

## اثر تنش خشکی بر صفات مورفولوژیک، میزان پرولین و درصد تیمول در آویشن (*Thymus vulgaris* L.)

کیوان بابایی<sup>۱</sup>، مجید امینی دهقی<sup>۲\*</sup>، سید علی محمد مدرس ثانوی<sup>۳</sup> و رضا جباری<sup>۱</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد رشته زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد

۲- نویسنده مسئول، استادیار، دانشکده کشاورزی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه شاهد، پست الکترونیک: Amini@shahed.ac.ir

۳- استاد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ پذیرش: دی ۱۳۸۸

تاریخ اصلاح نهایی: دی ۱۳۸۸

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۸۸

### چکیده

تنش کمبود آب به طور دائم یا موقت، در رشد و توزیع پوشش طبیعی گیاهان و در عملیات کشت، بیشتر از عوامل محیطی محدودکننده است. آویشن (*Thymus vulgaris* L.) از مهمترین گیاهان خانواده نعناع است و مصارف دارویی دارد. به منظور بررسی اثر تنش خشکی بر رشد، عملکرد و انباشت متابولیت‌های سازگاری (پرولین) و مواد مؤثره آویشن (تیمول)، آزمایشی در شرایط کنترل شده گلخانه در قالب بلوک کامل تصادفی با چهار تیمار و چهار تکرار در سال ۱۳۸۵ انجام شد. سطوح مختلف تنش خشکی شامل شرایط ۱۰۰٪ ظرفیت مزرع‌ای (شاهد یا بدون تنش)، ۸۵٪ ظرفیت مزرع‌ای (تنش ملایم)، ۷۰٪ ظرفیت مزرع‌ای (تنش متوسط)، ۵۵٪ ظرفیت مزرع‌ای (تنش شدید) بود. نتایج تجزیه‌های آماری نشان داد که تنش خشکی اثر معنی‌داری بر پارامترهای رشدی، عملکرد اندام رویشی و انباشت پرولین و درصد تیمول داشت. با افزایش تنش خشکی ارتفاع بوته، تعداد ساقه جانبی، وزن خشک و وزن تر اندام رویشی، حجم ریشه، وزن تر و خشک ریشه و طول ریشه کاهش نشان داد. درصد تیمول و میزان پرولین افزایش یافت. در ۵۵٪ ظرفیت مزرع‌ای (تنش شدید) میزان پرولین و درصد تیمول افزایش یافتند. البته عملکرد مورفولوژیک با متابولیت‌های ثانویه پرولین و تیمول رابطه عکس را با تغییرات تنش خشکی نشان داد.

واژه‌های کلیدی: آویشن (*Thymus vulgaris* L.)، پرولین، تیمول، رشد، تنش خشکی.

### مقدمه

بستگی به ژنوتیپ گیاه دارد (Bannayan et al., 2008). آب یکی از منابع کمیاب در ایران است که تحت تأثیر میزان بارندگیست. اثر تنش آبی به مدت زمان، دوام و اندازه کمبود آن بستگی دارد (Pandey et al., 2001). شناسایی زمان

خشکی یکی از مهمترین عوامل محدودکننده رشد گیاهان در سرتاسر جهان و شایعترین تنش محیطی است. به خوبی مشخص شده که اثر تنش آبی بر رشد و عملکرد

دی‌اکسیدکربن به داخل روزنه‌ها را که به علت شرایط کم‌آبی بسته‌اند کاهش دهد.

از این رو انتقال مواد فتوسنتزی نیز تحت تأثیر تنش آب قرار گرفته و موجب اشباع برگ‌ها از این مواد می‌گردد که ممکن است فتوسنتز را محدود نماید. بدیهی است که با محدود شدن فرآورده‌های فتوسنتزی در شرایط کمبود آب، رشد گیاه و نهایتاً عملکرد آن دچار نقصان می‌شود (حکمت شعار، ۱۳۷۲). Janssen و همکاران (۱۹۸۷) بیان داشتند که وزن تر و خشک گیاه آویشن اسپانیایی با افزایش تنش آبی کاهش می‌یابد. Simon و همکاران (۱۹۹۲) اثر رژیم‌های مختلف آبی را روی گیاه ریحان بررسی کرده و مشاهده نمودند که با تشدید کمبود آب وزن خشک برگ و ساقه کاهش یافت. تنش آبی ملایم (پتانسیل آب برگ  $-0/68$  - مگاپاسکال) اثر معنی‌داری بر سطح برگ نداشت اما تنش آبی متوسط (پتانسیل آب برگ  $-1/12$  - مگاپاسکال) آن را کاهش داد. Muni Ram و همکاران (۱۹۹۵) ضمن بررسی رژیم‌های مختلف رطوبت خاک بر گونه‌ای از نعنایم نتیجه گرفتند که افزایش رطوبت خاک، ارتفاع گیاه، شاخص سطح برگ و تجمع ماده خشک را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. Farooqi و همکاران (۱۹۹۹) دریافتند که تنش آبی در تمام ژنوتیپ‌های مورد آزمایش گیاه سنبل‌هندی (*Cymbopogon winterianus*) باعث کاهش عملکرد اندام رویشی، ارتفاع گیاه و سطح برگ می‌شود. Alkire و همکاران (۱۹۹۳) با بررسی اثر آبیاری کامل، آبیاری مختصر و عدم انجام آبیاری بر گیاه نعنایم فلفلی نتیجه گرفتند که تنش آبی طول میان‌گرم‌ها، ارتفاع گیاه و وزن خشک برگ، ساقه و ریشه را

بحرانی و زمان‌بندی بر مبنای یک برنامه دقیق و اساسی برای گیاه کلیدی برای نگهداری آب و بهبود عملیات آبیاری و قابلیت تحمل گیاه به کمبود آب در کشاورزیست (Ngouajio *et al.*, 2007). آب یکی از مهمترین عوامل محیطی است که تأثیر عمده‌ای بر رشد و نمو و مواد مؤثره گیاهان دارویی دارد. کمبود آب در جریان تولید گیاهان می‌تواند صدمات سنگینی به رشد و نمو و همچنین بر مواد مؤثره دارویی گیاهان وارد نماید (امیدیگی، ۱۳۷۹).

آویشن (*Thymus vulgaris* L.) یک گیاه چند ساله از خانواده نعناع و بومی مدیترانه است (Gigord *et al.*, 1999). برگ‌های کوچک نیزه‌ای سبزرنگ به طول ۶ تا ۱۲ میلی‌متر، ساقه کوتاه و چهار گوش در پایین ساقه چوبی و در بخش جوانتر سبزرنگ می‌باشد. اسانس در تمامی قسمت‌های گیاه وجود دارد ولی بیشتر در سرشاخه‌های گلدار دیده شده است. *T. vulgaris* نوع دارویی آویشن دارای خواص ضد باکتری و ضد قارچ است (Bauer & Luf, 2002). کمبود آب علاوه بر کاهش توسعه برگ می‌تواند از طریق ریزش و مرگ برگ‌ها در طول مراحل مختلف رشد بر شاخص سطح برگ ((Leaf area index (LAI) مؤثر باشد. به‌طور کلی تنش آب از طریق کاهش سطح برگ، بسته شدن روزنه‌ها، کاهش در قابلیت هدایت روزنه‌ها، کاهش در آبگیری کلروپلاست و سایر بخش‌های پروتوپلاسم (که به نحوی کارایی فتوسنتز را کاهش می‌دهد)، کاهش سنتز پروتئین و کلروفیل سبب تقلیل فرایند فتوسنتز می‌گردد. تنش آب به‌طور مستقیم می‌تواند بر فرایندهای بیوشیمیایی مربوط به فتوسنتز اثر گذاشته و به‌طور غیر مستقیم ورود

پرولین به صورت معنی‌داری افزایش یافت که مشابه نتایج Lazcano-ferrat و Lovatt (۱۹۹۹) در لویاست. Lovatt و ferrat (۱۹۹۹) با تحقیق روی گیاه سویا نیز سنتز پرولین در برگ‌ها و گرهک‌های این گیاه در اثر افزایش تنش را مشاهده نمودند.

به‌طور کلی اثر تنش آب تنها به رشد و عملکرد اسانس محدود نمی‌شود، بلکه بر کیفیت اسانس نیز تأثیر می‌گذارد. در جعفری ۱،۳۸- پی متاترینس که از ترکیب‌های اصلی است تحت تأثیر تنش خشکی، کیفیت اسانس را کاهش داد. اگرچه این کاهش به‌وسیله سایر ترکیب‌های مهم مانند میریستیکان جبران شد (Simon & Quinn, 1988). اما در رابطه با پاسخ‌های گیاه آویشن به شرایط مختلف محیطی اطلاعات کمی در دسترس است، بنابراین پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر تنش خشکی بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه آویشن انجام شد.

### مواد و روشها

این آزمایش در مرکز تحقیقات خاک و آب شهرستان سنندج با طول جغرافیایی ۴۶ درجه و ۵۹/۵۹ دقیقه شرقی، عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۱۷/۴۳ دقیقه شمالی و ۱۵۲۵ متر ارتفاع از سطح دریا در طی بهار و تابستان سال ۱۳۸۵ انجام شد. اندازه‌گیری پرولین و درصد تیمول نیز در آزمایشگاه گروه دامپروری دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس و آزمایشگاه خاک‌شناسی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان کردستان انجام شد. نشاءها از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی تهیه شد.

کاهش می‌دهد. Gasselín و Letchamo (۱۹۹۶) اثر سه رژیم رطوبتی (۹۰، ۷۰ و ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) را بر گیاه آویشن بررسی کرده و مشاهده نمودند که بالاترین مقدار (درصد) و عملکرد اسانس در شرایط ۷۰٪ ظرفیت مزرعه‌ای بدست آمد و بین رژیم‌های رطوبتی ۹۰٪ و ۵۰٪ اختلاف معنی‌داری از این نظر وجود نداشت. با اعمال چنین کنترلی بر روی وضعیت فیزیکی DNA پرولین می‌تواند همانندسازی DNA و نسخه‌برداری از آن را آسان نموده و بنابراین اثر قابل‌ملاحظه‌ای بر زنده ماندن ارگانیسما تحت شرایط تنش داشته باشد. Fatima و همکاران (۲۰۰۰) اثر تنش خشکی را بر گیاه *Cymbopogon winterianus* بررسی کرده و دریافتند که به‌رغم افزایش معنی‌دار پرولین انباشت این اسیدآمین به قدر پایین بود که نمی‌تواند نقشی را در سازگاری این گیاه به تنش آبی بازی کند.

Bajji و همکاران (۲۰۰۱) افزایش غلظت پرولین را در اثر کمبود آب در سه رقم گندم دوروم گزارش کردند. به نظر می‌رسد که تجمع پرولین آزاد یک پاسخ متداول به تنش در گیاهان عالی باشد. البته اسیدهای آمینه دیگری نیز تحت تنش‌های خشکی و شوری انباشته می‌شوند، اما درجه تغییرات آنها با تجمع پرولین که ظرف مدت کوتاهی پس از اعمال تنش به سطوح خیلی بالا می‌رسد قابل مقایسه نیست (Gzik, 1996). گزارش‌های متعددی مبنی بر وجود همبستگی مثبت بین انباشت پرولین و سازش به شرایط تنش اسمزی در گیاهان وجود دارد (Bohenert & Shen, Kuznetsov & Shevyakova, 1999). Kuznetsov و Shevyakova (۱۹۹۹) نقش مهم پرولین را در گیاهان قرار گرفته در معرض تنش‌های آبی و شوری مورد تأکید قرار داده‌اند. با کاهش پتانسیل آب میزان

است که اندازه‌گیری رطوبت در لایه‌های ۲۰ سانتی‌متری را در اعماق مختلف خاک امکان‌پذیر می‌سازد. طول منطقه‌ای که حساسه‌ی دستگاه امواج را ارسال می‌کند ۲۰ سانتی‌متر است. امواج تولید شده توسط دستگاه در محدوده‌ای در نیمرخ خاک منتشر می‌شود. عدد بدست آمده به‌عنوان رطوبت خاک ثبت می‌گردد.

بعد از پایان تنش، صفات مورفولوژیک نظیر ارتفاع بوته، تعداد ساقه‌های جانبی، وزن تر و خشک اندام رویشی اندازه‌گیری شد. برداشت بوته‌ها به منظور استخراج و اندازه‌گیری اسانس در پایان مرحله گلدهی کامل انجام شد. همچنین ریشه گیاه را بعد از قطع قسمت هوایی از گلدان‌ها بیرون آورده، شسته و عاری از خاک نموده و وزن تر و خشک، طول و حجم آن اندازه‌گیری شد. به منظور بررسی اثر تنش‌های خشکی بر برخی خصوصیات رویشی گیاه آویشن در مرحله گلدهی کامل، از هر واحد آزمایشی تعدادی بوته به‌طور تصادفی انتخاب و بوته‌های موجود در آن به همراه ریشه از خاک خارج شدند. برای اندازه‌گیری پرولین از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. غلظت پرولین نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر و به کمک غلظت‌های مشخص پرولین خالص در منحنی استاندارد به‌عنوان شاهد در طول موج ۵۲۰ نانومتر بر حسب میکروگرم بر میکرومول محاسبه گردید. برای تهیه استانداردهای پرولین با استفاده از پرولین خالص و براساس وزن مولکولی آن ۰/۱۱۵۱۳ گرم پرولین خالص را در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده و بدین صورت یک محلول ۱۰۰ پی‌پی‌ام به‌عنوان محلول مادر تهیه شد. از این محلول غلظت‌های مختلف پرولین خالص تهیه و از هر کدام ۲ میلی‌لیتر برداشته و قرائت شد. برای استخراج و اندازه‌گیری

این تحقیق به صورت یک آزمایش گلدانی در سال ۱۳۸۵ در قالب طرح بلوک کامل تصادفی، با چهار تیمار و چهار تکرار اجرا شد. تیمارهای آبیاری مورد استفاده جهت اعمال تنش آبی عبارتند از:

۱: شرایط ۱۰۰٪ ظرفیت مزرعه‌ای (شاهد یا بدون تنش)

۲: شرایط ۸۵٪ ظرفیت مزرعه‌ای (تنش ملایم)

۳: شرایط ۷۰٪ ظرفیت مزرعه‌ای (تنش متوسط)

۴: شرایط ۵۵٪ ظرفیت مزرعه‌ای (تنش شدید)

هر واحد آزمایشی از چهار گلدان تشکیل شده بود که در هر گلدان ۴ نشاء کاشته شد. برای در اختیار داشتن تعداد بیشتری بوته در هر تیمار، دو گلدان برای هر تیمار در هر تکرار در نظر گرفته شد. بنابراین در هر بلوک آزمایشی هشت گلدان وجود داشت. گلدان‌های مورد استفاده از نوع پلاستیکی با قطر دهانه ۳۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر بود.

پس از پُر کردن گلدان‌ها با خاک جهت تعیین میزان رطوبت، نمونه‌هایی از این خاک در داخل آون (۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت) قرار داده شد تا خشک شود و بدین وسیله وزن خاک خشک گلدان‌ها نیز مشخص شد. پس از نشاءکاری، گلدان‌ها به مقدار مساوی آبیاری شدند تا نشاءها در محل جدید مستقر گردند. زمان اعمال تیمار آبیاری پس از استقرار نشاءها (دو هفته پس از نشاءکاری) تا زمان تشکیل بذر بود. برای اعمال سطوح تنش خشکی از روش انعکاس‌سنجی زمانی و دستگاه TDR (Time- Domain Reflectometry), (TIMER, IMKO), استفاده شد. دستگاه TDR مورد استفاده در آزمایشها از نوع تراپم (TRIME) ساخت شرکت ایمکو (IMKO) آلمان بود. ویژگی منحصر به فرد این دستگاه حساسه‌ی متحرک آن

## نتایج

### ارتفاع بوته

نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد که تنش خشکی اثر معنی‌داری بر ارتفاع گیاه داشته است ( $P \leq 0/01$ ) (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که از نظر ارتفاع بوته بین همه تیمارها بجز تیمار تنش ملایم و متوسط اختلاف معنی‌داری وجود داشت. با کاهش میزان آبیاری (افزایش سطح تنش) قد گیاه کوتاه شد به طوری که بیشترین ارتفاع (۲۴/۸۸ سانتی‌متر) در تیمار شاهد (بدون تنش) و کمترین آن (۱۸/۸۸ سانتی‌متر) در تنش شدید مشاهده گردید (جدول ۲).

### تعداد ساقه‌های جانبی

بر اساس نتایج حاصل، اثر تنش خشکی بر تعداد ساقه‌های جانبی تأثیر معنی‌داری ایجاد نمود ( $P \leq 0/01$ ) (جدول ۱). تنش شدید (۵۵٪ ظرفیت مزرعه) تعداد ساقه‌های جانبی را کاهش داد ولی تأثیر تنش ملایم و شاهد معنی‌دار نبودند که نشان‌دهنده تحمل گیاه تا این حد از تنش است (جدول ۲).

### وزن خشک اندام رویشی

تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک اندام رویشی داشت (جدول ۱) ( $P \leq 0/01$ )، به طوری که وزن خشک اندام رویشی تحت تأثیر تنش متوسط (۷۰٪ ظرفیت مزرعه‌ای) کاهش معنی‌داری را نشان داد. بین تیمار تنش شدید (۵۵٪ ظرفیت مزرعه‌ای) و تنش متوسط تأثیر معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲).

اسانس، بوته‌ها در مرحله گلدهی کامل، از ۱/۵ سانتی‌متری بالای سطح خاک قطع و برداشت گردیدند. بوته‌های برداشت شده در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) و در سایه به مدت چهار هفته خشک شدند. سپس ۱۰ گرم ماده خشک گیاهی به روش تقطیر با آب به مدت ۲/۵ ساعت مورد اسانس‌گیری قرار گرفت (Charles & Simon, 1990). قبل از انجام اسانس‌گیری، میزان رطوبت هر نمونه با قرار دادن آن در آون (۱۰۵ درجه سانتی‌گراد) به مدت سه ساعت اندازه‌گیری شد. میزان تیمول توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی تعیین شد.

### مشخصات دستگاه کروماتوگرافی گازی

نوع ستون ۳٪ Pack OV (فاز ثابت) و طول ستون ۰/۵ تا ۲ متر بود. دمای ستون از ۶۰ تا ۱۶۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت افزایش دما به میزان ۸ درجه در دقیقه بود که ۵ دقیقه در ۱۶۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. دمای محل تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و نوع دتکتور FID بود. حجم تزریق ۰/۱ میکرولیتر و گاز حامل ازت بود. برای تهیه استاندارد از تیمول خالص آلدریچ استفاده شد. از اسانس نمونه‌های رقیق شده با اتانول ۹۶٪ تهیه و ۲ میکرولیتر به دستگاه تزریق شد و از روی مانیتور سطح زیر پیک مربوط به تیمول قرائت گردید و در معادله رگرسیون حاصل از استاندارد درصد تیمول مشخص شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها پس از نمونه‌برداری و اندازه‌گیری صفات ذکر شده، توسط نرم‌افزار SAS 9 انجام شد. مقایسه میانگین نیز به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن ( $P \leq 0/05$ ) انجام شد. همچنین رسم نمودارها و جدولها توسط نرم‌افزارهای Excel انجام شد.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات آویشن (*Thymus vulgaris L.*) تحت تنش خشکی

میانگین مربعات											
منابع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع بوته	ساقه جانبی	وزن تر اندام رویشی	وزن خشک اندام رویشی	حجم ریشه	طول ریشه	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	پرولین	تیمول
تکرار	۳	۰/۱۸ <sup>ns</sup>	۱۲/۶۲ <sup>ns</sup>	۰/۲۵۲ <sup>ns</sup>	۰/۲۰۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۷ <sup>ns</sup>	۰/۲۹ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۱ <sup>ns</sup>	۱/۵۴ <sup>ns</sup>
تنش خشکی	۳	۲۴/۵ <sup>**</sup>	۱۷۶۷/۱ <sup>**</sup>	۷/۵۰۵ <sup>**</sup>	۰/۹۰۳ <sup>**</sup>	۰/۴۴۵ <sup>**</sup>	۳/۱۲ <sup>**</sup>	۲/۸۶ <sup>**</sup>	۰/۳۵۰ <sup>**</sup>	۱/۲ <sup>**</sup>	۱۷۸/۶۴ <sup>**</sup>
اشتباه آزمایشی	۹	۰/۶۴۵	۱۱/۲۰	۰/۱۷۸	۰/۰۳۴	۰/۰۰۵	۰/۲۵	۰/۰۱	۰/۰۰۴	۰/۰۰۰۹	۰/۹۶
ضریب تغییرات		۳/۶۲	۷/۷۹	۱۱/۸	۱۰/۵	۳/۵۸	۴/۰۸	۳/۲	۲/۸۶۰	۵/۴	۱/۵۹

ns, \*, \*\* به ترتیب به معنی غیر معنی دار، معنی دار در سطح ۵٪ و ۱٪.

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات آویشن (*Thymus vulgaris* L.) تحت تنش خشکی

سطوح تنش خشکی	ارتفاع بوته (cm)	تعداد ساقه‌های جانبی	وزن تر پیکره رویشی (g)	وزن خشک پیکره رویشی (g)	حجم ریشه (cm <sup>3</sup> )	طول ریشه (cm)	وزن تر ریشه (g)	وزن خشک ریشه (g)
شاهد	۲۴/۸۸ a	۶۱/۰۵ a	۵/۵۶ a	۲/۴۳ a	۲/۵۰ a	۱۳/۳۸ a	۳/۹۳ a	۲/۷۸ a
تنش ملایم	۲۲/۵۰ b	۵۱/۷۵ a	۳/۳۱ b	۱/۸۱ b	۲/۱۹ b	۱۲/۳۸ b	۳/۴۳ b	۲/۴۹ b
تنش متوسط	۲۲/۵۰ b	۳۵/۵۳ b	۲/۸۳ bc	۱/۵۳ bc	۲/۱۳ b	۱۲/۰۰ bc	۳/۲۰ c	۲/۲۳ c
تنش شدید	۱۸/۸۸ c	۱۶/۶۳ c	۲/۵۵ c	۱/۳۴ c	۱/۶۹ c	۱۱/۲۵ c	۱/۹۴ d	۲/۱۲ d

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

### حجم ریشه

نتایج نشان داد که تنش خشکی اثر معنی‌داری بر حجم ریشه داشته است ( $P \leq 0/01$ ) (جدول ۱). همچنین مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش تنش خشکی، حجم ریشه کاهش یافت، به طوری که بیشترین و کمترین میزان آن به ترتیب در تیمار شاهد و تیمار تنش شدید (۵۵٪ ظرفیت مزرعه‌ای) مشاهده شد (جدول ۲). بین همه تیمارها بجز تیمار تنش ملایم و متوسط از نظر حجم ریشه اختلاف معنی‌داری وجود داشت.

نتایج نشان داد که تنش خشکی اثر معنی‌داری بر حجم ریشه داشته است ( $P \leq 0/01$ ) (جدول ۱). همچنین مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش تنش خشکی، حجم ریشه کاهش یافت، به طوری که بیشترین و کمترین میزان آن به ترتیب در تیمار شاهد و تیمار تنش شدید (۵۵٪ ظرفیت مزرعه‌ای) مشاهده شد (جدول ۲). بین همه تیمارها بجز تیمار تنش ملایم و متوسط از نظر حجم ریشه اختلاف معنی‌داری وجود داشت.

### پرولین

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان می‌دهد که تنش خشکی اثر معنی‌داری بر میزان پرولین برگ‌ها داشته است ( $P \leq 0/01$ ) (جدول ۱). بدین ترتیب که با کاهش میزان آبیاری، تجمع پرولین در برگ‌ها افزایش یافت. به طوری که مقدار میانگین عملکرد پرولین در تیمار تنش آبی شدید، متوسط، ملایم و شاهد به ترتیب کاهش نشان داد (شکل ۱).

### طول ریشه

اعمال تنش خشکی در آویشن اثر معنی‌داری ( $P \leq 0/01$ ) روی طول ریشه داشت (جدول ۱)، به طوری که با افزایش تنش رشد طولی ریشه کاهش نشان داد. زیرا مقایسه میانگین‌ها نشان داد بین شاهد و تنش ملایم و همچنین تنش‌های ملایم و شدید اختلاف معنی‌دار وجود داشت ولی بین تنش‌های ملایم و متوسط و همچنین متوسط و شدید برای طول ریشه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲).

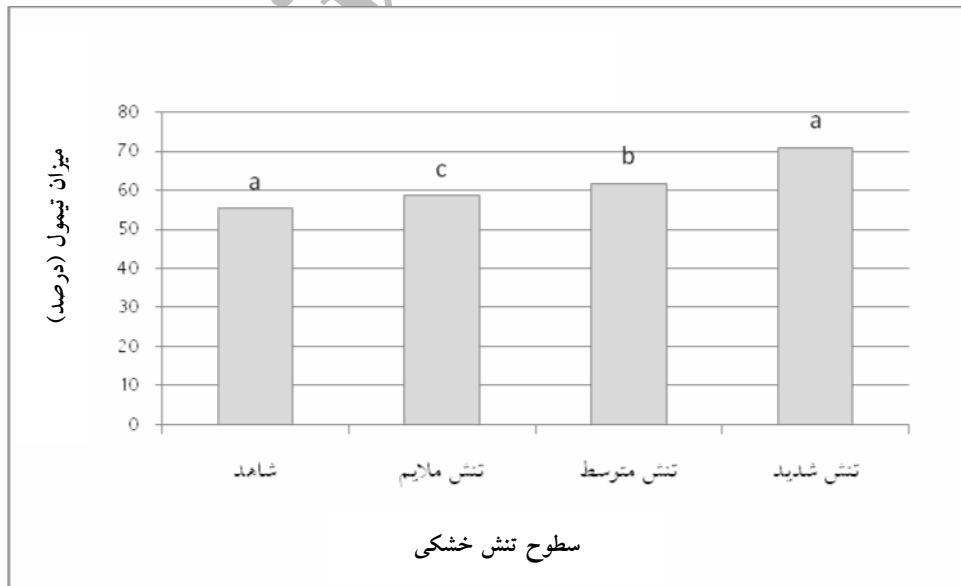


شکل ۱- اثر سطوح تنش خشکی بر میزان تجمع پرولین در برگ‌های آویشن (*Thymus vulgaris L.*)

### تیمول

میانگین‌ها در سطوح مختلف تنش خشکی نشان داد که با افزایش تنش، درصد تیمول نیز افزایش یافت (شکل ۲).

بررسی‌ها نشان می‌دهد که تنش خشکی روی درصد تیمول اثر معنی‌دار داشته است ( $P \leq 0/01$ ) (جدول ۱) و مقایسه



شکل ۲- اثر سطوح تنش خشکی بر میزان تیمول آویشن (*Thymus vulgaris L.*)



## بحث

شناسایی زمان بحرانی و زمان‌بندی بر مبنای یک برنامه دقیق و اساسی برای گیاه، کلید نگهداری آب و بهبود عملیات آبیاری و قابلیت تحمل گیاه به کمبود آب در کشاورزیست (Ngouajio *et al.*, 2007). Igbadun و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که عملکرد گیاه پاسخی به میزان کارایی آب در مراحل مختلف رشد گیاه و بکارگیری آب در سرتاسر فصل رشد گیاه است. در این تحقیق با افزایش سطوح تنش خشکی پارامترهای رشدی گیاه کاهش یافت. Petropoulos و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که افزایش سطح تنش آبی سبب کاهش وزن تر برگ، تعداد برگ و وزن ریشه جعفری شد. همچنین عملکرد اسانس با افزایش تنش خشکی افزایش یافت. به طوری که تنش خشکی موجب کاهش بیوماس در برگ‌ها، وزن ریشه و تعداد برگ در گیاه شد. این مسئله احتمالاً نتیجه اختلال در فتوسنتز تعرق و فرایندهای متابولیکی گیاه است (Jones & Tardieu, 1998; Sarker *et al.*, 2005). در اثر تنش خشکی غشاء اصلی فرو می‌پاشد و میزان چربی غشاء همبستگی با محدودیت بیوسنتز چربی دارد (Pham-Thi *et al.*, 1987; Monteiro de Paula *et al.*, 1990, 1993). Bettaieb و همکاران (۲۰۰۹) تأثیر خشکی را بر ساقه‌های مریم‌گلی سبب نازک‌تر و خشک‌تر شدن آن و همچنین برگهای گیاه تنش‌دیده را نسبت به شاهد کوچکتر گزارش کردند. همچنین تنش خشکی روی ارتفاع گیاه اثر معنی‌داری داشت به طوری که این تأثیر در تنش شدید بیشتر مطرح شد. با افزایش تنش خشکی وزن تر و وزن خشک نسبت به شاهد کاهش نشان داد. این کاهش می‌تواند تحت تأثیر

تخصیص بیشتر بیوماس تولیدی گیاه به سمت ریشه‌ها (Albouchi *et al.*, 2003) و یا در اثر کاهش میزان کلروفیل II و یا بازدهی فتوسنتز باشد که توسط Viera و همکاران (۱۹۹۱) نیز گزارش شده است، رخ داده باشد. کمبود آب در گیاهان می‌تواند سبب اختلالات فیزیولوژیکی، همچون کاهش فتوسنتز و تنفس شود (Bruneton, 1999).

کمبود آب موجب کاهش تورژسانس سلولی شده و در نهایت کاهش رشد و توسعه سلول به خصوص در ساقه و برگ‌ها را بدنبال خواهد داشت. با کاهش رشد سلول اندازه اندام محدود می‌شود و به همین دلیل است که اولین اثر محسوس کم آبی روی گیاه را می‌توان از روی کاهش ارتفاع یا اندازه کوچک‌تر برگ‌ها تشخیص داد. تأثیر کوتاه شدن گیاه به سبب تنش آبی توسط Alkire و همکاران (۱۹۹۳) در نعناع، Farooqi و همکاران (۱۹۹۹) در *Cymbopogon winteriannius* Fatima و همکاران (۱۹۹۹) در *Cymbopogon martini* گزارش شده است.

Misra و Srivastava (۲۰۰۰) در تحقیقی بر روی گیاه نعناع ژاپنی مشاهده کردند که تنش خشکی باعث کاهش معنی‌داری در سرعت تبادل گاز دی‌اکسیدکربن، سطح کل آسیمیلسیون کننده و ماده تر و خشک گیاه می‌گردد. در این تحقیق طول ریشه کاهش نشان داد. بررسی لباسچی و شریفی عاشورآبادی (۱۳۸۳) بر شاخصهای رشدی بومادران تحت تنش خشکی نیز کاهش معنی‌داری در طول ریشه نشان داد، به طوری که طول ریشه در شرایط آبیاری افزایش و در شرایط تنش در گلدان کاهش یافت. در گیاهان معطر مانند آویشن تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر تیمول در اسانس دارد. به عنوان مثال، کمبود آب در عملکرد اسانس

که مشابه نتایج Lovatt و Lazcano-ferrat (۱۹۹۹) است. هنگامی که گیاهان به وسیله خشکی، شوری، دماهای پایین و سایر فاکتورهایی که باعث کاهش پتانسیل آب شیره سلولی می‌شوند تحت تأثیر قرار می‌گیرند، باید غلظت اسمولیت‌هایشان را افزایش دهند تا جذب آب تحت شرایط تنش ادامه پیدا کند (تنظیم اسمزی). در بین اسمولیت‌های آلی، پرولین احتمالاً فراوانترین و عمومی‌ترین ماده حل شده سازگار است که تجمع می‌یابد (Kuznetsov & Fatima, 1999). Shevyakova, 1999. همکاران (۲۰۰۰) در *Cymbopogon winterianus*، Bajji و همکاران (۲۰۰۱) بر روی سه رقم گندم نتیجه مشابهی را گزارش کردند. بنابراین نتایج تحقیق حاضر، گزارشهای این محققان را مورد تأیید قرار می‌دهد.

به‌عنوان نتیجه‌گیری نهایی می‌توان گفت تمامی فرایندهای مهم مانند تغذیه، فتوسنتز، باز و بسته شدن روزنه‌ها و رشد و نمو تحت تأثیر آب قرار می‌گیرند. گیاهان در محیط دائماً در تنش بسر می‌برند و برای سازگاری با این شرایط، تغییرات مورفولوژیک و فیزیولوژیک در ساختار و ترکیب‌ها و فرایندهای شیمیایی ایجاد می‌کنند تا با این تنش‌ها مقابله نمایند. شناخت و مهارت در روابط آبی گیاه و تحمل تنش خشکی اصلی‌ترین برنامه در کشاورزی و توانایی مقاومت در برابر این گونه تنش‌ها دارای اهمیت اقتصادی فراوانی است. نتایج این تحقیق نشان داد که آویشن مانند بیشتر گیاهان عکس‌العمل فیزیولوژیک و مورفولوژیک به تنش نشان می‌دهد. به‌طوری که با افزایش تنش از بیوماس آویشن کاسته می‌شود ولی پرولین و تیمول افزایش می‌یابد که نوعی سازگاری گیاه به شرایط تنش محسوب می‌شود و

رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) و انیسون (*Pimpinella anisum* L.) عملکرد اسانس را تغییر داد ولی در رزماری بر ترکیبهای اسانس تأثیری نداشت (Singh & Ramesh, 2000؛ Zehtab-Salmasi et al., 2001). همچنین تنش خشکی تأثیر مثبتی بر فلفل (*Capsicum annuum* L. var. *annuum*) و سبب افزایش ترکیبهای فنولیک و افزایش تندی آن شد (Estrada et al., 1999). علاوه بر این، تنش خشکی تأثیر معنی‌داری در رشد و عملکرد اسانس در سنبل هندی (*Cymbopogon winterianus* juwit) در هر جریب زمین شد (Fatima et al., 2000). در رزماری سطوح رطوبتی آب تأثیری بر کیفیت اسانس نداشت (Singh & Ramesh, 2000). Bettaieb و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که کمبود آب بر رشد، اسیدهای چرب، عملکرد اسانس و ترکیبهای مریم‌گلی تأثیر معنی‌دار دارد. به‌طوری که تنش متوسط عملکرد اسانس را افزایش داد (در ۱۰۰ گرم ماده خشک) و ترکیبهای اصلی اسانس از جمله کامفور، آلفا توژن و ۸،۱-سینول در تنش متوسط آبی افزایش نشان داد. بنابراین، متابولیت‌های ثانویه گیاهان تحت تأثیر فاکتورهای محیطی و کمبود آب که اصلی‌ترین جنبه فیزیولوژی و بیوشیمی گیاهان است می‌تواند تحت تأثیر قرار گیرد (Charles et al., 1994). در مورد گیاهان دارویی، خشکی ممکن است اثر معنی‌داری در برخی از عملکرد متابولیتها و ترکیبها داشته باشد (Petropoulos et al., 2008).

Hendawy و Khalid (۲۰۰۵) گزارش کردند که تغییرات در عملکرد اسانس و ترکیبهای آن ناشی از فعالیت آنزیمها و بهبود متابولیسم است. با کاهش پتانسیل آب میزان پرولین برگهای آویشن به صورت معنی‌داری افزایش یافت

- ovata* and *Nigella sativa* under different irrigation treatments. *Industrial Crops and Products*, 27: 11-16.
- Bates, I.S., Waldern, R.P. and Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free prolin for water stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-207.
  - Bauer, F. and Luf, W., 2002. Antioxidative effects of herbs in meat products II-slow down in fat changes. Institute for Applied Botany, University of Veterinary Medicine, Vienna, Funktionelle Pflanzenstoffe in der Veterinarmedizin, Vienna.
  - Bettaieb, I., Zakhama, N., Aidi Wannas, W., Kchouk M.E. and Marzouk, B., 2009. Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition. *Scientia Horticulturae*. 120: 271-275.
  - Bohner, H.J. and Shen, B., 1999. Transformation and compatible solutes. *Scientia Horticulturae*, 78: 237-260.
  - Bruneton, J., 1999. *Pharmacognosy, Phytochemistry Medicinal Plants*. Lavoisier Intercept, London, UK, 117-118.
  - Charles, D. J. Simon, J. E. 1990. Comparison of extraction methods for the rapid determination of essential oil content and composition of basil. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 115(3): 458-462.
  - Charles, O., Joly, R. and Simon, J.E., 1994. Effect of osmotic stress on the essential oil content and composition of peppermint. *Phytochemistry*, 29: 2837-2840.
  - Estrada, B., Pomar, F., DoˆA az, J., Merino, F. and Bernal, M.A., 1999. Pungency level in fruits of the Padron pepper with different water supply. *Scientia Horticulturae*, 81: 385-396.
  - Farooqi. A.H.A., Fatima, S., Ansari, S.R. and Sharma, S., 1999. Effect of water stress on growth and essential oil metabolism in *Cymbopogon martini* (plamerosa) cultivars. *Journal of Essential Oil Research*, 11: 491-496.
  - Fatima, S., Farooqi. A.H.A, Ansari, S.R. and Sharma, S. 1999. Effect of water stress on growth and essential oil metabolism in *Cymbopogon martini* (plamerosa) cultivars. *Journal of Essential Oil Research*, 11: 491-496.
  - Fatima, S.F., Farooqi, A.H.A. and Srikant, S., 2000. Effect of drought stress and plant density on growth and essential oil metabolism in citronella java (*Cymbopogon winterianus*). *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences*, 22 (1B): 563-567.
  - Gigord, L., Lavigne, C., Shykoff, J.A. and Atlan, A., 1999. Evidence for effects of restorer genes on male and female reproductive functions of hermaphrodites

روی میزان اسانس و میزان ماده مؤثره تأثیر می‌گذارد و شاید بتوان در شرایط مدیریتی در مقطعی از رشد گیاه از این راهبرد برای افزایش ماده مؤثره استفاده کرد.

## سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری و مساعدت مسئولان آزمایشگاه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد و آزمایشگاه علوم دام دانشکده تربیت مدرس و مؤسسه خاک و آب شهرستان سنندج به سبب فراهم‌سازی امکانات و راهنمایی‌های ارزنده‌شان سپاسگزاری می‌گردد.

## منابع مورد استفاده

- امیدبگی، ر.، ۱۳۷۹. رهیافتهای تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد اول، چاپ دوم، انتشارات طراحان نشر، تهران، ۲۸۳ صفحه.
- حکمت شعار، ح.، ۱۳۷۲. فیزیولوژی گیاهان در شرایط دشوار. انتشارات نیکنام، تبریز، ۲۵۱ صفحه.
- لباسچی، م.ح. و شریفی عاشورآبادی، ا.، ۱۳۸۳. شاخصهای رشد بدنی گونه‌های گیاهان دارویی در شرایط مختلف تنش خشکی، تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۰(۳): ۲۶۱-۲۴۹.
- Albouchi, A., Bejaoui, Z. and El Aouni, M.H., 2003. Influence d'un stress hydrique mode' re' ou se've' re' sur la croissance de jeunes plants de *Casuarina glauca*. *Se'cheresse*, 14: 137-142.
- Alkire, B.H., Simon, J.E., Palevitch, D. and Putievsky, E., 1993. Water management for midwestern peppermint (*Mentha piperita* L.) growing in highly organic soil. *Indiana, USA. Acta Horticulture*, 344: 544-556.
- Bajji, M., Lutts, S. and Kinet, J.M., 2001. Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Sciences*, 160: 669-681.
- Bannayan, M., Nadjafi, F., Azizi, M., Tabrizi, L. and Rastgoo, M., 2008. Yield and seed quality of *Plantago*

- Muni Ram, D. and Singh, S., 1995. Irrigation and nitrogen requirements of Bergamot min on a sandy loam soil under sub-tropical conditions. *Agricultural water management*, 27: 45-54.
- Ngouajio, M., Wang, G. and Goldy, R., 2007. Withholding of drip irrigation between transplanting and flowering increases the yield of field-grown tomato under plastic mulch. *Agricultural water management*, 87: 285-291.
- Pandey, R.K., Maranville, J.W. and Admou, A., 2001. Tropical wheat response to irrigation and nitrogen in a Sahelian environment. I. Grain yield, yield components and water use efficiency. *European Journal of Agronomy*, 15: 93-105.
- Petropoulos, S.A., Dimitra, D., 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. *Scientia Horticulturae*, 115: 393-397.
- Pham-Thi, A.T., Borrel-Flood, C., Vieira da Silva, J., Justin, A.M. and Mazliak, P., 1987. Effects of drought on [1-14C]-oleic and [1-14C]-linoleic acid desaturation in cotton leaves. *Plant Physiology*, 69: 147-150.
- Sarker, B.C., Hara, M. and Uemura, M., 2005. Proline synthesis, physiological responses and biomass yield of eggplants during and after repetitive soil moisture stress. *Science Horticulture*, 103: 387-402.
- Simon, J.E., Bubenheim, R.D., Joly, R.J. and Chrls, D.J., 1992. Water stress induced alternations in essential oil content and composition of sweet basil. *Journal of Essential Oil Research*, 4: 71-75.
- Simon, J.E. and Quinn, J., 1988. Characterization of essential oil of parsley. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 36: 467-472.
- Singh, M. and Ramesh, S., 2000. Effect of irrigation and nitrogen on herbage, oil yield and water-use efficiency in rosemary grown under semi-arid tropical conditions. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences*, 22 (1B): 659-662.
- Viera, H.J., Bergamaschi, H., Angelocci, L.R. and Libardi, P.L., 1991. Performance of two bean cultivars under two water availability regimes. II. Stomatal resistance to vapour diffusion, transpiration flux density and water potential in the plant (in Portugal). *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 9: 1035-1040.
- Zehtab-Salmasi, S., Javanshir, A., Omidbaigi, R., Aly-Ari, H. and Ghassemi- Golezani, K., 2001. Effects of water supply and sowing date on performance and essential oil production of anise (*Pimpinella anisum* L.). *Acta Agronomy Hungarica*, 49(1): 75-81.
- in the gynodioecious species *T. vulgaris* L. *Journal of Evolutionary Biology*, 12(3): 596-604.
- Gzik, A., 1996. Accumulation of prolin and pattern of  $\alpha$ -amino acids in sugar beet plants in response to osmotic, water and salt strees. *Environmental and experimental botany*, 36(1): 29-38.
- Hendawy, S.F. and Khalid, Kh.A., 2005. Response of sage (*Salvia officinalis* L.) plants to zinc application under different salinity levels. *Journal of Applied Sciences Research*, 1: 147-155.
- Igbadun, H.E., Mahoo, H.F., Tarimo, A.K.P.R., Salim, B.A., 2006. Cropwater productivity of an irrigated maize crop in Mkoji sub-catchment of the Great Ruaha River Basin Tanzania. *Agricultural Water Management*, 85: 141-150.
- Jones, H.G., Tardieu, F., 1998. Modeling water relations of horticultural crops: a review. *Scientia Horticulture*, 74: 21-46.
- Janssen, A.M., Scheffer, J.J.C. and Baerheim Svendsen, A., 1987. Antimicrobial activity of essential oils. A 1976-1986, literature review. *Planta Medica*, 53(5): 395-397.
- Kuznetsov, Vi.V. and Shevyakova, N.L., 1999. prolin under stress: Biological role metabolism and regulation. *Russian Journal of Plant Physiology*, 46(2): 274-287.
- Lazcano-ferrat, I. and Lovatt, C.J., 1999. Relationship between reative water content, nitrogen pools and growth of *Phaseolus vulgaris* L. and *p. acutifolius* A. Gray during water deficit. *Crop Science*, 39: 467-475.
- Letchamo, W. and A. Gasselin., 1996. Transpiration, essential oil glands, epicuticular wax and morphology of *Thymus valgaris* are influenced by light intensity and water supply. *Journal of Horticultural Science*, 71(1): 123-134.
- Misra, A. and Srivastava, N.k., 2000. Influence of water stress on Japanese mint. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, 7: 51-58.
- Monteiro de Paula, F., Pham Thi, A.T., Vieira da Silva, J., Justin, A.M., Demandre, C. and Mazliak, P., 1990. Effects of water stress on the molecular species composition of polar lipids from *Vigna unguiculata* (L.) Walp. leaves. *Plant Science*, 66: 185-193.
- Monteiro de Paula, F., Pham Thi, A.T., Zuily Fodil, Y., Ferrari-Iliou, R., Vieira da Silva, J., Perry, N.B., Anderson, R.E., Brennan, N.J., Douglas, M.H., Heaney, A.J., McGimpsey, J.A. and Smallfield, B.M., 1993. Essential oils from dalmatian sage (*Salvia officinalis* L.): variations among individuals, plant parts, seasons and sites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 2048-2054.

## Water deficit effect on morphology, prolin content and thymol percentage of Thyme (*Thymus vulgaris* L.)

K. babaee<sup>1</sup>, M. Amini Dehaghi<sup>2\*</sup>, S.A.M. Modares Sanavi<sup>3</sup> and R. Jabbari<sup>1</sup>

1- MSc Student, Department of agronomy and plant breeding, Agricultural College, University of Shahed, Tehran, Iran

2\*- Corresponding author, Department of agronomy and medicinal plants research center, Agricultural College, University of Shahed, Tehran, Iran, E-mail: Amini@shahed.ac.ir

3- Department of agronomy, Agricultural College, University of Tarbiat modares, Tehran, Iran

Received: April 2009

Revised: December 2009

Accepted: December 2009

### Abstract

Water deficit stress, permanent or temporary, limits the growth and the distribution of natural vegetation and the performance of cultivated plants more than any other environmental factors. Mechanism involved is still not clear. Thyme (*Thymus vulgaris* L.) is an important medicinal plant in perfume and medical industry. In this research, the effects of water deficit stress on growth, yield, metabolites compatible (prolin) and oil composition of thyme (thymol) were studied. Complete randomized block design with 4 treatments and 4 replications have been used in 2006. Water deficit levels included control (100% field capacity), mild stress (85% field capacity), medium stress (70% field capacity) and severe stress (55% field capacity). The statistical analysis showed that water deficit had significant effect on growth parameters, yield biomass, prolin and thymol. Water stress decreased plant height, number of secondary branches, dry and fresh weight growth and root mass, dry and fresh weight root and length root. In addition, thymol percentage and prolin content increased with severe stress (55% field capacity). Morphological yield with secondary metabolites prolin and thymol were observed with water deficit changes.

**Key words:** Thyme (*Thymus vulgaris* L.), prolin, thymol, growth, water deficit stress.