مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۱۰ شماره ۳ صفحه های ۲۲۳ تا ۲۳۴ (۱۳۸۸)

تاثير تنش خشكي بر عملكرد، ميزان پرولين، قندهاي محلول، كلروفيل، محتواي نسبي آب و ميزان اسانس در نعناع فلفلي (*Mentha piperita* L.)[1]

EFFECT OF DROUGHT STRESS ON YIELD, PROLINE CONTENTS, SOLUBLE SUGARS, CHLOROPHYLL, RELATIVE WATER CONTENTS AND ESSENTIAL OIL IN PEPPERMINT (*MENTHA PIPERITA* L.)

زهرا ايزدي، محمود اثني‌عشري و گودرز احمدوند[2]

چكيده

در اين پژوهش تاثير تنش خشكي بر ويژگي‌هاي فيزيولوژيك گياه دارويي نعناع فلفلي (*Mentha piperita* L.)، در سال ۱۳۸۷ در مزرعه پژوهشي دانشكده كشاورزي دانشگاه بوعلي سينا مورد بررسي قرار گرفت. آزمايش به صورت بلوك‌هاي كامل تصادفي با ۴ تكرار با منظور نمودن تيمارهاي T_1 (بدون تنش)، T_2 (۸۰% ظرفيت مزرعه[3])، T_3 (۶۰% ظرفيت مزرعه)، T_4 (۴۰% ظرفيت مزرعه) و T_5(۲۰% ظرفيت مزرعه) اجرا گرديد. نتايج آزمايش نشان داد كه تاثير تنش خشكي بر عملكرد تر و خشك، كلروفيل a، كلروفيل b، پرولين، قندهاي محلول، محتواي نسبي آب[4] و درصد و عملكرد اسانس معني‌دار بود. تاثير تنش خشكي بر كلروفيل كل معني‌دار بود. مقايسه ميانگين تيمارها نشان داد كه بيشترين عملكرد تر و خشك به ترتيب با ميانگين ۱۴۳۱۱ و ۸۹۱۲/۲۵ كيلوگرم در هكتار در تيمار T_1 (شاهد) به دست آمد. بيشترين ميزان كلروفيل a و كلروفيل كل به ترتيب با ميانگين ۱/۹۸۷ و ۲/۳۲۱ ميلي‌گرم در ليتر در تيمار T_1 (شاهد) و بيشترين ميزان كلروفيل b با ميانگين ۱/۱۹۸ ميلي‌گرم در ليتر در تيمار T_5 (۲۰% ظرفيت مزرعه) به دست آمد. بيشترين تجمع پرولين با ميانگين ۲/۲۵۸ ميلي‌گرم در ليتر مربوط به تيمار T_5 (۲۰% ظرفيت مزرعه) بود. بالاترين مقدار قند محلول با ميانگين ۲/۵۲۳ ميلي‌گرم در ليتر در تيمار T_3 (۶۰% ظرفيت مزرعه) به دست آمد. حداكثر محتواي نسبي آب با ميانگين ۹۷/۱۲۳% مربوط به تيمار T_1 (بدون تنش) بود. همچنين بالاترين ميزان اسانس متعلق به تيمار T_3 (۶۰% ظرفيت مزرعه) بود. نتايج اين بررسي نشان داد كه گياه براي مقاومت به خشكي مقدار پرولين و قندهاي محلول را افزايش مي‌دهد و به منظور توليد گياه نعناع فلفلي مي‌توان از تنش ملايم استفاده نمود.

واژه‌هاي كليدي: اسانس، پرولين، تنش خشكي، عملكرد، قندهاي محلول، كلروفيل، محتواي نسبي آب، نعناع فلفلي.

۱- تاريخ دريافت: ۸۸/۲/۱۹ تاريخ پذيرش: ۸۸/۷/۱۵

۲- به ترتيب دانشجوي كارشناسي ارشد زراعت، دانشيار گروه علوم باغباني و استاديار گروه زراعت، دانشكده كشاورزي، دانشگاه بوعلي سينا، همدان، جمهوري اسلامي ايران.

۳- Field capacity ۴- Relative water content

مقدمه

نعناع فلفلي[1] متعلق به تيره نعناع سانان[2] گونه‌اي دو رگه بوده و از تلاقي بين گونه‌هاي منتا آكواتيكا[3] و منتا اسپيكاتا[4] به دست آمده است. قسمت مورد استفاده آن برگ، سرشاخه‌هاي جوان و اسانس گياه مي‌باشد (۲). اسانس اين گياه از ابتداي رشد در اندام‌هاي رويشي ساخته شده و در كرك‌هاي غده مانند ذخيره مي‌شود. تعداد كرك‌ها در برگ‌هاي كوچك كمتر و در برگ‌هاي طويل بيشتر مي‌باشد. ساقه‌ها به طور معمول فاقد اسانس هستند (۲۹). برگ‌هاي نعناع فلفلي محتوي اسانس است كه مهمترين اجزاء آن را منتول[5]، منتون[6] و متيل استات[7] تشكيل مي‌دهند (۱۲). ساير تركيب هايي كه در اين گياه يافت مي‌شوند، شامل فلاونوييدها، پلي فنل‌هاي پليمريزه شده، كاروتن[8]، آلفا توكوفرول[9]، بتايين[10] و كولين[11] مي‌باشند (۳۱). از اين تركيب ها تاكنون به عنوان آنتي‌سپتيك، تب‌بر، ضد اسپاسم، ضد استفراغ، ضد نفخ، معرق، ضد درد، ضد اسهال، ضد ميكروب و همچنين درمان سندرم روده تحريك پذير، بيماري‌هاي التهابي روده، التهاب و نارسايي كيسه صفرا و مشكلات كبدي استفاده شده است (۲۳،۱۷). از طرفي، نظر بر اين است كه توليد متابوليت‌هاي ثانويه براي سازگاري گياه نسبت به عوامل نامساعد و تنش‌هاي محيط زندگي صورت گرفته و به منزله به كار افتادن يك نوع جريان دفاعي در جهت استمرار تعادل فعاليت‌هاي حياتي به حساب مي‌آيد (۱). گياهان در تنش‌هاي محيطي از قبيل خشكي، شوري، گرما و غيره با ذخيره مواد تنظيم كننده اسمزي با اين تنش‌ها مقابله مي‌كنند. مواد تنظيم كننده فشار اسمزي بيشتر شامل اسيدهاي آمينه، قندها و برخي يون‌هاي معدني، هورمون‌ها و پروتئين‌ها هستند. پرولين يكي از اسيد آمينه‌هاي فعال در پديده تنظيم اسمزي مي‌باشد كه در ايجاد و حفظ فشار اسمزي درون گياه نقش به سزايي دارد (۱۱). به طور معمول ميزان پرولين آزاد در گياهاني كه در حد مطلوب آبياري مي‌شوند بسيار كم و در حدود ۰/۰۲ -۰/۰۶ ميلي‌گرم در گرم ماده خشك مي‌باشد. مقدار اين ماده پس از كاهش آب بافت‌ها ۴۰ تا ۵۰ ميلي‌گرم در هر گرم ماده خشك افزايش مي‌يابد. در برخي از گياهان در مراحل اوليه تنش كم آبي چندين اسيد آمينه افزايش مي‌يابد كه با ادامه كم آبي فقط اسيد آمينه پرولين بيشتر تجمع و ذخيره مي‌شود (۳۲). اگر چه پرولين در همه اندام‌هاي گياه كامل در تنش خشكي تجمع مي‌يابد ولي سريع‌ترين انباشت را در برگ‌ها دارد (۶). نقش و اهميت تجمع قندها به اين دليل مي‌باشد كه تجمع اين مواد سبب تنظيم فشار اسمزي و كاهش از دست دادن آب ياخته و نگهداري آماس مي‌شوند (۷،۵). پژوهش‌ها نشان دادند كه در گياه اسانس‌دار مرزنجوش[12] در اثر كمبود آب، مقدار اسانس افزايش يافت و به دليل كاهش تقسيم ياخته اي، طول برگ‌ها كاهش يافت (۲۱). جيكوان[13] و همكاران (۲۶) در چين تيمارهاي تنش آبي ۱۰۰% تا ۳۵% ظرفيت كامل مزرعه را روي گونه اي افرا[14] از تير تا مرداد، اعمال كردند و تركيب‌هاي سرشاخه گياه را به وسيله گاز كروماتوگرافي تجزيه و اندازه گيري كردند و تمامي تركيب‌هاي عمده در اين گياه را شناسايي نمودند. اين بررسي‌ها نشان دادند كه ميزان بيشتر تركيب‌هاي تشكيل دهنده اسانس در شرايط تنش رطوبتي نسبت به شاهد افزايش پيدا كرد. بلومنتال[15] (۱۵) اثر شبنم و تنش خشكي را بر بادرنجبويه[16] بررسي كرده و نتيجه گرفت كه تنش خشكي موجب كاهش ۳ مگا پاسگالي پتانسيل آب گياه، كاهش ۳۴ درصدي محتواي نسبي آب برگ، بسته شدن روزنه‌ها و در نتيجه سبب

۱- *Mentha piperita* L. ۲- Lamiaceae ۳- *Mentha aquatica* ۴- *Mentha spicata* ۵- Menthol
۶- Menthone ۷- Methyle acetate ۸- Carotene ۹- Alpha-tocophrol ۱۰- Betain ۱۱- Choline
۱۲- *Origanum majorana* L. ۱۳- Jiquan ۱۴- *Acer negundo* ۱۵- Blumenthal ۱۶- *Melissa officinalis* L.

پايين آمدن جذب دي اكسيد كربن و كاهش عملكرد گياه گرديد. در پژوهش ديگري سرنسن[1] و همكاران (۳۴)، اثر حفاظتي توكوفرول را در گياه نعناع بررسي كرده و نتيجه گرفتند كه تنش خشكي، محتواي نسبي آب نعناع را ۳۰% كاهش داده و مقدار توكوفرول، درصد اسانس و مقدار قندهاي محلول را افزايش داد. همچنين عملكرد گياه نسبت به تيمار بدون تنش به شدت كاهش يافت. اما عملكرد اسانس متفاوت از نتايج عملكرد ماده خشك توليدي بود و بيشترين ميزان اسانس در يكبار آبياري پس از برداشت حاصل شد. صفي‌خاني (۹) در پژوهش‌هاي خود با اعمال تيمارهاي ۱۰۰، ۶۰ و۴۰% ظرفيت مزرعه روي گياه دارويي بادرشبو[2] نتيجه گرفت كه بيشترين عملكرد اسانس، قند محلول و كلروفيل a و كلروفيل كل به ترتيب مربوط به تيمارهاي ۶۰ ، ۴۰ و۱۰۰% ظرفيت مزرعه بود. همچنين بيشترين ميزان پرولين مربوط به تيمار ۴۰% ظرفيت مزرعه بود و با افزايش تنش از مقدار كلروفيل a كم شده و بر مقدار كلروفيل b افزوده شد. پژوهش‌هاي انجام شده توسط افلاطوني[4] (۱۳) براي بررسي تاثير تنش خشكي در گشنيز[3]، نشان داد كه كاهش آبياري عملكرد اسانس را كاهش داد. نتايج آزمايش‌هاي تحمل خشكي ژنوتيپ‌هاي مختلف گياه گلرنگ[5] در هند نشان داد كه تنش نژادگان در كليه نژادگان ها (ژنوتيپ‌ها)، موجب كاهش محتواي نسبي آب برگ‌ها و سطح برگ گرديده و ميزان پرولين افزايش يافت. همچنين مقايسه نژادگان ها نشان داد كه نژادگان هايي كه در شرايط تنش محتواي نسبي آب بالا و سطح برگ بالايي داشتند، از عملكرد دانه بيشتري نيز برخوردار بودند (۱۸). با توجه به اهميت گياه دارويي نعناع فلفلي و مصرف گسترده آن در صنايع مختلف، اين پژوهش به منظور ارزيابي مقاومت گياه دارويي نعناع فلفلي به تنش خشكي و بررسي فيزيولوژي مقاومت به خشكي و تعيين بهترين سطح تنش به اجرا در آمد.

مواد و روش‌ها

اين پژوهش در سال ۱۳۸۷ در مزرعه آموزشي- پژوهشي دانشكده كشاورزي دانشگاه بوعلي سينا واقع در همدان با ارتفاع ۱۷۴۱/۵ متر از سطح دريا، طول جغرافيايي ۴۸ درجه و ۳۲ دقيقه شرقي و عرض جغرافيايي ۳۴ درجه و ۵۲ دقيقه شمالي انجام شد. ميانگين بارندگي سالانه اين منطقه ۳۳۵ ميلي‌متر بوده و از نظر اقليمي جزء مناطق سرد و خشك محسوب مي‌شود. بيشينه و كمينه دماي مطلق سالانه همدان به ترتيب ۴۰ و ۳۳/۷- درجه سسليوس تعيين شده است. ميزان تبخير ساليانه اين منطقه در حدود ۷۲۶/۴ ميلي‌متر گزارش گرديده است. دماي ميانگين مربوط به دوره رشد گياه معادل ۲۶ درجه سسليوس محاسبه گرديد. ويژگي هاي خاك محل آزمايش در جدول ۱ آمده است.

آزمايش به صورت بلوك‌هاي كامل تصادفي و با ۴ تكرار اجرا گرديد. تيمارها شامل شاهد و سطوح مختلف تنش خشكي T_1 (بدون تنش)، T_2 (۸۰% ظرفيت مزرعه)، T_3 (۶۰% ظرفيت مزرعه)، T_4 (۴۰% ظرفيت مزرعه) و T_5 (۲۰% ظرفيت مزرعه) بودند. ابعاد هر كرت ۲×۴ مترمربع، فاصله پشته‌ها از هم ۵۰ سانتي‌متر و فاصله ۲ بوته روي هر خط ۴۰ سانتي‌متر و در هر خط ۱۰ بوته قرار گرفت، به طوري كه در هر كرت ۳۰ بوته كشت شد. فاصله بين بلوك‌ها از هم ۳ متر و فاصله بين كرت‌ها در يك بلوك ۲/۵ متر بود. در پاييز سال قبل گياهان در زمين مورد نظر به صورت نشا، كشت گرديدند. اواخر فروردين، پس از اتمام بارندگي‌ها همه بوته‌ها از حدود ۵ سانتي‌متري بالاي خاك كف‌بر شده و سپس اقدام به اعمال تيمارها گرديد. ابتدا كليه كرت‌ها به‌طور يكسان و به

۱- Sorensen ۲- *Dracocephalum moldavica* L. ۳- Aflatuni ۴- *Coriandrum sativum* L.
۵- *Carthamus tinctorius* L.

يك اندازه از طريق لوله و كنتور آبياري شدند. ۲۴ ساعت بعد از آبياري اقدام به برداشت نمونه خاك، از عمق توسعه ريشه (صفر تا ۳۰ سانتي متر) گرديد. نمونه‌هاي برداشت شده بي درنگ وزن گرديده و جهت تعيين درصد رطوبت، به آون با دماي ۱۰۰ درجه سسليوس منتقل گرديد.

جدول ۱- نتايج آزمايش خاك مزرعه آزمايشي در عمق‌هاي صفر تا ۱۵ و ۱۵ تا ۳۰ سانتي‌متر.

Table 1. Soil analysis results of experimental field from 0-15 and 15-30 cm in depth.

عمق محل (سانتي متر)	اسيديته pH	قابليت هدايت الكتريكي EC ($dS\ m^{-1}$)	آهك (درصد) Lime (%)	ازت كل (درصد) N (%)	كربن آلي (درصد) OC (%)	سديم (ميلي‌گرم بر كيلوگرم) Na ($mg\ kg^{-1}$)	فسفر (ميلي‌گرم بر كيلوگرم) P ($mg\ kg^{-1}$)	پتاسيم (ميلي‌گرم بر كيلوگرم) K ($mg\ kg^{-1}$)	رس (درصد) Clay (%)	سيلت (درصد) Silt (%)	شن (درصد) Sand (%)	ظرفيت مزرعه Field capacity
0-15	8.5	0.22	3.1	0.04	0.57	38.7	10.2	197.6	17	25.4	57.6	19.9
15-30	8.4	0.19	3.6	0.04	0.68	32.2	8.7	178.6	17.5	24	58.5	-

پس از مشخص شدن درصد رطوبت خاك در ظرفيت مزرعه، ميزان رطوبت موجود در خاك به هنگام اعمال تيمارهاي سطوح مختلف تنش مشخص گرديد. به منظور كنترل رطوبت خاك، هر روز نمونه‌هايي از عمق توسعه ريشه از سطح خاك تا عمق ۳۰ سانتي‌متر برداشت گرديد. پس از گذاشتن نمونه‌ها در آون به مدت ۲۴ ساعت در دماي ۱۰۰ درجه سسليوس، ميزان رطوبت موجود در خاك مشخص شده و در صورت نياز به آبياري، اقدام لازم صورت گرفت. در مرحله گلدهي كامل، اندازه‌گيري پرولين و قندهاي محلول با استفاده از روش ايريگويان[1] و همكاران (۲۴) از برگ‌هاي تازه انتهايي گياه صورت گرفت. در اين مرحله محتوي نسبي آب برگ با استفاده از روش سانچز[2] (۳۳) و با استفاده از فرمول لويت[3] (۲۸) به شرح زير اندازه گيري شد.

$$RWC = \frac{Wf - Wd}{Wt - Wd} \times 100$$

Wf: وزن تر بافت گياه

Wt: وزن آماس يافته گياه (اشباع شده از آب)

Wd: وزن خشك بافت گياه

اندازه‌گيري ميزان كلروفيل در مرحله گلدهي كامل گياه از روش پاك نژاد (۳) با فرمول‌هاي زير انجام گرفت:

Chla ($mg\ l^{-1}$)= (12.25*a663)-(2.79*a647)

Chlb ($mg\ l^{-1}$)= (21.5*a647)-(5.1*a663)

Chl a+b ($mg\ l^{-1}$)=(7.15*a663)+(18.71*a647)

كه درآن Chl a و Chl b و Chl a+b به ترتيب محتوي كلروفيل a و b و مجموع a+b برحسب ميلي‌گرم در ليتر وزن تر و a فرمول ميزان جذب توسط عصاره‌ها در طول موج‌هاي مربوطه است. در مرحله گلدهي كامل در تاريخ ۸۷/۵/۲۰ عمل برداشت از فاصله ۵ سانتي‌متري سطح زمين از هر كرت با رعايت اثر حاشيه صورت گرفت. بوته‌هاي برداشت شده در مكان مناسبي روي روزنامه پهن گرديد تا در سايه و جريان هواي آزاد خشك شوند. استخراج اسانس از گياه نعناع فلفلي با استفاده از روش تقطير با آب (كلونجر) صورت گرفت و بر اساس تعداد ۵۰۰۰۰ بوته در هكتار عملكرد سرشاخه گلدار و عملكرد اسانس در هكتار محاسبه گرديد. روش استخراج اسانس

۱- Irrigoyen ۲- Sanchez ۳- Levitt

بدين صورت بود كه مقدار معيني از بوته نعناع فلفلي (۱۵۰ گرم) از يك تيمار جداگانه توزين شد. براي اين منظور نمونه به همراه ٤٠٠ ميلي‌ليتر آب مقطر در بالن به مدت ۱۲۰ دقيقه جوشانده شد و سپس جريان قطع و اندازه‌گيري بر حسب ميلي‌ليتر (كه بعد به درصد تبديل شد) صورت گرفت (۲۱). از آنجايي كه اسانس نعناع فلفلي سبك‌تر از آب است به صورت يك لايه روغني روي آب تجمع يافت.

تجزيه آماري اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم افزار SAS و مقايسه ميانگين‌ها با بهره‌گيري از آزمون چند دامنه‌اي دانكن صورت گرفت. تبديل درصد اسانس برگ به توزيع نرمال با استفاده از رابطه Arc sin √x انجام شد. همبستگي بين صفات نيز از طريق SPSS مشخص گرديد. براي رسم نمودارها نيز از نرم افزار Excel استفاده شد.

نتايج

نتايج نشان داد كه تاثير تنش خشكي بر عملكرد تر و خشک، ميزان كلروفيل a و b، پرولين، قندهاي محلول، درصد و عملكرد اسانس ($p<۰/۰۱$) و بر ميزان كلروفيل كل ($p<۰/۰۵$) معني‌دار بود (داده ها آورده نشدند). بيشترين عملكرد تر و خشک در شرايط T_1 (بدون تنش) به ترتيب با ميانگين ۱۴۳۲۱ و ۸۹۱۲/۲۵ كيلوگرم در هكتار حاصل شد. تيمارهاي T_2 (۸۰% ظرفيت مزرعه) و T_3(۶۰% ظرفيت مزرعه) از لحاظ عملكرد تر و خشک در رديف دوم قرار داشتند. كمترين عملكرد تر و خشک نيز به تيمارهاي T_4 (۴۰% ظرفيت مزرعه) و T_5 (۲۰% ظرفيت مزرعه) تعلق داشت (جدول ۲). كلروفيل a در شرايط T_1 (بدون تنش) با ميانگين ۱/۹۸۷ ميلي‌گرم در ليتر بيشترين مقدار را داشت و با افزايش تنش از ميزان كلروفيل a كم شد. ميزان كلروفيل b به تقريب حالت عكس كل FC كلروفيل a را داشت و با افزايش تنش مقدار آن افزايش يافت، به‌طوري كه بيشينه مقدار كلروفيل b در تيمار T_5 (۲۰% ظرفيت مزرعه) با ميانگين ۱/۱۹۸ ميلي‌گرم در ليتر به دست آمد. بيشترين ميزان كلروفيل كل در تيمار T_1 (بدون تنش) با ميانگين ۲/۳۲۱ ميلي‌گرم در ليتر به دست آمد. هرچند بين اين تيمار و تيمارهاي T_2 (۸۰% ظرفيت مزرعه) ، T_4 (۴۰% ظرفيت مزرعه) و T_5 (۲۰% ظرفيت مزرعه) به لحاظ آماري اختلاف معني‌دار مشاهده نگرديد (جدول ۲). مقايسه ميانگين پرولين نشان داد كه تيمار T_5 (۲۰% ظرفيت مزرعه) با ميانگين ۲/۲۵۸ ميلي‌گرم در ليتر بيشترين پرولين را داشت. همچنين كمترين تجمع پرولين مربوط به تيمارهاي T_1 (شاهد) و T_2 (۸۰% ظرفيت مزرعه) به ترتيب با ميانگين ۱/۴۱۴ و۱/۴۲۹ ميلي‌گرم در ليتر بود (جدول۲). بيشترين انباشت قندهاي محلول را تيمار T_3 (۶۰% ظرفيت مزرعه) با ميانگين ۲/۵۲۳ ميلي‌گرم در ليتر داشت. در اين بررسي مشخص شد كه كمترين قند محلول را تيمار T_1 (شاهد) داشته و بين ساير تيمارها اختلاف چنداني وجود نداشت. مقايسه ميانگين محتواي نسبي آب برگ‌ها نشان داد كه T_1 (شاهد) و T_2 (۸۰% ظرفيت مزرعه) به ترتيب با ميانگين ۹۷/۱۲۳ و۸۳/۰۱۱ % بيشترين آب را داشته و كمترين آب با ميانگين ۵۸/۷۳۱% مربوط به تيمار T_5 (۲۰% ظرفيت مزرعه) بود. مقايسه ميانگين عملكرد اسانس نشان داد كه بيشترين عملكرد اسانس را تيمار T_3(۶۰% ظرفيت مزرعه) با ميانگين ۱۲/۹۷۰ كيلوگرم در هكتار داشت. در اين بررسي مشخص گرديد كه كمترين مقدار اسانس توليد شده مربوط به T_5 (۲۰% ظرفيت مزرعه) با ميانگين ۳/۹۷۸ كيلوگرم در هكتار بود. مقايسه ميانگين درصد اسانس نشان داد كه بالاترين درصد اسانس را تيمارهاي T5 (۲۰% ظرفيت مزرعه) وT4 (۴۰% ظرفيت مزرعه) به ترتيب با ميانگين ۰/۲۲۵۹ و ۰/۲۸۱۰% داشتند.

جدول۲- مقايسه ميانگين اثر تنش خشكي بر عملكرد تر و خشک، درصد و عملكرد اسانس، ميزان قندهاي محلول، پرولين، كلروفيل و محتواي نسبي آب برگ نعناع فلفلي.

Table 2. Mean comparison of the effect of drought stress on fresh and dry yield, essential oil percentage and yield, leaf soluble sugars, proline, chlorophyll and relative water content of peppermint.

تيمار Treatment	عملكرد اسانس Essential oil yield (kg ha^{-1})	درصد اسانس Essential oil percentage (%)	عملكرد تر Fresh yield (kg ha^{-1})	عملكرد خشک Dry yield (kg ha^{-1})	محتواي نسبي آب RWC (%)	قندهاي محلول Soluble sugars (mg l^{-1})	پرولين proline (mg l^{-1})	كلروفيل كل Total chlorophyll (mg l^{-1})	كلروفيل b Chlorophyll b (mg l^{-1})	كلروفيل a Chlorophyll a (mg l^{-1})
T_1 (بدون تنش) T_1 (non stress)	6.842b	0.1050c	14311.00a	8912.250a	97.123a	1.587b	1.414c	2.321a	0.521c	1.987a
T_2 (۸۰ % ظرفيت زراعي) T_2 (80% FC)	7.587b	0.1256c	13271.26b	7251.361b	83.011b	1.814ab	1.429c	1.458ab	0.658bc	0.735b
T_3 (۶۰ % ظرفيت زراعي) T_3 (60% FC)	12.970a	0.1412b	12583.69b	6986.238b	78.121c	2.523a	1.639bc	0.950b	0.745bc	0.687b
T_4 (۴۰ % ظرفيت زراعي) T_4 (40% FC)	8.741b	0.2810a	8075.12c	3215.102c	70.254d	2.011ab	1.963ab	1.714ab	0.952ab	0.524b
T_5 (۲۰ % ظرفيت زراعي) T_5 (20% FC)	3.987c	0.2259a	6147.31d	1977.362d	58.731e	2.254ab	2.258a	2.011ab	1.198a	0.487b

† Means in each column followed by the same letters are not significantly different at 1% level using DMRT.

† در هر ستون ميانگين‌هاي با حروف مشترك از نظر آماري در سطح ۱% با استفاده از آزمون چند دامنه‌اي دانكن معني‌دار نمي‌باشند.

مقايسه همبستگي صفات نشان داد كه كلروفيل a با كلروفيل b و پرولين همبستگي منفي معني‌دار (P<۰/۰۵) و بين كلروفيل a با محتواي نسبي آب همبستگي مثبت (P<۰/۰۱) و با درصد اسانس همبستگي منفي (P<۰/۰۱) وجود داشت (جدول ۳). بين كلروفيل b با پرولين و درصد اسانس همبستگي مثبت (P<۰/۰۱) و با محتواي نسبي آب همبستگي منفي (P<۰/۰۱) مشاهده شد. در اين بررسي مشخص گرديد كه بين پرولين و محتواي نسبي آب همبستگي منفي (P<۰/۰۱) و پرولين با درصد اسانس همبستگي مثبت (P<۰/۰۱) وجود داشت. همچنين قندهاي محلول با محتواي نسبي آب همبستگي منفي (P<۰/۰۵) داشتند. بين عملكرد اسانس با درصد اسانس همبستگي مثبت (P<۰/۰۵) مشاهده گرديد.

بحث

ميزان كلروفيل در گياهان زنده يكي از عوامل مهم حفظ ظرفيت فتوسنتزي است (۲۵). در اين بررسي در اثر تنش خشكي، ميزان كلروفيل a به شدت كاهش و كلروفيل b تا حدودي افزايش يافت. به نظر مي‌رسد كه كاهش ميزان كلروفيل a در اثر تنش خشكي، به علت افزايش توليد راديكال‌هاي اكسيژن باشد، كه اين راديكال‌هاي آزاد باعث پراكسيداسيون (۱۹) و در نتيجه تجزيه اين رنگيزه مي‌گردد (۳۵،۲۷).

مقدار پرولين با افزايش شدت تنش خشكي افزايش پيدا كرد. مولكول‌هاي پرولين شامل قسمت‌هاي آب دوست و آب گريز مي‌باشد. پرولين محلول، مي‌تواند حلاليت پروتئين‌هاي مختلف را تحت تاثير قرار داده و جلوي غيرطبيعي شدن آلبومين را بگيرد. اين ويژگي پرولين بدان جهت است كه برهمكنش بين پرولين و سطح پروتئين‌هاي آب گريز برقرار شده و به علت افزايش سطح كل مولكول‌هاي پروتئين آب‌دوست، پايداري آن‌ها افزايش يافته و از تغيير ماهيت آن‌ها جلوگيري مي‌كند. آنزيم‌ها نيز به دليل ساختار پروتئيني خود تحت تاثير اين سازوكار پرولين قرار گرفته و محافظت مي‌شوند (۳۰،۷) كه به احتمال گياهان به دلايل فوق پرولين خود را افزايش مي‌دهند.

قندهاي محلول در شدت‌هاي ملايم تنش، افزايش قابل توجهي داشته (تيمار ۶۰% ظرفيت مزرعه) و با شديدتر شدن تنش خشكي مقدار آن شروع به كاهش نمود. علت افزايش اوليه براي بالا بردن مقاومت گياه به دليل تنظيم فشار اسمزي ياخته بوده، ولي با شديدتر شدن تنش، توليد قندها به شدت كاهش پيدا مي‌كند و ميزان قندهاي محلول شروع به كاهش مي‌نمايند. تجمع قندهاي محلول در شرايط تنش خشكي در گياه ريحان[۱] توسط آراباسي و بايرام[۲] (۱۴) گزارش شده است. كاهش ميزان قندهاي محلول در تيمارهاي تنش شديد مي‌تواند به دليل مصرف قندها براي سنتز متابوليت‌هايي چون پرولين در اندام هوايي باشد (۴).

بررسي درصد اسانس نشان داد كه با اعمال تنش‌هاي ملايم ($T_۲$) و ($T_۳$) افزايش درصد اسانس كم بوده و سپس با اعمال تنش به نسبت شديد ($T_۴$) درصد اسانس به شدت افزايش يافته و با شديدتر شدن ميزان تنش ($T_۵$) درصد اسانس كاسته شده، اما بين تيمارهاي $T_۴$ و$T_۵$ به لحاظ درصد اسانس اختلاف معني‌داري مشاهده نگرديد. اين مساله نشان مي‌دهد كه اعمال تنش‌هاي ملايم ($T_۳$) و به نسبت شديد ($T_۴$)، براي به دست آوردن درصد بالاتر اسانس مناسب خواهد بود، زيرا با افزايش شدت تنش، عملكرد سرشاخه گلدار كاهش مي‌يابد كه در گياهان دارويي اسانس‌دار مانند نعناع فلفلي، برهمكنش درصد اسانس و عملكرد سرشاخه گلدار به عنوان دو بخش تشكيل دهنده عملكرد اسانس مورد توجه هستند (۲۳).

۱- *Ocimum basilicum* L. ۲- Arabasi and Bayram

جدول ۳- ضرايب همبستگي صفات كمي و كيفي نعناع فلفلي تحت تاثير تنش خشكي.

Table 3. Correlation coefficient of quantitative and qualitative characters of peppermint in drought stress.

ويژگي‌ها Characters	كلروفيل a Chlorophyll a	كلروفيل b Chlorophyll b	كلروفيل كل Total chlorophyll	پرولين Proline	قندهاي محلول Soluble sugars	محتواي نسبي آب RWC	درصد اسانس Essential oil percentage	عملكرد اسانس Essential oil yield
كلروفيل a Chlorophyll a	1.00							
كلروفيل b Chlorophyll b	-0.537†	1.00						
كلروفيل كل Total chlorophyll	0.214	-0.016	1.00					
پرولين Proline	-0.528†	0.735†	0.264	1.00				
قندهاي محلول Soluble sugars	-0.421	0.327	-0.260	0.261	1.00			
محتواي نسبي آب RWC	0.638††	-0.858††	-0.042	-0.806††	-0.463†	1.00		
درصد اسانس Essential oil percentage	-0.621 ††	0.829††	0.165	0.854††	0.265	-0.934††	1.00	
عملكرد اسانس Essential oil yield	-0.348	0.198	-0.188	0.378	0.102	-0.386	0.457†	1.00

† Pearson correlation

† , †† Correlations are significant 5 and 1% levels, respectively.

†،†† همبستگي‌ها به ترتيب در سطح احتمال ۵ و ۱% معني‌دار است.

همان طوري كه در قسمت نتايج ملاحظه شد با اعمال تنش، ابتدا عملكرد اسانس بالا رفته و با شديدتر شدن تنش رطوبتي، از مقدار اسانس كاسته مي‌شود. همچنين با افزايش تنش خشكي عملكرد تر و خشك كاهش يافت، به طوري كه با اعمال تنش‌هاي ملايم (T_2) و (T_3) كاهش عملكرد تر و خشك كم بوده و سپس با شديدتر شدن ميزان تنش (T_4) و (T_5) عملكرد به شدت كاهش يافت. نتايج به دست آمده از اين پژوهش، با نتايج سرنسن و همكاران (۳۴) در گياه نعناع، فرناندر[1] (۲۰) در اسطوخدوس[2]، فليمينگ[3] (۲۱) در نوعي مرزنجوش و چاترجي[4] (۱۶) در گونه-اي از نعناع مطابقت دارد. همچنين كاهش عملكرد در اثر تنش خشكي توسط ويک[5] (۳۶) در بابونه كبير[6]، فوكاي[7] (۲۲) در برنج، سرمدنيا (۸)، كوچكي و زند (۱۰)، جباري و همكاران (۴) و پاك نژاد (۳) در گندم گزارش شده است. با بررسي صفات اندازه‌گيري شده مي‌توان نتيجه گرفت كه گياه دارويي نعناع فلفلي يك گياه نيمه مقاوم به خشكي بوده و مي‌توان در مناطقي كه محدوديت آب دارند با اعمال مديريت مناسب، عملكرد كافي به دست آورد. بررسي همبستگي صفات با همديگر نشان داد كه بين كلروفيل a، كلروفيل b، پرولين، قندهاي محلول، درصد و عملكرد اسانس رابطه منفي حاكم است. زيرا در شرايط بدون تنش كه مقدار كلروفيل a در بيشينه مقدار خود قرار دارد، پرولين، قندهاي محلول و اسانس بسيار اندك توليد مي‌شوند. همچنين پرولين و قندهاي محلول با محتواي نسبي آب رابطه منفي داشتند كه نشان مي‌دهد هر چه محتواي نسبي آب بالا باشد، امكان توليد اين دو ماده كاهش پيدا مي‌كند. بين درصد اسانس و عملكرد اسانس نيز رابطه مثبت برقرار بوده و نشان مي‌دهد كه افزايش درصد اسانس موجب افزايش عملكرد اسانس مي‌گردد. وجود ارتباط منفي بين محتواي نسبي آب و درصد اسانس نيز حكايت از كاهش درصد اسانس در شرايط بدون تنش دارد.

منابع REFERENCES

۱. اميدبيگي، ر. ۱۳۷۶. رهيافت هاي توليد و فرآوري گياهان دارويي. جلد سوم، انتشارات طراحان نشر. تهران. ۲۸۳ ص.

۲. اميدبيگي، ر. ۱۳۸۶. توليد و فرآوري گياهان دارويي. جلد دوم، انتشارات آستان قدس رضوي. ۴۳۸ ص.

۳. پاك نژاد، ف. ۱۳۸۴. بررسي اثر تنش خشكي بر شاخص‌هاي فيزيولوژيكي عملكرد و اجزاي عملكرد سه رقم گندم. پايان نامه دكتري دانشگاه آزاد اسلامي واحد علوم و تحقيقات. ۱۸۵ صفحه.

۴. جباري، ف.، ع. احمدي و ع. پوستيني. ۱۳۸۵. بررسي ارتباط فعاليت برخي آنزيم هاي آنتي اكسيدانت با پايداري غشاي سلولي و كلروفيل در ارقام مقاوم و حساس به تنش خشكي. پرديس كشاورزي و منابع طبيعي دانشگاه تهران، مجله علوم كشاورزي ايران ۳۱۶-۳۰۷: ۲.

۵. حكمت شعار، ح. ۱۳۷۲. فيزيولوژي گياهان در شرايط دشوار. انتشارات نيكنام تبريز. ۳۷۸ ص.

۶. حيدري شريف آباد، ح. ۱۳۷۹. گياه، خشكي و خشك سالي. انتشارات مؤسسه تحقيقات جنگل ها و مراتع كشور تهران. ۱۶۳ ص.

۷. حيدري شريف آباد، ح. ۱۳۸۰. روش هاي مقابله با خشكي و خشك سالي. جلد اول، انتشارات مؤسسه تحقيقات جنگلها و مراتع كشور تهران. ۱۷۱ ص.

۱- Fernander ۲- *Lavandula officinalis* L. ۳- Fleming ۴- Chatterjee ۵- Wake

۶- *Tanacetum parthenium* L. ۷- Fukai

۸. سرمدنيا، غ. ۱۳۷۲. اهميت تنشهاي محيطي در زراعت. مقالات كليدي اولين كنگره زراعت و اصلاح نباتات ايران، دانشگاه تهران، ۱۶-۱۳ شهريور ۱۳۷۲ صفحه های۱۵۷-۱۶۹.
۹. صفي خاني، ف. ۱۳۸۵. بررسي جنبه‌هاي فيزيولوژيك مقاومت به خشكي در گياه دارويي بادرشبو. پايان نامه دكتري دانشگاه شهيد چمران ۱۹۶ صفحه.
۱۰. كوچكي، ع. و ا. زند. ۱۳۷۵. كشاورزي از ديدگاه اكولوژيک. انتشارات جهاد دانشگاهي تهران. ۲۲۵ص.
۱۱. مجيدي هروان، ا. ۱۳۷۲. مكانيزم فيزيولوژيكي مقاومت به تنگناهاي محيطي. چكيده مقالات اولين كنگره زراعت و اصلاح نباتات ايران، دانشگاه تهران، ۱۸-۱۵ شهريور ۱۳۷۲ صفحه های ۱۳۳-۱۳۴.
۱۲. ميرزا، م. و ف. سفيدكن، ۱۳۷۵. اسانس‌هاي طبيعي، استخراج، شناسايي كمي و كيفي و كاربرد. انتشارات موسسه تحقيقات جنگلها و مراتع تهران. ۲۲۵ ص.

13. Aflatuni, A. 2005. Water stress effect on growth and yield of (*Coriandrum sativum* L.) and its alleviation by n- triacontanol. Acta Hort. 79:19-24.
14. Arabasi, D. and E. Bayram. 2005. Osmotic adjustment, water relation and carbohydrate remobilization in (*Ocimum basilicum* L.) under water deficits. J. Plant Physiol. 157: 651–659.
15. Blumenthal, M. 2000. Role of dew on the recovery of water stressed in balm (*Melissa offcinalis* L.). J. Plant Physiol. 154:759-766.
16. Chatterjee, S. 2000. Water stress effect on growth and yield of *Mentha* spp. and its alleviation by n- triacontanol. J. Hort. Sci. 35:29-34.
17. Chimenti, C. 2000. Activity and mechanism of action of natural antioxidants in lipids. Recent Res. Devel. Oil Chem. 2:1-14.
18. Cox, W. and M. Jolliff. 2001. Screening of drought tolerance in (*Carthamus tinctorius* L.) genotypes under receding soil moisture. Indian J. Plant Physiol. 6:197-201.
19. De La Luz, L. 2004. Chilling-enhanced photo–oxidation, the peoxidative destruction of lipids during chilling injury to photosynthesis and ultrastructure. Plant Physiol. 83:278–282.
20. Fernander, C.H. 2006. Alpha–tocopherol protecion against drought, induced damage in (*Lavandula officinalis* L.). Proc. Int. Workshop Tata, Hungary. 23-26 August, 2006.
21. Fleming, B. 2001. Water stress, induced diurnal variation in leaf water relation stomatal conductance, soluble sugar, lipids and essential oil content of (*Origanum majorana* L.). J. Hort. Sci. 66:119-25.
22. Fukai, S. 1996. Effects of soil water deficit at different growth stages on rice growth and yield under upland condition. Field Crops Res. 48:47-55.

23. Holm, A. 2002. The yield and essential oil content of mint (*Mentha* sp.*)* in Ontario. Canada J. Essential Oil Res. 5:663-666.
24. Irrigoyen, J.H., D.W. Emerich and D.M. Sanchez. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in modulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiol. Plant. 84:55-60.
25. Jiang, Y. and N. Huang. 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turf grasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. Crop Sci. 41:436-442.
26. Jiquan, L.G., S. Ying Bai and L.J.G. Shenys. 2000. Changes of volatiles from drought stressed ash leaf maple *(Acer negundo*) in July and August. Forestry Studies in China 2:27-33.
27. Kumaga, F. 1998. The quantitative EEG as a screening instrument to identify sedative effects of single doses of plant extracts in comparison with diazepam. Phytomedicine 5:449-458.
28. Levitt, J. 1980. Response of Plants to Environmental Stresses, Vol. 2, Water, Radiation, Salt and Other Stresses, Academic Press, New York, U.S.A. 650 p.
29. Maffei, M., F. Chialva and T. Sacco. 2004. Are leaf area index (LAI) and flowering related to productivity in peppermint? Flavor Frag. J. 9:119-124.
30. Marotti, M., R. Piccaglia and S. Deans. 2004. Proline under stress: Biological role, metabolism, and regulation. Rus. J. Plant Physiol. 46:274-287.
31. Murray, M. 1999. The healing power of herbs. Amer. Bot. Council 46:45-63.
32. Murray, M. 2001. Glutathione status and protein synthesis during drought and subsequent dehyration in *Torula rulis*. Plant Physiol. 83:816- 819.
33. Sanchez, S.R. 1998. Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. Field Crops Res. 59:225-235.
34. Sorensen, J., T. Hatano and O. Nishibe. 2005. The significance of beta carotene, alpha, tocopherol and the xanthophyll cycle in drought (*Mentha* sp.) plant. J. Plant Physiol. 27:139-146.
35. Vorasoot, N., S. Songsri and A. Patanothai. 2001. Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Minaret) to elevated CO2 and water limitation. Environ. Pollu. 114:187-194.

36. Wake, W. 2006. The effect of drought stress on yield and proline accumulation in feverfew (*Tanacetum parthenium* L.). Agro. J. 102:428-438.