نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد بیست و چهارم، شماره سوم، ۱۳۹۶
http://jopp.gau.ac.ir

اثر سدیم‌نیتروپروساید بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی مرزه (*Satureja khuzestanica*) تحت رژیم‌های کم‌آبیاری

حسین گرگینی‌شبانکاره[1*] و سارا خراسانی‌نژاد[2]

[1]دانشجوی دکتری گیاهان دارویی گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم‌کشاورزی و منابع‌طبیعی گرگان، ایران.

[2]استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۵/۶/۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۲۲

چکیده

سابقه و هدف: خشکی از مهمترین عوامل محدودکننده رشد گیاهان در سرتاسر جهان و شایع‌ترین تنش محیطی است. امروزه کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد به‌منظور کاهش اثرات منفی ناشی از تنش‌های مختلف مطرح شده است. سدیم نیتروپروساید از جمله این مواد می‌باشد که موجب مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی زیستی (زنده) و غیرزیستی (غیرزنده) می‌شود. مرزه گیاهی یکساله از خانواده نعناعیان می‌باشد. بدلیل خواص آنتی‌اکسیدانی بالا و وجود ترکیبات پلی فنلی فراوان در این گیاه ارزشمند، آزمایشی با هدف بررسی اثر رژیم‌های آبیاری و کاربرد سدیم نیتروپروساید (SNP[2]) بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی مرزه انجام شد.

مواد و روش‌ها: این آزمایش در سال زراعی ۹۵-۱۳۹۴ با آرایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های تصادفی، در سه تکرار به‌صورت گلدانی انجام شد. تیمارهای آزمایش در چهار سطح رژیم‌های آبیاری شامل مقادیر ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و سه سطح سدیم‌نیتروپروساید شامل صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار لحاظ گردید. صفات مورد ارزیابی عبارت از پرولین، محتوای نسبی آب برگ، درصد اسانس، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل، کلروفیل a، b و کل بودند. پس از عملیات کاشت، برداشت و اندازه‌گیری عملکرد رشد، کلروفیل به‌روش آرنون، پرولین به‌روش بیتز، فنل کل به‌وسیله و روش فولین‌سیوکالتو و اسانس به کمک دستگاه کلونجر و روش تقطیر با آب استخراج شد.

یافته‌ها: افزایش سطوح رژیم آبیاری سبب کاهش معنی‌دار کلروفیل a، b و کل گردید. همچنین اثر رژیم آبیاری در بالاترین سطح منجربه کاهش ۱۸/۸ درصدی محتوای نسبی آب برگ نسبت به شاهد گردید. میزان پرولین، درصد اسانس، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فنل کل در اثر رژیم آبیاری افزایش یافت و در کمترین مقدار آبیاری در ظرفیت زراعی (۴۰ درصد ظرفیت زراعی) با ۱/۴۱، ۰/۶۳، ۲۰/۰۷ و ۰/۰۲ درصد افزایش به‌ترتیب برای میزان پرولین، درصد اسانس، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فنل کل، به حداکثر خود رسیدند. تیمار SNP نیز بر تمامی صفات مورد بررسی اثر معنی‌داری داشت و این تأثیر در ۱۰۰ میلی‌مولار به حداکثر خود رسید. اثر متقابل رژیم آبیاری و SNP به‌جز برای صفات وزن تازه و خشک گیاه و فنل کل برای سایر صفات مورد بررسی معنی‌دار بود. در شرایط رژیم آبیاری، محلول‌پاشی با ۱۰۰ میلی‌مولار SNP موجب افزایش ۱/۲۳، ۰/۲۴ و ۴/۴۸ درصدی به‌ترتیب در صفات پرولین، درصد اسانس و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به عدم محلول‌پاشی گردید.

*مسئول مکاتبه: h.shabankareh92@gmail.com

2. Sodium nitrophenolate

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که اعمال رژیم‌های آبیاری به‌طور معنی‌داری میزان کلروفیل a، b و کل و درصد محتوای آب نسبی برگ گیاه را کاهش داد. در مقابل میزان پرولین، درصد اسانس، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فنل کل افزایش یافت. با این حال تیمار سدیم نیتروپروساید از گیاهان مرزه در برابر تنش خشکی محافظت کرد و باعث کاهش خسارات ناشی از تنش خشکی گردید. به‌طورکلی نتایج این مطالعه نشان داد می‌توان اعمال سدیم نیتروپروساید را به‌صورت محلول‌پاشی جهت کاهش اثرات سوء رژیم‌های آبیاری توصیه کرد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، تنش کم‌آبی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل، محلول‌پاشی.

مقدمه

گیاهان در طی دوران رشد خود با تنش‌های متعدد محیطی مواجه می‌شوند، که هریک از آنها می‌توانند باتوجه به میزان حساسیت و مرحله رشدی گیاه اثرات متفاوتی بر رشد و عملکرد داشته باشند. کمبود آب از مهم‌ترین عوامل محیطی کاهش رشد و عملکرد بسیاری از گیاهان زراعی، باغی و دارویی به‌خصوص در مناطق خشک و نیمه‌خشک دنیاست (۱۲). عموماً خشکسالی مهمترین عامل محدودکننده رشد گیاه و تولید محصول در سراسر نقاط جهان است. در شرایطی که از دست دادن آب به‌صورت تعرق بر میزان آب جذب شده از خاک پیشی می‌گیرد، در گیاه تنش آب رخ می‌دهد. تنش طولانی مدت بر تمام فرآیندهای متابولیک گیاه اثر می‌گذارد و در نتیجه اغلب موجب کاهش تولید گیاه می‌شود (۲).

گیاه دارویی مرزه (*Satureja khuzestanica* L.) از خانواده نعناعیان است و به‌صورت بوته‌ای رشد می‌کند. این گیاه دارای گل‌های متعدد با اندازه ۱/۵ میلی‌متر، برگ‌های نیزه‌ای شکل و دارای غدد ترشحی حاوی اسانس می‌باشند (۱۱). مشخص شد که کم‌آبیاری روی چای ترش (*Hibiscus sabdarifa*) سبب کاهش در محتوای نسبی آب برگ نسبت به شرایط بدون تنش گردید (۲۸). بررسی اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر گیاه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica*) نشان داد که با افزایش تخلیه رطوبت قابل دسترس، محتوی آب نسبی برگ و در نتیجه عملکرد گیاه کاهش یافت (۲۶).

افزایش مقاومت به تنش‌های غیرزیستی در برخی گیاهان، از طریق کاربرد خارجی ترکیبات آلی گوناگون صورت می‌گیرد. همچنین در شرایط نامساعد محیطی، مثل تنش خشکی، فعالیت بالای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و محتوای بالای آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی برای تحمل گیاه به تنش بسیار مهم است. سدیم‌نیتروپروساید (SNP) یک ترکیب رهاکننده اکسیدنیتریک (NO) است که نقش آن در گیاهان موضوع پژوهش‌های مختلفی بوده است (۱۴، ۱۹). اکسیدنیتریک، خود یک گونه فعال نیتروژن است که تصور می‌شود بتواند به‌عنوان یک مولکول پیام‌رسان در پاسخ‌های سازشی به تنش‌های زیستی و غیرزیستی در گیاهان میانجی‌گری کرده و به‌عنوان یک عامل آنتی‌اکسیدان، ROSها را جمع‌آوری و از بین ببرد (۴). اکسیدنیتریک موجب افزایش تولید اسید آبسزیک تحت تنش خشکی می‌گردد (۲۴).

پژوهش‌ها نشان داده‌اند که تیمار با مواد رهاکننده NO می‌تواند با واکنش با ROSها و با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، نقش مهمی در محافظت گیاهان از تنش‌های اکسیداتیو داشته باشد. با این حال، نقش حفاظتی NO در گیاهان بستگی به غلظت NO، گونه گیاهی و نوع تنش دارد (۱۴). در تحقیقی مشخص شد که پیش‌تیمار با غلظت‌های ۱۰۰ میکرومولار یا کمتر SNP می‌تواند از طریق تداخل با ROS یا القای

آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو نقش حفاظتی در برابر خشکی داشته باشد (۲۳). در بررسی اثر سدیم‌نیتروپروساید بر رشد و عملکرد کدوی پوست کاغذی (*Cucurbita pepo* L.) تحت شرایط کم‌آبیاری مشخص شد که با تأخیر در آبیاری عملکرد کاهش می‌یابد اما با کاربرد سدیم‌نیتروپروساید می‌توان اثرات منفی خشکی را کاهش داد به‌طوری‌که بیشترین تعداد شاخه فرعی، وزن هزاردانه، عملکرد دانه و وزن میوه از کاربرد ۱۰۰ میکرومولار این تیمار حاصل شد (۳۳). همچنین بررسی تأثیر محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید بر رنگیزه‌های فتوسنتزی نشان داد که محلول پاشی با هردو غلظت (۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) سدیم نیتروپروساید کلروفیل b را افزایش دادند (۳).

محققان پی بردند که کاربرد مقدار ۰/۱ میلی‌مول سدیم نیتروپروساید، پیری برگ‌های گوجه فرنگی را با جلوگیری از تخریب کلروفیل و پروتئین‌های محلول به‌خصوص روبیسکو به تأخیر انداخت (۲۹). همچنین گزارش‌ها حاکی از آن بوده است که کاربرد سدیم نیتروپروساید سبب کاهش تلفات ذرت تحت تنش خشکی می‌شود (۱۰).

باتوجه به اینکه خشکی و کم‌آبی در ایران همواره از مهمترین مسائل و مشکلات کشاورزی است و از این پدیده طبیعی و غیرقابل تغییر راه فراری نیست و با عنایت به تأثیر منفی خشکی در محدود نمودن تولید محصولات، معرفی روش‌های مدیریتی نظیر کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد از طریق چنین بررسی‌هایی ضروری است، بنابراین، پژوهش حاضر، به‌منظور ارزیابی اثر رژیم‌های آبیاری و کاربرد سدیم‌نیتروپروساید بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و اسانس گیاه دارویی مرزه انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۹۵-۱۳۹۴ (بهمن‌ماه تا تیرماه) در گلخانه تحقیقاتی دانشکده‌ی تولید گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان با عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۳۰ دقیقه شمالی، طول ۵۳ درجه و ۵۷ دقیقه شرقی و ارتفاع ۱۵۵ متری از سطح دریای آزاد اجراء شد. در این تحقیق اثرات دو عامل رژیم‌های آبیاری و محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید (SNP) بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و اسانس گیاه مرزه به‌صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار که هر تکرار شامل سه واحد آزمایشی بود، مورد بررسی قرار گرفت. محلول‌پاشی سدیم‌نیتروپروساید در سه غلظت، صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار و رژیم‌های آبیاری در چهار سطح آبیاری در۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی اعمال شدند.

نشاء گیاه مورد نظر تهیه و تعداد ۵ بوته در داخل هر کدام از گلدان‌ها (گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۲۰ و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر) کشت گردید که در مجموع ۱۰۸ گلدان برای کشت استفاده شد. آبیاری با آب معمولی و کشت در اوایل زمستان صورت گرفت. بعد از سبز شدن، بوته‌ها در طی چندمرحله تنک گردیدند و در نهایت داخل هر گلدان سه بوته نگهداری شد. جهت شناسایی خصوصیات کمی و کیفی خاک محل آزمایش، نمونه خاک به آزمایشگاه منتقل و تجزیه شیمیایی و فیزیکی انجام گرفت. نتایج حاصل از تجزیه خاک در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورداستفاده

Table 1. Physical and chemical characteristics of used soil

بافت خاک	pH (Se)	EC (dS/m)	N (ppm)	P (ppm)	K (ppm)	T.N.V (%)	S.P
سیلتی-رسی- لوم Cilt-clay-loam	7.25	0.29	0.14	8.5	224	43	22.07

اعمال تیمارهای تنش بر اساس روش وزنی بود. ابتدا در کف هر کدام از گلدان‌ها به مقدار مساوی سنگ‌ریزه (جهت زهکشی) ریخته و با استفاده از ترازو به‌صورت هم وزن از خاک پر شدند (در داخل هر گلدان ۸ کیلوگرم خاک). سپس با افزودن آب، خاک هر گلدان را به‌درجه اشباع رسانده و به‌مدت ۴۸ ساعت روی سطح مشبک قرار داده شد تا هر گلدان پس از زهکشی آب اضافی به ظرفیت زراعی مزرعه برسد. در این مرحله گلدان‌ها به‌سرعت وزن شده و خاک آنها در دمای ۱۰۵ درجه به مدت ۴۸ ساعت کاملاً خشک گردید. در ادامه پس از مشخص شدن درصد وزنی رطوبت خاک در ظرفیت زراعی مزرعه، میزان رطوبت موجود در خاک برای اعمال تیمارهای رطوبتی مختلف مشخص گردید. برای کنترل وزن خشک بوته‌ها، هر تیمار رطوبتی دارای گلدان اضافی بود تا وزن خشک بوته‌ها به وزن خشک گلدان‌ها اضافه شده و مقدار صحیحی از آب در زمان اعمال تیمارهای رطوبتی به هر گلدان اختصاص یابد (کریم‌زاده اصل و همکاران، ۱۳۹۳). تا ۲۰ روز پس از کاشت (مرحله ۶ تا ۸ برگی شدن بوته‌ها)، گلدان‌ها در رژیم‌های‌های یکسان آبیاری گردیدند و از این مرحله به بعد، برای تعیین رژیم‌های آبیاری به‌طور روزانه رطوبت از هرکدام از گلدان‌ها اندازه‌گیری و رژیم‌هایی که درصد وزنی رطوبت خاک به درصد مورد نظر می‌رسید آبیاری در هر تیمار انجام می‌شد.

محلول پاشی بوته‌ها با سدیم نیتروپروساید (Na2[Fe(CN)5NO]) ۴۵ روز پس از کاشت و پس از استقرار کامل بوته‌ها طوری انجام شد که تمام برگ‌های گیاه کاملاً خیس شدند (۲۷). به منظور بهبود جذب برگی سدیم‌نیتروپروساید، از تریتون X100 با غلظت ۰/۰۱ درصد به‌عنوان سورفاکتانت استفاده شد. عملیات داشت شامل آبیاری گلدان‌ها، واکاری و تنک کردن در طول دوره رشد در موقع نیاز انجام شد. حدود ۸ هفته پس از شروع تیمارهای تنش (زمانی که ۵۰ درصد بوته‌ها در مرحله گلدهی کامل بودند) صفاتی نظیر پرولین، درصد اسانس، محتوای آب نسبی برگ، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل، کلروفیل a، b و کل، برای هر گلدان اندازه‌گیری شد. مقادیر کلروفیل a و b و کل با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر و روش آرنون تعیین شد (۹). بدین منظور مقدار ۰/۲ گرم از بافت سبز برگ‌های جوان در ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد سائیده، نمونه‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۱۶۰۰ دور سانتریفیوژ شدند. سپس اندازه‌گیری کلروفیل a، b و کلروفیل کل به‌ترتیب از طول موج‌های ۶۴۵، ۶۲۳ و ۴۸۰ نانومتر انجام گردید سپس اعداد به دست آمده در (رابطه‌های ۱، ۲ و ۳) جای‌گذاری شدند.

رابطه (۱)

$$\text{Chlo a (mg/g.F.w)} = 12.7\ (A663) - 2.69(A645) \times V/1000 \times W$$

رابطه (۲)

$$\text{Chlo b (mg/g.F.w)} = 22.9(A645) - 4.68(A663) \times V/1000 \times W$$

رابطه (۳)

$$\text{Chlo total (mg/g.F.w)} = 20.2(A645) + 8.02(A663) \times V/\ 1000 \times W$$

که در این رابطه، A: طول موج؛ V: حجم نهایی محلول و W: وزن نمونه است.

به‌منظور تهیه عصاره متانولی جهت اندازه‌گیری فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، یک گرم از برگ خشک وزن کرده بعد ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به آن اضافه گردید و به‌مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار داده شد و بعد از کاغذ صافی عبور داده شد. اندازه‌گیری فنل‌کل به روش فولین‌سیوکالتیو (۲۰) انجام و به این منظور ۲۰ میکرولیتر از عصاره تهیه شده با ۱/۶ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین به محلول فوق اضافه شد، پس از پنج دقیقه ۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات‌سدیم ۲۰ درصد به محلول اضافه نمونه‌ها بعد از همزدن به‌مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری با دمای ۴۰ درجه‌سانتی‌گراد نگه‌داری شد، سپس جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شده و نتایج برحسب میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم نمونه خشک محاسبه شد. برای رسم منحنی کالیبراسیون از غلظت‌های متفاوت اسید گالیک (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) در متانول ۸۰ درصد استفاده گردید. این مقدار برای یک گرم در لیتر محاسبه شده و فنل کل بر حسب میلی‌گرم گالیک‌اسید در ۱۰۰ گرم برگ خشک بدست آمد. که از رابطه Y=0.0063X محاسبه می‌شود و Y عددی است که مقابل بلانک خوانده می‌شود و از این طریق X بدست می‌آید. که برای یک گرم بدست آمده و پس از آن برای ۱۰۰ گرم محاسبه می‌شود.

برای اندازه‌گیری میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH (دی‌فنیل پیکریل‌هیدرازیل)، ابتدا یک میلی‌لیتر از عصاره متانولی با یک میلی‌لیتر DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار مخلوط گردید. برای نمونه شاهد یک میلی‌لیتر متانول خالص به‌جای یک میلی‌لیتر عصاره متانولی قرار داده شد و برای بلانک از متانول خالص استفاده شد. بعد از ۳۰ دقیقه تاریکی، نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شدند. اعداد بدست آمده از جذب نمونه توسط (رابطه ۴) به درصد مهار رادیکال آزاد تبدیل شد (۲۰).

رابطه (۴)

$$RSA = \frac{(Abs\ control)t = ۳۰\ min - (Abs\ sample)t = ۳۰\ min}{(Abs\ control)t = ۳۰ min} \times ۱۰۰$$

اعداد بدست آمده برابر با درصد مهار رادیکال‌های آزاد در عصاره متانولی (۰/۱ ppm) نمونه‌ها می‌باشد (۵). همچنین برای اندازه‌گیری پرولین از روش بیتز استفاده شد (۲۰). برای تعیین درصد محتوای نسبی آب برگ، از قسمت انتهایی ساقه سه برگ توسعه یافته از تمام واحدهای آزمایشی جدا کرده، قطعاتی یک سانتی‌متری برگ تهیه و وزن تر آن‌ها به کمک ترازو دیجیتالی اندازه‌گیری شد. برای تعیین وزن شباع آن‌ها را به پتری‌دیش‌های درب دار حاوی آب مقطر منتقل کرده و به‌مدت ۲۴ ساعت درتاریکی و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از خارج کردن قطعات از آب مقطر جهت حذف رطوبت اضافی سطح قطعات برگ آن‌ها را در بین دو لایه کاغذ صافی خشک نموده و سپس وزن آماس آن‌ها اندازه‌گیری شد. سپس وزن خشک با قرار دادن همان نمونه گیاهی در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت تعیین گردید و در نهایت رطوبت نسبی آب برگ (RWC[1]) با استفاده از (رابطه ۵) محاسبه شد (۳۴).

رابطه (۵)

$$RWC\ (\%) = \left[\frac{(\text{وزن خشک} - \text{وزن تر})}{\text{وزن خشک} - \text{وزن آماس}} \times ۱۰۰\right]$$

برای استخراج و اندازه‌گیری اسانس، سرشاخه‌های گلدار بوته‌ها در مرحله گلدهی کامل برداشت شد و در دمای اتاق (حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد) و در سایه خشک گردیدند، سپس از هر نمونه خشک شده ۱۰۰ گرم آسیاب شده و برای کاهش تلفات اسانس، بلافاصله با روش تقطیر با آب و دستگاه کلونجر اسانس‌گیری شد (۱۱).

1. Relative Water Content

تجزیه و تحلیل داده‌ها (تجزیه واریانس و مقایسه میانگین به‌روش LSD) با استفاده از نسخه ۹/۲ نرم‌افزار SAS و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

کلروفیل a، b و کل- نتایج تجزیه واریانس در جدول ۲ نشان می‌دهد که تیمار رژیم آبیاری و سدیم‌نیتروپروساید تأثیر معنی‌داری بر کلروفیل a، b و کل داشت (جدول ۲). بیشترین میزان کلروفیل a با میانگین ۲۸/۹۱ سانتی‌متر از تیمار رژیم آبیاری در ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و کمترین آن با میانگین ۱۲/۹۸ میلی‌گرم در گرم وزن تر از سطح چهارم تیمار رژیم آبیاری (۴۰درصد ظرفیت زراعی) بدست آمد (جدول ۳). کاربرد ۱۰۰ میلی‌مولار سدیم‌نیتروپروساید با میانگین ۲۵/۵۸ میلی‌گرم در گرم وزن تر موجب افزایش ۹/۳۸ درصدی این صفت نسبت به شاهد گردید (جدول ۴). در شرایط چهارم رژیم آبیاری (۴۰ درصد ظرفیت‌زراعی) کاربرد هر دو سطح ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار سدیم نیتروپروساید به‌ترتیب موجب افزایش ۲/۹۷ و ۴/۵۴ درصدی این صفت به عدم کاربرد سدیم‌نیتروپروساید در شرایط ۵۰ درصد رژیم آبیاری شد (جدول ۵).

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در سطح اول تا چهارم رژیم آبیاری به‌ترتیب مقادیر کلروفیل b برابر ۲۰/۶۳، ۱۸/۰۳، ۱۵/۶۸ و ۱۳/۴۱ میلی گرم در گرم وزن تر شد که نشان‌دهنده کاهش میزان کلروفیل b با افزایش سطح رژیم آبیاری می‌باشد (جدول ۳). سطوح ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار سدیم‌نیتروپروساید موجب افزایش به‌ترتیب۱/۷۰ و ۳/۶۰ درصدی این صفت نسبت به شاهد گردید (جدول ۴).

با افزایش رژیم آبیاری تا سطح چهارم کلروفیل کل به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۲). تیمارهای ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد ظرفیت زراعی با میانگین ۲۴/۱۴، ۲۶/۸۵ و ۳۸/۹۱ درصد باعث به‌ترتیب کاهش ۱۷/۳۱، ۱۴/۶۰ و ۲/۵۴ درصدی در میزان کلروفیل کل نسبت به شاهد شد (جدول ۴). محلول‌پاشی با سدیم‌نیتروپروساید در شرایط رژیم آبیاری اثر مثبتی بر صفت کلروفیل کل نداشت، ولی در شرایط عدم رژیم آبیاری با این ماده این صفت را افزایش داد، به‌طوری‌که بیشترین میزان کلروفیل کل با میانگین ۳۶/۱۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر در ۱۰۰ درصد ظرفیت‌زراعی و کاربرد ۱۰۰ میکرومولار سدیم‌نیتروپروساید مشاهده شد (جدول ۵). به نظر می‌رسد که در شرایط تنش ملایم، کاهش میزان فتوسنتز خالص گیاه در درجه اول، ناشی از بسته شدن روزنه‌ها باشد، اما در شرایط محدودیت شدید آبی، اثر روزنه‌ای ممکن است با افزایش مقاومت مزوفیلی و تأثیر سوء که تنش بر غشاء تیلاکوئیدها می‌گذارد، تشدید شود. در شرایط تنش خشکی با کاهش مقدار آب قابل‌دسترس، فتوسنتز کاهش یافته و متعاقب آن نیز ماده خشک گیاه نیز کاهش می‌یابد. همچنین در شرایط تنش خشکی، میزان دی‌اکسیدکربن قابل دسترس برای فتوسنتز به واسطه کاهش هدایت روزنه‌ای و مزوفیلی کاهش می‌یابد، از طرف دیگر، کاهش مقدار تولید و ایجاد وقفه در فرآیند چرخه تثبیت کربن به ایجاد محدودیت متابولیک و نیز در ادامه به کاهش فتوسنتز منجر می‌شود (۳۵). به‌علاوه تنش خشکی می‌تواند با تخریب سامانه فتوسنتزی، تخریب غشاء سلولی و کلروپلاستی سبب کاهش مقدار رنگدانه‌های کلروفیل a و b و متعاقب آن کاهش توانایی فتوسنتز گردد (۲۵). از دلایل دیگر کاهش کلروفیل می‌توان چنین بیان کرد که عوامل ایجادکننده تنش اکسیداتیو، مانند تنش خشکی ممکن است محتوای کلروفیل را به وسیله برهم زدن تعادل در بازگشت پروتین‌های کمپلکس نوری ۲ کاهش دهند (۲۷).

جدول ۲: تجزیه واریانس تأثیر سدیم نیتروپروساید بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و اسانس گیاه مرزه تحت رژیم‌های کم‌آبی

Table 3. Analysis of variance of SNP on physiological traits, biochemical and essential oil of *Satureja khuzestanica* under Irrigation regime

منبع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی (DF)	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total Chlorophyll	پرولین Proline	درصد اسانس essential oil (%)	محتوای نسبی آب برگ RWC	فعالیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant activity	فنل کل Total Phenol
تکرار Replicate	۲	4.60	1.89	24.06	0.001	0.0001	0.61	33.40	0.000001
رژیم آبیاری Irrigation Regime	۳	528.34**	86.44**	667.71**	4.01**	0.17**	681.49**	696.25**	0.00099**
سدیم‌نیتروپروساید SNP	۲	277.99**	38.79**	149.76**	2.18**	0.05**	105.90**	306.44**	0.00003**
رژیم آبیاری× سدیم‌نیتروپروساید Irrigation Regime× SNP	۶	14.31**	2.22 ns	6.39ns	0.15**	0.01**	23.86**	75.33*	0.000005 ns
خطاError	۲۲	0.65	0.80	6.03	0.004	0.001	0.84	11.11	0.000001
ضریب تغییرات (CV) (٪)		3.79	5.28	7.48	3.12	2.45	2.42	4.30	1.64

*،** و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و عدم معنی‌داری می‌باشد.

*, ** and ns are significant at 5 and 1% probability levels and non-significant, respectively.

کاهش در محتوای کلروفیل a، در برگ‌های گیاهان مرزه تحت‌رژیم آبیاری مشاهده شد که این اثر زمانی‌که گیاهان با ۱۰۰ میلی‌مولار SNP محلول‌پاشی شدند کاملاً مرتفع شد. لاسپینا و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که میزان کلروفیل بوته‌های آفتاب‌گردان پیش‌تیمار شده با ۰/۵ میلی‌مولار سدیم نیتروپروساید در شرایط تنش بهتر از گیاهان تیمار نشده بود (۱۷). در این مورد نیز به نظر می‌رسد که اثر NO به واکنش آن با ROS بر می‌گردد، زیرا رادیکال‌های آزاد اکسیژن اصلی‌ترین عاملی هستند که در شرایط تنش باعث خسارت و شکستن رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌شوند (۱۶). همچنین در برخی بررسی‌ها گزارش شده است که حضور NO دسترسی گیاه به آهن بیشتر است و این نیز می‌تواند یکی از نقش‌های NO در حفظ محتوای کلروفیل گیاه باشد (۲۳). محققان گزارش کردند که سدیم نیتروپروساید میزان کلروفیل را در گیاهان نخود تحت تنش خشکی را کاهش داده است (۳۰).

تغییرات فنل کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پرولین: صفاتی چون فنل کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان اسیدآمینه پرولین به‌عنوان شاخص واکنش به تنش به‌طور معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) تحت‌تأثیر تیمارهای رژیم آبیاری و استفاده از سدیم‌نیتروپروساید قرار گرفتند (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان فنل کل با میانگین ۰/۰۷ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک مربوط به تیمار رژیم آبیاری در ۴۰ درصد ظرفیت زراعی و کمترین آن با میانگین ۰/۰۵ میلی‌گرم بر ماده خشک مربوط به سطح اول تیمار رژیم آبیاری (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) بود (جدول ۳). کاربرد ۱۰۰ میلی‌مولار سدیم‌نیتروپروساید موجب افزایش معنی‌دار این صفت نسبت به شاهد گردید (جدول ۴). اثر متقابل تیمار سدیم نیتروپروساید و سطوح مختلف رژیم آبیاری، روی فنل کل اثر معنی‌داری نداشت (جدول ۵). تیمار رژیم آبیاری و محلول‌پاشی با SNP به تنهایی اثر معنی‌داری بر محتوای فنل کل داشت. این در حالی‌است که کاربرد SNP در شرایط رژیم آبیاری اثر معنی‌داری برای صفت فنل کل مشاهده نشد. گزارش‌ها حاکی است که ترکیبات فنلی با دادن الکترون به آنزیم‌های تیپ پراکسیداز و سم‌زدایی آب اکسیژنه تولید شده، می‌توانند در سلول به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کنند (۴).

با کاهش سطح آبیاری، فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۳). تیمارهای آبیاری ۸۰، ۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی با میانگین‌های ۷۷/۱۹، ۸۲/۰۴ و ۸۵/۳۱ درصد به‌ترتیب باعث افزایش ۱۱/۹۵، ۱۶/۸ و ۲۰/۰۷ درصدی در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به شاهد گردید (جدول ۳). در شرایط رژیم آبیاری در سطوح بالا، کاربرد سدیم نیتروپروساید توانست میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهد، به‌طوری‌که بیشترین مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۸۸/۱۷ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) از کاربرد ۱۰۰ میلی‌مولار سدیم‌نیتروپروساید در ترکیب تیماری رژیم آبیاری در ۴۰ درصد ظرفیت زراعی حاصل شد (جدول ۵).

همان‌گونه‌که در جدول ۳ نشان داده می‌شود تیمارهای ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد ظرفیت زراعی با میانگین ۲/۸۸، ۲/۷۲ و ۱/۹۱ میلی‌مولار بر گرم ماده خشک باعث افزایش میزان پرولین نسبت به شاهد شدند. در شرایط سطح چهارم رژیم آبیاری (۴۰ درصد ظرفیت زراعی) کاربرد هر دو سطح ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار سدیم‌نیتروپروساید موجب افزایش این صفت نسبت به شاهد گردید (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین مقدار پرولین ۳/۴۷ میلی‌مولار بر گرم ماده خشک از برهمکنش رژیم

آبیاری در ۴۰ درصد ظرفیت زراعی و کاربرد ۱۰۰ میلی‌مولار سدیم نیتروپروساید حاصل شد (جدول ۵).

در شرایط عادی رشد، بسیاری از فرآیندهای متابولیک تولید ROS می‌کنند. گیاهان دارای سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی پیچیده‌ای برای گریز از آثار مضر ROS هستند. تنش‌های محیطی مثل خشکی تولید ROS را افزایش می‌دهند که باعث اکسیدکردن رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌شوند. در این شرایط، گیاهانی که دارای سطوح بالای آنتی‌اکسیدانی دائمی یا القایی هستند، در برابر خسارات اکسیداتیو مقاوم‌تر هستند زیرا می‌توانند انواع اکسیژن‌های فعال را به صورت‌های موثر ساختمانی در بیاورند (۱۸).

به‌طورکلی محلول‌پاشی با سدیم‌نیتروپروساید سبب کاهش اثرات منفی خشکی گردید. این اثر می‌تواند به توانایی NO در جمع کردن ROS و جلوگیری از افزایش تولید (اسید ۲-تیوباربیتوریک) TBARS[1] و سایر آلدئیدها مربوط باشد. گزارش شده است که NO تبدیل آنیون سوپراکسید به پراکسید هیدروژن را تشویق می‌کند و این مرحله مهمی در حفاظت سلول در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن است. اگر پراکسیدهیدروژن تولید شده به‌موقع از سلول دفع نشود، آنیون‌های سوپراکسید واکنش داده، تولید رادیکال هیدروکسیل می‌کنند که برای سلول بسیار خطرناک است (۳۱).

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین مقدار پرولین از برهمکنش رژیم آبیاری ۴۰ درصد ظرفیت زراعی و کاربرد ۱۰۰ میلی‌مولار سدیم نیتروپروساید بدست آمد (جدول ۵). پرولین، اسیدآمینه ذخیره شده در سیتوپلاسم بوده و احتمال زیاد در حفاظت از ساختمان ملکول‌های بزرگ درون سلول در طی تنش خشکی نقش مؤثری دارد. پرولین در واقع به‌عنوان یک شاخص در تعیین میزان حساسیت به تنش شوری و خشکی در گیاهان به‌شمار می‌رود. بالا رفتن میزان این دو ترکیب در بافت‌های گیاهان به نوعی بیانگر فعال شدن ساز و کار تنظیم اسمزی است که در شرایط را برای جذب بیشتر آب و املاح از محیط ریشه فراهم می‌آورد. در برخی از گیاهان ثابت شده است که تغییرات میزان پرولین با توانایی آنها برای تحمل یا سازش به شرایط تنش خشکی مرتبط است و می‌تواند به‌عنوان شاخصی برای انتخاب گیاهان مقاوم به تنش خشکی استفاده شود (۱). هنگامی که گیاه در معرض تنش خشکی قرار می‌گیرد، تجزیه پروتئین‌ها و در نتیجه افزایش آمینواسیدها و آمیدها تسریع می‌شود که یکی از این آمینواسیدها پرولین است (۱۵). همچنین هنگامی که گیاه تحت تأثیر تنش‌ها قرار می‌گیرند، غلظت اسمولیت‌هایشان را افزایش می‌دهند تا جذب آب تحت شرایط تنش ادامه یابد. در بین اسمولیت‌های آلی، پرولین به احتمال زیاد فراوان‌ترین و عمومی‌ترین ماده حل شده سازگار است که تجمع می‌یابد (۲۸). احتمالاً گیاه به دلایل یاد شده پرولین خود را افزایش داده است. افزایش پرولین طی تنش خشکی در گیاهان دارویی آویشن و بابونه نیز گزارش شده است. نتایج آزمایشی در آفتاب‌گردان نشان داد که تنش خشکی سبب افزایش تجمع پرولین می‌شود (۲۸).

نصیبی (۲۰۱۱) در بررسی اثر غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید (SNP) در تخفیف صدمات اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی در گیاه گوجه‌فرنگی بیان کرد پیش تیمار با غلظت ۱۰۰ میکرومولار یا کمتر می‌تواند از طریق تداخل با ROS یا القای آنزیم‌های اکسیداتیو نقش حفاظتی در برابر تنش خشکی داشته باشد (۲۳). نصیبی (۲۰۱۱) در مقایسه پیش تیمار سدیم‌نیتروپروساید و آرژنین بر برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه گوجه‌فرنگی تحت تنش کم‌آبی نشان دادند که تأثیر کاربرد SNP تأثیری بر

1. Thiobarbituric acid reactive substances

قندهای محلول نداشته است. به احتمال زیاد نقش NO در این میان ضعیف است و مسیر اصلی سوخت و ساز آرژنین به طرف پرولین است و از این طریق حفاظت خود را اعمال می‌کند (۲۳).

درصد اسانس: درصد اسانس تحت‌تأثیر رژیم آبیاری، سدیم‌نیتروپروساید و اثر متقابل آن‌ها ($P<0/01$) قرار گرفت (جدول ۳). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیشترین اسانس با میانگین ۱/۴۷ درصد مربوط به تیمار ۴۰ درصد ظرفیت زراعی و کمترین آن با میانگین ۱/۱۴ درصد مربوط به سطح اول رژیم آبیاری (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) بود که باتوجه‌به نوع گیاه منطقی به‌نظر می‌رسد (جدول ۴). کاربرد ۱۰۰ میلی‌مولار سدیم نیتروپروساید موجب افزایش معنی‌دار این صفت نسبت به شاهد گردید. البته قابل ذکر است که کاربرد ۵۰ میلی‌مولار سدیم نیتروپروساید نیز سبب بهبود این صفت نسبت به عدم کاربرد سدیم نیتروپروساید گردید (جدول ۵). همچنین بیشترین درصد اسانس (۱/۵۸ درصد) از تیمار ترکیبی سطح چهارم رژیم آبیاری (۴۰ درصد ظرفیت زراعی) و ۱۰۰ میلی‌مولار سدیم نیتروپروساید مشاهده شد (جدول ۵).

درصد اسانس با عرضه آب قابل استفاده رابطه عکس نشان داد، بدین ترتیب که در همه اندام‌های گیاهی با افزایش مقدار آب در دسترس درصد اسانس کاهش یافت و در تیمارهایی که تحت تنش خشکی قرار نگرفته بودند، کمترین درصد اسانس مشاهده شد. دلایل اثبات شده‌ای مبنی بر نحوه واکنش متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی به تنش خشکی وجود ندارد. تنها دو فرضیه در مورد نحوه تأثیر شرایط محیطی بر متابولیت‌های ثانویه این گیاهان تکوین یافته است. فرضیه اول با عنوان موازنه کربن-عناصر غذایی (CNB)، میزان هزینه کربن برای تولید متابولیت‌های ثانویه را به‌عنوان موازنه بین فتوسنتز و رشد توضیح می‌دهد (۱۴). بر اساس این فرضیه هنگامی که عناصر غذایی در دسترس باشند گیاه کربن را برای رشد اختصاص می‌دهد. کمبود عناصر غذایی رشد را بیش از فتوسنتز محدود می‌کند و منجربه تشکیل هیدرات‌های کربنی می‌شود که متابولیت ثانویه کربن دار را تولید می‌کنند. فرضیه دوم یا موازنه رشد– تمایز، عنوان می‌کند تا زمانی که شرایط اجازه رشد و تقسیم سلولی را بدهد کربن صرف رشد می‌شود. با وقوع تنش کم‌آبی رشد متوقف شده، سلول‌ها تمایز یافته و مخازن متابولیت‌های ثانویه را تشکیل می‌دهند.گیاه کربن را به تولید مواد مؤثره دارویی اختصاص می‌دهد. هر کمبودی که رشد را بیش از فتوسنتز محدود کند، تولید متابولیت‌های ثانویه را افزایش می‌دهد (۹).

محققان نشان دادند که تنش خشکی سبب افزایش درصد اسانس گیاه بادرشبی گردید و کابرد نیتروژن در گیاه مرزه (*S. hortensis*) نشان داد که بیشترین و کمترین عملکرد اسانس به‌ترتیب در اثر کاربرد تیمار ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار و تیمار عدم کاربرد نیتروژن (شاهد) به‌دست آمد که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت (۲). سدیم نیتروپروساید نقش دهنده نیتروژن را دارد. کاربرد نیتروژن در گیاهان دارویی و معطر سبب افزایش فتوسنتز، میزان کلروفیل، فعالیت آنزیم رابیسکو، زیست‌توده، رشد، توسعه برگ و عملکرد اسانس می‌گردد. افزایش میزان اسانس در اثر مصرف کود نیتروژن به‌دلیل نقش مهم نیتروژن در توسعه و تقسیم سلول‌های جدید حاوی اسانس، کانال‌های اسانس، مجاری ترشحی و کرک‌های غده‌ای می‌باشد، که این اثرات را می‌توان به ترکیب نیتروژن رها شده از سدیم نیتروپروساید نسبت داد (۲۳).

جدول ۳: جدول مقایسه میانگین اثرات ساده رژیم آبیاری بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و اسانس گیاه دارویی مرزه

Table 3. Mean comparison of simple effect of irrigation regime on physiological traits, biochemical and essential oil of *Satureja khuzestanica*

رژیم آبیاری Irrigation regime	کلروفیل a (میلی‌گرم در گرم وزن تر) Chlorophyll a (mg/g leaf fresh weight)	کلروفیل b (میلی‌گرم در گرم وزن تر) Chlorophyll b (mg/g leaf fresh weight)	کلروفیل کل (میلی‌گرم در گرم وزن تر) Total Chlorophyll (mg/g leaf fresh weight)	پرولین (mM g^{-1}) Proline (mM g^{-1})	درصد اسانس (٪) essential oil (%)	محتوای نسبی آب برگ (٪) RWC (%)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (٪) Antioxidant activity (%)	فنل کل (mgQUE g^{-1}) Total Phenol (mgQUE g^{-1})
۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (100 FC) (A1)	28.91a	20.63a	41.45a	1.47d	1.14d5	44.85a	65.24d	0.05c
۸۰ درصد ظرفیت زراعی (80 FC) (A2)	26.73b	18.03b	38.91b	1.91c	1.23c	43.52b	77.19c	0.05c
۶۰ درصد ظرفیت زراعی (60 FC) (A3)	16.87c	15.68c	26.85c	2.72b	1.34b	37.33c	82.04b	0.06b
۴۰ درصد ظرفیت زراعی (40 FC) (A4)	12.98d	13.41d	24.14d	2.88a	1.47a	25.78d	85.31a	0.07a

در هر ستون برای هر تیمار، حروف مشابه نمایانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج‌درصد می‌باشد.

In the each column for every treatment, same letters demonstrate not significant at 0.05 probability levels

جدول ٤: مقایسه میانگین اثرات ساده سدیم نیتروپروساید بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی واسانس گیاه دارویی مرزه

Table 4. Mean comparison of simple effect of SNP on physiological traits, biochemical and essential oil of *Satureja khuzestanica*

سدیم نیتروپروساید (SNP)	کلروفیل a (میلی‌گرم در گرم وزن تر) Chlorophyll a (mg/g leaf fresh weight)	کلروفیل b (میلی‌گرم در گرم وزن تر) Chlorophyll b (mg/g leaf fresh weight)	کلروفیل کل (میلی‌گرم در گرم وزن تر) Total Chlorophyll (mg/g leaf fresh weight)	پرولین (mM g^{-1}) Proline (mM g^{-1})	درصد اسانس (٪) Essential oil (%)	محتوای نسبی آب برگ (٪) RWC (%)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (٪) Antioxidant activity (%)	فنل کل (mgQUE g^{-1}) Total Phenol (mgQUE g^{-1})
شاهد (B1) control	16.12c	15.17c	29.10c	1.81c	1.23c	34.70ca	71.88c	0.059c
۵۰ میلی‌مولار (B2) 50 m.M	22.40b	16.87b	33.30b	2.25b	1.28b	38.70	78.70b	0.061b
۱۰۰ میلی‌مولار (B3) 100 m.M	25.58a	18.77a	36.12a	2.67a	1.37a	40.59a	81.75a	0.062a

در هر ستون برای هر تیمار، حروف مشابه نمایانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج‌درصد می‌باشد.

In the each column for every treatment, same letters demonstrate not significant at 0.05 probability levels

جدول ۵: مقایسه میانگین اثرات برهمکنش رژیم آبیاری و سدیم نیتروپروساید بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و اسانس مرزه

Table 5. Mean value of simple effect of SNP on some physiologicaland, biochemical charactrestics as well as the essential oil percentage of *Satureja khuzestanica*

رژیم آبیاری (D)× سدیم‌نیتروپروساید (B)	کلروفیل a (میلی‌گرم در گرم وزن تر) Chlorophyll a (mg/g leaf fresh weight)	کلروفیل b (میلی‌گرم در گرم وزن تر) Chlorophyll b (mg/g leaf fresh weight)	کلروفیل کل (میلی‌گرم در گرم وزن تر) Total Chlorophyll (mg/g leaf fresh weight)	پرولین ($mM\ g^{-1}$) Proline ($mM\ g^{-1}$)	درصد اسانس (٪) Essential oil (%)	محتوای نسبی آب برگ (٪) RWC (%)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی(٪) Antioxidant activity(%)	فنل کل ($mgQUE\ g^{-1}$) Total Phenol ($mgQUE\ g^{-1}$)
D1×B1	20.55e	19.60bc	38.55bc	1.27j	1.09f	44.11a.c	51.13f	0.050h
D1×B2	31.15b	20.51ab	40.86ab	1.42i	1.17e	44.79ab	70.11e	0.051gh
D1×B3	35.03a	21.77a	44.96a	1.72h	1.17e	45.65a	74.47ed	0.051gh
D2×B1	22.11d	15.44ef	35.44cd	1.69h	1.24d	42.72c	73.43ed	0.052g
D2×B2	27.49c	18.23cd	40.75b	1.84g	1.23d	43.56bc	77.60cd	0.054f
D2×B3	30.56b	20.42ab	40.54c	2.20e	1.24d	44.29ab	80.55bc	0.054f
D3×B1	11.37i	14.71fg	21.37f	2.06f	1.27d	30.07e	80.29bc	0.062
D3×B2	17.50f	15.54ef	27.48e	2.79d	1.25d	39.29d	82.00bc	0.066d
D3×B3	21.47ed	16.80de	31.71d	3.29b	1.50b	42.64c	83.83ab	0.069c
D4×B1	10.48i	10.94h	21.04f	2.24e	1.34c	21.91g	82.69a.c	0.07b
D4×B2	13.45h	13.22g	24.12ef	2.93c	1.48b	25.62f	85.08ab	0.07b
D4×B3	15.02g	16.08ef	27.26e	3.47a	1.58a	29.81e	88.17a	0.07a

در هرستون برای هر تیمار، حروف مشابه نمایانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

In the each column for every treatment, common letters demonstrate not significant at 0.05 probability levels

D_1، D_2، D_3 و D_4 به‌ترتیب برابر است با کم‌آبیاری در سطح ۱۰۰، ۸۰، ۶۰ و۴۰ درصد ظرفیت زراعی

H_1، H_2 وH_3 سدیم نیتروپروساید در سطح ۰، ۵۰ و۱۰۰ میلی‌مولار

محتوای نسبی آب برگ: محتوای نسبی آب تحت تأثیر رژیم آبیاری، سدیم‌نیتروپروساید و اثرمتقابل آن‌ها ($P<0/01$) قرار گرفت (جدول ۳). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیشترین میزان محتوای نسبی آب برگ با میانگین ۴۴/۵۸ درصد مربوط به تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و کمترین آن با میانگین ۲۵/۷۸ درصد مربوط به سطح چهارم رژیم آبیاری (۴۰ درصد ظرفیت زراعی) بود (جدول ۴). کاربرد سدیم‌نیتروپروساید در هر دو سطح (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) موجب افزایش معنی‌دار این صفت نسبت به شاهد گردید. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در سطوح اول تا چهارم رژیم آبیاری به ترتیب مقادیر محتوای نسبی آب برگ برابر با ۴۴/۵۸، ۴۳/۵۲، ۳۷/۳۳ و ۲۵/۷۸ درصد شد که نشان‌دهنده کاهش میزان این صفت با افزایش سطح رژیم آبیاری می‌باشد (جدول ۴).

کاربرد نیتروپروساید در شرایط رژیم آبیاری اثر معنی‌داری بر محتوای نسبی آب داشت. به‌طوری‌که کاربرد ۱۰۰ میلی‌مولار از این ماده در شرایط رژیم آبیاری ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد ظرفیت زراعی، حداکثر مقدار این صفت در مقایسه با هر کدام از شرایط مذکور بدون کاربرد سدیم نیتروپروساید را به دنبال داشت (جدول ۶).

به‌طور کلی با افزایش رژیم آبیاری، محتوای نسبی آب برگ کاهش یافت. محتوای آب برگی، یک شاخص مناسب برای تنش آبی گیاه است. تنش خشکی با کاهش محتوای نسبی آب (RWC) و پتانسیل کل آب سبب کاهش رشد گیاهان می شود. سازوکار تنظیم اسمزی در گیاهان متحمل به خشکی، سبب حفظ و بالا نگه داشتن RWC در گیاه می‌شود. در آزمایشی روی گیاه بادرشبی مشخص شد با افزایش شدت تنش آبی، میزان محتوای نسبی آب برگ کاهش می‌یابد (۷، ۲۶). نتایج تحقیقات روی گیاه ارزن دم‌روباهی (*Setaria italica*) نشان داد که با کاهش میزان آبیاری، میانگین صفت محتوای آب نسبی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (۶). محققان گزارش کردند که بالاترین RWC در گیاه تاج‌خروس در گیاه شاهد (۹۴/۰۷ درصد) و کمترین آن تحت شرایط تنش کم آبی شدید (۶۴/۰۳ درصد) کاهش یافته است. تنش خشکی، سبب کاهش محتوای نسبی آب (RWC)، پتانسیل کل آب و کاهش رشد گیاهان می‌شود. سازوکار تنظیم اسمزی در گیاهان متحمل به خشکی، سبب حفظ و بالا نگه‌داشتن RWC در گیاه می‌شود. در یک بررسی، تنش خشکی موجب کاهش محتوای نسبی آب گیاه بادرنجبویه شد (۱). مقدار نسبی آب برگ در محدوده ۷۰-۳۵ ظرفیت فتوسنتزی کاهش می‌یابد که علت اصلی ممکن است ممانعت نوری باشد. بنابراین به نظر می‌رسد گیاه مقاوم مرزه با حفظ مقادیر زیاد RWC به نحوی از عوامل محدودکننده غیرروزنه‌ای در شرایط تنش فرار می‌کند.

بررسی نتایج این پژوهش نشان داد که با کاربرد سدیم‌نیتروپروساید از اثرات تنش خشکی کاسته می‌شود که همبستگی مثبت بین میزان محتوای نسبی آب برگ و رطوبت خاک را می‌توان به مصرف این ترکیب ربط داد چرا که سدیم‌نیتروپروساید با افزایش سطح برگ و دوام آن و همچنین با افزایش سرعت رشد محصول، سبب افزایش عملکرد زیست‌توده و در نهایت محتوای نسبی آب برگ در گیاه می‌گردد (۲۴). فاروق و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که کاربرد اکسیدنیتریک از منبع خارجی موجب جارو کردن ROS، توسعه توانایی غشای سلولی، بهبود فتوسنتز و محتوای رطوبت نسبی آب برگ می‌شود (۸). در بررسی اثر کادمیم و تیمار هم‌زمان سدیم‌نیتروپروساید (SNP) بر رشد و برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاه زیتون تلخ (*Melia azedarach*) مشخص شد که

تیمار سدیم‌نیتروپروساید اثر معنی‌داری بر محتوای نسبی آب برگ نداشت (۲۲).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر می‌توان اظهار داشت که در راستای کاهش مصرف کودهای شیمیایی با استفاده از کودهایی با اثر بالا و نیل به اهداف کشاورزی پایدار می‌توان بخش زیادی از اثرات تنش خشکی بر گیاه مرزه را با کاربرد سدیم‌نیتروپروساید تعدیل نمود. همچنین نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش سطح تنش خشکی، از مقدار کلروفیل a، b و کل و محتوای آب نسبی کاسته می‌شود و در مقابل، محتوای پرولین، فنل‌کل، درصد اسانس و فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابد که نوعی سازگاری گیاه با شرایط تنش محسوب می‌شود، اما وابستگی گیاهان در این شرایط به ترکیباتی مانند پرولین نیز برای گیاه هزینه‌بر است. به‌طورکلی نقش حفاظتی و تعدیل‌کنندگی SNP بر تنش خشکی را می‌توان، به تأثیر مثبت آن در بهبود شرایط تغذیه‌ای گیاهان با تامین و فراهمی مواد غذایی مورد نیاز و تنظیم اسمزی تحت رژیم آبیاری نسبت داد. مهم‌تر آن‌که کاربرد SNP به‌جای کودهای شیمیایی نیتروژن، می‌تواند نویدبخش کشاورزی پایدار و کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی در آینده باشد.

منابع

1. Abbaszadeh, B., Sharifiashour Abadi, A., Lebaschi, M.H.L. Naderi, M. and Moghadam, F. 2007. Effect of drought stress on proline, soluble sugar, chlorophyll and relative water Lemon balm (*Melissa officinalis* L.). Res. Med. Arom. Plant Iran. 23 (4): 513-504. (In Persian)
2. Abedi, T. and Pakniyat, H. 2010. Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.). Czech J. Gen. Plant Breed. 46: 27-34. (In Persian)
3. Arab, S., Baradaran Firouzabadi, M. and Asgharipour, M. 2015. The effect of ascorbic acid and sodium nitro prusside sprayed on photosynthetic pigments and some traits of safflower in terms of deficit irrigation. J. Agric. Plant. Prod. 38(4): 14-25. (In Persian)
4. Asadi Sanam, S., Zavareh, M., Pirdashti, H. and Hashempour, A. 2014. The effect of sodium nitroprusside (SNP) on some biochemical properties of barley seedlings in salinity. J. Plant Prod. Res. 21 (3): 19-32. (In Persian)
5. Brahmi, C., Kopp, C., Domart-Coulon, I., Stolarski, J. and Meibom, A. 2012. Skeletal growth dynamics linked to trace-element composition in the Scleractinian coral (*Pocillopora damicornis*). Geochimica et Cosmochimica Acta. 99: 146-158.
6. Chehelgardi, A., Safaie, M. and M.Abdolshahi, A. 2013. The effect of super absorbent polymer, Svlfatptasym and manure on physiological characteristics of foxtail millet (*Setaria italica*) in optimum irrigation and drought stress. J. Crop Prod. 7(2): 60-43. (In Persian)
7. Esazadeh, J., Kherasbi, J., Galavi, P. and Ramroudi, M. 2015. The effect of methanol on certain quantitative and qualitative characteristics of soybean under drought stress. J. Agric. Maneg. 17 (4): 1085-1075. (In Persian)
8. Farooq, M., Basra, S.M.A., Wahid, A. and Rehman, H. 2009. Exogenously applied Nitric Oxide enhances the drought tolerance in fine grain aromatic rice (*Oryza sativa* L.). J. Agron. Crop Sci. 195:254-261.
9. Gorgini Shabankareh, H. and Fakheri, B. 2015. The effect of different levels of salinity and drought stresses on growth indices and the essential oil of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). Iranian J. Field Crop Sci. 46 (4): 686-673. (In Persian)
10. Hao, G.P., Xing, Y. and Zhang, J.H. 2008. Role of nitric oxide dependence on nitric oxide synthaselike activity in the water stress signaling of maize seedling. J. Integrat. Plant Biol. 50: 435-442.

11.Hassani, A. and Omidbeygi Begay, R. 2006. Effects of drought stress on some morphological and biochemical indices of basil (*Ocimum basilicum*). Journal of Biology 6 (2): 763-767. (In Persian)
12.Heidari, M. and Minaei, M. 2014. Effects of drought stress and humic acid application on flower yield and content of macro-elements in medical plant borage (*Borago officinalis* L.). J. of Plant Prod. Res. 21 (1): 167-182. (In Persian)
13.Hoseini, E., Forouzan far, M. and Paye dar, A. 2013. The effect of hydroalcoholic extract of purslane (*Portulaca oleracea* L.) on serum concentration of estrogen, progesterone, prolactin and gonadotropins in mature female rats. J. Shahrekord Univ. Med. Sci. 15 (5):12-21. (In Persian)
14.Jiang, Y. and Huang. B. 2000. Effect of drought or heat stress alone and in combination on Kentucky bluegrass. *Crop Science*. 40: 1358-1362.
15.Kheirandish, E., Roshdi, M. and Yousefzadeh, S. 2015. Effects of water stress and nitrogen fertilizer on quantitative and qualitative characteristics of Dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.). Electronic Journal of Crop Production. 9(1): 109-125. (In Persian)
16.Kim, J.H. and Lee, C.H. 2005. In vivo deleterious effects specific to reactive oxygen species on photosystem II after photooxidative treatment of rice leaves. Plant Sciences. 168: 1115-1125.
17.Laspina, N.V., Groppa, M.D., Tomaro, M.L., and Benavides, M.P. 2005. Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd induced oxidative stress. J. Plant Sci. 169: 323-330.
18.Lei, Y., Yin, C., Ren, J. and Li, C. 2007. Effect of osmotic stress and sodium nitroprusside pretreatment on proline metabolism of wheat seedlings. Biologia Plantarum. 516: 386-390.
19.Li, Q.Y., Niu, H.B., Yin, J., Wang, M.B., Shao, H.B., Deng, D.Z., Chen, X.X., Ren, J.P. and Li, Y.C. 2008. Protective role of exogenous nitric oxide against oxidative-stress induced by salt stress in barley (*Hordeum vulgare*). Colloids and Surfaces B: Bio Interfaces. 56: 220-225.
20.McDonald, R.P., and Ho, M.H.R. 2002. Principles and practice in reporting structural equation analyses. Psychol. Method.7 (1): 64.
21.Miliauskas, G., Venskutonis, P.R. and Van Beek, T.A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chemistry. 85(2), 231-237.
22.Mosleh Arani, A., Sodaie Radeh, H., and Shamsi, H. 2015. Mirzaee, N. Radh irascible, H., and Solar, E. 1394. Effects of cadmium and the same treatment SNP (SNP) on growth and some physiological parameters bitter olives (*Melia azedarach*). Plant Process and Function. 4 (11). (In Persian)
23.Nasibi, P. 2011. The effect of different concentrations of sodium nitroprusside (SNP) at a discount oxidative damage induced by drought stress in tomato plants. J. Plant Biol. 2 (9): 74-63. (In Persian)
24.Omidi, F. and Sepehri, A. 2014. Effect of sodium nitroprusside (SNP) on leaf area, growth and water use efficiency figures kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.) under water stress. J. Agric. Manag. 16 (4): 885-871. (In Persian)
25.Oukarroum, A., Schansker, G., and Strasser, R.J. 2009. Drought stress effects on photosystem I content and photosystem II thermotolerance analyzed using Chl a fluorescence kinetics in barley varieties differing in their drought tolerance. Physiol. Plant. 137(2): 188-199.
26.Rahbarian, P., Afsharmanesh, G., and Shirzadi, M.H. 2010. Effects of drought stress and manure on relative water content and cell membrane stability in dragonhead (*Dracocephalum moldavica*). Sci. J. Plant Ecophysiol. 2(1):13-19. (In Persian)
27.Reise, M., Asrar, Z. and Poursaeid, SH. 2010. Interaction of sodium nitroprusside (SNP) and copper on growth parameters and physiology (*Lepidium sativum* L.). J. Plant Biol. 1(2): 55-76. (In Persian)
28.Sanjari Mijani, M., Sirousmehr, A. and Fakheri, B. 2015. Effect of drought stress and humic acid on some physiological characteristics of (*Hibiscus sabdarifa*). Agric. Cultivat. 17 (2): 414-403. (In Persian)

29.Shehab, G.G., Ahmed, O.K. and El-Beltagi. J.S. 2010. Effects of various chemical agents for alleviation of drought stress in rice plants (*Oryza sativa* L.). Notulae Bota Hort. Agrobotanici Cluj Napoca. 38: 139-148.

30.Sheokand, S., Kumari, A. and Sawhney, V. 2008. Effect of nitric oxide and putrescence on ant oxidative responses under NaCl stress in chickpea plants. Physiol. Mol. Biol. Plants, 14(4): 355-362.

31.Shi, Q., Fei, D., Wng, X. and Wei, M. 2007. Exogenous nitric oxide protects cucumber roots against oxidative stress induced by salt stress. Plant Physiol. Biochem. 45: 542-550.

32.Taghipour, G., Asghari Zakaria, R., Zare, N. and Sheikhzadeh, C. 2014. Evaluation of some physiological traits in populations of *Aegilops triuncialis* under drought stress. Res. J. Genetics Plant Breed. Pasture Forest. 22 (1): 66-55. (In Persian)

33.Yadollahi, P., and Asgharpour, M.R. 2014. The effect of sodium nitroprusside and ascorbic acid on the growth, morphological characteristics and performance parchment pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) under irrigated conditions. J. Crop. 6 (2). (In Persian)

34.Yamasaki, S., and Dillenburg, L.R. 1999. Measurements of leaf relative water content in *Araucaria angustifolia*. Revista Brasilleira de Fisiologia Vegetal. 11(2), 69-75.

35.Zare Mehrjerdi, M., Bagheri, R., Bahrami, A., Nabati, J. and Maasoumi, A. 2012. Effect of drought stress on photosynthetic characteristics, phenolic compounds and active radical scavenging capacity of different genotypes of chickpea (*Cicer arientinum* L.) in hydroponic culture. J. Sci. Tech. Greenhouse Cultures. 3 (12): 93-104. (In Persian)

36. Zheng, C., Jiang, D., Liu, F., Dai, T., Liu, W., Jing, Qi., and Cao, W. 2009. Exogenous nitric oxide improves seed germination in wheat against mitochondrial oxidative damage induced by high salinity. Environ. Exp. Bot. 67: 222-227.