

## ارزیابی خصوصیات مورفولوژیکی، رنگیزه‌های فتوسنتزی و برخی آنتی‌اکسیدان‌ها تحت شرایط تنش خشکی در دو ژنوتیپ شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.)

مرجان السادات حسینی<sup>۱،۲</sup>، داود صمصام پور<sup>۱\*</sup>، مرتضی ابراهیمی<sup>۲</sup> و مرتضی خان احمدی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه هرمزگان، بندر عباس، ایران، <sup>۲</sup> پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (شعبه اصفهان)،

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۱/۱۶، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۰۷/۲۱)

### چکیده

شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) گیاهی است دارویی و گلیسیریزین مهم‌ترین ترکیب شیمیایی در میان ترکیبات موجود در شیرین بیان است که ۵۰ برابر ساکارز شیرینی دارد. تنش خشکی یکی از عوامل محدود کننده رشد و نمو در گیاهان می‌باشد که بر صفات مورفولوژیک و فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاهان اثر منفی دارد. جهت بررسی تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی بر برخی صفات رشدی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دو ژنوتیپ شیرین بیان، آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل سطوح مختلف تنش خشکی (شاهد، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ روز یکبار آبیاری) و ژنوتیپ‌های مختلف (چهارمحال و بختیاری و ایلام) بود. در این آزمایش صفات وزن خشک ریشه، وزن تر اندام هوایی، محتوای نسبی رطوبت، کلروفیل a، b، کلروفیل کل، کاروتنوئید، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، میزان فنل کل، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و گلیسیریزین مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار وزن خشک ریشه، وزن تر اندام هوایی، محتوای نسبی رطوبت، کلروفیل a، b و کاروتنوئید گردید. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ژنوتیپ ایلام در تنش شدید به ترتیب ۸۸/۷۵٪ و ۴/۴ تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین مشاهده شد. همچنین بیشترین مقدار فنل کل در ژنوتیپ ایلام در تنش متوسط (۵۹ میلی‌گرم گالیک اسید بر صد گرم) و بیشترین میزان گلیسیریزین تحت تنش خفیف در ژنوتیپ چهارمحال و بختیاری (۲/۹۷٪) مشاهده شد. به طور کلی از نظر صفات مورفولوژیک و میزان آنتی‌اکسیدان ژنوتیپ ایلام بالاتر از ژنوتیپ چهارمحال و بختیاری بود، اما از نظر رنگیزه‌های فتوسنتزی و گلیسیریزین ژنوتیپ چهارمحال و بختیاری از ایلام بالاتر نشان داد. به نظر می‌رسد، در مجموع از نظر محتوای آنتی‌اکسیدانی ژنوتیپ ایلام نسبت به چهارمحال و بختیاری متحمل‌تر به خشکی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، تنش خشکی، رنگدانه‌های فتوسنتزی، شیرین بیان، گلیسیریزین، مزرعه

### مقدمه

می‌باشند که به صورت خشک شده یا عصاره، یکی از مهم‌ترین محصولات صادراتی کشورمان است (خان احمدی و همکاران، ۱۳۹۲) و برای صنایع مختلف از جمله غذایی و داروسازی

شیرین بیان گیاهی چند ساله و از خانواده بقولات (Fabaceae) است که ریشه‌ها و ریزوم‌های این گیاه دارای طعم شیرینی

\* نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: hormoz@bmn.ir

مهار کننده ROS در جهت کاهش اثرات سمی ناشی از تنش اکسیداتیو حاصل از تنش خشکی، افزایش پیدا می‌کند (کافی و همکاران، ۱۳۸۲). در حال حاضر استفاده از ارقام متحمل به خشکی یکی از مهم‌ترین روش‌های مؤثر در بهره‌برداری و افزایش عملکرد در نواحی خشک و نیمه‌خشک جهان محسوب می‌شود (Ekiz and Yilmaz, 2003). هدف از اجرای این آزمایش بررسی پاسخ‌های مختلف فیزیولوژیک در دو ژنوتیپ شیرین بیان نسبت به سطوح مختلف خشکی و ارزیابی برخی شاخص‌های رشدی، فتوسنتزی، میزان آنتی‌اکسیدان آنزیمی پراکسیداز و غیر آنزیمی، فنل و گلیسیریزین ریشه، تحت شرایط تنش خشکی می‌باشد.

#### مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در بهار و تابستان ۱۳۹۵ در پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی اصفهان انجام شد. ریزوم‌ها و ریشه‌های شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*) در اواسط مهر ماه برداشت سال ۹۴ از برداشت شدند. مشخصات جغرافیایی استان چهارمحال و بختیاری شامل عرض جغرافیایی: ۵۱ درجه و ۱۳ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی: ۳۱ درجه و ۱۷ دقیقه شرقی و ایلام شامل عرض جغرافیایی: ۴۷ درجه و ۲۲ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی: ۳۳ درجه و ۱۳ دقیقه شرقی بود. همچنین میانگین بارندگی و دما به ترتیب در چهار محال و بختیاری ۴۲۱ میلی‌متر و ۱۵/۶ درجه سانتی‌گراد و ایلام به ترتیب ۳۶۴ میلی‌متر و ۲۳/۶ درجه سانتی‌گراد بود. ریشه‌های مرطوب برداشت شده پس از تمیز شدن و گرفتن گل ولای آن به قطعات کوچک‌تری تقسیم شدند. ریشه‌ها به صورت افقی در ۵ سانتی‌متری سطح گلدان با ۷۵ درصد خاک و ۲۵ درصد پیت پر شدند و بر سطح رویی گلدان نیز پرلیت و پیت پخش شد. گلدان‌ها در گلخانه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۷۵ درصد و ۱۶ ساعت روشنایی در اواخر مهرماه ۱۳۹۴ قرار گرفتند. پس از ۶ ماه در تاریخ ۱۵ فروردین ۱۳۹۵ گلدان‌ها به زمین منتقل شدند و در زمین کشت شدند. هر بلوک شامل سه گیاه از هر ژنوتیپ با فاصله‌ی یک متر بین

مورد استفاده قرار می‌گیرد (Chaudhary et al., 2010). ماده مؤثره شیرین بیان اسید گلیسیریزیگ می‌باشد که حدود ۵۰ مرتبه از قند شیرین‌تر بوده و میزان آن در گیاه حدود ۵ تا ۲۰ درصد می‌باشد (Omar et al., 2012). این گیاه در ایران نیز پراکنش بسیار وسیعی دارد و در استان‌هایی چون خراسان (شمالی و رضوی)، آذربایجان شرقی و غربی، زنجان، گلستان، کردستان، فارس، اصفهان، چهارمحال و بختیاری، ایلام، کرمان و غیره مشاهده می‌شود. شیرین بیان یکی از گیاهان دارویی است که بیشتر به صورت بهره‌برداری از طبیعت به بازار مصرف می‌رسد و کمتر مورد کشت و کار قرار می‌گیرد (Sabbioni et al., 2005).

بررسی‌ها نشان می‌دهد یکی از مهمترین عوامل تأثیرگذار در میزان متابولیت‌های ثانویه موجود در گیاهان، تنش‌های محیطی اعمال شده بر آنهاست. در حقیقت یکی از با اهمیت‌ترین وظایف متابولیت‌های ثانویه در گیاهان نقش محافظتی آنها در شرایط تنش است. این ترکیبات به گیاهان کمک می‌کنند تا بتوانند در مقابل عوامل مزاحم خارجی و شرایط نامساعد محیطی مقاومت کنند (Ramakrishna and Ravishankar, 2011). کشور ایران به دلیل کاهش نزولات جوی در بسیاری از نقاط نیاز آبی گیاهان را تأمین نمی‌کند و قرار گرفتن گیاهان در معرض تنش کمبود آب به ویژه در برخی مواقع سال امری اجتناب ناپذیر است. به رغم اینکه در ارتباط با تنش خشکی تحقیقات زیادی انجام شده است، اما متأسفانه رفتار گیاهان دارویی تحت شرایط خشکی به خوبی مطالعه نشده است. در شرایط طبیعی و بدون تنش، تولید رادیکال‌های آزاد و مکانیسم‌های دفاع که همان تولید آنتی‌اکسیدان‌هاست، در حالت تعادل است. اما در شرایط تنش خشکی، این تعادل بر هم خورده و با افزایش تولید انواع اکسیژن فعال (ROS)، بروز تنش ثانویه اکسیداتیو را سبب می‌شود که منجر به تغییرات سلولی و انواع آسیب‌های بحرانی نیز می‌شوند (Zhu, 2001). با افزایش میزان رادیکال‌های فعال اکسیژن در گیاهان، مکانیسم‌های متنوعی در گیاه فعال می‌شود. در این شرایط میزان آنتی‌اکسیدان‌ها افزایش یافته و آنزیم‌های

گیاهان در هر ردیف و یک متر بین ردیف‌ها می‌باشد. فاصله بین بلوک‌های آزمایشی ۱/۵ متر و سه تکرار برای هر بلوک جدول ۱- مشخصات اقلیمی، خاک و آب آبیاری محل آزمایش شیرین بیان در مزرعه

مشخصات	دما (°C)	بارندگی (میلی‌متر)	pH	جذب سدیم (SAR)	EC (dS/m)	بافت	EC (dS/m)	pH
اصفهان	۱۷/۶	اقلیم	۷/۱۸	۶/۲۱	۹/۲	لومی	۰/۴	۷/۸

و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۵ هزار دور در دقیقه سانتیفریوژ (شرکت اوگاوا سیکی، ژاپن) شدند. جذب عصاره با اسپکتروفتومتر (مدل کری ۱۰۰، واریان آمریکا)، در طول موج‌های ۶۴۷، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید. غلظت رنگیزه‌ها با استفاده از روابط ذیل محاسبه گردید (Lichtenthaler, 1987). نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر عصاره محاسبه گردید.

(معادله ۲)

$$a - A_{663} (12/25) = \text{میکروگرم بر میلی لیتر عصاره} \text{ کلروفیل } a - A_{647} (2/79)$$

(معادله ۳)

$$b - A_{647} (21/12) = \text{میکروگرم بر میلی لیتر عصاره} \text{ کلروفیل } b - A_{663} (5/1)$$

(معادله ۴)

$$+ \text{کلروفیل } a = \text{میکروگرم بر میلی لیتر عصاره} \text{ کلروفیل کل کلروفیل } b$$

(معادله ۵)

$$A_{670} + [(0/114) (A_{670}) - (0/638) (A_{663})] = \text{میکروگرم بر میلی لیتر عصاره} \text{ کاروتنوئید}$$

برای تهیه عصاره فنل کل و آنتی‌اکسیدان کل ۰/۵ گرم بافت تازه ریشه در ازت مایع کوبیده و سپس به آن ۳ میلی لیتر متانول ۸۵٪ اضافه کرده، سپس به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ هزار دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتیفریوژ شدند.

برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش مهار

آزمایشی استفاده شد. مشخصات اقلیمی، خاک و آب محل آزمایش در جدول ۱ ذکر گردید. بعد از سه ماه در ۱۵ تیرماه ۱۳۹۵ انتقال و استقرار مناسب، اعمال تنش با چهار سطح، بدون تنش آبیاری (۷ روز یکبار، شاهد)، تنش خفیف (۱۰ روز یکبار)، تنش متوسط (۲۰ روز یکبار) و تنش شدید (۳۰ روز یکبار) صورت گرفت. میزان آب آبیاری برای هر گیاه ۱۰ لیتر به صورت قطره‌ای در نظر گرفته شد. عمق نفوذ آب در هر بار آبیاری ۴۰ سانتی‌متر بود. این آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک کاملاً تصادفی با سه تکرار و سه گیاه در هر واحد آزمایشی اجرا شد و در ۱۵ مهرماه ۱۳۹۵ و گذر سه ماه از تنش ریشه‌ها و برگ‌های گیاهان برداشت شدند.

وزن تر اندام هوایی (بلافاصله بعد از برداشت و تمیز کردن سطح آنها) توسط ترازو دیجیتال با دقت ۰/۰۱ اندازه‌گیری شد. وزن خشک ریشه بعد از تمیز کردن سطح آنها در آون در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک و سپس با ترازو اندازه‌گیری شدند.

محتوای نسبی آب برگ (Relative Water Content) با روش Whetherley (۱۹۵۰) و با جایگذاری در معادله ۱ اندازه‌گیری شد.

(معادله ۱)

$$100 \times \frac{[FW - DW]}{[SW - DW]} = \text{محتوای نسبی آب (درصد)}$$

FW: وزن تازه برگ، DW: وزن خشک برگ و SW: وزن آماس می‌باشد.

به منظور سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئید، ۰/۵ گرم از

برگ تازه در یک هاون چینی با ۵ میلی لیتر استون ۸۰٪ ساییده

اندازه‌گیری آسکوربات پراکسیداز با روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) انجام شد. بدین منظور ۶۵ میلی‌لیتر از عصاره برگگی به ۱/۹۵ میلی‌لیتر مخلوط واکنش که شامل ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات پی‌اچ ۶؛ ۰/۱ میلی‌مولار EDTA، ۰/۵ میلی‌مولار آسکوربات و ۱ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن بود، اضافه گردید. کاهش جذب آسکوربات پراکسیداز در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت ۴ دقیقه تعیین و به ازای هر میلی‌گرم پروتئین در عصاره آنزیمی بیان شد.

جهت تهیه عصاره برای اندازه‌گیری غلظت گلیسیریزین، یک گرم از پودر خشک ریشه در ۸ میلی‌لیتر متانول ۷۰ درصد حل شد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه روی شیکر با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه، قرار گرفت. این عمل ۵ بار تکرار شد و تغلیظ نمونه‌ها در آون تهویه‌دار با درجه حرارت ۵۰ درجه سانتیگراد انجام گردید (Ahmadi-Hosseini et al., 2014). برای عصاره‌گیری، دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با ستون نوع C<sub>18</sub> فاز معکوس، ابعاد ۴/۶ میلی‌لیتر قطر و ۲۵ سانتی‌متر طول، حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر، سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه و طول موج آشکارساز ۲۵۴ نانومتر مورد استفاده قرار گرفت. فاز متحرک شامل استونیتریل-آب-اسید استیک (۵/۰:۶۲:۳۸ حجمی/حجمی) می‌باشد (Zhang et al., 1989).

در این بررسی، تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS و رسم نمودار با استفاده از نرم افزار Excel انجام گردید. مقایسات میانگین نیز به روش دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد و در صورت معنی‌دار بودن اثرات متقابل، برش‌دهی انجام و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون Ismeans صورت گرفت.

### نتایج و بحث

وزن خشک ریشه و وزن تر اندام هوایی: برهمکنش خشکی و ژنوتیپ بر وزن خشک ریشه و وزن تر اندام هوایی اثر معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد داشت (جدول ۲). نتایج برهمکنش‌ها بصورت برش‌دهی در جدول ۳ نشان می‌دهد با افزایش شدت تنش وزن خشک ریشه و وزن تر

رادیکال آزاد ۲ و ۲'-دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) استفاده گردید (Brand-Williams et al., 1995). ابتدا ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره تهیه شده را با ۵۰۰ میکرولیتر آب مخلوط شدند و سپس به مدت ۵ دقیقه با سرعت ده هزار دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. ۷۵ میکرولیتر از عصاره رویی سانتریفیوژ شده به ۰/۱ میلی‌مولار DPPH (سیگما-آلدریج) اضافه گردید. محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی قرار گرفت و جذب عصاره در طول موج ۵۱۷ نانومتر با اسپکتروفتومتر (مدل کری ۱۰۰، واریان آمریکا) قرائت گردید. فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید. (معادله ۶)

$100 \times [(عدد جذب شاهد/عدد جذب نمونه) - 1] = درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی$

جهت اندازه‌گیری ترکیبات فنلی، ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره ریشه تهیه شده با ۱/۵ میلی‌لیتر از معرف فولین ۱۰٪ (سیگما - آلدریج) مخلوط نموده و بعد از ۵ دقیقه با ۱/۲ میلی‌لیتر کرینات سدیم (۷/۵٪) به آن اضافه گردید. نمونه‌ها در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه نگهداری شدند و جذب عصاره در طول موج ۷۶۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر (مدل کری ۱۰۰، واریان آمریکا)، قرائت گردید. نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید بر ۱۰۰ گرم وزن تر محاسبه گردید (Singleton and Rossi, 1965).

به منظور تهیه عصاره برای فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی ۰/۵ گرم برگ فریز شده در ازت مایع کوبیده شد و به ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پی‌اچ ۷/۸ شامل ۰/۱ میلی‌مولار EDTA، ۰/۳٪ تریتون ایکس و پلی‌وینیل پیرولیدین ۴٪ بود اضافه گردید (Pan et al., 2003). غلظت پروتئین بر اساس روش برادفورد با سرم آلبومین گاوی به عنوان استاندارد اندازه‌گیری شد (Bradford, 1976). پس از رسم منحنی استاندارد، ۳ میلی‌لیتر محلول برادفورد به همراه ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی از هر نمونه ورتکس شده و پس از ۲۰ دقیقه غلظت پروتئین هر نمونه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر و جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد.

اندام هوایی کاهش پیدا کرد و کمترین وزن ریشه و اندام هوایی در هر دو ژنوتیپ در تیمار تنش شدید مشاهده گردید. جدول ۲- تجزیه واریانس داده‌ها در رابطه با صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دو ژنوتیپ شیرین بیان تحت تنش خشکی در مزرعه

میانگین مربعات							منابع تغییرات
کلوویل کل	کلوویل b	کلوویل a	محتوای نسبی رطوبت	وزن کل اندام هوایی	وزن خشک کل ریشه	درجه آزادی	
۰/۰۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۱۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۴*	۸/۲۹ <sup>ns</sup>	۹۱/۲۹ <sup>ns</sup>	۱۵۴/۳۱ <sup>ns</sup>	۲	بلوک
۵/۳۰**	۰/۴۲**	۲/۷۴**	۵۶/۱۸*	۴۵۶۵/۰۴**	۴۷۶۳/۶۹**	۱	ژنوتیپ
۴۸/۶۵**	۷/۷۶**	۱۷/۸۱**	۲۸۶/۱۶**	۷۱۹۴/۷۱**	۳۷۶۳/۱۲**	۳	خشکی
۱/۰۵**	۰/۴۶**	۰/۸۶**	۵۶/۶۶**	۲۸۱/۰۴*	۹۷/۰۲**	۳	ژنوتیپ×خشکی
۰/۰۳۴	۰/۰۳۵	۰/۰۰۹	۹۴/۱۰	۸۴۲/۰۸	۵۷/۸۱	۱۴	خطای آزمایش
۱/۸۱	۴/۷۵	۱/۴۹	۳/۵۹	۵/۴۲	۱۱/۰۶		ضریب تغییرات(%)

ns و \*\* و \*\*\* به ترتیب معنی‌دار و بی‌معنی در سطح ۵٪ و ۱٪

ادامه جدول ۲

میانگین مربعات							منابع تغییرات
گلیسریریزین	اسکوربات پراکسیداز	میزان فنل	آنتی‌اکسیدان کل	کاروتنوئید	درجه آزادی		
۰/۰۷۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۳ <sup>ns</sup>	۰/۱۸۰ <sup>ns</sup>	۰/۱۶۲ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۸ <sup>ns</sup>	۲	بلوک	
۶/۳۱**	۰/۰۰۳**	۷۰۴/۷۱**	۴۰/۵۶**	۱/۰۹**	۱	ژنوتیپ	
۰/۶۹**	۷/۴۶**	۲۱۰۵/۳۶**	۱۸۱۲/۶۹**	۵/۶۶**	۳	خشکی	
۰/۲۵**	۱/۱۱**	۱۶/۵۶**	۱۳۶/۹۵**	۰/۴۹**	۳	ژنوتیپ×خشکی	
۰/۰۲۸	۰/۰۰۲	۰/۰۹۵	۰/۰۵۱	۰/۰۱۷	۱۴	خطای آزمایش	
۸/۶۱	۱/۴۹	۰/۷۲	۰/۳۵	۷/۳۳		ضریب تغییرات(%)	

ns و \*\* و \*\*\* به ترتیب معنی‌دار و بی‌معنی در سطح ۵٪ و ۱٪

تنش آب، رطوبت نسبی برگ کاهش چشمگیری در هر دو ژنوتیپ نشان داد. بالاترین مقدار رطوبت نسبی برگ با میانگین ۸۷ و ۷۶ درصد در تیمار آبیاری مطلوب و همچنین پایین‌ترین درصد رطوبت نسبی با میانگین ۶۲ و ۶۳ درصد در تیمار تنش شدید به ترتیب در ژنوتیپ‌های چهارمحال و بختیاری و ایلام مشاهده شد. نتایج نشان دادند که با افزایش تنش خشکی باعث کاهش محتوای نسبی آب برگ گردید که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد (Khamari et al., 2007). یکی از سازوکارهای کارآمد گیاه به هنگام مواجهه با خشکی، برای حفظ آماس سلولی،

به‌طوریکه بیشترین میزان وزن خشک ریشه و وزن تر اندام هوایی هم در آبیاری مطلوب و هم در طی تنش در ژنوتیپ ایلام نسبت به ژنوتیپ چهارمحال و بختیاری دیده شد. به نظر می‌رسد یکی از دلایل کاهش وزن گیاهچه در پتانسیل‌های پایین آب، تحرک کم مواد غذایی و انتقال کمتر آنها از لپه‌ها به محور جنینی باشد (Tari, 2009).

**درصد محتوای نسبی رطوبت:** برهمکنش سطوح تنش بر روی ژنوتیپ‌های مختلف در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). جدول ۳ نشان می‌دهد که با افزایش شدت

تنظیم اسمزی است که این نتایج با یافته‌های حاصل از این پژوهش مطابقت دارد (Daneshiyan et al., 2006). جدول ۳- مقایسه میانگین سطوح مختلف تنش خشکی در هر ژنوتیپ و نیز مقایسه میانگین دو ژنوتیپ در هر سطح تنش خشکی بر بر صفات مرفولوژیکی و محتوای نسبی رطوبت

تیمار	وزن خشک ریشه (گرم در بوته)		وزن تر اندام هوایی (گرم در بوته)		محتوای نسبی آب (%)
	چهارمحال و بختیاری	ایلام	چهارمحال و بختیاری	ایلام	
کنترل	۸۱/۲۵±۱/۴۷a (B)	۱۱۸/۷۵±۲/۹۵a (A)	۱۶۱/۴۲±۲/۸۷a (B)	۱۹۰/۳۳±۳/۱۴a (A)	۸۷/۵۰±۱/۲۴a (A)
تنش ملایم	۶۲/۲۹±۲/۴۷b (B)	۸۷/۵۰±۲/۹۵b (A)	۱۵۰/۱۸±۳/۶۹a (B)	۱۸۰/۳۵±۴/۰۲a (A)	۷۳/۴۳±۰/۴۹ab (A)
تنش متوسط	۴۳/۷۵±۱/۹۵c (B)	۷۵/۰۰±۳/۸۵b (A)	۱۲۸/۰۱±۱/۷b (A)	۱۳۷/۴۲±۲/۶۳b (A)	۶۸/۷۳±۰/۵۳b (A)
تنش شدید	۳۱/۴۶±۳/۱۰c (B)	۵۰/۲۱±۱/۴۸c (A)	۷۸/۳۵±۱/۶۳c (B)	۱۲۰/۶۷±۷/۳۲c (A)	۶۳/۵۳±۱/۳۸c (A)

در هر صفت، میانگین‌های موجود در هر ستون که حداقل دارای یک حرف مشترک (کوچک) هستند، تفاوت معنی داری در سطح ۰/۵ آزمون دانکن ندارند (مقایسه سطوح تنش). در هر صفت، میانگین‌های موجود در هر ردیف که حداقل دارای یک حرف مشترک (بزرگ) هستند، تفاوت معنی داری در سطح ۰/۵ آزمون دانکن ندارند (مقایسه دو ژنوتیپ). ± انحراف میانگین سه تکرار را نشان می‌دهد.

می‌گردد. مقدار کاروتنوئیدها در تنش خشکی کاهش پیدا می‌کند که علت آن تخریب بتاکاروتن و تشکیل زاکزانترین می‌باشد (Sultana et al., 1999).

**فعالیت آنتی‌اکسیدانی:** برهمکنش اثر سطوح تنش و ژنوتیپ بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سطح پنج درصد معنی دار بود (جدول ۱). جدول ۵ نشان می‌دهد که با افزایش تنش خشکی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش و این افزایش در ژنوتیپ ایلام بیشتر از چهارمحال و بختیاری بود. بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۸۸/۷۵ درصد) در تنش شدید و کمترین مقدار (۴۱/۸۹ درصد) در تیمار شاهد و در ژنوتیپ ایلام مشاهده شد. آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی طبیعی شامل ترکیبات فنلی، ویتامین‌های E و C هستند که در بخش‌های مختلف گیاه، اثر سودمندی روی جمع‌آوری ROSها دارند. به طور کلی، تنش‌های غیر زیستی مسیره‌های درگیر در بیوسنتز، سه گروه متابولیت‌های ثانویه شامل ترپن‌ها، فنل‌ها و ترکیبات حاوی نیتروژن را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Mittler, 2004). کافی و همکاران (۱۳۸۲) نشان دادند که فعالیت مهار رادیکال DPPH با افزایش سطوح تنش افزایش پیدا کرد که این نتایج با

**تغییرات میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی:** نتایج نشان داد که سطوح مختلف تنش خشکی تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بر میزان کلروفیل a, b, کل و کاروتنوئیدها بر روی ژنوتیپ‌های مختلف نشان دادند (جدول ۲). اما تنش خفیف در ژنوتیپ چهارمحال و بختیاری تأثیر معنی‌داری بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی نشان نداد. با افزایش تنش خشکی در هر دو ژنوتیپ میزان کلروفیل a, b و کاروتنوئیدها کاهش یافت، به‌طوری‌که بیشترین میزان این رنگیزه‌ها در تیمارهای شاهد و کمترین مقدار در تنش شدید مشاهده شد. ژنوتیپ چهارمحال و بختیاری بیشترین مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی هم در شرایط شاهد و هم در شرایط تنش نسبت به ژنوتیپ ایلام دارد (جدول ۴). در شرایط تنش برگ‌ها ابتدا کلروزه می‌شوند و سپس شروع به ریزش می‌کنند. کاهش در مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاهان به دلیل بسته شدن روزنه‌ها و جلوگیری از بیوسنتز کلروفیل می‌باشد. تنش خشکی باعث افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کلروپلاست شده و باعث آسیب به غشا کلروپلاستی می‌شود (Zhang et al., 2003). همچنین افزایش آنزیم کلروفیل‌از منجر به کاهش مقدار کلروفیل

یافته‌های این پژوهش مطابق بود. به طور کلی، با افزایش تنش خشکی، درصد احیای رادیکال DPPH افزایش می‌یابد که این جدول ۴- مقایسه میانگین سطوح مختلف تنش خشکی در هر ژنوتیپ و نیز مقایسه میانگین دو ژنوتیپ در هر سطح تنش خشکی در رابطه با رنگیزه‌های فتوستزی

کلروفیل a		کلروفیل b		کلروفیل کل		کاروتنوئید	
صفت ←							
میکروگرم بر میلی لیتر عصاره							
ژنوتیپ	چهارمحال و ایلام	چهارمحال و ایلام	چهارمحال و ایلام	چهارمحال و ایلام	چهارمحال و ایلام	چهارمحال و ایلام	چهارمحال و ایلام
تیمار	بختیاری	بختیاری	بختیاری	بختیاری	بختیاری	بختیاری	بختیاری
کنترل	۶/۹۰±۰/۰۲۶a	۸/۱۱±۰/۰۵۱a	۳/۶۴±۰/۰۵۰a	۵/۴۲±۰/۰۵۷a	۱۰/۱۰±۰/۰۴۵a	۱۳/۳۵±۰/۰۷۱a	۳/۰۴۷±۰/۰۶۲a
	(B)	(A)	(B)	(A)	(A)	(A)	(A)
تنش ملایم	۵/۱۳±۰/۰۳۷b	۷/۸۸±۰/۰۵۴b	۳/۶۱±۰/۰۵۴a	۵/۲۵±۰/۰۹۱a	۸/۷۵±۰/۰۵۸b	۱۳/۳۰±۰/۰۳۷a	۲/۹۴±۰/۰۷۸a
	(B)	(A)	(B)	(A)	(B)	(A)	(A)
تنش متوسط	۴/۲۱±۰/۰۵۸c	۷/۱۲±۰/۰۴۳c	۳/۱۵±۰/۱۲۱b	۴/۳۷±۰/۰۳۹b	۷/۳۵±۰/۰۶۴c	۱۱/۴۸±۰/۰۳۲b	۲/۶۵±۰/۰۶۴b
	(B)	(A)	(A)	(A)	(B)	(A)	(A)
تنش شدید	۳/۷۲±۰/۰۴۹d	۶/۹۱±۰/۰۸۲d	۲/۱۱±۰/۰۷۱c	۴/۱۸±۰/۰۴۸b	۵/۸۰±۰/۰۲d	۱۱/۰۹±۰/۰۵۶c	۱/۳۸۷±۰/۰۵۸c
	(B)	(A)	(B)	(A)	(B)	(A)	(A)

در هر صفت، میانگین‌های موجود در هر ستون که حداقل دارای یک حرف مشترک (کوچک) هستند، تفاوت معنی داری در سطح ۵٪ آزمون دانکن ندارند (مقایسه سطوح تنش). در هر صفت، میانگین‌های موجود در هر ردیف که حداقل دارای یک حرف مشترک (بزرگ) هستند، تفاوت معنی داری در سطح ۵٪ آزمون دانکن ندارند (مقایسه دو ژنوتیپ). ± انحراف میانگین سه تکرار را نشان می‌دهد.

جدول ۵- مقایسه میانگین سطوح مختلف تنش خشکی در هر ژنوتیپ و نیز مقایسه میانگین دو ژنوتیپ در هر سطح تنش خشکی در رابطه با برخی آنتی‌اکسیدان‌ها

فعالیت آنتی‌اکسیدانی (%)		میزان فنل (میلی‌گرم گالیک اسید بر صد گرم)		آسکوربات پراکسیداز (تغییرات جذب بر دقیقه بر پروتئین)		گلیسیریزین (%)	
صفت ←							
ژنوتیپ	چهارمحال و ایلام	چهارمحال و ایلام	چهارمحال و ایلام	چهارمحال و ایلام	چهارمحال و ایلام	چهارمحال و ایلام	چهارمحال و ایلام
تیمار	بختیاری	بختیاری	بختیاری	بختیاری	بختیاری	بختیاری	بختیاری
کنترل	۴۱/۸۹±۱/۷۳d	۵۰/۸۰±۳/۲۵d	۲۷/۱۳±۲/۶۱d	۱۸/۷۶±۱/۲۸d	۱/۲۰±۰/۱۶۱d	۱/۲۸±۰/۰۸۵d	۱/۴۰±۰/۰۷۳b
	(B)	(A)	(A)	(B)	(A)	(A)	(B)
تنش ملایم	۵۵/۲۹±۳/۰۹c	۵۳/۱۴±۲/۰۸c	۳۸/۳۰±۳/۱۰c	۲۹/۲۵±۱/۹۶c	۱/۸۸±۰/۱۳۰c	۲/۹۷±۰/۱۰۶c	۱/۷۲±۰/۰۹۶a
	(A)	(B)	(A)	(B)	(B)	(A)	(A)
تنش متوسط	۷۶/۸۱±۲/۰۲b	۶۶/۳۸±۲/۱۲b	۷۴/۱۶±۱/۹۰a	۵۸/۴۸±۲/۰۷a	۳/۰۹±۰/۱۴۰b	۳/۰۴±۰/۰۹۶b	۱/۴۷±۰/۰۶۲ab
	(A)	(A)	(A)	(B)	(A)	(A)	(A)
تنش شدید	۸۸/۷۵±۳/۰۶a	۸۲/۰۲±۲/۳۴a	۵۲/۸۱±۲/۰۵۱b	۴۲/۵۶±۱/۰۳b	۴/۴۰±۰/۱۱۸a	۳/۳۷±۰/۱۲۳a	۱/۰۹±۰/۰۳۱c
	(A)	(B)	(A)	(B)	(A)	(B)	(B)

در هر صفت، میانگین‌های موجود در هر ستون که حداقل دارای یک حرف مشترک (کوچک) هستند، تفاوت معنی داری در سطح ۵٪ آزمون دانکن ندارند (مقایسه سطوح تنش). در هر صفت، میانگین‌های موجود در هر ردیف که حداقل دارای یک حرف مشترک (بزرگ) هستند، تفاوت معنی داری در سطح ۵٪ آزمون دانکن ندارند (مقایسه دو ژنوتیپ). ± انحراف میانگین سه تکرار را نشان می‌دهد.

خود حاکی از وجود رادیکال‌های آزاد بیشتر و قدرت احیایی محتوای فنل کل: برهمکنش تنش خشکی و ژنوتیپ اثر معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر میزان محتوای فنل کل آنتی‌اکسیدان‌ها در تنش خشکی است.

باشد.

**فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز:** نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد، در میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، برهمکنش سطوح تنش خشکی و ژنوتیپ در سطح احتمال پنج درصد معنی دار شد (جدول ۲). به طوریکه در جدول ۵ مشاهده می شود تنش خشکی در هر دو ژنوتیپ باعث افزایش فعالیت آنزیم گردید و این افزایش در ژنوتیپ ایلام چشمگیرتر می باشد. بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ( $4/4$ ) تغییرات جذب در میلی گرم پروتئین) در تنش شدید و کمترین مقدار ( $1/2$ ) تغییرات جذب در میلی گرم پروتئین) در تیمار آبیاری کامل در ژنوتیپ ایلام به دست آمد. آسکوربات پراکسیداز به عنوان یکی از آنزیم های آنتی اکسیدان سبب تجزیه هیدروژن پراکسید به آب با استفاده از آسکوربات به عنوان بستر عمل می کند. در عمل این آنزیم الکترون اضافی موجود در هیدروژن پر اکسید به دی هیدروآسکوربات منتقل شده و موجب تولید آب نیز می شود. این آنزیم نقش کلیدی در چرخه گلوکاتایون آسکوربات پراکسیداز دارا است (Nakano and Asada, 1981). افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در اثر تنش در گیاه گندم (Asada, 2006) و گیاه بابونه (Blokhina et al., 2003) گزارش شده است.

**میزان گلیسیریزین:** برهمکنش اثر سطوح تنش خشکی و ژنوتیپ بر میزان گلیسیریزین در سطح ۵ درصد معنی دار بود (جدول ۲). همانطور که در جدول ۵ مشاهده می شود بیشترین میزان گلیسیریزین به ترتیب در تیمار تنش خفیف در ژنوتیپ چهار محال و بختیاری (۳ درصد) و کمترین مقدار گلیسیریزین در تیمار شدید در ژنوتیپ ایلام (۱ درصد) مشاهده گردید. با افزایش دور آبیاری ابتدا گلیسیریزین افزایش و سپس کاهش یافت، به طوریکه این کاهش در ژنوتیپ ایلام چشمگیرتر بود. افزایش در میزان گلیسیریزین در ژنوتیپ چهارمحال و بختیاری در سطوح مختلف بالاتر از ژنوتیپ ایلام می باشد. بر اساس نتایج به دست آمده می توان بیان کرد احتمالاً در شرایطی که میزان تولید متابولیت های ثانویه به سمت تولید ترکیبات فنلی هدایت شود، میزان گلیسیریزین به عنوان ماده مؤثره مهم گیاه

موجود در ریشه شیرین بیان داشت (جدول ۲). محتوای فنل کل در هر دو ژنوتیپ تا تنش متوسط افزایش و در تنش شدید از مقدار آن کاسته شد و مقدار فنل کل در تمام سطوح تنش در ژنوتیپ ایلام بیشتر بود (جدول ۵). تنش خشکی ممکن است رشد گیاه را به علت کاهش سرعت فتوسنتز محدود کند. تحت چنین شرایطی، ترکیبات فنلی بیشتری تولید می شود. علت افزایش محتوای فنلی در گیاهان تحت تنش چنین بیان شده که گیاهان، سازوکارهای دفاعی خاصی را از قبیل افزایش غلظت فنل کل در برابر استرس اکسیداتیو به کار می گیرند. افزایش ترکیبات فنلی به این علت است که گروه های هیدروکسیل آزاد متصل به حلقه آروماتیک به وسیله جاروبگری رادیکال ها و سایر سازوکارها مانند جاروب کردن اکسیژن یگانه و کلاته کردن فلز به وسیله باند شدن یون های سمی، آسیب های اکسیداتیو ناشی از یون ها را کم کرده و به این ترتیب ساختارهای سیتوپلاسمی و کلروپلاستی را از اثر منفی تنش خشکی محافظت می کنند (Apel and Hirt, 2004). کاهش در میزان ترکیبات فنلی در تنش شدید ناشی از تخریب این ترکیبات در اثر واکنش با ترکیبات اکسیداتیو در شرایط خشکی باشد. با وجود القای سنتز ترکیبات فنلی در تیمار خشکی، احتمالاً تنش شدیدتر خشکی می تواند اثر منفی روی ویژگی های آنتی اکسیدانی گیاه داشته و باعث کاهش ترکیبات فنلی شود (Sidsel Fiskaa et al., 2009). تنش باعث تجمع ترکیبات فنلی و در نتیجه افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی می شود (Klimczak et al., 2007) که در مورد تحقیق حاضر نیز صدق می کند، به طوریکه، تغییرات ظرفیت آنتی اکسیدانی دیده شده در این تحقیق مشابه با تغییرات میزان فنل کل بوده و در هر دو مورد در تنش متوسط بیشترین مقدار دیده شد. با این وجود به دلیل تفاوت در ساختار شیمیایی و فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنلی، ممکن است با وجود بالا بودن میزان فنل، فعالیت آنتی اکسیدانی کم باشد. یا برعکس، میزان فنل کم و ظرفیت آنتی اکسیدانی (به علت وجود سایر آنتی اکسیدان های به غیر از فنل) بالا باشد که می تواند توجیهی برای تفاوت در میزان فعالیت آنتی اکسیدان و فنل کل در شرایط تنش شدید



میزان گلیسیریزین باشد ژنوتیپ چهارمحال و بختیاری در طی تنش، ژنوتیپ مطلوب‌تری به نظر می‌رسد. با فاصله‌های کشت گیاهان در این تحقیق، تراکم گیاه موجود در یک هکتار تقریباً ده هزار گیاه تخمین زده می‌شود و وزن عصاره خشک برا هر گیاه ۱۵۰ میلی‌گرم بوده و میانگین وزن خشک ریشه گیاهان در مزرعه برای گیاهان شاهد و تنش دیده به ترتیب برابر ۱۰۵ و ۵۸/۵ گرم در بوته و همچنین نشان داده شد میانگین مقدار گلیسیریزین برای هر بوته برای گیاهان شاهد و تنش دیده نیز به ترتیب ۱/۶۱ و ۲/۰۵ درصد که نشان می‌دهد عملکرد گلیسیریزین در واحد هکتار در مزرعه می‌تواند به ترتیب برای گیاه شاهد و تنش دیده به ترتیب ۲۱/۷ و ۱۴/۵ کیلوگرم در هکتار باشد.

#### سپاسگزاری

از مدیریت محترم پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه مرکزی استان اصفهان که هزینه‌های انجام این تحقیق را تأمین نمودند، سپاسگزاری می‌شود.

کاهش شیرین بیان کاهش می‌یابد. بنابراین محتوای ترکیبات فنلی ارتباط عکس با محتوای گلیسیریزین دارد و الگوی تولید این متابولیت‌ها در شرایط متفاوت محیطی در گیاه شیرین بیان تفاوت دارد (علمی و حسینی، ۱۳۹۱).

#### نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از پژوهش نشان می‌دهند که تنش خشکی باعث کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوای نسبی رطوبت و در نتیجه صفات مورفولوژیک (وزن خشک ریشه و وزن تر اندام هوایی) در دو ژنوتیپ شیرین بیان شد. همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی و آنزیمی در طی تنش به دلیل جاروب کردن ROSها افزایش یافت که نشان‌دهنده تحمل این گیاه به تنش خشکی می‌باشد. به‌طوریکه افزایش معنی‌داری در میزان فنل کل و گلیسیریزین در تنش خفیف و متوسط و کاهش آنها در تنش شدید مشاهده گردید. به نظر می‌رسد از نظر دفاع آنتی‌اکسیدانی ژنوتیپ ایلام نسبت به چهارمحال و بختیاری از پتانسیل کشت بهتری برای برخوردار بوده است و ظرفیت حذف رادیکال‌های فعال بالاتری داشتند ولی اگر هدف

#### منابع

- خان احمدی، م.، نقدی بادی، ح.، آخوند زاده، ش.، خلیقی سیگارودی، ف.، مهرآفرین، ع.، شهریاری، س. و حاجی آقایی، ر. (۱۳۹۲) مروری تحلیلی بر روش‌های جدا سازی و اندازه گیری اسید گلیسیریزیک از گیاه شیرین بیان. فصلنامه گیاهان دارویی ۲: ۱۲-۱.
- علمی، ح. و حسینی، ن. (۱۳۹۱) بررسی متوای متابولیت‌های ثانویه ریشه گیاه شیرین بیان در برخی رویشگاه‌های طبیعی استان کرمان. فصلنامه گیاهان دارویی ۱۱: ۱۴۴-۱۳۷.
- کافی، م.، کامکار، ب. و مهدوی دامغانی، ع. م. (۱۳۸۲) واکنش گیاهان زراعی به محیط رشد. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.
- Ahmadi-Hosseini, S. M., Souri, M. H., Farhadi, N., Moghadam, M. and Omidbahgi, R. (2014) Changes in glycyrrhizin content of Iranian licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) affected by different root diameter and ecological conditions. *Agriculture Community* 2: 27-33.
- Ali, B., Hayat, S., and Ahmad, A. (2007) 28-Homobrassinolide ameliorates the saline stress in chickpea (*Cicer arietinum* L). *Environmental and Experimental Botany* 59: 217-223.
- Apel, K. and Hirt, H. (2004) Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Plant Biology* 55: 373-399.
- Asada, K. (2006) Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Physiology* 141: 391-396.
- Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagerstedt, K. V. (2003) Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany* 91: 179-194.
- Bradford, M. N. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* 28: 25-30.

- Chaudhary, S. A., Gadhvi, K. V. and Chaudhary, A. B. (2010) Comprehensive review on world herb trade and most utilized medicinal plant. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology* 1: 510-517.
- Daneshiyan, G., Jabari, H. and Farokhi, A. (2006) Effects of water stress and plant density on yield and agronomic characteristics of sunflower second crop. *Proceeding of the Iranian Congress of Abstract Crop Science*, Tehran, Iran.
- Ekiz, H. and Yilmaz, A. (2003) Determination of the salt tolerance of some barley genotypes and the characteristics affecting tolerance. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 27: 253-260.
- Khamari, S., Ghasemi, K., Alyari, H. and Zehtab Salmasi, S. (2007) The effect of irrigation on phenology and yield of three sunflower cultivars in Tabriz. *Journal of Agriculture and natural resources* 14: 6. 72-80.
- Klimczak, I., Maecka, M., Szlachta, M. and Gliszczyn, A. (2007) Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *Journal of Food Composition and Analysis* 20: 313-322.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
- Mittler, R. (2004) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7: 405-410.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by accurate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22: 867-880.
- Omar, H. R., Komarova, I., El-Ghonemi, M., Fathy, A., Rashad, R., Abdelmalak, H. D., Yerramadha, M. R., Ali, Y., Helal, E. and Camporesi, E. M. (2012) Licorice abuse: Time to send a warning message. *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism* 3: 125-138.
- Ramakrishna, A. and Ravishankar, G. A. (2011) Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling and Behavior* 6: 1720-1731.
- Sabbioni, C., Mandrioli, R., Ferranti, A., Bugamelli, F., Saracino, M., Forti, G., Fanali, S. and Raggi, M. (2005) Separation and analysis of glycyrrhizin, and 18-glycyrrhetic acid in liquorice roots by means of capillary zone electrophoresis. *Journal of Chromatography* 1081: 65-71.
- Sidseel Fiskaa, H., Grethe, I., Borge, A., Knut, A. and Gunnar, B. (2009) Effect of cold storage and harvest data on bioactive compound in curly kale (*Brassica oleracea* L. var. acephala). *Potharvest Biology and Technology* 51: 36-42.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158.
- Sultana, N., Ikeda, T. and Itoh, R. (1999) Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. *Environmental and Experimental Botany* 42: 211-220.
- Tari, B. (2009) Acclimation of tomato plants to salinity stress after a salicylic acid pretreatment. *Acta Biologica Szegediensis* 46: 55-56.
- Whetherley, P. E. (1950) Studies in the water relations of cotton plants I the field measurement of water deficit in leaves. *New Phytologist* 49: 81-87.
- Zhang, S., Weng, J., Pan, J., Tu, T., Yao, S. and Xu, C. (2003) Study on the photogeneration of superoxide radicals in Photosystem II with EPR spin trapping techniques. *Photosynthesis Research* 75:41-48.
- Zhang, X. Y., Wu, R. J., Chen, J. and An, D. K. (1989) Determination of glycyrrhizin and its metabolite glycyrrhetic acid in rabbit plasma by high-performance liquid chromatography after oral administration of licorzin. *Journal of Chromatography* 495: 343-348.
- Zhu, J. K. (2001) Plant salt tolerance. *Trends in Plant Science* 6: 66-71.

## Evaluation of morphological characteristics, photosynthetic pigments and some antioxidants of two genotypes of licorice (*Glycyrrhiza glabra*) under drought stress conditions

Marjan Sadat Hosseini<sup>1,2</sup>, Davood Samsampour<sup>1\*</sup>, Morteza Ebrahimi<sup>2</sup>, Morteza Khanahmadi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran

<sup>2</sup> Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran - Isfahan Branch, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Isfahan, Iran

(Received: 05/04/2018, Accepted: 13/10/2018)

### Abstract

Licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.), is one of the herbal medicines and glycyrrhizin is to most important chemical content which is 50 times sweeter than sucrose. Drought stress is one of the limiting factors of growth and development of the plants having negative impacts on morphological and physiological processes in plants. In order to investigate the effects of different levels of drought stress on some growth, physiological and biochemical characteristics of two genotypes of licorice, an experiment was conducted in the field as a factorial experiment based on randomized complete block design with three replications. Experimental treatments included different levels of drought stress (control, 10, 20 and 30 days) and different genotypes of licorice (Chaharmahal\_Bakhtiari and Ilam). The studied parameters included: dry weights roots and fresh weights of shoot, relative water content (RWC), chlorophyll a (Chl $\alpha$ ), chlorophyll b (Chl $\beta$ ), total chlorophyll, carotenoid, antioxidant activity, total phenol content, ascorbate peroxidase (ASP) and glycyrrhizin content. The results showed that, the root dry weight, shoot fresh weights, RWC, Chl $\alpha$ , Chl $\beta$ , total chlorophyll and carotenoids were decreased significantly under drought stress. The highest antioxidant and ASP activity 88.85% and 4/4 absorbance changes in mg of protein, respectively, were recorded in Ilam genotype in intense stress. Also, the highest amount of total phenol was observed in Ilam genotype in moderate stress (59 mg Gallic acid per 100 g) and the maximum content of glycyrrhizin was observed in genotypes of Chaharmahal and Bakhtiari under mild stress (2.97%). In general, the morphological traits and antioxidant properties of Ilam genotype were higher than Chaharmahal\_Bakhtiari. However, in terms of photosynthetic pigments and glycyrrhizin content, genotype of Chaharmahal\_Bakhtiari was higher than Ilam. It seemed regarding to the antioxidant content, the Ilam genotype was superior to Chaharmahal\_Bakhtiari in drought tolerant.

**Keywords:** Antioxidant, Drought stress, Photosynthetic pigments, Licorice, Glycyrrhizin, Filed