

بررسی اثرات تنفس خشکی بر رشد و خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه شوید (*Anethum graveolens* L.)

زهرا ستایش مهر^۱ - علی گنجعلی^۲

تاریخ درجات: ۹۰/۹/۱۲

تاریخ پذیر شر: ۹۱/۸/۲

چکیده

به منظور بررسی واکنش گیاه دارویی شوید به تنش خشکی در مرحله رشد رویشی آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. در این تحقیق صفات مورفوفیزیولوژیک گیاه شوید در شرایط آبکشت و در محیط تنش با پاتنسیل‌های اسمزی شامل: صفر (شاهد، $1/5$)، $-1/5$ ، $-2/5$ و $-3/5$ بار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آنالیز واریانس مشاهدات نشان داد که، تنش خشکی تاثیر معنی داری ($0.1 \leq P \leq 0.05$) بر ویژگی‌های ظاهری مانند طول ساقه، طول ریشه، سطح برگ و تعداد برگ داشت. مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که، با افزایش تنش خشکی کلیه صفات فوق کاهش یافته‌اند. همچنین تنش خشکی تاثیر معنی داری ($0.1 \leq P \leq 0.05$) بر میزان کلروفیل a و b، کاروتینوئید، پروتئین‌های محلول، ترکیبات فنلی و عناصر پتابسیم، فسفر و کلسیم بخش هوایی و ریشه داشت. همچنین تنش خشکی تاثیر معنی داری بر نسبت کلروفیل a/b داشت ($0.05 \leq P \leq 0.01$). مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که، با افزایش تنش، میزان کلروفیل، کاروتینوئید، پروتئین‌های محلول، غلظت عناصر پتابسیم، فسفر و کلسیم بافت و نسبت پتابسیم بخش هوایی به ریشه کاهش یافت، در حالی که میزان ترکیبات فنلی بخش هوایی و ریشه افزایش یافت. در این آزمایش نسبت طول ساقه به ریشه و نسبت پتابسیم بخش هوایی به ریشه تحت تاثیر تنش خشکی قرار نگرفتند ($0.1 \leq P \leq 0.05$). به طور کلی گیاه دارویی شوید به تنش خشکی توسط افزایش سطوح ترکیبات فنلی واکنش نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: صفات مورفولوژیکی، کلروفیل، پروتئین، ترکیبات فنلی

مقدمة

در میان فلور غنی ایران که بیش از ۷۵۰۰ گونه گیاهی را در بر می‌گیرد، تعداد زیادی از آنها را گیاهانی تشکیل می‌دهند که به دلایلی دارویی نامیده می‌شوند. با توجه به اثرات سوء داروهای شیمیایی و سنتزی، بشر از اواخر قرن بیستم رویکردی مثبت به سمت جایگزین کردن فرآورده‌های دارویی گیاهان به جای داروهای شیمیایی داشته است، به همین دلیل گیاهان دارویی از اهمیت اقتصادی بالای پرخور دارند (۵).

شوید با نام علمی (*Anethum graveolens* L.), از خانواده جعفری یا چتریان (Apiaceae) گیاهی یکساله دارای برگ‌های سبز روشن و پر مانند است. میوه‌های شوید به صورت دانه‌های ریز، خشک و پهن، به رنگ قهوه‌ای کمرنگ و دارای باله‌های بسیار ظرفی

۱- مریم گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه زابل
(Email: Setayeshmehr.zahra@yahoo.com) نویسنده مسئول:

-۲- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد

خشکی مطرح باشد (۱۴). بررسی‌ها نشان می‌دهد که تجزیه و هیدرولیز پروتئین‌های تیلاکوئیدی موجود در کلروپلاست در شرایط تنفس منبع با ارزشی برای اشکال قابل تحرک نیتروژن است (۲۸). تنفس خشکی جذب مواد غذایی بوسیله ریشه‌ها و انتقال این مواد به ساقه را کاهش می‌دهد که این کاهش به دلیل محدود شدن سرعت تعرق، آسیب رساندن به انتقال فعال و کاهش قابلیت نفوذ غشاء‌ای است. جذب مواد غذایی از محلول خاک با وضعیت آب خاک ارتباط دارد، به طوری که با کاهش رطوبت خاک جریان انتشاری مواد غذایی از خاک به سطح ریشه‌ها کاهش می‌یابد (۶). فاطمی و ایوانز (۱۶) با مطالعه تاثیر تنفس خشکی بر جذب مواد غذایی (سدیم، فسفر و پتاسیم) گزارش کردند که دلیل کاهش جذب مواد توسط ریشه کیاها در خاک خشک دسترسی کمتر گیاه به عنصر غذایی می‌باشد. با توجه به اهمیت دارویی و غذایی گیاه شوید، بررسی و شناخت مجموعه خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی موثر در بهبود تحمل به خشکی گیاه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. لذا آزمایش با هدف مطالعه خصوصیات مورفولوژیکی، تنیزرات محلول، ترکیبات فنلی و عناصر غذایی پتاسیم، فسفر و کلسیم در شرایط تنفس خشکی انجام شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثرات تنفس خشکی بر مرحله رویشی شوید، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامالاً تصادفی با سه تکرار جوانه‌زنی در سینی‌های پلاستیکی در محیط تاریک کشت شدند. گیاهچه‌ها در مرحله دو برگی به منظور ایجاد تطابق، به مدت ۲ الی ۳ روز در روشنایی نگاه داشته شدند. هر واحد آزمایشی در این مرحله از یک ظرف پلاستیکی به حجم ۱۰۰۰ میلی‌لیتر که حاوی محلول غذایی هوگلن^۱ بود، تشکیل شد. سطوح مختلف تنفس خشکی شامل صفر، ۱/۵، ۲، ۲/۵ و ۳- بار بوسیله پلی اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ مطابق روش میچل و کافمن (۲۹) تهیه و در هر یک از ظرف‌ها ایجاد شد. ۷ عدد گیاهچه تقریباً هم اندازه و سالم انتخاب و به ظرف‌های حاوی محلول غذایی و پلی اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ انتقال یافتند. ظروف از جنس پلی اتیلن (پلاستیک) انتخاب شدند که برای استقرار گیاهچه‌ها از حلقه‌های پلاستیکی و پنیه استفاده گردید. اکسیژن لازم برای تنفس ریشه‌ها از طریق پمپ‌های که بدین منظور طراحی شده

^۱- محلول هوگلن شامل ترکیبات $MgSO_4$, KNO_3 , $Ca(NO_3)_2$, $MnCl_2$, H_3BO_3 , $Fe-EDTA$, KH_2PO_4 و عناصر میکرو فاقد آهن (H_2Moo_4 , $ZnSO_4$, ۷ H_2O , $CuSO_4$, ۴ H_2O) می‌باشد.

گونه گیاهی و مرحله وقوع تنفس دارد (۴۴). دو پاسخ مهم گیاه به تنفس خشکی، کاهش سطح برگ و افزایش نسبت ریشه به ساقه^۱ است. در تنفس خشکی پاسخ برگ نسبت به ریشه و ساقه بیشتر است. قابلیت دسترسی به آب نقش مهمی در ساختار برگ دارد. کاهش تعداد و سطح برگ در شرایط تنفس خشکی، سبب کاهش ناحیه سطحی تعرق، افزایش جذب آب از خاک و در نهایت مقاومت گیاه در برابر تنفس می‌شود. کاهش سطح برگ می‌تواند ناشی از کاهش تقسیم سلولی و همچنین ریزش و پیری برگ باشد (۲۵) و افزایش نسبت ریشه به ساقه عمدها مربوط به کاهش بیشتر بیومس اندام هوایی نسبت به ریشه در شرایط تنفس خشکی است. سیستم ریشه‌ای در جذب آب اهمیت زیادی دارد. سیستم‌های ریشه‌ای عمیق و گستردۀ قادرند رطوبت را از بخش‌های زیرین خاک با کارایی بالاتر جذب نمایند. بنابراین توسعه سیستم ریشه‌ای، سبب افزایش کارایی جذب آب از خاک می‌شود. شواهد موجود حاکی از آن است که افزایش ABA در پتانسیل های پایین آب، اثرات متفاوتی بر رشد ریشه و اندام‌های هوایی دارد، به طوری که رشد اندام‌های هوایی را متوقف ساخته اما رشد ریشه تداوم می‌یابد (۱۴).

عوامل محدود کننده فتوسترن در تنفس خشکی در دو گروه عوامل محدود کننده روزنامه‌ای و غیر روزنامه‌ای قرار می‌گیرند. از عوامل محدود کننده غیر روزنامه‌ای می‌توان به کاهش و یا توقف سنتز رنگیزه‌های فتوسترنی از جمله کلروفیل‌ها و کاروتونوئیدها اشاره کرد (۳۳). به نظر می‌رسد که کاهش غلظت کلروفیل به دلیل اثر کلروفیلز، پراکسیداز و ترکیبات فنلی و در نتیجه تجزیه کلروفیل باشد (۴۰). کاهش محتوای کلروفیل^a و کاروتونوئیدها با افزایش تنفس خشکی در لوپیا و نیشکر گزارش شده است (۴۰ و ۴۵).

در گیاه تحت تنفس خشکی، گونه‌های واکنشگر اکسیژن (پراکسید هیدرولیز، سوپر اکسید و رادیکال هیدروکسیل) تجمع می‌یابند. گونه‌های اکسیژن از طریق پراکسیداسیون لیپیدها، تخریب پروتئین‌ها و ... ایجاد تنفس ثانویه اکسیداتیو کرده که منجر به خسارات جدی به ساختارهای سلولی می‌شود (۳۸). یکی از مکانیسم‌های دفاع غیر آنزیمی برای مقابله با تنفس اکسیداتیو القاء شده توسط خشکی در گیاهان، تجمع ترکیبات فنلی است. ترکیبات فنلی به عنوان گیرنده رادیکال‌های آزاد عمل کرده و سبب مقاومت گیاهان در برابر تنفس‌های اکسیداتیو می‌شوند (۳۷).

تنفس خشکی با تولید گونه‌های واکنشگر اکسیژن سبب اکسیداسیون اسیدهای آمینه به گروههای کربونیل و متعاقباً آسیب رساندن به پروتئین‌ها شده و پروتئین‌های تغییر شکل یافته تحت تاثیر پروتازها و اسروشست می‌شوند (۴۱). کاهش کل پلی‌زومهای اتصالی به غشا می‌تواند به عنوان عاملی برای مهار سنتز پروتئین در طی تنفس

1- Root to Shoot (R/S)

میلی گرم کلروفیل کل -۳

$$\text{میلی گرم کارتوئید} = \frac{\{22/9(A645) \times V/W \times 1000}{\{22/6(A663) \times V/W \times 1000}$$

میلی گرم کارتوئید -۴

اندازه‌گیری میزان پروتئین‌های محلول

برای اندازه‌گیری میزان پروتئین از روش لوری استفاده شد (۲۶). در نهایت شدت رنگ بوسیله اسپکتروفوتومتر با استفاده از آلبومین سرم گاوی به عنوان منحنی استاندارد در طول موج ۶۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و نتایج براساس میلی گرم در گرم بافت خشک گیاه ارائه شد.

اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنلی

سنچش ترکیبات فنلی با استخراج فنل‌های ریشه و بخش هوایی توسط اتانول و با استفاده از روش فویین سیوکالتو انجام شد (۳۹). در نهایت شدت رنگ بوسیله اسپکتروفوتومتر با استفاده از کاتکول به عنوان منحنی استاندارد در طول موج ۷۲۵ نانومتر اندازه‌گیری و نتایج بر اساس میلی گرم در گرم بافت‌تر گیاه ارائه شد.

اندازه‌گیری میزان پتاسیم و کلسیم

برای اندازه‌گیری میزان پتاسیم و کلسیم، به مقداری بافت خشک ریشه و بخش هوایی اسید نیتریک غلیظ اضافه شد و بعد از حدود ۴۸ تا ۷۲ ساعت با استفاده از اجاق برقی، محلول‌ها تا دمای تبخیر حرارت داده شدند و در انتهای میزان پتاسیم محلول توسط دستگاه نورسنج شعله‌ای مدل Corning و کلسیم محلول بوسیله دستگاه نورسنج شعله‌ای مدل Jenway PFP7 اندازه‌گیری شد. با استفاده از تهییه محلول‌های استاندارde، غلظت عناصر پتاسیم و کلسیم در محلول بافت گیاهی تعیین و در نهایت درصد عناصر مذکور در بافت مورد نظر محاسبه شد.

اندازه‌گیری میزان عنصر فسفر

برای تعیین میزان فسفر ریشه و بخش هوایی، از روش کالرومتری یا رنگ‌سنجی استفاده شد و در نهایت جذب آن در طول موج ۷۳۰ نانومتر با استفاده از محلول‌های استاندارد فسفر در محدوده ۱۰-۱۰۰ ppm اندازه‌گیری و نتایج بر اساس درصد فسفر در بافت مواد نظر موردنظر محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری

مشاهدات پس از جمع‌آوری بوسیله نرم‌افزارهای MSTATC و JMP تجزیه واریانس شدند و میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال خطای ۱ و ۵ درصد مقایسه شدند. نمودارها توسط نرم‌افزار Excel ترسیم شدند.

بودند، استفاده شد. تعویض محلول‌ها هفته‌ای یکبار و هر ۴۸ الی ۷۲ ساعت آب تبخیر شده از ظروف با محلول غذایی ۱۰ درصد جایگزین شد. گیاهچه‌ها در فیتوترون با دمای 21 ± 2 درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ و ۸ ساعت به ترتیب روشنایی و تاریکی رشد نمودند (شکل ۱).

گیاهچه‌ها پس از یک ماه رشد از گلدان‌ها خارج و ویژگی‌های ظاهری مانند طول ساقه، طول ریشه، نسبت طول ساقه به ریشه، سطح برگ و تعداد برگ اندازه‌گیری شد. برای این منظور قسمت‌های مختلف گیاه (ریشه، ساقه و برگ) از یکدیگر تفکیک شد. سطح سبز گیاه توسط دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ و طول ریشه و ساقه با استفاده از خط کش اندازه‌گیری شد.



شکل ۱- نمایی کلی از کشت هیدروپونیک در روز اول پس از انتقال گیاهچه‌ها

اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کارتوئید

برای اندازه‌گیری کلروفیل و کارتوئید از روش آرنون (۱۹۴۹) استفاده شد (۷). بدین ترتیب که $0/03 \text{ گرم برگ} \times 0/001 \text{ گرم وزن و سپس در هاون چینی} \times \text{استن به صورت تدریجی} \times \text{سائیده شد. در هر مرحله محلول شفاف رویی به بالن} \text{ ۲۵ میلی لیتری منتقل گردید. سپس حجم محلول با استن به} \text{ ۲۵ میلی لیتر رسید. محلول حاصل ساتریفیوژ و جذب نوری در طول موج های} \text{ ۴۸۰، ۵۱۰، ۶۴۵ و ۶۶۰ نانومتر بوسیله اسپکتروفوتومتر Jas.Co UV/Vis مدل ۷۸۰۰ اندازه‌گیری شد. در نهایت مقدار کلروفیل و کارتوئید بر حسب میلی گرم در گرم بافت تر برگ از طریق فرمول‌های زیر محاسبه شد:}$

$$\text{میلی گرم کلروفیل} = \frac{\{12/7(A645) \times V/W \times 1000}{\{22/6(A663) \times V/W \times 1000}$$

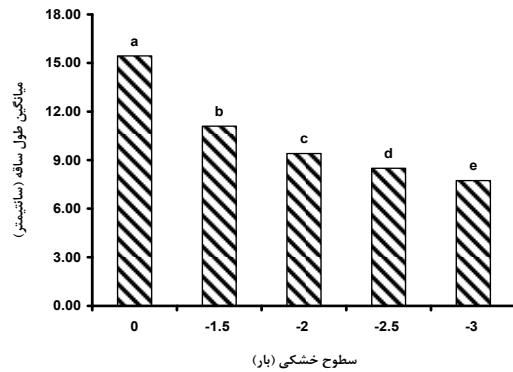
۱-a

$$\text{میلی گرم کلروفیل} = \frac{\{22/9(A645) \times V/W \times 1000}{\{22/6(A663) \times V/W \times 1000}$$

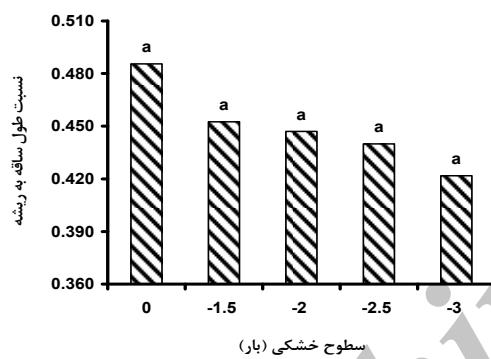
۲-b

$$\text{میلی گرم کلروفیل} = \frac{\{20/2(A645) \times V/W \times 1000}{\{20/0(A663) \times V/W \times 1000}$$

در شل شدن دیواره سلولی القاء شده با اسید) در ناحیه راسی ریشه بیش از حد بیان شده و نقش مهمی را در رشد و طویل شدن ریشه دارند (۹).



شکل ۳- میانگین طول ساقه در سطوح مختلف تنش خشکی (ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، مطابق آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند ($p \leq 0.05$))



شکل ۴- میانگین نسبت طول ساقه به ریشه در سطوح مختلف تنش خشکی (ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، مطابق آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند ($p \leq 0.05$))

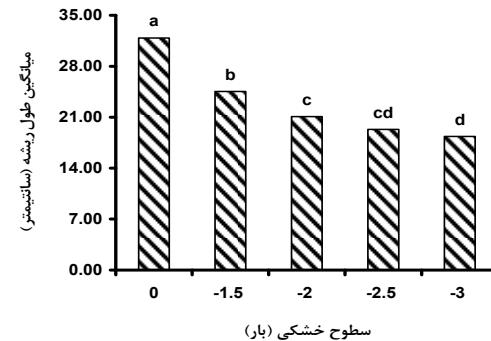
نتایج تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که تنش خشکی تاثیر معنی‌داری بر سطح برگ داشت، به طوری که کاهش سطح برگ در پتانسیل ۳- بار نسبت به شاهد به میزان $85/5$ درصد بود (شکل ۵). کاهش سطح برگ در شرایط تنش خشکی در سایر بررسی‌ها نیز گزارش شده است (۱۲ و ۲۲). کابوسی و همکاران (۱۲) بیان نمودند که کاهش سطح برگ در گیاه برنج، راهبردی برای بهبود تحمل به خشکی است. احتمالاً کاهش سطح برگ به دلیل کاهش محتوای نسبی آب و متعاقباً کوچک شدن اندازه سلول‌ها، کاهش تقسیم سلول‌های مریستمی و در نتیجه کند شدن رشد برگ، توقف تولید برگ، تسریع پیری و متعاقب آن ریزش برگ‌ها می‌باشد (۲۵ و ۳۴).

نتایج مربوط به تعداد برگ نشان داد که این صفت تحت تاثیر تنش خشکی قرار می‌گیرد. مقایسه میانگین سطوح مختلف تنش

نتایج و بحث

تفاوت‌های معنی‌داری میان سطوح مختلف تنش خشکی از نظر طول ریشه وجود داشت. بیشترین میزان طول ریشه در تیمار شاهد و کمترین مقدار آن در پتانسیل ۳- بار مشاهده شد (شکل ۲). ویژگی داشتن ریشه‌های گسترده در گیاه علاوه بر اینکه یک خصوصیت ژنتیکی است، به شرایط محیطی رشد گیاه نیز وابسته است. کمبود آب نه تنها مانع توسعه ریشه شده، بلکه سبب چوب پنبه‌ای شدن و کاهش توانایی آن در جذب آب و عناصر غذایی نیز می‌گردد (۱).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های آزمایشی نشان داد که تنش خشکی تاثیر معنی‌داری بر طول ساقه داشت، به طوری که با افزایش سطوح خشکی طول ساقه کاهش یافته (شکل ۳). کاهش طول ساقه در جعفری با افزایش تنش خشکی مشاهده شده است (۳۵)، تنش خشکی سبب کاهش فشار آماس و در نتیجه کاهش رشد و توسعه سلول‌ها می‌شود (۱۱). کاهش سطح برگ و متعاقب آن کاهش فتوسنتر می‌تواند به عنوان عوامل محدود رشد ساقه در طی تنش مطرح باشد (۱۱). میرحسینی ده‌آبادی (۱۹۹۴) اظهار داشت که گیاهان تحت تنش خشکی شدید نسبت به تیمار شاهد دارای شاخه‌های کوچکتری بودند و رشد ساقه‌ها و شاخه‌های آن‌ها نیز آهسته‌تر بود. علت این امر سوخت و ساز کمتر و سطح برگ کمتر در واحد طول ساقه عنوان شده است (۳۰).



شکل ۲- میانگین طول ریشه در سطوح مختلف تنش خشکی (ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، مطابق آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند ($p \leq 0.05$))

نتایج تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که تنش خشکی تاثیر معنی‌داری بر نسبت طول ساقه به ریشه نداشت (شکل ۴). شواهد موجود حاکی از آن است که افزایش ABA در پتانسیل‌های پایین آب اثرات متفاوتی بر رشد اندام هوایی و ریشه دارد، به طوری که رشد اندام‌های هوایی را متوقف ولی رشد ریشه تداوم می‌یابد (۱۶). در هنگام پسایدگی، اکسپانسین‌ها^۱ (خانواده‌ای از پروتئین‌های ضروری

1 - Expansins

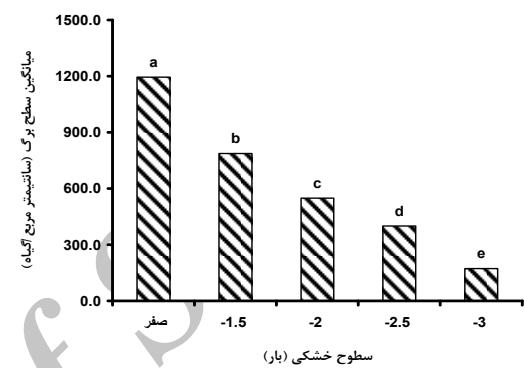
۱۴/۳ درصد در مورد کلروفیل b است. کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنفس خشکی در سایر بررسی‌ها نیز گزارش شده است (۱۸، ۳۶ و ۴۳). اکسیاٹو و همکاران (۴۳) با اعمال تنفس خشکی بر روی دو نژاد از *Populus cathayana* به مدت ۱۲ هفته و در شرایط گلخانه‌ای دریافتند که دلیل کاهش کلروفیل در شرایط تنفس خشکی شدید، کندي سرعت سنتز و یا تجزیه سریع کلروفیل است. در ذرت دلیل کاهش محتوای کلروفیل در هنگام بروز تنفس خشکی، کاهش کارآبی استفاده از کربن و افزایش تولید اتانول و لاکتات می‌باشد (۳۶). فینگر و همکاران (۱۸) با اعمال تنفس خشکی بر میوه موز دریافتند که تنفس، با افزایش تنفس و تولید اتیلن سبب فعالسازی آنزیم‌های مسیر کاتابولیسم کلروفیل (کلروفیلاز، پراکسیداز و لیپوکسیناز) و متعاقب آن تجزیه کلروفیل و زرد شدن میوه موز می‌شود. از عوامل دیگر کاهش محتوای کلروفیل در هنگام مواجه گیاهان با تنفس خشکی، تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن و متعاقب آن پراکسیداسیون لیپیدها و تخریب کلروفیل است (۴۳).

نتایج مشاهدات مربوط به نسبت کلروفیل a به b نشان داد که با افزایش تنفس خشکی، این نسبت به صورت معنی‌داری کاهش یافت، با این حال اختلاف معنی‌داری در ارتباط با این صفت مشاهده نشد ($p \leq 0.1$). مقایسه میانگین سطوح مختلف تنفس خشکی حاکی از کاهش نسبت کلروفیل a به b با کاهش پتانسیل آب است (جدول ۱). در تنفس‌های خشکی و شوری، کاهش محتوای کلروفیل a بیشتر از b است (۲۰). اشرف (۸) بیان نمود که در دو رقم بامیه تحت تنفس خشکی، محتوای کلروفیل a کاهش یافت، در حالی که کلروفیل b بدون تغییر باقی ماند. بنابراین در هر دو رقم کاهش قابل توجهی در نسبت کلروفیل a به b دیده شد.

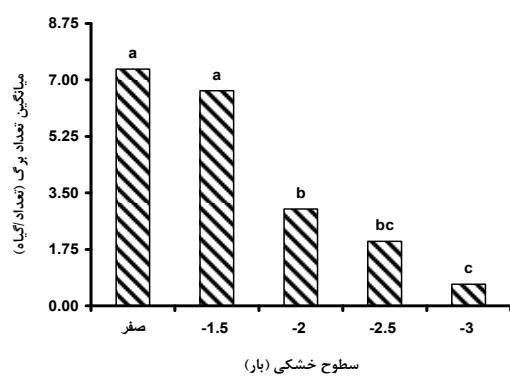
نتایج تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که تنفس خشکی تاثیر معنی‌داری بر میزان کاروتونوئید داشت. با کاهش پتانسیل آب و افزایش سطوح خشکی، میزان کاروتونوئید کاهش یافت (جدول ۱). میزان کاروتونوئید در پتانسیل -۳ بار نسبت به شاهد ۷۳/۸ درصد کاهش داشت. نتو و همکاران (۳۳) تغییرات متابولیکی را عامل کاهش سطوح رنگیزه‌های فتوستنتزی در گیاه ذرت خوشهای در شرایط تنفس خشکی بیان نمودند. این محققان گزارش کردند که کاهش سنتز کاروتونوئیدها از کربن و افزایش تولید اتانول و لاکتات سبب کاهش تنفس کاروتونوئیدها و کلروفیل ها می‌شود. همچنین اعمال تنفس خشکی در مرحله زایشی گیاه، تسریع پیری برگ و تجزیه رنگدانه‌های فتوستنتزی را در پی داشت. کاهش محتوای کاروتونوئید در شرایط تنفس خشکی در سایر بررسی‌ها نیز گزارش شده است (۳۶ و ۴۰).

نتایج تجزیه واریانس داده‌های آزمایشی نشان داد که تنفس خشکی تاثیر معنی‌داری بر میزان پروتئین‌های محلول بخش هوایی و ریشه داشت.

خشکی نشان داد که با کاهش پتانسیل آب، تعداد برگ کاهش یافت (شکل ۶). به نظر می‌رسد که خشکی روی تشکیل سلول‌های اولیه برگ و تمایز آن‌ها تأثیر گذاشته و سبب کاهش تعداد برگ می‌شود (۲۵). خورانا و سینگ (۲۳) نشان دادند که کاهش سطح و تعداد برگ در اثر افزایش تنفس خشکی سبب کاهش اتلاف آب و تعرق و متعاقب آن افزایش مقاومت گیاهان در برابر خشکی می‌شود. ریزش و متعاقب آن کاهش تعداد برگ در شرایط تنفس خشکی یک سازش مورفوژوئیکی و عاملی برای انتشار مجدد مواد غذایی در گیاه است (۳۲).



شکل ۵- میانگین سطح برگ در سطوح مختلف تنفس خشکی (ستون-هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، مطابق آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند ($p \leq 0.05$))



شکل ۶- میانگین تعداد برگ در سطوح مختلف تنفس خشکی (ستون-هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، مطابق آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند ($p \leq 0.05$))

نتایج تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که تنفس خشکی تاثیر معنی‌داری بر میزان کلروفیل a و b کل داشت. نتایج مقایسه میانگین تاثیر سطوح مختلف تنفس خشکی بر میزان کلروفیل، حاکی از کاهش میزان هر سه نوع کلروفیل با کاهش پتانسیل آب است (جدول ۱). درصد کاهش غلظت کلروفیل در پتانسیل -۳ بار نسبت به شاهد، ۴۵/۱ درصد در مورد کلروفیل کل، ۳۹/۶ درصد در مورد کلروفیل a و

جدول ۱- نتایج میانگین میزان کلروفیل و کارتوئید برگی تحت تاثیر سطوح مختلف تنش خشکی ناشی از PEG در شرایط آبکشت

پتانسیل (بار)	کلروفیل کل (میلی گرم در گرم بافت تر)	کلروفیل a (میلی گرم در گرم بافت تر)	کلروفیل b (میلی گرم در گرم بافت تر)	نسبت کلروفیل b به a	کارتوئید (میلی گرم در گرم بافت تر)
صفر	۱/۶۳ a	۰/۹۶ a	۰/۳۵ a	۲/۷۴ a	۰/۴۲ a
-۱/۵	۱/۴۵ a	۰/۸۳ a	۰/۳۴ a	۲/۵۷ ab	۰/۳۰ b
-۲	۱/۲۶ b	۰/۷۷ b	۰/۳۳ b	۲/۳۶abc	۰/۲۳ c
-۲/۵	۰/۹۹ c	۰/۶۷ c	۰/۳۰ c	۲/۱۹ bc	۰/۱۹ c
-۳	۰/۸۹ c	۰/۵۸ c	۰/۲۹ c	۱/۹۲c	۰/۱۱ d

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند ($p \leq 0.05$).

های ما مطابقت دارد.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که مقدار ترکیبات فنلی موجود در بخش هوایی و ریشه تحت تاثیر تنش خشکی قرار گرفتند. به طور کلی با افزایش تنش خشکی، ترکیبات فنلی بخش هوایی و ریشه افزایش یافت (جدول ۲). در شرایط تنش خشکی، به علت تعصیف سیستم ایمنی گیاه بادام زمینی (*Arachis hypogaea* L.), مواد فنلی به همراه سایر آنزیمهای دفاعی در مقاومت علیه میکروگانیسم‌ها افزایش می‌یابند (۲۴). از جمله مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهان تحت تنش خشکی، افزایش سطوح ترکیبات فنلی است، چرا که این گونه ترکیبات به عنوان پالاینده‌های گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن عمل کرده و در نتیجه سبب ثبات غشاء‌های سلولی و مانع از پراکسیداسیون لیپیدها می‌شوند (۱۳). تیان و لی (۲۰۰۶) در بررسی اثر تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلایکول در گیاه گندم دریافتند که علت بالا رفتن سطوح ترکیبات فنلی، افزایش فعالیت و میزان آنزیم بیوسنتری فتل‌ها (فیلآلانین آمونیالیاز) است (۲۲). به نظر می‌رسد که کاهش محتوای پروتئین با افزایش ترکیبات فنلی همراه است (۱۰) که این موضوع با یافته‌های ما مطابقت دارد.

مقایسه میانگین سطوح مختلف تنش خشکی نشان داد که با کاهش پتانسیل آب، پروتئین‌های محلول بخش هوایی و ریشه کاهش یافت (جدول ۲). کاهش میزان پروتئین در پتانسیل ۳- بار نسبت به شاهد در مورد بخش هوایی ۵۸/۶ درصد و در مورد ریشه ۷۲ درصد بود. کاهش میزان پروتئین در سایر بررسی‌ها نیز گزارش شده است (۳۱). محمد خانی و حیدری (۳۱) عامل کاهش میزان پروتئین-های محلول در گیاه ذرت تیمار شده با خشکی را افت شدید فرآیند فتوسنتر و متعاقب آن کاهش پیش‌ماده‌های تولید کننده پروتئین و در نهایت کاهش سنتز پروتئین‌ها بیان نمودند. برخی محققان رکود سنتز پروتئین‌ها را به کاهش تعداد پلی‌زومهای اتصالی به غشنا نسبت داده‌اند. احتمالاً کاهش سنتز mRNA، تخریب و یا غیر فعال شدن ریبوزوم‌ها و کاهش سطح غشای سلولی سبب کاهش تعداد پلی‌زوم‌ها می‌شود (۱۵). فلر و همکاران (۱۷) گزارش کردند که تنش خشکی، بیان ژن‌های کد کننده پروتئازهای درون سلولی را القا کرده و سبب تجزیه پروتئین‌ها و تحرک مجدد نیتروژن و متعاقب آن سنتز مواد محلول سازگار می‌گردد (۱۷). از این رو به نظر می‌رسد که کاهش محتوای پروتئین تحت تنش خشکی با کاهش سنتز و افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئین مرتبط باشد (۱۷) که این موضوع با یافته-

جدول ۲- نتایج میانگین میزان پروتئین و ترکیبات فنلی محلول بخش هوایی و ریشه تحت تاثیر سطوح مختلف تنش خشکی ناشی از PEG در شرایط آبکشت

پتانسیل (بار)	پروتئین بخش هوایی (میلی گرم در گرم بافت خشک)	پروتئین ریشه (میلی گرم در گرم بافت خشک)	ترکیبات فنلی بخش هوایی (میلی گرم در گرم بافت تر)	ترکیبات فنلی ریشه (میلی- گرم در گرم بافت تر)
صفر	۱۲۸/۰ a	۹۵/۳ a	۳/۴۱ a	۲/۸۸a
-۱/۵	۱۰۷/۳ b	۷۱/۶ b	۴/۲۶b	۲/۹۱a
-۲	۹۳/۳ b	۶۰/۰ b	۵/۲۰c	۳/۰۴b
-۲/۵	۶۳/۳ c	۳۴/۰ c	۷/۱۳d	۲/۱۷c
-۳	۵۳/۰ c	۲۶/۶ c	۶/۶۸e	۳/۳۹d

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند ($p \leq 0.05$).

یافت (جدول ۳). با کاهش رطوبت خاک، حرکت کلسیم از خاک به سطح ریشه کاهش می‌یابد، همچنین جذب کلسیم توسط گیاه عمدها به سرعت تعرق بستگی دارد که در شرایط تنفس خشکی، محدود شدن سرعت تعرق سبب کاهش جذب کلسیم می‌شود (۴۵). کاهش میزان کلسیم در شرایط تنفس خشکی در گیاهان گندم (۹) و ذرت (۲۱) نیز گزارش شده است. اشرف (۹) دلیل پایین آمدن محتوای کلسیم در گیاه گندم را کاهش سرعت جذب کلسیم در طی تنفس گزارش کرده است. نتایج حاصل از تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که فسفر بخش هوایی و ریشه تحت تاثیر تنفس خشکی قرار گرفتند، به طوری که با کاهش پتانسیل آب، این دو صفت کاهش یافته (جدول ۲). در شرایط تنفس خشکی، کاهش سرعت انتشار فسفر از خاک به سطح ریشه نسبت به سایر عناصر غذایی بیشتر است، چرا که یون فسفات به ذرات رس چسبیده و کمتر در دسترس ریشه گیاه قرار می‌گیرد (۲۷). بررسی‌ها در مورد گیاه سویا در شرایط تنفس خشکی نشان داده است که توانایی جذب فسفر توسط ریشه‌های این گیاه ضعیف می‌باشد، دلیل این موضوع کاهش قابلیت تحرک فسفر در خاک‌های با محتوای پایین آب است، چرا که محتوای آب خاک بر واکنش‌های تجزیه‌ای و فعالیت‌های بیولوژیکی آن تاثیر گذار است (۲۷). هدیدی (۱۹) دریافت که با کاهش پتانسیل آب ناشی از حل شدن پلی اتیلن گلایکول در آب، جذب فسفر توسط ریشه گیاه لوپیا کاهش می‌یابد، وی دلیل این امر را ممانعت پلی اتیلن گلایکول از جذب و انتقال فسفر در آوندها و ساقه بیان کرد.

با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق در رابطه با گیاه شوید می‌توان نتیجه‌گیری کرد که کشت گیاه شوید در شرایط تنفس شدید خشکی (۲/۵ و -۳ بار) به دلیل عملکرد پایین پیکر رویشی، اقتصادی و قابل توصیه نمی‌باشد. همچنین در این آزمایش، گیاه شوید از افزایش سطوح ترکیبات فتلی به عنوان مکانیسم آنتی‌اکسیدان برای مقاومت در برابر تنفس خشکی استفاده می‌کند.

نتایج مشاهدات مربوط به پتانسیم بخش هوایی و ریشه نشان داد که تنفس خشکی تاثیر معنی‌داری بر میزان پتانسیم داشت. با افزایش کاهش یافت (جدول ۳)، به طوری که کاهش درصد پتانسیم در پتانسیل -۳ بار نسبت به شاهد در مورد بخش هوایی ۴۶/۷ درصد و در مورد ریشه ۳۸/۷ درصد بود. کوچنچوچ و همکاران (۲۳) دریافتند که کاهش محتوای آب خاک، سبب کاهش جذب پتانسیم توسط ریشه‌های پیاز شد. ظریف کتابی و همکاران (۴) گزارش کردند که تیمار خشکی بر چند گونه یونجه سبب کاهش تجمع پتانسیم در برگ شده است. دلیل این موضوع را کاهش جذب آن توسط ریشه اعلام نمودند. احتمالاً علت کاهش پتانسیم در شرایط تنفس خشکی، کاهش میزان حلالیت پتانسیم و متعاقباً کاهش جذب آن توسط ریشه‌های گیاه است. از طرف دیگر کلوریدهای خاک با قدرت بیشتری پتانسیم را جذب می‌کنند و مانع جذب آن توسط ریشه می‌شوند (۲۷).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که تنفس خشکی تاثیر معنی‌داری بر نسبت پتانسیم بخش هوایی به ریشه نداشت. مقایسه میانگین سطوح مختلف تنفس خشکی نشان داد که با کاهش پتانسیل آب، نسبت پتانسیم بخش هوایی به ریشه کاهش یافت (جدول ۳). اساگوو و همکاران (۳۴) با مطالعه تاثیر تنفس خشکی بر گیاه کاهش یافت. آن‌ها علت این موضوع را حرکت این عناصر از برگ به ریشه پیشنهاد کردند، چون در این شرایط دو عنصر مذکور به عنوان محافظت کننده‌های اسمزی عمل کرده و سبب افزایش مقاومت گیاه به خشکی می‌شوند.

نتایج مشاهدات مربوط به میزان کلسیم بخش هوایی و ریشه موید آن است که تنفس خشکی تاثیر معنی‌داری بر این دو صفت دارد. مقایسه میانگین سطوح مختلف تنفس خشکی نشان داد که با کاهش پتانسیل آب و افزایش سطوح خشکی میزان این دو صفت کاهش

جدول ۳- نتایج میانگین میزان عناصر پتانسیم، فسفر و کلسیم بخش هوایی و ریشه تحت تاثیر سطوح مختلف تنفس خشکی ناشی از PEG در شرایط آبکشت

پتانسیل (بار)	درصد پتانسیم بخش هوایی	درصد پتانسیم ریشه	درصد پتانسیم هوایی به ریشه	درصد پتانسیم بخش هوایی	درصد پتانسیم ریشه	درصد پتانسیم ریشه	درصد پتانسیم بخش هوایی	درصد پتانسیم ریشه
صفر	۹/۳۳ a	۷/۵۲ a	۷/۰۳ a	۷/۰۳ a	۷/۵۲ a	۷/۰۲ c	۷/۶۷ b	-۱/۵
-۱/۵	۷/۶۷ b	۶/۷۵ b	۶/۰۲ c	۷/۰۲ c	۶/۷۵ b	۶/۰۲ c	۷/۲۱ b	-۲
-۲	۷/۲۱ b	۷/۰۲ c	۷/۰۳ c	۷/۰۳ c	۷/۰۲ c	۷/۰۳ c	۷/۰۳ c	-۲/۵
-۳	۷/۰۳ d	۵/۳۹ d	۴/۶۱ e	۴/۶۱ e	۴/۸۵ d	۴/۸۵ d	۴/۸۵ d	-۳

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند ($p \leq 0.05$).

می‌تواند منجر به شناسایی و تولید گیاهان مقاوم به خشکی گردد.

واضح است که اطلاعات بیشتر در رابطه با واکنش گیاهان به تنش خشکی لازم است و یافته‌های به دست آمده از این مطالعات

منابع

- ۱- دلخوش ب، شیرانی راد ا.ح، نورمحمدی ق. و درویش ف. ۱۳۸۵. تاثیر تنش خشکی بر عملکرد مقدار کلروفیل ارقام کلزا. مجله علمی و پژوهشی علوم کشاورزی. ۲: ۳۶۶-۳۵۹.
- ۲- صفایی خرم م، جعفرنیا ف.س. و خسرو شاهی س. ۱۳۸۷. مهمترین گیاهان دارویی جهان. انتشارات مجتمع آموزش کشاورزی سبز ایران. ۴۴۲ صفحه.
- ۳- قاسمی م. ۱۳۸۲. خواص درمانی میوه ها و سبزیجات. نشر تیهو. ۱۰۴ صفحه.
- ۴- ظرفی کتابی ح. و کوچکی ع. ۱۳۷۹. تاثیر تنش خشکی بر رشد و برخی خصوصیات چند گونه یونجه یکساله در شرایط گلخانه. مجله علوم و صنایع کشاورزی. ۱۴: ۵۸-۴۹.
- ۵- نجفی ف. ۱۳۸۰. اثر رژیم های مختلف آبیاری و تراکم بر کمیت و کیفیت گیاه دارویی اسفزه. پایان نامه کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
- 6- Arndt S.K.K., Clifford S.C., Wanek W., Jones H.G. and Popp M. 2001. Physiological and morphological adaptations of the fruit tree *Ziziphus rotundifolia* in response to progressive drought stress. *Tree Physiology*, 21: 705-715.
- 7- Arnon D.T. 1949. Copper enzymes in isolation chloroplast phenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24: 1-15.
- 8- Ashraf M. and Naz F. 1994. Responses of some arid zone grasses to K deficiency. *Acta physiology Plant*, 16: 69-80.
- 9- Bartels D. and Sunkar R. 2005. Drought and salt tolerance in Plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 24: 23-10.
- 11- Bhatt R.M. and Srinivasa-Rao N.K. 2005. Influence of pod load on response of okra to water stress. *Indian Journal Plant Physiology*, 10: 54-59.
- 12- Cabuslay G.S., Ito O. and Alejar A.A. 2002. Physiological evaluation of responses of rice (*Oryza sativa L.*) to coater deficit. *Plant Science*, 163: 815-827.
- 13- Chang, W.C., Kim, S.C., Hwang, S.S., Choi, B.K. and Kim, S.K. 2002. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. *Plant Science*, 163: 1161-1168.
- 14- Creelman R.A., Mason H.S., Bensen R.J., Boyer J.S. and Mullet J.E. 1990. Water deficit and abscisic acid cause differential inhibition of shoot versus root growth in soybean seedlings. *Plant Physiology*, 92: 205-214.
- 15- Dhindsa R.S. and Clenland R.E. 1975. Water stress and protein synthesis. *Plant Physiology*, 55: 782-785.
- 16- Fatemey F. and Evans K. 1986. Effects of *Globodera rostochiensis* and water stress on shoot and root growth and nutrient uptake of potatoes. *Revue Nematol*, 9: 181-184.
- 17- Feller U. 2004. Proteolysis. In: *Plant Cell Death Processes*. Ed. Elsevier, 107-123.
- 18- Finger F.L., Puschmann R. and Barros R.S. 1995. Effects of water loss on respiration, ethylene production and ripening of banana fruit. *Revista Brasileira De Fisiologia Vegetal*, 7: 115-118.
- 19- Hadidi A. 1999. Germination and early growth of tea common bean cultivars as affected by water stress and seed size. *Direct Agricultural Science*, 26: 23-25.
- 20- Jaleel C.A., Manivannan P., Wahid A., Farooq M., Jasim H., Somasundaram R. and Pannerselvam R. 2009. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11: 100-105.
- 21- Kaya C., Levant J. and David H. 2006. Effect of silicon and plant growth and mineral nutrition of maize grown under water stress conditions. *Journal of Plant Nutrition*, 29: 1469-1480.
- 22- Khurana E. and Singh J.S. 2000. Influence of seed size on seedling growth of *Albizia procera* under different soil water levels. *Annals of Botany*, 86: 1185-1192.
- 23- Kuchenbuch R., Claassen N. and Jungk A. 1986. Potassium availability in relation to soil moisture, II calculations by means of a mathematical simulation model. *Plant and Soil*, 95: 233-243.
- 24- Latha P., Sudhakar P. and Sreenivasula Y. 2007. Relationship between total phenol and aflatoxin production of peanut genotypes under end-of-season drought conditions. *Acta Physiology Plant*, 29: 563-566.
- 25- Lobato, A.K.S., Oliveira Neto C.F., Santos Filho B.G., Costa R.C.L., Cruz F.J.R., Neves H.K.B. and Lopes M.J.S. 2008. Physiological and biochemical behavior in soybean (*Glycine max* cv. Sambaiba) plants under water deficit. *Australian Journal Crop Science*, 2: 25-32.
- 26- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. and Randall R.J. 1995. Protein measurement with the folin phenol reagent.

- Journal Biology Chemistry, 193: 265-276.
- 27- Marschner H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press. London, 549-561.
28. Martin B. and Torres N.A.R. 1992. Effects of water deficits stress on photosynthesis, its components and component limitations and on water use efficiency in wheat. Plant Physiology, 100: 733-739.
- 29- Michel B.F. and Kaufmann M.R. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Plant Physiology, 57: 914-916.
- 30- Mir-Hosseni-Dehabadi S.R. 1994. The effect of water relation carbon isotope discrimination and shoot and root growth of sainfoin (*Onobrychis visifolia* Scop.) and Lucerne (*Medicago sativa* L.). Ph.D. Thesis. Massey University. Newzealand, Pp. 364.
- 31- Mohammadkhani N. and Heidari R. 2008. Effects of drought stress on soluble proteins in two maize varieties. Turkish Biology, 32: 23-30.
- 32- Munne-Bosch S. and Alegre L. 2004. Die and let live: leaf senescence contributes to plant survival under drought stress. Functional Plant Biology, 31: 203-216.
- 33- Oliviera-Neto C.F., Silva-Lobato A.K., Goncalves-Vidal M.C., Costa R.C.L., Santos.Filho B.G., Alves G.A.R., Silva-Maia W.J.M., Cruz F.J.R., Neres H.K.B. and Santos Lopes M.J. 2009. Carbon compounds and chlorophyll contents in sorghum submitted to water deficit during three growth stages. Science and Technology, 7: 588-593.
- 34- Osuagwu G.G.E., Edeoga H.O. and Osuagwu A.N. 2010. The influence of water stress (drought) on the mineral and vitamin potential of the leaves *Ocimum gratissimum* L. Recent Research in Science and Technology, 2: 27-33.
- 35- Petropoulos S.A., Polissiou M.G. and Passam H.C. 2008. The effect of water deficit stress on the growth, yield and composition of essential oils of parsley. Science Horticultural, 115: 393-397.
- 36- Piekielek W.P. and Fox R.H. 1992. Use of a chlorophyll meter to predict sidedress nitrogen requirements for maize. Agronomy Journal, 84: 59-65.
- 37- Schaller, G. and Kieber, J. 2002. Ethylene. American Society Plant Biologists, 1-17.
- 38- Sharma, P. and Dubey, R.S. 2005. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. Plant Growth Regulation, 46: 209-221.
- 39- Shehab G.G., Ahmed O.K. and El-Beltagi H.S. 2010. Effects of various chemical agents for alleviation of drought stress in rice plants (*Oryza sativa* L.). Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 38: 139-148.
- 40- Silva M.A., Jifon J.L., Silva J.A.G. and Sharma V. 2007. Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. Brazilian Journal of Plant Physiology, 19: 193-201.
- 41- Takeda, T., Yokota, A. and Shigeoka, S. 1995. Resistance of photosynthesis to hydrogen peroxide in algae. Plant Cell Physiology, 36: 1089-1095.
- 42- Tian, X. and Y. Lei (2006). Nitric oxide treatment alleviates drought stress in wheat seedlings. Biologia Plantarum, 50 (4):775-778.
- 43- Xiao X., Xu X. and Yang F. 2008. Adaptive responses to progressive drought stress in two *Populus cothayana* populations. Silva Fennica, 42: 705-719.
- 44- Yordanov V. and Tsoev T. 2000. Plant responses to drought, acclimation and stress tolerance. Photosynthica, 38: 171-186.
- 45- Yu X., Du X. and Song L. 2007. Effects of water stress on the growth and ecophysiology of seedlings of the *Rhus typhina*. Scientia Silvae Sinicae, 43: 57-61.
- 46- Zayed M.A. and Zeid I.M. 1998. Effect of water and salt stresses on growth, chlorophyll, mineral ions and organic solutes contents, and enzymes activity in mung bean seedlings. Biologia plantarum, 40: 51-356.