Archive of SID

Journal of Horticultural Science
Vol. 26, No. 2, Summer 2012, P. 153-161
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۶، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۱، ص. ۱۶۱-۱۵۳
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

اثر کاربرد خارجی پراکسید هیدروژن بر برخی از شاخص‌های تحمل به شوری مرزنجوش (*Origanum majorana* L.)

مرتضی گلدانی[۱]- یحیی سلاح ورزی[۲*]- جعفر نباتی[۳]- مرتضی علیرضایی نغندر[۴]

تاریخ دریافت:۸۹/۸/۴
تاریخ پذیرش:۹۰/۱۲/۹

چکیده

تنش شوری از جمله عوامل محدود کننده رشد می‌باشد و تنش اکسیداتیو به عنوان یک تنش ثانویه در نتیجه تنش شوری بوجود می‌آید. مرزنجوش از مهمترین گیاهان دارویی به شمار می رود که امکان تولید و گسترش آن در ایران به خوبی مهیاست. به منظور بررسی اثر پراکسید هیدروژن بر کاهش صدمات ناشی از تنش شوری در گیاه مرزنجوش، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل سه غلظت مختلف از پراکسید هیدروژن به صورت محلول پاشی (صفر، ۲/۵ و ۵ میلی مولار) و چهار سطح نمک NaCl (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار) بودند. نتایج نشان داد که محلول پاشی پراکسید هیدروژن می‌تواند وزن خشک ریشه و شاخساره در مرزنجوش را افزایش دهد و از این طریق کاهش وزن ناشی از تنش شوری را جبران نماید. از سوی دیگر با افزایش غلظت پراکسید هیدروژن تا ۵ میلی مولار بر محتوای کلروفیل کل و کاروتنوییدهای برگ گیاه مرزنجوش به ترتیب برابر ۴۶/۸ و ۱۰۰/۶ درصد در مقایسه با شاهد افزوده شد. تنش شوری در این آزمایش بر محتوای درونی پراکسید هیدروژن تاثیر معنی داری نداشت ولی باعث افزایش اسید آمینه پرولین و کاهش نسبت پتاسیم به سدیم در برگ گیاه مرزنجوش گردید. این در صورتی است که غلظت بالای پراکسید هیدروژن (۵ mM) توانست غلظت درون سلولی آن، محتوای پرولین و نسبت پتاسیم به سدیم را به ترتیب برابر ۱۰۴/۶، ۳۲۰/۷ و ۷۷/۶ درصد در مقایسه با شاهد افزایش دهد. به طور کلی نتایج نشان می‌دهد که با استفاده از محلول پاشی پراکسید هیدروژن تنش اکسیداتیو حاصل از تنش شوری کاهش می‌یابد.

واژه های کلیدی: اکسیژن فعال، پرولین، تنش شوری، کلروفیل، محلول پاشی

مقدمه

تنش شوری یکی از مهمترین عوامل محدود کننده رشد و گسترش گیاهان غیر هالوفیت است. بسیاری از این گیاهان، سطوح بالای شوری را نمی‌توانند تحمل کنند و به سرعت از بین می‌روند. از طرفی، شوری در اثر برخی از عملیات‌های کشاورزی، همچون آبیاری و کوددهی نامناسب به سرعت در حال افزایش می‌باشد (۳۹). حدود ۲۰ درصد سطح کل زمین‌های مورد کشت دنیا و تقریبا نیمی از اراضی تحت آبیاری آن با مشکل شوری روبرو می‌باشند (۹). اثرات زیان‌آور شوری در گیاهان ممکن است به سمیت یونی (خصوصا Na^+ و Cl^-) و یا تنش اسمزی ناشی از آن مربوط باشد (۴۴) که خود می‌توانند عدم تعادل عناصر غذایی، تغییر در متابولیسم سلولی و نهایتا کاهش در رشد و عملکرد گیاهان را بوجود آورند (۳۱).

تنش اکسیداتیو یک تنش ثانویه است که در نتیجه تنش شوری بوجود آمده و می‌تواند منجر به تشکیل گونه های اکسیژن فعال[۵] از جمله پراکسید هیدروژن[۶] گردد. این اکسیژن های فعال می‌توانند خساراتی را به لیپیدهای غشاء پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک وارد سازند (۲۷). شواهد متعددی از فعالیت بیولوژیکی انواع اکسیژن فعال و به خصوص H_2O_2 وجود دارد. پراکسید هیدروژن در گیاهان، می‌تواند نقشی دوگانه داشته باشد به طوری که این ترکیب در غلظت‌های

۱و۳- استادیار و دانش آموخته دکتری گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۲- مربی پژوهشی مرکز تحقیقات انار، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: (Email: Selahvarzi@um.ac.ir
۴- دانشجوی دکتری گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

5- Reactive Oxygen Species (ROS)
6- H_2O_2

www.SID.ir

Archive of SID

پایین به عنوان یک پیام حد واسط جهت تولید سالسیلیک اسید و اتیلن عمل می‌نماید که سبب تطابق بیشتر با شرایط تنش‌زا می‌شود (۱۵ و ۱۶). اما H_2O_2 در غلظت‌های بالا تخریب بافت و نهایتا مرگ گیاه را به دنبال دارد (۳۹). شواهد موجود نشان می دهد که H_2O_2 به صورت مستقیم در بیان بسیاری از ژنها دخالت داشته و بدین ترتیب سبب بروز پاسخ‌های دفاعی فوق‌حساسیت (۲۰) و یا فعالیت بیشتر سیستم آنتی‌اکسیدانی (۱۶) گیاهان در شرایط تنش‌های محیطی می‌شود. تحت شرایط تنش شوری، اکسید نیتریک و پراکسید هیدروژن به عنوان مولکولهای پیام‌رسان باعث برقراری تعادل یونی در سلولهای گیاه شده و باعث مقاومت گیاه به تنش شوری می‌شوند. این مولکولها نسبت K به Na را در کالوس‌های *Populus euphratica* تنظیم و از این طریق باعث اجتناب گیاه از تنش شوری شدند (۴۳). اسپری پراکسید هیدروژن با غلظت ۵ میلی مولار از طریق افزایش مجموعه‌ای از آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، باعث محافظت گیاه تنباکو از تنش‌های اکسیداتیو شد (۱۲). فدینا و همکاران (۱۰) بیان داشتند که پیش تیمار گیاهچه‌های جو با غلظتهای ۱ و ۵ µM پراکسید هیدروژن، باعث مقاومت به تنش شوری می‌شود. باتور و همکاران (۶) تاثیر سطوح مختلف شوری را بر رشد، مواد معدنی و عملکرد اسانس مرزنجوش بررسی کرده و نتیجه گرفتند که تنها شوری بالا (۱۵۰ میلی مولار) توانست رشدونمو و محتوای آب اندام های هوایی مرزنجوش را تحت تاثیر قرار دهد. آنها همچنین نشان دادند که در شوری کم (۵۰ mM)، نمک در ریشه‌های مرزنجوش تجمع می یابد درصورتی که در شوری ۱۵۰ میلی مولار، تجمع نمک در برگ های مرزنجوش شکل می گیرد. سلاح ورزی و همکاران (۱) نیز نشان دادند که محلول پاشی آسکوربیک اسید می تواند ضمن افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنولیک، تحمل به شوری را در گیاهان مرزنجوش افزایش دهد.

مرزنجوش (*Origanum majorana* L.) یکی از مهمترین گیاهان خانواده نعناییان[1] است. براساس گزارشات انجام شده جنس مرزنجوش یکی از گیاهان مهم به دلیل محتوای ترکیبات شیمیایی آن می‌باشد (۲). به دلیل وجود ترکیبات ویژه و روغن‌های فرار در برگ‌های آن، مرزنجوش به صورت گسترده در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳۰). گزارشات متعددی وجود دارد که نشان می‌دهد کیفیت و به ویژه ترکیبات این گیاه در اثر تنش‌های محیطی تغییر می‌یابد (۲ و ۳). پژوهش حاضر به منظور بررسی کاربرد برون‌زای پراکسید هیدروژن بر خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مرزنجوش تحت شرایط شوری انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۸۹، به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار انجام پذیرفت. تیمارهای آزمایش شامل سه غلظت مختلف از پراکسید هیدروژن به صورت محلول پاشی (صفر، ۲/۵ و ۵ میلی مولار) و چهار سطح نمک NaCl (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار) بودند. در ابتدا بذرهای مرزنجوش که از پژوهشکده گیاهان دارویی شهید بهشتی تهیه شده بودند، جهت جوانه‌زنی و سبز شدن بهتر در سینی‌های مخصوص نشاء مورد کشت قرار گرفتند. در مرحله بعد و پس از رشد ابتدایی (مرحله ۴ برگی)، یک گیاهچه سالم به هر یک از گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۱۵ سانتی‌متر، ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر و گنجایش ۲ کیلوگرم خاک، منتقل شد. خاک گلدان‌ها از ترکیب یکسان خاک زراعی[2]، ماسه و خاکبرگ تشکیل شد. گلدان‌ها در گلخانه در شرایط ۱۶ ساعت روشنایی (دمای ۲۷ -۲۵ درجه سانتی گراد) و ۸ ساعت تاریکی (۱۷ – ۱۵ درجه سانتی‌گراد) و رطوبت نسبی ۷۰-۶۵ درصد نگهداری شدند. بنابراین گیاهان طی دوره استقرار به مدت ۷۵ روز تحت شرایط بهینه و بدون اعمال تنش شوری رشد کردند.

گیاهچه‌های مرزنجوش پس از دوره استقرار و تا پایان آزمایش تحت شرایط مختلف شوری قرار گرفتند. آبیاری با آب شور، به فاصله زمانی هر دو روز یکبار به گونه‌ای انجام می‌پذیرفت که محتوای آب گلدان‌ها در زمان آبیاری، حداقل برابر ۸۰ درصد ظرفیت زراعی باشد. بر این اساس، در ابتدا محتوای رطوبتی خاک مورد مطالعه در شرایط ظرفیت زراعی اندازه گیری شد (FC=٪۲۸). سپس بوسیله وزن کردن روزانه تمامی گلدان ها در ساعت ۹ صبح، وضعیت رطوبتی آنها مشخص گردید و بدین ترتیب نقصان رطوبتی گلدان ها (۸۰ درصد ظرفیت زراعی) با اضافه نمودن مقدار آب لازم به صورت روزانه جبران شد. محلول پاشی پراکسید هیدروژن (H_2O_2: 30%, Merck) با غلظت‌های ۲/۵ و ۵ میلی مولار از یک هفته قبل از اعمال تنش شوری آغاز و با فواصل زمانی هر ۷ روز یکبار تکرار شد. در هر بار محلول پاشی ۷۵ میلی لیتر محلول، از غلظت های مختلف H_2O_2 برای هر گلدان در نظر گرفته شد. گیاهان شاهد (صفر میلی گرم بر لیتر پراکسید هیدروژن) تنها بوسیله آب مقطر محلول‌پاشی شدند. چهار هفته پس از اعمال تنش شوری و همزمان با ظهور گل‌آذین در گیاهان شاهد، صفات ذیل مورد ارزیابی قرار گرفت.

نمونه برداری و اندازه گیری صفات

اندازه‌گیری کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئیدها با استفاده از روش در و همکاران (۸)، انجام و براساس روابط زیر محاسبه گردید. بدین منظور ابتدا با استفاده از استون، عصاره گیری انجام و نهایتا میزان

1- Lamiaceae

۲- خاک طبیعی حاصل از ۳۰ سانتی متری سطح زمین زراعی

www.SID.ir

Archive of SID

جذب نور در طول موج های ۴۷۰، ۶۶۳ و ۶۶۶ قرائت شد.

$CHL_a = 15.65A_{666} - 7.340A_{653}$
$CHL_b = 27.05\ A_{653} - 11.21\ A_{666}$
$C_{x+c} = 1000\ A_{470} - 2.860\ C_a - 129.2\ C_b/245$
$CHL_t = CHL_a + CHL_b + C_{x+c}$

در این روابط CHL_a : میزان کلروفیل a؛ CHL_b : میزان کلروفیل b؛ C_{x+c} : میزان کاروتنوئیدهای کل و CHL_t : کلروفیل کل را نشان می‌دهند.

به منظور اندازه‌گیری پرولین، ۰/۱ گرم برگ خشک شده را در هاون چینی همراه با ۱۰ میلی لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳/۳ ٪ ابتدا به خوبی سائیده وسپس باعبور دادن از صافی، عصاره حاصل را در لوله آزمایش ریخته و درمخلوط آب و یخ نگهداری گردید. در مرحله بعد ۲ میلی لیتر از معرف ناین هیدرین (۱/۲۵ گرم ناین هیدرین + ۲۰ میلی لیتر اسید فسفریک ۶ مولار +۳۰ میلی لیتر اسید استیک خالص) و ۲ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال (خالص) به هر یک از لوله های محتوی عصاره و یا استاندارد افزوده شد. سپس میزان جذب نور در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Jenway Model, 6305)، قرائت شد. نهایتا با استفاده از رسم منحنی استاندارد، محتوای پرولین نمونه های برگی مورد محاسبه قرار گرفت (۵).

جهت اندازه گیری مقادیر سدیم و پتاسیم، ابتدا نمونه های برگی در دمای ۱۰۳ درجه سانتیگراد، به مدت ۲۴ ساعت خشک شده سپس با استفاده از اسید نیتریک خالص هضم تر نمونه ها صورت پذیرفت. در مرحله بعدبا کمک دستگاه فلیم فتومتر و رسم منحنی استاندارد، مقادیر سدیم و پتاسیم تعیین شد (۱۱). جهت خشک نمودن ریشه و اندام هوایی از آون با دمای ۷۵ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت استفاده شد. وزن خشک ریشه و بخش هوایی با استفاده از ترازو با دقت ۰/۰۰۱ تعیین گردید. نهایتا جهت سنجش محتوای درون سلولی مولکول های پراکسید هیدروژن در این آزمایش، از روش سرگیو و همکاران (۳۲) استفاده شد.

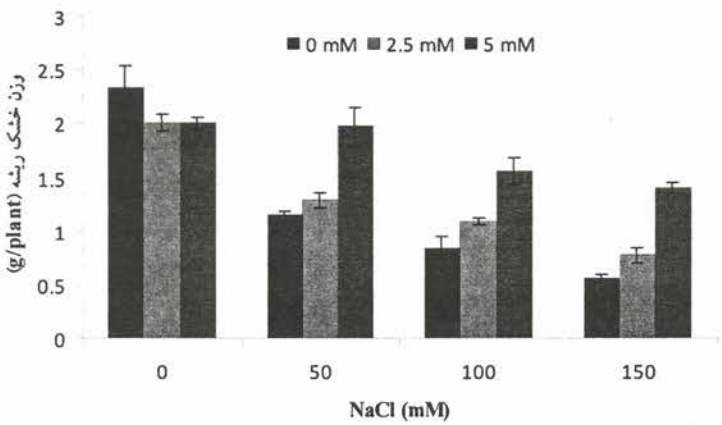
تجزیه آماری

تجزیه آماری داده ها با استفاده از نرم افزارهای MSTAT-C و JMP_4 صورت گرفت. برای رسم نمودارها از نرم افزار EXCEL استفاده شد. میانگین داده ها نیز با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

وزن خشک اندام هوایی و ریشه

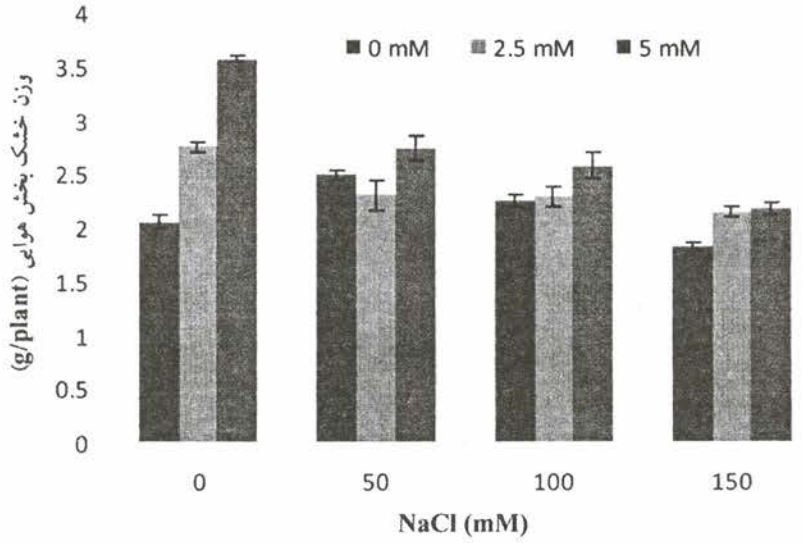
تجزیه واریانس مربوط به وزن خشک ریشه و بخش هوایی نشان داد که بین غلظت های متفاوت کاربرد پراکسید هیدروژن و همچنین سطوح مختلف شوری اختلاف معنی دار وجود دارد (جدول ۱). از سوی دیگر برهمکنش شوری و پراکسید هیدروژن نیز بر مقادیر وزن خشک ریشه و بخش هوایی معنی دار بود ($p<0/01$). با افزایش غلظت کاربرد H_2O_2 به تدریج بر وزن خشک گیاه (ریشه و بخش هوایی) افزوده شد. ولی با اعمال تنش شوری به سرعت از مقادیر این صفات کاسته شد. بدین ترتیب شدیدترین تیمار شوری (۱۵۰ mM)، وزن خشک ریشه و بخش هوایی را در مقایسه با شاهد به ترتیب برابر ۶۱/۹ و ۲۵/۹ درصد کاهش داد (جدول ۱). وزن خشک ریشه در گیاهانی که با آب مقطر محلول‌پاشی شدند (بدون پراکسید هیدروژن) تحت شرایط شوری بالا (۱۵۰ mM) به سرعت و برابر ۷۸/۲ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. حال آنکه با کاربرد ۵ میلی مولار پراکسید هیدروژن در همین سطح از شوری، وزن خشک ریشه تقریبا سه برابر گیاهان شاهد (بدون کاربرد پراکسید هیدروژن) بود (شکل۱). بالاترین مقادیر وزن خشک اندام هوایی نیز این در تیمار ۵ میلی مولار پراکسید هیدروژن و تحت شرایط بدون شوری بدست آمد (شکل ۲).



شکل۱- تاثیر غلظت های متفاوت پراکسید هیدروژن و سطوح مختلف شوری بر وزن خشک ریشه مرزنجوش.
بارها نشاندهنده خطای استاندارد (±SE) می باشند.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل۲- تاثیر غلظت های متفاوت پراکسید هیدروژن و سطوح مختلف شوری بر وزن خشک اندام هوایی مرزنجوش.

بارها نشاندهنده خطای استاندارد (±SE) می باشند

عمده ترین علل کاهش وزن گیاهان در اثر تنش به کاهش در فشار آماس سلولی، رشد سلولی، کاهش هدایت روزنه‌ای و میزان فتوسنتز نسبت داده می‌شود (۲۸). علی و همکاران (۳) نشان دادند که با افزایش غلظت نمک تا ۱۵۰میلی مولار به شدت از وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه مرزنجوش کاسته می‌شود، در صورتی که تحت همین شرایط تنش، بر وزن گیاه بابونه افزوده شد. آنها همچنین گزارش کردند که کاربرد برگی پلی آمین‌ها (پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین) می‌تواند وزن خشک ناشی از تنش شوری را در اندام هوایی جبران نماید. حامد و همکاران (۱۳) نیز بیان داشتند که همزمان با کاربرد H_2O_2، وزن خشک ریشه‌ها افزایش می‌یابد. اصولا رشد گیاهان تحت تنش‌های مختلف محیطی در اثر غلظت‌های پایین پراکسید هیدروژن، افزایش می‌یابد (۲۱). این افزایش رشد می‌تواند در اثر کاهش سطح آبسیزیک اسید (۲۱) و یا تولید بیشتر ریشه‌های ثانویه (۲۶) باشد. چنانکه در شکل ۱- الف دیده می شود وزن خشک بخش هوایی گیاهان مرزنجوش تحت شرایط شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار اندکی افزایش یافته است. باتور و همکاران (۶) نیز در نتیجه اعمال شوری های مختلف بر گیاه مرزنجوش نشان دادند که غلظت کم نمک (۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار) نمی تواند تاثیر معنی داری بر وزن خشک بخش هوایی گیاه داشته باشد. به نظر می رسد تجمع نمک ها در ریشه مرزنجوش تحت شرایط شوری کم (۶) می تواند رشد ریشه را محدود و رشد بخش هوایی را افزایش دهد. این درصورتی است که در شرایط شوری بالا تجمع نمک در بخش های هوایی گیاه نیز صورت می پذیرد.

رنگدانه‌های فتوسنتزی

تجزیه آماری مربوط به داده‌های فتوسنتزی برگ گیاه مرزنجوش شامل کلروفیل a، b، کاروتنویید‌ها و نهایتا کلروفیل کل نشان داد که اثر محلول‌پاشی پراکسید هیدروژن در مورد کاروتنویید‌ها ($p<0/01$) و کلروفیل کل ($p<0/05$) معنی‌دار بود (جدول ۱). همچنین تیمارهای شوری مورد استفاده در این آزمایش از نظر کلروفیل a، b و کل در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌داری را نشان دادند (جدول ۱). با افزایش کاربرد برگی پراکسید هیدروژن بر محتوای رنگدانه‌های گیاه افزوده شد، به گونه‌ای که در غلظت ۵ میلی مولار، محتوای کلروفیل کل و کاروتنویید‌های برگ گیاه مرزنجوش به ترتیب با ۴۶/۸ و ۱۰۰/۶ درصد افزایش نسبت به شاهد به بالاترین مقدار خود رسیدند. از سوی دیگر تنش شوری کم (۵۰ mM) باعث افزایش محتوای کلروفیل a، b و کل گردید ولی پس از آن و با افزایش غلظت نمک در تیمارهای ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار به سرعت از مقادیر این صفات کاسته شد.

مطابق با نتایج پژوهش حاضر افراد متعددی گزارش نموده اند که تیمار پراکسید هیدروژن، گیاهان را در برابر بسیاری از تنش ها محافظت می نماید (۱۲، ۲۴ و ۴۱). اگرچه سازوکار دقیق نقش محافظتی غلظت های پایین پراکسید هیدروژن هنوز به خوبی روشن نشده است، اما مشخص گردیده است که پیش تیمار پراکسید هیدروژن سبب جلوگیری از کاهش فتوسنتز و محتوای کلروفیل گیاهانی شده است که با علف کش پاراکوآت تیمار شده اند (۲۴). در مقابل و مخالف با نتایج به دست آمده در این آزمایش، گزارشاتی مبنی بر کاهش محتوای کلروفیل و کاروتنویید های گیاهان، در اثر تیمار با H_2O_2 ارایه شده است (۱۸، ۲۳ و ۳۷). به نظر می رسد تفاوت در

www.SID.ir

Archive of SID

غلظت، زمان و روش استفاده از H_2O_2 می تواند دلیل اصلی نتایج متناقض فوق باشد.

پاریدا و داس (۲۹) بیان کردند که محتوای کلروفیل و کاروتنوییدهای گیاهان، تحت شرایط شوری کاهش پیدا می‌کند. بدین ترتیب برگ ها در اثر شوری ابتدا دچار کلروز شده و سپس شروع به ریزش می کنند. کاهش در رنگدانه های فتوسنتزی گیاهان تحت شرایط شوری عموما در اثر جلوگیری از بیوسنتز و یا تجزیه آنها صورت می پذیرد (۱۹). در واقع تنش شوری منجر به افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کلروپلاست‌ها شده و در نتیجه غشا کلروپلاستی صدمه دیده و قابلیت حیاتی خود را از دست می‌دهد (۴۲). از سوی دیگر کاهش در محتوای کلروفیل ممکن است در اثر افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و یا اثر مستقیم سمیت یونی ناشی از غلظت بالای Na نیز بوجود آید (۴۳).

پرولین

اثرات اصلی شوری و پراکسید هیدروژن و همچنین اثر متقابل آنها بر محتوای پرولین برگ گیاه مرزنجوش معنی‌دار بود (جدول ۱). بر این اساس با افزایش غلظت نمک و پراکسید هیدروژن، پرولین گیاه نیز افزایش یافت (جدول ۱). بدین ترتیب بیشترین مقادیر این صفت در تیمار بالاترین سطح پراکسید هیدروژن و شدیدترین تیمار شوری (H_2O_2: ۵ mM و NaCl: ۱۵۰ mM) بدست آمد (شکل ۳).

پرولین به عنوان یک ماده محافظت کننده غیر سمی، جهت تنظیم اسمزی در شرایط شوری و سایر تنش‌های محیطی مطرح است (۷). همچنین پرولین تجمع یافته در گیاهان، باعث افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی و خنثی سازی رادیکال های آزاد هیدروکسیل می‌گردد (۳۳). در این تحقیق نیز چنانکه گفته شد با افزایش غلظت نمک بر میزان پرولین برگ ها افزوده گردید. اما از سوی دیگر محلول پاشی برگی پراکسید هیدروژن، سبب افزایش این اسید آمینه در گیاه مرزنجوش شد. هی و همکاران (۱۴) نیز مطابق با این نتایج نشان دادند که محتوای پرولین آزاد گندم در اثر پیش تیمار بذور آن با H_2O_2 به سرعت افزایش می یابد. در واقع تجمع پرولین در اثر کاربرد پراکسید هیدروژن می تواند به علت کارایی آن در خنثی کردن رادیکال های آزاد هیدروکسیل باشد (۳۷).

محتوای درونی پراکسید هیدروژن

کاربرد خارجی پراکسید هیدروژن بر مقادیر درون سلولی این ماده (H_2O_2) تاثیر معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). به طوری که محلول‌پاشی برگی با پراکسید هیدروژن در غلظت های ۲/۵ و ۵ میلی مولار، باعث افزایش ۴۶/۸ و ۱۰۴/۶ درصدی مولکول های H_2O_2 در سلول های برگی گیاه مرز نجوش در مقایسه با شاهد شدند (جدول ۱).

جدول ۱- تاثیر غلظت های متفاوت پراکسید هیدروژن و سطوح مختلف شوری بر برخی ویژگی های مرزنجوش

تیمار	S_{Dw}[1] (g/plant)	R_{Dw} (g/plant)	CHL. a (mg/gfw)	CHL. b (mg/gfw)	X+C (mg/gfw)	CHL. t (mg/gfw)	PRO. µmol/gfw	H_2O_2 mmol/gfw	K:Na ratio
شوری (mM)									
۰ (شاهد)	۲/۷۸ a[2]	۲/۱۱ a	۰/۹۷ a	۰/۵ a	۰/۲۴ab	۱/۷۲ a	۰/۱۲ d	۶/۰۶ a	۱۳/۹ a
۵۰	۲/۴۷ a	۱/۴۰ b	۱/۲۱ a	۰/۶۶ a	۰/۲۷a	۲/۱۵ a	۰/۲۴ C	۵/۰۱ b	۹/۶ b
۱۰۰	۲/۳ ab	۱/۱۶ c	۰/۶۱ a	۰/۳۴ a	۰/۲۰b	۱/۱۶ b	۰/۵۰ b	۴/۶۴ c	۸/۸ b
۱۵۰	۲/۰۲ b	۰/۸۴ d	۰/۶۴ a	۰/۳ a	۰/۱۶c	۱/۰۴ b	۱/۵۴ A	۲/۶۱ d	۶۸ c
H_2O_2 (mM)									
۰ (شاهد)	۲/۱۴ b	۱/۲۲ b	۰/۶۹ c	۰/۴۴ b	۰/۱۴ a	۱/۲۸ c	۰/۱۸ C	۳/۲۰ b	۶/۷ c
۲/۵	۲/۳۶ b	۱/۲۸ b	۰/۸۸ b	۰/۴۸ b	۰/۲۶ a	۱/۶۳ b	۰/۵۵ b	۴/۷۳ b	۸/۳ b
۵	۲/۸۱ a	۱/۷۴ a	۱/۰۸ a	۰/۵۴ a	۰/۲۹ a	۱/۸۸ a	۰/۷۷ A	۶/۶۴ a	۱۱/۹ a
شوری	**[3]	**	ns	ns	**	*	**	*	**
H_2O_2	**	**	**	**	ns	**	**	*	**
شوری * H_2O_2	*	**	ns	ns	ns	ns	**	ns	**

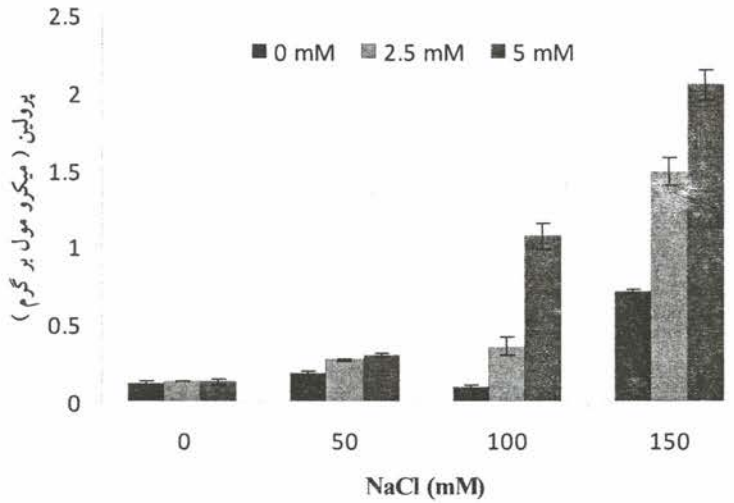
۱- S_{Dw}، R_{Dw}، CHLa، CHLb، X+C، CHL t، PRO.، H_2O_2 و K:Na به ترتیب نشانگر وزن خشک بخش هوایی، وزن خشک ریشه، کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوییدها، کلروفیل کل، پرولین، محتوای درون سلولی پراکسید هیدروژن و نسبت پتاسیم به سدیم است.

۲- میانگین هایی که در هر ستون و برای هر عامل، مشترک می باشند، بر اساس آزمون *LSD* ($p<۰/۰۵$)، معنی دار نیستند.

۳- * و **: به ترتیب نشانگر معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و ns بیانگر عدم اختلاف معنی دار می باشد.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل۳- تاثیر غلظت های متفاوت پراکسید هیدروژن و سطوح مختلف شوری بر محتوای پرولین برگ مرزنجوش.

بارها نشاندهنده خطای استاندارد (±SE) می باشند.

مطابق با نتایج این پژوهش، هو و همکاران (۱۶) نیز گزارش کردند که همزمان با کاربرد H_2O_2 بر مقادیر درون زای این مولکول در سلول های برگی افزوده می گردد. از سوی دیگر نشان داده شده است که محتوای درونی H_2O_2 در گندم در اثر افزایش غلظت پراکسید هیدروژن تا ۱۲۰ میکرو مولار تحت شرایط شوری (۱۵۰ میلی مولار)، کاهش می یابد (۴۰). به نظر می رسد که این مورد به دلیل فعال شدن سیستم آنتی اکسیدانی گیاه و در نتیجه کاهش سطح درون سلولی H_2O_2 به عنوان یک مولکول اکسید کننده باشد. در واقع پراکسید هیدروژن که خود به عنوان یک اکسید کننده (اکسیدان) شناخته می شود، می تواند در غلظت های پایین سیستم آنتی اکسیدانی گیاه را تحریک کرده و سبب تولید ترکیبات و یا آنزیم های آنتی اکسیدانی و در نتیجه افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه شود (۳۶).

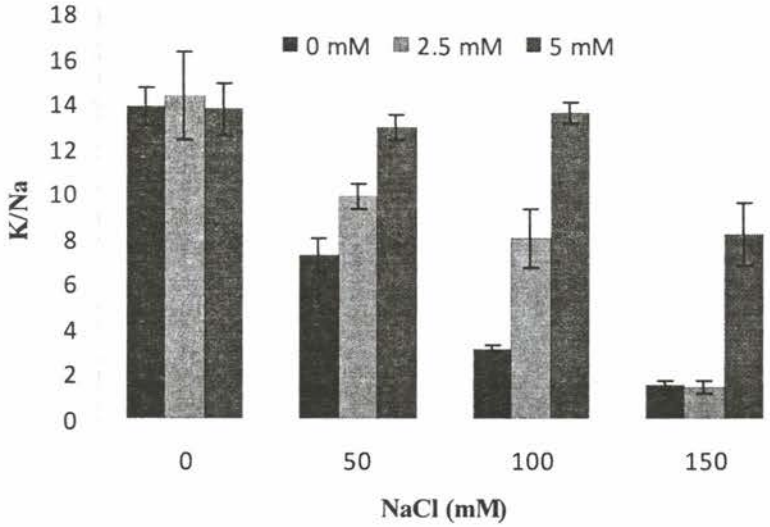
نسبت پتاسیم به سدیم

بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش در مورد نسبت K/Na مشخص گردید که اختلاف بین سطوح پراکسید هیدروژن، اثر شوری و همچنین اثر متقابل شوری و پراکسید هیدروژن در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بوده است (جدول ۱). با افزایش غلظت نمک در محیط ریشه به تدریج از مقادیر این صفت کاسته شد و در شدیدترین تیمار شوری با میانگین ۳/۶ به پایین ترین مقدار خود رسید (جدول۱). در عین حال همزمان با افزایش غلظت کاربرد پراکسید هیدروژن بر نسبت K/Na افزوده شد. به گونه ای که با کاربرد ۵ میلی مولار پراکسید هیدروژن حتی در شوری های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار نمک NaCl، مقادیر K/Na تفاوت چندانی نشان نداد و حتی در شدیدترین تیمار شوری اعمال شده (۱۵۰ mM) مقادیر این نسبت تنها ۴۰/۴درصد کاهش یافت. در صورتی که در همین سطح از شوری، نسبت K/Na در گیاهانی که هیچ گونه پراکسید هیدروژن دریافت نکرده بودند در مقایسه با شاهد ۸۹/۱درصد، کاهش پیدا نمود (شکل ۴).

پیش از این نیز، افزایش غلظت سدیم و کاهش یون های پتاسیم در اثر تنش های شدید شوری در گیاهان مختلف مورد اشاره قرار گرفته است (۱۷ و ۳۴). همچنین گزارش شده است که افزایش غلظت نمک NaCl در محیط ریشه تا ۱۵۰ میلی مولار به سرعت نسبت K/Na را در مرزنجوش کاهش داده است (۶). در پژوهش حاضر نیز، شدیدترین تیمار شوری باعث کاهش ۷۳/۵ درصدی نسبت K/Na در مقایسه با شاهد شد. از سوی دیگر مطابق با نتایج مطالعه حاضر اشاره شده است که با کاربرد H_2O_2 در غلظت هایی از ۱ تا ۱۲۰ میکرو مولار، نسبت K/Na در مقایسه با شاهد افزایش می یابد (۴۰). وحید و همکاران (۴۰) مهمترین دلایل این موضوع را کاهش تنش های اکسیداتیو و در نتیجه خسارت کمتر به غشای سیتوپلاسمایی، در اثر کاربرد H_2O_2 دانستند. تخریب غشای سیتوپلاسمی سبب ازبین رفتن خاصیت تراوایی غشا در انتقال فعال الکترولیت های سلولی و در نتیجه خروج پتاسیم درون سلولی می‌شود (۴۰). بنابراین از آنجا که افزایش نسبت مذکور (در نتیجه افزایش پتاسیم و کاهش سدیم) جهت کارکرد بهینه فعالیت های متابولیکی گیاه بسیار اهمیت داشته و به عنوان شاخصی مهم از تحمل به شوری گیاهان مطرح می باشد (۳۵)، می توان انتظار داشت که با افزایش غلظت H_2O_2 (البته در محدوده غلظت های پایین) مقاومت به شوری نیز افزایش یابد.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ٤- تاثیر غلظت های متفاوت پراکسید هیدروژن و سطوح مختلف شوری بر نسبت پتاسیم به سدیم مرزنجوش.

بارها نشاندهنده خطای استاندارد (±SE) می باشند.

نتیجه گیری

در مجموع، نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهد که تنش شوری اثرات مخرب خود را از طریق محدود کردن رشد گیاه (اندام هوایی و ریشه) و همچنین کاهش مقادیر رنگدانه های گیاهی و نسبت K:Na اعمال می کند. به نظرمی رسد آبیاری گیاهان مرزنجوش با آب شور حاوی ۵۰ میلی مولار تاثیر چندانی بر اکثر صفات اندازه گیری شده در این آزمایش نشان نداد. در صورتیکه استفاده از آب با شوری بالا (۱۵۰م لی مولار) تقریبا باعث خشک شدن کامل گیاهان مرزنجوش شد. از سوی دیگر به نظر می رسد کاربرد خارجی پراکسید هیدروژن در غلظت ۵ میلی مولار می تواند حتی در سطوح شوری بالا نیز با ایجاد شرایط مناسب جهت رشد گیاه، افزایش محتوای پرولین و همچنین حفظ رنگدانه های فتوسنتزی به بقای بیشتر گیاه منجر گردد.

منابع

۱- سلاح ورزی ی.، گلدانی م.، نباتی ج. و علیرضایی م. ۱۳۹۰. تاثیر کاربرد برون زای آسکوربیک اسید بر برخی تغییرات فیزیوشیمیایی مرزنجوش (*Origanum majorana* L.) تحت تنش شوری. مجله علوم باغبانی ایران. ۴۲:۱۶۷-۱۵۹.

۲- ممبینی ت.، ممبینی م. و آقایی م. ۱۳۸۶. بررسی آثار فارماکولوژیک جنس مرزنجوش (*Origanum* spp.). مجله گیاهان داروئی. ۲۹: ۳۵-۱۸.

3- Ali R.M., Abbas H.M., and Kamal R.K. 2007. The effects of treatment with polyamines on dry matter, oil and flavonoid contents in salinity stressed chamomile and sweet marjoram. Plant Soil Environment, 53:529–543.

4- Ashraf M., and Harris P.J.C. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Science, 166:3–16.

5- Bates L.S., Waldran R.P., and Teare I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water studies. Plant and Soil, 39:205–208.

6- Baatour O., Kaddour R., Aidi Wannes W., Lachaa M., and Marzouk B. 2010. Salt effects on the growth, mineral nutrition, essential oil yield and composition of marjoram (*Origanum majorana*). Acta physiologiae plantarum, 32:45–51.

7- Cayley S., Lewis B.A., and Record M.T. 1992. Origins of the osmoprotective properties of betaine and proline in *Esherichia coli* K-12. Journal of Bacteriology, 174:1586-1595.

8- Dere S., Gunes T., and Sivaci R. 1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll - a, b and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. Journal of Botany, 22:13-17.

9- F.A.O. 2005. Global network on integrated soil management for sustainable use of salt-affected soils. Rome, Italy: land and plant nutrition management services. http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush.

www.SID.ir

Archive of SID

10- Fedina S., Nedeva D., and Cicek N. 2009. Pre-treatment with H2O2 induces salt tolerance in barley seedling. Biologia Plantarum, 53:321–324.

11- Gulati A., and Jaiwal P.K. 1992. In vitro induction of multiple shoots and plant regeneration from shoot tips of mung bean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 29:199–205.

12- Gecheva T., Gadjeva I., Van Breusegemb F., Inzéb D., Dukiandjieva S., Tonevaa V., and Minkov I. 2002. Hydrogen peroxide protects tobacco from oxidative stress by inducing a set of antioxidant enzymes. Cellular and Molecular Life Sciences, 59:708–714.

13- Hameed A., Farooq S., Iqbal N., and Arshad R. 2004. Influence of exogenous application of hydrogen peroxide on root and seedling growth on wheat (*Triticum aestivum* L.). International Journal of Agriculture and Biology, 6:366–369.

14- He L., Gao Z., and Li R. 2009. Pretreatment of seed with H_2O_2 enhances drought tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. African Journal of Biotechnology, 8:6151-6157.

15- Hu Y., Ge Y., Zhang C., Ju T., and Cheng W. 2009. Cadmium toxicity and translocation in rice seedlings are reduced by hydrogen peroxide pretreatment. Plant Growth Regulator, 59:51–61.

16- Hung Sh., Yu C.W., and Lin C.H. 2005. Hydrogen peroxide functions as a stress signal in plants. Botanical Bulletin of Academia Sinica, 46:1-10.

17- Kaya C., Higgs D., Ince F., Amador B.M., Cakir A., and Sakar E. 2003. Ameliorative effects of potassium phosphate on salt stressed pepper and cucumber. Journal of Plant Nutrition, 26:807–820.

18- Khan M.H., and Panda S.K. 2002. Induction of oxidative stress in roots of *Oryza sativa* L. in response to salt stress. Plant Biology, 45:525-527.

19- Khan M.A., Ahmad M.Z., and Hameed A. 2006. Effect of sea salt and L-ascorbic acid on the seed germination of halophytes. Journal of Arid Environments, 67:535–540.

20- Kovtun Y, Chiu W, Tena G., and Sheen J. 2000. Functional analysis of oxidative stress-activated mitogen-activated protein kinase cas-cade in plant. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 97:2940–2945.

21- Li J.T., Qiu Z.B., and Zhang X.W. 2010. Exogenous hydrogen peroxide can enhance tolerance of wheat seedlings to salt stress. Acta Physiologiae Plantarum, 33:835-842.

22- Lin C.C., and Kao C.H. 2001. Abscisic acid induced changes in cell wall peroxidase activity and hydrogen peroxide level in roots of rice seedlings. Plant Science, 2:323–329.

23- Menconi M., Sgherri C.L.M., Pinzino C., and Navari–Izzo F. 1995. Activated oxygen production and detoxification in wheat plants subjected to a water deficit program. Journal of Experimental Botany, 46:1123–1130.

24- Moskova I., Todorova D., Alexieva V., and Sergiev I. 2007. Hydrogen peroxide pretreatment alleviates paraquat inju- ries in pea (*Pisum sativum* L.). Compt Rend Acad Bulg Sci 60(10):1101–1106.

25- Moskova I., Todorova D., Alexieva V., Ivanov S., and Sergiev I. 2009. Effect of exogenous hydrogen peroxide on enzymatic and nonenzymatic antioxidants in leaves of young pea plants treated with paraquat. Plant Growth Regulator, 57:193–202.

26- Narimanov A.A., and Korystov Y.N. 1997. Low doses of ionizing radiation and hydrogen peroxide stimulate plant growth. Biologia (Bratislava), 52:121–124.

27- Noctor G., and Foyer C.H. 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 49:249–279.

28- Pande H., and Singh J.S. 1981. Comparative biomass and water status of four range grasses growth under two soil water conditions. Journal of Range Management, 34:480-484.

29- Parida A., and Das A.B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicology and Environmental Safety, 60:324-349.

30- Said-Al Ahl H.A.H., and Hussein M.S. 2010. Effect of water stress and potassium humate on the productivity of oregano plant using saline and fresh water irrigation. Ozean Journal of Applied Sciences, 3:125-141.

31- Sajid Z.A., and Aftab F. 2009. Amelioration of salinity tolerance in *Solanum tuberosum* L. by exogenous application of ascorbic acid. In Vitro Cellular & Developmental Biology, 45:540–549.

32- Sergiv I., Alexieva V., and Karanov E. 1997. Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants. Comptes Rendus de l'Académie Bulgare des Sciences, 51:121-124.

33- Smirnoff N., and Cumbes Q.J. 1989. Hydroxyl radical scavenging of compatible solutues. Phytochemistry, 28:1057-1060.

34- Stepien P., and Kobus S. 2005. Water relations and photosynthesis in *Cucumis sativus* L. leaves under salt stress. Biologia Plantarum, 50:610–616.

35- Tiwari J.K., Munshi A.D., Kumar R., Pandey R.N., Arora A., Bhat J.S., and Sureja A.K. 2010. Effect of salt stress on cucumber: Na^+K+ ratio, osmolyte concentration, phenols and chlorophyll content. Acta Physiologiae Plantarum, 32:103–114.

www.SID.ir

Archive of SID

36- Chida A., Jagendorf A.T., Hibino T., Takabe T., and Takabe T. 2002. Effect of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice. Plant Science, 163:515–23.
37- Upadhyaya H., Khan M.H., and Panda S.K. 2007. Hydrogen peroxide induces oxidative stress in detached leaves of *Oryza sativa* L. Genetics and Plant Physiology, 33:83-95.
38- Van Breusegem F., Bailey-Serres J., and Mittler R. 2008. Unraveling the tapestry of networks involving reactive oxygen species in plants. Plant Physiology, 147:978–984.
39- Villa-Castorena M., Ulery A.L., Valencia E.A.C., and Remmenga M.D. 2003. Division S-4-soil fertility and plant nutrition. Soil Science Society of America Journal, 67:1781–1789.
40- Wahid A., Perveen M., Gelani S., and Basra S.M.A. 2007. Pre-treatment of seed with H_2O_2 improves salt tolerance of wheat seedlings by alleviation of oxidative damage and expression of stress proteins. Journal of Plant Physiology, 164:283–294.
41- Yu C.W., Murphy T.M., and Lin C.H. 2003. Hydrogen per-oxide-induced chilling tolerance in mung beans mediated through ABA-independent glutathione accumulation. Functional Plant Biology, 30:955-963.
42- Zhang S., Weng J., Pan J., Tu T., Yao S., and Xu C. 2003. Study on the photogeneration of superoxide radicals in Photosystem II with EPR spin trapping techniques. Photosynthesis Research, 75:41–48.
43- Zhang F., Wang Y., and Wang D. 2007. Role of Nitric Oxide and Hydrogen Peroxide During the Salt Resistance Response. Plant Signaling and Behavior, 2:473– 474.
44- Zhu J.K. 2002. Salt and drought signal transduction in plants. Annual Review Plant Biology, 53:247–273.

www.SID.ir