.

منابع

۱. آرزمجو، ا.، حیدری، م. قنبری، ا. سیاه سر و احمدیان، ب. ۱۳۸۹. تأثیر سه نوع کود بر درصد اسانس، رنگدانه‌های فتوسنتزی و تنظیم کننده‌های اسمزی در بابونه تحت تنش خشکی. تنش‌های محیطی در علوم زراعی، ۳(۱): ۳۳-۲۳.

۲. احمدی، ع.، و سی‌وسه مرده، ع. ۱۳۸۳. اثر تنش خشکی بر کربوهیدرات‌های محلول، کلروفیل و پرولین در چهار رقم گندم سازگار با شرایط متفاوت اقلیمی ایران. علوم کشاورزی ایران، ۳۵(۳): ۷۶۳-۷۵۳.

۳. بابایی، ک.، امینی دهقی، م. مدرس ثانوی، س.ع. م. و جباری، ر. ۱۳۸۹. اثر تنش خشکی بر صفات مورفولوژیک، میزان پرولین و درصد تیمول در آویشن (*Thymus vulgaris* L.). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۶ (۲): ۲۵۱-۲۳۹.

٤. صفی‌خانی، ف.، حیدری شریف آباد، ح. سیادت، س. ع. شریفی عاشورآبادی، ا. سیدنژاد، س. م. و عباس‌زاده، ب. ۱۳۸٦. تأثیر تنش خشکی بر عملکرد و صفات مرفولوژیک گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۳(۲): ۱۹٤-۱۸۳.

٥. کوچکی، ع.، نصیری محلاتی، م. و عزیزی، گ. ۱۳۸۳. تأثیرتنش خشکی و برگزدایی بر برخی خصوصیات کمی آویشن شیرازی، کاکوتی، آویشن باغی و کلپوره. پژوهش‌های زراعی ایران، ۱(۲): ۱۰۵-۸۹.

٦. گنجعلی، ع.، و باقری، ع. ۱۳۸۹. ارزیابی خصوصیات مورفولوژیکی ریشه نخود (*Cicer arietinum* L.) در واکنش به تنش خشکی. پژوهش‌های حبوبات ایران، ۱(۲): ۱۱۰-۱۰۱.

7. Abdalla, M. M., and El-Khoshiban, N. H. 2007. The influence of water stress on growth, relative water content, photosynthetic pigments, some metabolic and hormonal contents of two *Triticum aestivum* cultivars. Journal of Applied Sciences Research, 3(12): 2062-2074.

8. Alkire, B. H., Simon, J. E. Palevitch, D. and Putievsky, E. 1993. Water management for Midwestern peppermint (*Mentha piperita* L.) growing in highly organic soil. Indiana, USA. Acta Horticulturae, 344: 544-556.

9. Arnon, D., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplast. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology, 24:1-15.

10. Ashraf, M. Y., Azmi, A. R. Khan, A. H. and Ala, S. A. 1994. Effect of water stress on total phenols, peroxide activity and chlorophyll content in wheat. Acta Physiologiae Plantarum, 16(3): 185-197.

11. Beltrano, J., and Ronco, M. G. 2008. Improved tolerance of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) to drought stress and rewatering by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus claroideum*: Effect on growth and cell membrane stability. Brazilian Journal of Plant Physiology, 20(1): 29-37.

12. Blume, A., and Ebercon, A. 1981. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. Crop Science, 27(1): 43-47.

13. Bohnert, K. H., Nelson, D. E. and Jensen, R. G. 1995. Adaptations to environment stresses. Plant Cell, 7: 1099-1111.

14. Crowe, J. H., Hoekstra, F. A. and Crowe, L. M. 1992. Anhydrobiosis. Annual Review of Plant Biology, 54: 579-599.

15. Dat, J. F., Lopez-Delgado, H. Foyer C. H. and Scott. I. M. 1998. Parallel changes in H_2O_2 and catalase during thermotolerance induced by salicylic acid or heat acclimation in mustard seedling. Plant physiology, 116: 1351-1357.

16. Foyer, C. H., Leadis, M. and Kunert, K. J. 1994. Photo oxidative stress in plants. Plant physiology, 92: 696-717.

17. Inze, D., and Montagu, M. V. 2000. Oxidative stress in plants. TJ International Ltd, Padstow, Cornawall. Great Britain. 321 pp.

18. Kameli, A., and Losel, D. M. 1996. Growth and sugar accumulation in durum wheat plants under water stress. New Phytologist, 132: 57-62.

19. Kazazi, H., Rezaei, K. Ghotb-Sharif, S. J. Emam-Djomeh, Z. and Yamini, Y. 2007. Supercriticial fluid extraction of flavors and fragrances from *Hyssopus officinalis* L. cultivated in Iran. Food Chemistry, 105: 805–811.

20. Kirnak, H., Kaya, C. Tas, I. and Higgs, D. 2001. The influence of water deficit on vegetative growth, physiology fruit yield and quality in eggplants. Journal of Plant Physiology, 27: 34-46.

21. Lecoeur, J., and Sinclair, T. R. 1996. Field pea transpiration and leaf growth in response to soil water deficits. Crop Science, 36: 331-335.

22. Ma, Q. SH., Niknam, R. and Turner, D. W. 2006. Response of osmotic adjustment and seed yield of *Brassica napus* and *Brassica jounce* to soil water deficit at different growth stages. Australian Journal of Agricultural Research, 57: 221-226.

23. Martin, M., Micell, F. Morgan, J. A. Scalet, M. and Zerbi, G. 1993. Synthesis of osmotically active substances in winter wheat leaves as related to drought resistance of different genotypes. Journal of Agronomy and Crop Science, 171: 176–184.

24. McCready, R. M., Guggolz, J. Silviera V. and Owens, H. S. 1950. Determination of starch and amylase in vegetables. Analytical Chemistry, 22: 1156-1158.

25. Munne, S., and Alegre, L. 1999. Role of dew on the recovery of water stressed *Melissa officinallis* L. Journal of Plant Physiology, 154(5-6):759-766.

26. Nautiyal, P. C., Rachaputi, N. R. and Joshi, Y. C. 2002. Moisture-deficit-induced changes in leaf-water content, leaf carbon exchange rate and biomass production in groundnut cultivars differing in specific leaf area. Field Crop Research, 74: 67-79.

27. Neumann, P. M., 1995. The role of cell wall adjustment in plant resistance to water deficits. Crop Science, 35: 1258-1266.

28. Nonami, H., Wu, Y. and Boyer, J. S. 1997. Decreased growth-induced water potential a primary cause of growth inhabitation at low water potentials. Plant Physiology, 114: 501-509.

29. Pessarkli, M., 1999. Handbook of plant and crop stress. 2nd Edition, Revised and Expanded, Marcel Dekker, Inc., New York, 1254 p.

30. Reddy, A. R., Chaitanya, K. V. and Vivekanandan, M. 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Journal of Plant Physiology, 161(11): 1189-1202.

31. Sairam, R. K., Deshmukh, P. S. and Saxena, D . C. 1998. Role of antioxidant systemes in wheat genotype tolerance to water stress. Biologia Plantarum, 41 (3): 387-394.

32. Schonfeld, M. A., Jhonson, R. Carver, B. F. and Mornhinweg, D. W. 1988. Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. Crop Science, 28: 526-531.

33. Shi, Q., Bao, Z. Zhu, Z. Ying, Q. and Qian, Q. 2006. Effects of different treatments of salicylic acid on heat tolerance, chlorophyll fluorescence, and antioxidant enzyme activity in seedlings of *Cucumis sativa* L. Plant Growth Regulation, 48:127–135.

34. Simon, J. E., Bubenheim, R. D. Joly, R. J. and Chrles, D. J. 1992. Water stress induced alternations in essential oil content and composition of sweet basil. Journal of Essential Oil Research, 4: 71-75.

35. Smirnoff, N., 1993. The role active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. New Phytologist, 125: 27-28.

36. Tambussi, E. A., Bartoli, C. G. Bettran, J. Guiamet, J. J. and Araus, J. C. 2000. Oxidative damage to thylakoids proteins in water stressed leaves of wheat (*Triticum aestivum* L.). Plant Physiology, 108: 398-404.

37. Wagner, G. J., 1979. Content and vacuole/ extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids and anthocyanin in protoplasts. Plant Physiology, 64: 88-93.

38. Yordanov, I., Velikova, V. and Tsonev, T. 2003. Plant Responses to drought and stress tolerance. Bulgarian Journal of Plant Physiology, 187-206.

39. Zhang, K. M., Yu, H. J. Shi, K. Zhou, Y. H. Yu, J. Q. and Xia, X. J. 2010. Photoprotective roles of anthocyanins in Begonia semperflorens. Plant Science, 179(3): 202-208.

Evaluation of Water Deficit on Morphological and Physiological Traits of Hyssop (*Hyssopus officinalis* L.)

Gh. Rassam[1*], A. Dadkhah[2] and A. Khoshnood Yazdi[3]

1. Assistant Professor, Complex Higher Education of Shirvan,Iran.
2. Associate Professor, Complex Higher Education of Shirvan,Iran.
3. Assistant Professor, Complex Higher Education of Shirvan,Iran.

***Corresponding Author:**

E-mail: rassammf@yahoo.com

Received: 2013/05/19
Accepted: 2014/04/13

Abstract

Water deficit stress is the main limiting factor of crop growth and yield in arid and semi-arid environments. Hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) is one of the most important medicinal plants that have numerous medical uses. In order to study the effect of drought stress on physiological and morphological traits of Hyssop, an experiment based on randomized completely design was conducted with four replications at Research Greenhouse of Agricultural College of Shirvan. Water deficit levels included 100% field capacity (control), 75% field capacity (mild stress), 50% field capacity (medium stress) and 25% field capacity (severe stress). Results showed that enhance water deficit (medium and severe stress) declined plant height, leaf weight, stem and shoot weight, root volume and weight. However, root dry weight to shoot weight ratio increased with increasing drought stress levels. Water deficit led increasing electrolyte leakage and decreasing relative water content (RWC). Mild stress increased chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll content, but enhance water deficit reduced chlorophyll pigments compared with control. Mechanisms of tolerant to Water deficit such as increasing soluble sugars, carotenoides and anthocyanins content were observed in plants under water deficit with increasing stress levels. In general, the experiment results showed relative tolerance of Hyssop to mild stress.

Keywords: Anthocyanins, Chlorophyll, Water deficit, Hyssop, Morphological traits, Soluble sugars.