زیست‌شناسی گیاهی، سال پنجم، شماره شانزدهم، تابستان ۱۳۹۲، صفحه ۵۷-۷۰
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۰۳/۳۱
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۱/۰۴/۲۶
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۱/۰۴/۲۷

اثر سالیسیلیک اسید بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه درمنه کوهی (*Artemisia aucheri* Boiss.) تحت تنش شوری

زهرا رضایت‌مند [۱]*، رمضانعلی خاوری‌نژاد [۱] و غلامرضا اصغری [۲]
[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
[۲] گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

چکیده

در این پژوهش، اثر سالیسیلیک اسید (SA) خارجی در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر بر برخی فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه درمنه کوهی تحت سه سطح شوری (صفر، ۵۰ و ۱۵۰) میلی‌مولار بررسی شد. شوری به تنهایی شاخص‌های رشد گیاه مانند وزن خشک و طول بخش هوایی و ریشه گیاه و همچنین، مقدار کلروفیل کل و کاروتنوئیدها و محتوی پتاسیم گیاه را کاهش داد، در حالی که تیمار گیاهان با SA تحت تنش شوری باعث افزایش آنها شد. مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و درصد نشت غشا و مقدار پراکسید هیدروژن و محتوی سدیم گیاه نیز تحت تیمارهای شوری افزایش یافت، در حالی که حضور SA خارجی باعث کاهش این مقادیر شد. این نتایج می‌تواند گویای اثر تعدیل‌کننده SA بر فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه درمنه کوهی تحت تنش شوری باشد.

واژه‌های کلیدی: تنش شوری، درمنه کوهی، سالیسیلیک اسید

مقدمه

مسأله شوری خاک و آب، عمده‌ترین چالش در مناطق مرتعی و نیمه مرتعی است که باعث محدود کردن رشد و تولید محصول گیاهان می‌شود (Allakhverdiev *et al*., 1998). به طور معمول، تنش شوری با نمک سدیم و به ویژه NaCl ایجاد می‌شود. آثار تخریبی تنش شوری بر گیاهان به علت کاهش پتانسیل اسمزی محلول خاک (تنش آبی)، عدم تعادل مواد غذایی و آثار یون‌های ویژه (تنش شوری) است. طی تنش شوری در گیاهان فرآیندهای مهمی از جمله فتوسنتز، سنتز پروتئین و متابولیسم چربی‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرد. به نظر می‌رسد که گیاهان با مکانیسم‌های پیچیده‌ای که در آنها بیان بسیاری از ژن‌ها و مکانیسم‌های فیزیولوژیک دخالت دارد به تنش پاسخ می‌دهند (Parida and Das, 2005). راهکارهای بیوشیمیایی شامل انباشتن انتخابی یا دفع یون‌ها، تنظیم

*نویسنده مسؤول: نشانی پست الکترونیک: rezayatmand@iaufala.ac.ir، شماره تماس: ۰۳۱۱۷۴۲۰۱۳۴

Archive of SID
www.SID.ir

جذب یون توسط ریشه و انتقال به برگ‌ها، تجمع یون‌ها در سلول‌ها، سنتز محلول‌های سازگار، تغییر در مسیر فتوسنتز، اصلاح در ساختار غشا، القای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و القای هورمون‌های گیاهی است. شوری متابولیسم گیاه و تقسیم سلولی را کاهش داده، در نتیجه از رشد طبیعی جلوگیری می‌کند (Shakirova *et al.*, 2003).

در تنش شوری فعالیت فتوسنتزی گیاه از یک طرف به علت دهیدراته شدن غشا سلولی که نفوذپذیری CO_2 را کاهش می‌دهد و از سوی دیگر به علت ورود یون‌های Na^+ به سلول که به غیر فعال شدن سیستم‌های انتقال الکترون در فتوسنتز منجر می‌شود، باعث کاهش فرآیند فتوسنتز در گیاه می‌شود (Allakhveldiev *et al.*, 1998).

تنظیم هموستازی یون‌ها در گیاه برای مقاومت گیاه و حفظ حالت پایداری در سلول‌های گیاهی در برابر تنش شوری لازم است. در شوری بالا، یون سدیم با سایر یون‌ها به ویژه پتاسیم رقابت می‌کند و به کاهش پتاسیم در گیاه منجر می‌شود (Parida and Das, 2005). نسبت K^+/Na^+ در طی تنش شوری کاهش می‌یابد و این کاهش در گونه‌های حساس به شوری بیشتر است (Sairam *et al.*, 2002).

یکی از مکانیسم‌های مقاومت در برابر تنش‌های محیطی مانند شوری و تنش کم آبی وابسته به دو لایه لیپیدی و اسیدهای چرب غیر اشباع آن است که در طی تنش، پایداری غشا را تضمین می‌کنند. در تنش شوری میزان H_2O_2 گیاه افزایش می‌یابد که به پراکسیداسیون لیپیدها وآسیب غشایی منجر می‌شود (Erdal *et al.*, 2011).

گزارش شده است که ترکیبات فنلی در سلول با انتقال الکترون به آنزیم‌های تیپ پراکسیداز و سمّزدایی آب اکسیژنه تولید شده می‌توانند به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کنند (Sakihama *et al.*, 2002). همه گیاهان تنوع وسیعی از متابولیت‌های ثانویه را تولید می‌کنند که از مهم‌ترین آنها می‌توان به گروه ترکیبات فنلی یا فنلیک‌ها اشاره کرد. سالیسیلیک اسید یا ارتوهیدروکسی بنزوئیک ترکیبی فنلی است که به طور طبیعی در برخی از بافت‌های گیاهی به مقدار فراوان یافت می‌شود (Zhang *et al.*, 2005). همچنین، این ترکیب به عنوان یک پیام اندوژن (داخلی) گیاهی باعث افزایش تحمل گیاه به تنش‌های شوری، خشکی، سرما و گرما می‌شود. سالیسیلیک اسید خارجی در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیک در گیاهان مانند رشد و نمو، فتوسنتز، جذب و انتقال یون و نفوذپذیری غشا تأثیرگذار است (Raskin, 1992). بسیاری از بررسی‌های انجام شده نشان داده است که کاربرد سالیسیلیک اسید (SA) به صورت خارجی در گیاهان تحت تنش شوری می‌تواند آثار تخریبی ناشی از این تنش را کاهش دهد و فرآیندهای رشد را سریعاً به حالت اول برگرداند (Arfan *et al.*, 2007؛ Eraslan *et al.*, 2007؛ Yusuf *et al.*, 2008؛ Misra and Saxena, 2009؛ Szepesi *et al.*, 2009). گیاه درمنه کوهی از یک سو به واسطه ترکیبات مهم دارویی و آثار درمانی درخور توجه به عنوان داروی ضد مالاریا، ضد باکتری، ضد قارچ،آنتی‌اکسیدان و سمّیت سلولی و از سوی دیگر به عنوان گیاه مرتعی سازگار با مناطق شور و خشک ایران حایز اهمیّت است. با توجه به این که تاکنون در زمینه آثار شوری روی گیاه درمنه کوهی

Archive of SID

www.SID.ir

مطالعه‌ای صورت نگرفته است و سالیسیلیک اسید نیز می‌تواند در این راستا به عنوان یک القا کننده با افزایش تحمل به شوری در گیاه از یک سو و القای متابولیت‌های ثانویه از سوی دیگر عمل نماید، بنابراین، در این پژوهش اثر سالیسیلیک اسید بر گیاه درمنه کوهی به عنوان یک گیاه مدل مرتعی تحت تنش شوری بررسی شد.

مواد و روش‌ها

گیاهچه‌های گونه *Artemisia aucheri* Boiss. پس از دریافت از بخش گیاهان دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به قطعه‌های ۱/۵ تا ۲ سانتی‌متری تقسیم و به ظرف‌های حاوی ۳۰ میلی‌لیتر محیط کشت MS (Murashige and Skoog, 1962) دارای ۳ درصد سوکروز و یک درصد آگار، بدون هورمون با اسیدیته ۵/۸ منتقل شد. ظروف در اتاق کشت با دمای ۱ ± ۲۵ درجه سانتیگراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و شدت نور ۴۰ μM photon $m^{-2}s^{-1}$ منتقل شدند. گیاهان پس از یک هفته ریشه‌دار شدند و پس از ۴ هفته از رشد گیاهان، اعمال تیمارها آغاز شد.

قطعه‌های ۱/۵ تا ۲ سانتی‌متری از ساقه به همراه یک جوانه جانبی جدا و به هر محیط کشت ۵ قطعه گیاه در شرایط سترون انتقال داده شد. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. سالیسیلیک اسید در غلظت‌های صفر و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر و نمک در غلظت‌های صفر، ۵۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار به محیط کشت افزوده شد. پس از ۶ هفته، شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاهان اندازه‌گیری شد.

سنجش وزن خشک و طول اندام هوایی و ریشه گیاه

وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاه با انتقال نمونه‌ها به دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت اندازه‌گیری شد. طول ساقه و ریشه گیاه نیز با خط‌کش محاسبه شد. برای هر گروه تیمار سه تکرار محاسبه و میانگین به ترتیب بر اساس گرم و واحد میلی‌متر گزارش شد.

سنجش سدیم و پتاسیم

۰/۰۱ گرم از پودر خشک ریشه و بخش هوایی گیاهان درون لوله‌های آزمایش جداگانه ریخته و ۱۰ میلی‌لیتر محلول سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد به هر کدام اضافه شد. درب لوله‌ها با پارافیلم محکم بسته و به مدت ۲۴ ساعت داخل یخچال در دمای ۴ درجه سانتیگراد انکوبه شد. پس از ۲۴ ساعت نمونه‌ها از یخچال خارج و با کاغذ واتمن شماره یک صاف شد. پس از آماده کردن محلول‌های استاندارد جذب سدیم و پتاسیم محلول‌های استاندارد و عصاره‌های سلولی آماده به کمک دستگاه شعله‌سنج (مدل Sherwood 410) اندازه‌گیری شد. مقدار هر کدام از این عناصر در عصاره‌های گیاهی بر حسب میلی‌مولار در گرم وزن خشک بافت با توجه به منحنی استاندارد محاسبه و گزارش شد.

سنجش رنگدانه‌های گیاهی

برای اندازه‌گیری مقدار رنگدانه‌های گیاهی (کلروفیل و کاروتنوئید) از روش Arnon (۱۹۴۹) استفاده شد. ابتدا، ۰/۱ گرم از بافت تازه برگ‌های جوان گیاه توزین و با استون ۸۰ درصد در هاون چینی روی یخ و به دور از نور مستقیم ساییده شد. مخلوط به دست آمده با کمک کاغذ صافی درون بالن ژوژه

Archive of SID

www.SID.ir

صاف و حجم عصاره به دست آمده با استون ۸۰ درصد به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس، جذب محلول‌ها با اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر ثبت شد. سپس، میزان کلروفیل کل و کاروتنوئید بر حسب میلی‌گرم در گرم بافت گیاهی محاسبه شد.

سنجش میزان نشت الکترولیتی غشا پلاسمایی

برای سنجش میزان آسیب به غشا، از میزان نشت یونی از روش Ben Hamed و همکاران (۲۰۰۷) استفاده شد. ۰/۲ گرم از بافت سالم و تازه اندام هوایی گیاه پس از شستشو با آب مقطر برای حذف یون‌های احتمالی از سطح گیاه درون لوله آزمایش درپیچ‌دار قرار داده، ۱۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر به آن اضافه شد. سپس، لوله‌های آزمایش به مدت ۲ ساعت درون حمام آب گرم با دمای ۳۲ درجه سانتیگراد قرار داده، میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها (EC_1) با ECمتر اندازه‌گیری شد. لوله‌های آزمایش در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو پس از کاهش دمای لوله‌ها تا ۲۵ درجه سانتیگراد، میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها (EC_2) مجدداً اندازه‌گیری و با استفاده از فرمول زیر درصد نشت یونی محاسبه شد.

درصد نشت یونی = $(EC_1/EC_2)\times100$

سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدها

به منظور بررسی پراکسیداسیون لیپیدهای غشا از روش Heath و Parcker (۱۹۶۸) استفاده شد. ۰/۲ گرم از بافت تازه برگ و ریشه برای اندازه‌گیری غلظت مالون‌دی‌آلدهید (MDA) توزین و با ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد در هاون چینی ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۵ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ شد. ۵ میلی‌لیتر محلول TCA ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیو باربیتوریک اسید (TBA) بود به یک میلی‌لیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد حمام آب گرم قرار داده شد. سپس، مخلوط موجود بلافاصله در یخ سرد و دوباره به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ و شدت جذب این محلول با اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر ثبت شد. (ماده مورد نظر برای جذب در این طول موج کمپلکس قرمزرنگ (MDA-TBA) است). برای محاسبه غلظت (MDA) از ضریب خاموشی معادل $\mu M^{-1} cm^{-1}$ ۱۵۵ استفاده شد و نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر و بر اساس رابطه $A=\varepsilon\times b\times c$ محاسبه شد (A= جذب، b= عرض کوت، c= غلظت محلول مورد نظر و ε= ضریب خاموشی).

سنجش پراکسید هیدروژن (H_2O_2)

سنجش پراکسید هیدروژن با روش Velikova و همکاران (۲۰۰۰) انجام شد. اندام هوایی گیاه در حمام یخ با تری کلرو استیک اسید ۰/۱ درصد ساییده شد. عصاره حاصل در سانتریفیوژ یخچال‌دار (5415R Eppendorf) در ۱۰۰۰۰g برای ۱۵ دقیقه در ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شد. سپس، ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی به ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷ و یک میلی‌لیتر یدور پتاسیم یک مولار اضافه شد و جذب در طول موج ۳۹۰ نانومتر ثبت شد. مقدار پراکسید هیدروژن در هر نمونه با استفاده از ضریب خاموشی $0/28\ M^{-1}\ cm^{-1}$ و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر بر اساس رابطه $A=\varepsilon\times b\times c$ محاسبه شد (A= جذب، b= عرض کوت، c= غلظت محلول مورد نظر و ε= ضریب خاموشی).

Archive of SID

www.SID.ir

سنجش ترکیبات فنلی کل

محتوای ترکیبات فنلی کل با روش Ronald و Laima (۱۹۹۹) اندازه‌گیری شد. ۰/۱ گرم از اندام هوایی گیاه در ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد ساییده، به مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت در تاریکی نگهداری شد. سپس، به یک میلی‌لیتر محلول رویی یک میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد اضافه و با آب مقطر حجم محلول به ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس، ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین ۵۰ درصد و یک میلی‌لیتر کربنات سدیم ۵ درصد به آن اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت یک ساعت در تاریکی نگهداری و سپس جذب هر نمونه در طول موج ۷۲۵ نانومتر ثبت شد و با استفاده از منحنی استاندارد غلظت ترکیبات فنلی کل بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه و گزارش شد. برای تهیه محلول‌های استاندارد از غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر گالیک اسید استفاده شد.

تحلیل داده‌ها

این پژوهش، در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد و تحلیل داده‌ها با استفاده از مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطح احتمال $P\leq0.05$ و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

با توجه شکل‌های ۱ و ۲ مشاهده می‌شود که شوری به ویژه در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl باعث کاهش شدید وزن خشک و طول بخش هوایی و ریشه شد، در حالی که کاربرد SA باعث تعدیل اثر شوری و افزایش وزن خشک گیاه تنها در اندام هوایی و افزایش طول بخش هوایی و ریشه گیاه شد که در غلظت ۵۰ میلی‌مولار NaCl معنی‌دار است.

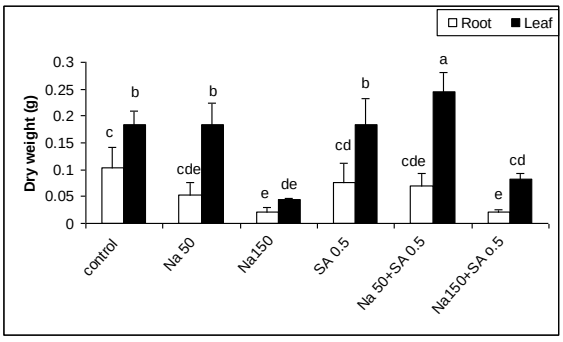
تنش شوری باعث کاهش میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی گیاه شده است (شکل‌های ۳ و ۴) و این کاهش در میزان کلروفیل کل از نظر آماری معنی‌دار است. کاربرد SA همراه با NaCl باعث افزایش معنی‌دار میزان کاروتنوئیدها و کلروفیل کل گیاه نسبت به شرایط عدم اعمال تیمار SA شد که از نظر آماری برای میزان کاروتنوئیدها معنی‌دار است.

نتایج مالون‌دی‌آلدهید به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدهای غشا در شکل ۵ نشان می‌دهد که با افزایش میزان شوری افزایش معنی‌داری در MDA ریشه و بخش هوایی گیاه درمنه کوهی ایجاد شده است. به کارگیری SA خارجی تحت شرایط تنش شوری باعث کاهش میزان MDA در بخش هوایی گیاه نسبت به شاهد شده است که از نظر آماری این کاهش معنی‌دار است. کاهش میزان MDA در ریشه گیاهانی که در غلظت ۵۰ میلی‌مولار نمک همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر SA قرار گرفته‌اند نسبت به تیمار شوری تنها نیز از نظر آماری معنی‌دار است (شکل ۵).

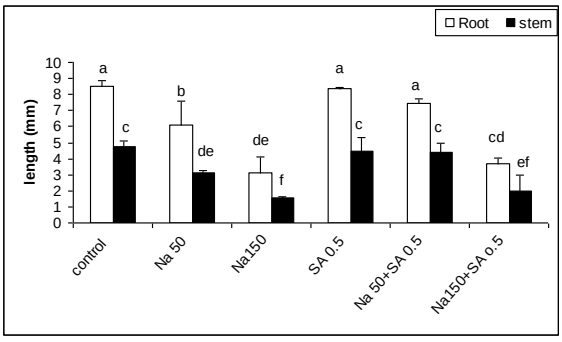
مقدار پراکسید هیدروژن نیز در شرایط تیمار شوری افزایش معنی‌داری در بخش هوایی و ریشه گیاه درمنه کوهی نسبت به شرایط فاقد تیمار نشان داده است و کاربرد SA خارجی همراه با تنش شوری H_2O_2 را کاهش داده است و این کاهش در بخش هوایی گیاه معنی‌دار است (شکل ۶).

Archive of SID

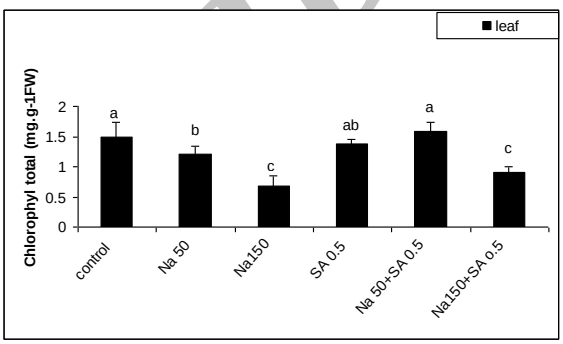
www.SID.ir



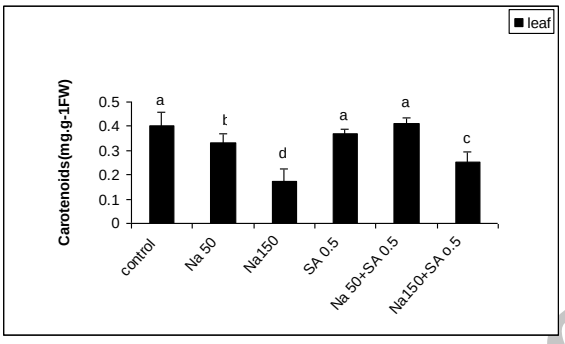
شکل ۱- اثر شوری و سالیسیلیک اسید بر میزان وزن خشک ریشه و بخش هوایی گیاه درمنه کوهی. مقادیر میانگین ۳ تکرار ±SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0.05$ است.



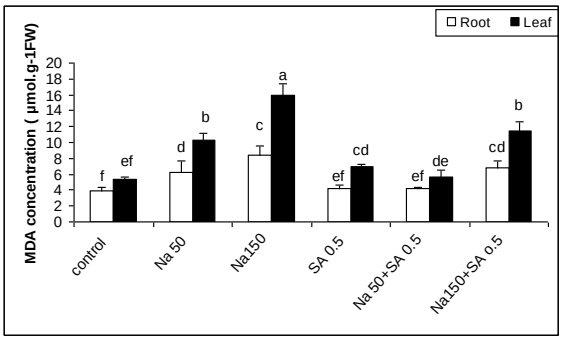
شکل ۲- اثر شوری و سالیسیلیک اسید بر میزان طول ریشه و بخش هوایی گیاه درمنه کوهی. مقادیر میانگین ۳ تکرار ±SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0.05$ است.



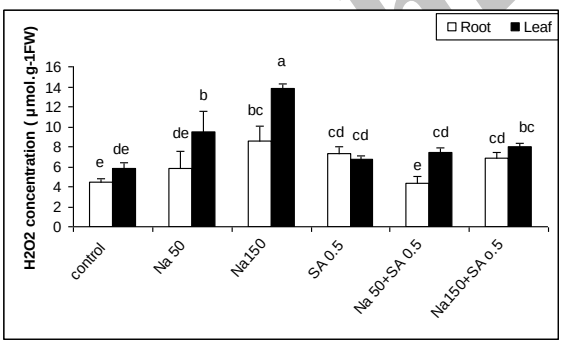
شکل ۳- اثر شوری و سالیسیلیک اسید بر میزان کلروفیل کل گیاه درمنه کوهی. مقادیر میانگین ۳ تکرار ±SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0.05$ است.



شکل ۴- اثر شوری و سالیسیلیک اسید در میزان کاروتنوئیدهای گیاه درمنه کوهی. مقادیر میانگین ۳ تکرار ±SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0.05$ است.



شکل ۵- اثر شوری و سالیسیلیک اسید بر میزان MDA گیاه درمنه کوهی. مقادیر میانگین ۳ تکرار ±SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0.05$ است.



شکل ۶- اثر شوری و سالیسیلیک اسید بر میزان H_2O_2 گیاه درمنه کوهی. مقادیر میانگین ۳ تکرار ±SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0.05$ است.

نتایج آزمایش‌های مربوط به بررسی نشت غشا سیتوپلاسمی در گیاه درمنه کوهی نشان می‌دهد که با افزایش تنش شوری درصد نشت غشا سیتوپلاسمی در بخش هوایی و ریشه افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد دارد (شکل ۷). کاهش میزان EC در تیمار گیاه با SA در شرایط تنش شوری بیانگر نقش حفاظتی سالیسیلیک

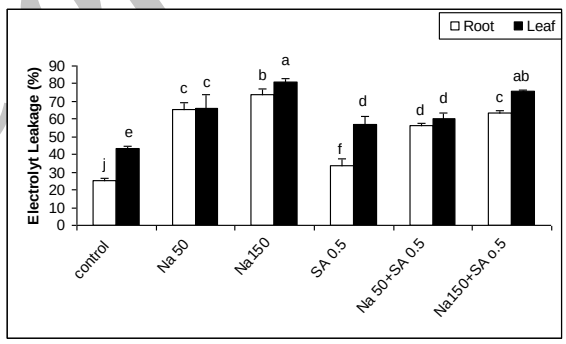
www.SID.ir

اسید بر غشا سلولی به ویژه در غلظت ۵۰ میلی‌مولار نمک است.

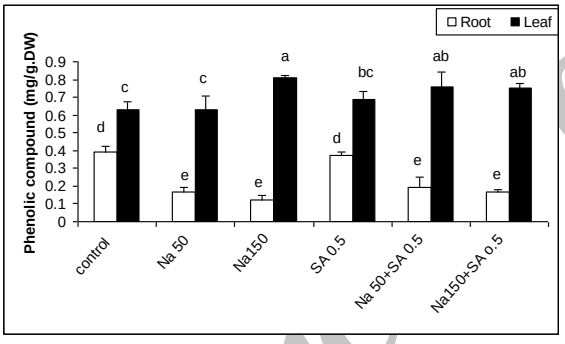
بررسی مقادیر ترکیبات فنلی کل گیاه درمنه کوهی در شرایط تنش شوری در شکل ۸ ارایه شده است. با توجه به شکل مشاهده می‌شود که میزان ترکیبات فنلی کل گیاه تحت تنش شوری در ریشه کاهش و در برگ افزایش یافته و کاربرد سالیسیلیک اسید خارجی باعث افزایش میزان ترکیبات فنلی کل در بخش هوایی و ریشه گیاه نسبت به گیاهان شاهد شده است که از نظر آماری این افزایش در غلظت ۵۰ میلی‌مولار NaCl در بخش هوایی معنی‌دار است.

محتوای سدیم ریشه و ساقه با افزایش تنش شوری در محیط افزایش معنی‌داری را نشان داد. در تیمارهای هم‌زمان شوری و SA کاهشی در میزان سدیم ریشه و ساقه مشاهده شد که این کاهش در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار شوری معنی‌دار است (شکل ۹).

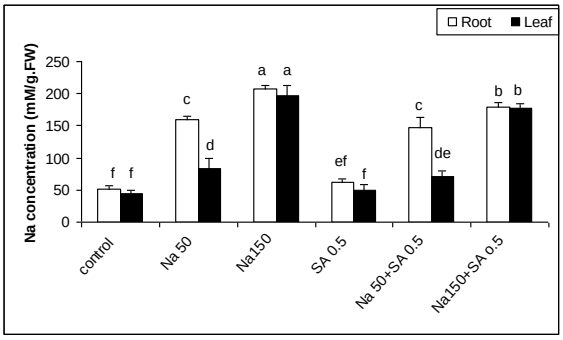
هم‌زمان با افزایش تنش شوری کاهشی در میزان پتاسیم گیاه نسبت به شاهد مشاهده شد که از نظر آماری معنی‌دار است. کاربرد SA خارجی باعث افزایش میزان پتاسیم ساقه نسبت به شاهد شد که از نظر آماری معنی‌دار است. تیمار گیاه با SA باعث افزایش میزان پتاسیم ریشه و ساقه گیاهان تحت تنش شده که از نظر آماری در غلظت ۵۰ میلی‌مولار نمک معنی‌دار است، در حالی که در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار نمک کاهشی در میزان پتاسیم ریشه و ساقه در حضور SA مشاهده شد (شکل ۱۰).



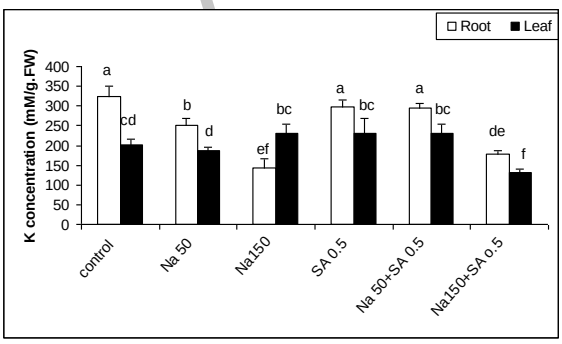
شکل ۷- اثر شوری و سالیسیلیک اسید بر میزان نشت غشا گیاه درمنه کوهی. مقادیر میانگین ۳ تکرار ±SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0.05$ است.



شکل ۸- اثر شوری و سالیسیلیک اسید بر میزان ترکیبات فنولیک کل گیاه درمنه کوهی. مقادیر میانگین ۳ تکرار ±SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0.05$ است.



شکل ۹- آثار شوری و سالیسیلیک اسید بر میزان سدیم گیاه درمنه کوهی. مقادیر میانگین ۳ تکرار ±SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0.05$ است.



شکل ۱۰- اثر شوری و سالیسیلیک اسید بر میزان پتاسیم گیاه درمنه کوهی. مقادیر میانگین ۳ تکرار ±SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0.05$ است.

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

شوری باعث ایجاد آثار منفی در ارتباط با رشد و نمو گیاه می‌شود. کاهش در میزان فعالیت سلول‌های مریستمی و جلوگیری از طویل شدن سلول‌ها نتیجه تغییر در روابط آبی گیاهان تحت تنش شوری است که مسؤول کاهش شاخص‌های رشدی گیاهان است (Idress *et al*., 2011). تنش شوری باعث عدم تعادل پتانسیل آبی بین آپوپلاست و سیمپلاست و کاهش فشار تورگر می‌شود که نتیجه آن کاهش رشد است (Bohnert *et al*., 1995). گزارش‌های متعددی مبنی بر کاهش بیوماس گیاه تحت تنش شوری عنوان شده است. در تحقیقی روی گیاه کتان کاهش ارتفاع بخش هوایی و وزن گیاه تحت شرایط تنش شوری گزارش شده است (Meloni *et al*, 2004). در این پژوهش نیز تنش شوری باعث کاهش میزان وزن خشک و طول ریشه و بخش هوایی در گیاه درمنه کوهی شد که با نتایج گزارش شده در این زمینه توسط سایر محققان مطابقت دارد.

هاشمی و همکاران (۱۳۸۹) گزارش کردند که پیش‌تیمار بذر شاهی با سالیسیلک اسید اثر مثبتی بر رشد ریشه و ساقه گیاهچه داشته است، در حالی که در این تحقیق کاربرد SA به تنهایی اثر معنی‌داری روی رشد گیاه نشان نمی‌دهد که شاید به علت تفاوت غلظت سالیسیلیک اسید مصرف شده باشد.

گزارش‌های متعددی مبنی بر تأثیر سالیسیلک اسید بر افزایش رشد گیاه تحت شرایط تنش شوری در گیاه گندم (shakirova *et al*., 2003; Hayat *et al*., 2010)، جو (EL-Tayeb, 2005)، ذرت (Hussein *et al*., 2007) و سویا (Khan *et al*., 2003) ارایه شده است. واسطه‌گری SA در ارتباط با افزایش رشد تحت تنش شوری ممکن است به علت اثر حمایتی آن در فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیک باشد. بر این اساس پیشنهاد شده که واسطه‌گری SA در ارتباط با افزایش رشد می‌تواند به علت اثر القایی SA در افزایش میزان فتوسنتز تحت شرایط تنش شوری باشد (Noreen *et al*., 2010). علاوه بر این، SA باعث القا سنتز پروتئین کینازها تحت تنش شوری می‌شود که ممکن است نقش مهمی در تنظیم تقسیم سلولی و تمایز و رشد گیاه داشته باشد (El-Tayeb, 2005). نتایج این تحقیق نیز آثار تعدیل کننده SA بر وزن خشک و طول ریشه و بخش هوایی گیاه را نشان می‌دهد.

یکی از علایم تنش شوری در گیاهان کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل و کاروتنوئید است کاهش کلروفیل گیاه می‌تواند به علت فعال شدن مسیر کاتابولیسمی کلروفیل و یا عدم سنتز کلروفیل باشد (Sairam *et al*., 2002). تحت تنش شوری، مقدار رنگیزه‌های کلروفیل و کارتنوئیدهای گیاه هویج کاهش پیدا کرده است (Eraslan *et al*., 2007). همچنین، گزارش شده که میزان کلروفیل‌های a و b در گیاه جو با به کارگیری NaCl کاهش می‌یابد (El-Tayeb *et al*., 2005). نتایج این تحقیق نیز گویای کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت شرایط تنش شوری است که با کاربرد سالیسیلک اسید خارجی تا حدودی تعدیل شده است. به کارگیری SA باعث افزایش محتوی رنگدانه‌های فتوسنتزی گیاه سویا (Zhao *et al*., 1995)، ذرت (Khodary, 2004) تحت تنش شوری شده است. افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت تیمار SA را می‌توان به علت اثر SA بر تحریک

Archive of SID

www.SID.ir

مسیر سنتزی این رنگدانه‌ها دانست (Gharib *et al.*, 2007). افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت تیمار SA گویای اثر محافظتی این تنظیم‌کننده رشد بر فتوسنتز و رنگدانه‌های فتوسنتزی گیاهان تحت تنش شوری است (El-Tayeb, 2005). سالیسیلیک اسید با افزایش توان آنتی‌اکسیدانی گیاهان به واسطه موادی از جمله کاروتنوئیدها باعث کاهش مقدار H_2O_2 و پراکسیداسیون لیپیدها و حفاظت بیشتر از غشاهای سلولی می‌شود (فاضلیان و اسرار، ۱۳۹۰).

رادیکال‌های سوپر اکسید ایجاد شده تحت تنش شوری باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشا (Sairam *et al.*, 1998) و افزایش میزان MDA و در نتیجه آسیب غشا سلولی در طی تنش شوری می‌شود (Borsani *et al.*, 2001؛ Gunes *et al.*, 2007). پراکسیداسیون لیپیدها که باعث آسیب رساندن به عملکرد غشا می‌شود قابل اندازه‌گیری است (Sairam *et al.*, 2002). شواهد نشان می‌دهد که مالون‌دی‌آلدهید محصول تجزیه اسیدهای چرب غیر اشباع است که به عنوان نشانگر زیستی برای اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدها استفاده می‌شود (Mittler, 2002). در پژوهش حاضر، میزان MDA در گیاه درمنه کوهی افزایش معنی‌داری در گیاهانی که با NaCl تیمار شده بودند نشان داد که این نشان دهنده اثر تنش شوری بر تخریب غشاست.

گزارش شده است که کاربرد SA تحت شرایط شوری باعث کاهش میزان MDA در گیاه می‌شود (Sairam *et al.*, 2005؛ Eraslan *et al.*, 2007؛ Gunes *et al.*, 2007) که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. بررسی‌ها نشان داده است که سالیسیلیک اسید باعث جلوگیری از صدمه به اسیدهای چرب و کاهش نفوذپذیری غشا و حفاظت از غشا تیلاکوئیدی در زمان تنش شوری می‌شود و این اثر را احتمالاً با کاهش مقدار H_2O_2 انجام می‌دهد (Borsani *et al.*, 2001).

در این بررسی افزایشی در محتوای H_2O_2 در گیاهچه‌های تحت تیمار شوری مشاهده می‌شود. مشابه این نتایج توسط Velikova و همکاران (۲۰۰۰) در گیاه لوبیا گزارش شده است. تنش شوری با تأثیر بر انتقال الکترون در فرآیندهای همانند فتوسنتز و تنفس می‌تواند باعث ایجاد H_2O_2 در گیاه شود. افزایش H_2O_2 در گیاه باعث کاهش میزان رشد گیاه و همچنین، باعث پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب‌های غشایی می‌شود (Erdal *et al.*, 2011). سالیسیلک اسید با تغییر فعالیت آنزیم‌های متابولیزه‌کننده H_2O_2 سطح آن را در گیاه تنظیم می‌کند. بنابراین، SA با کاهش میزان H_2O_2 باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و نشت یونی غشا می‌شود که گیاه را در برابر شوری محافظت می‌کند.

حفظ ثبات و سلامتی غشا تحت تنش شوری یکی از مکانیسم‌های سازگاری به شوری است. تیمار گیاهان با SA در شرایط تنش شوری باعث کاهش نشت یونی غشا سلولی می‌شود. کاربرد SA باعث کاهش میزان نشت یونی غشا سلول در گیاه ذرت (Kang and saltveit, 2001)، گیاه جو (El-Tayeb, 2005) و همچنین، گوجه‌فرنگی (Stevens *et al.*, 2006) شده است که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد.

تولید ترکیبات فنلی تحت اثر شوری در گیاهان مختلف پیشنهاد شده است. این ترکیبات آنتی‌اکسیدان‌های نیرومندی در بافت‌های گیاهی تحت تنش هستند و این ویژگی به علت ساختار اسکلتی و گروه فنلی این متابولیت‌هاست. گروه‌های هیدروکسیل آزاد متصل به

Archive of SID

www.SID.ir

حلقه آروماتیک توان جاروب کردن رادیکال‌های آزاد را داشته، بدین لحاظ آسیب‌های اکسیداتیو را کاهش داده، ساختارهای سلولی را از تأثیرات منفی شوری محافظت می‌کنند (Al-Amier and Craker, 2006). در این تحقیق نیز میزان ترکیبات فنولیک کل گیاه در طی تنش شوری در بخش هوایی افزایش و در بخش ریشه کاهش نشان داد که شاید دلیل آن انتقال این ترکیبات از ریشه به بخش‌های هوایی گیاه باشد.

Chan و Tian (۲۰۰۶) تجمع ترکیبات فنلی و افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیولیاز را در انگور پس از کاربرد سالیسیلیک اسید گزارش کردند. به دنبال افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیولیاز میزان ترکیبات فنولیک در گیاه افزایش می‌یابد. پس می‌توان نتیجه گرفت که SA نقش مهمی در بیوسنتز ترکیبات فنلی و بیان ژن‌های دفاعی گیاه ایجاد می‌کند. در این تحقیق نیز افزایش میزان ترکیبات فنلی کل در اثر SA تحت شرایط تنش شوری در بخش هوایی مشاهده شد.

تنظیم تعادل یونی در گیاهان برای مقاومت گیاه در برابر تنش شوری لازم است. در تنش شوری یون سدیم با یون پتاسیم رقابت می‌کند که این امر باعث افزایش یون سدیم و کاهش یون پتاسیم می‌شود. یون پتاسیم برای حفظ پتانسیل اسمزی و افزایش جذب آب توسط گیاه ضروری است. در این تحقیق، میزان سدیم ریشه و بخش هوایی گیاه درمنه کوهی تحت تنش شوری افزایش و میزان پتاسیم آن کاهش نشان داده است. چنین رفتاری توسط گیاهان تحت تنش شوری در گزارشی روی گیاه گوجه‌فرنگی نیز عنوان شده است (Amini and Ehsanpour, 2005).

به کارگیری SA تحت تنش شوری باعث افزایش جذب پتاسیم و کاهش جذب سدیم و کاهش سمیّت آن می‌شود (El-Tayeb, 2005; Gunes, 2007). افزایش نسبت K^+/Na^+ در گیاه می‌تواند نمادی از ایجاد مقاومت نسبت به شوری باشد (Hussein *et al.*, 2007). سالیسیلیک اسید با فعال کردن سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه و کاهش آسیب به غشا سلولی می‌تواند در نقل و انتقالات یونی غشا تأثیرگذار باشد. اگر چه مطالعات انجام شده روی اثر SA بر جذب یون‌ها اندک است، لیکن نشان داده شده که SA می‌تواند در کاهش جذب یون کلرید سدیم تحت شرایط شوری مؤثر باشد. کاربرد SA خارجی باعث کاهش میزان سدیم و افزایش میزان پتاسیم در گیاه درمنه کوهی تحت شرایط تنش شوری در این تحقیق شد که می‌تواند باعث ایجاد مقاومت در این گیاه نسبت به تنش شوری اعمال شده باشد که همسو با نتایج سایر محققان است.

جمع‌بندی

بر اساس این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت که تنش شوری باعث ایجاد تغییرات نامطلوب فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در گیاه درمنه کوهی می‌شود و سالیسیلیک اسید به عنوان مولکول سیگنال می‌تواند با تعدیل این آثار مخرب، به القای مقاومت نسبت به تنش شوری در این گیاه کمک نماید.

منابع

فاضلیان، ن. و اسرار، ز. (۱۳۹۰) تأثیر برهمکنش آرسنیک و سالیسیلیک اسید بر رشد و برخی از شاخصهای فیزیولوژیک گیاه بابونه (*Matricaria recutita* L.). مجله زیست‌شناسی گیاهی ۳: ۱-۱۲.

Archive of SID

www.SID.ir

هاشمی، ش.، اسرار، ز. و پور سیدی، ش. (۱۳۸۹) اثر پیش تیمار بذر توسط سالیسیلیک اسید بر رشد و برخی از شاخصهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در شاهی (*Lepidium sativum*). مجله زیست‌شناسی گیاهی ایران ۲: ۱-۱۰.

Al-Amier, H. and Craker, L. E. (2006) *In vitro* selection for stress tolerant spearmint. 2nd edition. ASHS Press, Alexandria Virginia.

Allakhverdiev, S. R., Mavituna, M., Ganieva, R. and Nafisi, S. (1998) Effects of salt stress and synthetic hormone polystimuline K on photosynthetic activity of *Trianea bogotersis*. Turkish Journal of Botany 22: 19-23.

Amini, F. and Ehsanpour, A. A. (2005) Soluble protein, carbohydrate and Na/K chande in two tomato (*Lycoersicum esculentum*) cultivar under *in vitro* salt stress. American Journal Biochemistry Biotechnology 1: 212-216.

Arfan, M., Athar, H. R. and Ashraf, M. (2007) Does exogenous application of salicylic acid through the rooting medium modulate growth and photosynthetic capacity in two differently adapted spring wheat cultivars under salt stress? Plant Physiology 6: 685-694.

Arnon, D. L. (1949) A copper enzyme is isolated chloroplast polyphenol oxidase in *Beta vulgaries*. Plant Physiology 24: 1-15.

Ben Hamed, K., Castagna, A., Salem, E., Ranieri A. and Abdelly, C. (2007) Sea fennel (*Crithmum maritimum* L.) under salinity conditions: a comparison of leaf and root antioxidant responses. Plant Growth Regulation 53: 185-194.

Bohnert, H. J., Nelson, D. E. and Jensen, R. G. (1995) Adaptation to environmental stresses. Plant Cell 7: 1099-1111.

Borsani, O., Valpuestan, V. and Botella, M. A. (2001) Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in Arabidopsis seedlings. Plant Physiology 126: 1024-1030.

Chan, Z. and Tian, S. (2006) Induction of H_2O_2 metabolizing enzyme and total protein synthesis by antagonistic yeast and salicylic acid in harvested sweet cherry. Postharvest Biology and Technology 39: 314-320.

EL-Tayeb, M. A. (2005) Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regulation 45: 215-225.

Eraslan, F., Inal, A., Gunes, A. and Alpaslan, M. (2007) Impact of exogenous salicylic acid on the growth, antioxidant activity and physiology of carrot plants subjected to combined salinity and boron toxicity. Science Horticulture 113: 120-128.

Erdal, S., Aydın, M., Genisel, M., Taspınar, M. S., Dumlupinar, R., Kaya, O. and Gorcek, Z. (2011) Effects of salicylic acid on wheat salt sensitivity. African Journal of Biotechnology 10(30): 5713-5718.

Gharib, F. E. L. (2007) Effect of salicylic acid on the growth, metabolic activities and oil content of basil and marjoram. International Journal Agriculture Biology 9: 294-301.

Gunes, A., Inal, A., Alpaslan, M., Eraslan, F., Bagci, E. G. and Cicek, N. (2007) Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) grown under salinity. Journal of Plant Physiology 164: 728-736.

Hayat, Q., Hayat, S. H., Irfan, M. and Ahmad, A. (2010) Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: a review. Environmental and Experimental of Botany 68: 14-25.

Heath, R. L. and Parcker, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplast, kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives in Biochemistry and Biophysic 125: 189-198.

Hussein, M. M., Balbaa, L. K. and Gaballah, M. S. (2007) Salicylic acid and salinity effects on growth of maize plants. Research Journal Agriculture and Biological Science 3(4): 321-328.

Idress, M., Naeem, M., Nasir Khan, M., Aftab,

Archive of SID

www.SID.ir

T., Masroor, A. and Moinuddin, K. H. (2011) Alleviation of salt stress in lemongrass by salicylic acid. Protoplasma 10: 314-330.

Kang, H. and Saltveit, M. E. (2001) Activity of enzymatic antioxidant defense systems in chilled and heat shocked cucumber seedling radicles. Physiological Plantarum 113: 548-556.

Khan, W., Prithviraj, B. and Smith, D. L. (2003) Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. Journal of Plant Physiology 160: 485-492.

Khodary, S. E. A. (2004) Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed maize plants. International Journal Agriculture Biology 6(1): 5-8.

Meloni, D. A., Gulotta, M. R., Martínez, C. A. and Oliva, M. A. (2004) The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycinebetaine accumulation in *Prosopis alba*. Plant Physiology 16(1): 39-46.

Misra, N. and Saxena, P. (2009) Effect of salicylic acid on proline metabolism in lentil grown under salinity stress. Plant Science 177: 181-189.

Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Science 7: 405-410.

Murashige, T. and Skoog, F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiological Plantarum 15: 473-497.

Noreen, Z., Ashraf, M. and Akram, N. A. (2010) Salt-induced regulation of some key antioxidant enzymes and physiobiochemical phenomena in five diverse cultivars of turnip (*Brassica rapa* L.). Journal of Agronomy and Crop Science 196: 273-285.

Parida, A. K. and Das, A. B. (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants. Ecotoxicology and Environmental Safety 60: 324-349.

Raskin, I. (1992) Role of salicylic acid in plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 43: 439-463.

Ronald, S. F. and Laima, S. K. (1999) Phenolics and cold tolerance of *Brassica napus*. Plant Agriculture 1: 1-5.

Sakihama, Y., Cohen, M., Grace, S. and Yamasaki, H. (2002) plant phenolic antioxidant and proxidant activities phenolic-lnduced oxidative damage mediated by metals in plant. Toxicology 177: 67-80.

Sairam, R. K., Deshmukh, P. S. and Saxena, D. C. (1998) Role of antioxidant systems in wheat genotypes tolerance to water stress. Biological Plantarum 41: 384-394.

Sairam, R. K., Rao, K. V. and Srivastava, G. C. (2002) Changes in antioxidant activity in sub-cellular response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science 163: 1037-1046.

Sairam, R. K., Srivastava, G. C., Agarwal, S. and Meena, R. C. (2005) faiences in antioxidant activity in response to salinity tress in tolerant and susceptible wheat genotypes. Biological Plantarum 49: 85-91.

Shakirova, F. M, Sakhabutdinova, A. R., Bezrukova, M. V., Fatkhutdinova, R. A. and Fatkhutdinova, D. R. (2003) Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. Plant Science 164: 317-322.

Stevens, J., Senaratna, T. and Sivasithamparam, K. (2006) Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): associated changes in gas exchange, water relations and membrane stabilization. Plant Growth Regulation 49: 77-83.

Szepesi, A., Csiszár, J., Gémes, K., Horváth, E., Horvath, F., Simon, M. and Tari, I. (2009) Salicylic acid improves acclimation to salt stress by stimulating abscisic

Archive of SID

www.SID.ir

aldhyde oxidase activity and abscisic acid accumulation, and increase Na^+ content in leaves without toxicity symptoms in *Solanum lycopersicum* L.. Journal Plant Physiology 166: 914-925.

Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A. (2000) Oxidative stress and some antioxidant system in acid rain treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. Plant Science 151: 59-66.

Yusuf, M., Hasan, S. A., Ali, B., Hayat, S., Fariduddin, Q. and Ahmad, A. (2008) Effect of salicylic acid on salinity induced changes in *Brassica juncea*. Journal of Integrative Plant Biology 50(9): 1096-1102.

Zhao, H. J., Lin, X. W., Shi, H. Z. and Chang, S. M. (1995) The regulating effects of phenolic compounds on the physiological characteristics and yield of soybeans. Acta Agronomica Sinica 21: 351-355.

Zhang, Z., Pang, X., Duan, X., Ji, Z. L. and Jiang, Y. (2005) Role of peroxidase in anthocyanin degradation in litchi fruit pericarp. Food Chemistry 90: 47-52.

Archive of SID

www.SID.ir

The effect of salicylic acid on some of physiological and biochemical parameters of *Artemisia aucheri* Boiss. under salt stress

Zahra Rezayatmand [1]*, Ramazan Ali Khavari-Nejad [2] and Gholamreza Asghari [2]

[1] Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2] Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Archive of SID

Abstract

In this study, the effects of 0.5 mg/l exogenous SA on some physiological and biochemical processes of *Artemisia aucheri* Boiss. under tree levels of salt stress (0, 50 and 150 mm/l) were investigated. The salt stress decreased the parameters of plant growth such as dry weight, aerial parts and roots length, total chlorophyll, carotenoids and potassium content. But, treatment of plant with SA under salt stress increased the above–mentioned parameters. At the same time, peroxidation of membrane lipids, percentage of membrane leakage, the amount of hydrogen peroxide and sodium content of the plant were increased under salt stress. On the contrary, the presence of exogenous SA decreased the above parameters. The obtained results indicated the modulator effects of salicylic acid on physiological processes of the *Artemisia aucheri* Boiss. under salt stress.

Key word: Salt stress, *Artemisia aucheri* Boiss., Salicylic acid

* Corresponding Author: rezayatmand@iaufala.ac.ir

www.SID.ir