

تأثیر تنش کمبود آب بر روابط آب، فتوسنتز و تجمع اسمولایتها در گیاه دارویی نوروبک

مجید دشتی^{۱*} - محمد کافی^۲ - حسین توکلی^۳ - مهدی میرزا^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۸/۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۳/۴

چکیده

به منظور مطالعه تأثیر تنش کمبود آب بر روابط آب و برخی خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه دارویی نوروبک (*Salvia leriifolia* Benth.)، یک آزمایش گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل آبیاری کامل (شاهد) در حداکثر ظرفیت نگهداری آب خاک (پتانسیل ماتریکی خاک -0.035 - مگاپاسکال)، تنش ملایم (-0.138 - مگاپاسکال)، تنش متوسط (-0.516 - مگاپاسکال) و تنش شدید (-1.92 - مگاپاسکال) بودند. نتایج نشان دادند محتوای نسبی آب برگ (LRWC) و شاخص پایداری غشاء (MSI) در تنش شدید به ترتیب به میزان $17/3$ و 21 درصد نسبت به شاهد کاهش یافتند. با افزایش شدت تنش میزان قندهای محلول تفاوت معنی داری ($P \leq 0.05$) را نشان دادند، به طوری که بیشترین میزان قندهای محلول به میزان هشت میلی گرم بر گرم وزن تر در تیمار تنش شدید مشاهده شد. LRWC همبستگی منفی و بسیار معنی داری ($r = -0.99^{***}$) با محتوای پرولین برگها داشت، لذا میزان پرولین برگها در پتانسیل -1.92 - مگاپاسکال به بیش از دو برابر شاهد افزایش یافت. نتایج نشان دادند با کاهش پتانسیل ماتریکی خاک به -1.92 - مگاپاسکال، سرعت فتوسنتز خالص، سرعت تعرق و هدایت روزنه‌ای به ترتیب به میزان 52 ، 62 و 75 درصد در مقایسه با شاهد کاهش و در مقابل کارایی لحظه‌ای مصرف آب و کارایی تبادل گازی به ترتیب به میزان 35 و 92 درصد افزایش نشان دادند. همبستگی مثبت و معنی دار بین هدایت روزنه‌ای و فتوسنتز خالص برگها، از یک مدل لجستیک ($r^2 = 0.975^{***}$) تبعیت نمود.

واژه‌های کلیدی: *Salvia leriifolia* Benth.، تنش آب، شاخص پایداری غشاء، پرولین، تبادلات گازی فتوسنتز

مقدمه

گیاهان سازگار به خشکی و دارای نیاز آبی کم، از اهمیت خاصی برخوردار است. گیاه نوروبک (*Salvia leriifolia* Benth) از جمله گونه‌های با ارزش و چند ساله خانواده نعنائیان (Lamiaceae) بوده که به دلیل بهره برداری غیر علمی و غیر اصولی در گروه گیاهان در معرض خطر انقراض است (۱۷). رویشگاههای این گونه منحصرأ در مراتع بیابانی با اقلیم خشک تا نیمه خشک سرد کشور ایران و بخشهایی از کشور افغانستان می باشد (۲۶). در سالهای اخیر ترکیبات شیمیایی و اثرات فارماکولوژی اندام‌های مختلف این گیاه در درمان بسیاری از بیماریها از جمله کاهش قند خون و معالجه کم خونی به اثبات رسیده است. همچنین این گیاه ضد التهاب، ضد تشنج و اضطراب بوده و به ویژه به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی شناسایی شده است (۱۶). علیرغم مطالعات گسترده‌ای که در مورد تأثیر تنش‌های محیطی و به ویژه کمبود آب بر رشد و عملکرد گیاهان زراعی انجام شده است، اطلاعات کمی در مورد واکنش‌های فیزیولوژیکی گیاهان دارویی به این تنش‌ها موجود است. تنش کمبود آب در گیاهان روابط آب گیاه را مختل کرده و به تبع آن فرآیندهای

محدودیت آب با کیفیت مناسب در سطح جهان، لزوم استفاده از عملیات کم آبیاری را به منظور ذخیره منابع آب اجتناب ناپذیر ساخته است. افزایش درجه حرارت کره زمین، توزیع نامنظم بارندگی، تشدید خشکسالی در مناطق خشک و نیمه خشک در اثر تغییرات جهانی اقلیم (۳۲) و نیز ترکیب این عوامل با مراحل رشد و نمو گیاه، بهره‌وری تولید محصولات کشاورزی را به طور قابل ملاحظه‌ای متأثر نموده است. با توجه به موقعیت جغرافیایی ایران و واقع شدن در مناطق خشک و نیمه خشک و نیز وجود بحران شدید آب، انتخاب

۱- دانشجوی سابق دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشگاه فردوسی مشهد و استادیار پژوهشی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی (*- نویسنده مسئول: Email: Majiddashti46@gmail.com)
۲- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳- دانشیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی
۴- دانشیار مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع- بخش تحقیقات گیاهان دارویی

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۰ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. بذور رسیده نوروک در تاریخ ۳۰ اردیبهشت ۱۳۹۰ از منطقه هلالی بجستان (۳۴° ۲۹' ۳۴" شمالی و ۵۸° ۰۷' ۳۰" شرقی) جمع آوری شدند. بذور پس از ضدعفونی با پودر وتابل ۶۰ درصد کربندازیم به میزان ۱/۵ در ۱۰۰۰، به تعداد ۲۵ عدد در ظروف پتری ۹۰ میلی متری بین دو لایه کاغذ صافی واتمن شماره ۱ و درجه حرارت مطلوب 15 ± 1 کشت شدند. پس از جوانه زنی، ۶ گیاهچه سالم با طول ریشه حداکثر ۱۰ تا ۱۵ میلی متر به گلدان های پلاستیکی به قطر دهانه ۱۴ سانتی متر، ارتفاع ۲۰ سانتی متر و گنجایش ۲۵۰۰ گرم خاک منتقل شدند. پس از استقرار کامل گیاهچه ها در مرحله چهار برگی، سه بوته سالم و یکنواخت نگهداری و بقیه حذف شدند. گلدان ها در شرایط گلخانه و درجه حرارت 25 ± 4 درجه سانتیگراد، رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد، شدت روشنایی ۵۰۰۰ لوکس و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند.

خاک مورد نیاز برای انجام آزمایش شامل مخلوطی از ماسه بادی، خاک مزرعه و خاکبرگ (۱:۲:۱) بود. به منظور تعیین منحنی رطوبتی خاک، نمونه هایی از مخلوط خاک مورد استفاده برداشت و سپس در معرض فشارهای ۰/۳، ۰/۱، ۰/۳، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ مگاپاسکال توسط دستگاه صفحات فشاری در آزمایشگاه مهندسی آبیاری دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد قرار گرفتند. بر این اساس رطوبت وزنی در پتانسیل های فوق، به ترتیب ۲۱/۷ (حداکثر ظرفیت نگهداری آب^۳، WHC)، ۱۹، ۱۴، ۱۰/۶، ۸ و ۶/۵ درصد تعیین شد.

تیمارهای آزمایش در چهار سطح شامل آبیاری کامل (شاهد، ۱۰۰ درصد WHC)، تنش ملایم (۷۵ درصد WHC)، تنش متوسط (۵۰ درصد WHC) و تنش شدید (۲۵ درصد WHC) بودند. سطوح مختلف تنش رطوبتی به دو دسته تقسیم شدند. دسته اول (تیمارهای تنش دائم یا کم آبیاری^۴، کد تیمار D) به طور ثابت در سطوح مختلف تنش نگه داشته شده و در دسته دیگر (تیمارهای باز یافت^۵، کد تیمار R) پس از تخلیه رطوبت خاک و رسیدن به پتانسیل های ماتریکی مورد نظر، تا حداکثر ظرفیت نگهداری آب، آبیاری شدند. با استفاده از معادله حاصل از منحنی رطوبت خاک (معادله ۱) و داشتن درصد رطوبت وزنی خاک، پتانسیل آب خاک در هر یک از سطوح تنش تعیین شد (جدول ۱)

فیزیولوژیکی و در نهایت تولید گیاه را به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد. محتوای نسبی آب برگ^۱ (LRWC) شاخص مهمی از وضعیت آب گیاه بوده و بیانگر جذب آب توسط ریشه ها و نیز تلفات آب از طریق تعرق است. محتوای نسبی آب برگ و شاخص پایداری غشاء سلولی^۲ (MSI) به عنوان شاخص های مهم تفکیک ارقام و نیز گزینش ژنوتیپ های مختلف گندم (*Triticum aestivum*) (۱۴) معرفی شده اند. تحقیقات مختلف نشان داده است که تنش کمبود آب باعث کاهش قابل ملاحظه پتانسیل آب برگ و به تبع آن LRWC، سرعت تعرق و نیز افزایش درجه حرارت برگ در گیاه گندم شد (۲۹ و ۳۳). راداسی و همکاران (۲۴) نشان دادند که با کاهش ظرفیت آب خاک به ۳۰ درصد وزنی، LRWC در گیاه ریحان به میزان ۲۰ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت.

تنش خشکی پارامترهای تبادلات گازی فتوسنتز در گیاهان زراعی را به دلیل کاهش سطح برگ، پیری زودرس برگ ها، اکسیداسیون چربیهای کلروپلاست، تغییر در ساختار رنگدانه ها و پروتئین ها به شدت مختل می کند (۲۱). فلورسانس کلروفیل نیز به عنوان یک تکنیک عمومی برای تشخیص سریع تغییرات فتوسنتز و نیز ارزیابی روابط بین فیزیولوژی فتوسنتز با تنش های خشکی و یخ زدگی مورد استفاده قرار می گیرد (۱۳). کاهش فعالیت فتوسنتزی در شرایط تنش خشکی به علت مکانیسم های روزنه ای و غیر روزنه ای به اثبات رسیده است (۷ و ۳۳).

در شرایط تنش خشکی، آماس برگها از طریق تنظیم اسمزی و در پاسخ به تجمع پرولین، کربوهیدراتهای محلول، گلاسین بتائین و سایر ترکیبات در سیتوپلاسم حفظ می شود. پرولین و قندهای محلول مهمترین اسمولایتهایی هستند که در شرایط تنش در گیاهان تجمع یافته و لذا اهمیت قابل ملاحظه ای در تحمل به تنش دارند. نتایج تحقیقات روی گیاه نوروک (۴) و مرزه (*Satureja hortensis* L.) (۱) نشان دادند که با کاهش پتانسیل آب خاک، میزان پرولین به طور معنی داری در این گیاهان افزایش یافت. ترحمی و همکاران (۲) گزارش کردند که میزان قندهای محلول در برگ های گیاه نوروک با کاهش پتانسیل آب خاک به ۸- بار به طور قابل ملاحظه ای افزایش یافت. در گزارشات دیگر افزایش قابل ملاحظه پرولین و قندهای محلول در گیاهان بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) (۳) و ریحان (*Ocimum basilicum* L.) (۱۸) نیز در شرایط تنش خشکی گزارش شده است. این تحقیق با هدف تأثیر سطوح مختلف پتانسیل ماتریکی آب خاک بر روابط آب، تبادلات گازی فتوسنتز و تجمع اسمولایتهای و ارزیابی پاسخ های گیاه دارویی نوروک انجام گرفت.

3- Water Holding Capacity

4- Deficit Irrigation Treatments

5- Recovery Treatments

1- Leaf Relative Water Content

2- Membrane Stability Index

جدول ۱- مقادیر پتانسیل ماتریکی و محتوای آب خاک در سطوح مختلف تنش آب

محتوای آب خاک (%)	پتانسیل ماتریکی خاک (MPa)	کد تیمار	WHC (%)	سطوح تنش
۲۲/۰	-۰/۰۳۵	۱۰۰-R	۱۰۰	شاهد
۱۶/۵	-۰/۱۳۸	۷۵ D,R	۷۵	ملایم
۱۱/۰	-۰/۵۱۶	۵۰ D,R	۵۰	متوسط
۵/۵	-۱/۹۲	۲۵ D,R	۲۵	شدید

پوند بر اینچ مربع به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت و پس از طی این مدت و سرد شدن نمونه ها، هدایت الکتریکی آنها (EC_2) مشابهاً اندازه گیری و MSI بر اساس معادله ۳ محاسبه شد.

$$LRWC = [(FW - DW) / (TW - DW)] \times 100 \quad (2)$$

$$MSI = [1 - (EC_1 / EC_2)] \times 100 \quad (3)$$

استخراج و سنجش پرولین آزاد به روش بیس و همکاران (۱۰) و میزان قندهای محلول برگ با استفاده از روش فنول سولفوریک اسید (۱۱) و استاندارد گلوکز تعیین شد. پارامترهای تبادلات گازی فتوسنتز بین ساعات ۹/۳۰ تا ۱۱/۳۰ (برای جلوگیری از درجه حرارت بالای ظهر و کمبود فشار بخار هوا) روی دو برگ جوان کاملاً توسعه یافته و در معرض نور خورشید از هر گیاه اندازه گیری شد. فتوسنتز خالص یا سرعت اسیمیلسیون خالص دی اکسید کربن^۱ (ACO_2)، هدایت روزنه ای بخار آب^۲ (g_s)، سرعت تعرق^۳ (E)، غلظت دی اکسید کربن زیر روزنه^۴ (C_i)، درجه حرارت برگ، کارایی لحظه ای مصرف آب^۵ (ACO_2/E) و کارایی لحظه ای تبادل گاز^۶ (ACO_2/g_s) با استفاده از دستگاه اندازه گیری فتوسنتز قابل حمل با سیستم باز (مدل LCA-4، کمپانی AD^۷ - انگلستان) مجهز به اتاقک برگ^۸ (۶/۲۵) سانتی متر مربع) در شدت نور ثابت ۹۰۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه به روش توصیف شده پرز و همکاران (۲۳) انجام گرفت.

تغییرات فلورسانس کلروفیل a نیز در پایان آزمایش توسط دستگاه فلورومتر^۹ (OSI-F1) و با اندازه گیری بخش کناری جوانترین برگ کاملاً توسعه یافته (با فاصله از رگبرگ میانی) اندازه گیری شد. پارامترهای اندازه گیری شده توسط دستگاه شامل: F_s (فلورسانس اولیه برگ خو گرفته به روشی)، F'_m (بیشینه فلورسانس برگ خو

$$y = 7/1534 e^{-0/239x} \quad (1)$$

در این معادله y: پتانسیل ماتریکی آب خاک (مگاپاسکال)

x: رطوبت وزنی خاک (درصد) e: پایه لگاریتم نپری

تیمارهای تنش کمبود آب، یک ماه پس از انتقال گیاهچه ها (مرحله ۶ برگی) اعمال گردید. اندازه گیری کلیه صفات مورد مطالعه پس از گذشت ۷۵ روز از شروع اعمال تنش انجام شد.

در طول دوره رشد کلیه گلدان ها هر روز با ترازوی حساس (دقت ۱ گرم) توزین و در تیمارهای شاهد و تنش ثابت، هر روز و در سایر تیمارها در صورت نیاز آبیاری انجام می شدند. به منظور جلوگیری از تبخیر آب، سطح خاک با لایه ای به ارتفاع یک سانتی متر از ساچمه های پلی وینیل کلراید (ماده اولیه تهیه پلاستیک) پوشانده شد، با وجود این از ۷ گلدان شاهد (معادل با تعداد تیمارها) بدون گیاه به منظور تخمین وزن گیاه در طول دوره رشد استفاده شد. محتوای نسبی آب برگ به روش اسمارت و بینگهام (۳۰) انجام گردید. برای این منظور یک تا دو برگ کاملاً توسعه یافته از هر واحد آزمایشی قطع و پس از گرفتن حداقل پنج دیسک مدور به مساحت تقریباً یک سانتی متر مربع، بلا فاصله وزن تر (FW) آنها با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم گرفته شد. نمونه ها سپس در ظروف کوچک محتوی آب مقطر کاملاً غوطه ور شده و در شرایط تاریکی به مدت ۲۴ ساعت در حرارت چهار درجه سانتیگراد قرار گرفتند. پس از طی این مدت با خشک کردن آب اضافی روی برگ ها، وزن آماس (TW) آنها اندازه گیری شد. در پایان به منظور اندازه گیری وزن خشک (DW)، نمونه ها در حرارت ۷۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت در داخل آون قرار داده شدند. درصد LRWC با استفاده از معادله ۲ محاسبه شد.

به منظور اندازه گیری شاخص پایداری غشاء سلولی (MSI) دو نمونه ۱۰۰ میلی گرمی از هر واحد آزمایشی گرفته و هر نمونه به لوله های آزمایش محتوی ۱۰ میلی لیتر آب مقطر منتقل شدند (۲۸). اولین مجموعه لوله های آزمایش به حمام بن ماری با حرارت ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه منتقل شدند و سپس هدایت الکتریکی محلول (EC_1) با دستگاه هدایت سنج (GENWAY 4510) تعیین شد. لوله آزمایش دیگر در داخل اتوکلاو و فشار ۱/۵

- 1- Net CO₂ assimilation rate
- 2- Stomatal conductance to water vapour
- 3- Transpiration rate
- 4- Intercellular CO₂ concentration
- 5- Intrinsic water use efficiency (WUEi)
- 6- Intrinsic gas-exchange efficiency (GEEi)
- 7- Analytical Development Company
- 8- Broad leaf chamber
- 9- Portable chlorophyll fluorometer

کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II (F'_v/F'_m) در روشنایی
نسبت فلورسانس متغیر (F'_v) به فلورسانس حداکثر (F'_m) کلروفیل a تفاوت معنی داری بین تیمارهای کمبود آب نشان ندادند، اما این نسبت در تیمار شاهد کمتر از تیمار تنش ملایم بود. با افزایش تخلیه رطوبت خاک تا ۱/۹۲- مگاپاسکال این شاخص به تدریج کاهش یافت. با وجود این پتانسیل های ۰/۵۱۶- و ۱/۹۲- مگاپاسکال در تیمارهای بازیافت، منجر به بهبود عملکرد کوانتومی فلورسانس کلروفیل a در مقایسه با تیمارهای تنش ثابت شد اما این تفاوت از نظر آماری معنی دار نبود (جدول ۳).

پارامترهای تبادلات گازی فتوسنتز

میزان فتوسنتز خالص، تعرق، هدایت روزنه ای، غلظت دی اکسید کربن زیر روزنه و درجه حرارت برگ در پاسخ به تیمارهای مختلف تنش آب به طور معنی داری ($P \leq 0.001$) تحت تأثیر قرار گرفتند. جدول ۳ نشان می دهد که پارامترهای فوق در تنش ملایم رطوبتی اختلاف معنی داری با شاهد نداشتند. کاهش بیشتر رطوبت خاک به کمتر از ۱/۳۸- مگاپاسکال، منجر به کاهش معنی دار هدایت روزنه ای و به تبع آن کاهش تعرق و در نهایت کاهش فتوسنتز خالص گردید. غلظت دی اکسید کربن زیر روزنه بین سطوح مختلف تنش تفاوت معنی داری با شاهد نداشتند، با وجود این بیشترین و کمترین C_i در تیمارهای تنش ملایم و شدید مشاهده شد. با کاهش پتانسیل آب خاک به ۱/۹۲- مگاپاسکال، فتوسنتز خالص، تعرق و هدایت روزنه ای به ترتیب به میزان ۵۲، ۶۲ و ۷۵ درصد در مقایسه با شاهد کاهش یافتند. در تأیید این نتایج، همبستگی مثبت و معنی داری بین هدایت روزنه ای با میزان فتوسنتز خالص ($r = 0.93^{***}$) و تعرق ($r = 0.99^{***}$) (شکل ۱- ج) مشاهده شد. نتایج همچنین نشان دادند که درجه حرارت برگ در تیمارهای تنش ملایم افزایش معنی داری نسبت به شاهد نداشت، اما در تنش های شدید ۲۵R و ۲۵D به ترتیب به میزان ۴/۱ و ۴/۴ درجه حرارت سانتیگراد در مقایسه با شاهد افزایش یافت (جدول ۳).

کارایی لحظه ای مصرف آب (WUE_i) تا پتانسیل ماتریکی ۰/۵۱۶- مگاپاسکال در تیمارهای بازیافت تحت تأثیر قرار نگرفت، اما اعمال تنش ثابت در پتانسیل مشابه باعث شد تا این شاخص به میزان ۶۰ درصد نسبت به شاهد افزایش یابد. با کاهش پتانسیل ماتریکی به ۱/۹۲- مگاپاسکال این شاخص در تیمارهای ۲۵R و ۲۵D به ترتیب به میزان ۳۰ و ۳۵ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت. کارایی لحظه ای تبادل گاز (GEE_i) نیز با کاهش پتانسیل آب خاک به طور معنی داری افزایش یافت به طوری که بالاترین مقدار GEE_i به ترتیب به میزان ۲۷۴ و ۲۹۸ میکرو مول دی اکسید کربن در هر مول آب در تیمارهای ۲۵R و ۲۵D مشاهده شد (جدول ۳).

گرفته به نور) و (F'_v/F'_m) کارایی کوانتومی مراکز واکنش باز فتوسیستم II، Φ_{PSII} بودند. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS 9.1.3 و میانگین داده ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح آماری ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج

وضعیت آب گیاه و نفوذ پذیری غشاء

محتوای نسبی آب برگ و شاخص پایداری غشاء به ترتیب به عنوان شاخص های آبکشیدگی و نفوذپذیری غشاء در ارزیابی خسارت سلولی مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تخلیه رطوبت خاک تأثیر معنی داری بر کاهش پایداری غشاء سلولی (MSI) داشت. کاهش پتانسیل آب خاک به ۱/۹۲- مگاپاسکال، باعث شد تا MSI به ترتیب به میزان ۱۲/۷ و ۱۷/۳ درصد در تیمارهای ۲۵R و ۲۵D در مقایسه با شاهد کاهش یابد (جدول ۲). محتوای نسبی آب برگ (LRWC) نیز بین سطوح مختلف تنش تفاوت معنی داری را نشان دادند. فراهمی آب در حداکثر ظرفیت نگهداری آب (شاهد) منجر به کاهش LRWC و MSI در مقایسه با تیمارهای تنش ملایم گردید اما این تفاوت از نظر آماری معنی دار نبود. با تخلیه بیشتر رطوبت خاک هر دو شاخص به طور معنی داری کاهش یافتند. همچنین بین پتانسیل های ماتریکی ۰/۱۳۸- و ۰/۵۱۶- مگاپاسکال در تیمارهای بازیافت تفاوت معنی داری مشاهده نشد. LRWC در پتانسیل آب خاک ۱/۹۲- مگاپاسکال (۲۵D) به میزان ۲۱ درصد در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافت (جدول ۲).

میزان قندهای محلول و پرولین

تیمارهای تنش کمبود آب منجر به افزایش میزان قندهای محلول برگ شد اما این افزایش تنها بین پتانسیل ماتریکی ۱/۹۲- مگاپاسکال با شاهد معنی دار ($P \leq 0.05$) بود. علاوه بر این میزان قندهای محلول تحت تأثیر تیمارهای تنش های ملایم تا شدید قرار نگرفتند. بیشترین میزان قندهای محلول به میزان هشت میلی گرم بر گرم وزن تر در تیمار تنش شدید مشاهده شد.

مقدار پرولین آزاد برگ بین تیمارهای مختلف تنش تفاوت بسیار معنی داری را نشان داد، اما این تفاوت در گیاهانی که در طول دوره رشد به طور ثابت در معرض تنش قرار داشتند مشهودتر بود. تنش شدید در کل دوره باعث شد تا میزان پرولین به بیش از دو برابر گیاهان شاهد افزایش یابد. با وجود این در تیمار بازیافت علیرغم کاهش پتانسیل آب خاک به ۰/۵۱۶- مگاپاسکال، تغییر معنی داری در محتوای پرولین برگ در مقایسه با شاهد ایجاد نشد (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین برخی شاخص های فیزیولوژیکی گیاه نوروژک در پاسخ به تیمارهای مختلف تنش کمبود آب

تیمارهای کمبود آب				تیمارهای بازیافت				شاهد
LSD (+/۰۵)	تنش شدید	تنش متوسط	تنش ملایم	تنش شدید	تنش متوسط	تنش ملایم		
۲/۷۶	۷۲/۷	۸۱/۹	۹۱/۱	۷۶/۷	۸۹/۸	۹۱/۲	۸۸/۹	شاخص پایداری غشاء (درصد)
۳/۷۴	۶۲/۳	۷۲/۳	۸۲/۳	۶۷/۸	۷۹/۵	۸۲/۶	۷۹/۷	محتوای نسبی آب برگ (درصد)
۱۱۴	۱۰۲۳	۶۹۱	۴۴۹	۹۱۴	۵۳۰	۴۴۱	۴۹۷	پروکلین (n mol gfw ⁻¹)
۱/۱	۸/۲	۷/۸	۷/۵	۸/۰	۷/۸	۷/۲	۶/۸	قندهای محلول (mg gFW ⁻¹)

جدول ۳- میانگین کارائی فتوشیمیایی فتوسیستم II (F_v/F_m) و پارامترهای تبادلات گازی فتوسنتز در گیاه نوروژک در پاسخ به تیمارهای مختلف تنش کمبود آب

تیمارهای کمبود آب				تیمارهای بازیافت				شاهد
LSD (+/۰۵)	تنش شدید	تنش متوسط	تنش ملایم	تنش شدید	تنش متوسط	تنش ملایم		
۰/۰۵۹	۰/۶۶۶	۰/۶۸۰	۰/۷۱۷	۰/۶۷۲	۰/۷۰۵	۰/۷۱۲	۰/۶۸۶	کارائی فتوشیمیایی فتوسیستم II
۲/۱	۷/۰	۱۲/۸	۱۶/۴	۷/۸	۱۴/۵	۱۵/۸	۱۴/۶	فتوسنتز خالص (μmol.m ⁻² .s ⁻¹)
۰/۶۳	۱/۱	۱/۶	۳/۱	۱/۳	۲/۴	۳/۲	۲/۹	سرعت تعرق (mmol.m ⁻² .s ⁻¹)
۲۸/۵	۲۴	۴۶/۷	۱۰۸/۷	۲۹/۳	۷۴/۷	۱۱۷	۹۷/۳	هدایت روزنه ای (mmol.m ⁻² .s ⁻¹)
۲۳/۸	۲۹۶	۳۰۸	۳۲۲	۲۹۶	۳۲۲	۳۲۶	۳۱۹	دی اکسید کربن زیر روزنه (μmol CO ₂ .mol ⁻¹)
۱/۷	۳۶/۴	۳۴/۸	۳۲/۴	۳۵/۷	۳۳/۱	۳۲/۱	۳۱/۶	درجه حرارت برگ (°C)
۱/۴	۶/۷	۸/۰	۵/۳	۶/۵	۶/۲	۴/۹	۵/۰	کارایی لحظه ای مصرف آب (μmol CO ₂ .mmol H ₂ O)
۷۵	۲۹۸	۲۹۰	۱۵۱	۲۷۴	۲۰۵	۱۳۷	۱۵۳	کارایی تبادل گاز (μmol CO ₂ .mol H ₂ O)

بحث

میزان فتوسنتز خالص ($r = 0/97^{***}$)، تعرق ($r = 0/96^{***}$) و هدایت روزنه ای ($r = 0/95^{***}$) و نیز همبستگی منفی و معنی دار این شاخص با درجه حرارت برگ ($r = -0/95^{***}$) و کارایی تبادل گاز ($r = -0/91^{**}$) (شکل ۱- الف) بیانگر این واقعیت است که تنش کمبود آب با کاهش LRWC و به تبع آن کاهش آماس سلول های محافظ روزنه منجر به افزایش مقاومت روزنه ای، کاهش تعرق، افزایش درجه حرارت برگ و در نهایت کاهش فتوسنتز خالص شد. این نتایج با یافته های مارکوس و سلسنت (۲۰) مبنی بر کاهش پارامترهای تبادلات گازی فتوسنتز در اثر کاهش محتوای نسبی آب برگ مطابقت دارد.

بالا بودن مقادیر LRWC و MSI در سطوح مختلف تنش کمبود آب در گیاه نوروژک بیانگر قدرت بالای گیاه در حفظ آب سلول ها و

تنش کمبود آب تأثیر معنی داری بر اکثر صفات مورد مطالعه در مقایسه با شاهد داشت. با وجود این شاخص های MSI و LRWC تحت تأثیر تنش های رطوبتی ملایم تا متوسط در تیمارهای بازیافت قرار نگرفتند. این نتایج با یافته های کیرناک و همکاران (۱۹) روی بادنجان (*Solanum melongena* L.) و معصومی (۵) روی کوشیا (*Kochia scoparia*) مطابقت دارد.

نتایج این تحقیق نشان دادند که LRWC همبستگی مثبت و بسیار معنی داری ($r = 0/99^{***}$) با MSI داشته و هر دو شاخص فوق پارامترهای تبادل گازی فتوسنتز را به طور معنی داری تحت تأثیر قرار دادند. همبستگی مثبت و معنی دار شاخص LRWC با

تنش شدید کمبود آب موجب کاهش هدایت روزنه ای و افزایش درجه حرارت برگ در گیاه نوروژک در مقایسه با تیمار شاهد شد. کاهش در هدایت روزنه ای در سطوح تنش شدید منجر به کاهش قابل ملاحظه فتوسنتز خالص شد، اما همچنانکه در شکل ۱-ج مشاهده می شود رابطه بین این دو صفت در سطوح پایین هدایت روزنه ای خطی بوده، اما با افزایش بیشتر هدایت روزنه ای، میزان فتوسنتز تقریباً ثابت ماند. لذا در این تحقیق رابطه بین این دو صفت از یک مدل لجستیک $[y = 15.54 / (1 + 7.377 \exp(-0.072x))]$ تبعیت نمود. روحی و همکاران (۲۷) نیز نشان دادند کاهش در هدایت روزنه ای در سطوح تنش شدید خشکی به موازات کاهش فتوسنتز بوده و رابطه غیر خطی بین این دو صفت وجود دارد. نتایج این تحقیق همچنین موافق با یافته های انجم و همکاران (۸)، پاریدا و داس (۲۲) و پرز و همکاران (۲۳) می باشد. کاهش هدایت روزنه ای در اثر بسته شدن روزنه ها و در نتیجه کاهش تعرق منجر به افزایش درجه حرارت سطح برگ گردید نتایج مشابهی از افزایش درجه حرارت برگ در اثر تنش خشکی در بادنجان (۱۹) گزارش شده است.

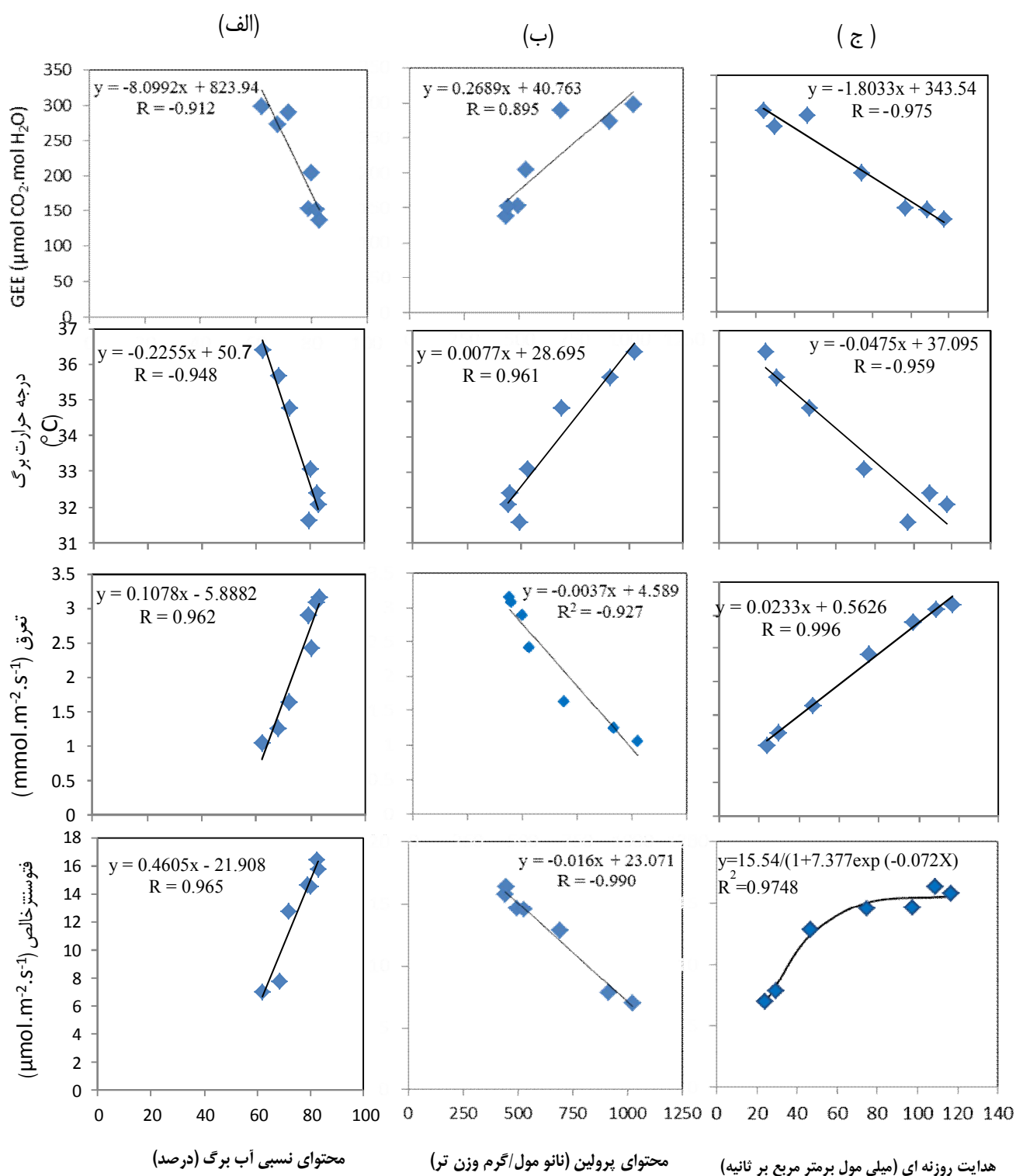
نتایج این تحقیق نشان داد که تیمارهای تنش متوسط کمبود آب منجر به افزایش معنی دار WUE_i در مقایسه با شاهد شدند، اما در شرایط تنش شدید آب، این افزایش به مراتب کمتر بود. با وجود این به دلیل افت شدید فتوسنتز خالص در پتانسیل $-1/92$ مگا پاسکال (۲۵D)، میزان WUE_i به طور معنی دار کمتر از پتانسیل $-0/516$ مگا پاسکال (۵۰D) گردید (جدول ۳). ژانگ و همکاران (۳۴) نیز نتیجه گرفتند که تنش کمبود آب تا ۴۰ درصد ظرفیت زراعی باعث افزایش WUE_i در دو واریته گندم (*Triticum aestivum*) شد. افزایش WUE_i در شرایط تنش کمبود آب ممکن است به دلیل اثر بیشتر کمبود آب بر هدایت روزنه ای در مقایسه با تثبیت کربن باشد (۹ و ۲۳). کارآیی تبادل گاز نیز در تیمارهای تنش شدید (۲۵D) و به ترتیب به میزان ۹۲ و ۸۰ درصد در مقایسه با شاهد افزایش نشان دادند. در تأیید نتایج فوق همبستگی منفی و معنی دار بین هدایت روزنه ای با کارآیی لحظه ای مصرف آب ($r = -0/80^{**}$) و کارآیی تبادل گاز ($r = -0/96^{***}$) مشاهده شد (شکل ۱-ج). این نتایج با یافته های پرز و همکاران (۲۳) مبنی بر افزایش GEE_i در شرایط تنش خشکی مطابقت دارد.

جلوگیری از آبکشیدگی در مواجهه با تنش آب است. نتایج این تحقیق نشان داد محتوای آب خاک در حداکثر ظرفیت نگهداری آب منجر به کاهش هر دو شاخص فوق در مقایسه با تنش ملایم گردید لذا علیرغم اینکه این تفاوت معنی دار نبود ولی به نظر می رسد سازگاری گیاه در رویشگاه های خشک و نیمه خشک، رشد گیاه را در حداکثر ظرفیت نگهداری آب به عنوان یک عامل تنش زا تحت تأثیر قرار دهد. گزارشات مبنی بر کاهش پتانسیل آب برگ، تخریب غشاء سلولی و افزایش نشت محتویات سلولی در اثر بالا بودن محتوای آب خاک ارائه شده است (۱۲ و ۲۵).

محتوای نسبی آب برگ همچنین همبستگی منفی و معنی داری ($r = -0/99^{***}$) با میزان پرولین نشان داد (شکل ۱-ب). تنش شدید خشکی از طریق کاهش LRWC در طول دوره رشد باعث شد تا میزان پرولین به بیش از دو برابر گیاهان شاهد افزایش یابد (جدول ۲). علاوه بر این محتوای پرولین برگ در سطوح مختلف تنش کمبود آب همبستگی منفی و معنی داری با میزان فتوسنتز خالص ($r = -0/99^{***}$)، تعرق ($r = -0/96^{***}$) (شکل ۱-ب)، هدایت روزنه ای ($r = -0/95^{***}$) و دی اکسید کربن زیر روزنه ($r = -0/95^{***}$) داشت. لایق خویدکی و همکاران (۴) نیز نشان دادند که با کاهش پتانسیل آب خاک از ۲- تا ۱۲- بار در گیاه نوروژک، میزان پرولین به طور معنی داری افزایش یافت. علیرغم افزایش معنی دار قند های محلول برگ در تیمار تنش شدید کمبود آب، با وجود این میزان قندهای محلول در تنش های ملایم تا شدید تحت تأثیر قرار نگرفتند (جدول ۲). لذا چنین به نظر می رسد که گیاه نوروژک علیرغم مواجهه با تنش، سطح قندهای محلول درون سلولی خود را ثابت نگه داشته و به عنوان یک مکانیسم مقابله با تنش از آنها استفاده نمی کند.

ترحمی و همکاران (۲) گزارش کردند که افزایش سطوح تنش خشکی از پتانسیل صفر تا ۸- بار باعث افزایش معنی دار میزان قندهای محلول در برگ های گیاه نوروژک شد. گزارشات متعددی مبنی بر تجزیه نشاسته و افزایش قندهای محلول به دلیل توقف رشد یا سنتز این ترکیبات از مسیرهای غیر فتوسنتزی در شرایط تنش کمبود آب ارائه شده است (۳، ۶ و ۳۱).

سطوح مختلف تنش خشکی تأثیر معنی داری بر کارآیی فتوشیمیایی فتوسنتز II نداشتند. به نظر می رسد علیرغم همبستگی مثبت و معنی دار LRWC با نسبت F'_v/F'_m ($r = 0/92^{**}$)، به دلیل بالا بودن LRWC در پتانسیل های منفی تر آب خاک، این نسبت تحت تأثیر قرار نگرفته است. با وجود این عدم همبستگی بین دو شاخص فوق توسط محققین زیادی مورد تأیید قرار گرفته است (۱۵ و ۲۰). مارکوس و سلس (۲۰) همچنین ثابت کردند که نسبت F_v/F_m در محتوای نسبی آب برگ بیشتر از ۵۰ درصد در گیاه *Setaria sphacelata* تحت تأثیر قرار نگرفته، اما با افزایش تنش خشکی به طور معنی داری کاهش یافت.



شکل ۱- روابط همبستگی بین محتوای نسبی آب برگ (الف)، محتوای پرولین (ب) و هدایت روزنه ای (ج) با پارامترهای تبادل گازی فتوسنتز در سطوح مختلف تنش کمبود آب

نتیجه گیری

ملایم تا شدید، میزان پرولین برگ ها به طور معنی داری افزایش یافت، لذا کاهش جزئی محتوای نسبی آب برگ و شاخص پایداری غشاء به میزان ۱۷ تا ۲۰ درصد در تنش شدید کمبود آب در مقایسه با شاهد بیانگر این واقعیت است که گیاه نوروزک با افزایش تجمع مواد سازگار کننده ای نظیر پرولین، نیروی نگه دارنده آب در برگ ها را افزایش داده و با ایجاد تنظیم اسمزی و به تبع آن حفظ آماس و کاهش خسارت غشاء سلولی، موجب افزایش تحمل به خشکی در گیاه می گردد.

نتایج این تحقیق نشان داد که رطوبت خاک در حداکثر ظرفیت نگهداری (شاهد) در مقایسه با تنش ملایم نه تنها باعث بهبود رشد گیاه نشد، بلکه منجر به کاهش معنی دار محتوای نسبی آب برگ، شاخص پایداری غشاء و نیز کاهش جزئی در پارامترهای تبادل گازی گردید. تنش کمبود آب تأثیری در کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II نداشت، اما پارامترهای تبادل گازی را به طور معنی داری تحت تأثیر قرار داد. علیرغم عدم تأثیر پذیری قندهای محلول در سطوح تنش

منابع

- ۱- باهر نیک، ز.، م. ب. رضایی، م. قربانلی، م. عسگری، و م. ک. عراقی. ۱۳۸۳. بررسی تغییرات متابولیسمی حاصل از تنش های خشکی در گیاه مرزه (*Satureja hortensis L.*). فصل نامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۳ (۲۷۵-۲۶۳).
- ۲- ترحمی، گ.، م. لاهوتی، و ف. عباسی. ۱۳۸۹. بررسی اثرات ناشی از تنش خشکی بر تغییرات قندهای محلول، میزان کلروفیل و پتاسیم در گیاه نوروزک (*Salvia leriifolia Benth.*). فصل نامه علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان. ۹(۲): ۷-۱.
- ۳- صفی خانی، ف.، ح. حیدری شریف آباد، س. ع. سیادت، الف. شریفی عاشورآبادی، س. م. سیدنژاد، و ب. عباس زاده. ۱۳۸۶. تأثیر تنش خشکی بر درصد و عملکرد اسانس و ویژگیهای فیزیولوژیک گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica L.*). فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۳(۱): ۸۸-۹۹.
- ۴- لایق خویدکی س.، م. لاهوتی، و ف. عباسی. ۱۳۸۹. بررسی مقایسه ای اثر تنش خشکی بر میزان تغییرات پرولین در گیاه نوروزک (*Salvia leriifolia Benth.*) در محیط کشت خاک و این ویترو. فصل نامه علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان. ۱۲(۱): ۱۱۷-۱۰۵.
- ۵- معصومی ع. ۱۳۸۹. اثر تنش خشکی بر پارامترهای مورفوفیزیولوژیک دو توده بومی کوشیا (*Kochia scoparia*) در شرایط مزرعه و گلخانه. پایان نامه دکتری رشته زراعت، گرایش فیزیولوژی گیاهان زراعی. دانشگاه فردوسی مشهد.
- ۶- نیاکان م.، و م. قربانلی. ۱۳۸۴. بررسی اثر تنش خشکی بر روی میزان قندهای محلول، پروتئین، پرولین، ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز گیاه سویا رقم گرگان ۳. نشریه علوم دانشگاه تربیت معلم. ۵: ۵۳۷-۵۴۹.
- 7- Ahmadi, A. A. 1998. Effect of post-anthesis water stress on yield regulating processes in wheat (*Triticum aestivum L.*). Ph.D. Thesis. University of London, Wye College, Wye, Ashford, U.K.
- 8- Anjum, S. A., L. C. Wang, M. Farooq, M. Hussain L. L. Xue, and C. M. Zou. 2011. Brassinolide application improves the drought tolerance in maize through modulation of enzymatic antioxidants and leaf gas exchange. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 197 (3): 177-185.
- 9- Anyia, A.O. and H. Herzog. 2004. Water-use efficiency, leaf area and leaf gas exchange of cowpeas under mid-season drought. *European Journal of Agronomy*, 20: 327-339.
- 10- Bates, L.S. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil*, 39: 205-207.
- 11- Buysse, J. and R. Merckx. 1993. An improved colorimetric method to quantify sugar content of plant tissue. *Journal of Experimental Botany*, 44:1627-1629.
- 12- Collaku, A. and S. A. Harrison. 2002. Losses in wheat due to waterlogging, *Crop Science*, 42: 444-450.
- 13- Ehlert, B. and D. K. Hinva. 2008. Chlorophyll fluorescence imaging accurately quantifies freezing damage and cold acclimation responses in Arabidopsis leaves, *Plant methods*, 2008 (4): 1-7.
- 14- Farooq, S. and F. Azam. 2006. The use of cell membrane stability (CMS) technique to screen for salt tolerant wheat varieties. *Journal of Plant Physiology*, 163: 629-637.
- 15- Grieu, P., C. Rubin, and A. Guckert. 1995. Effect of drought on photosynthesis in Trifolium repens: maintenance of photosystem II efficiency and of measured photosynthesis. *Plant Physiology and Biochemistry*, 33: 19-24.
- 16- Hosseinzadeh, H., H.R. Sadeghnia, M. Imenshahidi, and B. S. Fazly Bazzaz. 2009. Review of the pharmacological and toxicological effects of *Salvia leriifolia*. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 12(1):1-8.
- 17- Jalili, A., and Z. Jamzad. 1999. Red Data Book of Iran. Research Institute of Forest and Rangeland. No. 215.
- 18- Khalid, K.A., 2006. Influence of water stress on growth, essential oil, and chemical composition of herbs

- (*Ocimum* sp.). *International Agrophysics*, 20: 289-296.
- 19- Kirnak, H., C. Kaya, I. Tas, and D. Higgs. 2001. The influence of water deficit on vegetative growth, physiology, fruit yield and quality in eggplants. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 27(3-4), 34-46.
 - 20- Marques, da Silva J., and M. Celeste Arrabac. 2004. Photosynthesis in the water-stressed C4 grass *Setaria sphacelata* is mainly limited by stomata with both rapidly and slowly imposed water deficits. *Physiologia Plantarum*, 121: 409-420.
 - 21- Menconi, M., C. L. M. Sgherri, C. Pinzino, and F. Navari-Izzo. 1995. Activated oxygen production and detoxification in wheat plants subjected to a water deficit programme. *Journal of Experimental Botany*, 46: 1123-1130.
 - 22- Parida, A. K., and A. B. Das. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60: 324-349.
 - 23- Pe'rez-Pe'rez, J.G., J. M. Robles, J. C. Tovar, and P. Botía. 2009. Response to drought and salt stress of lemon 'Fino 49' under field conditions: Water relations, osmotic adjustment and gas exchange. *Scientia Horticulturae*, 122:83-90.
 - 24- Radacsi, P., K. Inotai, S. Sarosi, P. Czovek, J. Bernath, and E. Nemeth, E. 2010. Effect of water supply on the physiological characteristic and production of Basil (*Ocimum basilicum* L.). *European Journal of Horticultural Science*, 75: 193-197.
 - 25- Rawyler, A., S. Arpagaus, and R. Braendle. 2002. Impact of oxygen stress and energy availability on membrane stability of plant cells. *Annals of Botany*, 90:499-507.
 - 26- Rechinger, K. H. 1982 . *Flora Iranica*, No. 150 : Akademische Druk-U. Verlag sustalt Gratz. Page 439.
 - 27- Rouhi, V., R. Samsonb, R. Lemeurb, and P. Van Dammea. 2007. Photosynthetic gas exchange characteristics in three different almond species during drought stress and subsequent recovery. *Environmental and Experimental Botany*, 59: 117-129.
 - 28- Sairam, R. K., P. S. Deshmukh, and D. S. Shukla. 1997. Tolerance to drought and temperature stress in relation to increased antioxidant enzyme activity in wheat, *Journal of Agronomy and Crop Science*, 178 .171-177.
 - 29- Siddique, M. R. B, A. Hamid, and M. S. Islam. 2001. Drought stress effects on water relations of wheat. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 41: 35-39.
 - 30- Smart, R. E., and G. E. Bingham. 1974. Rapid estimates of relative water content. *Plant Physiology*, 53: 258-260.
 - 31- Trouverie, J., C. The'venot, J. P. Rocher, B. Sotta, and J. L. Prioul. 2003, The role of abscisic acid in the response of a specific vacuolar invertase to water stress in the adult maize leaf, *Journal of Experimental Botany*,54: 2177-2186.
 - 32- Wigley, T. M. L., and S. C. B. Raper. 2001. Interpretation of high projections for global mean warming. *Science*, 293:451-454.
 - 33- Zhang, B., W. Liu, S. X. Chang, and A. O. Anyia. 2010. Water-deficit and high temperature affected water use efficiency and arabinoxylan concentration in spring wheat. *Journal of Cereal Science*, 52: 263-269.