گیاه و زیست فناوری ایران
Iranian Journal of Plant & Biotechnology (IJPB)

مقاله پژوهشی

تأثیر لیزر نور قرمز و تنش کم‌آبی بر گیاه دارویی-زینتی خرگوشک (*Verbascum Songaricum*)

رضا نوروزی اصفهانی (نویسنده مسئول)[1*]، شهاب خاقانی[2]، فروغ مرتضایی نژاد[3]، امیر عزیزی[4] و مسعود گماریان[5]

[1*]- دکتری تخصصی، گروه معماری منظر و علوم گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک، اراک، ایران،
reza_norouzi98@yahoo.com

۲ – دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک، اراک، ایران،
shahab.khaghani@gmail.com

۳- دانشیار، گروه باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (اصفهان)، اصفهان، ایران،
Drmortazaeinezhad@gmail.com

٤- استادیار، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه اراک، اراک، ایران، a-azizi@araku.ac.ir

۵ – استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک، اراک، ایران،
msgomarian@yahoo.com

تاریخ دریافت: بهمن ۱٤۰۱ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱٤۰۲

The effect of Red Light Laser and water stress on the medicinal – ornamental plant (*Verbascum Songaricum*)

Reza Norouzi Esfahani (Corresponding author)[1*], Shahab Khaghani[2], Forough Mortazaeinezhad[3], Amir Azizi[4] and Masoud Gomarian[5]

١*- Ph.D, Department of Landscape Architecture and Plant Science, Islamic Azad University, Arak Branch, Arak, Iran, reza_norouzi98@yahoo.com

2 - Associate Professor, Department of Agriculture and Plant Breeding, Islamic Azad University, Arak Branch, Arak, Iran, shahab.khaghani@gmail.com

3 - Associate Professor, Department of Horticulture, Islamic Azad University of Isfahan Branch (Khorasgan), Isfahan, Iran, Drmortazaeinezhad@gmail.com

4 - Assistant Professor, Department of Chemistry, Faculty of Science, Arak University, Arak, Iran, a-azizi@araku.ac.ir

2 - Assistant Professor, Department of Agriculture and Plant Breeding, Islamic Azad University, Arak Branch, Arak, Iran, msgomarian@yahoo.com

Received: February 2023 Accepted: May 2023

Abstract

Recently, the pretreatment of seeds with helium-neon laser has attracted the interest of the scientific community as one of the safest ways to enhance seed germination, seed growth and increase the resistance of plants to stresses. Due to the sensitivity of phytochromes to red light, the activity of enzymes related to growth and flowering can be increased by irradiating plant seeds with He-Ne laser light at a wavelength of 632.8 nm. In this study, the effect of laser on the morphological and physiological characteristics of *Verbascum songaricum* under normal conditions and under water stress was investigated. First, the effect of helium-neon laser with durations (0 and 30 minutes) and water deficit stress at two normal irrigation levels and water deficit stress (irrigation at 50% soil capacity) on seed germination in an experiment in the form of chopped plots in the form of a block design Complete randomization was evaluated in four replicates in the conditions of the research field of Azad University, Isfahan branch, and it showed the best plant stem height, root length, number of main stem flowers in the interaction effect of laser and water deficit stress. Helium-neon laser improved seed germination, flowering and seed growth of safflower in a time-dependent pattern under all water stress conditions.

Key words: Anthocyanin, Catalase, Germination, Verbascum.

Iranian Journal of Plant & Biotechnology
Spring 2023, Vol 18, No 1, Pp 14-34

چکیده

اخیراً پیش‌تیمار دانه‌ها با لیزر هلیوم – نئون به‌عنوان یکی از ایمن‌ترین شیوه‌های تقویت جوانه‌زنی دانه، رشد دانه و افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌ها، علاقه جامعه علمی را به خود جلب کرده است. به علت حساس بودن فیتوکروم ها به نور قرمز، با پرتودهی نور لیزر He-Ne به بذر گیاه در طول‌موج ٦۳۲/۸ نانومتر، می‌توان فعالیت آنزیم‌های مرتبط با رشد و گلدهی را افزایش داد. در این مطالعه، اثر لیزر بر خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه دارویی خرگوشک (*Verbascum Songaricum*) در شرایط نرمال و تحت تنش آبی بررسی گردید. ابتدا اثر لیزر هلیوم – نئون با مدت‌زمان‌های (صفر و ۳۰ دقیقه) و تنش کم‌آبی در دو سطح آبیاری معمول و تنش کم‌آبی (آبیاری در زمان پنجاه درصد ظرفیت زراعی خاک) بر جوانه‌زنی بذر در یک آزمایش به‌صورت کرت های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار در شرایط مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد واحد اصفهان ارزیابی شد و بهترین ارتفاع ساقه گیاه، طول ریشه، تعداد گل ساقه اصلی را در اثر متقابل لیزر و تنش کم‌آبی به ترتیب ۲۹٤/۲۵ سانتی‌متر، ۳۸/۹۰ سانتی‌متر، ٤۷۱ عدد و بیشترین مقدار سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، پرولین به ترتیب ۵۸/۱۲، ۰/٤۳، ۱۱۷/۷٤ میلی‌گرم نشان داد. لیزر هلیوم – نئون با یک الگوی وابسته به مدت‌زمان تابش، جوانه‌زنی بذر، گلدهی گیاه خرگوشک و رشد بذر را در هر شرایط با تنش کم‌آبی بهبود بخشید.

کلمات کلیدی: آنتوسیانین، جوانه‌زنی، کاتالاز، خرگوشک.

فصلنامه گیاه و زیست فناوری ایران
سال۱٤۰۲، دوره۱۸، شماره ۱، صص ۳٤-۱٤

مقدمه و کلیات

کم‌آبی امروزه یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده ازدیاد محصول در نواحی خشک و نیمه‌خشک هست و کاهش رشد در اثر تنش کم‌آبی به‌مراتب بیشتر از سایر تنش‌های محیطی دیگر است. کمبود آب و تنش شوری به‌طور کلیدی روی بقای محصولات زراعی و تولید غذای پایدار اثر دارند (عزیزی و همکاران، ۱۳۹۵). تنش کم‌آبی که به علت کاهش آب در محیط رشد ریشه رخ می‌دهد، به بسته شدن سلول‌های روزنه‌ای و محدودیت گاز دی‌اکسید کربن منجر می‌شود. از دست دادن مقدار زیادی آب سبب ازهم‌گسیختگی متابولیسم و ساختار سلولی می‌شود و به توقف اثرات کاتالیزی آنزیم‌ها منجر می‌شود. تنش آبی (Water Stress) شدید ممکن است به جلوگیری از فتوسنتز، ازهم‌گسیختگی متابولیسم و سرانجام به مرگ گیاه منجر شود. تنش کم‌آبی سبب کاهش رشد گیاه از طریق تغییر فرایندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاه ازجمله تغییر فعالیت آنزیم‌ها، نفوذپذیری غشاء سلول، وضعیت آب برگ و نرخ فتوسنتزی گیاه می‌شود (Norouzi Esfahani *et al.*, 2023). برگ‌های گیاه نسبت به سایر اندام‌های گیاهی حساسیت بیشتری نسبت به تنش کم‌آبی از خود نشان می‌دهند. کاهش رشد برگ و یا پیری برگ‌ها در شرایط تنش کم‌آبی یکی از مکانیسم‌های سازشی گیاه (Plant adaptation mechanisms) در پاسخ به تنش کم‌آبی و کاهش تعرق است. رشد برگ به دلیل در دسترس نبودن آب موردنیاز و کاهش جذب مواد غذایی کاهش می‌یابد (Jaleel *et al.*, 2008). تحقیقات متعددی نشان داده است که نور لیزر باعث افزایش انرژی دانه‌ها، بلوغ جنین دانه و تشدید تبادل مواد غذایی و افزایش مقاومت به آفات و بیماری‌ها در گیاهان می‌شود و جوانه‌زنی، حجم ریشه و بخش-های هوایی و کیفیت محصولات را افزایش می‌دهد (Vasilevski, 2003). ابراهیم‌زاده و همکاران (۱۳۸۸) گزارش کردند نور لیزر، میزان و سرعت جوانه‌زنی بذر ارقام گندم و همچنین طول، وزن‌تر ریشه‌چه و ساقه‌چه، تعداد گیاهچه را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (Ahmed *et al.*, 2002). بررسی اثر تیمار نوری لیزر و اسید جیبرلیک بر میزان جوانه‌زنی بذر گیاه دارویی مریم‌گلی نشان داد که تیمار لیزر می‌تواند جایگزین مناسبی برای تیمارهای شیمیایی در تسریع جوانه‌زنی بذر این گیاه باشد (احمدی و همکاران، ۱۳۹۵). میرشکاری و صیامی (۱۳۹٤) نیز دریافتند که تابش لیزر موجب بهبود جوانه‌زنی، رشد اولیه و شاخص‌های دارویی گیاه بارهنگ شد و میانگین زمان لازم، برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی را در حد معنی‌داری کاهش داد(خشنودی زاده و همکاران، ۲۰۱۰). تحقیق دیگری نشان داد که پیش‌تیمار دانه‌های سویا با لیزر با طول‌موج ۵۳۲ نانومتر، جوانه-زنی و طول دانه سویا را افزایش داد (Osman *et al.*, 2009). تابش نوری لیزر با توان ۱۵ و مدت‌زمان ۵ دقیقه در سویا، متابولیسم گیاه را تغییر داد و موجب افزایش تولید نشاسته و ساکارز و اسیدهای بنزنی شد. همچنین افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین-آمونیالیاز، باعث افزایش ایزوفلاوون‌ها در لپه و دانه سویا شد (Tian *et al.*, 2009). در مورد مکانیسم عمل تابش لیزر برای افزایش جوانه‌زنی بذر گیاهان پیشنهادشده است که احتمالاً فعالیت فتودینامیکی نور

و یا انرژی لیزر هلیوم – نئون، جوانه‌زنی دانه‌ها را تسریع نموده است (Chen *et al*., 2010). در واقع به دلیل حساس بودن فیتوکروم‌ها به نور قرمز با پرتودهی لیزر هلیوم–نئون فعالیت آنزیم‌های مرتبط با جوانه‌زنی مانند آمیلازها و همچنین انرژی درونی و آنتروپی طی جوانه‌زنی افزایش می‌یابد. نور لیزر تعادل انرژی جوانه‌زنی بذر را می‌شکند و درنتیجه تبادل انرژی بیشتری بین بذر و محیط اطراف صورت می‌گیرد (Hernandez *et al*., 2010). تابش نوری لیزر در بهبود فعالیت آلفا آمیلاز مؤثر است و رادیکال‌هایی که خواب دانه را القا می‌نمایند را بی‌اثر می‌نماید و به همین دلیل، درصد جوانه‌زنی و بنیه دانه‌ها را بهبود می‌بخشد (Shen *et al*., 2016). علاوه بر این تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که پیش‌تیمار دانه‌ها با لیزر را در مقابل تنش‌های مختلف ازجمله خشکی حفاظت می‌نماید (Wu *et al*., 2007). حسین زاده ثابتی و همکاران (۱۳۹۲)، گزارش نمودند که لیزر هلیوم–نئون با توان ۳/۳ میلی وات به مدت ۳۰ دقیقه، اثرات شوری بر مورفولوژی، فیزیولوژی و فرایندهای بیوشیمیایی را تعدیل کرد و باعث افزایش عملکرد ارقام مورد بررسی جو تحت تیمارهای شوری شد. لیکن، برای طراحی فضای سبز شهری و با توجه به خشک‌سالی‌های اخیر استفاده از گیاهان دارویی–زینتی مانند گیاه خرگوشک که به تنش‌های محیطی مانند خشکی متحمل هستند دارای اولویت می‌باشند. در همین راستا، با توجه به چندساله بودن خرگوشک و نیز تنوع رنگ گلها، پیش بینی می شود که این گیاه قابلیت استفاده در فضای سبز شهری را به عنوان یک گیاه زینتی داشته باشد. خرگوشک گیاهی دارویی که از خواص این گیاه می‌توان به تأثیر آن در درمان سرماخوردگی، برونشیت و جهت تسکین حالت‌های عصبی، اضطراب، اختلال‌های ضربان قلب و ناراحتی‌های معده اشاره کرد (Norouzi Esfahani and Khaghani, 2023; Perveen *et al*., 2010; Safi *et al*., 2015). از آن جا که تاکنون پژوهشی روی چگونگی اثرگذاری اعمال تنش کم آبی و نور لیزر بر رشد خرگوشک و مقدار تغییرات صفات رشدی و زیست– شیمیایی این گیاه مهم زینتی و دارویی انجام نشده است، با توجه به مطالب ذکرشده، هدف از این مطالعه بررسی تأثیر لیزر هلیوم–نئون بر کاهش اثرات تنش کم آبی بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه دارویی – زینتی خرگوشک بود.

فرآیند پژوهش

این آزمایش در دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان به‌صورت کرت های‌خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ٤ تکرار اجرا شد. به‌منظور اعمال فاکتور لیزر از دستگاه لیزر هلیوم ـ نئون مدل (nano biophotonic model, Iran) طول‌موج ٦٥٠ نانومتر با حداکثر توان خروجی mW=3.30 و قطر پرتو ۱,۵ میلی‌متر استفاده شد. شدت نور لیزر با یک متر سنج (مدل CTL-2001، LaserInstrument، لهستان) اندازه‌گیری شد. به‌منظور تأثیر بهتر فاکتور لیزر، تابش بذرها در اتاق تاریک انجام گرفت. دو هفته قبل از آزمایش، بذور گیاه خرگوشک در تاریکی نگه‌داشته شدند تا از تأثیر تصادفی چراغ قرمز از جمله غروب خورشید محافظت شوند. قبل از تابش لیزر، از هیچ‌گونه حساسیت‌زدایی اضافی

شیمیایی یا فیزیولوژیکی نیز استفاده نگردید. همچنین در هنگام شمارش بذور، از تابش منابع نوری فراوان، به‌ویژه آفتاب و لامپ‌های فلورسنت سفید محافظت شد. تیمار تابش نور لیزر قرمز نیز به‌وسیله عدسی واگرا به‌صورت صفحه‌های درآمده بر بذرهای خشک به مدت ۳۰ دقیقه از سمت جنین اعمال گردید. خصوصیات لیزر مورد استفاده در این آزمایش در جدول ۱ نشان داده‌شده است. بذرها را در ابتدا با کلراکس ۱۰ درصد به مدت ٦۰ ثانیه ضدعفونی کردیم، پس از سطح بذور، آن‌ها را روی کاغذ صافی مرطوب قرارداده شد. سپس به‌صورت تصادفی تعدادی بذر انتخاب شدند (بذرهایی که ظاهری سالم داشتند) و با لیزر نور قرمز تیمار گردیدند. مدت‌زمان تابش نور لیزر در ۲ سطح تابشی (صفر و ۳۰ دقیقه) در نظر گرفته و تابش نور قرمز در دمای اتاق بدون کنترل ترموستاتیک انجام شد. توان خروجی پرتو لیزر به ٤ مگاوات سانتیمتر مربع تنظیم شد. به‌منظور بزرگ کردن منطقه تابش، از یک عدسی مثبت با فوکوس کوتاه استفاده گردید. در طول تابش نیز، دانه‌ها بر یک کمربند انتقال ویژه قرار گرفتند. لیزر و عدسی در یک تکیه‌گاه مکانیکی سوار شده و فاصله بین عدسی و کمربند انتقال (حدود ۳۰ میلی‌متر) برای بزرگنمایی بهینه گردید. اندازه نقطه پرتو تا دایره با قطر ۲۰ میلی‌متر تنظیم شد. بنابراین، دانه‌ها در یک‌لایه تک در یک خط مستقیم بافاصله ۳ میلی‌متر قرار داده شدند تا پراکندگی نور و غربالگری جزئی بذرها از بین بروند.

جدول۱- خصوصیات لیزر مورداستفاده

Table 1- Characteristics of the laser used

ROW ردیف	Laser لیزر	Helium neon laser لیزر هلیوم نئون
1	Wavelength (nm)	632.8
2	Power (mW)	3.30
3	Time (minutes)	30.0

سرعت عبور از منطقه تابش به صورتی تنظیم شد، که هر دانه به مدت ۳۰ دقیقه تحت تابش قرار گرفت. هر دانه فقط یک‌بار تحت تابش قرار گرفت. بر اساس توصیه پژوهش‌های پیشین که زمان قرار گرفتن در معرض و قدرت لیزر مورداستفاده در این آزمایش‌ها به نحوی تنظیم گردید که از ایجاد هرگونه اثرات حرارتی دردانه‌ها جلوگیری به عمل آید (Podleśny *et al*., 2012). بذور مورد استفاده از مرکز تحقیقات بذر، دانشگاه آزاد اصفهان تهیه گردید که پس از اعمال فاکتور تابش لیزر، آن‌ها را در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه با تراکم ۲۰ بذر در گلدان‌هایی به قطر دهانه ١٦ سانتی‌متر و ارتفاع ٢٤ سانتی‌متر در عمق ۲-۳ سانتی‌متری کشت کردیم. داخل تمامی گلدان‌ها به نسبت ۲ به ۱ خاک با بافت سیلتی- لومی و کود برگ ریخته شد. برای آبیاری گلدان‌ها از آبی باقابلیت هدایت الکتریکی ۰/٤۹ دسی

زیمنس بر متر استفاده گردید. شرایط گلخانه به‌صورت ۱۵ ساعت روشنایی و دمای ۲۹ درجه سانتی‌گراد در روز و ۲۲ درجه سانتی‌گراد در شب و همچنین رطوبت ۷٤ درصد تنظیم شد. در نیمه اسفندماه به‌منظور مقاوم‌سازی گیاهان، گلدان‌ها به مدت یک هفته به بیرون از گلخانه انتقال داده شدند و سپس در مرحله پنج‌برگی در مزرعه آزمایشی دانشگاه آزاد کشت گردیدند. تا زمان سبز شدن، برای تمامی گلدان‌ها آبیاری به‌صورت روزانه انجام و بعد از استقرار گیاه تیمار تنش آبی اعمال شد. نشاءهای ذکرشده در کرت‌های ۱ در ۲ متر و در هر کرت ۸ نشاء کاشته شدند. فاکتورهای آزمایش شامل کاربرد لیزر و تنش کم‌آبی بود که فاکتور لیزر در دو سطح (عدم کاربرد و۳۰ دقیقه) و فاکتور تنش کم‌آبی در دو سطح آبیاری معمول و در شرایط تنش (آبیاری در زمان ۵۰٪ ظرفیت زراعی مزرعه) بود، نیاز آبی گیاه برای تیمار شاهد با استفاده از میانگین بلندمدت داده‌های روزانه فراسنجه های هواشناسی ثبت‌شده در ایستگاه هواشناسی اصفهان و رابطهٔ ($ETc = ET0 \times Kc$) برآورد شد. ETC: نیاز آبی گیاه خرگوشک (میلی‌متر در روز) ETo: تبخیر تعرق گیاه (میلی‌متر در روز) و Kc ضریب گیاهی خرگوشک است. لازم به توضیح است مقادیر ETo، برپایهٔروش استاندارد فائو–پنمن–مانیث برآورد شد.

جدول ۲- نتایج آنالیز خاک

Table 2- Results of soil analysis used

هدایت الکتریکی (dS/m) EC (dS/m)	اسیدیته pH	درصد مواد آلی Organic matter (%)	آهک Lime	فسفر (mg/kg) P (mg/kg)	پتاسیم (mg/kg) K (mg/kg)	بافت خاک Soil Texture
4.48	7.32	1.06	38	39.7	210.08	loamy - sandy

پس از محاسبهٔ مقادیر ETc، مقادیر نیاز خالص و آب آبیاری گیاه خرگوشک بر پایهٔ فواصل کشت، نوع سیستم آبیاری و دور آبیاری برآورد و سپس در هر نوبت آبیاری به گیاه داده شد. برای محاسبهٔ نیاز آبی هر بوته، مجموع آب‌داده شده در طول دوره رشد به هر بوته محاسبه شد که در این صورت میزان نیاز آبی هر بوته برای تیمار شاهد برآورد شد. نیاز آبی دیگر تیمارها (تیمارهای تنش کم‌آبی) بر پایهٔ نیاز آبی تیمار شاهد و درصد تنش آبی (۵۰ درصد)، برآورد و توزیع شد. در پایان آزمایش به‌منظور اندازه‌گیری صفات از هر واحد آزمایشی نمونه‌هایی به‌صورت تصادفی انتخاب شد و سپس بعد از ۲٤ ساعت از عمق توسعه ریشه‌ها (۰ تا ۳۰ سانتی‌متر) نمونه‌برداری انجام شد (Condon *et al.*, 2008). نمونه‌ها بلافاصله توزین شده و سپس به داخل آون منتقل و به مدت ٤۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلسیوس خشک قرار داده شد. درنهایت نمونه‌های خشک شده مجدداً توزین گردید. تعیین طول عمر گل بر پایهٔ مشخصات ظاهری موردبررسی قرار گرفت، یعنی حالتی از گلبرگ‌ها که نخستین

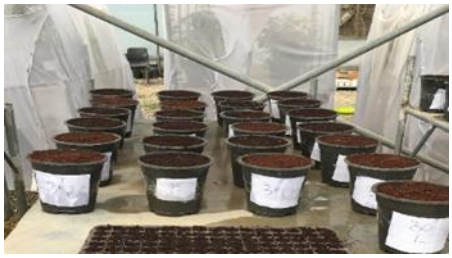
نشانه‌های کاهش تورژسانس و پژمردگی در آن‌ها ظاهر شد و درصد رطوبت محاسبه شد. پس از اعمال تیمارها درنهایت صفاتی از قبیل ارتفاع ساقه گل دهنده، طول ریشه، وزن خشک اندام هوایی، تعداد گل ساقه اصلی، تعداد گل‌آذین، آنتی‌اکسیدان، کلروفیل کل، سوپر اکسید دیسموتاز با روش (Kumar *et al*., 2016)، پرولین، کاتالاز اندازه‌گیری شد. آنتی‌اکسیدان، آنتوسیانین، کلروفیل مورد ارزیابی قرار گرفتند. به‌منظور تعیین محتوای رنگ دانه‌های برگ بر اساس روش (Arnon, 1967)، میزان ۰/۵ گرم از بافت تر برگ توزین و با ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد روی یخ و با هاون چینی سرد مخلوط شده و عصاره به‌دست آمد به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰RPM سانتریفیوژ گردید. سپس برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل و کاروتنویید روی سومین برگ جوان پیش از برداشت، جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل -۶۵۰۰AA شرکت شیمادزو ژاپن) در طول‌موج‌های ٦٤٥، ٤٧٠ و ٦٦٣ نانومتر اندازه‌گیری شد. داده‌های جمع‌آوری‌شده با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9 تجزیه و تحلیل شدند و مقایسه میانگین‌ها نیز به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام شد.

شکل۱- دستگاه لیزر He-Ne (مدل نانو بیوفوتونیک، ایران)

Fig 1- He-Ne laser device (nano bio photonic model, Iran)

شکل۲- کاشت بذرها در گلدان‌ها در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه

Fig 2- Planting seeds in pots in the university research greenhouse



شکل۳- کاشت و علامت‌گذاری کرت‌ها و تصویر گیاه خرگوشک در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه

Fig 3- Planting and marking the plots as well as the image of verbascum plant in the university research farm

نتایج و بحث

مقایسه میانگین صفات ارتفاع ساقه گل دهنده، طول ریشه، وزن خشک اندام هوایی، تعداد گل ساقه اصلی، تعداد گل‌آذین، آنتی‌اکسیدان، کلروفیل کل، سوپراکسید دیسموتاز پرولین، کاتالاز در گیاه خرگوشک مربوط به فاکتور لیزر و تنش به ترتیب ارائه‌شده است. نتایج حاصل از داده‌ها، صفات ارتفاع ساقه گل دهنده، طول ریشه، وزن خشک اندام هوایی، تعداد گل ساقه اصلی، تعداد گل‌آذین نشان داد، اثر تیمارهای تنش، لیزر و اثر تیمار ترکیبی تنش و لیزر در گیاه خرگوشک معنی‌دار گردید (جدول۳).

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر تنش کم‌آبی و لیزر بر برخی صفات مورفولوژیک گیاه خرگوشک

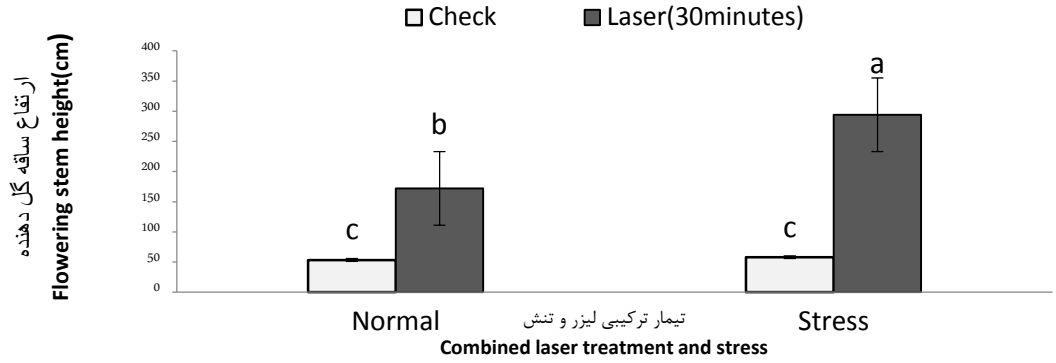
Table 3- ANOVA Results of the effect of stress and laser on some morphological traits of *Verbascum songaricum*

Source of variations منابع تغییرات	Df درجه آزادی	میانگین مربعات Mean of square					
		ارتفاع ساقه گل دهنده Flowering stem height(cm)	تعداد گل ساقه اصلی Number of branches	تعداد برگ Number of leaves	ارتفاع گل‌آذین Inflorescence height(cm)	وزن خشک Dry weight(g)	طول ریشه Root length(cm)
بلوک block	3	84.85	146.23	2.90	2.17	4.73	3.60
تنش Stress	1	16002.3**	22725.6**	430.56**	1640.3**	0.06	324.90**
خطا ۱ Error1	3	274.83	178.72	2.23	2.08	1.73	1.88
لیزر Laser	1	126025.0**	350168.1**	2002.56**	961.0**	39.06*	1009.7**
لیزر × تنش Laser× Stress	1	13806.3**	13167.6**	473.06**	342.3**	0.06	144.6**
خطا ۲ Error2	6	179.8	162.48	2.56	2.13	3.23	2.74
CV(٪)		9.28	4.96	4.79	2.74	7.80	7.06

*** and ** significant at 5 and 1% probability level respectively**

و **: به ترتیب معنی‌دارشدن در سطوح آماری ۰/۰۵ و ۰/۰۱ *

همچنین نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تنش و لیزر بر ارتفاع ساقه گیاه خرگوشک نشان داد، بیش‌ترین ارتفاع ساقه گیاه در تیمار ۱۰ روز یک‌بار تنش و اعمال۳۰ دقیقه لیزر با میزان ۲۹٤/۲۵ سانتیمتر حاصل شد. درحالی‌که کم‌ترین میزان در ترکیب تیماری عدم اعمال تیمار تنش و لیزر با میزان ۵۵/۷۵ سانتیمتر مشاهده شد (شکل٤). هرچند بین این ترکیب تیمارها در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در پژوهشی مشابه پرتو تابی لیزر منجر به افزایش ارتفاع گیاه خردل شد (Anghel *et al*,2000). تأثیر مثبت نور لیزر بر ارتفاع گیاه، قطر ساقه، طول ساقه، سطح برگ‌های گیاه تأییدشده است (Podleśny *et al*., 2012). برای مثال بذور ذرت پس از پرتو تابی با لیزر هلیوم-نئون، دارای ساقه‌هایی به طول ۱/۵ برابر ساقه‌های بذور شاهد شدند (Summart, 2010). اعمال تنش‌های محیطی موجب کاهش معنی‌داری در ارتفاع گیاه برنج گردید (Toker and Kagirgan, 2003).



شکل ٤- اثر متقابل لیزر و تنش بر ارتفاع ساقه گل دهنده گیاه خرگوشک (میانگین‌ها با حروف یکسان در سطح ۵ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند)

Fig 4- The interaction effect of laser and stress on the height of the flowering stem of Verbascum plant (The letters with the same letters were not significantly different at 5% Duncan test)

نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، اثر ساده فاکتورهای تنش، لیزر و اثر تیمار متقابل تنش و لیزر بر تعداد گل ساقه اصلی گیاه خرگوشک در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول٤). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها حاکی از آن است، اثر تیمارهای تنش، لیزر و اثر متقابل تنش و لیزر بر تعداد برگ گیاه خرگوشک در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول٤-۵).

جدول ٤- مقایسه میانگین ساده لیزر بر برخی از صفات مورفولوژیکی گیاه خرگوشک

Table 4- Comparison of the average effects of simple Laser factor on some morphological traits of *Verbascum songaricum*

Laser factor لیزر	میانگین مربعات Mean of square					
	طول ریشه Root	وزن خشک Dry	ارتفاع گل‌آذین Inflorescenc	تعداد برگ Number of	تعداد گل ساقه اصلی	ارتفاع ساقه گل دهنده

	Flowering stem height(cm)	Number of branches	leaves	e height (cm)	weight (g)	length (cm)
Check(L_1)	55.75 b	109.0 b	22.25 b	45.50 b	28.00 a	15.50 b
30minutes(L_2)	233.25 a	404.9 a	44.63 a	61.00 a	24.88 b	31.39 a

در هرستون، میانگین‌ها با حروف متفاوت در سطح ۵ درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری دارند

In each column, meanings with different letters were significantly different at the 5% level of Duncan's test

جدول ۵- مقایسه میانگین ساده تنش بر برخی از صفات مورفولوژیکی گیاه خرگوشک

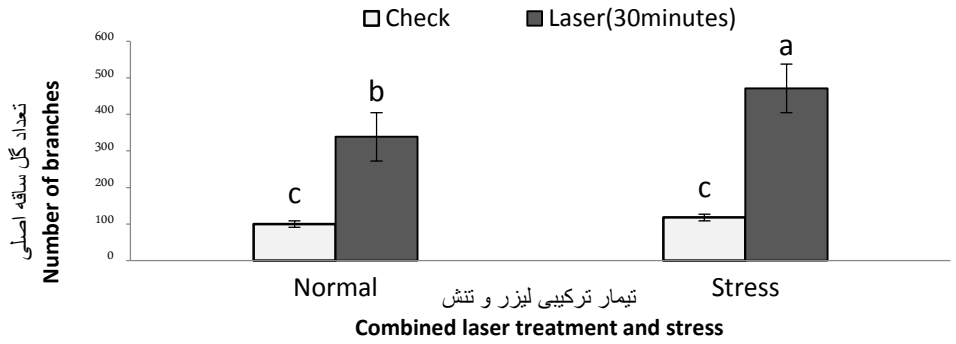
Table 5- Comparison of the average effects of simple stress factor on some morphological traits of *Verbascum songaricum*

Stress تنش	میانگین مربعات Mean of square					
	ارتفاع ساقه گل دهنده Flowering stem height(cm)	تعداد گل ساقه اصلی Number of branches	تعداد برگ Number of leaves	ارتفاع گل‌آذین Inflorescence height(cm)	وزن خشک Dry weight(g)	طول ریشه Root length(cm)
Normal	112.88 b	219.25 b	28.25 b	43.13 b	26.38 a	18.94 b
Stress	176.13 a	294.63 a	38.63 a	63.38 a	26.50 a	27.95 a

در هرستون، میانگین‌ها با حروف متفاوت در سطح ۵ درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری دارند

In each column, meanings with different letters were significantly different at the 5% level of Duncan's test

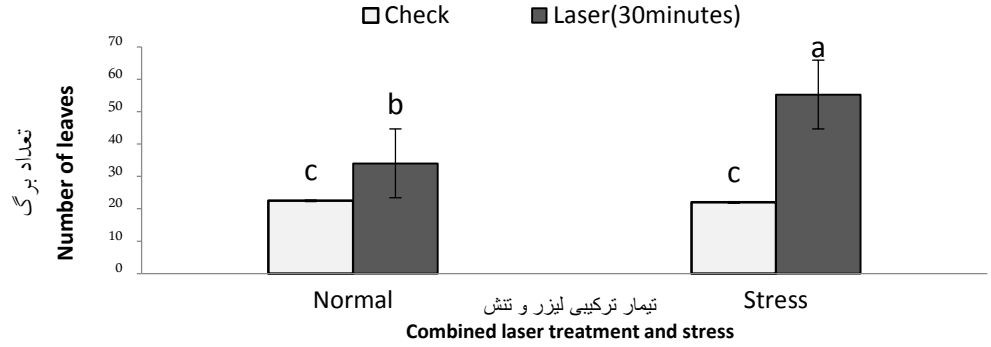
بیش‌ترین تعداد گل ساقه اصلی در ترکیب تیمار ۱۰ روز یک‌بار تنش و اعمال ۳۰ دقیقه لیزر به میزان ٤٧١/٢٥ حاصل شد. در حالی‌که، کم‌ترین میزان در ترکیب تیماری عدم اعمال تیمار تنش و لیزر با میزان ۱۰۰ گل مشاهده شد (شکل۵). نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تنش و لیزر بر صفت تعداد گل ساقه اصلی گیاه‌نشان داد، این اثر در سطح ۵ درصد آزمون دانکن معنی‌دار گردید و بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (شکل۵). پژوهشی دیگر نیز نشان داد که بذور ذرت تیمار شده با نور لیزر موجب افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی، وزن خشک گیاهچه و نهایتاً موجب افزایش معنی‌داری در عملکرد گیاه شد (Hernandez *et al*.,2008). همچنین در پژوهشی کاهش ارتفاع با افزایش تنش در گیاه بادمجان نیز گزارش‌شده است (Muthusamy *et al*., 2012). کاهش ارتفاع گیاه و ماده خشک به دلیل رشد و نمو کندتر گیاه، ناشی از تنش اسمزی ایجادشده توسط خشکی است و یا ممکن است به دلیل بازدارندگی فتوسنتز از طریق اثرات مستقیم تنش روی سیستم فتوسنتزی گیاه برنج باشد (Bayoumi *et al*. 2008).



شکل ۵- اثر متقابل لیزر و تنش بر تعداد گل ساقه اصلی گیاه خرگوشک (میانگین‌ها با حروف یکسان در سطح ۵ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند)

Fig 5- The interaction effect of laser and stress on the number of flowers in the main stem of Verbascum plant (The means with the same letters at 5% level of Duncan test were not significantly different)

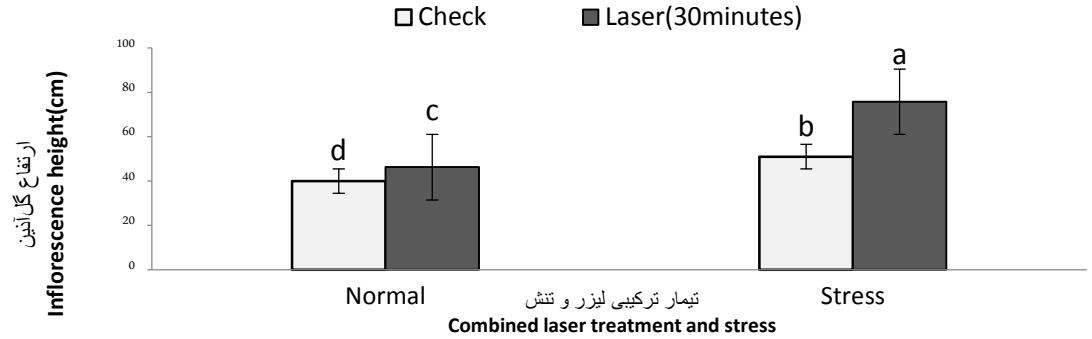
نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها حاکی از آن است، اثر تیمارهای تنش، لیزر و اثر متقابل تنش و لیزر بر تعداد برگ گیاه خرگوشک در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول٤-٥). بر طبق نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها، بیش‌ترین تعداد برگ در ترکیب تیماری ۱۰ روز یک‌بار تنش و اعمال ۳۰ دقیقه لیزر با میزان ۵۵ حاصل شد. در حالیکه، کم‌ترین میزان در ترکیب تیماری ۱۰ روز یک‌بار تنش و بدون اعمال ۳۰ دقیقه لیزر با میزان ۲۲ برگ مشاهده شد (شکل٦). اگرچه در بین این تیمارها در سطح ۵ درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید. در پژوهشی با کاربرد نور لیزر بر بذور گندم بهاره، افزایش معنی‌داری در صفات مورفولوژیکی موردبررسی (طول گیاه، تعداد پنجه‌ها، طول سنبله، تراکم سنبله، تعداد سنبلچه‌ها در هر خوشه، عملکرد گیاه و عملکرد خوشه شامل تعداد دانه و وزن هزار دانه) دیده شد (Ashrafijou *et al*., 2010).



شکل ٦- اثر متقابل لیزر و تنش بر تعداد برگ گیاه خرگوشک (میانگین‌ها با حروف مشترک در سطح ۵ درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند)

Fig 6- The interaction effect of laser and stress on the number of leaves of Verbascum plant (Meanings at the 5% level of Duncan's test were not significantly different)

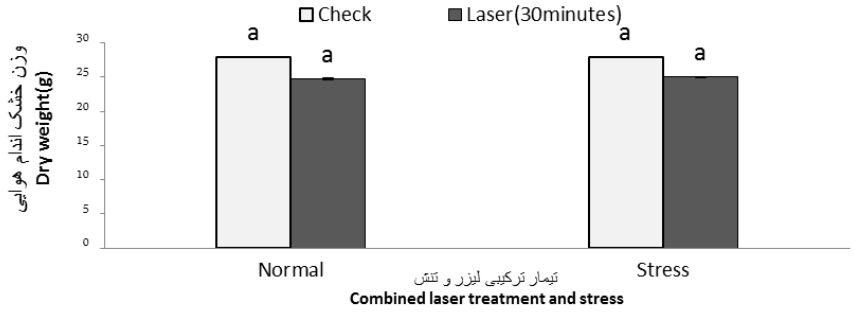
اثر تیمارهای تنش، لیزر و اثر متقابل تنش و لیزر بر ارتفاع گل‌آذین گیاه خرگوشک در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول٤-٥). نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد، اثر متقابل تنش و لیزر بر ارتفاع گل‌آذین گیاه خرگوشک در سطح ۵ درصد آزمون دانکن معنی‌دار گردید. به طوریکه، بیش‌ترین ارتفاع گل‌آذین در ترکیب تیماری ۱۰ روز یک‌بار تنش و اعمال۳۰ دقیقه لیزر با میزان۷۵/۷۵ سانتی‌متر و کم‌ترین میزان در تیمار شاهد (بدون تیمارهای تنش و لیزر) به میزان ٤۰ سانتیمتر مشاهده شد (شکل۷).



شکل ۷- اثر متقابل لیزر و تنش بر ارتفاع گل‌آذین گیاه خرگوشک (میانگین‌ها با حروف مشترک در سطح ۵ درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند)

Fig 7- The interaction effect of laser and stress on the height of the inflorescence of Verbascum plant (Meanings at the 5% level of Duncan's test were not significantly different)

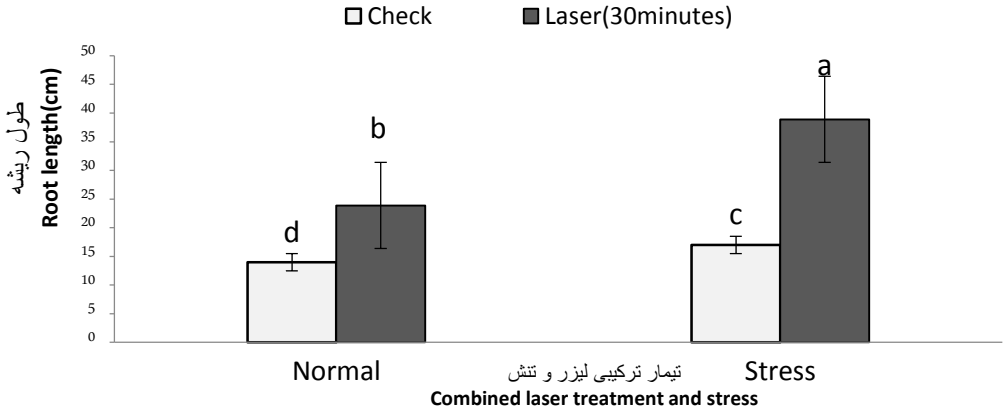
نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها حاکی از آن است، اثر فاکتور تنش و اثر متقابل تنش و لیزر بر وزن خشک اندام هوایی گیاه خرگوشک در سطح ۵ درصد معنی‌دار نگردید (جدول٤-٥). در حالی که فاکتور لیزر به‌تنهایی در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید. نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های اثر لیزر بر وزن خشک اندام هوایی گیاه خرگوشک در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد. مقایسه میانگین فاکتور تنش بر وزن خشک اندام هوایی گیاه خرگوشک در سطح ۵ درصد بر میزان این صفت معنی‌دار نشد. نتایج نشان داد، بیش‌ترین وزن خشک اندام هوایی در شاهد (با استفاده ۱۰ روز یک‌بار تنش) به میزان ۲۸ گرم مشاهده شد. درحالی‌که کم‌ترین میزان در ترکیب تیماری ۳۰ دقیقه لیزر در شرایط عدم تنش به میزان ۲٤/۷۵ گرم حاصل شد (شکل۸). در پژوهشی مشابه تابش نور لیزر روی بذر گیاه ذرت بطور معنی داری درصد جوانه زنی، انرژی جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، طول دانه و بنیه طولی را نسبت به شاهد افزایش دادند (Hernandez *et al*., 2013). در پژوهش دیگری گزارش شده است که تابش لیزر هلیوم نئون به مدت ۳۰ دقیقه شاخص جوانه زنی دانه های پنبه را تحت تأثیر قرارداد (Mssacci *et al*., 2008). تنش‌های محیطی از جمله خشکی، به‌طورمعمول سبب تولید رادیکال‌های آزاد شده که درنهایت سبب آسیب به اندامک‌ها و ترکیبات سلولی می‌شود و این مسئله به عدم تعادل متابولیکی منجر خواهد شد (Norouzi Esfahani *et al*, 2023). توقف در رشد سلولی و کاهش ماده‌سازی نتیجه آسیب‌های حاصل از تولید گونه‌های فعال اکسیژن خواهد بود (Tanaka *et al*., 2006).



شکل ۸- اثر متقابل لیزر و تنش بر وزن خشک اندام هوایی گیاه خرگوشک (میانگین‌ها با حروف مشترک در سطح ۵ درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند)

Fig 8- The interaction effect of laser and stress on the dry weight of aerial parts of Verbascum plant (Meanings at the 5% level of Duncan's test were not significantly different)

نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها حاکی از آن است، اثر فاکتور تنش، لیزر و اثر متقابل تنش و لیزر بر طول ریشه گیاه خرگوشک در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول٤). همچنین، نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تنش و لیزر بر طول ریشه گیاه خرگوشک نشان داد، این اثر در سطح ۵ درصد آزمون دانکن بر میزان این صفت معنی‌دار شد. به طوریکه بیش‌ترین طول ریشه در ترکیب تیماری ۱۰ روز یک‌بار تنش و اعمال ۳۰ دقیقه لیزر با میزان ۳۸/۹۰ سانتی‌متر مشاهده شد و در صورتیکه کم‌ترین طول ریشه در تیمار شاهد با میزان ١٤ سانتی‌متر مشاهده شد (شکل۹).



شکل ۹- اثر متقابل لیزر و تنش بر طول ریشه گیاه خرگوشک (میانگین‌ها با حروف مشترک در سطح ۵ درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند)

Fig 9- The interaction effect of laser and stress on the root length of Verbascum plant (Meanings at the 5% level of Duncan's test were not significantly different)

کاهش وزن خشک در شرایط تنش کم‌آبی به‌طور معمول ناشی از کاهش تقسیم، گسترش و طویل شدن سلولی است. کاهش حجم سلول علاوه بر یک پیامد ناشی از کمبود آب، خود به‌عنوان یک مکانیسم مقاومت به خشکی می‌تواند سبب کاهش تلفات آب از سلول‌ها شده و به‌عنوان یکی از تنظیم‌کننده‌های مهم اسمزی محسوب شود (Mssacci *et al.*, 2008; Jiang *et al.*, 2014). پرتو تابی با لیزر در تمامی سطوح تنش منجر به افزایش طول ریشه در مقایسه با تیمار عدم پرتوتابی گردیده است. لیزر باعث بهبود رشد و نمو سیستم ریشه‌ای گیاه می‌شود. نتایج به‌دست‌آمده با گزارش‌ها Bibi و همکاران (۲۰۱۷) مطابقت داشت. که اعلام کردند که پس از پرتوتابی با لیزر هلیوم–نئون، در سیستم ریشه‌ای طول ریشه مرکزی ۳۲ درصد کاهش یافت و گسترش ریشه‌های جانبی در سطح لایه مغذی خاک افزایش معنی‌داری داشت. این امر یکی از دلایل افزایش بیومس گیاه تحت تابش لیزر می‌باشد. با توجه به این که در شرایط تنش گیاه نیاز به دریاف عناصر غذایی و آب دارد، پس با توجه به شرایط محیطی ریشه گیاه رشد کرده و به عمق بیشتری از خاک وارد می شود. نتایج تجزیه واریانس ساده صفات آنتی‌اکسیدان، کلروفیل کل، سوپراکسید دیسموتاز، پرولین، کاتالاز نشان داد، فاکتورهای تنش و لیزر درگیاه خرگوشک معنی‌دار شد. اثر متقابل فاکتورهای تنش و لیزر در سطح ۵ درصد بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز گیاه خرگوشک معنی‌دار شد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، اثر فاکتور لیزر و اثر متقابل تیمار تنش و لیزر در سطح ۱ درصد بر میزان آنتوسیانین گیاه خرگوشک معنی‌دار شد (جدول٦).

جدول ٦- نتایج تجزیه واریانس اثرات تنش و لیزر بر برخی از صفات فیزیولوژیکی گیاه خرگوشک

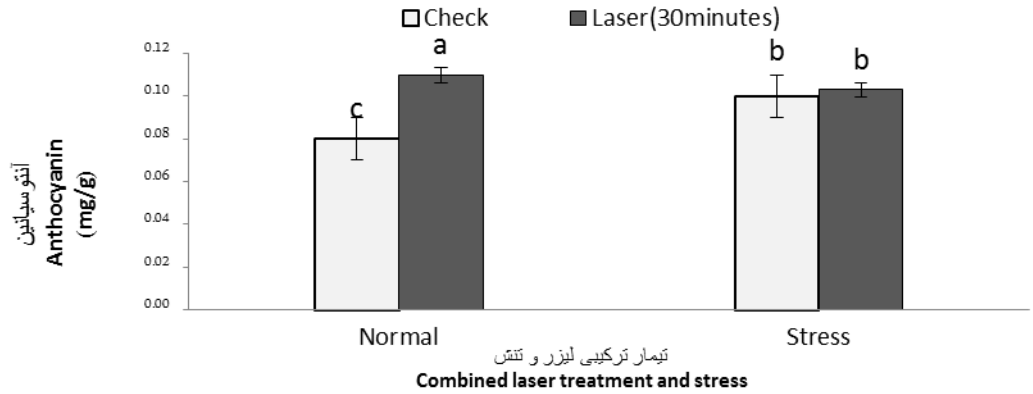
Table 6- ANOVA Results of the Effects of Stress and Laser on Some Physiological Traits of Verbascum songaricum

منابع تغییرات Source of variations	Df درجه آزادی	میانگین مربعات Mean of square					
		آنتوسیانین Anthocyanin (mg/g)	آنتی‌اکسیدان Antioxidants (mg/g)	سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase (mg/g)	کاتالاز Catalase (mg/g)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg/g)	پرولین Proline (mg/g)
بلوک block	2	0.000008	0.08	0.17	0.00008	0.00008	0.75
تنش Stress	1	0.0001	11.68**	422.6**	0.04**	0.003**	2284.2**
خطا ۱ Error1	2	0.000008	0.08	0.03	0.000008	0.000008	0.08
لیزر Laser	1	0.0008**	518.5**	377.6**	0.06**	0.23**	11265.7**
لیزر × تنش Laser× Stress	1	0.0005**	103.5**	1.73*	0.02**	0.01**	115.44**
خطا ۲ Error2	4	0.000005	0.08	0.10	0.00004	0.00004	0.42
CV (٪)		2.94	1.23	0.67	1.90	0.54	0.49

و **: به ترتیب معنی‌دارشدن در سطوح آماری ۰/۰۵ و ۰/۰۱ *

*** and ** significant at 5 and 1% probability level respectively**

اثر ساده تنش بر میزان آنتوسیانین گیاه خرگوشک معنی‌دار نشد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تنش و لیزر بر میزان آنتوسیانین گیاه خرگوشک در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد. به طوریکه، بیش‌ترین میزان آنتوسیانین در فاکتور لیزر ۳۰ دقیقه بدون استفاده از تنش با میزان ۰/۱۱ میلی‌گرم بر گرم مشاهده شد. درحالی‌که کم‌ترین میزان در تیمار شاهد (بدون لیزر و تنش) با میزان ۰/۰۸ میلی‌گرم بر گرم مشاهده شد (شکل۱۰).



شکل ۱۰- اثر متقابل لیزر و تنش بر آنتوسیانین گیاه خرگوشک (میانگین‌ها با حروف مشترک در سطح ۵ درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند)

Fig 10- The interaction effect of laser and stress on anthocyanins of verbascum plant (Meanings at the 5% level of Duncan's test were not significantly different)

نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، اثر ساده فاکتورهای تنش و لیزر و اثر متقابل تیمار تنش و لیزر در سطح ۱ درصد بر میزان آنتی‌اکسیدان گیاه خرگوشک معنی‌دار شد (جدول ۸ و۷).

جدول ۷- مقایسه میانگین اثرات ساده فاکتور لیزر بر برخی صفات فیزیولوژیکی گیاه خرگوشک

Table 7- Comparison of the average effects of simple Laser factor on some physiological traits of the plant *Verbascum songaricum*

Laser factor لیزر	میانگین مربعات Mean of square					
	آنتوسیانین Anthocyanin (mg/g)	آنتی‌اکسیدان Antioxidants (mg/g)	سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase (mg/g)	کاتالاز Catalase (mg/g)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg/g)	پرولین Proline (mg/g)
Check(L_1)	0.095 b	24.53 a	41.02 b	0.28 b	1.18 b	117.7 b
30minutes(L_2)	0.101 a	22.56 b	52.89 a	0.40 a	1.21 a	145.3 a

در هرستون، میانگین‌ها با حروف متفاوت در سطح ۵ درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری دارند

In each column, meanings with different letters were significantly different at the 5% level of Duncan's test

جدول ۸- مقایسه میانگین اثرات ساده عامل تنش بر برخی صفات فیزیولوژیکی گیاه خرگوشک

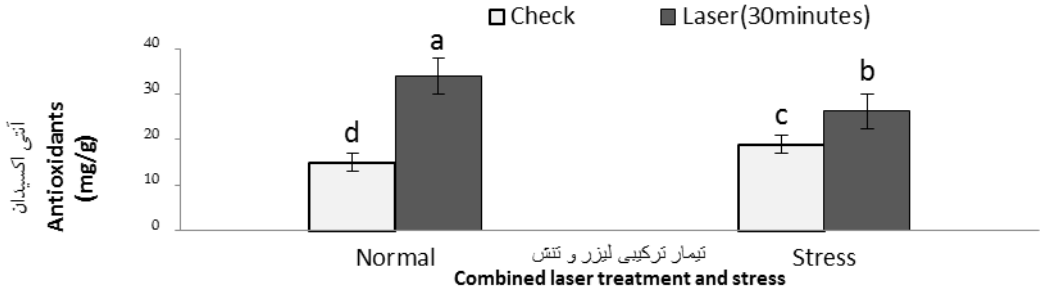
Table 8- Comparison of the average effects of simple stress factor on some physiological traits of the plant Verbascum songaricum

stress factor تنش	میانگین مربعات Mean of square					
	آنتوسیانین Anthocyanin (mg/g)	آنتی‌اکسیدان Antioxidants (mg/g)	سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase (mg/g)	کاتالاز Catalase (mg/g)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg/g)	پرولین Proline (mg/g)
Normal	0.09 b	16.97 b	52.57 a	0.41 a	1.06 b	162.1 a
stress	0.11 a	30.12 a	41.35 b	0.27 b	1.33 a	100.9 b

در هرستون، میانگین‌ها با حروف متفاوت در سطح ۵ درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری دارند

In each column, meanings with different letters were significantly different at the 5% level of Duncan's test

نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تنش و لیزر بر میزان آنتی‌اکسیدان گیاه خرگوشک در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد. به طوریکه، بیشترین میزان آنتی‌اکسیدان در تیماری لیزر ۳۰ دقیقه و بدون اعمال تنش به میزان ۳٤/۰٤ میلی‌گرم بر گرم مشاهده شد. کمترین میزان این صفت در ترکیب تیماری شاهد (بدون لیزر و تنش) با میزان ۱۵/۰۲ میلی‌گرم بر گرم مشاهده شد (شکل ۱۱).

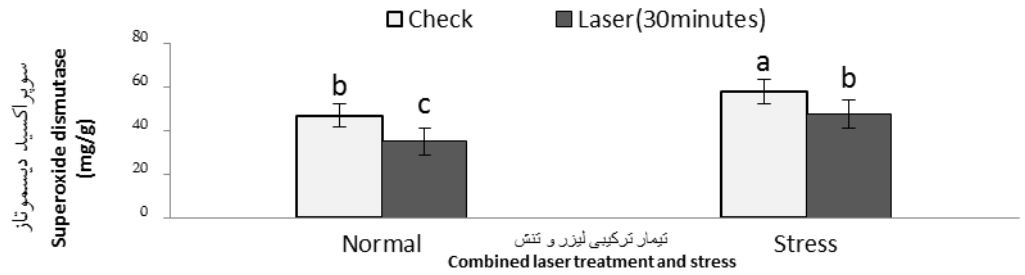


شکل ۱۱- اثر متقابل لیزر و تنش برآنتی اکسیدان گیاه خرگوشک (میانگین‌ها با حروف مشترک در سطح ۵ درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند)

Fig 11- The interaction effect of laser and stress on the antioxidant of verbascum plant (Meanings at the 5% level of Duncan's test were not significantly different)

نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تنش و لیزر بر میزان سوپراکسید دیسموتاز گیاه خرگوشک در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد. به طوریکه، بیش ترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در اعمال فاکتور لیزر در شرایط تنش با میزان ۵۸/۱۲ میلی‌گرم بر گرم مشاهده شد. درحالی‌که، کم ترین میزان در فاکتور لیزر ۳۰ دقیقه در شرایط بدون تنش با میزان ۳۵/۰۳ میلی‌گرم بر گرم مشاهده شد (شکل۱۲). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز اولین آنزیمی است که در چرخه آنتی‌اکسیدانی فعال می‌شود که در شرایط تنش افزایش می‌یابد. در پژوهشی مشابه Sharif و همکاران (۲۰۱٦) اعلام کردند که استفاده از تنش کم آبی باعث افزایش فعالیت انزیم سوپراکسیددیسموتاز شد. پژوهش حاضر با نتایج حاصل از پژوهشی روی گیاه خردل وحشی مطابقت دارد (Rahmani *et al.*, 2010). در پژوهشی دیگر نیز با افزایش تنش کم آبی

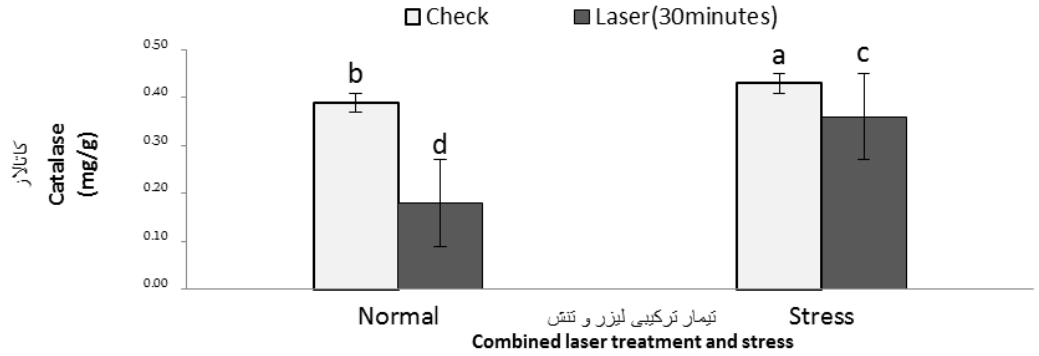
فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافت. در توضیح این مسئله باید گفت که افزایش تنش سبب افزایش رادیکال‌های اکسیژن می‌شود. در نتیجه افزایش این متالوآنزیم ها، رادیکال‌های سمی را که دائماً به‌عنوان محصولات هوازی شکل می‌گیرد، جمع‌آوری می‌کند (Rahmani *et al*., 2010).



شکل ۱۲- اثر متقابل لیزر و تنش بر سوپراکسید دیسموتاز گیاه خرگوشک (میانگین‌ها با حروف مشترک در سطح ۵ درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند)

Fig 12- The interaction effect of laser and stress on superoxide dismutase of verbascum plant (Meanings at the 5% level of Duncan's test were not significantly different)

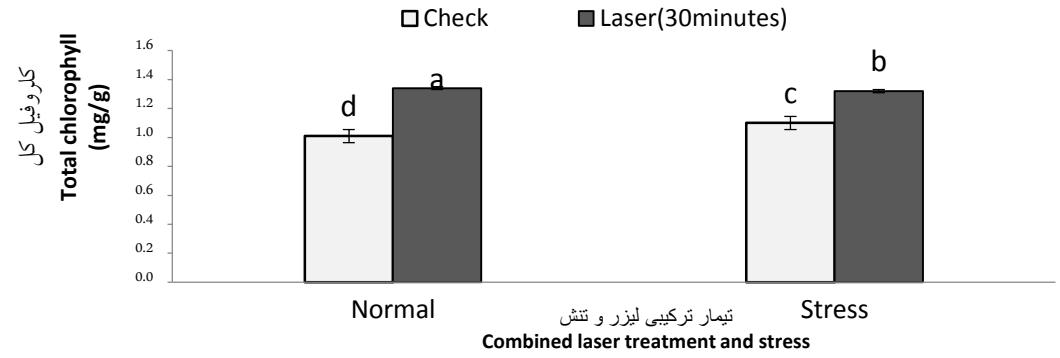
تجزیه واریانس ساده نشان داد، اثر فاکتور تنش و لیزر و اثر متقابل تنش و لیزر در سطح ۱ درصد بر میزان کاتالاز گیاه خرگوشک معنی‌دار شد (جدول٦). نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تنش و لیزر بر میزان کاتالاز گیاه خرگوشک در سطح ۵ درصد این صفت معنی‌دار شد. بیش ترین میزان کاتالاز در فاکتور عدم تابش لیزر در شرایط تنش، با میزان ۰/٤۳ میلی‌گرم بر گرم مشاهده شد. کم ترین میزان در فاکتور لیزر ۳۰ دقیقه در شرایط بدون تنش با، میزان ۰/۱۸ میلی‌گرم بر گرم مشاهده شد (شکل۱۳). کاتالاز آنزیمی است که در تمام موجودات زنده از جمله سلول‌های گیاهی یافت شده و به‌عنوان یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های آنتی اکسیدان ایفای نقش می‌کند (Sheikhi and Raunghi, 2012) و نقش مهمی در حذف اکسیژن تولیدشده به‌وسیله فرآیندهایی هم چون بتا- اکسیداسیون اسیدهای چرب، اکسیداسیون در حین تنفس نوری و انتقال الکترون در زنجیره تنفسی میتوکندری ها را ایفا می‌کند. در این پژوهش نیز با افزایش تنش کم آبی، فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافت.



شکل ۱۳- اثر متقابل لیزر و تنش بر کاتالاز گیاه خرگوشک (میانگین‌ها با حروف مشترک در سطح ۵ درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند)

Fig 13- The interaction effect of laser and stress on Catalase of verbascum plant (Meanings at the 5% level of Duncan's test were not significantly different)

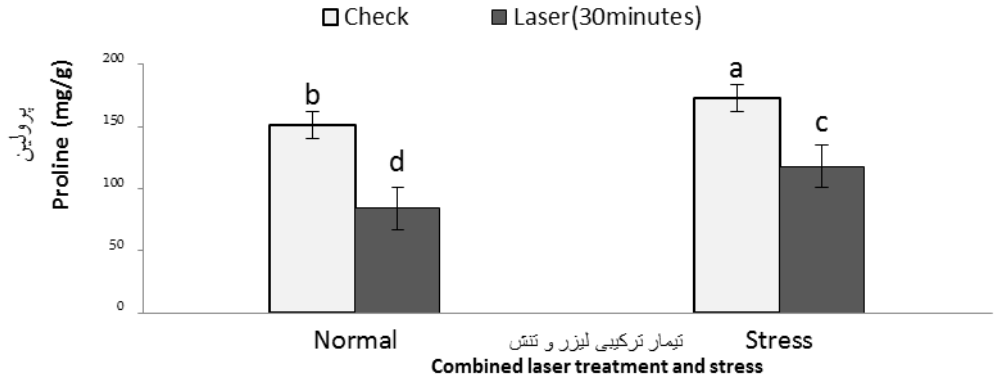
نتایج حاصل از تجزیه واریانس ساده فاکتور تنش و لیزر و اثر متقابل تیمار تنش و لیزر در سطح ۱ درصد بر میزان کلروفیل کل گیاه خرگوشک معنی‌دار شد (جدول٦). نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تنش و لیزر بر میزان کلروفیل کل گیاه خرگوشک در سطح ۵ درصد این صفت معنی‌دار شد. بیش‌ترین میزان کلروفیل کل در تیمارهای لیزر ۳۰ دقیقه در شرایط بدون تنش، با میزان ۱/۳٤ میلی‌گرم بر گرم مشاهده شد. درحالی‌که، کم‌ترین میزان در ترکیب تیماری عدم استفاده از لیزر در شرایط بدون تنش با میزان ۱/۰۱ میلی‌گرم بر گرم مشاهده شد (شکل١٤). مشابه با این نتایج، Komar و همکـاران (۲۰۱٦) گزارش کردند که محتوای کلروفیل در برگ در شرایط تنش افزایش یافت. محتوای کلروفیل برگ به عنوان یک عامل مهم در تعیین ظرفیت فتوسنتزی برگ محسوب می شود و کاهش محتوای کلروفیل به عنوان عاملی غیر روزنه ای واند منجر به کاهش ظرفیت فتوسنتزی برگ شود (Jafarzadeh *et al*., 2014).



شکل ١٤- اثر متقابل لیزر و تنش بر کلروفیل کل گیاه خرگوشک (میانگین‌ها با حروف مشترک در سطح ۵ درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند)

Fig 14- The interaction effect of laser and stress on the chlorophyll of the whole Verbascum plant (Meanings at the 5% level of Duncan's test were not significantly different)

نتایج حاصل از تجزیه واریانس ساده اثر ساده فاکتور تنش و لیزر و اثر متقابل ترکیب تیماری تنش و لیزر در سطح ۱ درصد بر میزان پرولین گیاه خرگوشک معنی‌دار شد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تنش و لیزر بر میزان پرولین گیاه خرگوشک در سطح ۵ درصد در این صفت معنی‌دار شد. بیش‌ترین میزان پرولین در ترکیب تیماری لیزر در شرایط تنش با میزان ۱۷۲/۸۲ میلی‌گرم بر گرم مشاهده شد. کم‌ترین میزان در تیمار لیزر بدون تنش با میزان ۱۱۷/۷٤ میلی‌گرم بر گرم مشاهده شد (شکل۱۵). تجمع اسمولیت هایی همچون پرولین، یکی از شناخته‌شده‌ترین مکانیسم‌های افزایش تحمل تنش در گیاهان می‌باشد (Norouzi Esfahani *et al*, 2023). هم‌چنین پیشنهاد شده است که تجمع پرولین مناسب برای انتخاب گونه‌های متحمل نسبت به شرایط تنشی می‌باشد. در ارتباط با میزان تولید اسیدآمینه پرولین گزارش‌شده است که گیاهی با دسترسی مناسب به آب کافی پرولین آزاد بسیار کم‌تری تولید می‌کند، به همین دلیل پرولین در گیاهانی که تحت تنش‌های سخت قرار می‌گیرند، بیش‌تر تولید می‌گردد (Nirmala *et al*., 2009).



شکل ۱۵- اثر متقابل لیزر و تنش بر پرولین گیاه خرگوشک (میانگین‌ها با حروف مشترک در سطح ۵ درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند)

Fig 15- The interaction effect of laser and stress on proline of verbascum plant (Meanings at the 5% level of Duncan's test were not significantly differe

مطالعه حاضر نشان داد که اثر تیمار لیزر بر بذر گیاه خرگوشک بسیار کارامد بوده است. نتایج مطالعات قبلی نشان می دهد که تیمار لیزر می تواند برای بهبود جوانه زنی و رشد دانه های سویا و گیاه حرا مورد استفاده قرار گیرد (Asghar *et al*., 2016; Thatoi *et al*., 2016).

نتیجه‌گیری کلی

گرچه مکانیسم عمل لیزر در بذر به‌خوبی شناسایی نشده است، اما مدارک کافی دال بر تأثیر مثبت آن بر فرآیندهای سلولی به‌وفور وجود دارد. این تأثیر مثبت خواه به‌صورت مستقیم یا غیرمستقیم مزیت‌های بسیاری مانند کاهش استفاده از سموم دفع آفات (درنتیجه افزایش مقاومت به تنش‌های زیستی) که منجر به کاهش میزان آلودگی منبع آب و خاک می‌شود. کاهش استفاده از کودهای شیمیایی که سبب افزایش کیفیت محصولات، کمک به مهندسی متابولیت های ثانویه به سبب استفاده از لیزر به‌عنوان الیسیتور کم‌هزینه،

کمک به مهندسی بذر و افزایش توان بالقوه بذر به‌عنوان بنیان و سرآغاز زندگی گیاه و در نهایت افزایش کمیت محصول از لحاظ اندام‌های رویشی و زایشی می شود. با این‌وجود هنوز شبهات فراوانی در خصوص بهترین طول‌موج، مناسب‌ترین نوع لیزر، مؤثرترین مدت تیمار وجود دارد که زمینه تحقیقات بعدی می‌باشد.

منابع

۱) احمدی، ا.، مرتضایی نژاد، ف. و ا، گلپرور. ۱۳۹۵. بررسی اثر تیمار نور لیزر و تیمار اسید جیبرلیک بر میزان جوانه‌زنی بذر گیاه دارویی مریم‌گلی مزرعه روی *Salvia nemarosa*. دومین همایش ملی کشاورزی، منابع طبیعی و محیط‌زیست با رویکرد توسعه پایدار: ۸-۱۶.

۲) ابراهیمی زاده ابریشمی، ا. و م، عباسی. ۱۳۸۸. بهینه‌سازی اثر نور لیزر در افزایش میزان جوانه‌زنی بذر گندم. فصلنامه پژوهش‌های گیاهی، ٤(۱): ٦۱-٥٤.

۳) عزیزی، م.، رضوی، ف.، خیاط، م.، لکزیان، ع. و ح، نعمتی. ۱۳۹۵. بررسی تاثیر سطوح مختلف آبیاری بر خصوصیات مورفولوژیکی و میزان اسانس گورال بابونه آلمانی. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲٤ (۳۹) :۸۲-۹۳.

٤) میرشکاری، ب. و ر، صیامی. ۱۳۹٤. بهبود جوانه‌زنی، رشد اولیه و شاخصه‌ای دارویی بارهنگ با پیش تیمار فیزیکی بذر. مجله بوم‌شناسی گیاهان زراعی، ۱۱(۳) : ٤۷-٥٥.

٥) حسین زاده ثابتی، ا.، نوری، ا.، خوش‌خلق، ن.، رامشینی، ح. و م، انصاری.۱۳۹۲. بررسی تأثیر اشعه لیزر بر صفات مرتبط باتحمل به شوری در مرحله گیاهچه ای برنج (*Oryza sativa* L.)، مجله تنش‌های محیطی در علوم زراعی، ٥ (۲): ۱۷۹-۱٦۱.

6) Aebi, H. 1984. Methods of Enzymatic Analysis 3. Verlag chemie Academic Press Inc. Weinheim, Germany. 273-277p.

7) Ahmed, S. Nawata, E., Hosokawa, M., Domae, Y. and T, Sakuratani. 2002. Alterations in photosynthesis and some antioxidant enzymatic activity of mungbean subjected to waterlogging. *Plant Sciece* و 163: 117.127.

8) Arnon, A. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23:112-121.

9) Anghel, S., Stanescu, C.S., Giosanu, D., Flenacu, M. and I, Iorga Siman. 2000. Laser effects on the growth and photosynthesis process in mustard plants (*Sinapis Alba*). *Proceedings of the spie* و 44: 667-673.

10) Asghar, T, Jamil Y, Iqbal, M. and Z, Abbas. 2016. Laser light and magnetic field stimulation effect on biochemical, enzymes activities and chlorophyll contents in soybean seeds and seedlings during early growth stages. *Journal Photochem Photobiol Biology*, 165: 283–90.

11) Ashrafijou, M., Sadat Noori., S, IzadiDarbandi, and S, Saghafi. 2010. Effect of salinity and radiation on proline accumulation in seeds of canola (*Brassica napus L.*). *Plant, Soil and Environment*. 56: 312-317.

12) Bayoumi, T., Eid, M. and M, Metwali. 2008. Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes, *African Journal of Biotechnology*, 7:33-41.

13) Bibi, U., Shafique, H., Jamil, Y., Haq, Z., Mujahid, T., Ullah Khan, A., Iqbal, M., and M, Abbas. 2017. Low power continuous wave-laser seed irradiation effect on (*Moringa oleifera*) germination, seedling growth and biochemical attributes. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2017.04.001.

Compost Science & Utilization, 24:98–104.

23) Mssacci, A., Nabiev, S.M., Pietrosanti, L., Nematov, S., Chernikova, T., Thor, K. and J, ,Leipner. 2008. Response of photosynthetic apparatus of cotton (*Gossypium hirsutum*) to the onest of droughstress under field conditions studied by gas-exchange analysis and chlorophyll fluorescence imaging. *Plant Physiology and Biochemistry*, 46: 189-195.

24) Muthusamy,A., Kudwa, P., Prabhu, v., Mahato, k., Babu, v., Rao, R., Gopinath, R. and K, Satyamoorthy. 2012. Influence of Helium-Neon laser irradiation on seed germination *In vitro* and physico-biochemical characters in seedlings of Brinjal (*Solanum melongena* L.). *Photochemistry and Photobiology*, 88: 1227-1235.

25) Norouzi Esfahani, R. and S, Khaghani. 2023. Ornamental Plants in Landscape. Islamic Azad University Press, 379p.

26) Norouzi Esfahani, R, Khaghani, S, Mortezainejad, F, Gomarian, M. and A, Azizi. 2023. Evaluation of foliar spraying of salicylic acid and water deficit stress on verbascum medicinal plant. *biannual journal of plant production technology*,10: 220.210.

27) Osman, Y., El-Tobgy, K. and E, El-Sherbini. 2009. Effect laser radiation treatments on growth, yield and chemical constituents of fennel and coriander plants. *Journal of Applied Sciences Research*, 5:244–252.

28) Perveen, R., Ali, Q., Ashraf, M., Al-Qurainy, F., Jamil, Y. and M, Ahmad. 2010. Effects of different doses of low power continuous wave He-Ne laser radiation on some seed thermodynamic and germination parameters, and potential enzymes involved in seed germination of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Photochemistry and Photobiology*, 86:5-1050-1055.

29) Podleśny, J., Stochmal, A., Podlesna, A. and L, Misiak. 2012. Effect of laser light treatment on some biochemical and

14) Chen, Y., Jia, J. and M, Yue. 2010. Effect of CO_2 laser radiation on physiological tolerance of wheat seedlings expose to chilling stress. *Photochem Photobiology*, 86:600–605.

15) Condon, A., Langridge, A., Tester, A. and T, Schnurbusch. 2008. Different mechanisms of adaptation to cyclic water stress in two south australian bread wheat cultivars. *Journal of Experimental Botany*, 59: 3327-3346.

16) Hernandez, A., Dominiquez, P., Cruz, O., Ivanov, R., Carballo, C. and B, Zepeda. 2010. Laser in agriculture. *international-agrophysics*, 24:407– 422.

17) Hernandez, A., Carballo,C., Artola, A. and A, Michtchenko. 2008. Laser irradiation effects on maize seed field performance. *Seed Science. Technology*, 34: 193-197.

18) Hernández-García, c., Pérez-Hernández, J., Popmintchev, T., Murnane, M., Kapteyn, A., Jaron-Becker, A, Becker, A. and L. Plaja. 2013. Zeptosecond high harmonic keV x-ray waveformsdriven by midinfrared laser pulses. *Physical review letters*, 11(3): 033-002.

19) Jafarzadeh, E., Omidi, H. and A, Bostani. 2014. The study of drought stress and Bio fertilizer of nitrogen on some biochemical traits of Marigold medicinal plant (*Calendula officinalis L*.). *Iranian Journal of Biology*, 27: 2. 180-193.

20) Jiang, Z., Zhang, H., Qin, R., Zou, J., Wang, J., Shi, Q. and D, Liu. 2014. Effects of lead on the morphology and structure of the nucleolus in the root tip meristematic cells of (*Allium cepa L*.) *International Journal of Molecular Sciences*, 15: 8 -13406-13423.

21) Jaleel, C.A., Gopi, R. and R, Panneerselvam. 2008. Growth and photosynthetic pigments responses of two varieties of Catharanthus roseus to triadimefon treatment, Comptes. Rendus. Biology, 331: 272–277.

22) Kumar, R., Shamet, G., Alam, N. and C, Jana .2016. Influence of growing medium and seed size on germination and seedling growth of (*Pinus gerardiana*) Wall.

physiological processes in seeds and seedlings of white lupine and faba bean. *Plant Growth Regulation*, 67: 227 - 233-7.

30) Rahmani, M., Habibi, A., Shirani Rad, J., Daneshian, A., Valad Abadi, M. and A, Mashhadiakbar Bojar. 2010. Effect of Super Absorbent Polymer on Performance, Antioxidant Enzymes Activity Superoxide dismutase and catalase and stability of cytoplasmic membrane in medicinal plant under water stress. *Mustard as Medicinal Plant*, 6: 22. 19-38.
31) Safi, Z., Saeedi, K. and M, LoriGuwini. 2015. Evaluation of Total Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Flower Herbarium Ecotypes of (*Verbascum songaricum*). *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*, 17:61-7070.
32) Sharif, F, Danish, M. and A, Ali. 2016. Salinity tolerance of earthworms and effects of salinity and vermi amendments on growth of Sorghum bicolor. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 62:1169-1181.
33) Sheikhi, J. and A, Raunghi. 2012. The effect of salinity and the application of vermicompost on the concentration of nutrients and the yield of spinach (Virofili) in a calcareous soil. *Science and Technology of Greenhouse Crops*, 4:13-81-92.
34) Shen, S. K., Wu, F., Yang, G, Wang, Y. H. and S, He. 2016. Seed germination and seedling emergence of (*Euryodendron excelsum*) HT Chang: implications for species conservation and restoration. *Plant Species Biology*, 3:31-233-239.
35) Summart, J., Thanonkeo, P., Panichajakul, S., Prathepha, P. and M, Manse.2010. Effect of salt stress on growth, inorganic ion and proline accumulation in Thai aromatic rice Kaho Dawk Mail. *Callus Culture*, 9: 2- 145- 152.
36) Tanaka, A. and R, Tanaka.2006. Chlorophyll metabolism. *Plant. Biology*, 9- 248-255.
37) Thatoi, P., Kerry, R., Gouda, S., Das, G., Pramanik, K. and H, Thatoi.2016. Photo-mediated green synthesis of silver and zinc oxide nanoparticles using aqueous extracts of two mangrove plant species, (*Heritiera fomes*) and (*Sonneratia apetala*) and investigation of their biomedical applications. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 163:311–8.
38) Tian, J., Jin, L., H, Li., J, Shen., B, Wang., C, Lu. and X, Zhao. 2009. Effect on isoflavone of soybean seedlings by 532 nm laser irradiation. *The 25nd Annual Conference Saratov Fall Meeting*, 14: 754-756.
39) Toker, C. and M, Cagirgan. 2003. Assessment of response to drought stress of chickpea (*Cicer arietinum* L.) lines under rainfed conditions, Tr. *Journal of Agriculture and Forestry*, 22: 615-621.
40) Vasilevski, G.2003. Perspectives of application of biophysical methods in sustainable agriculture. Bulg. *Journal Plant Physiology*. 29:3-179-186.
41) Wu, J., Gao, X. and S, Zhang.2007. Effect of laser pretreatment on germination and membrane lipid peroxidation of Chinese pine seeds under drought stress. *Frontiers of Physics in China*, 2:3-314-317.