

گزارش علمی کوتاه

ارزیابی برخی صفات فیزیولوژیکی گیاه دارویی آویشن قره‌باغی (*Thymus fedtschenko*) تحت تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی

- حمید سودائی زاده^{۱*}، مریم شمسایی^۲، مهدیه تجملیان^۳، سید علی محمد میرمحمدی مبینی^۴، محمدعلی حکیم زاده^۵
۱. استادیار و عضو هیئت علمی دانشکده منابع طبیعی و کوبرشناسی، دانشگاه یزد.
 ۲. کارشناس ارشد مدیریت مناطق بیابانی، دانشکده منابع طبیعی و کوبرشناسی، دانشگاه یزد.
 ۳. دانشجوی دکتری بیابان‌زدائی، دانشکده منابع طبیعی و کوبرشناسی، دانشگاه یزد.
 ۴. استاد و عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.
 ۵. استادیار و عضو هیئت علمی دانشکده منابع طبیعی و کوبرشناسی، دانشگاه یزد.

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۹/۲۴؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۸/۹

چکیده

به منظور بررسی تأثیر تنش خشکی بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه دارویی آویشن قره‌باغی (*Thymus fedtschenko*) آزمایشی در سال ۱۳۹۳ در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه یزد اجرا شد. تیمارهای رطوبتی شامل ۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی بودند که بر اساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار اجرا شدند. نتایج نشان داد که تأثیر تنش خشکی بر محتوی کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، پرولین و گنجایش نسبی آب برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ولی بر میزان قند محلول اثر معنی‌داری نداشت. افزایش تنش خشکی موجب افزایش محتوی پرولین و گنجایش نسبی آب برگ شد، به طوری که کمترین مقدار این شاخص‌ها در تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به دست آمد. بیشترین مقدار کلروفیل a، b و کلروفیل کل به ترتیب با ۰/۱۶۷ و ۰/۶۶۳ میلی‌گرم در گرم، مربوط به تیمار ۲۵ درصد و کمترین مقدار این شاخص‌ها مربوط به تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی بود. در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که آویشن قره‌باغی با به‌کارگیری برخی مکانیسم‌های دفاعی از قبیل افزایش پرولین و محتوی کلروفیل قابلیت سازگاری با شرایط خشک را دارا می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، قند محلول، کلروفیل، گنجایش نسبی آب برگ.

مقدمه

مجموعه رستنی‌های دارویی مناطق خشک به واسطه حاکمیت شرایط بوم‌شناختی ویژه و حضور انواع تنش‌های محیطی، از تنوع و غنای گونه‌ای قابل ملاحظه‌ای برخوردار می‌باشند (Batoli, 2005) کشور ایران نیز با برخورداری از اقلیم متنوع و گستره ارتفاعی وسیع، دارای فلور بسیار متنوعی است (Moosavi, 2004) نزولات جوی در بسیاری از نقاط ایران، نیاز آبی گیاهان زراعی و باغی را تأمین نمی‌کند و قرار گرفتن گیاهان در معرض تنش کمبود آب، به ویژه در برخی از مواقع سال، امری اجتناب‌ناپذیر است.

با وجود شرایط سخت حاکم بر مناطق خشک و نیمه‌خشک، ضرورت انتخاب گیاهان مناسب برای اهداف مختلف امری طبیعی و انکارناپذیر است. گیاهان مقاوم به تنش خشکی از گستره بسیار زیادی برخوردار می‌باشند. در دهه‌های اخیر رویکرد فزاینده‌ای در زمینه استفاده از گیاهان دارویی و به ویژه گیاهان اسانس‌دار و فراورده‌های معطر حاصل از آنها ایجاد شده و نقش و جایگاه این ذخایر ارزشمند را در چرخه اقتصاد روشن‌تر نموده است (Bagheri et al., 2006).

قره‌باغی صورت نگرفته است؛ بنابراین، هدف از پژوهش حاضر ارزیابی مقاومت گیاه دارویی آویشن قره‌باغی به تنش خشکی، بررسی فیزیولوژی مقاومت به خشکی و تعیین بهترین سطح تنش خشکی در این گیاه بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در سال ۱۳۹۳ و به‌منظور مطالعه اثر سطوح تنش خشکی بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه دارویی آویشن قره‌باغی، در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه یزد تحت شرایط دمایی ۲۶ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۳۰ درصد انجام شد. تیمارهای رطوبتی شامل ۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی بودند که بر اساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار اجرا شدند. برای کشت نهال‌ها از گلدان‌های مناسب و زهکش‌دار به ارتفاع ۲۱ و قطر ۲۰ سانتیمتر استفاده شده و به‌منظور کاهش تبادل حرارتی بین خاک داخل و محیط بیرون سطح آن‌ها عایق‌بندی شد. به‌منظور بهبود وضعیت زهکشی از سنگریزه در کف گلدان‌ها استفاده و در زیر گلدان‌ها از ظروفی جهت خارج شدن آب اضافی استفاده شد. برای پر نمودن گلدان‌ها از مخلوطی از خاک مناسب با بافت سنی و خاک‌برگ استفاده شد که دارای هدایت الکتریکی دو دسی‌زیمنس بر سانتیمتر، ۲/۹۹ درصد کربن آلی و ۵/۱۵ درصد ماده آلی و اسیدپتته ۶/۹۹ بود. روش اعمال تیمارها به‌صورت وزنی بود. ابتدا وزن گلدان، زیرگلدانی و شن ریزه کاملاً شسته و خشک شده ای که به‌عنوان صافی ته گلدان استفاده می‌شد، مشخص گردید. سپس به هر گلدان وزن مشخصی از خاک مزرعه که یکنواخت تهیه شده بود، ریخته شد. به‌منظور تعیین میزان رطوبت موجود در خاک ریخته شده به گلدان و یا به عبارتی به‌منظور تعیین وزن خشک خاک گلدان، تعداد ۱۰ نمونه از خاک مورد نظر تهیه گردید نمونه‌ها پس از توزین به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردیدند و با استفاده از میانگین نمونه‌ها، میزان وزن خشک هر گلدان مشخص گردید. سپس به هر گلدان به‌قدری آب داده شد تا به درجه اشباع برسند. ۲۴ ساعت پس از آبدهی کامل گلدان‌ها، نمونه‌های ۱۰ تایی دوباره درآون و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و به‌مدت ۲۴ ساعت خشک گردیده و میزان آب ظرفیت زراعی گلدان‌ها مشخص شد. برای تولید نهال‌ها، بذر گیاه از مرکز تحقیقات کشاورزی تهیه و در شروع فصل پاییز در داخل جیفی پات (jiffi pot)

به‌منظور بهره‌گیری مطلوب و اقتصادی از گیاهان دارویی و اسانس‌دار موجود در جنگل‌ها و مراتع کشور و استفاده از پتانسیل‌های موجود در این بخش در تأمین نیازهای صنایع دارویی، بهداشتی، آرایشی، غذایی، ایجاد اشتغال و جلوگیری از خروج ارز، انجام تحقیقات مناسب درباره این گیاهان و شناسایی گونه‌های مقاوم به تنش‌های محیطی از جمله خشکی، امری ضروری است. نتایج این تحقیقات می‌تواند در اهلی کردن و تولید انبوه این گیاهان از طریق زراعت مورد استفاده واقع شده و به دنبال آن فشار وارده بر پوشش گیاهی طبیعی کاهش یابد و علاوه بر این، کشور به‌سوی خودکفایی در تولید داروهای گیاهی گام بردارد (Imani, 2004). آویشن قره‌باغی (*Thymus fedtschenko*) متعلق به خانواده نعنا (*Lamiaceae*) از جمله گیاهان دارویی دائمی بوده که گونه‌ای نیمه درختچه‌ای، بسیار پرشاخه با برگ‌ها تخم‌مرغی تا تخم‌مرغی سه‌گوش و در قاعده چوبی است (Zarezadeh, 2012). این گیاه، معطر بوده و اندام هوایی آن دارای مصارف دارویی از قبیل ضد دل‌درد و نفخ بوده و در درمان سرماخوردگی مؤثر می‌باشد (Mehrbandi et al., 2014).

اهمیت تنش خشکی و سازگاری گیاهان به تنش خشکی به حدی است که پژوهش‌های زیادی در ارتباط با این مبحث در ایران و دنیا انجام شده است. صفی‌خانی و همکاران (Safikhani et al., 2008) با بررسی تأثیر تنش خشکی بر درصد و عملکرد اسانس و ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) گزارش کردند که در سال اول بیشترین عملکرد اسانس، قندهای محلول و محتوای کلروفیل به ترتیب مربوط به تیمارهای ۶۰، ۴۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی بود. همچنین عباس‌زاده و همکاران (Abbaszadeh et al., 2007) با بررسی تأثیر تنش خشکی بر صفات فیزیولوژیک بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) به این نتیجه رسیدند که بیشترین میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل به ترتیب مربوط به تیمارهای شاهد و ۲۰ درصد ظرفیت زراعی بود. در این پژوهش بیشترین تجمع پروتئین و قند محلول نیز به ترتیب در تیمارهای ۲۰ و ۶۰ درصد ظرفیت زراعی به دست آمد. از طرف دیگر حداکثر آماس نسبی برگ (RWC) در تیمار شاهد مشاهده گردید.

بر اساس بررسی‌های به‌عمل‌آمده تاکنون مطالعه‌ای در زمینه اثر تنش خشکی بر خصوصیات فیزیولوژیکی آویشن

جهت آنالیز داده‌های صفات مورد آزمایش از روش تجزیه واریانس دوطرفه و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده شد. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 16.0 صورت پذیرفت و جهت رسم نمودارها از محیط نرم‌افزاری EXCEL استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنش خشکی بر همه صفات فیزیولوژیکی مورد بررسی در گیاه آویشن قره‌باغی به‌جز بر صفت میزان قند محلول اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشته است (جدول ۱). نتایج آزمون مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی، مقدار کلروفیل a، b و کل در تیمار ۲۵ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به دو تیمار دیگر افزایش نشان دادند. افزایش اندک کلروفیل در شرایط تنش نشان‌دهنده آن است که رنگ‌دانه‌های کلروفیل تا حدی به کاهش آب مقاوم هستند. گیاهانی که در شرایط خشکی از میزان کلروفیل بالاتری برخوردار باشند، در شرایط مشابه از محصولات فتوسنتزی بیشتری برای رشد بهره می‌برند (Schutz and Fangmeir, 2001). لووا و همکاران (Luvha et al., 2008) نیز در پژوهش مشابهی با بررسی گیاه *Mangifera indica* گزارش کردند که با افزایش میزان تنش خشکی، مقدار پرولین، کلروفیل a و کلروفیل کل به صورت یکنواختی افزایش یافت.

کاشت گردید. پس از جوانه‌زنی، گیاهچه‌ها به گلدان‌های اصلی انتقال یافته و در گلخانه تحت مراقبت قرار گرفتند. پس از استقرار کامل گیاهان، نسبت به اعمال تیمارهای رطوبتی اقدام گردید.

فاکتورهای مورد بررسی در این تحقیق شامل میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل، قندهای محلول، پرولین و آماس نسبی برگ (RWC) بودند. برای محاسبه کلروفیل از روش آرنون (Arnon, 1967)، برای سنجش قندهای محلول از روش کوچرت (Kochert, 1978) و برای اندازه‌گیری پرولین از روش بتس و همکاران (Bates et al., 1973) استفاده شد. همچنین جهت اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ مقداری از برگ گیاه را در دمای ثابت ۳۰ درجه سانتی‌گراد در داخل آب مقطر قرار داده تا برگ به اندازه نیاز آب جذب نماید. پس از ۴ ساعت که برگ‌ها به حالت آماس کامل درآمدند، از آب خارج نموده و با کاغذ صافی آن‌ها را خشک و وزن آماس شده برگ اندازه‌گیری شد. پس از توزین، برگ‌ها در داخل آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شده و پس از خشک شدن مجدداً وزن شدند. با قرار دادن اعداد به‌دست‌آمده در فرمول ۱، مقدار RWC محاسبه شد (Alizadeh, 2005):

$$RWC = \frac{\text{وزن برگ خشک شده} - \text{وزن برگ تازه}}{\text{وزن برگ خشک شده} - \text{وزن برگ تازه}} \times 100 \quad [1]$$

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف تنش خشکی بر روی برخی صفات فیزیولوژیکی گیاه آویشن قره‌باغی.

Table 1. Two way ANOVA for the effect of drought stress treatments on some physiological characteristics of *T. fedtschenko*.

منابع تغییر Sources of variance	درجه آزادی df	Mean of squares میانگین مربعات					محتوی نسبی آب RWC
		کلروفیل a chlorophyll a	کلروفیل b chlorophyll b	کلروفیل کل chlorophyll total	پرولین Prolin	قند محلول soluble sugars	
تیمار Treatment	3	0.048**	0.008**	0.094**	0.015**	0.05 ^{ns}	116.950**
بلوک Block	3	0.023 ^{ns}	0.000 ^{ns}	0.027 ^{ns}	0.000 ^{ns}	0.031 ^{ns}	7.594 ^{ns}
خطا Error	9	0.007	0.001	0.01	0.001	0.02	6.041

** معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد، * معنی‌داری در سطح ۵ درصد، ^{ns} عدم وجود تفاوت معنی‌دار

** Significant at 1% level of probability, * significant at 5%, ^{ns} non-significant.

افزایش میزان تنش خشکی افزایش معنی‌داری را نشان نداد. لذا به نظر می‌رسد که گیاه آویشن قره‌باغی از مکانیسم‌های دیگری (تجمع پرولین) جهت مقابله با تنش اعمال شده استفاده نموده است. تجملیان و همکاران (Tajamoliyan et al., 2013) نیز گزارش کردند که تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر قند محلول گیاه نداشت که با نتایج تحقیق حاضر مشابه است.

آماس نسبی برگ خصوصیت مهمی است که بیانگر پتانسیل آب در گیاه است. گیاهانی که محتوای نسبی آب بیشتر از ۵۰ درصد دارند دارای سازوکار گریز از خشکی هستند. نتایج این مطالعه نشان داد که مقدار گنجایش نسبی برگ گیاه آویشن قره‌باغی در تیمارهای مختلف حدود ۵۰ درصد بود و اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد که نشان از تحمل نسبی این گیاه نسبت به تنش خشکی می‌باشد. نتایج این مطالعه با تجملیان و همکاران (Tajamoliyan et al., 2013) در مورد گیاه قلم مطابقت داشته و با مطالعات عباس‌زاده و همکاران (Abbaszadeh, 2007) در گیاه مطابقت نداشت چراکه در تحقیقات آن‌ها با افزایش تنش RWC کاهش یافت.

به‌طور کلی به نظر می‌رسد که *Thymus fedtschenko* با به‌کارگیری برخی مکانیسم‌های دفاعی از قبیل افزایش تجمع پرولین و کلروفیل قابلیت سازگاری با شرایط خشک را دارا می‌باشد.

در واقع تجمع پرولین در اثر تنش خشکی یک واکنش عمومی است که به علت ساخت پرولین در بافت‌ها (Schonfeld et al., 1988)، ممانعت از اکسیداتیو پرولین و جلوگیری از شرکت پرولین در ساخت پروتئین‌ها صورت می‌گیرد (Pedrol et al., 2000). پرولین علاوه بر تنظیم اسمزی، نقش‌های مهمی مانند حفاظت از سیستم‌های غشایی سلول (Tsugane et al., 1999) سمیت زدایی (Puritchand Barker, 1967) و تنظیم اسیدیته سیتوسول را نیز بر عهده دارد (Hare et al., 1998). در پژوهش حاضر تجمع پرولین محلول از ۰/۰۳ میلی‌گرم در گرم در تیمار ظرفیت زراعی، به ۰/۱۲۶ میلی‌گرم در گرم بافت تر در تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی رسید که نشان‌دهنده آن است که گیاه آویشن قره‌باغی در مواجهه با تنش خشکی از مکانیسم تجمع پرولین استفاده کرده است. بگوم و پاول (Begum and Paule, 1993) در گیاه خردل، آرمجو و همکاران (Arazmjo et al., 2010) در گیاه بابونه و تجملیان و همکاران (Tajamoliyan et al., 2013) در گیاه قلم (*Fortuynia bungei* Boiss.) با پژوهش در این زمینه به نتایج مشابهی دست یافتند.

قندهای محلول به‌عنوان یکی دیگر از محافظت‌کننده‌های اسمزی در تنظیم اسمزی سلول نقش دارند اما تنها پارامتر مهم در تنظیم اسمزی و حفظ فشار اسمزی نیستند. در تحقیق حاضر میزان قندهای محلول با

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف تنش خشکی بر روی برخی صفات فیزیولوژیکی گیاه آویشن قره‌باغی.

Table 2. Mean comparison of the effect of different drought stress treatments on some physiological characteristic of *T. fedtschenko*.

تیمار Treatment	کلروفیل a chlorophyll a (mg/g)	کلروفیل b chlorophyll b (mg/g)	کلروفیل کل chlorophyll t (mg/g)	پرولین Prolin (g/g)	قند محلول soluble sugars (mg/g)	محتوی نسبی آب RWC(%)
100% FC	0.25 ^b	0.065 ^c	0.32 ^b	0.03 ^b	1.21 ^a	45.7 ^b
75% FC	0.31 ^b	0.096 ^{bc}	0.39 ^b	0.129 ^a	1.40 ^a	48.64 ^b
50% FC	0.44 ^a	0.129 ^{ab}	0.57 ^a	0.121 ^a	1.21 ^a	54.5 ^a
25% FC	0.49 ^a	0.167 ^a	0.63 ^a	0.126 ^a	1.30 ^a	57.58 ^a

حروف متفاوت در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

Different letters in the same column indicate significant difference at $p=0.05$.

منابع

- Abbaszadeh, B., Sharifi ashourabadi, E., Farajollahi, M., 2007. The effect of drought stress on some physiological characteristics of balm (*Melissa officinalis* L.). 2nd National Congress of Ecological Agriculture. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. [In Persian with English Summary].
- Arnon, A.N., 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*. 23, 112-121.
- Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*. 39(1), 205-207.
- Begum, F. A., Paul, N. K., 1993. Influence of soil moisture on growth, water use and yield of mustard. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 170(2), 136-141.
- Hare, P. D., Cress, W. A., Van Staden, J., 1998. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant, Cell and Environment*. 21(6), 535-553.
- Kochert, A., 1978. Carbohydrate determination by phenol-sulfuric acid method. In: Hellebust, J.A., Craige, J.S. (eds.), *Handbook of Physiological and Biochemical Methods*. Cambridge University Press, London. Pp, 95-97.
- Luvha, E., Netondo, G.W., Ouma G., 2008. Effect of water deficit on physiological and morphological characteristics of mango (*Mangifer aindica*) root stock seedlings. *American Journal of Plant Physiology*. 3(1), 1-15.
- Pedrol, N., Ramos, P., Riegosa M.J., 2000. Phenotypic plasticity and acclimation to water deficits in velvet-grass: a long-term greenhouse experiment. Changes in leaf morphology, photosynthesis and stress-induced metabolites. *Plant Physiology*. 157, 383-393.
- Safikhani, F., HeydariSharifabad, H., SharifiAshoorabadi, E., Syadat, S.A., Seyednejad, S.M., Abbasnejad, B., 2008. Effect of water deficit on yield and different organs of *Dracocephalum moldavica* L. under greenhouse condition. *Pajouhesh& Sazandegi*, (Special Issue). pp: 2- 12. [In Persian with English Summary].
- Schonfeld, M.A., Johnson, R.C., Carver, B.F. Mornhinweg, D.W., 1988. Water relation in winter wheat as drought resistance indicators. *Crop Science*. 28,526-531.
- Schutz, M. Fangmeir, E., 2001. Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Minaret) to elevated CO₂ and water limitation. *Environmental Pollution* 114, 187-194.
- Tajamoliyan, M, Irannezhad Parizi, M, Malekinezhad, H, Rad, M., Sodaiizadeh, H., 2011. Assessing water relationships of *Fortuynia bungei* Boiss.in dry climate, MSc Dissertation, Faculty of Natural Resources & Desert University of Yazd, Iran. 115 p. [In Persian with English Summary].
- Tsugane, K., Kobayashi, K., Niwa, Y., Ohba, Y., Wada, K., Kobayashi, H. 1999. A recessive Arabidopsis mutant that grows photoautotrophically under salt stress shows enhanced active oxygen detoxification. *Plant and Cell*. 11(7), 1195-1206.