



دانشگاه شهید بهشتی

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد بیست و دوم، شماره یکم، ۱۳۹۴
<http://jopp.gau.ac.ir>

بررسی تأثیر سطوح مختلف شوری بر پرولین، نگدانه‌های فتوستنتزی و رطوبت نسبی برگ گیاه دارویی بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla L.*) در محیط آبکش

لیلا لطف الهی^۱، *حسین قرابی گل‌سفیدی^۲ و حشمت امیدی^۳

^۱دانشجوی کارشناسی ارشد گروه خاکشناسی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، ^۲دانشیار گروه خاکشناسی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، ^۳استادیار گروه زراعت، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد
تاریخ دریافت: ۹۲/۱۲/۲۳؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۵/۲۷

چکیده

با توجه به گستردگی شوری در خاک‌های ایران، تنش‌های غیرزیستی از قبیل شوری، تهدیدی جدی برای تولیدات کشاورزی، عملکرد و مواد مؤثره گیاهان دارویی است. شناخت آستانه تحمل به شوری و تعیین شبکه عملکرد گیاهان دارویی نقش به سزایی در مکان‌یابی مناسب جهت توصیه و توسعه کاشت آنها دارد. در این تحقیق تأثیر تنش شوری بر محتوای ترکیبات محلول، رطوبت نسبی برگ (RWC) و شاخص‌های بیوشیمیایی گیاه بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla L.*) مورد بررسی قرار گرفت. این مطالعه در قالب طرح پایه بلوك‌های کامل تصادفی و با سه تکرار انجام گردید. از آنجایی که کترل سطح شوری در خاک در طول مدت انجام آزمایش دشوار است، از محیط کشت شامل: ۲ (شاهد، چون محلول غذایی ۵۰ درصد هوگلن دارای EC حدود ۲ است)، ۴، ۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر و با استفاده از نمک کلوروسدیم انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش شوری، محتوای کلروفیل a، ۲۹/۹ درصد و به صورت معنی‌داری کاهش (P ≤ ۰/۰۱) یافت. با افزایش شوری، محتوای کلروفیل b، کارتنتوئیدها و آنتوسیانین به ترتیب ۳۹/۷، ۲۲/۷، ۱۱/۱ درصد کاهش معنی‌داری

*نويسنده مسئول: htorabi@shahed.ac.ir

(P ≤ 0.05) را نشان داد. اندازه‌گیری مقدار پرولین نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار آن با افزایش شوری به میزان ۷۹/۵ درصد است. محتوای نسبی آب برگ نیز با افزایش شوری به میزان ۲۰/۱ درصد افزایش معنی‌داری داشت (P ≤ 0.01). به طور کلی تش شوری فرآیندهای فیزیولوژیک و عملکردی بابونه را تحت تأثیر قرار داد و عملکرد مطلوب در شوری ۲ دسی‌زیمنس بر متر بدست آمده است.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، پرولین، رطوبت نسبی برگ، کارتنوئید، کلروفیل.

مقدمه

تش‌های غیریستی مانند خشکی، شوری، درجه حرارت بالا، سمیت مواد شیمیایی و تش‌های اکسیداتیو تهدیدی جدی برای کشاورزی و محیط زیست می‌باشد. انتظار می‌رود که افزایش شوری زمین‌های زراعی، اثرات مخرب جهانی داشته و پیش‌بینی شده است که ۳۰ درصد از زمین‌های کشاورزی در ۲۵ سال بعد و تا ۵۰ درصد تا سال ۲۰۵۰ غیر قابل استفاده شوند. اثرات مخرب شوری روی رشد گیاه شامل پتانسیل اسمزی پایین در محلول خاک، عدم تعادل تغذیه‌ای و اثر یون خاص (تش شوری) یا ترکیبی از این عوامل می‌باشد. شوری عامل شناخته شده‌ای است که تأثیر منفی بر تولید بسیاری از محصولات در سرتاسر جهان دارد. نمک‌های محلول در غلظت‌های بالا به علت عدم تعادل مواد غذایی تأثیر منفی بر رشد گیاه دارند. تحت شرایط شور، تجمع بالایی از یون‌های سمی از قبیل Na⁺ و Cl⁻ در کلروپلاست رخ می‌دهد (حیدری و همکاران، ۲۰۱۱). شوری در خاک و آب آبیاری یک مشکل زیست محیطی و محدودیت اصلی برای تولید انواع محصولات کشاورزی است. تش شوری (NaCl) بر برخی فرایندهای متابولیک اصلی از قبیل فتوستتر، سنتز پروتئین و سوخت و ساز چربی‌ها و ATP تأثیرگذار است (پریدا و داس، ۲۰۰۵)، که از طریق دو فرآیند اسمزی (کم آبی سلولی) و سمیت (تجمع یون‌ها) بر سلول‌های گیاه، اختلال در رشد، تعادل یونی، فتوستتر و تثیت نیتروژن در میان سایر فرآیندهای کلیدی فیزیولوژیک تأثیرگذارتر است (پریدا و داس، ۲۰۰۵). تحقیقات فرهودی و مکی زاده تفتی (۲۰۱۳) نشان داد که تش خشکی سبب کاهش معنی‌دار وزن خشک گل ارقام بابونه مورد مطالعه شد. سیدالاھل و عمر (۲۰۱۱) نیز بیان نمودند که در رازیانه و زیره سبز افزایش غلظت نمک باعث کاهش قابل توجه در تعداد چتر، عملکرد میوه و وزن هزار دانه می‌شود. طبق یافته‌های ناورو و همکاران (۲۰۱۰) شوری، عملکرد کل میوه فلفل، وزن متوسط میوه‌های

تازه و در نهایت تعداد میوه در بوته را کاهش داد. امروزه چندین شاخص تنش برای ارزیابی وضعیت فیزیولوژی گیاهان معرفی شده است که عبارتند از: محتويات پروتئين محلول برگ، پرولین، رنگدانه‌های فتوستتری و محصولات متابولیکی حاصل از اکسید شدن (پریدا و داس، ۲۰۰۵). پرولین یک صفت مهم برای اندازه‌گیری ظرفیت تنش شوری در گیاهان است. در بسیاری از گیاهان تجمع پرولین آزاد در پاسخ به تحمل طیف وسیعی از تنش‌های زیستی و غیرزیستی است (اوخترک و همکاران، ۲۰۱۲). توانایی پرولین به‌واسطه تنظیم اسمزی، ثبیت ساختارهای زیرسلولی، سلولی و رادیکالهای آزاد می‌باشد. با این حال مقدار تجمع پرولین در نتیجه تنش وارد شده به گیاه تحت شرایط نامطلوب زیست محیطی هنوز جای بحث دارد (اوخترک و همکاران، ۲۰۱۲). با افزایش سطح شوری مقدار تنظیم کننده‌های اسمزی از قبیل پرولین افزایش می‌یابد که گیاه می‌تواند تنش‌های محیطی را تحمل نماید. پرولین از دو ماده گلوتامات و اورنیتین تولید می‌شود. افزایش در تولید پرولین، نوعی راهبرد تنظیم اسمزی است که می‌تواند منجر به کاهش رشد گیاه شود (میرزا معصومزاده و همکاران، ۲۰۱۲). فرهودی و مکی زاده تفتی (۲۰۱۳) بیان نمودند که غلظت پرولین برگ ارقام بابونه تحت تاثیر تنش خشکی افزایش یافت، اما در سطح تنش خشکی شدید بیشترین مقدار پرولین برگ در توده شیرازی به میزان ۰/۰۵۲ میلی گرم بر گرم برگ تازه مشاهده شد. بابایی و همکاران (۲۰۱۰) نیز مشاهده نمودند که تحت تاثیر تنش خشکی، اسیدآمینه پرولین در گیاه آویشن افزایش یافت.

رنگدانه‌های فتوستتری و محتوای نسبی آب برگ نیز تحت تاثیر تنش شوری قرار می‌گیرند. سارانی و همکاران (۲۰۱۳) مشاهده نمودند که شوری سبب کاهش مقادیر کلروفیل a و b در دو جنس بابونه شد و بین مقادیر کلروفیل a و b با وزن تر و خشک بخش هوایی همبستگی معنی‌دار و مثبتی بدست آمد. کاواسیک و همکاران (۲۰۰۹) نیز گزارش دادند که شوری باعث کاهش مقدار کلروفیل در بابونه آلمانی شد (به نقل از سارانی و همکاران، ۲۰۱۳). گزارش شده است شوری باعث کاهش محتوای نسبی آب برگ و افزایش میزان کلروفیل کل در برگ کلزا شد (دهشیری و همکاران، ۲۰۱۲). دی ارجو و همکاران (۲۰۰۶) افزایش محتوای نسبی آب برگ هالوفیت‌ها، در اثر افزایش شوری را یک راهکار کارآمد، جهت تنظیم اسمزی و حفظ فشار آماس سلولی در این دسته از گیاهان دانستند. گیاه بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla L.*) از خانواده کاسنی (Asteraceae)، یکی از مهم‌ترین و قدیمی‌ترین گیاهان دارویی در بازار تجارت جهانی می‌باشد که کاربرد زیادی در صنایع دارویی و بهداشتی دارد (فاسمی پیر بلوطی و همکاران ۲۰۱۱). گل‌ها و اسانس بابونه دارای خواص ضدالتهاب،

ضد اسپاسم، ضد عفونی کننده، ضد نفخ و ترمیم کننده می‌باشدند. مواد مؤثره موجود در بابونه شامل انسانس، فلاونئولیدها و کومارین هستند (عزیزی، ۲۰۰۶). این تحقیق به منظور بررسی تأثیر تنفس شوری بر محتوای ترکیبات محلول، رطوبت نسبی برگ (RWC) و شاخص‌های بیوشیمیایی گیاه بابونه آلمانی انجام گردید.

مواد و روش‌ها

این آزمایش با پنج سطح شوری و با سه تکرار در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد انجام گردید. گلخانه مجهز به سامانه‌های کنترل دما و نور بوده و طول دوره روشنایی ۱۴ ساعت، تاریکی ۱۰ ساعت و دمای ۱۶ الی ۲۲ درجه سانتی‌گراد بر اساس نیاز گیاه (سینگ و همکاران، ۲۰۱۱) تنظیم گردید. به‌دلیل این‌که کنترل دقیق شوری در محیط خاک بسیار دشوار و اغلب ناممکن است، این آزمایش در محیط آبکشت هیدروپونیک انجام شد. در ابتدا، بذر بابونه در محیط پیتماس و با محلول غذایی ۵۰ درصد هوگلندر کشت و پس از رشد گیاهچه، به ظرف‌های مستقل هیدروپونیک منتقل شد. ظرف‌ها با ابعاد ۱۷، ۲۰ و ۱۵ سانتی‌متر (به ترتیب برای ارتفاع، طول و عرض) و دارای گنجایش ۵ لیتر محلول غذایی بود. به‌منظور جلوگیری از ورود نور، ظرف‌های با دیواره مات انتخاب گردید. به‌دلیل کاهش خطا، ۳ تکرار یک تیمار، در داخل یک پلات قرار گرفت. گیاهچه‌ها با استفاده از یک لایه اسفنج به عنوان نگهباننده روی سوراخ‌های تعییه شده، قرار داده شدند. به‌منظور تسهیل هوادهی به درون محلول غذایی از پمپ هوا استفاده شد. جهت تهیه محلول غذایی از فرمول ۵۰ درصد هوگلندر (هوگلندر و آرنون، ۱۹۵۰) استفاده گردید. در طول دوره رشد، محلول‌های غذایی هر دو هفته یک بار تعویض شد. در هر بار تعویض محلول غذایی، تمامی ظروف، سنگ هوا، لوله رابط پمپ هوا تعویض و پس از شستشو با الکل و هوا خشک شدن، مجدداً مورد استفاده قرار می‌گرفت. هدایت الکتریکی سطوح شوری شامل ۲ (شاهد، چون محلول غذایی هوگلندر دارای هدایت الکتریکی حدود ۲ است)، ۴، ۸ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر و با استفاده از نمک کلرور سدیم انجام شد. کنترل و تنظیم EC و pH هر ۲۴ ساعت یک بار انجام گرفت. از آنجایی که با مصرف آب توسط گیاه، شوری محلول غذایی اغلب افزایش می‌یابد، در صورت افزایش هدایت الکتریکی محلول غذایی در طی انجام آزمایش از آب مقطر جهت تنظیم آن

استفاده شد. تیمارها پس از ۱۲۰ روز برداشت گردید و مقدار عملکرد خشک گل با استفاده از ترازوی با دقت دو رقم اعشار اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری محتوای کلروفیل a، b و کل از روش پورا (۲۰۰۲)، برای آنتوسیانین از روش سیمز و گامون (۲۰۰۲) و برای کارتنتوئید از روش لیختن‌تالر و ولبورن (۱۹۸۳) استفاده شد. به این منظور ۵۰۰ میلی‌گرم از هر برگ انتخابی در ۵ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد هموژن گردید و پس از انجام سانتریفیوژ با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه، مایع رویی را برداشته و حجم آن با استن ۸۰ درصد به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳/۶، ۶۴۶/۶، ۶۷۰، ۶۶۳ و ۵۳۷ مشخص و با استفاده از روابط زیر رنگدانه‌های فتوسترنی محاسبه شد.

$$a = \frac{A663.6 - 2/55}{2/25} (A646.6)$$

$$b = \frac{A646.6 - 4/91}{20/31} (A663.6)$$

$$\text{کلروفیل کل} = \frac{17/76}{7/34} (A646.6) + 7/34 (A663.6)$$

$$\text{آنتوسیانین} = \frac{0/08173 - 0/00697}{0/002228} (A663) - (A537)$$

$$\text{کارتنتوئید} = [1000(A470) - 3/27(a) - (کلروفیل b)] / 227$$

در روابط فوق A طول موج جذب اسپکتروفتومتر است.

به منظور اندازه‌گیری محتوای پرولین برگ از روش بیتس (۱۹۷۳) استفاده شد. ابتدا ۵۰۰ میلی‌گرم بافت زنده گیاهی در ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳ درصد اسید سولفوسالیسیلیک در هاون ساییده، سپس مخلوط را با کاغذ صافی تصفیه و ۲ میلی‌لیتر از عصاره حاصله را در لوله آزمایش ریخته و ۲ میلی‌لیتر معرف اسید نین‌هیدرین (حاصل از افزودن ۱/۲۵ گرم نین‌هیدرین به ۳۰ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال) و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال به آن اضافه گردید. در مرحله بعد لوله‌ها به مدت یک ساعت در بن‌ماری و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند، پس از خروج، نمونه‌ها در حمام یخ به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شدند. سپس ۴ میلی‌لیتر تولوئن به محتوای هر لوله اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه به وسیله ورتکس مخلوط شد. لوله‌ها مدتی در دمای اتاق ثابت قرار گرفتند. در این مرحله دو لایه مجزا ایجاد و سرانجام جذب نوری لایه رنگی فوکانی در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از تولوئن

به عنوان تیمار شاهد به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت و مقدار پرولین با استفاده از منحنی استاندارد تعیین گردید.

به منظور اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ (RWC) پس از آنکه برگ‌های تازه وزن شدند، آنها را در دمای ثابت ۳۰ درجه سانتی‌گراد و زیر نور چراغ با شدت روشنایی ۶۰۰ تا ۷۰۰ لوکس در داخل آب قرار داده شدند تا برگ به اندازه نیاز آب جذب نماید و پس از ۴ تا ۶ ساعت به حالت آماس درآید. آنگاه برگ‌های آماس شده را برداشته و با کاغذ صافی خشک نموده و وزن آماس شده برگ اندازه‌گیری شد. پس از توزین، برگ‌ها در دمای ۷۰ درجه آون به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. وزن برگ‌ها پس از خشک شدن نیز اندازه‌گیری و مقدار محتوای نسبی آب برگ از معادله زیر حساب شد (علیزاده، ۱۹۹۹).

$$RWC = \frac{\text{وزن برگ خشک شده} - \text{وزن برگ تازه}}{\text{وزن برگ خشک شده} - \text{وزن برگ آماس شده}} \times 100 \quad \text{معادله (۱)}$$

جهت تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از آزمایش از نرم‌افزارهای SAS و Excel استفاده و مقایسه میانگین‌ها نیز به کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

محتوای نسبی آب برگ: نتایج نشان داد که با افزایش شوری در گیاه بابونه آلمانی محتوای نسبی آب برگ در سطح ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر به میزان ۲۰/۱ درصد در مقایسه با سطح ۲ دسی‌زیمنس بر متر افزایش داشت که از نظر آماری معنی دار ($P \leq 0/01$) می‌باشد (جدول‌های ۱ و ۲). مقایسه میانگین اثر شوری بر محتوای نسبی آب برگ نشان داد که تیمارهای ۱۲ و ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری با تیمارهای ۲ تا ۸ دسی‌زیمنس بر متر دارند (جدول ۲). این مسئله به دلیل سازوکاری است که گیاه برای مقابله با شوری در پیش می‌گیرد. در بابونه آلمانی با افزایش سطح شوری، گیاه املاح اضافی را از طریق غده‌های نمکی موجود در برگ‌ها به خارج از گیاه انتقال می‌دهد که به دلیل برونو ریزی نمک، فشار اسمزی افزایش و متعاقباً محتوای نسبی آب برگ افزایش می‌یابد.

جدول ۱- تجزیه واریانس خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی پابونه‌آلمانی تحت تأثیر شوری

منابع تغییرات	درجه آزادی	آب نسبی برگ	پرولین	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتونید ها	آنتوسینین	وزن گل	وزن تر گل	وزن خشک گل
تکرار	۲	۱۵۱/۹۴	۰/۰۰۴	۰/۰/۰۰	۰/۰/۰۰	۰/۰/۰۰	۲/۰/۹	۱/۱/۲	۰/۱۲	۰/۸۶	۰/۱۲
شوری	۴	۲۶۶/۱۹۰۰	۸/۷۳**	۲۷/۹۸**	۳۱/۸۷**	۱۰۹/۹۴*	۱۰/۴۳**	۱/۴۴ns	۱۱۸/۱۶**	۲/۷۹**	
خطا	۸	۲۷/۲۲	۰/۲	۰/۱۴	۲۰/۸۹	۲۱/۵۴	۷/۳۶	۰۰/۰۰	۱/۲۹	۰/۰۲	
ضریب تغییرات(درصد)	۶/۵۶	۱۶/۲۸	۱/۳۹	۲۴/۵	۱۰/۴۴	۱۳/۷۹	۳۳/۰۶	۱۲/۳۵	۸/۸۶		

*، **، ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵، ۱ درصد و عدم معنی داری.

محتوای نسبی آب برگ شاخص مناسبی برای بیان وضعیت آب در گیاهان بوده و وضعیت فراگیرتری از تعادل بین میزان عرضه آب نسبی برگ و میزان تعرق را نشان می‌دهد (کومار و الستون، ۱۹۹۲؛ ریتچی و همکاران، ۱۹۹۰). چنانچه محتوای نسبی آب برگ بالا باشد گیاه تورم سلولی خود را حفظ کرده و رشد آن تداوم می‌یابد (راو و مندهم، ۱۹۹۱). نتایج نشان داد که بین محتوای نسبی آب برگ با پرولین همبستگی مثبت و معنی داری ($r^2=0.66^{**}$) وجود داشت (جدول ۳).

پرولین: نتایج نشان داد که با افزایش شوری از ۲ به ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر، پرولین در گیاه بابونه‌آلمانی ۷۹/۵ درصد افزایش یافت (جدول ۲). از لحاظ آماری اختلاف معنی داری ($P \leq 0.01$) بین سطوح مختلف شوری وجود داشت (جدول ۱). افزایش سطح پرولین تحت شرایط تنفس شوری به این دلیل است که پرولین اسمولیت سازگاری است که اکسیژن‌های آزاد تولید شده در طول تنفس‌های محیطی را حذف و از مولکول‌های بزرگ حفاظت می‌نماید (راهداری و همکاران، ۲۰۱۲). تجمع پرولین در بسیاری از گیاهان، غیرسمی و به عنوان محافظتی تحت شرایط تنفس شوری می‌باشد. علاوه بر این املاح سازگاری مانند پرولین ظرفیت حفظ فعالیت‌های آنزیمی در شرایط شوری را دارد (اوژترک و همکاران، ۲۰۱۲). تجمع پرولین تحت شرایط تنفس شوری از طریق تعادل قدرت اسمزی سیتوزول با واکوئل و آپوپلاست از سلول محافظت می‌کند. پرولین همچنین باعث پایداری ساختار و عملکرد ماکرومولکول‌های مختلف است. در این آزمایش همبستگی منفی و معنی داری بین مقدار پرولین با وزن خشک گل ($r^2=-0.84^{**}$ ، کلروفیل a ($r^2=-0.9^{**}$) و کلروفیل b ($r^2=-0.67^{**}$) مشاهده شد (جدول ۳). تحت شرایط تنفس گیاه سازوکارهایی از قبیل تجمع مواد محلول مثل پرولین را انتخاب می‌کند که یکی از اولین پاسخ‌های گیاه به تنفس شوری است (راهداری و همکاران، ۲۰۱۲).

پرولین تحت شرایط تنش گونه‌های اکسیژنی فعال (ROS) از جمله رادیکال‌سوپراکسید، اکسیژن آزاد و پراکسیدهیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل می‌توانند در مقادیر زیادی تولید شوند. پراکسیدهیدروژن و رادیکال‌های سوپراکسید نسبتاً غیرواکنشی هستند اما می‌توانند با تشکیل رادیکال‌های هیدروکسیل برای پروتئین، چربی‌ها و DNA خطرناک باشند. تنظیم اسمزی ساز و کاری برای اجتناب از تنش شوری می‌باشد. در بسیاری از گیاهان تجمع پرولین در پاسخ به تنش شوری روی می‌دهد که نقش مهمی در حفاظت در مقابل تنش شوری بازی می‌کند. تجمع املاح سازگار در غلظت‌های بالا در گیاه برای کاهش عدم فعالیت آنزیم‌ها یا ثبات غشاء سلولی ناشی از تنش آب می‌باشد (فرخنده و همکاران، ۲۰۱۲). پرولین نقش کلیدی در برقراری فشار اسمزی، حفاظت غشای سلولی و آنزیم‌های سیتوپلاسمی ناشی از آسیب‌های وارد را دارد که از طریق جذب رادیکال‌های آزاد نقش خود را ایفا می‌نماید (بایبوردی، ۲۰۱۲).

نوری و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که با افزایش شوری، میزان پرولین در ساقه بابونه شیرازی افزایش یافته و بیشترین میزان پرولین در تیمار شوری ۹/۵ دسی‌زیمنس بر متر و کمترین آن در تیمار شاهد مشاهده گردید. بالاترین مقدار پرولین (۳۵ میلی‌گرم بر گرم) در برگ انگور در تیمار ۲۵۰ میلی-مولار سدیم کلراید مشاهده گردید (بایبوردی، ۲۰۱۲). تنش وارد شده به چغندرقند با استفاده از کلرید سدیم منجر به افزایش ۲۲/۹ درصد در پرولین گیاه شد (میرزا معصومزاده و همکاران، ۲۰۱۲). سطح پرولین در برگ‌های خرفه با افزایش سطح شوری به صورت معنی‌داری افزایش یافت که بالاترین مقدار مشاهده شده در سطح پرولین ۲۰۰ میلی‌مولار و کمترین غلظت پرولین در تیمار شاهد بدست آمد (راهداری و همکاران، ۲۰۱۲). در تحقیقی دیگر در جو، مشاهد شد که پرولین به عنوان یک جزء کاهنده‌ی فشار اسمزی در پاسخ به تنش شوری افزایش یافت. همچنین افزایش مقدار پرولین در کتان و گندم همزمان با افزایش سطح شوری گزارش شد. شوری تأثیر معنی‌داری بر محتوای پرولین چغندرقند داشت (فرخنده و همکاران، ۲۰۱۲).

به نظر می‌رسد افزایش سطح پرولین نقش مهمی در حفاظت آنزیم‌های دخیل در سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی، در مقابل تأثیرات مضر ناشی از تنش‌های شوری را دارد (اوژترک و همکاران، ۲۰۱۲). بعضی از محققان استدلال می‌کنند که سطوح بسیار بالایی از تجمع پرولین به احتمال زیاد پاسخی از

1. Reactive Oxygen Species

آسیب به برگ و یا نشانه‌ای از تنفس می‌باشد، زمانی که گیاهان در معرض غلظت بالایی از املاح قرار می‌گیرند. سطوح بالایی از تجمع پروولین مرتبط با گیاهان حساس به نمک می‌باشد. تجمع پروولین در پاسخ به غلظت کم املاح به احتمال زیاد تأثیر مثبتی در تحمل حد مجاز نمک دارد و در حالی که در غلظت‌های بالا در بافت برگ تحت شرایط تیمار شوری ناشی از آسیب به بافت برگ می‌باشد (حیدری و همکاران، ۲۰۱۱). در مطالعه‌ای مقدار پروولین در گیاه نخود فرنگی با افزایش غلظت NaCl افزایش یافت. افزایش در مقدار پروولین تحت شرایط تنفس در گیاهان دیگری از قبیل برنج، گندم، اسفناج، جو، سویا و ذرت نیز مشاهده شده است (اوژترک و همکاران، ۲۰۱۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه دارویی باونه آلمانی تحت تأثیر شوری

شوری	آب نسبی برگ	پروولین	کلروفیل a	کلروفیل b	کارتنوئیدها	آنتوسیانین	وزن ترگل (گرم)	دستی زیمنس بر (درصد)
۲	۷۳/۰۱b	۱/۱۲d	۲۹/۱۹a	۲۲/۲۷a	۵۰/۷۸a	۲۱/۹a	۰/۰۰۹a	۱۸/۸۷a
۴	۷۴/۶۷b	۱/۶۷cd	۲۸/۱b	۱۹/۶۹a	۴۷/۴۱ab	۲۰/۷۷a	۰/۰۰۸a	۱۱/۷۶b
۸	۷۰/۶۶b	۲/۳۱c	۲۸/۵ab	۱۹/۵۶a	۴۷/۱۶ab	۱۹/۴۲a	۰/۰۰۹a	۷/۴۸c
۱۲	۸۷/۹a	۳/۲۸b	۲۳/۶۶c	۱۸/۱۹a	۴۱/۳۱cb	۱۹/۲۷a	۰/۰۰۹a	۵/۹۳c
۱۶	۹۱/۳۶a	۵/۴۷a	۲۲/۵۶d	۱۳/۴۲a	۳۵/۴۷c	۱۶/۹۳a	۰/۰۰۸a	۲/۹۳d

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

در تحقیقی در گیاه آفتابگردان بین تیمارهای نمک برای تجمع پروولین تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. تجمع پروولین در برگ‌ها تحت شرایط تنفس شوری نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری دارد، نتایج نشان داد که مقدار پروولین در خطوط متتحمل به نمک افزایش یافت (حیدری و همکاران، ۲۰۱۱). کلروفیل‌های a و b، کارتنوئیدها و آنتوسیانین: در گیاه باونه آلمانی محتوای کلروفیل a با افزایش شوری تا سطح ۱۶ دستی زیمنس بر متر کاهش (۲۹/۹ درصد) معنی‌داری را ($P \leq 0/01$) نشان داد (جدول ۱). محتوای کلروفیل کل، کلروفیل b، کارتنوئیدها و آنتوسیانین با افزایش شوری تا سطح ۱۶ دستی زیمنس بر متر به ترتیب به میزان ۱/۱، ۳۹/۷، ۳۰/۷ و ۱۱/۱ درصد کاهش معنی‌داری را ($P \leq 0/05$) نشان داد (جدول ۲). همبستگی مثبت و معنی‌داری بین وزن خشک گل با کلروفیل a ($r^2 = 0/77^{**}$) و کلروفیل کل ($r^2 = 0/74^{**}$) مشاهده شد (جدول ۳). به نظر می‌رسد کاهش میزان کلروفیل a و b در اثر

تنش شوری به علت افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن است که باعث پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه این رنگیزه می‌شود (شاتز و فانگمییر، ۲۰۰۱). تحقیقات مختلف در گیاهانی که مقدار کلروفیل با افزایش شوری کاهش می‌یابد، نشان داد که کاهش مقدار کلروفیل به احتمال زیاد ناشی از تأثیر مزمن تجمع یون‌ها در کلروپلاست می‌باشد. شوری از طریق تنش‌های اکسیداتیو باعث تخریب کلروفیل می‌شود. افزایش سطح شوری، از طریق افزایش املاح منجر به کاهش تولید کلروفیل می‌گردد. از آنجایی که گلوتامات ترکیب اولیه پرولین و کلروفیل می‌باشد به نظر می‌رسد که بیشتر به تولید پرولین اختصاص می‌یابد (بایبوردی، ۲۰۱۲) و به همین دلیل مقدار کلروفیل کل کاهش نشان داد. علاوه بر این تنش شوری باعث تحریک آنزیم لیگاز گلوتامات و تبدیل گلوتامات به پرولین می‌شود. دیگر دلیل کاهش کلروفیل، افزایش استفاده از نیتروژن برای سنتز پرولین می‌باشد (بایبوردی، ۲۰۱۲). در تحقیقی دیگر با افزایش تنش خشکی مقدار کلروفیل a و b بابونه کاهش یافت (آرمجو و همکاران، ۲۰۱۰). بایبوردی (۲۰۱۲) گزارش داد که افزایش سطح شوری تأثیر معنی‌داری بر کاهش مقدار کلروفیل a و b برگ انگور داشت که بالاترین مقدار کلروفیل a و b در تیمار شاهد بدست آمد و با افزایش سطح شوری مقدار کلروفیل a و b و کلروفیل a+b به صورت معنی‌داری کاهش یافت. تنش وارد شده به چند رقت نیز با استفاده از کلرید سدیم منجر به کاهش ۲۳/۸ درصد در کلروفیل گیاه شد (میرزا معصومزاده و همکاران، ۲۰۱۲). راهداری و همکاران (۲۰۱۲) نیز بیان داشتند که بالاترین غلظت کلروفیل a مشاهده شده در گیاه خرفه در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و پائین‌ترین مقدار در تیمار شاهد مشاهده شد، در رابطه با کلروفیل b کمترین مقدار مشاهده شده در تیمار شاهد و بالاترین مقدار در تیمار ۲۰۰ میلی‌مولار تنش شوری مشاهده شد.

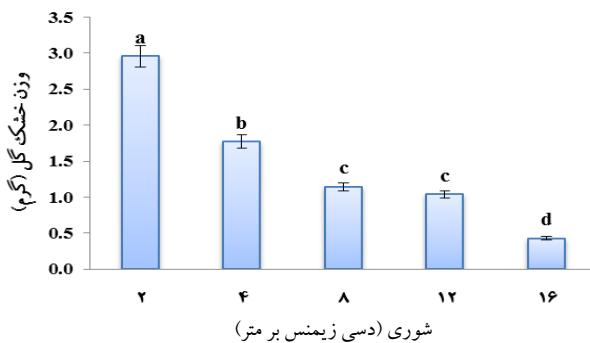
شوری گرچه مقدار کلروفیل را کاهش می‌دهد اما گاهی اوقات نیز انتظار می‌رود باعث افزایش مقدار کلروفیل a و b برگ شود یعنی با افزایش غلظت املاح، مقدار کلروفیل a و b افزایش یابد. دلیل اصلی افزایش مقدار کلروفیل برگ تحت تنش شوری، در نتیجه افزایش کلروپلاست برگ است که برای حفظ فتوسنتز گیاه رخ می‌دهد و از نشانه‌های مقاومت گیاه به استرس‌های محیطی است. افزایش مقدار کلروفیل در شرایط تنش بیان‌کننده مقاوت گیاه در مقابل آسیب‌های نوری کلروپلاست است. در حالی که رابطه مثبتی بین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و سرعت حفظ کلروفیل گزارش شده است (راهداری و همکاران، ۲۰۱۲).

جدول ۳- ضرایب همبستگی پرسون بین صفات مورد مطالعه در گیاه دارویی بابونه آلمانی تحت تأثیر شوری

وزن خشک گل	وزن تر گل	آنتوسیانین	کارتنویدها	کلروفیل کل	کلروفیل b	کلروفیل a	پرولین	رطوبت نسبی برگ	منابع تغییرات
								۱/۰۰	رطوبت نسبی برگ
								۰/۶۶**	پرولین
								-۰/۷۹**	کلروفیل a
								-۰/۳۴ns	کلروفیل b
								-۰/۵۷*	کلروفیل کل
								۰/۳۳ns	کارتنویدها
								۰/۰۲ns	آنتوسیانین
								-۰/۴۶ns	وزن تر گل
								-۰/۴۶ns	وزن خشک گل

* و ** و ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵، ۱ درصد و عدم معنی داری.

وزن تر و خشک گل: وزن تر گل در تیمار شاهد بالاترین مقدار را داشت و با افزایش شوری به مقدار ۸۴/۴۷ درصد کاهش معنی داری را ($P \leq 0/01$) نشان داد (جدول های ۱ و ۲). وزن خشک گل نیز در تیمار شاهد بالاترین مقدار را داشته و با افزایش شوری، به مقدار ۸۵/۴۷ درصد کاهش معنی داری را ($P \leq 0/01$) نشان داد (شکل ۱). مقایسه میانگین اثر شوری بر وزن تر و خشک گل نشان دهنده اختلاف تیمارهای شوری با تیمار شاهد می باشد (جدول ۲). در خاک های سور غلظت سدیم و کلرید در محلول خاک به طور کلی بالاتر و بیشتر از دیگر عناصر است و نه تنها باعث تنش اسمزی و تأثیرات یونی ویژه، بلکه منجر به اختلال در جذب دیگر عناصر و انتقال به اندام های هوایی گیاه و بیماری های تغذیه ای و به تبع آن کاهش عملکرد گیاه می گردد (سید ال اهل و عمر، ۲۰۱۱). از دیگر دلایل کاهش عملکرد گل در بابونه آلمانی همبستگی مثبت و معنی دار بین مقدار کلروفیل a و کلروفیل کل با عملکرد گل می باشد، افزایش سطح تنش تأثیر منفی بر مقدار این دو ترکیب داشت که در نهایت در عملکرد گل منعکس گردید. نوری و همکاران (۲۰۱۳) بیان نمودند که وزن خشک گل بابونه شیرازی به طور معنی داری تحت تأثیر میزان شوری قرار دارد و بیشترین مقدار مربوط به تیمار شاهد بود. قنواتی و سینگل (۲۰۱۰) گزارش دادند که با افزایش غلظت کلرور سدیم عملکرد بابونه کاهش می - یابد، اما افضلی و همکاران (۲۰۰۷) گزارش دادند که وزن خشک بالاتر گل بابونه در تیمار شوری ۴۰ میلی مولار نسبت به شاهد بدست آمد.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر سطح شوری برای وزن خشک گل بابونه آلمانی

نتایج بای بوردی (۲۰۱۲) نشان داد که سطوح شوری تأثیر معنی‌داری بر صفاتی از قبیل ارتفاع گیاه، سطح برگ و وزن تر ساقه دارد. کاهش فتوستز ناشی از تنفس شوری به دلیل هدایت روزنه‌ای پائین، کاهش در جذب کربن و سوخت و ساز، مهار ظرفیت فتوشیمیایی، یا ترکیبی از همه این صفات می‌باشد که در نهایت باعث کاهش عملکرد می‌شود (فرخنده و همکاران، ۲۰۱۲).

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که با افزایش شوری، پرولین در گیاه بابونه آلمانی ۷۹/۵ درصد افزایش معنی‌داری داشت. تجمع ترکیباتی مانند پرولین در شرایط شوری در کوتاه مدت باعث کاهش اثرات تنفس می‌شود و تا حدی شرایط لازم برای ادامه جذب آب از محیط ریشه را برای گیاه فراهم می‌آورد اما در بلند مدت برای گیاه هزینه بر بوده و منجر به کاهش مثبت و معنی‌داری در عملکرد بابونه آلمانی شده است. کاهش محتوای رنگدانه‌های فتوستزی با افزایش شوری نیز نشان‌دهنده حساسیت گیاه به شرایط تنفس شوری می‌باشد. محتوای نسبی آب برگ بالاتر، به معنای توانایی برگ در حفظ مقادیر بیشتری آب در شرایط تنفس و مقاومت بیشتر به خشکی می‌باشد که به نظر می‌رسد صفات محیطی از قبیل نوع کشت (آبکشت یا خاکی) و محیط رشد گیاه (گلخانه یا مزرعه) بر این عامل مؤثر است. به طور کلی تنفس شوری فرآیندهای فیزیولوژیکی و عملکردی را تحت تأثیر قرار داده است. آستانه تحمل شوری بابونه بر اساس عملکرد گل، ۲ دسی‌زیمنس بر متر و بر اساس کل زیست توده خشک (اندام هوایی و ریشه)، ۴ دسی‌زیمنس بر متر و ۵۰ درصد کاهش عملکرد وزن تر و وزن خشک گل به ترتیب در

شوری ۵/۹ و ۵/۸ دسیزیمنس بر متر صورت گرفته است. لذا پیشنهاد می شود برای دستیابی به عملکرد مطلوب، گیاه دارویی باونه تا حدامکان در مناطقی با شوری حدود ۲ و کمتر از ۲ دسیزیمنس بر متر کشت گردد.

منابع

1. Afzali, S.F., Shariatmadari, H., Hajabbasi, M.A. and Moatar, F. 2007. Salinity and drought stress effects on flower yield and Flavonol-O-glycosides in Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). Iranian J. Med. Arom. Plants. 23(3): 382-390.(In Persian).
2. Alizadeh, A. 1999. Soil-water-plant relationship. Fredowsi Univ. Press. p: 279-280. (In Persian).
3. Aratzmo, A., Heidari, M. and Ghanbari, A. 2010. The effect of water stress and three sources of fertilizers on flower yield, physiological parameters and nutrient uptake in chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). Iran. J. Med. Arom. Plants. 25(4):482-494.(In Persian)
4. Azizi, M. 2006. Study of four improved cultivars of *Matricaria chamomilla* L. in climatic condition of Iran. Iranian J. Med. Arom. Plants. 22(4):386-396. (In Persian)
5. Babaee, K., Amini Dehaghi, M., Modares Sanavi, S.A.M. and Jabbari, R. 2010. Water deficit effect on morphology, prolin content and thymol percentage of Thyme (*Thymus vulgaris* L.). Iranian J. Med. Arom. Plants. 26(2): 239-251.
6. Bates, L. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 39: 205-207.
7. Bybordi, A. 2012. Study effect of salinity on some physiologic and morphologic properties of two grape cultivars. Life Sci. J. 9(4):1092-1101.
8. De Araujo, A.M., Silveira, A.G., Almeida, T.D., Rocha, M.A., Morais, D.L. and Viegas, R.A. 2006. Salinity tolerance of halophyte *Atriplex nummularia* L. grown under increasing NaCl levels. Engenharia Agricola e Ambiental. 10: 848-854.
9. Dehshiri, A., Modares Sanavi, M., Rezai, H., and Shirani Rad, A. 2012. Effect of elevated concentration of atmospheric carbon dioxide on some traits of three rapeseed (*Brassica napus* L.) varieties under saline conditions. Seed Plant Prod. J. 28(2): 35-52 (In Persian).
10. Farhoodi, R. and Makizadeh Tafti, M. 2013. Effect of drought stress on growth, yield and essential oil content and Camazulene of three varieties chamomile (*Matricaria recutita*) in Khuzestan. Iranian J. Field Crops Res. 10(4):735-741.
11. Farkhondeh, R., Nabizadeh, E., and Jalilnezhad, N. 2012. Effect of salinity stress on proline content, membrane stability and water relations in two sugar-beet cultivars. Int. J. Agri. Sci. 2(5):385-392.

- 12.Ghanavati, M. and Sengul, S. 2010. Salinity effect on the germination and some chemical components of matricaria spp. Asian J. Chem. 22(2):859-866.
- 13.Ghasemi Pirbalouti, A., Bahrami, M., Golparvar, A.R. and Abdollahi, K. 2011. GIS based land suitability assessment for German chamomile production. Bulgarian J. Agri. Sci. Agri. Acad. 17(1): 93-98.
- 14.Heidari, A., Toorchini, M., Bandehagh, A., and Shakiba, M.R. 2011. Effect of NaCl stress on growth, water relations, organic and inorganic osmolytes accumulation in sunflower (*Helianthus annuus* L.) lines. Uni. J. Environ. Res. Technol. 1:351-362.
- 15.Hoagland, D.R., and Arnon, D.I. 1950. The water-culture method for growing plants without soil. California Agri. Exp. Stat. Cir. 347:1-32.
- 16.Kumar, A. and Elston, J. 1992. Genotypic differences in leaf water relations between *Brassica juncea* and *B. napus*. Ann. Bot. 70: 3-9.
- 17.Lichtenthaler, H.K., and Wellburn, A.R. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochem. Soc. Transac. 11: 591-592.
- 18.Mirza Masoumzadeh, B., Imani, A.A. and Khayamaim, S. 2012. Salinity stress effect on proline and chlorophyll rate in four beet cultivars. Scholars Res. Library. 3(12):5453-5456.
- 19.Navarro, J.M., Garrido, C., Flores, P. and Martínez, V. 2010. The effect of salinity on yield and fruit quality of pepper grown in perlite. Spanish J. Agri. Res. 8(1):142-150.
- 20.Nouri, K., Omidi, H., Naghdi badi, H.A., Torabi, H. and Fotokian, M.H. 2013. Effects of soil and water salinity on flower yield, soluble compounds, content of saline elements and essential oil quality of German chamomile (Shirazian Babooneh, *Matricaria recutita* L.). J. Water Res. Agri. 26(4): 367-379
- 21.Ozturk, L., Demir, Y., Unlukara, A., Karatas, I., Kurunc, A. and Duzdemir, O. 2012. Effects of long-term salt stress on antioxidant system, chlorophyll and proline contents in pea leaves. Romanian Biotechnol. Let. 17(3):7227-7236.
- 22.Parida, A.K., Das, A.B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicol. Environ. Safety. 60: 324–349.
- 23.Porra, R.J. 2002. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. Photosynthesis Res. 73:149-156.
- 24.Rahdari, P., Tavakoli, S. and Hosseini, S. M. 2012. Studying of salinity stress effect on germination, proline, sugar, protein, lipid and chlorophyll content in Purslane (*Portulaca oleracea* L.) Leaves. J. Stress Physiol. Biochem. 8(1): 182-193.
- 25.Rao, M.S.S., and Mendham, N.J. 1991. Soil-plant-water relations of oilseed rape (*Brassica napus* and *B. campestris*). J. Agri. Sci. 117: 197-205.

- 26.Ritchie, S.W., Nyvgen, H.I., and Halady, A.S. 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Sci.* 30: 105-111.
- 27.Said-Al Ahl, H.A.H., and Omer, E.A. 2011. Medicinal and aromatic plants production under salt stress. A review. *Herba Polonica*. 57(2): 72-87.
- 28.Sarani, S., Heidari, M., Glavi, M. and Siahsar, B.A. 2013. Effects of salinity and iron on growth, photosynthetic pigments and electrophoresis bands in two genus chamomile (*Matricaria chamomilla* L. and *Anthemis nobilis* L.). *Iranian J. Med. Arom. Plants*. 29(4): 732-746. (In Persian)
- 29.Schütz M., and Fangmeier A. 2001. Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv Minaret) to elevated CO₂ and water limitation. *Environ. Pollution*. 114:187-194.
- 30.Sims, D.A., and Gamon, J.A. 2002. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. *Remote Sens. Environ.* 81: 337-354.
- 31.Singh, O., Khanam, Z., Misra, N. and Srivastava, M.K. 2011. Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): An overview. *Pharm. Re.* 5(9):82-95.



Gorgan University of Agricultural
Sciences and Natural Resources

J. Plant Prod. Res. Vol. 22 (1), 2015
<http://jopp.gau.ac.ir>

Salinity effect on proline, photosynthetic pigments and leaf relative water content of chamomile (*Matricaria chamomilla L.*) in hydroponic condition

L. Lotfollahi¹, *H. Torabi² and H. Omidi³

¹M.Sc. Student, Dept. of Soil Science, Faculty of Agricultural Science, Shahed University,

²Associate Prof., Department of Soil Science, Faculty of Agricultural Sciences, Shahed

University, ³Assistant Prof., Dept. of Agronomy, Faculty of Agricultural Science, Shahed
University, Tehran, Iran

Accepted: 14-3-2014 ; Received: 18-8-2014

Abstract

Considering the extent of salinity in soils of Iran, abiotic stresses such as salinity are serious threat to agricultural production, yield and essential oil of medicinal plants. Recognition of threshold for salt tolerance and determining the slope of yield loss in medicinal plants has an important role in the selection of suitable lands for their cultivation. The effect of salinity stress on soluble compound, relative water content (RWC) and biochemical indices were investigated in German chamomile (*Matricaria chamomilla L.*). This study was conducted in a randomized complete blocks design with three replications. Because the control salinity levels in the soil, during the experimental period was difficult, the hydroponic culture was used to do this research. Electrical conductivity (EC) levels were included: 2 (control, 50% of Hoagland solution), 4, 8, 12 and 16 dS.m⁻¹ by NaCl salt. The results showed that with increasing salinity, chlorophyll a content was 29.9% and significantly decreased ($P \leq 0.01$). With increasing salinity chlorophyll b, carotenoids and anthocyanin decreased 39.7, 22.7, 11.1 percent respectively, and were significant ($P \leq 0.05$). Proline content measurement showed significantly increased (79.5%) with increasing salinity. Leaf relative water content (RWC) also significantly increased (20.1%) with increasing salinity ($P \leq 0.01$). In general, the salinity stress was effective on physiological processes of chamomile and optimal yield was obtained in salinity 2 dS.m⁻¹.

Keywords: Anthocyanin, Carotenoids, Leaf Relative Water Content, Proline.

*Corresponding author; htorabi@shahed.ac.ir