مجله علمی ـ پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، جلد ششم، شماره ۴(۲۴)، ۱۳۹۱، صفحه ۴۲۸-۴۱۵

اثر کاربرد سالیسیلیک اسید در شرایط تنش شوری بر خصوصیات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گیاه دارویی درمنه (*Artemisia annua* L.)

کوروش اسکندری زنجانی[1*]، امیرحسین شیرانی‌راد[2]، امین مرادی اقدم[1] و توفیق طاهرخانی[1]

چکیده

به منظور بررسی اثر کاربرد سالیسیلیک اسید در شرایط تنش شوری بر خصوصیات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گیاه دارویی درمنه (*Artemisia annua* L.)، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در سال زراعی ۹۰-۱۳۸۹ در منطقه زنجان به اجرا درآمد که در آن عامل شوری در چهار سطح شامل صفر (شاهد بدون شوری)، ۴، ۸ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر و عامل سالیسیلیک اسید در دو سطح عدم کاربرد (شاهد) و مصرف ۰/۵ میلی مولار بودند. صفات اندازه‌گیری شده شامل ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی در بوته و عملکرد سرشاخه‌های گلدار به عنوان صفات مورفولوژیک و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در برگ، غلظت پرولین و محتوای کلروفیل به عنوان خصوصیات فیزیولوژیک مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج تحقیق نشان داد که تنش شوری موجب کاهش ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی در بوته، عملکرد سرشاخه‌های گلدار و محتوای کلروفیل و کاربرد سالیسیلیک اسید در هر دو شرایط تنش و بدون تنش شوری، سبب بهبودی صفات مورد اشاره گردید. تنش شوری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز و تجمع پرولین را در برگ افزایش داد و کاربرد سالیسیلیک اسید هم در شرایط بدون تنش و هم در تنش شوری موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مذکور و تجمع پرولین با اثر کاهش‌دهندگی اثرات تنش شوری گردید.

واژگان کلیدی: آنتی‌اکسیدان، پرولین، تنش شوری، سالیسیلیک اسید، کاتالاز.

۱- گروه زراعت دانشگاه آزاد اسلامی واحد تاکستان

* (نگارنده‌ی مسئول) k.eskandarizanjani@tiau.ac.ir

۲- دانشیار موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر

تاریخ دریافت: ۹۱/۵/۲۳

تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۳۱

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

با توجه به سابقه استفاده از گیاهان دارویی و نیز تغییر نگرش و افزایش تقاضای جهانی در خصوص استفاده از این گیاهان در درمان بیماری‌ها و با عنایت به مضرات ناشی از مصرف داروهای شیمیایی (Oussalah *et al*., 2007) ضرورت دارد تا در مورد گیاهان دارویی تحقیقات جامعی صورت گیرد. از طرفی با توجه به وسعت اراضی تحت تنش شوری و اسمزی در ایران و با در نظر گرفتن روند رو به رشد جمعیت جهان همراه با کاهش و تخریب منابع آب و خاک، تحقیق در خصوص گیاهان مقاوم به شرایط نامساعد محیطی دارای اهمیت است (Fallahi *et al*., 2009; Nezami *et al*., 2009). شوری یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی محدود کننده تولیدات کشاورزی است. براساس گزارش فائو در سال ۲۰۰۰ حدود ۲۰ درصد زمین‌های زراعی جهان تحت تاثیر تنش شوری بوده است (Goreta *et al*., 2007). وسعت این اراضی در ایران ۱۵ درصد کل اراضی زراعی برآورده شده است که حدود ۲۵ میلیون هکتار را در بر می‌گیرد (Mostafazadeh-Fard *et al*., 2007). بقاء و عملکرد اقتصادی برخی گیاهان دارویی متحمل به چنین تنش‌هایی، روزنه‌ی امیدبخشی است که بررسی آن امکان بکارگیری گیاهان دارویی را در احیاء مراتع، توسعه کشتزارها و افزایش تنوع گونه‌ای در اکوسیستم‌های طبیعی و زراعی ارزیابی می‌کند.

بررسی‌ها نشان داده که ساخت مواد موثره گیاهان دارویی تحت تأثیر ژنوتیپ و عوامل محیطی است (Fillippo *et al*., 2002). تنش شوری از راه تأثیر بر چند مکانیسم مهم گیاه مانند فتوسنتز، تنظیم فشار اسمزی و فعالیت آنزیم‌ها رشد گیاه را کاهش می‌دهد (Ashraf, 2001). یکی از تغییرات بیوشیمیایی که در تنش‌های محیطی از جمله تنش شوری رخ می‌دهد، تولید انواع اکسیژن‌های فعال از جمله رادیکال‌های سوپراکسید (O^{-})، رادیکال‌های هیدروکسیل (OH^{-}) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) می‌باشد که می‌توانند باعث تخریب عمده غشاء، چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک شوند (Garratt *et al*., 2002). گیاهان برای مقابله با این خسارات سلولی، از سیستم آنتی‌اکسیدانی پیچیده‌ای استفاده می‌کنند که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز، گلوتاتیون پراکسیداز، پراکسیداز و آنزیم‌های دخیل در چرخه آسکوربات- گلوتاتیون همچون آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردااکتاز از جمله آنها می‌باشند (Baby and Jini, 2011).

سالیسیلیک اسید ($C_7H_6O_3$) یا اورتوهیدروکسی بنزوئیک اسید (SA) و ترکیبات مربوطه به گروهی از ترکیبات فنلی تعلق دارند. سالیسیلیک اسید به‌وسیله سلول‌های ریشه تولید می‌شود و نقش محوری در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف از جمله رشد و نمو گیاه، جذب یون، فتوسنتز و جوانه‌زنی ایفا می‌کند (El-Tayeb, 2005). همچنین، یک مولکول واسطه‌ای مهم جهت واکنش گیاهان در برابر تنش‌های محیطی می‌باشد (Senaranta *et al*., 2002). سالیسیلیک اسید به عنوان یک جزء پیام‌رسان کلیدی در فعال‌سازی پاسخ‌های اختصاصی دفاعی گیاه شناخته می‌شود. پاسخ‌های دفاعی گیاه منجر به بیوسنتز و تجمع انواع ترکیبات ثانویه گیاهی (از جمله آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، ترکیبات فنولیک و فیتوالکسین‌ها) می‌گردد که گیاهان می‌توانند از طریق القاء آنزیم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان به طیف وسیعی از تنش‌ها پاسخ دهند (Mueller *et al*., 1993). ثابت شده است که سالیسیلیک اسید به طور معنی‌داری نشت یونی و تجمع یون‌های سمی را در گیاهان کاهش داده (Zhou *et al*., 2009) و باعث کاهش اثرگذاری تنش‌های محیطی از راه افزایش

Archive of SID

www.SID.ir

هـورمون‌های تنظیم‌کننده رشد از جمله اکسین‌ها و سیتوکنین‌ها می‌شود (Shakirova *et al.*, 2003). در مطالعه‌ای که روی تیپ وحشی و جهش یافته Arabidopsis صورت گرفت، سالیسیلیک اسید به عنوان برطرف کننده آسیب‌های اکسیداتیو معرفی شد (Metwally *et al.*, 2003).

درمنه (*Artemisia annua* L.) از تیره آفتابگردان (*Asteraceae*) که به نام‌های *sweet annie* و *annual wormwood* نامیده می‌شود (در ایران به نام درمنه خزری معروف است) گیاهی است یک‌ساله و معطر که بومی آسیا و شرق اروپا بوده و به طور وسیعی در نواحی معتدل وجود دارد (Han *et al.*, 2004). این گیاه در پزشکی برای سال‌های متمادی به عنوان یک ماده ضد تب و ضد مالاریا در چین به‌کار می‌رفت. این گیاه منبع آرتمیزنین (Artemisinin) است که یک لاکتون سزکوبی ترپن اندوپراکسید (Endoperoxide sesquiterpene lacton) می‌باشد. آرتمیزنین یک متابولیت ثانویه می‌باشد که فعالیت موثری بر علیه پلاسمودیوم مقاوم به داروهای چندگانه فعلی، دارد (Kim *et al.*, 2003). به دلیل افزایش مقاومت پلاسمودیوم به داروهای تجاری ضد مالاریا چون کلروکوئین (Choloroquine)، سولفادوکسین (Sulphadoxin) و پریمتامین (Primtamin)، آرتمیزنین مورد توجه خاص قرار گرفته است (Duke *et al.*, 1987). مشتقات آرتمیزنین دارای فعالیت بر علیه سلول‌های سرطانی سینه در انسان می‌باشد و اثر کشندگی انتخابی و خاصیت ضد توموری دارد. تحقیقات نشان داده است که آرتمیزنین به تنهایی قادر به از بین بردن انتخابی سلول‌های سـرطانی است. در حالی‌که اثر آن بر سلول‌های نرمال مضر نمی‌باشد (Matsushita *et al.*, 1996). خاصیت آللوپاتیک و دور کنندگی حشرات نیز از اثرات دیگر این گیاه است (Chen *et al.*, 2000).

با توجه به اهمیت دارویی گیاه درمنـه، هـدف از اجرای این پژوهش، علاوه بر مطالعه آثار تنش شـوری بر گیاه درمنه، بررسـی نقـش حفـاظتی سالیـسیلیک اسید و نیز برهم‌کـنش آن در برابـر تـنش اکـسیداتیو ناشی از شوری کلرید سدیم بود.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر کاربرد سالیسیلیک اسید در شرایط تنش شوری بر خصوصیات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گیاه دارویی درمنه، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در سال زراعی ۹۰-۱۳۸۹ در مرکز تحقیقات کشاورزی زنجان به اجرا در آمد که در آن عامل شوری در چهار سطح شامل صفر (شاهد بدون شوری)، ۴، ۸ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر) و عامل سالیسیلیک اسید در دو سطح عدم کاربرد (شاهد) و مصرف ۰/۵ میلی مولار بودند. بذرهای درمنه پس از ضدعفونی با هیپوکلرید سدیم به مدت پنج دقیقه و اتانول ۹۶ درصد به مدت ۳۰ ثانیه، به خوبی با آب مقطر شسته شدند. سپس به منظور جوانه‌زنی یکنواخت بذور از کشت خزانه استفاده شد. بافت خاک زمین مورد مطالعه لومی رسی با ۰/۷۰ درصـد کربن آلی، اسیـــدیته ۷/۱ و هـــدایت الکتریکی ۰/۹۵ دسی‌زیمنس بر متر بود. بذور مورد بررسی در بستر خزانه یک متر در یک متر کشت شدند. پس از سبز شدن، گیاهچه‌های دو ماهه به گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۳۰ و ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر و حجم ۱۲ کیلوگرم خاک منتقل شدند و در هر گلدان یک گیاهچه کاشته شد. ۵۰ روز پس از انتقال گیاهچه‌ها به گلدان‌ها، گیاهان تحت تیمارهای مختلف شوری کلرید سدیم و سالیسیلیک اسید قرار گرفتند. در زیر هر گلدان ظرفی قرار گرفت تا از نشت آب زهکشی به بیرون و نفوذ آن به سایر گلدان‌ها جلوگیری شود. تیمارهای شوری به صورت مرحله‌ای و با آبیاری با

Archive of SID

www.SID.ir

تیمار هدایت الکتریکی چهار دسی زیمنس بر متر شروع شد و به تدریج به مقدار شوری اضافه شد تا به میزان شوری مورد نظر رسید. این کار به منظور جلوگیری از ایجاد تنش ناگهانی به گیاهان صورت گرفت. همچنین، به منظور اعمال تیمار سالیسیلیک اسید از محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید با غلظت ۰/۵ میلی مولار استفاده گردید. محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید از یک هفته پیش از اعمال شوری شروع شد و همزمان با اعمال تیمار تنش شوری ادامه یافت. دو هفته پس از اعمال تنش شوری، نمونه‌برداری از برگ انجام شد. بدین صورت که برگ‌ها پس از برداشت سریعاً در نیتروژن مایع منجمد شدند و تا زمان تجزیه‌های بیوشیمیایی در دمای ۸۰- درجه سلسیوس قرار گرفتند. جهت استخراج پروتئین محلول کل، یک گرم بافت برگ درون هاون چینی در حضور بافر استخراج (فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار (pH =۷) و سدیم متابای سولفات) ساییده شد. جهت عصاره‌گیری، مخلوط حاصل با سرعت rpm ۱۵۰۰۰ و دمای چهار درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. میزان پروتئین محلول کل طبق روش برادفورد (Bradford, 1976) و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر، اندازه‌گیری شد.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، محتوای کلروفیل و میزان پرولین با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) طبق روش ای‌بی (Aebi, 1984) و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بر اساس روش قناتی و همکاران (*Ghanati et al.*, 2002) ارزیابی شدند و در نهایت میزان فعالیت آنزیمی با واحد U/mg protein (واحد فعالیت بین‌المللی بر میلی‌گرم پروتئین) بیان گردید. محتوای کلروفیل و پرولین به ترتیب بر اساس روش اشرف و همکاران (Ashraf *et al.*, 1994) و بیتز و همکاران (Bates *et al.*, 1973) اندازه‌گیری شدند.

در پایان دوره رشد و زمان برداشت که اواسط مهرماه بود گیاهان برداشت شده و در هوای آزاد خشک شدند. پس از به دست آوردن ارتفاع بوته‌ها و تعداد شاخه در بوته، برای تعیین عملکرد سر شاخه‌های گلدار، نمونه‌ها در آون الکتریکی به مدت ۴۸ ساعت و در دمای ۷۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند و بعد از توزین به کیلوگرم در هکتار تبدیل شدند.

کلیه داده‌های حاصل از آزمایش پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (ver. 9) تجزیه واریانس شدند و میانگین داده‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر سالیسیلیک اسید، تنش شوری و همچنین اثر متقابل آنها بر تمام صفات ارتفاع بوته، تعداد شاخه در بوته، عملکرد سرشاخه‌های گلدار، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT)، غلظت پرولین و محتوای کلروفیل کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند (جدول ۱). نتایج جدول مقایسات میانگین اثرات اصلی تیمارها مشخص کرد که تنش شوری موجب کاهش ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی در بوته، عملکرد سرشاخه‌های گلدار و محتوای کلروفیل برگ گردید و هر چه غلظت نمک بیشتر شد، میزان کاهش شدیدتر بود (جدول ۲). کاربرد سالیسیلیک اسید تأثیر مثبت و معنی‌داری بر صفات یاد شده داشت و موجب افزایش ارتفاع بوته (۱۹ درصد)، تعداد شاخه فرعی در بوته (۱۳ درصد)، عملکرد سرشاخه‌های گلدار (۲۲ درصد) و میزان کلروفیل (۱۱ درصد) گردید (جدول ۲). تنش شوری همانند بسیاری از تنش‌های غیر زیستی دیگر، رشد گیاه را محدود می‌کند. توقف رشد طولی ساقه و ریشه

Archive of SID

www.SID.ir

و کاهش ماده‌سازی از علایم معمول تنش اکسیداتیو می‌باشد (Ruley *et al*., 2004).

ذخیره انرژی متابولیکی ممکن است اساس کاهش رشد در شرایط شوری باشد. در این شرایط انرژی لازم برای تنظیم یونی و اسمزی زیادتر شده و انرژی رشد کاهش می‌یابد (Kerepesi and Galiba, 2000). کاهش رشد یک نوع سازگاری برای زنده ماندن گیاه در شرایط تنش است (Zhu, 2001). دوازده امامی و همکاران (Davazdahemami *et al*., 2010) تاثیر شوری آب آبیاری بر عملکردهای کمی و کیفی گیاه دارویی زنیان (*Carum copticum* L.) را مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که شوری موجب کاهش ارتفاع گیاه، عملکرد اسانس بذر و عملکرد اسانس اندام هوایی، عملکرد بذر و عملکرد بیولوژیک گردید. همچنین، طی بررسی دیگری مشاهده شد افزایش سطح شوری آب آبیاری موجب کاهش ارتفاع بوته، تعداد و طول شاخه‌های جانبی، قطر ساقه، فواصل میانگره‌ها، تعداد و سطح برگ، عملکرد پیکر رویشی تر و خشک و میزان اسانس در گیاه دارویی آگاستاکه (*Agastache foeniculum* (*kuntz*. گردید (Khorsandi *et al*., 2010). در تحقیقات پیشین، گزارش شده است که از میزان فتوسنتز گیاهان در شرایط تنش شوری کاسته می‌شود. دلیل این کاهش به کاهش میزان کلروفیل، افزایش فلورسانس کلروفیل، بسته شدن روزنه‌ها (Ashraf, 2004)، کاهش فعالیت کربوکسیلازی و همچنین فعالیت بالای کلروفیلازی (Abd- El-Aziz *et al*., 2006) نسبت داده شده است. همچنین، گزارش شده است که مصرف سالیسیلیک اسید سبب افزایش وزن خشک گیاهچه‌های گندم می‌شود (Singh and Usha, 2003). سالیسیلیک اسید سبب افزایش وزن خشک گیاهچه‌های ذرت در شرایط تنش شوری شده است (Khodari, 2004). سازوکاری که سالیسیلیک اسید رشد ریشه و اندام هوایی را در برخی گیاهان افزایش می‌دهد به خوبی شناخته نشده است اما احتمال داده می‌شود که سالیسیلیک اسید طویل شدن و تقسیم سلولی را به همراه مواد دیگری از جمله اکسین تنظیم می‌نماید (Shakirova and Sahabutdinova, 2003).

نتایج این آزمایش نشان داد که کاربرد سالیسیلیک اسید هم در شرایط شاهد (بدون تنش) و هم شرایط تنش شوری تأثیر مثبتی بر صفات ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی و عملکرد سرشاخه‌های گلدار داشت به طوری که، بیشترین میزان صفات یاد شده مربوط به تیمار کاربرد سالیسیلیک اسید در شرایط شاهد (سطح صفر شوری) بود و کمترین آن از تیمار عدم کاربرد سالیسیلیک اسید در بالاترین سطح تنش شوری (سطح ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) به دست آمد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل سالیسیلیک اسید و شوری نشان داد که کاربرد سالیسیلیک اسید در هر دو شرایط بدون تنش و تنش شوری موجب کاهش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز، کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز و کاهش تجمع اسید آمینه پرولین شد (جدول ۳). حیدری و همکاران (Heidari *et al*., 2011) در بررسی تاثیر تنش شوری بر گیاه دارویی اسفرزه مشاهده کردند که افزایش سطح تنش شوری موجب افزایش تجمع اسید آمینه پرولین و کاهش محتوای کلروفیل گردید.

در طی بروز تنش شوری گیاهان سعی در تنظیم اسمزی با استفاده ترکیبات آلی همانند پرولین و کربوهیدرات‌ها دارند. این ترکیبات تا حد زیادی شرایط و انرژی لازم برای ادامه رشد و فتوسنتز برای گیاهان فراهم می‌کنند. محمد دوست شیری و همکاران (Mohammaddust shiri *et al*., 2009) گزارش کردند که تنش شوری موجب افزایش تجمع

Archive of SID

www.SID.ir

پرولین در گیاه دارویی آنغوزه گردید گه با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

تنش‌های غیر زنده نظیر تنش شوری، تولید و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن را القاء می‌کنند که در غلظت‌های بالا برای سلول زیان‌آور هستند. تولید این ترکیبات باعث پراکسیداسیون چربی‌ها، غیرفعال شدن آنزیم‌ها، خسارت به اسیدهای نوکلئیک و تخریب غشاهای سلول می‌شود (Bailly, 2004). این گونه‌های فعال، همچنین سبب افزایش تجزیه کلروفیل و کاهش محتوای کلروفیل برگ می‌شوند (Sairam *et al*., 2002). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز باعث حذف و غیر فعال شدن گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند (Bailly, 2004). براساس تحقیقات پژوهشگران، تنش شوری سبب تبدیل رادیکال سوپراکسید (O_2) به پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در درون سلول شده، این امر مانع فعالیت چرخه کلوین و در نهایت فرآیند قندسازی در گیاهان می‌شود. لذا بالا رفتن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان همانند کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز از اثرات سوء تشکیل پراکسید هیدروژن بر فرآیند قندسازی در کلروپلاست جلوگیری می‌کنند (Shen *et al*., 1997). بالا رفتن میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان تحت تنش تنها مکانیسم تحمل به شوری نیست، بلکه این مکانیسم می‌تواند در کنار ترکیبات سازگار کننده همانند پرولین و کربوهیدرات‌ها بر میزان تحمل گیاهان بیافزاید (Abo-Kassem, 2007).

سوپراکسید دیسموتاز اولین آنزیم پاک‌سازی کننده است که رادیکال O_2^- را به H_2O_2 که یک مولکول با خاصیت غیر رادیکالی است را بر عهده دارد. H_2O_2 تولید شده نیز توسط آنزیم کاتالاز و یا آسکوربات پراکسیداز تبدیل به آب و اکسیژن می‌شود (Foyer *et al*., 1997). در این تحقیق نیز همان طور که ذکر شد تنش شوری موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاربرد سالیسیلیک اسید منجر به کاهش فعالیت آنزیم‌های مذکور گردید. بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و بالاترین میزان پرولین مربوط به تیمار عدم کاربرد سالیسیلیک اسید در بالاترین سطح تنش شوری (۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) بود و کمترین میزان صفات یاد شده به تیمار کاربرد سالیسیلیک اسید در شرایط شاهد شوری (سطح صفر شوری) تعلق داشت (جدول ۳) که نتایج به دست آمده با نتایج حاصل از تحقیق دولت آبادیان و همکاران (Doulatabadian *et al*., 2008) مطابقت دارد.

سالیسیلیک اسید یک ترکیب فنلی شبه هورمونی می‌باشد که به عنوان یک تنظیم‌کننده داخلی نقش مهمی را در مکانیسم‌های دفاعی در برابر تنش‌های زنده و غیر زنده ایفا می‌کند (Szalai *et al*., 2000). سالیسیلیک اسید، بازدارنده فعالیت آنزیم کاتالاز که یک آنزیم پاکسازی کننده H_2O_2 است، بوده و در نتیجه کاهش فعالیت این آنزیم سبب افزایش H_2O_2 در گیاهان می‌شود (Horvath *et al*., 2002). اگرچه H_2O_2 در غلظت‌های بالا سمی است ولی در غلظت‌های پایین می‌تواند نقش پیام را در فرآیندهای انتقال پیام بازی کند و ژن‌های وابسته به مقاومت را در گیاه، فعال کند (Foyer *et al*., 1997). برخی پژوهشگران اظهار داشتند که سالیسیلیک اسید از طریق متصل شدن به آنزیم کاتالاز، سبب کاهش فعالیت آن در توتون (Chen *et al*., 1997) و چندین گونه دیگر گیاهی (Sanchez-Casas and Klessig, 1994) می‌گردد.

تنش اکسیداتیو حاصل افـزایش سطح رادیکال‌های آزاد اکسیژن درون سلولی است. افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان ممکن است راهی برای تحمل گیاه به تنش‌های محیطی باشد و از آنجایی که

Archive of SID

www.SID.ir

در پژوهش حاضر، کاربرد سالیسیلیک اسید سبب کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز نسبت به عدم مصرف گردیده است، می‌توان نتیجه گرفت که ممکن است این ماده از طریق تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدان فنولیک، به طور مستقیم در از بین بردن رادیکال‌های آزاد نقش داشته و با پاکسازی این گونه‌های فعال و کاهش اثرات تنش، از افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز (Dolatabadian *et al*., 2008) و همچنین تجمع پرولین جلوگیری می‌کند.

نتیجه‌گیری کلی

تنش شوری سبب ایجاد تغییرات مورفولوژیک و فیزیولوژیک در گیاه دارویی درمنه شد و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه نیز به این تنش پاسخ داد. همچنین، سالیسیلیک اسید اثرات مضر تنش شوری را کاهش داد و با تأثیر بر سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه، سبب بهبود رشد گیاه در شرایط تنش گردید. از این رو می‌توان پیشنهاد نمود که مصرف این ماده در گیاهان در معرض تنش، عاملی برای رفع و یا کاهش اثرات تنش می‌باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در گیاه دارویی درمنه

Table 1- Analysis of variance for studied traits in Artemisia

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of Squares						
		ارتفاع بوته Plant height	تعداد شاخه در بوته Branch/plant	عملکرد سر شاخه گلدار flowering shoots yield	سوپراکسید دیسموتاز SOD	کاتالاز CAT	پرولین proline	کلروفیل کل Total chlorophyll
بلوک Block	3	12.98 **	1.42**	2194.44**	4002.17**	40.59**	0.10**	0.13*
سالیسیلیک اسید (S.A)	1	941.78**	18.60**	191518.60**	261364.50**	524.18**	44.09**	28.88**
شوری (Salinity)	3	2514.25**	72.50**	509416.75**	1989873.83**	5799.18**	193.28**	130.79**
سالیسیلیک اسید × شوری (S.A × Salinity)	3	35.74**	0.26**	5373.02**	17133.83**	14.97**	2.01**	0.20**
خطا Error	21	1.27	0.078	157.85	380.64	0.33	0.006	0.031
ضریب تغییرات- CV (%)		12.16	11.63	9.99	1.11	0.55	0.68	1.01

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱ * and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات اصلی سالیسیلیک اسید و تنش شوری بر صفات مورد مطالعه در گیاه دارویی درمنه

Table 2- Mean comparison of main effects of salicylic acid and salinity stress on studied traits in artemisia

تیمار Treatment	ارتفاع بوته Plant height (cm)	تعداد شاخه در بوته Branch/plant	عملکرد سرشاخه گلدار flowering shoots yield (kg/ha)	سوپراکسید دیسموتاز SOD (u/mg protein)	کاتالاز CAT (u/mg protein)	پرولین Proline (mmol/g fw)	کلروفیل کل Chlorophyll (mmol/g fw)
سالیسیلیک اسید S.A							
عدم کاربرد non application	46.72 b	9.87 b	552.20 b	1842.50 a	109.87 a	12.97 a	1.66 b
کاربرد application	57.57 a	11.40 a	706.92 a	1661.75 b	101.77 b	10.62 b	1.85 a
شوری Salinity (ds/m)							
0	72.40 a	13.55 a	910.95 a	1251.50 d	74.45 d	5.75 d	2.22 a
4	60.50 b	11.90 b	755.65 b	1533.50 c	93.95 c	10.22 c	1.91 b
8	43.05 c	10.60 b	506.25 c	1854.00 b	119.90 b	14.11 b	1.59 c
12	32.65 d	60.50 c	345.40 d	2369.50 a	135.00 a	17.09 a	1.28 d

میانگین‌های دارای حرف مشترک در هر ستون فاقد تفاوت معنی‌دار آماری در سطح احتمال پنج درصد می‌باشند.

Means with the same letter in each column represent non significant at 5% probability level.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- مقایسات میانگین اثرات متقابل سالیسیلیک اسید و تنش شوری بر صفات مورد مطالعه در گیاه دارویی درمنه

Table 3- Mean comparison interaction effects of salicylic acid and salt stress on studied traits in Artemisia

Treatment	تیمار	ارتفاع بوته Plant heigh (cm)	تعداد شاخه در بوته Branch/plant	عملکرد سرشاخه گلدار flowering shoots yield (kg/ha)	سوپراکسید دیسموتاز SOD (u/mg protein)	کاتالاز CAT (u/mg protein)	پرولین Proline (mmol/g fw)	کلروفیل کل Chlorophyll (mmol/g fw)
سالیسیلیک اسید S.A	شوری Salinity (ds/m)							
عدم کاربرد Non-application	0	66.20 c	12.90 b	833.20 c	1297 g	77.60 g	6.47 g	0.211 b
	4	53.10 d	11.10 d	648.70 d	1589 e	99.60 e	11.48 e	0.183 d
	8	37.40 f	9.60 e	425.30 f	1987 c	122.60 c	15.96 c	0.151 f
	12	30.20 h	5.10 g	301.60 h	2497 a	139.70 a	17.97 a	0.117 h
کاربرد application	0	78.60 a	14.20 a	988.70 a	1206 h	71.30 h	5.03 h	0.233 a
	4	67.90 b	12.70 b	862.60 b	1487 f	88.30 f	8.97 f	0.199 c
	8	48.70 e	11.60 c	567.20 e	1721 d	117.20 d	12.27 d	0.167 e
	12	35.10 g	7.10 f	389.20 g	2242 b	130.30 b	16.22 b	0.139 g

میانگین‌های دارای حرف مشترک در هر ستون فاقد تفاوت معنی‌دار آماری در سطح احتمال پنج درصد می‌باشند.

Means with the same letter in each column represent non significant at 5% probability level.

Archive of SID

www.SID.ir

References منابع مورد استفاده

- Abd El-Aziz, N.G., A.M. Mazher Azz, and E. El-Habba. 2006. Effect of foliar spraying ascorbic acid on growth and chemical constituents of *Khaya senegalensis* growth under salt condition. *American Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science*. 1(3): 207-214.
- Abo-Kassem, E.D.M. 2007. Effects of salinity: Calcium interaction in growth and nucleic acid metabolism in five species of *Chenopodiaceae*. *Turkish Journal of Botany*. 31: 25-134.
- Aebi, H.E. 1984. Catalase *in vitro*. *Methods Enzymology*. 105: 121-126.
- Ashraf, M. 2001. Relation between growth and gas exchange characteristics in some salt-tolerance amphidiploid *Brassica* species in relation to their diploid parents. *Environmental and Experimental Botany*. 45: 155-163.
- Ashraf, M. 2004. Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. *Flora*. 199: 361-376.
- Ashraf., M.Y., A.R. Azmi, A.H. Khan, and S.A. Ala. 1994. Effect of water stress on total phenols, peroxidase activity and chlorophyll content in wheat. *Acta Physiologia Plantarum*. 16: 185–191.
- Baby, J, and D. Jini. 2011. Development of salt stress tolerance plants by gene manipulation of antioxidant enzymes. *Asian Journal of Agricultural Research*. 5: 17-27.
- Bailly, C. 2004. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. *Seed Science Research*. 14: 93–107.
- Bates, S., R.P. Waldern, and E.D. Teare. 1973. Rapid determination of free prolin for water stress studies. *Plant and Soil*. 39: 205-207.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid sensitive method for the quantitation of microprogram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annual Biochemical*. 72: 248-254.
- Chen, D.H., H.C, Ye, and G.F. Li. 2000. Expression of a chimerical farnesyl diphophate synthase gene in *Artemisia annua* transgenic plant via Agrobacterium tumefaciens – mediated transformation. *Plant Science*. 155: 179 – 185
- Davazdahemami, S., F. Sefidkon, M.R. Jahansooz, and D. Mazaheri. 2010. Evaluation of water salinity effects on yield and essential oil content and composition of *Carum copticum* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 25 (4): 504-512. (In Persian).
- Doulatabadian, A., S.A.M. Modarres Sanavi, ans F. Etemadi. 2008. Effec of pretreatment of salicylic acid on wheat (*Trittcum aestivum* L.) seed germination under salt stress. *Iranian Journal of Plant Biology*. 692-702. (In Persian).
- Duke, S.O., K.C. Vaughn, and H.N. Elsohly,. 1987. Artemisinin a constituent of *annual wormwood*, is a selective phytotoxin. *Weed Science*. 35: 499 – 505.

Archive of SID

www.SID.ir

- El-Tayeb, M.A. 2005. Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation*. 45: 215-225.
- Fallahi, J., M.T. Ebadi, R. Ghorbani. 2009. The effects of salinity and drought stresses on germination and seedling growth of clary. *Environmental and Agricultural Science*. 1(1): 57-67.
- Filippo, L,A. Moretti, and A. Lovat. 2002. Seed yield, yield components oil content and essential oil and composition of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascene* L. *Industrial Crop and Products*. 15(1): 59-69.
- Foyer, C.H., H. Lopez-Delgado, J.F. Dat, and I.M. Scott. 1997. Hydrogen peroxide and glutathione associated mechanisms Of acclamatory stress tolerance and signaling. *Plant Physiology*. 100: 241–254.
- Garratt, L.C., B.S. Janagoudr, K.C. Lowe, P. Anthony, J.B. Power, and M.R. Davey. 2002. Salinity tolerance and antioxidant status in cotton cultures. *Free Radical Biology and Medicine*. 33(4): 502-511.
- Ghanati, F., A. Morita, and H. Yokota. 2002. Induction of suberin and increase of liginin content by exess Boron in Tabacco cell. Soil Science. *Plant Nutrition*. 48(3):357-364.
- Goreta, S., P. Bucevic, V. Pavela, M. Vrancic, and S. Perica. 2007. Salinity induced changes in growth, superoxide dismutase activity and ion content of two olive cultivars. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 170: 398-405.
- Han, J.L., W. Hong, H.C. Ye, Y. Liv, Z.G. Li, Y.S. Zhang, F.Y. Guo, and L. Feng. 2004. High efficiency of genetic transformation and regeneration of A. annua via agrohacteriew tomefaaency- mediated procedure. *Plant Science*. 175: 7-20.
- Heidari, M., A. Abdolzadeh, and F. Farzaneh. 2011. Effect of different salt levels and three nitrogen nutritions on growth and biochemical reactions of *Plantago ovate*. *Iranian Journal of Crop Science*. 42 (1): 199-207. (In Persian).
- Horvath, E., T. Janda, G. Szalai, and E. Paldi. 2002. *In vitro* salicylic acid inhibition of catalase activity in maize: differences between the isoenzymes and a possible role in the induction of chilling tolerance. *Plant Science*. 163:1129-1135.
- Kerepesi, H, and G. Galiba. 2000. Osmotic and salt stress induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedling. *Crop Science*. 40: 482487.
- Khodary, S.E.A. 2004. Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt-stressed maize plants. *International Journal of Agriculture and Biology*. 6: 5–8.
- Khorsandi, O., A. Hassani, F. Sefidkon, H. Shirzad, and A. Khorsand. 2010. Effect of salinity (NaCl) on growth, yield, essential oil content and composition of *Agastache foeniculum* Kuntz. *Iranian J. of Medicinal and Aromatic Plants*. 26 (3): 438-451. (In Persian).

Archive of SID

www.SID.ir

- Kim,Y., P.J Wethers, and B.E. Wyslouzil. 2003. A comparative study of mist and bubble column reactor in the in vitro production of artemisinin. *Plant Cell Reports*. 20 : 451 – 455.
- Matsushita Y., W. Kang, and B.V. Charlwood, 1996. Cloning and analysis of a cDNA encoding famesyl diphosphate synthase from *Artemisia annua* .*Gene*. 172: 207 – 209.
- Metwally, A., I. Finkemeier, M. Georgi, and K.J. Dietz. 2003. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in *Hordeum vulgare*. *Biological Research*. 1: 40- 48.
- Mohammaddust-Shiri, A.R., A. Safar Nejad, and H. Hamidi, 2009. Morphological and biochemical characterization of *Ferula assafoetida* in response to salt stress. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*. 17 (1): 37-49. (In Persian).
- Mostafazadeh-Fard, B., M. Heidarpour, A. Aghakhani, and M. Feizi. 2007. Effects of irrigation water salinity and leaching on soil chemical properties in an arid region. *International Journal of Agriculture and Biology*. 3: 462-466.
- Mueller, M.J., W. Brodschelm, E. Spannagl, and M.H. Zenk. 1993. Signaling in the elicitation process is mediated through the octadecanoid pathway leading to jasmonic acid. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 90:7490–4
- Nezami, A., J. Nabati, M. Kafi, and M. Mohseni. 2009. Evaluation of salinity tolerance at emergence and seedling stages of kochia under control environment. *Environment and Agriculture Science*. 1 (1): 69-77. (In Persian).
- Oussalah, M., S. Caillet, L. Saucier, and M. Lacroix. 2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria. E. coli O157: H7, *SalmonellaTyphimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*. 18: 414-420.
- Ruley, A.T., N.C. Sharma, and S.V. Sahi. 2004. Antioxidant defense in a lead accumulation plant, *Sensbania drummondii*. *Plant Physiology and Biochemical*. 42: 899-906.
- Sairam, R.K., K.V. Rao, and G.C. Srivastava. 2002. Differential response of wheat genotypes to long-term salinity stress in relation to axidative stress. Antioxidant active and osmolyte consentration. *Plant Science*. 163, 1037-1046.
- Sanchez-Casas, P., and D.F. Klessig. 1994. A salicylic acid-binding activity and a salicylic acid inhibitable Catalase activity is Present in a variety of plant species. *Plant Physiology*. 106: 1675-1679.
- Senaranta, T., D. Touchell, E. BumM, and K. Dixon, 2002. Acetylsalicylic (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance bean and tomato plants. *Plant Growth Regulation*. 30: 157-161.
- Shakirova, F.M, and D.R. Sahabutdinova. 2003. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Plant Science*. 164: 317-322.

Archive of SID

www.SID.ir

- Shen, B., R.G. Jensen, and H.J. Bohnert.1997. Mannitol protects against oxidation by hydroxyl radicals. *Plant Physiology*. 115: 527-532.
- Singh, B, and K. Usha. 2003. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. *Plant Growth Regulators*. 39: 137–141.
- Szalai, G., I. Tari, T. Janda, A. Pestenacz, and E. Paldi. 2000. Effects of cold acclimation and salicylic acid on changes in ACC and MACC contents in maize during chilling. *Biology of Plant*. 43:637-640.
- Zhu, J.K. 2001. Plant salt tolerance. *Trends in Plant Science*. 6(2): 66-71.
- Zhou, Z.S., K. Guo, A. Abdou-Elbaz, and Z.M. Yang. 2009. Salicylic acid alleviates mercury toxicity by preventing oxidative stress in roots of *Medicago sativa Environmental and Experimental Botany*. 65: 27-34.

Archive of SID

www.SID.ir