اثر پیش تیمار سالیسیلات بر پارامترهای رشد و رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه نعناع فلفلی (*Menta piperita* L.) تحت سطوح مختلف خشکی

معصومه تازیکه میان دره*[1]، مریم نیاکان[2]، مازیار احمدی گلسفیدی[3]

[1] کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، گرگان، ایران.

[2] دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، گرگان، ایران.

[3] استادیار، گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۳/۰۱ تاریخ پذیرش ۱۳۹۱/۰۵/۱۷

چکیده

اسیدسالیسیلیک و مشتقات آن می‌توانند در سازش گیاهان در مقابل تنش‌های محیطی شرکت کرده و با سایر متابولیت‌های سلولی و عوامل محیطی برای تنظیم پاسخ‌های گیاه به تنش‌ها بر هم کنش داشته باشد. در این تحقیق اندام هوایی گیاه نعناع فلفلی (*Menta piperita* L.) در اواسط رشد رویشی توسط دو غلظت از سالیسیلات (10^{-7}و10^{-4} مولار) به طور جداگانه به مدت ۲۰ روز هفته‌ای ۳ بار محلول پاشی و پیش تیمار شدند. بعد از این مدت، تنش خشکی در دو سطح خشکی ملایم (درصد ۳۵ ظرفیت اشباع خاک) و خشکی شدید (درصد ۱۵ ظرفیت اشباع خاک) به همراه شاهد یعنی آبیاری معمولی (درصد ۵۰ ظرفیت اشباع خاک) توأم با محلول پاشی سالیسیلات (با دو غلظت) بر گیاهان به‌مدت ۲۰روز اعمال شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد تغییرات طول اندام هوایی و ریشه و نیز تعداد و سطح برگ تحت تاثیر تنش‌های خشکی به کار گرفته شده در این تحقیق در مقایسه با شاهد معنی‌دار نبود، اما وزن تر و خشک ریشه و برگ تحت تاثیر تنش خشکی شدید کاهش معنی‌داری یافت. از سوی دیگر محلول پاشی با سالیسیلات به خصوص در غلظت 10^{-4} مولار موجب افزایش پارامترهای رشد در مقایسه با تنش شدید خشکی شد. تغییرات میزان کلروفیل‌های a و b در تیمارهای سالیسیلات و خشکی قابل ملاحظه نبود. بیشترین مقدار کاروتن و گزانتوفیل نیز در تیمارهای مربوط به تنش خشکی ملایم به همراه محلول پاشی با غلظت 10^{-4}مولار مشاهده شد.

واژگان کلیدی: خشکی، رشد، رنگیزه‌های فتوسنتزی، سالیسیلات، نعناع فلفلی

مقدمه

تنش به‌طورکلی عبارت است از یک فاکتور زنده و یا غیرزنده که از عمل طبیعی گیاه جلوگیری کرده و باعث کاهش رشد و عملکرد آن می‌شود. تنش خشکی هنگامی ایجاد می‌شود که رطوبت موجود در اطراف ریشه کمتر از نیاز آبی گیاه باشد. گیاهان در پاسخ به فاکتورهای تنش‌زا، ژن‌های گوناگونی را تنظیم می‌کنند که می‌توانند اثرات تنش را کاهش داده و مقاومت را افزایش دهند (Mahajan and Tuteja, 2005).

از جمله اثرات فیزیولوژیکی خشکی بر گیاهان، کاهش رشدرویشی و بویژه رشد اندام هوایی می‌باشد. کاهش فعالیت آنزیم کیناز وابسته به سیکلین منجر به تقسیم سلولی آهسته‌تر و همچنین بازدارندگی رشد تحت شرایط کمبود آب می‌شود (Schuppler et al.,

*مسئول مکاتبه: tazikeh.m@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

1998). رشد برگ معمولاً نسبت به رشد ریشه حساس‌تر است. کاهش گسترش برگ برای گیاه تحت شرایط تنش کاهش آب، مناسب و سودمند است زیرا تعرق کمتری را به دنبال دارد. از سوی دیگر رشد نسبی ریشه تحت شرایط کم آبی ممکن است افزایش یابددر این حالت ظرفیت سیستم ریشه برای جذب آب بیش‌تر از لایه‌های عمیق‌تر خاک تسهیل می‌شود (Mahajan and Tuteja, 2005).

یکی از شاخصترین اثرات خشکی ایجاد تنش اکسیداتیو به علت تولید گونه‌های واکنشگر اکسیژن (ROS) می‌باشد. غشاء کلروپلاست به آسیب تنش اکسیداتیو ایجاد شده توسط تولید میزان بالای ROS حساس است. ROS می‌تواند سبب پراکسیداسیون و داستریفیکاسیون لیپیدهای غشاء گردد و همچنین منجر به دناتوره شدن پروتئین و تخریب رنگیزه‌های فتوسنتزی شود (Bowler et al., 1992). El-Tayeb (۲۰۰۵) نیز معتقد است که کاهش کلروفیل ممکن است در اثر افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و یا ممانعت از بیوسنتز کلروفیل و یا هر دو باشد. El-Tayeb (۲۰۰۵) نیز معتقدند که کاهش کلروفیل ممکن است در اثر افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و یا ممانعت از بیوسنتز کلروفیل و یا هر دو باشد.

سالسیلیک اسید یا اورتوهیدروکسی بنزوئیک اسید و ترکیبات مربوطه به گروه متنوع فنلیک‌های گیاهی متعلق هستند اسید سالیسیلیک یک ترکیب فنلی گیاهی است که به عنوان یک تنظیم کننده شبه هورمونی مورد توجه است و در مکانیزم‌های دفاعی بر علیه تنش‌های زیستی و محیطی نیز نقش دارد (Shakirova and Bezrukova, 1997). سالسیلات می‌تواند به طور فعال منتقل، متابولیزه و مصرف گردد. در این راستا عنوان شده است این ترکیب فنلی می‌تواند به سرعت از نقطه‌ی کاربرد اولیه به بافت‌های مختلف گیاهی جابجا شود. با استفاده از تکنیک‌های آنالیز مدرن کشف شده است که سالسیلات‌ها در گونه‌های گیاهی مهم کشاورزی پراکنده هستند (Raskin et al., 1990).

کاربرد خارجی اسیدسالیسیلیک سبب ایجاد تحمل به گرما، سرمازدگی و تنش شوری در دولپه‌ای‌ها می‌شود (Borsani et al., 2001). بطورکلی سالیسیلات اثرات کلیدی در گیاهان متاثر از تنش از جمله اثر بر جذب عناصر معدنی، پایداری غشاء و روابط آبی (Barkosky and Einhelling, 1993)، عملکرد روزنه‌ها و بازدارندگی سنتز اتیلن (Srivastava and Dwivedi, 2000) و بهبود رشد دارد.

خانواده نعنا (Lamiaceae) یکی از بزرگترین و پیشرفته‌ترین خانواده‌های گیاهی با انتشار و توزیع جهانی از قطب شمال تا قطب جنوب است. این خانواده دارای ۲۰۰ جنس می‌باشد (Hedge, 1992). اسانس نعنا فلفلی یکی از معروفترین و رایج ترین روغن اسانسی مورد استفاده است و این به خاطر ترکیبات اصلی آن یعنی متانول و متانون می‌باشد. نعناع فلفلی یکی از قدیمی‌ترین داروهای گیاهی به‌شمار می‌آید که از سال‌ها پیش مورد استفاده قرار گرفته و در اکثر کتب داروشناسی معتبر به‌عنوان دارو از آن نام برده شده است. دارای طعم مخصوص و بوی بسیار خوبی است. اسانس نعناع فلفلی برای طعم‌دار کردن داروها و مواد خوراکی مانند شربت‌های سرفه، خمیر دندان و شوینده‌های دهان، آدامس و شیرینی جات مورد استفاده قرار می‌گیرد. امروزه نعناع یکی از پرمصرف‌ترین گیاهان دارویی و خوراکی است که به‌صورت خشک یا تازه به‌مصرف می‌رسد. از جمله اثرات دارویی این گیاه رفع دردهای روده، محرک عالی معده و کمک‌کننده به هضم غذا، تقویت‌کننده معده، ضد نفخ، ضدعفونی‌کننده، رفع دل پیچه.، رقیق کننده صفرا و کاهش کلسترول خون، رفع سردرد، از بین بردن گلودرد و رفع گرفتگی بینی

Archive of SID

www.SID.ir

هنگام سرماخوردگی است (Gupta, ؛Gul, 1994 1991).

امروزه استفاده از ترکیباتی که موجب اقزایش تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی شده و اثرات سوی آنها را بر گیاهان کاهش دهد سر لوحه بسیاری از پژوهش‌ها قرار گرفته است. با توجه به حساس بودن گیاه نعناع به شرایط کم آبی و نیز اثرات مطلوب کاربرد اگزوزن سالیسیلات بر پاسخ گیاهان به تنش‌های محیطی، هدف از انجام تحقیق حاضر بررسی اثر پیش تیمار با دو غلظت از سالیسیلات بر میزان مقاومت گیاه نعناع به سطوح مختلف خشکی از طریق مطالعه پارامترهای مورفولوژیکی گیاه نعناع و نیز میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی بود.

مواد و روش‌ها

ابتدا بذر نعناع از شرکت پا کان اصفهان تهیه و جهت رفع خفتگی بذرها دو عمل مالش بذرها و خیساندن آن‌ها در آب به‌مدت ٢٤ ساعت صورت گرفت. سپس جهت اطمینان از جوانه‌زنی، ٣٠ عدد ازبذرها خیسانده شد و بعد از چند روز درصد جوانه‌زنی دانه‌ها بیش از ٩٠ درصد تعیین شد. سپس ٥٦ گلدان ٥ کیلویی آماده و با خاک زمین‌های کشاورزی؛ خاک جنگلی و ماسه شسته به نسبت ٣:١:١ پر شدند. عمل کاشت بذرها در تاریخ ١١/ ١٢/ ٨٩ صور ت گرفت و در هر گلدان حدود ٤٠ عدد بذر در عمق ٢ تا ٤ سانتی‌متری از سطح خاک گلدان کشت شد. حدود ١٥-١٠ روز بعد از کشت جوانه‌های گیاه از خاک خارج شدند.

٦٠ روز بعد از کاشت گیاه تیمارهای مورد نظر اعمال گردید. قبل از اعمال تیمارهای خشکی گیاهان با سالیسیلات دردو غلظت 10^{-5} و 10^{-4} مولار به‌مدت ١٧روز به میزان‌های مساوی ابتدا هفته‌ای ٢ بار، سپس هفته‌ای ٣ بار محلول پاشی و پیش تیمار شدند. بعد از این مدت، تنش خشکی در دو سطح خشکی ملایم (درصد ٣٥ ظرفیت اشباع خاک) و خشکی شدید (درصد ١٥ ظرفیت اشباع خاک) به همراه شاهد یعنی آبیاری معمولی (درصد ٥٠ ظرفیت اشباع خاک) توأم با محلول پاشی سالیسیلات (با دو غلظت) بر گیاهان به مدت ١٧ روز اعمال شد. در جدول (١) ٩ تیمار اعمال شده بر گیاه نعناع آورده شده است.

سنجش پارامترهای رشد

برای اندازه‌گیری پارامترهای رشد پس از گذشت ٤ماه از زمان کاشت دانه‌ها، ابتدا گیاهان از هر گلدان با چهار تکرار به صورت تصادفی از خاک بیرون آورده شده و توسط آب شسته و خشک شدند، در مرحله بعد طول ریشه و اندام هوایی همچنین وزن‌تر ریشه و اندام هوایی با ترازوی دقیق با دقت ٠/٠٠١ بر حسب گرم سنجیده شد و برای بدست آوردن وزن خشک نمونه‌ها در آون ٩٠ درجه به‌مدت ٢٤ ساعت قرار گرفته و سپس وزن خشک آنها تعیین گردید. اندازه گیری سطح برگ نیز از ترسیم برگ بر کاغذ و تقسیم کل سطح بر واحد سطح تعیین شد.

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a وb، کاروتن و گزانتوفیل) (Jenson، ١٩٨٧)

جهت انجام این سنجش برگ مشخصی از گیاه انتخاب گردید و از هر تیمار چهار تکرار انتخاب شد سپس وزن تر اندام گیاهی توسط ترازوی دیجیتالی مشخص گردید. پس از توزین درهاون چینی با ١٠ میلی‌لیتر استون درصد ٨٠ به‌خوبی سائیده شده و محلول حاصل با کاغذ صافی واتمن ٢ بوسیله قیف صاف گردید و باقیمانده مواد گیاهی روی کاغذ صافی دوباره با ١٠ میلی‌لیتر استون درصد ٨٠ شسته شد که بدین ترتیب حجم نهایی عصاره به ٢٠ میلی‌لیتر رسید. سپس جهت جداسازی رنگیزه‌ها از یکدیگر ٢٠ میلی‌لیتر عصاره برگی حاصل از مرحله قبل در یک دکانتور ریخته شده و به آن ٢٠ میلی‌لیتر اتر نفت

Archive of SID

www.SID.ir

اضافه شد. سپس با احتیاط و از طریق دیواره درونی ۱۰ میلی‌لیتر آب نمک درصد ۳ اضافه گردید. درپوش دکانتور گذاشته و به آرامی حرکت دورانی داده شد و این کار آنقدر ادامه یافت که تمامی رنگیزه‌های موجود در نمونه به لایه بالایی منتقل شد سپس دکانتور بطور عمودی بر روی گیره فلزی مستقل روی یک پایه وصل شد تا لایه‌های موجود در آن کاملاً از یکدیگر جدا شد. به این ترتیب رنگیزه‌ها از استون به لایه بالایی (اتر نفت) منتقل شدند. لایه زیرین از دکانتور خارج و دور ریخته شد. اتر نفت حاوی رنگیزه‌ها در داخل دکانتور نگه داشته شد. سپس ۲۰ میلی‌لیتر متانول به محلول اتر نفت اضافه گردیده خوب مخلوط شدند. لایه بالایی اتر نفت به‌دلیل غیرقطبی بودن کلروفیل a و کاروتن‌ها و لایه پایینی متانولی به دلیل قطبی بودن کلروفیل b و گزانتوفیل‌ها را در خود حل می‌نماید دو لایه فوق در دکانتور از یکدیگر جدا گردیده و برچسب گذاری شدند. محلول متانولی پس از جداسازی با ۲۰ میلی‌لیتر دی‌اتیل اتر مخلوط گردید. ۱۰ میلی‌لیتر آب نمک ۳ درصد به آن اضافه گردید و مخلوط حاصل پس از هم زدن، دو لایه‌ای بود. لایه زیرین به‌دلیل قطبیت زیاد قادر به حل کردن رنگریزه‌ها نبود و دور ریخته شد و محلول بالایی (دی اتیل‌اتر) محتوی کلروفیل b و گزانتوفیل‌ها در ارلن ریخته و برچسب زده شد. در مرحله بعد برای جدا نمودن رنگیزه‌های کلروفیلی از کاروتنوئیدها از محلول درصد ۳۰ پتاس متانولی استفاده شد. بدین‌ترتیب ۲۰ میلی‌لیتر از محلول پتاس متانولی به هر کدام از محلول‌ها اضافه گردیده و کاملاً تکان داده شد تا عمل هیدرولیز کامل شود. سپس به هر کدام ۱۰ میلی لیتر آب نمک اضافه شد که در هر دو مورد دو لایه‌ی مشخص تشکیل گردید. لایه‌های بالایی شامل کاروتنوئید و گزانتوفیل و لایه‌های پایینی حاوی کلروفیل‌های a و b بوده که با استفاده از شاهد مناسب جذب در دو طول موج ٦٤٥ و ٦٦٣ نانومتر و جذب کاروتن و گزانتوفیل به ترتیب در دو طول موج ٤٥٠ و ٤٤٥ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شده. سپس با توجه به حجم عصاره، ضریب رقت و وزن نمونه، غلظت نهایی کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها و گزانتوفیل‌ها برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر محاسبه گردید (Jenson, 1987).

$$chla\frac{mg}{\text{بافت}} = (12/7OD_{663} - 2/69OD_{645})\frac{V}{1000W}$$

$$chlb\frac{mg}{\text{بافت}} = (22/9OD_{663} - 4/68OD_{645})\frac{V}{1000W}$$

محاسبه مقدار کاروتن و گزانتوفیل با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد

$$C = \frac{V \times A \times F \times 10}{2500}$$

که در آن:

V= حجم عصاره اولیه برحسب میلی‌لیتر، A= میزان جذب در طول موج ٤٥٠ و ٤٤٥ نانومتر

F= ضریب رقت (۱) C= غلظت رنگیزه برحسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر

تجزیه و تحلیل داده‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح P≤۰/۰۵ توسط برنامه آماری SPSS برای چهار تکرارصورت گرفت و رسم نمودارها به کمک نرم افزار Excel انجام شد و Error Bars نشان دهنده SE می‌باشد.

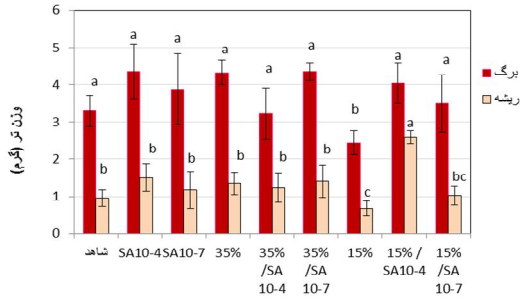
نتایج

اثر اسید سالیسیلیک و خشکی بر وزن تر برگ و ریشه نتایج نشان داد در خشکی شدید (۱۵ درصد ظرفیت اشباع خاک) وزن تر برگ کاهش معنی داری نسبت به سایر تیمارها داشت و کاربرد سالیسیلات در دو غلظت موجب افزایش وزن تر برگ نعناع شد.

مطابق با نتایج بدست آمده تنها استرس خشکی شدید (۱۵درصد ظرفیت اشباع خاک) به همراه سالیسیلات $۱۰^{-٤}$ مولار موجب افزایش معنی‌دار وزن‌تر ریشه در مقایسه با سایر تیمارها شد (شکل ۱).

Archive of SID

www.SID.ir

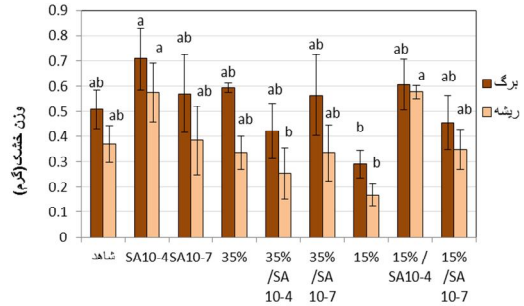


شکل ۱. اثر تیمارهای مختلف اسید سالیسیلیک (10^{-4} و 10^{-7} مولار)، استرس خشکی ملایم (۳۵درصد ظرفیت اشباع خاک)، استرس خشکی شدید (۱۵درصد ظرفیت اشباع خاک) و اثر توأم آنها بر وزن تر برگ و ریشه (اسید سالیسیلیک: SA)

*حروف مشابه نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $p \leq ۰/۰۵$ است.

وزن خشک برگ و ریشه

بیشترین وزن خشک برگ در تیمار اسید سالیسیلیک 10^{-4} مولار و کمترین وزن خشک برگ در تیمار خشکی شدید (۱۵درصد ظرفیت اشباع خاک) مشاهده شد. هم چنین مطابق با نتایج بدست آمده کاربرد سالیسیلات در غلظت 10^{-4} مولار موجب افزایش معنی‌دار وزن خشک ریشه نعناع در مقایسه با اعمال تنش خشکی شدید (۱۵درصد ظرفیت اشباع خاک) گشت و بین سایر تیمارها اختلاف معنی داری در سطح $p \leq ۰/۰۵$ مشاهده نشد (شکل ۲).

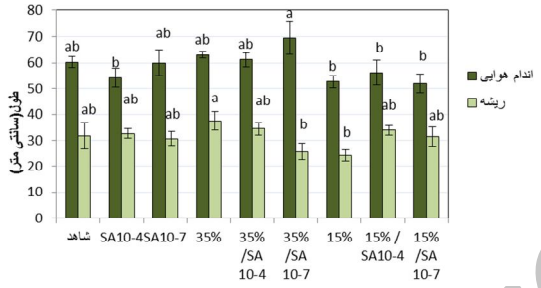


شکل ۲. اثر تیمارهای مختلف اسید سالیسیلیک (10^{-4} و 10^{-7} مولار)، استرس خشکی ملایم (۳۵درصد ظرفیت اشباع خاک)، استرس خشکی شدید (۱۵درصد ظرفیت اشباع خاک) و اثر توأم آنها بر وزن خشک برگ و ریشه (اسید سالیسیلیک: SA)

*حروف مشابه نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $p \leq ۰/۰۵$ است.

طول اندام‌هوایی و ریشه

اثر محلول پاشی اسیدسالیسیلیک 10^{-4} و 10^{-7} مولار و خشکی درصد ۱۵ و درصد ۳۵ و استفاده توأم آنها برروی طول اندام هوایی نشان داد اعمال تیمارهای تنش خشکی شدید (۱۵درصد ظرفیت اشباع خاک) هم به تنهایی و هم همراه با محلول باشی سالیسیلات کاهش طول اندام‌هوایی را به دنبال داشت. هم‌چنین مطابق با نتایج بدست آمده تنش خشکی شدید موجب کاهش طول ریشه نسبت به سایر تیمارها شد ولیکن بین سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری در سطح $p \leq ۰/۰۵$ مشاهده نشد (شکل ۳).



شکل ۳. اثر تیمارهای مختلف اسید سالیسیلیک (10^{-4} و 10^{-7} مولار)، استرس خشکی ملایم (۳۵درصد ظرفیت اشباع خاک)، استرس خشکی شدید (۱۵درصد ظرفیت اشباع خاک) و اثر توأم آنها بر طول اندام هوایی و ریشه (اسید سالیسیلیک: SA)

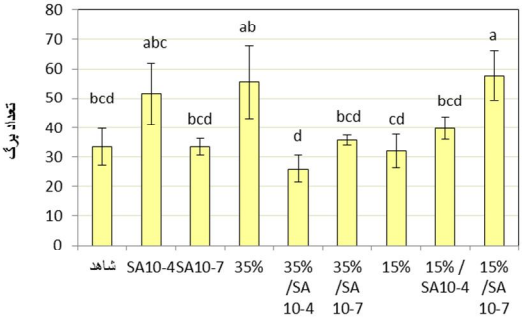
*حروف مشابه نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $p \leq ۰/۰۵$ است.

تعداد و سطح برگ

نتایج اثر تیمارهای مختلف خشکی و مقادیر متفاوت سالیسیلات نشان داد که بیشترین تعداد برگ در تیمار تنش شدید خشکی و کاربرد سالیسیلات در مقدار 10^{-7} مولار بود (نمودار٤). در حالی‌که اعمال تنش خشکی شدید به همراه محلول باشی با سالیسیلات در غلظت 10^{-4} مولار بیشترین سطح برگ نعناع را به خود اختصاص داد (شکل ۵).

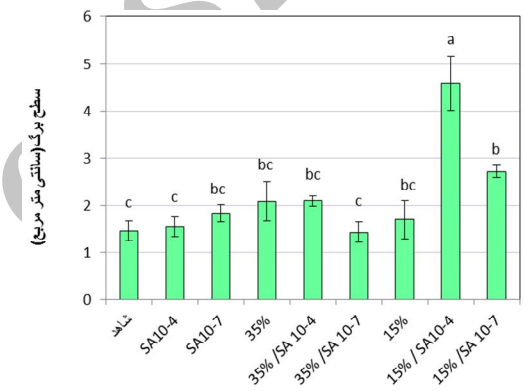
Archive of SID

www.SID.ir



شکل ٤. اثر تیمارهای مختلف اسید سالیسیلیک (10^{-4} و 10^{-7} مولار)، استرس خشکی ملایم (۳۵درصد ظرفیت اشباع خاک)، استرس خشکی شدید (۱۵درصد ظرفیت اشباع خاک) و اثر توأم آنها برتعداد برگ (اسید سالیسیلیک: SA)

*حروف مشابه نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $p\leq$۰/۰۵ است.

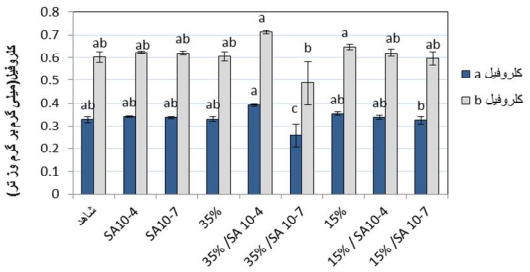


شکل ٥. اثر تیمارهای مختلف اسیدسالیسیلیک (10^{-4} و 10^{-7}مولار)، استرس خشکی ملایم (۳۵درصد ظرفیت اشباع خاک)، استرس خشکی شدید (۱۵درصد ظرفیت اشباع خاک) و اثر توأم آنها بر سطح برگ (اسید سالیسیلیک: SA)

*حروف مشابه نشانه عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $p\leq$۰/۰۵ است.

اثر اسید سالیسیلیک و خشکی بر رنگیزه‌های فتوسنتزی

کلروفیل **a** و **b**: در نمودار ٦ تغییرات میزان کلروفیل a در سطوح مختلف خشکی و نیز کابرد برونزاد سالیسیلات آورده شده است. مطابق با نتایج بدست آمده کمترین میزان این رنگیزه در تیمار ۳۵ درصد ظرفیت اشباع خاک و 10^{-7} مولار سالیسیلات دیده شد و بین این تیمار با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود داشت (شکل ٦).

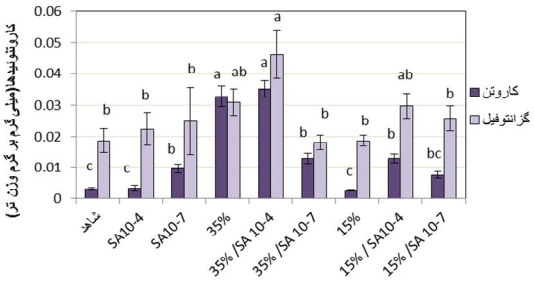


شکل ٦. اثر تیمارهای مختلف اسید سالیسیلیک (10^{-4} و 10^{-7} مولار)، استرس خشکی ملایم (۳۵ درصد ظرفیت اشباع خاک)، استرس خشکی شدید (۱۵ درصد ظرفیت اشباع خاک) و اثر توأم آنها بر میزان کلروفیل a و b (اسید سالیسیلیک: SA)

*حروف مشابه نشانه عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $p\leq$۰/۰۵ است.

کاروتن و گزانتوفیل: چنانکه در نمودار ۵ مشخص است در تیمار تنش ملایم خشکی (۳۵ درصد ظرفیت اشباع خاک) و نیز تنش خشکی ملایم به همراه محلول باشی سالیسیلات در غلظت 10^{-4} مولار میزان کاروتن برگ در مقایسه با سایر تیمارها افزایش قابل ملاحظه ای یافت. بیشترین مقدار گزانتوفیل نیزدر برگ نعناع در تیمار ۳۵ درصد ظرفیت اشباع خاک و اسید سالیسیلیک 10^{-4} مولار و کمترین مقدار ۳۵درصد ظرفیت اشباع خاک و اسید سالیسیلیک 10^{-7} مولار یده شد (شکل ۷).

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۷. اثر تیمارهای مختلف اسید سالیسیلیک (10^{-4} و 10^{-7} مولار)، استرس خشکی ملایم (۳۵درصد ظرفیت اشباع خاک)، استرس خشکی شدید (۱۵درصد ظرفیت اشباع خاک) و اثر توأم آنها بر میزان کاروتن و گزانتوفیل (اسید سالیسیلیک: SA)

*حروف مشابه نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $p\leq$۰/۰۵ است.

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد تغییرات طول اندام هوایی و ریشه و نیز تعداد و سطح برگ تحت تاثیر تنش‌های خشکی به کار گرفته شده در این تحقیق در مقایسه با شاهد معنی‌دار نبود، اما وزن تر و خشک ریشه و برگ تحت تاثیر تنش خشکی شدید کاهش معنی‌داری یافت. تنش خشکی، یکی از مهمترین تنش‌های محیطی است که می‌تواند رشد و نمو گیاهان را محدود کند. همچنین باعث انباشتگی گونه‌های اکسیژن واکنشگر (ROS) و منجر به ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاهان شود (El-Tayeb and Ahmed, 2010).تنش خشکی پارامترهای رشد در گیاهان دارویی نظیر ریحان (Khalil et al., 2010)، جعفری (Petropoulous et al., 2008) و ریحان بنفش (Moeini Ali-Shah et al., 2006) را کاهش داد.

کاهش وزن‌تر و خشک اندام‌های گیاه تحت تنش خشکی می‌تواند به دلیل کاهش قابل توجه در فتوسنتز، تورژسانس سلولی و فعالیت کیناز وابسته به سایکلین باشد (Sankar et al., 2007). در تحقیق حاضر نیز تنش‌های خشکی اعمال شده باعث کاهش معنی‌دار وزن خشک برگ در تنش خشکی شدید نسبت به شاهد گشت. از سوی دیگر در برخی گزارشات به افزایش طول ریشه در آفتابگردان (Tahir et al., 2002) و پریوش (Jaleel et al., 2008) اشاره شده است که مطابق با نتایج پژوهش حاضر در تنش خشکی درصد ۳۵ ظرفیت اشباع خاک (تنش ملایم) می‌باشد. Ratnayaka و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که تنش خشکی باعث افزایش نسبت طول ریشه به طول اندام هوایی می‌شود. در تحقیقاتی بر گیاهان پنبه و اسفناج (Peeva and Maslenkova, 2004) این اثر گزارش شده است که مطابق با تحقیق حاضر برای خشکی ملایم می‌باشد. در این رابطه اعلام شده است این افزایش می‌تواند مربوط به محتوای اسید آبسزیک در ریشه‌ها و اندام هوایی باشد (Manivannan et al., 2007). مطابق با نظر برخی محققین گسترش سیستم ریشه ای می‌تواند به علت سطوح بالای اسمولیت‌ها جهت جذب آب و حفظ فشار اسمزی مورد نیاز باشد (Djibril et al., 2005).

تحقیقات نشان داد کمبود شدید آب، رشد برگ و به نوبه خود سطوح برگی، تعداد برگ و زیتوده کل برگ را در گونه‌های گیاهی نظیر صنوبر (Wullschleger et al., 2005) و سویا (Zhang et al., 2004) کاهش داد. در تحقیق حاضر تنش‌های اعمال شده بر گیاه اثرات معنی‌داری را در مقایسه با شاهد به دنبال نداشت که به نظر احتمال می‌رود تعداد و سطح برگ گیاه نعناع به سطوح خشکی به کار گرفته شده در این تحقیق حساس نمی‌باشند. در تحقیق حاضر کاربرد اسید سالیسیلیک به‌ویژه در غلظت 10^{-4} مولار باعث افزایش پارامترهای رشد ریشه و برگ نسبت به تنش شدید خشکی شد. گزارش شده است که استعمال سالیسیلات اگزوژن موجب افزایش مقاومت گیاهان نسبت به تنش خشکی و شوری می‌شود

Archive of SID

www.SID.ir

(Tari et al., 2002). در این راستا اعلام شده است اسیدسالیسلیک باعث افزایش پارامترهای رشد در گیاهان دارویی مرزنجوش، ریحان (El-Lateef Gharib, 2006) در تنش خشکی شد که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

اسیدسالیسیلیک با اثر بر هورمون‌هایی نظیر آبسیزیک (Senaranta et al., 2002)، ژیبرلین، متیل جاسمونات (Traw and Bergelson, 2003) و اتیلن (Zhang et al., 2003) و همچنین با القای پاسخ‌های آنتی اکسیدانی و افزایش جذب مواد مغذی (Bideshki and Arvin, 2010) بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی و رشد گیاهان را تنظیم می‌کند و باعث سازگاری گیاهان به تنش‌های محیطی می‌شود. گزارش شده است تنش خشکی، میزان کلروفیل‌های a و b را در گیاهان دارویی نعناع (Misra and Srivastava, 2000)، ریحان (Khalil et al., 2010) کاهش داد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. کاهش محتوای کلروفیل در تنش‌های خشکی و شوری می‌تواند به علت تحریک تنش یونی، کاهش سطح فتوسنتزی، افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن، پراکسیداسیون این رنگیزه‌ها و تجزیه شیمیایی ژن‌ها ی مربوط به مسیر بیوسنتزی آنها باشد (Idrees et al., 2010).

El-Tayeb (۲۰۰۵) معتقدند که کاهش کلروفیل ممکن است در اثر افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و یا ممانعت از بیوسنتز کلروفیل و یا هر دو باشد. Avancini و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کرده‌اند که تیمار اسید سالیسیلیک در شرایط غیر تنش باعث کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌شود؛ که موید نتایج حاضر است. این کاهش می‌تواند به این دلیل باشد که اسید سالیسیلیک به عنوان یک ترکیب فنلی عمل می‌کند و در شرایط غیرتنش احتمالا با فعال سازی O_2 سبب خسارت به‌پروتئین‌های کلروپلاست و پراکسیداسیون لیپیدهای غشای تیلاکوئیدها و سرانجام کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی می‌شود.

در مطالعه حاضر کاربرد اسید سالیسلیک در غلظت 10^{-4} مولار تحت تنش ملایم خشکی، باعث افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل شد. گزارشات Azooz و Youssef (۲۰۱۰) در گندم و Bideshki و Arvin (۲۰۱۰) در پیاز موافق با نتایج تحقیق حاضر است. تحقیقات نشان داده است در زمان تنش، اسید سالیسیلیک از طریق افزایش توانایی آنتی اکسیدانی سلول و سنتز پروتئین‌های جدید از دستگاه فتوسنتزی محافظت می‌کند. اسیدسالیسیلیک می‌تواند با مهار فعالیت کلروفیلاز باعث پایداری غشاء و جلوگیری از تخریب غشای کلروپلاست شود (Daneshmand et al., 2009).

تحت تنش خشکی افزایش محتوای کاروتن در گیاهان دارویی رزماری (Munne-Bosch and Alegre, 2003) و محتوای کاروتن و گزانتوفیل در گیاهان دارویی نعناع (Misra and Srivastava, 2000) گشت. Jeyaramraji و همکاران (۲۰۰۵) مشاهده کردند که کمبود ملایم آب باعث افزایش کاروتنوئیدها میشود، در حالی که کمبود شدید آب موجب کم شدن کاروتنوئیدها شد، که موافق با نتایج پژوهش حاضراست.

به گزارش Sairam و همکاران (۱۹۹۸)، کاروتنوئیدها با استفاده از چرخه گزانتوفیل و با واکنش‌های اپوکسیداسیون و دپوکسیداسیون، مصرف اکسیژن را کاهش داده و از کلروفیل در مقابل فوتواکسیداسیون محافظت می‌کنند. از سوی دیگر این رنگیزه‌ها با مصرف الکترون‌های اضافی به وسیله چرخه گزانتوفیل از غشای تیلاکوئیدی در برابر خطر تخریب انواع اکسیژن فعال، محافظت می‌نماید و به هنگام تنش کمبود آب به بقاء سیستم فتوسنتزی کمک

Archive of SID

www.SID.ir

می‌کند. مطابق با نتایج بدست آمده بالاترین غلظت کاربردی اسید سالیسیلیک (10^{-4} مولار) در دو سطح تنش ملایم و شدید خشکی در مورد گزانتوفیل دارای اثر افزایشی معنی‌داری بود. تحت تنش خشکی، کاربرد اسیدسالیسیلیک در گیاه دارویی بابونه (فاضلیان و اسرار، ۱۳۹۰) و برگ گیاه بامیه (Baghizadeh et al., 2009) باعث افزایش محتوای گزانتوفیل شد که با نتایج ما مطابقت دارد. در این رابطه گزارش شده است اسیدسالیسیلیک سنتز کاروتنوئیدها، گزانتوفیل‌ها و نسبتی از دپوکسیداسیون را در گیاهان افزایش می‌دهد (Moharekar et al., 2003).

نتیجه‌گیری نهایی

نعناع فلفلی گیاهی است دارویی که نسبت به کاهش میزان رطوبت خاک حساس بوده و این امر کشت گیاه را در مناطق مختلف با توجه به کاهش نزولات جوی محدود می‌کند. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق می‌توان با پیش تیمار گیاه از طریق محلول پاشی با سالیسیلات به خصوص در غلظت 10^{-4} مولار، کاهش شاخص‌های رشد و نیز رنگیزه‌های فتوسنتزی بخصوص ترکیبات کاروتنوئیدی (کاروتن و گزانتوفیل) را در شرایط تنش خشکی بهبود بخشید.

منابع

فاضلیان، ن. و اسرار، ز. (۱۳۹۰). تأثیر برهمکنش آرسنیک و سالیسیلیک اسید بر رشد و برخی از شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه بابونه. زیست شناسی گیاهی، سال سوم، شماره ۸، صفحات ۱۲-۱.

Avancini, G., Abreu, I.N., Saldana, M.D.A., Mohamed, R.S. and Mazzafera, P. (2003). Induction of pilocarpine. Formation in jaborandi leaves by salicylic acid and mehyl jasmonat. Phytochemistry, 63: 171-175.

Azooz, M.M. and Youssef, M.M. (2010). Evaluation of heat shok and salicylic acid treatments as inducers of drought stress tolerance in hassawi wheat. American Journal of Plant Physiology, 5 (2): 56-70.

Baghizadeh, A., Ghorbanli, M., Haj Mohammad Rezaei, M. and Mozafari, H. (2009). Evaluation of interaction effect on drought stress with ascorbat and salicylic acid on some of physiological and biochemical parameters in okra (*Hibiscus esculentus* L.) Research Journal of Biological Sciences, 4(4): 380-387.

Barkosky, R.R. and Einhellig, F.A. (1993). Effects of salicylic acid on plant–water relationships. Journal of Chemistry and Ecollogy, 19:237-247

Bideshki, A. and Arvin, M.J. (2010). Effect of salicylic acid (SA) and drought stress on growth, bulb yield and allicin content of garlic (*Allium sativum*) in field. Plant Ecophysiology, 2: 73-79.

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

Bowler, C., Montagu, M.V. and Inze, D. (1992). Superoxide dismutase and stress tolerance. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Molcuole and Biology., 43: 83–116

Daneshmand, F., Arvin, M.J. and Manuchehry Kalantari, Kh. (2010). Acetylsalicylic acid (Aspirin) induces salinity and osmotic tolerance in *Solanum acaule in vitro*. Agrochimical Journal, 54(1): 52-64

Djibril, S., Mohamed, O.K., Diaga, D., Diégane, D., Abaye, B.F., Maurice, S. and Alain, B. (2005). Growth and development of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) seedlings under drought and salinity stresses. African Journal Biotechnology., 4: 968-972.

El-Lateef Gharib, F. (2006). Effect of salicylic acid on the growth, metabolic activities and oil content of basil and marjoram. International Journal of Agriculture & Biology, 8(4): 485-492.

El-Tayeb, M.A. (2005). Response of barley grain to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regulation, 42: 215-224.

El-Tayeb, M.A. and Ahmed, N.L. (2010). Response of wheat cultivars to drought and salicylic acid. American-Eurasian Journal of Agronomy, 3(1): 01-07.

Archive of SID

www.SID.ir

Gul, P. (1994). Seasonal variation of oil and menthol content in *Mentha arvensis* Linn. Pakistan Journal of Forestry 44: 16-20

Gupta, R. (1991). Agrotechnology of Medicinal Plants. In Wijesekera ROB (ed) The Medicinal Plant Industry CRC Press, pp, 43-57.

Hedge, C. (1992). A global survey of the biogeography of the Labiatae. In Harley RM & Reynolds T (eds) Advances in Labiatae Science. Royal Botanic Gardens, Kew, pp, 7.

Idrees, M., Khan, M.M.A., Aftab, T., Naeem, M. and Hashmi, N. (2010). Salicylic acid-induced physiological and biochemical changes in lemongrass varieties under water stress. Journal of Plant Interactions, 5(4): 293-303.

Jaleel, C.A., Manivannan, P., Lakshmanan, G.M.A., Gomathinayagam, M. and Panneerselvam, R. (2008). Alterations in morphological parameters and photosynthetic pigment responses of *Catharanthus roseus* under soil water deficits. Colloids Surf. B: Biointerfaces, 61: 298-303.

Jenson, A. (1987). Chlorophyll and carotenoid: Hand Book of Physiology and Biochemical merhod. Cambridge University Press.

Jeyaramraja, P.R., Meenakshi, S.N., Kumar, R.S., Joshi, S.D. and Ramasubramanian, B. (2005). Water deficit induced oxidative damage in tea (*Camelia sinensis*) plants. Journal of Plant Physiology, 162: 413-419.

Khalil, S.E., Nahed, G., Aziz, A.E. and Abou Leil, B.H. (2010). Effect of water stress and ascorbic acid on some morphological and biochemical composition of *Ocimum basilicum* plant. Journal American Science., 6: 33-44.

Mahajan, S. and Tuteja, N. (2005). Cold, salinity and drought stress: an overview. Archives of Biochemistry and Biophysics, 444: 139-158

Manivannan, P., Jaleel, C.A., Sankar, B., Kishorekumar, A., Somasundaram, R., Alagu Lakshmanan, G.M. and Panneerselvam, R. (2007). Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. Colloids Surf. B: Biointerfaces, 59: 141-149.

Misra, A. and Srivastava, N.K. (2000). Influence of water stress on Japanes mint. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, 7(1): 51-58.

Moeini Ali-Shah, H., Heidari, R., Hassani, A. and Asadi Dizaji, A. (2006). Effect of water stress on some morphological and biochemical characteristics of purple basil (*Ocimum basilicum*). Journal of Biological Sciences, 6(4): 763-767.

Moharekar, S., Lokhande, T., Hara, R., Tanaka, R. and Tanaka, A. (2003). Effect of salicylic acid on cholorophyll and carotenoids contents of wheat and moong seedling. Photosynthetica, 41: 315-317.

Munne-Bosch, S. and Alegre, L. (2003). Drought-induced changes in the redox state of tocopherol, ascorbate, and the diterpene carnosic acid in chloroplasts of labiatae species differing in carnosic acid contents. Plant Physiology, 131: 1816-1825.

Peeva, V. and Maslenkova, L. (2004). Thermoluminescence study of Photosystem II activity in *Haberlea rhodopensis* and spinach leaves during desiccation. Plant Biology., 6: 1-6.

Petropoulos, S.A., Daferera, D., Polissiou, M.G. and Passam, H.C. (2008). The effect of water deficit stress on the growth, yield and composition of essential oils of parsley. Science. Horticultural., 115: 393-397.

Raskin, I., Skubatz, H., Tang, W. and Meeuse, B.J.D. (1990). Salicylic acid levels in thermogenic and non-thermogenic plants. Annals Botanica., 66: 369-373.

Ratnayaka, H.H., Molin, W.T. and Sterling, T.M. (2003). Physiological and antioxidant responses of cotton and spurred anoda under interference and mild drought, Journal Experimental of Botanic., 54: 2293-2305

Sairam, R.K., Deshmukh, P.S. and Shukla, D.S. (1997). Tolerance of drought and temperature stress in relation to increased antioxidant enzyme activity in wheat. Journal of Agronomy & Crop Science., 178: 171-177.

Sankar, B., Jaleel, C.A., Manivanna, P., Kishorekumor, A., Somasundaram, R. and Panneerselva, R. (2007). Drought-induced biochemical modifications and proline metabolism in *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. Acta Botanica Croatica, 66: 43-56.

Schuppler, U., He, P.H., John, P.C.L. and Munns, R. (1998). Effects of water stress on cell division and cell-division-cycle-2-like cell-cycle kinase activity in wheat leaves. Plant Physiolgy., 117: 667-678.

Senaranta, T., Touchell, D., Bunn, E. and Dixon, K. (2002). Acetyl slicylic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. Plant Growth Regulation, 30(4): 157-161.

Archive of SID

www.SID.ir

Shakirova, F.M. and Bezrukova M.V. (1997). Induction of wheat resistance against environmental salinization by salicylic acid. Biology Bulletin, 24: 109-112.

Srivastava, M.K. and Dwivedi, U.N. (2000). Delayed ripening of banana fruit by salicylic acid. Plant Science., 158: 87-96.

Tahir, M.H.N., Imran, M. and Hussain, M.K. (2002). Evaluationof sunflower (*Helianthus annuus* L.) inbred lines for drought tolerance. Int. Journal of Agricultural Biology., 3: 398-400.

Tari, I., Csiszar, J., Szalai, G., Horvath, F., Pecsvaradi, A., Kiss, G., Szepesi, A., Szabo, M. and Redei, L. (2002). Acclimation of tomato plants to salinity stress after a salicylic acid pre-treatment. Acta Biology, 46: 55-56.

Traw, M.B. and Bergelson, J. (2003). Interactive effects of jasmonic acid, salicylic acid and gibberlline on induction of trichomes in *Arabidopsis*. American. Society Plant. Biologist, 133: 1367-1375.

Wullschleger, S.D., Yin, T.M., DiFazio, S.P., Tschaplinski, T.J., Gunter, L.E., Davis, M.F. and Tuskan, G.A. (2005). Phenotypic variation in growth and biomass distribution for two advanced-generation pedigrees of hybrid poplar. Canadian Journal For. Resarch., 35: 1779-1789

Zhang, M., Duan, L., Zhai, Z., Li, J., Tian, X., Wang, B., He, Z. and Li, Z. (2004). Effects of plant growth regulators on water deficit-induced yield loss in soybean. Proceedings of the 4th International Crop Science Congress, Brisbane, Australia.

Archive of SID

www.SID.ir