



## تأثیر اسید سالیسیلیک و ال-آرژنین بر صفات مورفوفیزیولوژیک و عناصر برگ گیاه پرپوش تحت تنش خشکی

محترم عباسپور اسفدن<sup>۱</sup> - سپیده کلاته جاری<sup>۲\*</sup> - فواد فاتحی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۴/۳۱

### چکیده

پرپوش (*Catharanthus roseus*) گیاهی زیبا و رونده از خانواده خرزهره‌ئیان و دارای کاربردهای زینتی و دارویی است. این گیاه همانند سایر گونه‌های فضای سبز تحت تأثیر آثار سوء ناشی از تنش خشکی قرار می‌گیرد، اما در این راستا استفاده از محرک‌های رشد گیاهی می‌تواند برای گیاه تحت تنش مفید باشد. بنابراین تحقیق حاضر به منظور تأثیر اسید سالیسیلیک و ال-آرژنین بر صفات مورفو-فیزیولوژیکی گیاه پرپوش تحت تنش خشکی انجام شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل با دو عامل شامل محلول‌پاشی در ۵ سطح (شاهد، ال-آرژنین ۱/۵ و ۳ میلی‌مولار، اسید سالیسیلیک ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و تنش خشکی در سه سطح (۱۰۰، ۷۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی) در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. صفات مورد بررسی شامل کارایی مصرف آب، نسبت وزن ریشه به شاخساره، تعداد گل، قطر گل، محتوای کلروفیل برگ، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز برگ و عناصر پرمصرف (نیتروژن، فسفر و پتاسیم) برگ بود. کارایی مصرف آب در تیمارهای تحت تأثیر تنش ۷۰ درصد ظرفیت زراعی بیشتر از سایر تیمارها بدست آمد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش محلول‌پاشی و تنش خشکی بر نسبت وزن ریشه به شاخساره، فعالیت آنزیم پراکسیداز، مقدار فسفر و نیتروژن برگ معنی‌دار شد. نسبت وزن ریشه به شاخساره در تیمارهای عدم محلول‌پاشی (شاهد)  $\times 40$  درصد ظرفیت زراعی و ال-آرژنین ۱/۵ میلی‌مولار  $\times 40$  درصد ظرفیت زراعی بیشتر از سایر تیمارها گزارش شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار برهمکنش عدم محلول‌پاشی و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی کمتر از سایر تیمارهای آزمایشی بود. بیشترین مقدار فسفر و نیتروژن در تمامی سطوح محلول‌پاشی در ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد. حداقل مقدار عناصر پرمصرف در تیمارهای حاوی ۴۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد. قطر و تعداد گل در تیمارهای ۱۰۰ درصد و ۷۰ درصد ظرفیت زراعی بیشتر از ۴۰ درصد ظرفیت زراعی به دست آمد و در بین تیمارهای محلول‌پاشی میانگین قطر گل و کلروفیل کل در تیمار ال-آرژنین ۳ میلی‌مولار بیشتر بود. بیشترین و کمترین فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز به ترتیب در تیمار ۴۰ درصد ظرفیت زراعی و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد و در بین تیمارهای محلول‌پاشی، فعالیت این آنزیم در تیمارهای ال-آرژنین ۳ میلی‌مولار و اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشتر از سایر تیمارها بود. بنابراین با هدف مصرف بهینه آب و محلول‌پاشی، در تیمار ۷۰ درصد ظرفیت زراعی و استفاده از ال-آرژنین ۳ میلی‌مولار یا اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش عناصر فسفر و ازت گردید. همچنین در مجموع تیمارهای ال-آرژنین ۳ میلی‌مولار یا اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش تعداد و قطر گل پرپوش شدند.

**واژه‌های کلیدی:** عناصر پرمصرف، کارایی مصرف آب، کلروفیل کل، محرک‌های رشد

### مقدمه

می‌باشد. خانواده Apocynaceae (خرزهره‌ئیان) به عنوان یکی از بزرگ‌ترین خانواده در نهان‌دانگان در نظر گرفته شده است که شامل ۳۷۵ جنس و بیش از ۵۱۰۰ گونه در سراسر جهان می‌باشد (۴۰). این خانواده اهمیت قابل توجهی در زمینه پزشکی به دلیل استفاده گسترده در شیمی درمانی سرطان، بیماری‌های پوستی، دیابت، اسهال و مالاریا دارد. گیاه پرپوش، یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی است که بیش از ۹۰ ترکیب آلیکالوئید ایندول آلیکالوئید دارد که مهم‌ترین آنها آجمالیسین و سرپنتین می‌باشند که در درمان بیماری فشار خون

گیاه پروانش کبیر (پرپوش) با نام علمی *Catharanthus roseus* متعلق به خانواده Apocynaceae و راسته Gentianales

۱ و ۲- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد باغبانی و استادیار، گروه علوم باغبانی و زراعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران  
\* - نویسنده مسئول: (Email: kalatejari@yahoo.com)

۳- استادیار گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران

DOI: 10.22067/jhorts4.v33i3.73631

طیف گسترده‌ای از عوامل بیماری‌زا می‌شود. این نظام نیاز به مولکول های سیگنال دهنده‌ای نظیر اسید سالیسیلیک دارد و تحریک آن با پروتئین‌های وابسته به بیماری‌زایی مرتبط است. مشخص شده است که در واکنش به اسید سالیسیلیک، پروتئینی خاص به سمت هسته حرکت کرده و سبب تحریک نظام SAR می‌شود. مقدار اسید سالیسیلیک بعد از آلوده شدن گیاه به عامل بیماری‌زا تا چند برابر افزایش می‌یابد که این افزایش مرتبط با SAR می‌باشد (۳). اسید سالیسیلیک در گیاهانی که تحت تنش‌های محیطی قرار دارند نقش حفاظتی دارد. کاربرد خارجی این هورمون باعث افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز، پروکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز در شرایط تنش خشکی در گیاهان می‌شود (۳ و ۷).

اسید آمینه آرژنین یکی از اسیدآمینه‌های ضروری است که علاوه بر تبدیل سوخت‌وساز درونی با اسیدآمینه‌های پرولین و گلوتامات، به عنوان پیش ماده برای سنتز پروتئین، نیتریک اکسید، کراتین، پلی آمین‌ها، آگماتین و اوره نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۴). ال-آرژنین شکل طبیعی رایج اسیدآمینه آرژنین است. کاربرد کودهای دارای اسیدهای آمینه مانند ال-آرژنین از مهم‌ترین راه‌های افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش خشکی می‌باشد (۱۴). تنش خشکی مانع از اثرگذاری آمینواسیدهای درون گیاه می‌شود و آمینواسیدهایی که به عنوان کود استفاده می‌شوند به عنوان نیروی مضاعف، همراه با آب آبیاری یا محلول پاشی به کمک گیاه می‌آید. همچنین در شرایط سخت تنش‌های محیطی، می‌توان نقش اسیدهای آمینه در مقاومت به تنش‌ها را در صرفه‌جویی در مصرف انرژی برای گیاه خلاصه کرد. بنابراین با کاربرد کودهای اسید آمینه‌دار می‌توان سبب افزایش مقاومت گیاهان در شرایط تنش خشکی شد (۸ و ۲۳). راه کارهای مختلفی نظیر مدیریت زراعی و افزایش مقاومت به خشکی از طریق شیوه‌های نوین مانند کاربرد اسید سالیسیک و اسید آمینه آرژنین برای به حداکثر رساندن رشد گیاهان تحت شرایط تنش محیطی مانند خشکی به کار گرفته می‌شود. مطالعات مختلفی در زمینه تأثیر کودهای دارای اسیدهای آمینه و اسید سالیسیلیک به‌منظور تعدیل تنش انجام شده است. برای مثال مردانی و همکاران (۳۳) روی دانه‌های خیار و نقوم و همکاران (۳۸) روی ارزن مرواریدی نشان دادند که اسید سالیسیلیک سبب بهبود صفات فیزیولوژیکی و رشد گیاه شد. همچنین ویلز و لی (۴۹) روی گیاه کاهو نشان دادند که ال-آرژنین سبب افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاه شد. اما تاکنون تحقیقی در زمینه تأثیر اسید سالیسیلیک و کودهای اسید آمینه‌دار روی گیاه پرپوش انجام نشده است. بنابراین تحقیق حاضر به منظور تأثیر اسید سالیسیلیک و ال-آرژنین بر صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاه پرپوش تحت تنش خشکی انجام شد.

وین‌بلاستین و وین‌کریستین در شیمی‌درمانی بیماران سرطانی کاربرد دارند (۲۷ و ۳۶). پرپوش از جمله گیاهان زیبا و رونده است که برخی به خاطر زیبایی آن، گل‌ها را به‌صورت آویز پرورش می‌دهند. ساقه‌های آن می‌توانند ۶۰ الی ۹۰ سانتی‌متر رشد کنند. این گیاه مناسب حاشیه باغچه و یا آویزها است. گل‌های پرپوش عموماً به رنگ‌های صورتی، بنفش، سفید و قرمز لوله‌ای شکل به ارتفاع ۲/۵ سانتی‌متر هستند. برگ‌های این گیاه بیضی شکل به طول ۲/۵ تا ۹ و عرض ۱ تا ۳/۵ سانتی‌متر است. این برگ‌ها بدون کرک با دم‌برگ کوتاه به طول ۱ تا ۱/۸ سانتی‌متر است که در یک زوج متضاد قرار گرفته‌اند. دوره گل‌دهی این گیاه در تابستان است و از اواخر خرداد تا اولین سرماهای پاییزه امکان‌پذیر است. گل پرپوش مکان آفتابی و دارای خاک مرطوب را می‌پسندد. به خاک گلدانی لومی، آبیاری مرتب و کود مایع در هر ماه نیاز دارد و حداقل دمای قابل تحمل آن ۱۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد (۴۰).

خشکی یکی از تنش‌های محیطی بوده که روی اکثر مراحل رشد، ساختار و فعالیت‌های گیاهی آثار مخرب و زیان‌آوری وارد می‌سازد. پاسخ گیاهان به تنش‌های محیطی در سطوح مورفولوژی، سلولی و مولکولی متفاوت است (۴۵). توانایی گیاهان برای سازش به تنش‌های محیطی به نوع، شدت تنش و همچنین گونه گیاهی و مرحله وقوع تنش بستگی دارد. گیاهان در شرایط تنش واکنش‌های متفاوتی به صورت اجتناب و یا تحمل در برابر تنش نشان می‌دهند (۲۵). کاهش عملکرد گیاهان تحت تنش خشکی از طریق سه مکانیسم کلی شامل کاهش جذب تشعشع فعال فتوسنتزی، کاهش کارایی مصرف نور و کاهش آبی در تبادل گاز کربنیک به ازای واحد نور جذب شده قابل بیان است (۲۰). مقاومت اکتسابی در گیاهان به دو شکل موضعی و همگانی مطرح می‌باشد. از این رو دو راهکار کلی در رابطه با عامل القاکننده مقاومت در گیاهان وجود دارد. یکی از مهم‌ترین راهکارها برای ایجاد مقاومت گیاهان در هنگام تنش‌های محیطی مانند خشکی، تولید اسید سالیسیلیک و اسید آمینه در پاسخ به تنش است (۲۶، ۳۵ و ۳۷).

اسید سالیسیلیک یک تنظیم‌کننده رشد درونی طبیعی می‌باشد و به گروهی از ترکیبات فنلی تعلق داشته و از نام Salix (بید) مشتق شده است. این اسید ماده‌ای شبه هورمونی است که بر رشد و نمو گیاهان اثر می‌گذارد. اسید سالیسیلیک ماده‌ای طبیعی است که به طور معمول در عکس‌العمل گیاه در تنش‌های زیستی و فیزیکی به کار می‌رود. کاربرد اسید سالیسیلیک خارجی می‌تواند باعث افزایش اسید سالیسیلیک درون‌زا شود. اسید سالیسیلیک درون‌زا یک علامت القایی برای پاسخ‌های دفاعی ویژه گیاهان است (۲۶). همچنین نظام دفاع اکتسابی (SAR)<sup>۱</sup> گیاه موجب حفاظت طولانی مدت گیاه در برابر

1- Systemic acquired resistance

## مواد و روش‌ها

وزن ریشه به شاخساره، تعداد گل، قطر گل، محتوای کلروفیل کل برگ، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز برگ و عناصر پرمصرف (نیتروژن، فسفر و پتاسیم) برگ اندازه‌گیری شد. قطر گل‌ها با استفاده از کولیس دیجیتال برحسب سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. همچنین تعداد کل گل‌ها در هر تکرار به صورت هفتگی شمارش و ثبت گردید.

کارایی مصرف آب (WUE)<sup>۴</sup> از نسبت عملکرد گیاه در گلدان نسبت به حجم آب مصرفی گیاه در طول دوره رشد بدست آمد (۲۷).

اندازه‌گیری میزان محتوای کلروفیل با روش آرنون (۴) انجام شد. مقدار ۰/۵ گرم برگ تازه از برگ‌های کاملاً توسعه‌یافته جدا و در هاون چینی ریخته و کوبیده شد. حجم نهایی عصاره با استون ۸۰ درصد به ۲ میلی‌لیتر رسید. سپس عصاره با استفاده از سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت  $5000 \times g$  صاف شد. از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Shimadzu UV-160) برای اندازه‌گیری میزان جذب نمونه‌ها استفاده شد. ابتدا دستگاه با استون ۸۰ درصد صفر شده و سپس میزان جذب عصاره استخراج شده در طول موج‌های ۶۴۵ نانومتر، ۶۶۳ نانومتر، ۴۸۰ نانومتر و ۵۱۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (Shimadzu UV-160) قرائت شد. با استفاده از رابطه زیر کلروفیل کل محاسبه شد.

$$\text{کل در هر گرم برگ تر} = [(20.2 \times A_{645}) + (8.02 \times A_{663})] \times V / 1000 \times W$$

در رابطه بالا، A میزان جذب در طول موج مورد نظر، V حجم نهایی استون ۸۰ درصد برحسب میلی‌لیتر و W اندازه برگ تازه برحسب گرم است.

تهیه عصاره آنزیمی: برگ‌ها با نیتروژن مایع کاملاً خرد شد. سپس ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار به آن اضافه و به مدت نیم ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با تکان‌های ملایم استخراج شد. ترکیب حاصل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد (EDISON, NJ U6 A Labnet international, Inc, ) و از محلول شفاف رویی برای انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی استفاده گردید.

فعالیت سوپراکسید دیسموتاز: اندازه‌گیری آنزیم سوپراکسید دیسموتاز طبق روش گیانوپولیتیس و همکاران (۱۹) انجام شد. اساس اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم، اثر بازدارندگی این آنزیم با احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم (NBT) است. مقدار ۲۰ میکرولیتر از نمونه‌های آزمایشی و یک میلی‌لیتر محلول واکنش در لوله‌های مربوطه ریخته و

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی و ۳ تکرار با دو عامل شامل محلول‌پاشی در پنج سطح (شاهد، ال-آرژنین ۱/۵ و ۳ میلی‌مولار، اسید سالیسیلیک ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و تنش خشکی در سه سطح (۱۰۰، ۷۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی) با ۱۵ تیمار، در شرایط گلخانه‌ای با دوره نوری ۸/۱۶ ساعت (روشنایی/تاریکی) و دمای ۱۷/۲۹ درجه سانتیگراد (روز/شب) در آزمایشگاه گروه زراعت دانشگاه تهران در کرج و در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ انجام شد. برای انجام آزمایش، ابتدا نشاهای ۴ برگی از گیاه پرپوش رقم روزنا از مرکز گل و گیاهان زینتی محلات تهیه گردید و در گلدان‌هایی با قطر دهانه ۱۷، قطر کف ۹ و ارتفاع ۱۸ سانتی‌متر با ترکیب بستر کشت خاک باغچه (لوم)، سبوس برنج، پوکه معدنی و ماسه شسته با نسبت حجمی (۵:۱:۱) کشت شدند. گیاهان دو هفته بعد از استقرار با ال-آرژنین و اسید سالیسیلیک محلول‌پاشی شدند و در مجموع ۵ مرتبه با فواصل ۸ روزه محلول‌پاشی شدند. ۱۰ روز بعد از اولین محلول‌پاشی تیمارهای تنش خشکی اعمال شد و به مدت یک ماه ادامه داشت. اعمال تنش بر اساس ظرفیت زراعی خاک اعمال شد. تعیین ظرفیت زراعی و نقطه پژمردگی خاک با استفاده از دستگاه صفحات فشاری<sup>۱</sup> انجام شد. سپس طبق رابطه ۱ مقدار آب مورد نیاز برای هر گلدان مشخص شد (۲۱).

$$\text{رابطه (۱): } V_n = (FC - PWP) / 100 \times \rho_b \times V_p \times F$$

که در آن:  $V_n$  مقدار آب داده شده (بر حسب میلی‌متر) به هر گلدان در هر نوبت آبیاری است. FC رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی (درصد)، PWP نقطه پژمردگی دائم (درصد)،  $\rho_b$  جرم مخصوص ظاهری خاک (گرم بر سانتی‌متر مکعب)،  $V_p$  حجم گلدان (سانتی‌متر مکعب)، F ضریب مدیریت آبیاری که در آبیاری مطلوب برای پرپوش حدود ۰/۳ است. همچنین مقدار آن تنش متوسط و شدید به ترتیب ۰/۷ و ۰/۵ در نظر گرفته شد. این ضریب که تخلیه مجاز از نظر مدیریتی (MAD)<sup>۲</sup> است به صورت اعشار یا درصدی از آب قابل دسترس بیان می‌شود که بستگی به مدیریت آبیاری و نوع کشت دارد. در گیاهان حساس و گل‌های زینتی مقدار آن کم در نظر گرفته می‌شود (۰/۲ تا ۰/۳)، این بدان معناست که فاصله آبیاری در این گیاهان باید کم باشد (۱۷).

تنش در سه سطح: ۱- شاهد (آبیاری در حد ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)، ۲- تیمار تنش ملایم (آبیاری در حد ۷۰ درصد ظرفیت زراعی) و ۳- تنش شدید (آبیاری در حد ۴۰ درصد ظرفیت زراعی) اعمال شد.

در نهایت وقتی گیاهان وارد مرحله زایشی شدند صفات نسبت

1- Pressure plate

2- Management Allowed Depletion

3- Water Use Efficiency

مقایسه میانگین داده‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون چند دامنه-ای دانکن بررسی شد.

### نتایج و بحث

عملکرد گیاه، حجم آب مصرفی و کارایی مصرف آب: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر اصلی تنش خشکی، محلول‌پاشی و برهمکنش آنها بر حجم آب مصرفی، کارایی مصرف آب و عملکرد گیاه معنی‌دار بود ( $P \leq 0.01$ ) (جدول ۱). بیشترین عملکرد گیاه (۱۱/۸ گرم در بوته) در تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و ال-آرژنین ۳ میلی‌مولار به‌دست آمد (جدول ۲). بیشترین حجم آب مصرفی (۴/۷ لیتر در بوته) مربوط به تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و ال-آرژنین ۳ میلی‌مولار و کمترین مقدار آن (۱/۸ لیتر در بوته) مربوط به تیمار ۴۰ درصد ظرفیت زراعی و عدم محلول‌پاشی بود. کارایی مصرف آب در ۷۰ درصد ظرفیت زراعی و ال-آرژنین ۳ میلی‌مولار با ۳/۴۵ گرم در لیتر بیشتر از سایر تیمارها بود (جدول ۲). کادافیجی و همکاران (۲۸) نشان دادند که آبیاری محدود با مدیریت مناسب سبب افزایش کارایی مصرف آب می‌شود. کومار و همکاران (۳۱) بیان کردند که آبیاری مازاد تاثیر معنی‌داری روی کارایی مصرف آب و عملکرد نداشت. در تحقیق حاضر کارایی مصرف آب در تیمار ۷۰ درصد ظرفیت زراعی و ال-آرژنین ۳ میلی‌مولار در لیتر، بیشتر از سایر تیمارها گزارش شد.

لوله‌های آزمایش حاوی نمونه‌های آزمایشی و کنترل به مدت ۱۰ دقیقه در روشنایی حاصل از نور مصنوعی در یک اتاقک قرار داده شدند. سپس در طول موج ۵۶۰ نانومتر با کمک اسپکتروفوتومتر (مدل T80+ ساخت شرکت PG instrument کشور انگلستان) جذب نمونه-ها قرائت شد. درصد فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مساوی است با جذب نمونه منهای جذب شاهد تقسیم‌بر جذب شاهد ضرب در ۱۰۰. سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز (POX): فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از روش پول و همکاران (۴۲) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش حاوی ۲۴۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار، ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول ۱۸ میلی‌مولار، ۱۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی در لوله آزمایش ریخته شد. جذب نمونه بر اساس اکسیداسیون گایاکول با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر به مدت ۲ دقیقه در طول موج ۴۳۶ نانومتر خوانده شد. از محلول واکنش بدون عصاره جهت صفر کردن دستگاه استفاده شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز مساوی است با جذب خوانده شده تقسیم بر ۲۶/۶. فسفر با روش اسپکتروفوتومتری (۳۹)، پتاسیم با روش فلیم-فوتومتری (۱۴) و نیتروژن با روش کج‌لدال (۹) اندازه‌گیری شد.

### تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های به‌دست آمده به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با نرم‌افزار آماری SAS تجزیه و تحلیل آماری شدند.

جدول ۱- تجزیه واریانس حجم آب مصرفی، کارایی مصرف آب و عملکرد گیاه پریش تحت تاثیر کاربرد ال-آرژنین و اسید سالیسیلیک در شرایط

#### تنش خشکی

Table 1- The analysis of variance for consumption water volume, water use efficiency, and plant yield of *Catharanthus roseus* under salicylic acid, L-arginine, and drought stress conditions.

منبع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares		
		عملکرد گیاه Plant yield (g/plant)	حجم آب مصرفی Consumption water volume (l/plant)	کارایی مصرف آب Water use efficiency (g/l)
محلول‌پاشی Foliar application	4	192.9**	0.18**	3.88**
تنش خشکی Drought stress	2	4.98**	27.99**	0.32**
محلول‌پاشی × تنش خشکی Foliar application × Drought stress	8	0.50**	0.02**	0.20**
خطا Error	30	0.11	0.0009	0.001
ضریب تغییرات CV (%)		4.09	1.2	1.4

\*\* نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح ۱ درصد است.

\*\* representing the significance at 1% level.

تأثیر اسید سالیسیلیک و ال-آرژنین بر صفات مورفوفیزیولوژیک و عناصر برگ گیاه پرپوش تحت تنش خشکی ۴۲۱

جدول ۲- نتایج مقایسه میانگین عملکرد گیاه، حجم آب مصرفی و کارایی مصرف آب در طی دوره رشد گیاه پرپوش تحت تأثیر کاربرد ال-آرژنین و اسید سالیسیلیک تحت تنش خشکی

Table 2- Mean comparison results of plant yield, consumption water volume and water use efficiency during plant growth of *Catharanthus roseus* under salicylic acid, L-arginine, and drought stress conditions.

تنش خشکی Drought stress	محلول پاشی Foliar application	عملکرد گیاه Plant yield (g/plant)	حجم آب مصرفی Consumption water volume (l/plant)	کارایی مصرف آب Water use efficiency (g/l)
۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی 100% FC	شاهد Control	9.5 <sup>de</sup>	4.5 <sup>c</sup>	2.11 <sup>h</sup>
	اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی گرم	11.5 <sup>ab</sup>	4.6 <sup>b</sup>	2.50 <sup>e</sup>
	در لیتر			
	Salicylic acid 100 mg/l	10.1 <sup>d</sup>	4.5 <sup>c</sup>	2.24 <sup>g</sup>
	اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی گرم			
	در لیتر	9.7 <sup>de</sup>	4.51 <sup>c</sup>	2.15 <sup>h</sup>
	Salicylic acid 200 mg/l			
	ال-آرژنین ۱/۵ میلی مولار	11.8 <sup>a</sup>	4.8 <sup>a</sup>	2.51 <sup>e</sup>
	L- arginine 1.5 mM			
	ال-آرژنین ۳ میلی مولار	9.2 <sup>ed</sup>	3.15 <sup>de</sup>	2.92 <sup>d</sup>
L- arginine 3 mM				
شاهد Control	10.7 <sup>c</sup>	3.18 <sup>de</sup>	3.36 <sup>b</sup>	
اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی گرم				
در لیتر	9.5 <sup>de</sup>	3.16 <sup>de</sup>	3.01 <sup>c</sup>	
Salicylic acid 100 mg/l				
۷۰ درصد ظرفیت زراعی 70% FC	اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی گرم	9.1 <sup>e</sup>	3.14 <sup>e</sup>	2.90 <sup>d</sup>
	در لیتر			
	Salicylic acid 200 mg/l	11 <sup>bc</sup>	3.19 <sup>cde</sup>	3.45 <sup>a</sup>
	ال-آرژنین ۱/۵ میلی مولار			
	L- arginine 1.5 mM	3.6 <sup>g</sup>	1.8 <sup>g</sup>	2.00 <sup>i</sup>
	ال-آرژنین ۳ میلی مولار			
	L- arginine 3 mM	4.2 <sup>fg</sup>	1.85 <sup>fg</sup>	2.27 <sup>g</sup>
	شاهد Control			
	اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی گرم	4.1 <sup>fg</sup>	1.82 <sup>g</sup>	2.25 <sup>g</sup>
	در لیتر			
Salicylic acid 100 mg/l	3.8 <sup>fg</sup>	1.8 <sup>g</sup>	2.11 <sup>h</sup>	
اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی گرم				
در لیتر	4.4 <sup>f</sup>	1.88 <sup>f</sup>	2.34 <sup>f</sup>	
Salicylic acid 200 mg/l				
ال-آرژنین ۱/۵ میلی مولار				
L- arginine 1.5 mM				
ال-آرژنین ۳ میلی مولار				
L- arginine 3 mM				

حروف لاتین مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار میانگین ها با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد می باشد.  
Same letters show no significant difference of data means in Duncan test at 5% level.

(۲۹) نشان دادند که حجم آب مصرفی، عملکرد گیاه در بوته و کارایی مصرف آب با افزایش شدت تنش کاهش می یابد. نسبت وزن ریشه به شاخساره: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش محلول پاشی × تنش خشکی بر نسبت وزن ریشه به شاخساره معنی دار شد ( $p \leq 0.05$ ) (جدول ۳). نسبت وزن ریشه در تیمارهای عدم محلول پاشی (شاهد) × ۴۰ درصد ظرفیت زراعی و ال-آرژنین ۱/۵ و ۳ میلی مولار × ۴۰ درصد ظرفیت زراعی بیشتر از سایر

البته تغییر اصلی در مقدار کارایی مصرف آب مربوط به تنش می باشد. یعنی می توان با تغییر مقدار آب مصرفی از ۱۰۰ به ۷۰ درصد ظرفیت زراعی ضمن کاهش حجم آب مصرفی، کارایی بیشتری نیز بدست بیآوریم. در مطالعه حاضر عملکرد گیاه و حجم آب مصرفی با افزایش تنش کاهش یافت، اما روند کارایی مصرف آب از ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به ۷۰ درصد، افزایشی و از ۷۰ درصد ظرفیت زراعی به ۴۰ درصد ظرفیت زراعی، کاهشی بود (جدول ۲). کریمی و همکاران

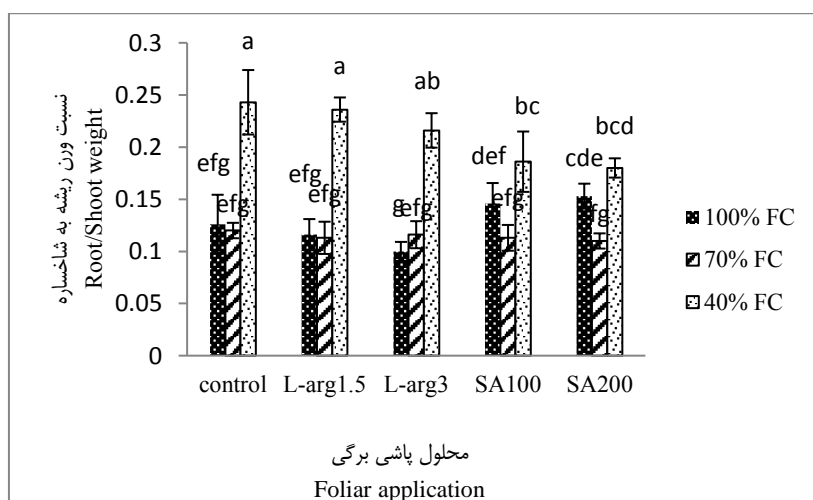
تنش خشکی احتمالاً در ارتباط با اثرات آبسازیک اسید است که موجب جلوگیری از رشد شاخساره شده در حالی که رشد ریشه را حفظ می‌کند (۲۴). همچنین در طول استرس خشکی، تخصیص کربن به ریشه‌ها نسبت به شاخساره افزایش یافته و به ادامه حیات ریشه در خشکی کمک می‌کند (۲۴). افزایش نسبت وزن ریشه به شاخساره توسط توسکانو و همکاران (۴۷) روی گیاهان برگ بو (*Laurus nobilis* L. و شیشه‌شور (*Callistemon citrinus*) گزارش شد. همچنین الوارز و همکاران (۱) افزایش نسبت وزن ریشه به شاخساره را تحت تنش خشکی روی گونه‌های مختلف جنس شیشه‌شور گزارش کردند که با تحقیق حاضر همسوست.

تیمارها گزارش شد (شکل ۱). این نشان می‌دهد که نسبت کاهش وزن شاخساره به ریشه در تمام سطوح محلول پاشی تحت تنش خشکی بیشتر است و همچنین در شرایط تنش، گیاه جهت استفاده بهینه از آب، ریشه‌دوانی را افزایش می‌دهد. نسبت وزن خشک ریشه به شاخساره به طور معمول تحت شرایط استرس خشکی افزایش می‌یابد (۱۰ و ۳۴) که احتمالاً در نتیجه کاهش بیشتر رشد شاخساره نسبت به رشد ریشه بوده است. رشد شاخساره به طور معمول بیشتر از رشد ریشه نسبت به استرس خشکی حساس است. ریشه‌ها به دلیل تعدیل اسمزی توانایی بیشتری در حفظ فشار تورژسانس نسبت به برگ‌ها دارند. تفاوت در حساسیت بین شاخساره و ریشه در شرایط

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی گیاه پرپوش تحت تأثیر کاربرد ال- آرژنین و اسید سالیسیلیک تحت تنش خشکی

Table 3- The analysis of variance for studied properties of *Catharanthus roseus* under salicylic acid, L-arginine, and drought stress conditions

منبع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df	میانگین مربعات								
		نسبت وزن ریشه به شاخساره Root/Shoot	تعداد گل Flower number	قطر گل Flower diameter	کلروفیل کل Total chl.	پروکسیداز Peroxidase	سوپراکسید دیسموتاز SOD	فسفر P	پتاسیم K	نیترژن N
محلول پاشی Foliar application	4	0.0005 <sup>ns</sup>	0.18 <sup>ns</sup>	0.42 <sup>**</sup>	0.12 <sup>**</sup>	0.01 <sup>**</sup>	0.009 <sup>**</sup>	3 × 10 <sup>-5</sup> <sup>**</sup>	0.43 <sup>**</sup>	2.03 <sup>**</sup>
خشکی Drought stress	2	0.04 <sup>**</sup>	2.42 <sup>**</sup>	8.6 <sup>**</sup>	0.92 <sup>**</sup>	1.5 <sup>**</sup>	2.48 <sup>**</sup>	1 × 10 <sup>-4</sup> <sup>**</sup>	5.4 <sup>**</sup>	16 <sup>**</sup>
محلول پاشی * خشکی Foliar application * Drought stress	8	0.001 <sup>*</sup>	0.33 <sup>ns</sup>	0.37 <sup>**</sup>	0.01 <sup>ns</sup>	0.006 <sup>**</sup>	0.0008 <sup>ns</sup>	8 × 10 <sup>-6</sup> <sup>*</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	0.24 <sup>**</sup>
خطا Error	28	0.0004	0.35	0.05	0.007	0.0004	0.0005	3 × 10 <sup>-6</sup>	0.02	0.03
ضریب تغییرات CV .		14	58	8.3	8.9	3.6	2.84	19	7.1	5.8



شکل ۱- اثر متقابل محلول پاشی × تنش خشکی بر نسبت وزن ریشه به شاخساره گیاه پرپوش

Figure 1- The interaction effect of foliar application × drought stress on root/shoot weight of *Catharanthus roseus*. (DMRT,  $p \leq 0.05$ )

محتوای کلروفیلی در سیب تحت تأثیر کاربرد ال-آرژنین توسط سوتیروپولوس و همکاران (۴۶) گزارش شد.

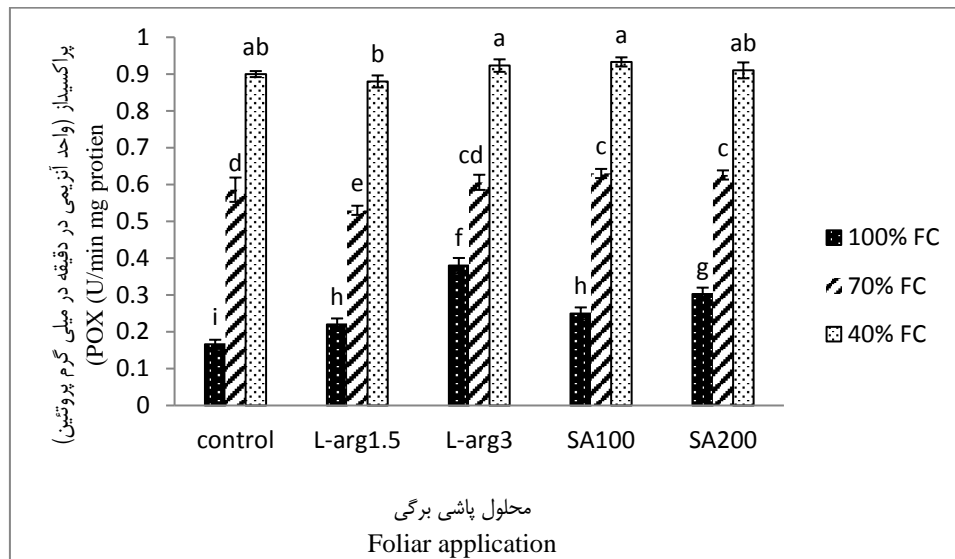
آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: پراکسیداز تحت تأثیر اثر متقابل محلول پاشی و خشکی قرار گرفت (جدول ۳)، به طوری که تیمار عدم محلول‌پاشی × ظرفیت زراعی ۱۰۰ درصد دارای کمترین مقدار فعالیت نسبت به سایر تیمارها بود (شکل ۲). ال-آرژنین و اسید سالیسیلیک سبب افزایش پروتئین در گیاه می‌شود و چون آنزیم‌ها نیز پروتئین هستند بنابراین مقدار آنها در شرایط بدون تنش تحت تأثیر محرک‌های رشد افزایش یافته است. محلول‌پاشی در بیشتر موارد سبب افزایش فعالیت آنزیم‌ها شد. محلول‌پاشی سبب افزایش پتانسیل آنتی-اکسیدانی گیاه شد که چنین روندی سبب افزایش قدرت گیاه در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد می‌شود. پراکسیدازها و ایزوزایم‌های آن برای آبیگری از سوبستراهای مختلف، ماده سمی آب‌اکسیژنه را مصرف می‌نمایند. آنزیم پراکسیداز از طریق اکسیداسیون سوبستراهای دهنده هیدروژن نظیر مواد فنولیکی سیرینگالدازین، گایاکول، پیروگالول و آسکوربات، پراکسید هیدروژن را تجزیه می‌کند (۱۲). سوپراکسید هیدروژن نیز از طریق فعالیت آنزیم پراکسیداز به آب و اکسیژن خنثی می‌شود و یا اینکه به رادیکال خطرناک‌تر هیدروکسیل بدل می‌شود (۴۸). بنابراین با بالا رفتن سطوح فعالیت این آنزیم، گیاه کمتر مورد تهاجم ROSها قرار می‌گیرد. این گروه از آنزیم‌ها در سیتوسول، واکوئل، کلروپلاست و آپوپلاست وجود دارند (۷). بسیاری از محققین ظهور یا عدم ظهور ایزوفرم‌ها در طی فرآیند یا جایگاه خاص را گزارش نموده‌اند (۷). بررسی ایزوآنزیمی پراکسیداز می‌تواند بررسی اثر تنش بر ترکیبات مختلف سلولی را نمایان می‌سازد (۴۸). انوشه و همکاران (۲) نشان دادند که محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک تغییری در فعالیت آنزیم SOD نداشت اما سبب افزایش فعالیت پراکسیداز شد. همچنین تنش خشکی سبب افزایش فعالیت هر دو آنزیم شد. آنها بیان کردند که تغییر در فعالیت آنزیم‌ها بسته به نوع تنش و نوع ماده محلول‌پاشی می‌تواند متفاوت باشد به طوری که می‌تواند سبب افزایش یک آنزیم و سبب کاهش آنزیمی دیگر شود.

نتایج نشان داد که فقط اثرات اصلی تنش خشکی و محلول‌پاشی بر فعالیت آنزیم SOD معنی‌دار شد. تیمارهای ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک و ال-آرژنین ۳ میلی‌مولار دارای بیشترین فعالیت SOD (جدول ۴) و همچنین تنش خشکی شدید دارای بیشترین میانگین این آنزیم بود (جدول ۵). تنش خشکی سبب افزایش ROS در گیاه شده و سوپراکسید دیسموتاز به‌عنوان اولین خط دفاعی سیستم آنتی‌اکسیدانی در مقابل ROS فعال می‌شود و باعث تبدیل رادیکال  $O_2^0$  به  $H_2O_2$  می‌شود، در ادامه  $H_2O_2$  ایجاد شده به مولکول آب و اکسیژن تجزیه می‌شود که این عمل توسط آنزیم کاتالاز انجام می‌شود (۲۷). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز اولین آنزیمی است که در

تعداد و قطر گل: تعداد گل فقط تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت ( $P \leq 0.01$ ) (جدول ۳). قطر گل نیز فقط تحت تأثیر اثرات اصلی محلول‌پاشی و خشکی قرار گرفت (جدول ۳). بیشترین قطر گل (۳/۱ سانتی‌متر) در ال-آرژنین ۳ میلی‌مولار به‌دست آمد (جدول ۴). تعداد و قطر گل در تیمارهای ۱۰۰ درصد و ۷۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به ۴۰ درصد ظرفیت زراعی بیشتر بود (جدول ۵). قطر و تعداد گل، با توجه به غلظت و نوع ماده محلول‌پاشی و همچنین گونه گیاهی، می‌تواند متغیر باشد. کاهش عملکرد گل تحت تنش خشکی توسط اسرار و همکاران (۶) گزارش شد. قاضی‌مناس و همکاران (۱۸) افزایش تعداد گل و ثابت ماندن قطر گل در گیاه بابونه آلمانی تحت تأثیر کودهای نیتروژن و ورمی‌کمپوست را گزارش کردند و بیان داشتند که کوددهی سبب افزایش تعداد گل می‌شود. در تحقیق حاضر، ال-آرژنین به‌عنوان یک اسید آمینه و دخالت در فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه سبب افزایش قطر گل پرپوش شد. چون کارایی مصرف آب در تیمار ۷۰ درصد زراعی بیشتر و همچنین قطر و تعداد گل تغییر معنی‌داری نسبت به تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی نداشتند، بنابراین با توجه به این صفات، تیمار ۷۰ درصد زراعی برتر است.

محتوای کلروفیل: اثرات اصلی محلول‌پاشی و تنش خشکی بر کلروفیل کل معنی‌دار شد ( $P \leq 0.01$ ) (جدول ۳). کلروفیل کل در تیمار ال-آرژنین ۳ میلی‌مولار (۱/۱۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) بیشتر از سایر تیمارها بود (جدول ۴). همچنین تنش خشکی ۴۰ درصد ظرفیت زراعی سبب کاهش ۴۰ درصدی کلروفیل کل نسبت به تیمار شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) شد (جدول ۵). تنش خشکی به عنوان یک عامل ایجاد کننده اختلال در فیزیولوژی گیاه روی عوامل فتوسنتزی گیاه تأثیر می‌گذارد. کاهش محتوای کلروفیل تحت تنش خشکی ارتباط مستقیمی با ژنوتیپ و نوع گیاه دارد (۵). در شرایط تنش خشکی دستگاه فتوسنتزی تحت تأثیر قرار گرفته و فعالیت فتوسنتز II در گیاه کاهش می‌یابد (۵). بنابراین کاهش مقدار کلروفیل مشاهده شده در تحقیق حاضر در تیمار ۴۰٪ ظرفیت زراعی احتمالاً به دلیل تأثیر تنش بر پیش‌سازهای سنتز کلروفیل یا تخریب کلروفیل موجود می‌باشد. در این راستا کاهش محتوای فتوسنتزی در گیاهان مختلف گزارش شده است (۳۱ و ۴۴). آرژنین دارای بیشترین مقدار نسبت کربن به نیتروژن است که چنین ویژگی سبب متمایز شدن این اسید آمینه به عنوان منبعی از نیتروژن آلی شده است. امینواسید اورنیتین نقش ساختاری در چرخه اوره و بیوسنتز آرژنین دارد. ال-آرژنین از اسید آمینه‌های بنیادی در فرایند تشکیل کلروفیل و افزایش مقدار بافت سبز در گیاهان است. این اسید آمینه باعث افزایش سنتز کلروفیل و بالا رفتن غلظت آن در گیاه شده که افزایش جذب نور و به دنبال آن افزایش فتوسنتز را در پی دارد. نتایج مشابهی در افزایش

چرخه آنتی اکسیدانی فعال می شود که در شرایط تنش افزایش می یابد (۱۱). افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز تحت تنش خشکی در گیاهان مختلف گزارش شده است (۲۷، ۴۱ و ۴۳).



شکل ۲- اثر متقابل محلول پاشی × تنش خشکی بر فعالیت پراکسیداز گیاه پرپوش

Figure 2- The interaction effect of foliar application × drought stress on peroxidase activity of *Catharanthus roseus*. (DMRT,  $p \leq 0.05$ )

دادند که کاربرد اسید سالیسیلیک تأثیری بر عناصر برگ گیاه کدو تحت تنش خشکی نداشت. اما گونس و همکاران (۲۱) گزارش نمودند که اسید سالیسیلیک باعث کاهش غلظت سدیم و کلر و افزایش فسفر و پتاسیم برگ شد که با نتایج تحقیق حاضر همسو می باشد. همچنین اسید سالیسیلیک در گیاه جو سبب افزایش عناصر پرمصرف و کاهش سدیم شد (۱۵) و بالاخره الارسن و همکاران (۱۶) بیان نمودند که تأثیر اسید سالیسیلیک بر جذب و انتقال عناصر در گیاهان به پاسخی خاص برای هرگونه منجر می شود. حسین و همکاران (۲۵) افزایش پتاسیم و کاهش نیتروژن را تحت تأثیر تیمارهای اسید آمینه گزارش کردند. برخی از اثرات آرژنین مشابه ترکیبات حاصل از متابولیسم آن است. به طور مثال نیتریک اسید (NO) یکی از ترکیبات حاصل از متابولیسم آرژنین می باشد. گزارش شده است که NO در گیاه *Populus euphratica* از طریق افزایش نسبت پتاسیم به سدیم سبب افزایش مقاومت گیاه به شوری شده است. بنابراین آرژنین نقش مهمی در افزایش پتاسیم برگ و ریشه دارد (۵۰) که چنین روندی نیز در پژوهش حاضر مشاهده شد.

عناصر پرمصرف: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش محلول پاشی و تنش خشکی روی میانگین عناصر فسفر و نیتروژن برگ معنی دار و روی پتاسیم معنی دار نشد ( $P \leq 0.05$ ) (جدول ۳). بیشترین مقدار فسفر در تمامی سطوح تیمارهای محلول پاشی، در ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد (شکل ۳). همچنین بیشترین مقدار نیتروژن در سطوح محلول پاشی ۱/۵ و ۳ میلی مولار ال-آرژنین و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک در ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و ۳ میلی مولار ال-آرژنین در ۷۰ درصد ظرفیت زراعی به دست آمد (شکل ۴). محلول پاشی سبب افزایش مقدار پتاسیم برگ شد و مقدار آن در اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی گرم در لیتر بیشتر از سایر تیمارها بود (جدول ۴). اما تنش سبب کاهش پتاسیم شد به طوری که بیشترین و کمترین مقدار آن به ترتیب در تیمارهای ۱۰۰ درصد و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد (جدول ۵). حداقل مقدار عناصر پرمصرف در تیمارهای حاوی ۴۰٪ ظرفیت زراعی مشاهده شد. مقدار عناصر پرمصرف تحت تنش بسته به نوع گیاه و نوع تنش متفاوت می باشد. در پژوهش های مختلف گزارشات متناقضی در مورد تأثیر اسید سالیسیلیک بر جذب یون ها وجود دارد. کوکماز و همکاران (۳۰) نشان



جدول ۴- اثر محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک و ال-آرژنین بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و عناصر برگ گیاه پرپوش  
Table 4- The effect of salicylic acid and L-arginine on morpho-physiological properties and leaf nutrients of *Caltharantus roseus*.

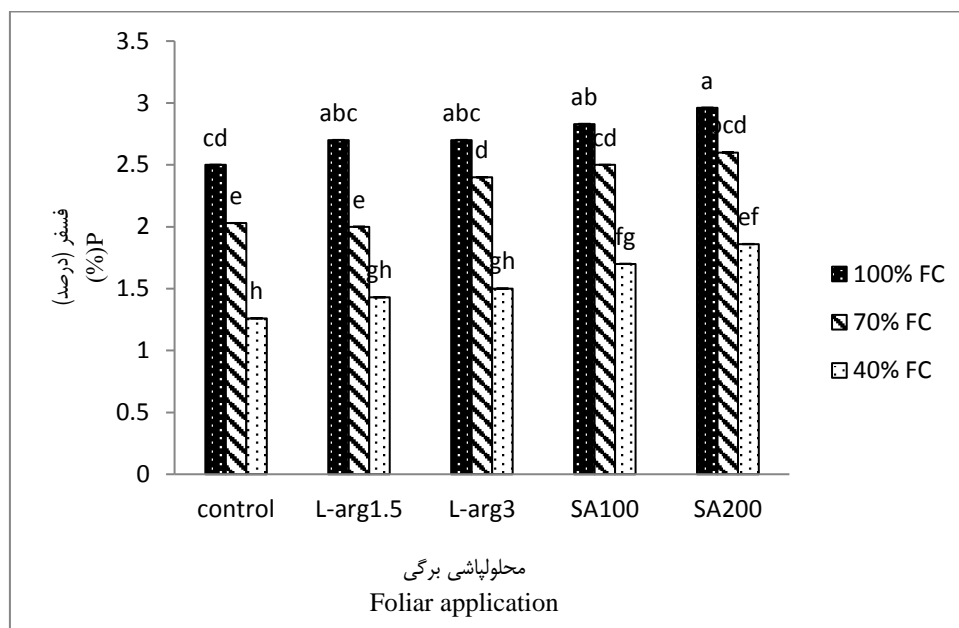
محلول‌پاشی Foliar application	نسبت وزن ریشه به شاخساره Root/Shoot weighth	تعداد گل Flower number	قطر گل Flower diameter (cm)	کلروفیل کل Total chl. (mg/g)	پراکسیداز Peroxidase (U/ min mg protein)	دیسموتاز SOD (U/ min mg protein)	فسفر P (%)	پتاسیم K (%)	نیتروژن N (%)
شاهد Control	0.163 <sup>a</sup>	0.88 <sup>a</sup>	2.15 <sup>b</sup>	0.9 <sup>cd</sup>	0.55 <sup>c</sup>	0.77 <sup>c</sup>	0.007 <sup>c</sup>	1.9 <sup>c</sup>	1.93 <sup>c</sup>
ال-آرژنین ۱/۵ میلی‌مولار L- arginine 1.5 mM	0.155 <sup>a</sup>	0.88 <sup>a</sup>	2.6 <sup>b</sup>	0.85 <sup>d</sup>	0.55 <sup>c</sup>	0.76 <sup>c</sup>	0.008 <sup>bc</sup>	2 <sup>c</sup>	2.04 <sup>c</sup>
ال-آرژنین ۳ میلی‌مولار L- arginine 3 mM	0.144 <sup>a</sup>	1.1 <sup>a</sup>	3.1 <sup>a</sup>	1.14 <sup>a</sup>	0.63 <sup>a</sup>	0.83 <sup>a</sup>	0.01 <sup>a</sup>	2.2 <sup>b</sup>	2.2 <sup>b</sup>
اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر Salicylic acid 100 mg/l	0.148 <sup>a</sup>	1.2 <sup>a</sup>	2.8 <sup>b</sup>	1.01 <sup>b</sup>	0.6 <sup>b</sup>	0.84 <sup>a</sup>	0.009 <sup>b</sup>	2.3 <sup>ab</sup>	2.3 <sup>ab</sup>
اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر Salicylic acid 200 mg/l	0.147 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	2.7 <sup>b</sup>	0.94 <sup>bc</sup>	0.61 <sup>b</sup>	0.8 <sup>b</sup>	0.009 <sup>b</sup>	2.5 <sup>a</sup>	2.4 <sup>a</sup>

حروف لاتین مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد می‌باشد.  
Same letters show no significant difference of data means in Duncan test at 5% level.

جدول ۵- اثر تنش خشکی بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و عناصر برگ گیاه پرپوش  
Table 5- The effect of drought stress on morpho-physiological properties of *Catharanthus roseus*

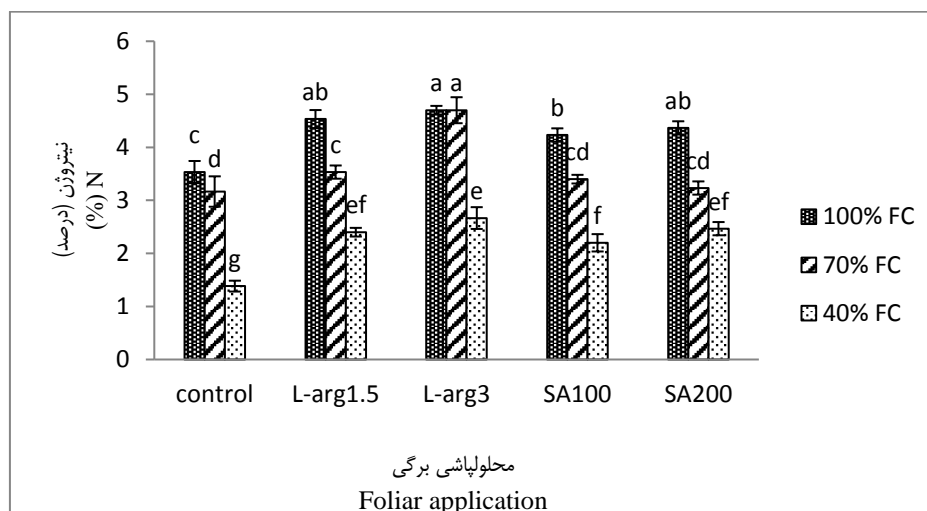
تنش خشکی Drought stress	نسبت وزن ریشه به شاخساره Root/Shoot	تعداد گل Flower number	قطر گل (سانتی متر) Flower diameter	کلروفیل کل (میلی گرم در گرم) Total chl. (mg/g)	پراکسیداز (واحد آنزیمی در دقیقه در میلی پروتئین) (U/ min mg protein)	سوپراکسید دیسوتاز (واحد آنزیمی در دقیقه در میلی گرم پروتئین) SOD (U/ min mg protein)	فسفر (%) P (%)	پتاسیم (%) K (%)	نیترژن (درصد) N (%)
۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی 100% FC	0.12 <sup>b</sup>	1.06 <sup>a</sup>	3.1 <sup>a</sup>	1.2 <sup>a</sup>	0.26 <sup>c</sup>	0.47 <sup>c</sup>	0.01 <sup>a</sup>	2.7 <sup>a</sup>	4.2 <sup>a</sup>
۷۰ درصد ظرفیت زراعی 100% FC	0.11 <sup>b</sup>	1.4 <sup>a</sup>	3.2 <sup>a</sup>	0.97 <sup>b</sup>	0.59 <sup>b</sup>	0.67 <sup>b</sup>	0.008 <sup>b</sup>	2.3 <sup>b</sup>	3.6 <sup>b</sup>
۴۰ درصد ظرفیت زراعی 100% FC	0.21 <sup>a</sup>	0.6 <sup>b</sup>	1.9 <sup>b</sup>	0.72 <sup>c</sup>	0.90 <sup>a</sup>	1.2 <sup>a</sup>	0.007 <sup>c</sup>	1.5 <sup>c</sup>	2.2 <sup>c</sup>

حروف لاتین مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد می‌باشد.  
Same letters show no significant difference of data means in Duncan test at 5% level.



شکل ۳- اثر متقابل محلول پاشی × تنش خشکی بر مقدار فسفر برگ گیاه پرپوش

Figure 3- The interaction effect of foliar application × drought stress on leaf phosphorus of *Catharanthus roseus*. (DMRT,  $p \leq 0.05$ )



شکل ۴- اثر متقابل محلول پاشی × تنش خشکی بر نیتروژن برگ گیاه پرپوش

Figure 4- The interaction effect of foliar application × drought stress on leaf nitrogen of *Catharanthus roseus*. (DMRT,  $p \leq 0.05$ )

گل را بدون تغییر نسبت به تیمار شاهد حفظ کرد. اما تیمار تنش شدید سبب کاهش عملکرد کلی گیاه می‌شود و می‌توان تا حدودی با تیمارهای محلول پاشی (ال-آرژنین ۳ میلی‌مولار و اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) آن را تعدیل نمود. بنابراین تحقیق حاضر با هدف مصرف بهینه آب و محلول پاشی، در تیمار ۷۰ درصد ظرفیت زراعی و استفاده از ال-آرژنین ۳ میلی‌مولار یا اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش عناصر فسفر و ازت گردید. همچنین

### نتیجه گیری

در تحقیق حاضر تاثیر اسید سالیسیلیک و ال-آرژنین بر صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاه پرپوش تحت تنش خشکی بررسی شد. نتایج کلی تحقیق نشان داد که کارایی مصرف آب در تیمارهای تحت تاثیر تنش ۷۰ درصد ظرفیت زراعی بیشتر از سایر تیمارها بود. همچنین می‌توان با کاهش مصرف آب تا ۷۰ درصد ظرفیت زراعی تعداد و قطر

در مجموع تیمارهای ال-آرژنین ۳ میلی-مولار یا اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی گرم در لیتر موجب افزایش تعداد و قطر گل پیروش شدند.

## منابع

- 1- Álvarez S., and Sánchez-Blanco M.J. 2015. Comparison of individual and combined effects of salinity and deficit irrigation on physiological, nutritional and ornamental aspects of tolerance in *Callistemon laevis* plants. *Journal of Plant Physiology* 185: 65-74.
- 2- Anosheh H.P., Emam Y., Ashraf M., and Foolad M.R. 2012. Exogenous application of salicylic acid and chlormequat chloride alleviates negative effects of drought stress in wheat. *Advanced Studies in Biology* 4(11): 501-520.
- 3- Arif T. 2015. Salicylic acid as a peeling agent: a comprehensive review. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology* 8: 455.
- 4- Arnon D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology* 24(1): 1.
- 5- Ashraf M.H.P.J.C., and Harris P.J.C. 2013. Photosynthesis under stressful environments: an overview. *Photosynthetica* 51(2): 163-190.
- 6- Asrar A.A., Abdel-Fattah G.M., and Elhindi K.M. 2012. Improving growth, flower yield, and water relations of snapdragon (*Antirrhinum majus* L.) plants grown under well-watered and water-stress conditions using arbuscular mycorrhizal fungi. *Photosynthetica* 50(2): 305-316.
- 7- Bailey-Serres J., and Mittler R. 2006. The roles of reactive oxygen species in plant cells. *Plant Physiology* 141: 311.
- 8- Basha D.M.R.A., and El-Aila H.I. 2015. Response of foliar spraying with amino acids and integrated use of nitrogen fertilizer on Radish (*Raphanus sativus* L.) plant. *International Journal of ChemTech Research* 8(11): 135-140.
- 9- Bremner J.M., and Mulvaney C.S. 1982. Nitrogen—Total. p. 595-624. In A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeny (Eds.) *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties*. 2<sup>nd</sup> ed. American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison. .
- 10- Carrow R.N. 1996. Drought resistance aspects of turfgrasses in the southeast: Root-shoot responses. *Crop Science* 36(3): 687-694.
- 11- Chakraborty U., and Pradhan D. 2011. High temperature-induced oxidative stress in *Lens culinaris*, role of antioxidants and amelioration of stress by chemical pre-treatments. *Journal of Plant Interactions* 6(1): 43-52.
- 12- Chandra A., and Dubey A. 2010. Effect of ploidy levels on the activities of  $\Delta^1$ -pyrroline-5-carboxylate synthetase, superoxide dismutase and peroxidase in *Cenchrus* species grown under drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry* 48(1): 27-34.
- 13- Chapman H.D., and Pratt P.F. 1962. *Methods of analysis for soils, plants and waters*. *Soil Science* 93(1): 68.
- 14- Dinkeloo K., Boyd S., and Pilot G. 2018. Update on amino acid transporter functions and on possible amino acid sensing mechanisms in plants. *Seminars in cell & developmental biology* 74:105-113.
- 15- El-Tayeb M.A. 2005. Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation* 45(3): 215-224.
- 16- Eraslan F., Inal A., Pilbeam D.J., and Gunes A. 2008. Interactive effects of salicylic acid and silicon on oxidative damage and antioxidant activity in spinach (*Spinacia oleracea* L. cv. Matador) grown under boron toxicity and salinity. *Plant Growth Regulation* 55(3): 207.
- 17- Fazel F., Gheysari M., Mohammadian M., and Etemadi. 2015. Effect of Maximum Allowable Depletion on Irrigation Use and Plant Parameters of Grass under Subsurface Drip Irrigation Management. *Sciences and engineering of Irrigation* 1(40): 155-165.
- 18- Gazimonas M., Banchshafiee B., Hajsaidhadi M.R., and Darzi M.T. 2013. The effects of vermicompost and nitrogen on quantity and quality of *Matricaria chamomilla*. *Medicinal and Aromatic Plant Research* 29(2): 269-280.
- 19- Giannopolitis C.N., and Ries S.K. 1977. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology* 59(2): 309-314.
- 20- Gu J., Yin X., Stomph T.J., Wang H., and Struik P.C. 2012. Physiological basis of genetic variation in leaf photosynthesis among rice (*Oryza sativa* L.) introgression lines under drought and well-watered conditions. *Journal of Experimental Botany* 63(14): 5137-5153.
- 21- 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(6): 728-736.
- 22- Hatamzadeh A., Molaahmad Nalouisi A., Ghasemnezhad M., and Biglouei M.H. 2015. The potential of nitric oxide for reducing oxidative damage induced by drought stress in two turfgrass species, creeping bentgrass and tall

- fescue. Grass and Forage Science 70(3): 538-548.
- 23- Hildebrandt T.M., Nesi A.N., Araújo W.L., and Braun H.P. 2015. Amino acid catabolism in plants. Molecular Plant 8(11): 1563-1579.
  - 24- Hsiao T.C., and Xu L.K. 2000. Sensitivity of growth of roots versus leaves to drought stress: biophysical analysis and relation to water transport. Journal of Experimental Botany 51: 1595-1616.
  - 25- Hussain K., Nawaz K., Majeed A., Khan F., Lin F., Ghani A., Raza G., Afghan S., Zia-ul-Hussnain S., and Ali K. 2010. Alleviation of salinity effects by exogenous applications of salicylic acid in pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) seedlings. African Journal of Biotechnology 9: 8602-8607.
  - 26- Hussain M., Malik M.A., Farooq M., Ashraf M.Y., and Cheema M.A. 2008. Improving drought tolerance by exogenous application of glycinebetaine and salicylic acid in sunflower. Journal of Agronomy and Crop Science 194(3): 193-199.
  - 27- Jaleel C.A., Gopi R., Manivannan P., Gomathinayagam M., Murali P.V., and Panneerselvam R. 2008. Soil applied propiconazole alleviates the impact of salinity on *Catharanthus roseus* by improving antioxidant status. Pesticide Biochemistry and Physiology 90(2): 135-139.
  - 28- Kadayifci A., Tuylu G.İ., Ucar Y., and Cakmak B. 2005. Crop water use of onion (*Allium cepa* L.) in Turkey. Agricultural Water Management 72(1): 59-68.
  - 29- Karimi N., Sadraddini S.A.A., Nazemi A., Farsadizadeh D., Hossienzadeh Dalir A., and Dehghani F. 2009. Effects of deficit irrigation on yield and growth of greenhouse cucumber. Soil and Sciences Journal 20(1): 15-25. (In Persian)
  - 30- Korkmaz A., Uzunlu M., and Demirkiran A.R. 2007. Treatment with acetyl salicylic acid protects muskmelon seedlings against drought stress. Acta Physiologiae Plantarum 29(6): 503-508.
  - 31- Kumar S., Imtiyaz M., Kumar A., and Singh R. 2007. Response of onion (*Allium cepa* L.) to different levels of irrigation water. Agricultural Water Management 89(1-2): 161-166.
  - 32- Loffi R., Pessarakli M., Gharavi-Kouchebagh P and Khoshvaghti H. 2015. Physiological responses of *Brassica napus* to fulvic acid under drought stress: Chlorophyll a fluorescence and antioxidant enzyme activity. The Crop Journal 3(5): 434-439.
  - 33- Mardani H., Baiat H., and Azizi M. 2011. The foliar application of salicylic acid on morphological and physiological properties of *Catharanthus roseus* L. under drought stress. Horticulture Journal 25(3): 320-336. (In Persian)
  - 34- Merewitz E.B., Gianfagna T., and Huang B. 2010. Effects of SAG12-ipt and HSP18. 2-ipt expression on cytokinin production, root growth, and leaf senescence in creeping bentgrass exposed to drought stress. Journal of the American Society for Horticultural Science 135(3): 230-239.
  - 35- Miura K., and Tada Y. 2014. Regulation of water, salinity, and cold stress responses by salicylic acid. Frontiers in Plant Science 5: 4.
  - 36- Nayak B.S., and Pereira L.M.P. 2006. *Catharanthus roseus* flower extract has wound-healing activity in Sprague Dawley rats. BMC Complementary and Alternative Medicine 6(1): 41.
  - 37- Németh M., Janda T., Horváth E., Páldi E., and Szalai G. 2002. Exogenous salicylic acid increases polyamine content but may decrease drought tolerance in maize. Plant Science 162(4): 569-574.
  - 38- Ngom B., Mamati E., Goudiaby M.F., Kimatu J., Sarr I., Diouf D., and Kane N.A. 2018. Methylation analysis revealed salicylic acid affects pearl millet defense through external cytosine DNA demethylation. Journal of Plant Interactions 13(1): 288-293.
  - 39- Olsen S.R., Sommers L.E., and Page A.L. 1982. Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties of Phosphorus. ASA Monograph 9: 403-430.
  - 40- Omidbeigi R. 2007. Production and processing of medicinal plants. 2<sup>nd</sup> ed.. Astane Ghodse Razavi, Mashhad, P347. (In Persian)
  - 41- Pan Y., Wu L.J., and Yu Z.L. 2006. Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch). Plant Growth Regulation 49(2-3): 157-165.
  - 42- Polle A. 1997. Eiblmeier M., Sheppard L, Murray M. Responses of antioxidative enzymes to elevated CO<sub>2</sub> in leaves of Beech (*Fagus Sylvatica* L.) seedlings grown under a range of nutrient regimes. Plant Cell Environ, 20: 1317-21.
  - 43- Porcel R., and Ruiz-Lozano J.M. 2004. Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. Journal of Experimental Botany 55(403): 1743-1750.
  - 44- Rahimi A., Jahanbin S., Salehi A., and Farajee H. 2016. Changes in content of chlorophyll, carotenoids, phosphorus and relative water content of medicinal plant of Borage (*Borago officinalis* L.) under the influence of mycorrhizal fungi and drought stress. Journal of Biological Sciences 17: 28-34.
  - 45- Revilla P., Fernández V., Álvarez-Iglesias L., Medina E. T., and Caverro J. 2016. Leaf physico-chemical and physiological properties of maize (*Zea mays* L.) populations from different origins. Plant Physiology and Biochemistry 107: 319-325.

- 
- 46- Sotiropoulos T.E., Dimassi K.N., and Therios I.N. 2005. Effects of L-arginine and L-cysteine on growth, and chlorophyll and mineral contents of shoots of the apple rootstock EM 26 cultured in vitro. *Biologia Plantarum* 49(3): 443-445.
  - 47- Toscano S., Scuderi D., Giuffrida F., and Romano D. 2014. Responses of Mediterranean ornamental shrubs to drought stress and recovery. *Scientia Horticulturae* 178: 145-153.
  - 48- Wang W.B., Kim Y.H., Lee H.S., Kim K.Y., Deng X.P., and Kwak S.S. 2009. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *Plant Physiology and Biochemistry* 47(7): 570-577.
  - 49- Wills R., and Li Y. 2016. Use of arginine to inhibit browning on fresh cut apple and lettuce. *Postharvest Biology and Technology* 113: 66-68.
  - 50- Zhang A., Jiang M., Zhang J., Ding H., Xu S., Hu X., and Tan M. 2007. Nitric oxide induced by hydrogen peroxide mediates abscisic acid-induced activation of the mitogen-activated protein kinase cascade involved in antioxidant defense in maize leaves. *New Phytologist* 175(1): 36-50.



## The Effect of Salicylic Acid and L-arginine on Morpho-physiological Properties and Leaf Nutrients of *Catharanthus roseus* under Drought Stress

M. Abaspour Esfaden<sup>1</sup>- S. Kallaterjari<sup>2\*</sup>- F. Fatehi<sup>3</sup>

Received: 27-06-2018

Accepted: 22-07-2019

**Introduction:** *Catharanthus roseus* is a beautiful herbaceous plant, belonging to Apocynaceae family, which is widely cultivated due to its unique and beautiful appearance. It is native to the Caribbean Basin and has historically been used to treat a wide assortment of diseases. European herbalists used this plant for different conditions such as headache and a folk remedy for diabetes. The effects of drought range from morphological to molecular levels and are evident at all phenological stages of plant growth at whatever stage the water deficit takes place. The limitation of water resources in our country is one of the important issues in landscape. However, we can alleviate the adverse effects of water stress with the use of some biological and non-biological stimulators. Under severe stress conditions, the antioxidant capacity may not be sufficient to minimize the harmful effects of oxidative damage. Therefore, synthesis of signal molecules in plants is an important step in our better understanding of how plants respond to environmental stresses. Several such signal molecules have been identified in plants such as jasmonic acid, ethylene and salicylic acid (SA). SA is considered as a hormone-like substance, which plays an important role in regulating a number of plants' physiological processes including photosynthesis. Besides, L-arginine is an amino acid, which can alleviate the adverse effect of drought. Among the 21 proteinogenic amino acids, arginine has the highest nitrogen to carbon ratio, which makes it especially suitable as a storage form of organic nitrogen. Synthesis in chloroplasts via ornithine is apparently the only operational pathway to provide arginine in plants. Therefore, the present study was conducted to evaluate the effect of salicylic acid (SA) and L-arginine on morpho-physiological properties of *C. roseus*.

**Materials and Methods:** This experiment was carried out as a factorial with two factors including the foliar application at five levels (control, L-arginine 1.5 and 3 mM, SA 100 and 200 mg /L) and water stress at three levels (100, 70 and 40% field capacity (FC)) in a completely randomized design with three replications. Water use efficiency (WUE), the root/shoot weight, flower number, flower diameter, leaf chlorophyll content, peroxidase and superoxide dismutase activity of leaf, and leaf macronutrients (nitrogen, phosphorus and potassium) were measured.

**Results and Discussion:** The results showed that WUE in plants under moderate stress (70% FC) was higher than the plants in control and severe drought condition (40% FC). Root/shoot weight at no foliar application (control) × 40% FC and L-arginine 1.5 mM × 40% FC was higher than other treatments. The number of flowers in the treatments of 100% FC and 70% FC was more than 40% FC. The highest flower diameter was obtained from the L-arginine 3 mM. Total chlorophyll of L-arginine 3 mM was higher relative to other treatments. Drought stress significantly increased the activity of antioxidant enzymes. The lowest amount of phosphorus and nitrogen was observed at no foliar application × 40% FC. Therefore, according to the optimum application of water and amendment substrates, at 70% FC stress, L-arginine 3 mM and SA 100 mg /l increased the nitrogen and phosphorus content. Overall, L-arginine 3 mM and SA 100 mg /l increased the flower number and flower diameter significantly. Accumulation of these organic solutes either actively or passively helps the plants to retain water within cells and protect cellular compartments from injury caused by dehydration or maintain turgor pressure during water stress. Turgor maintenance plays an important role in drought tolerance of plants which may be due to its involvement in stomatal regulation and hence photosynthesis. Foliar application with arginine resulted in elevated proline levels and radiotracer experiments demonstrated that both 3H and 14C from arginine can be recovered as proline. The physiological relevance and the biochemical pathway of the conversion of arginine to proline in plants remain unclear. The most prominent hypothesis is that ornithine, derived from arginine catabolism, is converted by  $\delta$ OAT to GSA/P5C, which then serves as substrate for proline synthesis by P5CR. This model has been doubted, since Arabidopsis  $\delta$ OAT was found to be exclusively localized in mitochondria, while P5CR is localized in the cytosol.

1 and 2- M.Sc. Graduate of Horticulture and Assistant Professor, Department of Horticulture Science and Agronomy, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, respectively.

(\*- Coresponing Author Email: kalatejari@yahoo.com)

3- Assistant Professor, Faculty of Agriculture, Payame Noor University, Tehran

**Conclusion:** The findings of our study showed that water stress can morphologically and physiological change *C. roseus*. There was no significant difference between 70% and 100% FC for root/shoot, flower number and flower diameter traits. So, we can reduce the use of water to 70% FC increased the flower number and flower diameter and can be used to alleviate the adverse impact of water stress.

**Keywords:** Growth stimulators, Macronutrients, Total chlorophyll, Water use efficiency