

اثرات جیبرلین بر محتوای رنگیزه های فتوستتزی، پرولین، فنل و فلاونوئید در گیاه دارویی

مرزه (*Satureja hortensis* L.) تحت تنش شوریرعنا فیروزه^{۱*}، رمضانعلی خاوری نژاد^۱، فرزانه نجفی^۲ و سارا سعادت‌مند^۱^۱ تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی^۲ تهران، دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی، گروه زیست‌شناسی

تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۲۸

تاریخ دریافت: ۹۵/۷/۱۵



چکیده

تنش شوری یکی از عمده ترین موانع برای رشد و تولید موفق محصول در گیاهان است. عوامل هورمونی مانند جیبرلین به عنوان تنظیم کننده رشد گیاهی می تواند اثرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متفاوتی در گیاهان تحت تنش شوری ایفا کنند. در پژوهش حاضر اثر غلظت های مختلف کلرید سدیم (صفر، ۹۰، ۶۰، ۳۰ و ۱۲۰ میلی مولار) و جیبرلین (صفر و ۱۰۰ میکروگرم در لیتر) بر محتوای رنگیزه های فتوستتزی، پرولین، مالون دی آلدئید، فنل و فلاونوئید در گیاه مرزه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان کلروفیل های *a* و *b* با افزایش غلظت های شوری و کاربرد جیبرلین کاهش می یابد. در مقابل شوری میزان پرولین، فنل کل و فلاونوئید را در گیاهان مرزه تحت تنش به طور معنی داری نسبت به نمونه شاهد افزایش داد. در برهم کنش شوری و جیبرلین نیز میزان این ترکیبات نسبت به شاهد و تیمارهای ساده شوری افزایش معنی داری را نشان داد. میزان تجمع مالون دی آلدئید که میزان تخریب و پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی را نشان می دهد نیز با افزایش غلظت کلرید سدیم افزایش معنی داری نسبت به نمونه شاهد داشت ولی با اضافه کردن ۱۰۰ میکروگرم در لیتر جیبرلین به تیمارهای شوری میزان تجمع آن کاهش یافت که این نشان می دهد جیبرلین آثار منفی نمک بر پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء را کم کرده و بدین ترتیب باعث افزایش مقاومت گیاهان به شرایط تنش شده است.

واژه های کلیدی: پرولین، جیبرلین، شوری، فلاونوئیدها، فنل، مرزه

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۵۵۸۴۷۳۳۲، پست الکترونیکی: r.firuze1848@yahoo.com

مقدمه

یابد، کاهش شدید فتوستتزی، مختل شدن فرایندهای فیزیولوژیکی، کاهش جذب مواد مغذی، توقف رشد و سرانجام مرگ گیاه نیز حادث می شود (۷). همه این اتفاقات ناشی از آثار توأم یا منفرد دو جزء اسمزی و یا سمیت ناشی از نمک خواهد بود.

بقاء گیاه تحت شرایط محیطی شور مستلزم توانایی و مقاومت آن گیاه در برابر شرایط اسمزی شدید حاصل از شوری است. در چنین شرایطی گیاه بمنظور ادامه جذب آب از طریق تجمع ترکیبات اسمزی از جمله پرولین و

تنش شوری بعد از خشکی یکی از عمده ترین موانع در تولید موفق محصولات گیاهی است و این موضوع از عمده ترین مشکلات کشاورزی در نواحی خشک و نیمه خشک جهان که با کمبود آب مواجه هستند، محسوب می شود. شوری از چند طریق بر فعالیت های فیزیولوژیکی گیاهان تأثیر می گذارد (۱۱). کاهش پتانسیل اسمزی و پتانسیل کل آب همراه با از بین رفتن آماس، بسته شدن روزنه ها و کاهش رشد و محصول دهی از جمله علائم تنش شوری محسوب می شود. در صورتیکه افزایش شدت شوری ادامه

آزاد در جلوگیری از گسترش جهش‌های ژنی و سلولی نقش بسزایی را می‌توانند ایفا کنند. به طور کلی محصولات یک گیاه دارویی زمانی مقرون به صرفه است که مقدار متابولیت‌های اولیه و ثانویه آن به حد مطلوب رسیده باشد، پس انتخاب عوامل محیطی تاثیرگذار و ارقام گیاهی مناسب می‌تواند ما را در رسیدن به هدف اصلی که تولید گیاهانی با حداکثر خواص دارویی و درمانی است کمک کند (۳۴ و ۴۳ و ۴۷).

از بارزترین رویدادها و تغییرات بیوشیمیایی مهم دیگری که ضمن تنش شوری در گیاه رخ می‌دهد، تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) است که تعادل ردوکس سلولی را مختل کرده و باعث تنش اکسیداتیو می‌شود که این خود می‌تواند منجر به غیرفعال‌سازی آنزیم‌ها، پراکسیداسیون لیپیدها، تخریب ساختار غشاء، تولید و تجمع مالون دی‌آلدهید شود (۳۶). افزایش در محتوای مالون دی‌آلدهید در شرایط تنش شوری در گیاه برنج توسط Demiral و Turkan در سال ۲۰۰۵ نیز گزارش گردیده است (۱۸). به طور طبیعی همواره در گیاهان به جهت ممانعت از اینگونه تنش‌های اکسیداتیو واکنش‌هایی صورت می‌گیرد و در گونه‌های مختلف گیاهی، مقادیر متفاوتی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان سنتز شده که آن‌ها را در مقابل گونه‌های مضر اکسیژن فعال شده محافظت می‌کند (۴۰). برای مثال گیاهان سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدان قوی مانند آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی مختلفی را به کار می‌اندازند که مسئول حذف و یا غیرفعال کردن ROS تجمع یافته در گیاهان تحت تنش هستند و با اینکار مقاومت گیاهان به این شرایط را افزایش می‌دهند (۱۵). فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی علاوه بر این که آنتی‌اکسیدان‌های قوی هستند جزء متابولیت‌های ثانویه گیاهی نیز محسوب می‌شوند. به طور کلی باید گفت یکی از مهمترین عواملی که تولید متابولیت‌های ثانویه را در گیاهان تحت تاثیر قرار می‌دهد تنش‌های محیطی است (۱۳). به نظر می‌رسد که شوری نیز به عنوان یکی از

کربوهیدرات‌های محلول، پتانسیل اسمزی خود را کاهش می‌دهد و به عبارت دیگر تنظیم اسمزی صورت می‌گیرد (۳۳ و ۱۸). این کار به گیاهان اجازه می‌دهد تا با حفظ تورژسانس برگ در شرایط پتانسیل پایین آب، رشد کنند و با تنظیم اسمزی به نحوی از تنش دوری نمایند. به عنوان مثال دیده شد در یک آزمایش همراه با تنش اسمزی، گیاهان تیمار شده با پرولین در مقایسه با نمونه شاهد، محتوی آب برگ بیشتری را به خود اختصاص دادند (۱۰). تحقیقات بر روی گیاه جو نیز نشان داد که گیاهی که توسط مهندسی ژنتیک دستکاری شده و قادر به تولید پرولین بیشتری است، در مقایسه با تیپ وحشی در شرایط تنش اسمزی رشد بهتری را دارد (۱۰). از آنجاییکه تنظیم اسمزی فرآیندی زمان‌بر است و تا حد زیادی به مدت زمان و میزان تنش آب در گیاه بستگی دارد، بنابراین کاهش سریع و شدید در میزان آب، اجازه و فرصت تنظیم اسمزی را به گیاه نمی‌دهد (۲۸ و ۳۷)، ولی در هنگام تنش تدریجی و طولانی مدت، پتانسیل کل آب گیاه توسط تنظیم اسمزی حفظ می‌شود، به این ترتیب که گیاه از طریق جذب یون‌های معدنی از محیط و تجمع آن‌ها در بخش‌های هوایی و یا از طریق سنتز مواد حل‌شونده سازگار از جمله پرولین که به عنوان اسمولیت عمل می‌کنند، این کار را انجام می‌دهد (۳۷). گیاه مرزه نیز از جمله گیاهانی است که به نظر می‌رسد توانایی تولید اسمولیت‌های سازگار از جمله پرولین و به دنبال آن توانایی تحمل به شوری را دارد و از طرفی انتظار می‌رود متابولیت‌های ثانویه‌ای که خاصیت دارویی آن را تعیین می‌کنند در چنین شرایطی افزایش یابند. گیاه مرزه با نام علمی *Satureja hortensis*، یک گیاه دارویی و علفی یکساله از خانواده نعناعیان (Labiatae) است که به دلیل داشتن ترکیبات دارویی و متابولیت‌های ثانویه متنوع خواص دارویی و ضد میکروبی فراوانی دارد (۴۷). ترکیبات فنلی و فلاونوئیدهای موجود در این گیاه آنتی‌اکسیدان‌های قوی هستند که آثار مهمی در بیولوژی سلولی دارند و با جمع‌آوری رادیکال‌های

تنش‌های محیطی وارد شده بر گیاهان با فعال‌سازی تعدادی از مکانیسم‌های سلولی که منجر به تحریک و افزایش تولید سلسله‌ای از متابولیت‌های ثانویه موجود در سلول گیاهی می‌شود بر فرآیند تولید این ترکیبات تأثیرگذار باشد.

از سوی دیگر اعمال تیمارهای فیتوهورمونی می‌تواند بر پاسخ گیاهان به تنش شوری تأثیر گذاشته و از اثرات مخرب آن بر گیاه بکاهد (۲۳). یکی از موثرترین هورمون‌ها جیبرلین است که انتظار می‌رود بتواند نقش مهمی در بهبود وضعیت رشدی گیاهان و مقاومت آنها تحت تنش شوری ایفا کند. برای مثال استفاده از اسید جیبرلیک در گیاه (*Vigna radiata* L.) آبیاری شده با غلظت‌های مختلف آب شور نشان داد که پارامترهای رشدی گیاه در اثر استفاده از اسید جیبرلیک بهبود یافته و استفاده از این هورمون، استقرار گیاه را بهبود بخشید. به نظر می‌رسد که آثار بازدارندگی شوری بر پارامترهای رشدی این گیاه با استفاده از جیبرلین، کم می‌شود. این نتایج موافق با یافته‌هایی است که استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه نظیر جیبرلین را بر عوامل بازدارنده‌ی رشدی موثر می‌دانند (۲۱).

در این راستا به جهت بررسی چگونگی تغییرات ترکیبات درون سلولی در گیاه مرزه تحت شرایط شور و همچنین نقش تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی از جمله جیبرلین که انتظار می‌رود با تأثیر بر برخی مسیرهای متابولیسمی و فرآیندهای سلولی، بهبود رشد و تحمل هر چه بیشتر به شوری را در گیاهان تحت تنش فراهم کنند، آزمایشی انجام گرفت تا اثر غلظت‌های مختلف شوری و جیبرلین و همچنین برهم‌کنش آنها در گیاه مرزه و نقش آنها در افزایش هر چه بیشتر خواص دارویی این گیاه مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روشها

آماده‌سازی بذرها، کشت و تیماردهی گیاهان: بذرهای مرزه از موسسه اصلاح بذر و نهال کرج تهیه شده و به مدت ۱۰ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد قرار گرفتند. بذرهای استریل شده در پلیتی که حاوی کاغذ صافی مرطوب بود، قرار داده شدند. زمانی که بذرها به مرحله جوانه زنی رسیدند، به گلدان‌های حاوی ماسه مرطوب منتقل شدند. گلدان‌ها در شرایط گلخانه، با درجه حرارت 25 ± 1 سانتی‌گراد در روز و 18 ± 1 سانتی‌گراد در شب قرار گرفتند و دوره نوری شامل ۱۷ ساعت روشنایی و ۷ ساعت تاریکی بود. گیاهان مرزه تا رسیدن به مرحله چهار برگی (۳۰ روزه) به طور منظم هر دو روز یکبار در حد ظرفیت زراعی خاک با محلول هوگلند آبیاری شدند و پس از آن، اعمال تنش شوری در سطوح صفر (شاهد)، ۳۰، ۹۰، ۶۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم (NaCl) به مدت ۴۵ روز بر روی آنها انجام گرفت.

برای تیمار جیبرلین نیز از محلول جیبرلین که از پودر خالص جیبرلین در غلظت ۱۰۰ میکروگرم در لیتر تهیه شده بود به صورت محلول پاشی بر روی برگ‌ها در دو مرحله شامل مرحله اول، همزمان با اعمال تیمار شوری و مرحله دوم به فاصله یک ماه پس از محلول پاشی اول استفاده شد. محلول پاشی گیاهان صبح هنگام و با اسپری ریز انجام شد به طوری که سطح تحتانی و فوقانی برگ با محلول جیبرلین آغشته شد. سرانجام بعد از ۷۵ روز گیاهان مرزه تحت تیمار جهت سنجش پارامترهای بیوشیمیایی برداشت شدند.

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی: جهت بررسی محتوای کلروفیل‌های *a* و *b* در غلظت‌های مختلف از شوری و جیبرلین و همچنین تأثیر برهم‌کنش این عوامل بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی ۰/۱ گرم از برگ‌های تازه مرزه به هاون چینی منتقل شده و با حدود ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ به خوبی ساییده شدند و محلول یکنواختی بدست آمد.

سپس محلول فوق‌توسط یک قیف و کاغذ صافی واتمن

(TCA) ۰/۱ درصد سائیده و عصاره حاصل به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ g سانتیفریوژ شد. به یک میلی لیتر از محلول رویی حاصل از سانتیفریوژ، ۴ میلی لیتر TCA ۰/۲ درصد که حاوی ۵ درصد تیوباریتوریک اسید بود، اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حمام آب گرم حرارت داده، سپس بلافاصله در یخ سرد و دوباره به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ g سانتیفریوژ شد. شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. ماده مورد نظر برای جذب در این طول موج کمپلکس قرمز (MDA-TBA) است. از آنجایی که بعضی از ترکیبات به عنوان ترکیب مزاحم در این محلول در طول موج ۵۳۲ نانومتر نیز جذب دارند، جذب این ترکیبات (رنگیزه‌های غیراختصاصی) در ۶۰۰ نانومتر خوانده و از این مقدار کسر گردید. برای محاسبه غلظت (MDA) از ضریب خاموشی معادل cm^{-1} ($0.155 \mu\text{M}^{-1}$) استفاده و بر اساس واحد $(\mu \text{mol g}^{-1})$ (F.W.) بیان شد.

سنجش میزان فنل کل و فلاونوئیدها: فنل و فلاونوئیدها

از جمله متابولیت‌های ثانویه ای هستند که به نظر می‌رسد در شرایط تنش زای محیطی و همچنین در حضور برخی از فیتوهورمون‌ها میزان تولید و تجمع آنها در سلول گیاهی تغییر می‌یابد، به این منظور جهت تعیین میزان تغییرات فنل کل از تست Folin-Ciocalteu و روش Chun و همکاران (2003) استفاده شد (۱۷). عصاره اتانولی به دست آمده با معرف Folin-Ciocalteu و کربنات سدیم مخلوط شد و پس از یک ساعت میزان فنل کل با استفاده از روش رنگ سنجی در ۷۱۵ نانومتر تعیین شد. به این صورت که ۰/۱ گرم از پودر خشک گیاهی (آسیاب شده) به ۵ میلی لیتر محلول اتانول ۹۵٪ اضافه شد و برای مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در تاریکی قرار داده شد، سپس به یک میلی لیتر از محلول رویی یک میلی لیتر اتانول ۹۵٪ اضافه و با آب مقطر به حجم ۵ میلی لیتر رسانیده شد. به این مخلوط ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین ۵۰٪ و یک میلی لیتر کربنات سدیم

شماره ۲ صاف شده و به کمک استون ۸۰٪ در بالن ژوژه به حجم نهایی ۵۰ میلی لیتر رسانده شدند و در مرحله ی بعد غلظت کلروفیل‌های *a* و *b* به روش Lichtenthaler (1994) و از روی میزان جذب آنها در طول موج‌های ۶۶۳/۲ و ۶۴۶/۸ نانومتر بر حسب mg g^{-1} F. W برای تمام نمونه‌ها محاسبه شد (۳۲).

سنجش پرولین: نقش پرولین در امر سازگاری گیاهان به تنش‌های محیطی از جمله شوری بسیار مهم و ضروری است. در این پژوهش بمنظور اندازه‌گیری محتوای پرولین و تغییرات آن در گروه‌های مختلف تیماری ۰/۲ گرم وزن تر قسمت انتهایی ریشه، در ۵ میلی لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳٪ ساینده شد و مخلوط حاصل با استفاده از کاغذ صافی واتمن صاف گردید. از عصاره‌ی حاصل یک میلی لیتر در لوله آزمایش ریخته شد و به آن یک میلی لیتر اسید نین هیدرین و یک میلی لیتر اسید استیک خالص اضافه شد، لوله‌های آزمایش در حمام آب گرم به مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

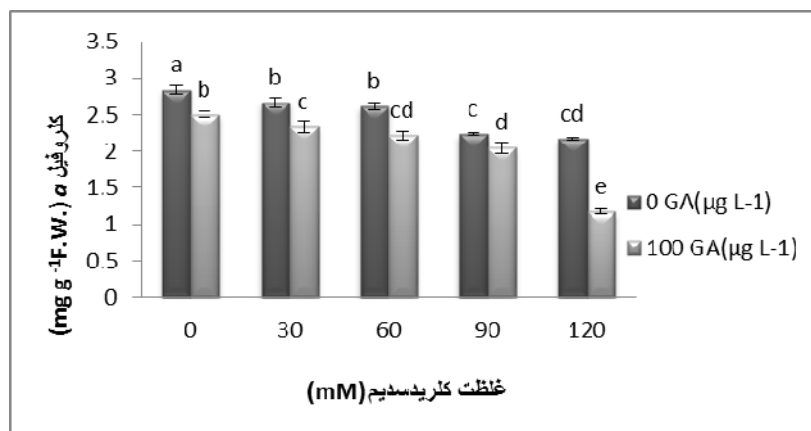
لوله‌های آزمایش بعد از خارج شدن از آب گرم بلافاصله به درون ظروف محتوی آب یخ (جهت متوقف شدن واکنش) منتقل شدند، در این مرحله به هر لوله آزمایش ۲ میلی لیتر تولوئن اضافه و به مدت ۲۰ ثانیه به شدت تکان داده شدند تا اینکه دو لایه به طور مجزا از همدیگر تشکیل گردید. لایه بالایی جدا شده و بعد از خنک شدن، جذب آن در طول موج ۵۲۰ نانومتر مشخص شد (۱۲).

سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدها: پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و به دنبال آن افزایش میزان مالون دی‌آلدئید (MDA) که نتیجه آسیب و تخریب غشاء سلولی در طی تنش شوری است، قابل اندازه‌گیری می‌باشد. این اندازه‌گیری‌ها با استفاده از روش Packer و Health (1968) انجام گرفت (۲۵). به این منظور ۰/۲ گرم بافت تازه ریشه یا برگ را در ۵ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید

آنالیز آماری: اطلاعات حاصل از آنالیزهای آزمایشگاهی توسط نرم افزار SPSS در سطح آماری $P < 0.05$ به صورت آنالیز واریانس ۲ عاملی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و از آزمون دانکن برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد. رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel انجام گرفت.

نتایج

نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان کلروفیل *a* در برگ‌های گیاه مرزه: اندازه‌گیری‌ها نشان داد که شوری و جیبرلین به تنهایی به طور معنی‌داری محتوای کلروفیل *a* برگ‌ها را نسبت به نمونه شاهد کاهش می‌دهد، این در حالی است که اثر متقابل شوری و جیبرلین بر محتوای کلروفیل *a* معنی‌دار نبود (جدول ۱). به این ترتیب نمونه شاهد با $2/83$ میلی‌گرم بر گرم بافت تازه بیشترین و تیمار برهم‌کنش 120 میلی‌مولار کلریدسدیم و 100 میکروگرم در لیتر جیبرلین با $1/17$ میلی‌گرم بر گرم بافت تازه کمترین میزان کلروفیل *a* برگ‌ها را به خود اختصاص دادند (شکل ۱).



شکل ۱- اثر برهم‌کنش کلریدسدیم و جیبرلین بر میزان کلروفیل *a* در برگ گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.)

شوری تنها و تیمارهای متقابل شوری در جیبرلین میزان کلروفیل *b* را به طور چشم‌گیری کاهش دادند، میزان کلروفیل *b* فقط در تیمار جیبرلین تنها به طور معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت. به این ترتیب کمترین

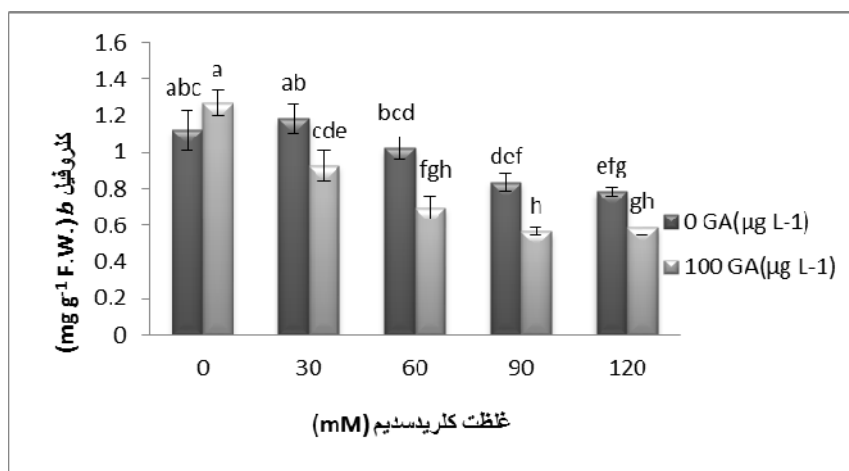
۵ درصد اضافه شد. ترکیب برای مدت یک ساعت در تاریکی ماند. سپس جذب نمونه‌ها با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۱۵ نانومتر خوانده شد و غلظت فنل بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک محاسبه شد. برای رسم منحنی استاندارد نیز از اسید گالیک در غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر استفاده شد، و کلیه مراحل فوق‌روی آن‌ها انجام شد.

میزان سنجش فلاونوئیدها نیز با استفاده از آزمون رنگ سنجی کلرید آلومینیوم صورت گرفت (۵۲ و ۵۱). به این ترتیب که $0/5$ میلی‌لیتر عصاره اتانولی با 2 میلی‌لیتر آب مقطر و 150 میکرولیتر نیترات سدیم ۵ درصد مخلوط شد و پس از ۶ دقیقه به آن 150 میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد و 2 میلی‌لیتر هیدروکسیدسدیم ۱ مولار اضافه گردید و پس از گذشت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق میزان جذب در طول موج 510 نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان کل ترکیبات فلاونوئیدی موجود در عصاره با استفاده از معادله به دست آمده از منحنی استاندارد کوئرتستین محاسبه و نتایج بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بیان شد.

نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان کلروفیل *b* در برگ‌های گیاه مرزه: نتایج تحقیق نشان داد که از نظر میزان کلروفیل *b*، بین سطوح مختلف شوری تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد مشاهده گردید (جدول ۱). تیمارهای

مقدار کلروفیل *b* را تیمار ۹۰ میلی مولار کلریدسدیم به‌مراه کاربرد ۱۰۰ میکروگرم در لیتر جیبرلین و بیشترین مقدار کلروفیل *b* را تیمار ۱۰۰ میکروگرم در لیتر جیبرلین از خود نشان دادند (شکل ۲).

مقدار کلروفیل *b* را تیمار ۹۰ میلی مولار کلریدسدیم به‌مراه کاربرد ۱۰۰ میکروگرم در لیتر جیبرلین و بیشترین مقدار کلروفیل *b* را تیمار ۱۰۰ میکروگرم در لیتر جیبرلین از خود نشان دادند (شکل ۲).



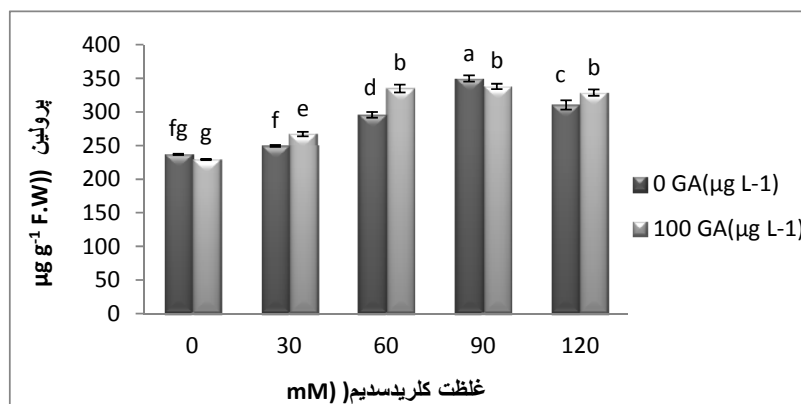
شکل ۲- اثر برهمکنش کلریدسدیم و جیبرلین بر میزان کلروفیل *b* در برگ گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.).

نتایج حاصل از سنجش میزان پرولین در گیاه مرزه: نتایج تحقیق نشان داد که از نظر میزان تجمع پرولین بین سطوح شوری تفاوت معنی داری در سطح یک درصد مشاهده گردید، کاربرد کلریدسدیم در غلظت‌های مختلف میزان تولید و تجمع پرولین در ریشه گیاه مرزه را افزایش داد.

نتایج حاصل از سنجش میزان پرولین در گیاه مرزه: نتایج تحقیق نشان داد که از نظر میزان تجمع پرولین بین سطوح شوری تفاوت معنی داری در سطح یک درصد مشاهده گردید، کاربرد کلریدسدیم در غلظت‌های مختلف میزان تولید و تجمع پرولین در ریشه گیاه مرزه را افزایش داد.

شاهد افزایش داد. به این ترتیب تیمار ۱۰۰ میکروگرم در لیتر جیبرلین با ۲۲۹/۱۹۳ میکروگرم بر گرم بافت تازه کمترین و تیمار ۹۰ میلی مولار کلریدسدیم با ۳۴۹/۷۲۳ میکروگرم بر گرم بافت تازه بیشترین مقدار پرولین ریشه را به خود اختصاص دادند (جدول ۱ و شکل ۳).

اثر جیبرلین بر میزان پرولین در سطح ۵ درصد معنی دار شد و اثر متقابل شوری و جیبرلین نیز به طور معنی داری میزان تجمع پرولین را در ریشه گیاه مرزه نسبت به نمونه



شکل ۳- اثر برهمکنش کلریدسدیم و جیبرلین بر میزان پرولین در ریشه گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.).

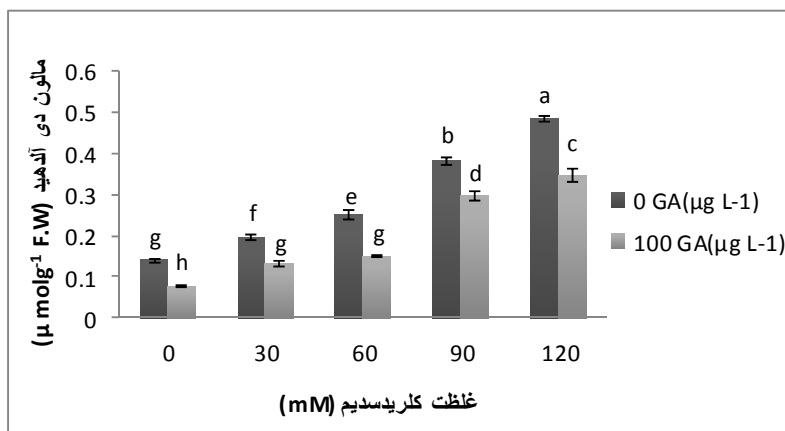
نمک را هم پوشانی کند و تجمع بیش از حد آن برای سلول امری بی‌فایده محسوب می‌شود. از طرفی در غلظت‌های بالای کلریدسدیم تولید ترکیبات حاصل از

علت اینکه از غلظت ۹۰ میلی مولار کلریدسدیم به بعد دیگر تجمع پرولین افزایش نمی‌یابد را می‌توان اینگونه توجیه کرد که پرولین نمی‌تواند بیشتر از این، اثر تخریبی

آلدئید داشت. اثر دوگانه شوری به‌همراه جیبرلین نیز در این آزمایش در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱) و باعث افزایش میزان مالون دی‌آلدئید گردید، ولی روند افزایش آن نسبت به تیمارهای شوری بدون کاربرد جیبرلین با یک شیب ملایم تری پیش رفت. پس می‌توان اینگونه نتیجه گرفت که جیبرلین توانست تا حدودی از پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب‌های ناشی از شوری جلوگیری کرده و آن را کاهش دهد. به این ترتیب تیمار ۱۰۰ میکروگرم در لیتر جیبرلین با ۰/۰۷۹ میکرومول بر گرم بافت تر گیاهی کمترین مقدار و تیمار ۱۲۰ میلی مولار کلریدسدیم با ۰/۴۸۴ میکرومول بر گرم بافت تر گیاهی بیشترین مقدار مالون دی‌آلدئید ریشه را نشان دادند (شکل ۴).

فتوستنز و اسکلت کربنی مورد نیاز به عنوان پیش‌ماده جهت سنتز پرولین کم می‌شود و در نتیجه سنتز این مولکول‌ها نیز تحت تاثیر قرار می‌گیرد (۲۶).

نتایج حاصل از سنجش پراکسیداسیون لیپیدها در گیاهان تحت تنش شوری و جیبرلین: گسترش آسیب اکسیداتیو با کاهش شاخص پایداری غشاء و افزایش غلظت مالون دی‌آلدئید (MDA) که یکی از محصولات پراکسیداسیون لیپیدهاست، مشخص می‌شود. آزمایشات اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدئید تولید شده در گیاهان تحت تنش نشان داد که تیمارهای کلریدسدیم به تنهایی به طور چشم‌گیر و معنی‌داری بر پراکسیداسیون لیپیدها تاثیر گذاشته و باعث افزایش میزان مالون دی‌آلدئید نسبت به نمونه شاهد شد. اثر جیبرلین هم تاثیر معنی‌داری بر میزان مالون دی‌آلدئید



شکل ۴ - اثر برهمکنش کلریدسدیم و جیبرلین بر میزان مالون دی‌آلدئید در ریشه گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.)

برهم کنش ۹۰ میلی مولار کلریدسدیم در ۱۰۰ میکروگرم در لیتر جیبرلین با ۵۵/۱۲۳ (mg g⁻¹ D.W.) بیشترین مقادیر مربوط به ترکیبات فنلی را در گیاهان مرزه تحت تنش به خود اختصاص دادند (شکل ۵).

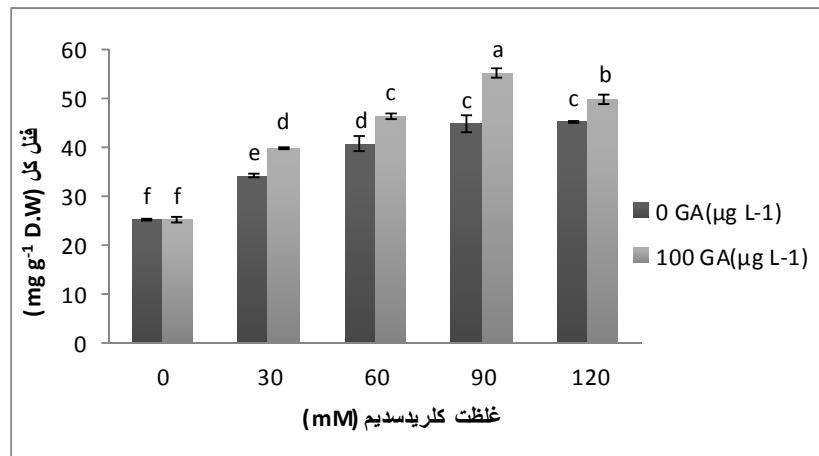
نتایج حاصل از سنجش میزان فلاونوئیدها در گیاهان تحت تنش شوری و جیبرلین: نتایج به دست آمده از آزمایش نشان داد که تمامی گروه‌های تیماری بر میزان فلاونوئیدها اثر معنی‌داری گذاشت به این ترتیب که تیمارهای شوری تنها و جیبرلین تنها در سطح ۱ درصد

نتایج حاصل از سنجش میزان فنل کل در گیاهان تحت تنش شوری و جیبرلین: در ارتباط با میزان ترکیبات فنلی موجود در گیاهان تحت تنش، جدول واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمارهای شوری تنها و تیمارهای برهم‌کنش شوری و جیبرلین بر میزان فنل کل در سطح یک درصد معنی‌دار شد، این در حالی است که تیمار جیبرلین تنها، هیچ اثر معنی‌داری را روی میزان ترکیبات فنلی ایجاد نکرد (جدول ۱). نتایج نشان داد نمونه شاهد با ۲۵/۰۲۵ (mg g⁻¹ D.W.) و تیمار ۱۰۰ میکروگرم در لیتر جیبرلین با ۲۵/۰۳۳ (mg g⁻¹ D.W.) کمترین میزان فنل کل و تیمار

کلریدسدیم و ۱۰۰ میکروگرم در لیتر جیبرلین و ۱۲۰ میلی مولار کلریدسدیم و ۱۰۰ میکروگرم در لیتر جیبرلین بیشترین میزان این شاخص را در میان دیگر گروه‌های تیماری به خود اختصاص دادند (شکل ۶).

معنی دار شد و اثر دوگانه شوری و جیبرلین در سطح ۵ درصد بر روی این شاخص معنی دار شد (جدول ۱).

از طرف دیگر اندازه‌گیری میزان فلاونوئیدها در گیاهان تحت تیمار شوری و جیبرلین نشان داد که تیمار ۱۲۰ میلی مولار کلریدسدیم و تیمارهای برهم‌کنش ۹۰ میلی مولار



شکل ۵- اثر برهم‌کنش کلریدسدیم و جیبرلین بر میزان فنل کل در گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.)

مولکول‌ها در سلول‌های گیاهی می‌شود. به این ترتیب که افزایش مقدار ترکیبات فعال اکسیژن طی تنش شوری باعث کاهش میزان کلروفیل‌ها می‌شود. همچنین رادیکال‌های سوپراکسید و محصول همراه آن‌ها یعنی پراکسید هیدروژن، نیز می‌توانند باعث تجزیه رنگیزه‌های کلروفیل شوند و به دنبال تجزیه این مولکول‌ها، ساختارهای تیلاکوئیدی در کلروپلاست ناپدید می‌گردد (۳۹).

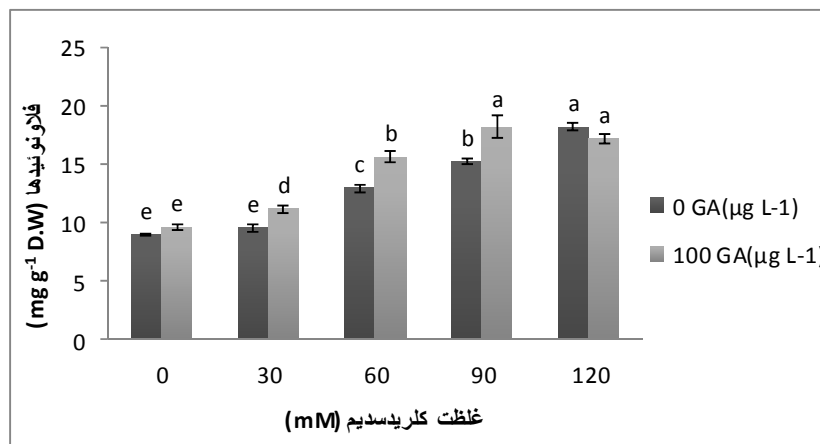
بحث

بررسی تاثیر شوری و جیبرلین بر رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ‌های گیاه مرزه: رنگیزه‌های فتوسنتزی از سری مولکول‌زیستی هستند که در فرآیند فتوسنتز نقش دارند و میزان آن‌ها در گیاهان زنده به عنوان یکی از عوامل مهم در حفظ ظرفیت فتوسنتزی است (۲۷). تنش شوری از جمله تنش‌هایی است که باعث تغییر در میزان این

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس در برهم‌کنش شوری و جیبرلین بر محتوای کلروفیل *a* و *b*، پرولین، مالون دی‌آلدئید، فنل و فلاونوئید در گیاه مرزه

منبع تغییرات	درجه آزادی df	F				
		کلروفیل <i>a</i>	کلروفیل <i>b</i>	پرولین	مالون دی‌آلدئید	فنل
NaCl	۴	۵۴/۳۸۶**	۲۲/۹۰۲**	۲۶۰/۱۱۰**	۴۱۳/۸۲۹**	۵۳۱/۸۱۹**
GA ₃	۱	۹۳/۲۳۳**	۱۸/۴۰۸**	۱۱/۷۶۵*	۲۵۶/۲۰۰**	۱۹۰/۱۴۴ ^{ns}
NaCl x GA ₃	۴	۱/۴۸۲ ^{ns}	۴/۲۲۲*	۱۶/۴۱۷**	۶/۱۳۰**	۱۷/۱۳۴**
خطا	۲۰	۰/۰۰۹	۰/۰۱۳	۵۳/۱۶۰	۰/۰۰۰	۱/۱۳۵

ns، * و ** بترتیب نشان دهنده عدم معنی داری، معنی داری در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱ می‌باشد.



شکل ۶- اثر برهمکنش کلریدسديم و جیبرلین بر میزان فلاونوئیدها در ریشه گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.)

کاربرد جیبرلین خارجی تنها در یک گروه آزمایش (۱۰۰ میکروگرم در لیتر جیبرلین) توانست اثر مثبتی بر روی غلظت کلروفیل *b* نسبت به نمونه شاهد داشته باشد. افزایش میزان کلروفیل *b* تحت تیمار جیبرلین را می‌توان به اثر جیبرلین بر تحریک مسیر بیوسنتزی این رنگدانه فتوسنتزی دانست.

بررسی اثر شوری و جیبرلین بر میزان پرولین در گیاه مرزه: در این تحقیق اثر غلظت‌های مختلف کلریدسديم و جیبرلین بر محتوای پرولین به طور معنی‌داری آشکار شد. شوری و جیبرلین غلظت پرولین را نسبت به نمونه شاهد افزایش دادند. تنظیم اسمزی در گیاهان، مکانیسم عمده اجتناب از تنش‌های آبی در محیط‌های خشک و شور است. به طور کلی کاهش پتانسیل اسمزی در اثر تجمع مواد محلول سازگار در شرایط تنش‌های خشکی و شوری رخ می‌دهد و شدت انجام آن به سرعت و میزان توسعه تنش، نوع و سن اندام و تنوع ژنتیکی درون و بین گونه‌ای بستگی دارد (۸ و ۱۸). به طور کلی مشخص شده است که این مواد محلول با واکنش‌های عادی بیوشیمیایی سلول تداخل ندارند و به عنوان محافظان اسمزی در طی تنش اسمزی عمل می‌کنند، در بین مواد محلول سازگار شناخته شده پرولین گسترده‌ترین نوع آن‌هاست و تجمع آن، در فرآیند سازگاری به تنش شوری، نقش مهمی دارد (۲۶).

در طی تنش شوری از طرفی مشخص شده است که مقدار اتیلن و اسید آسبیزیک افزایش می‌یابد که افزایش این ترکیبات باعث تحریک فعالیت آنزیم کلروفیل‌لاز می‌شود که افزایش فعالیت این آنزیم نیز یکی از عوامل موثر در کاهش میزان کلروفیل‌ها طی تنش شوری است (۱۹). از دیگر دلایل کاهش کلروفیل گیاه می‌توان به فعال شدن مسیر کاتابولیسمی کلروفیل و یا عدم سنتز کلروفیل اشاره کرد (۴۴). آزمایشات متعددی نشان می‌دهد که تحت تنش شوری، مقدار رنگیزه‌های کلروفیلی گیاه کاهش پیدا می‌کند (۲۲). برای مثال گزارش شده که میزان کلروفیل‌های *a* و *b* در گیاه جو با به کارگیری NaCl کاهش یافت (۲۰).

نتایج این تحقیق نیز گویای کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت شرایط تنش شوری است. در برهم‌کنش شوری و جیبرلین نیز کاهش میزان کلروفیل نسبت به نمونه شاهد مشاهده شد، چرا که در شرایط تنش شوری، هورمون جیبرلین با تأثیری که بر تحریک رشد برگ در گیاه می‌گذارد باعث افزایش در تعداد برگ‌ها و همچنین سطح برگ در گیاه مرزه شده و بدین ترتیب با افزایش تعداد برگ به نوعی توزیع پیش‌ماده‌های لازم جهت بیوسنتز کلروفیل در کلروپلاست برگ‌ها کاهش یافته و نهایتاً منجر به کاهش شاخص کلروفیل در برگ می‌شود.

سمت مسیر و فرآیندهایی غیر از متابولیسم اولیه و بیوستز مولکول‌های آلی ضروری از جمله پروتئین‌ها و آنزیم‌ها هدایت می‌کند (۴۶).

از طرفی پرولین ممکن است با پروتئین‌های غشا پیوند تشکیل داده و ساختار آن‌ها را طی تنش پایدار سازد. پرولین همچنین به عنوان یک محافظ در برابر تنش عمل می‌کند. بدین ترتیب که به طور مستقیم بر ماکرومولکول‌ها اثر محافظتی داشته و از این طریق به حفظ و شکل ساختار طبیعی آن‌ها تحت شرایط تنش کمک می‌کند برای نمونه، پرولین از طریق حفظ ظرفیت آبگیری در سیتوپلاسم سلول باعث حفظ آنزیم‌ها می‌شود تا از تبدیل به اشکال نامطلوب و یا دناتوره شدن آن‌ها جلوگیری به عمل آید (۱).

Safarnejad در سال ۲۰۰۴ با بررسی تنش اسمزی بر ژنوتیپ‌های یونجه عنوان کرد که ژنوتیپ‌های مقاوم عکس‌العمل سریع‌تر و بیشتری از نظر تجمع پرولین نسبت به گونه‌های حساس نشان دادند (۴۲). تحقیقات بر روی گیاه جو نیز نشان داد که گیاهی که توسط مهندسی ژنتیک دستکاری شده و قادر به تولید پرولین بیشتری است در مقایسه با تیپ وحشی در شرایط تنش اسمزی رشد بهتری را دارد (۱۰). مطالعه مکانیسم بیوشیمیایی عمل جیبرلین‌ها نیز نشان می‌دهد که جیبرلین‌ها باعث افزایش در فعالیت RNA پلی‌مراز شده و در نتیجه میزان رونویسی از بخش‌هایی از DNA را افزایش می‌دهند. جیبرلین‌ها با القاء تغییراتی در مراحل رونویسی و یا ترجمه برخی از ژن‌ها موجب تغییرات کمی و کیفی در سنتز برخی از اسیدهای آمینه از جمله پرولین می‌شوند (۳).

بررسی میزان پراکسیداسیون لیپیدها تحت تنش شوری و جیبرلین: تنش شوری با آسیب به متابولیسم لیپیدهای غشایی در ارتباط است. زیرا غشای پلاسمایی نخستین ساختار سلولی است که با شوری محیط، رو به رو می‌شود. از این رو یکی از مکانیسم‌های مقاومت در برابر تنش

نقش پرولین در امر سازگاری گیاهان به تنش‌ها ضروری است و دارای آثار بیولوژیک زیادی مثل تنظیم اسمزی، آثار حمایتی سلول، عمل آنتی‌اکسیدانی، انتقال انرژی، ذخیره کربن و نیتروژن که برای پایداری سلول و انتقال از یک حالت به حالت سازگاری جدید لازم است، می‌باشد (۳۰).

تجمع پرولین در بافت‌های گیاهی که آب از دست داده اند اولین بار در سال ۱۹۵۴ گزارش شد. تنش‌های محیطی از جمله شوری موجب افزایش ذخیره پرولین در برگ گیاهان می‌شود و افزایش سطح این ترکیبات در گیاهان از نظر سازگاری گیاه اهمیت دارد و گیاهان را قادر می‌سازد تا در شرایط تنش‌زا زنده بمانند. پرولین می‌تواند آثار نامطلوب تنش را بر فعالیت آنزیمی و ساختار غشاهای سلولی تقلیل نماید و تولید رادیکال‌های آزاد مخرب را کاهش دهد (۱۰). افزایش غلظت این اسیدآمینه در زمان تنش ناشی از چند اتفاق مهم از جمله ممانعت از تجزیه پرولین، جلوگیری از ورود پرولین به پروتئین‌ها و یا افزایش تجزیه پروتئین‌ها که خود با کاهش رشد همراه است می‌باشد. انباشته شدن پرولین آزاد به تحریک تنش شوری، نتیجه سنتز آن از اسید گلوتامیک است و در شرایط مستقل از تنش ممکن است توسط اسید آبسزیک القا شود به طوریکه افزایش میزان پرولین آزاد در برگ گیاهان تیمار شده با این هورمون مشاهده شده است (۴۹).

پرولین اسید آمینه ذخیره‌ای در سیتوپلاسم است و در حفاظت از هیدروکسی پرولین که در سنتز دیواره نقش دارد نیز موثر است، تجمع این اسید آمینه در زمان تنش در برگ‌ها سریع‌تر و بیشتر از سایر اندام‌هاست. تجمع پرولین به گیاه کمک می‌کند که در دوره کوتاهی بعد از اعمال تنش شوری زنده بماند و گیاه بتواند بعد از رفع تنش رشد خود را بازیابی کند، بنابراین اثر مثبت بر عملکرد گیاه خواهد داشت، اما در تنش طولانی مدت آثار مفید آن عمل نخواهد کرد و تجمع آن حتی اثر منفی بر عملکرد خواهد گذاشت زیرا منابع فتوسنتزی گیاه را به

شوری، وابسته به دو لایه لیپیدی و اسیدهای چرب غیراشباع آن است که در طی تنش، پایداری غشاء را تضمین می‌کنند (۴۴).

رادیکال‌های سوپر اکسید ایجاد شده تحت تنش شوری باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و افزایش میزان MDA و در نتیجه آسیب غشاء سلولی در طی تنش شوری می‌شود (۱۴ و ۴۵). شواهد نشان می‌دهد که مالون دی‌آلدئید محصول تجزیه اسیدهای چرب غیراشباع است که به عنوان نشانگر زیستی برای اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدها استفاده می‌شود (۳۵). در پژوهش حاضر، میزان MDA افزایش معنی‌داری در گیاهانی که با NaCl تیمار شده بودند نشان داد که این نشان‌دهنده اثر تنش شوری بر تخریب غشاست.

افزایش در محتوای مالون دی‌آلدئید در شرایط تنش شوری در برنج (۱۸) و عدس (۹) نیز گزارش گردیده است. شدت این پاسخ یعنی تولید مالون دی‌آلدئید می‌تواند با توجه به میزان شوری خاک و آب و یا نوع گونه‌های گیاهی متفاوت باشد، برای مثال دیده شد که، سطح شوری یکسان، پاسخ متفاوت لیپیدهای غشایی را در ارقام متفاوت کلزا (*Brassica napus L.*) با درجه‌ی مقاومت به شوری متفاوت، در پی داشت (۶).

از طرف دیگر گزارش شده که کاربرد جیبرلین تحت شرایط شوری باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش میزان تولید MDA در گیاه می‌شود (۴۵) که با نتایج این تحقیق نیز مطابقت دارد. بررسی‌ها نشان داده است که تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی با جلوگیری از آسیب به اسیدهای چرب و کاهش نفوذپذیری غشاء و حفاظت از غشاء تیلوکوئیدی در زمان تنش شوری نقش خود را ایفا می‌کند و این اثر را احتمالاً با کاهش مقدار H_2O_2 انجام می‌دهد (۱۴)، از سوی دیگر علت کاهش پراکسیداسیون لیپیدها در گیاه را می‌توان در نتیجه عملکرد جیبرلین در از بین بردن رادیکال‌های فعال اکسیژن دانست. که احتمال می‌رود این هورمون با

تأثیر بر روی فعالیت آنزیم‌های پالاینده رادیکال‌های آزاد موجب کاهش در محتوای رادیکال‌های سوپر اکسید و پراکسید هیدروژن گردیده است و از فعالیت لیپوکسیژناز و تجزیه اسیدهای چرب غشاء جلوگیری کرده است (۳۸) و (۳۱).

بررسی تأثیر جیبرلین بر میزان فنل کل تحت تنش شوری: آنتی‌اکسیدان‌ها براساس عملکردشان به دو گروه اصلی آنتی‌اکسیدان‌های اولیه و ثانویه تقسیم می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌های اولیه الکترون یا هیدروژن خود را به رادیکال‌های آزاد می‌دهند درحالی‌که آنتی‌اکسیدان‌های ثانوی به عنوان همیار عمل می‌کنند، یعنی از طریق دادن هیدروژن و بازیابی آنتی‌اکسیدان اولیه و یا جاروب‌کننده‌های اکسیژن و عوامل کلاته‌کننده نقش خود را ایفا می‌نمایند. فنل‌ها و فلاونوئیدها معمولاً به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های ثانویه و جاروب‌کننده رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند (۲۴).

گیاهان منبع غنی از ترکیبات فنلی هستند که مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و ثانویه به شمار می‌آیند. به عنوان مثال عصاره نعنای ترکیبات فنلی بالایی دارد و بدین سبب فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی را از خود نشان می‌دهد یا عصاره رزماری ثابت شده که دارای فعالیت بالایی آنتی‌اکسیدانی است و این فعالیت با محتوی فنلی گیاه رابطه مستقیم دارد (۴۸ و ۵۰).

از طرفی رابطه بنیانی خوبی بین مقدار کلی فنولیک‌های بافت گیاهی و شدت تنشی که گیاهان در معرض آن قرار می‌گیرند، وجود دارد. در حقیقت مقاومت گیاهی به کمک ترکیبات فنولیک، همین‌طور آنتی‌اکسیدان‌ها و پلی‌آمین‌ها تکمیل می‌شود (۴).

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

در جهت سازگاری گیاه به شرایط تنش فعال می‌شوند، از جمله ترکیبات غیرآنزیمی می‌توان توکوفرول‌ها، کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها را نام برد (۱۶).

فلاونوئیدها گروه پیچیده‌ای از متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که دارای ۹۰۰۰ مولکول متفاوت با اعمال زیستی گسترده مانند پیام‌رسانی در برهم‌کنش بین گیاهان و میکروارگانیسم‌ها، دفاع در برابر گیاه‌خواران و پاتوژن‌ها، محافظت در برابر نور UV، رنگ دانه‌گرده‌گل‌ها برای جذب گرده‌افشان‌ها و یا تحریک جوانه‌زنی دانه‌گرده و رشد لوله‌گرده و همچنین سازگاری گیاهان به شرایط تنش زای محیطی می‌توان اشاره کرد (۵۲ و ۳۴ و ۳۳). خاصیت آنتی‌اکسیدانی فلاونوئیدها وابسته به ساختار شیمیایی آنهاست. به عنوان مثال فعالیت آنتی‌اکسیدانی فلاونوئیدها با افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل متصل به حلقه B به ویژه روی کربن موقعیت ۳ افزایش می‌یابد (۴۱).

نتایج حاصل از این تحقیق نیز نشان داد که تیمارهای شوری و جیبرلین میزان فلاونوئید را در گیاه مرزه افزایش داد. در حقیقت این ترکیب جزو آنتی‌اکسیدان‌هایی محسوب می‌شود که گیاه جهت مقاومت به شرایط تنشی تولید کرده و این‌گونه به تنش اعمال شده پاسخ می‌دهد.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج بدست آمده میتوان نتیجه گرفت که شوری در غلظت‌های مختلف می‌تواند موجب تولید و تجمع بیشتر برخی از متابولیت‌ها و ترکیبات سلولی در گیاه شود تا بدین ترتیب با شرایط به وجود آمده سازش پیدا کند و از سوی دیگر تیمار ۱۰۰ میکروگرم در لیتر جیبرلین نیز با فعال‌سازی برخی آنزیم‌ها و تاثیر مثبت بر روند سنتز یک سری متابولیت‌های ثانویه، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در گیاه سبب افزایش هر چه بیشتر مقاومت گیاه مرزه به تنش شوری می‌گردد که این خود عواملی است که باعث می‌شود تا خواص دارویی و آنتی‌اکسیدانی گیاه مرزه افزایش یابد.

هاست. گروه‌های هیدروکسی آزاد متصل به حلقه آروماتیک توان جاروب کردن رادیکال‌های آزاد را داشته، بدین لحاظ آسیب‌های اکسیداتیو را کاهش داده، ساختارهای سلولی را از تأثیرات منفی شوری محافظت می‌کند (۵). در این تحقیق نیز میزان ترکیبات فنولی در طی تنش شوری در گیاه مرزه افزایش نشان داد. به طور کلی افزایش ترکیبات فنلی وابسته به افزایش فعالیت آنزیم‌های درگیر در متابولیسم ترکیبات فنلی مطرح می‌شود که اشاره بر سنتز آنزیم‌ها تحت تنش شوری دارد. افزایش فنل‌های محلول برای دخالت در بیوسنتز لیگنین نیز منعکس‌کننده نوعی تغییر آناتومیکی القا شده توسط تنش مثل افزایش پایداری دیواره سلولی و ایجاد سد فیزیکی در برابر تنش نمکی است (۴). کاربرد جیبرلین در تیمارها نیز محتوای ترکیبات فنلی را افزایش داد، این افزایش را می‌توان به نقش جیبرلین در افزایش فعالیت آنزیم‌های آلانین آمونیا لیاز (PAL) و به دنبال آن افزایش سنتز ترکیبات فنلی مرتبط دانست. چرا که فعالیت این آنزیم شدیداً تحت تاثیر شرایط هورمونی و محیطی است و نقش مهمی در کنترل فنولیک‌های کل دارد (۴ و ۵). به عنوان مثال طبق آزمایش‌های انجام شده روی درخت‌های زیتون تحت تنش خشکی، دیده شد که با افزایش آبیاری فعالیت آنزیم آلانین آمونیا لیاز (PAL) و به دنبال آن میزان فنل کل میوه زیتون تغییر و کاهش یافت (۲).

بررسی تغییرات میزان فلاونوئید در گیاهان مرزه تحت

تنش: گیاهان یک سیستم دفاعی کاملاً توسعه یافته بر علیه ترکیبات واکنشگر دارند که در رابطه با محدود کردن تشکیل آن‌ها و یا حذف آن‌هاست. به هر حال سیستم دفاعی در پاسخ به افزایش تشکیل ترکیبات فعال اکسیژن تحت شرایط تنش آغاز به کار می‌کند (۲۹) و گیاه برای پیشگیری از آسیب‌های شدید ناشی از این ترکیبات، سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان را به کار می‌برد. این سیستم‌های آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیر آنزیمی هستند که

منابع

- ۱- شریعت، آ.، عصاره، م. ح. (۱۳۸۷). اثر تنش خشکی بر رنگیزه های گیاهی، پرولین، قندهای محلول و پارامترهای رشدی چهار گونه اکالیپتوس. مجله پژوهش و سازندگی. ۸۷. ۱۳۹-۱۴۸.
- ۲- عباسپور، ح.، رضایی، ح. (۱۳۹۳). اثر جیبرلیک اسید بر سرعت واکنش هیل، رنگیزه های فتوسنتزی و ترکیبات فنلی در گیاه
- ۳- عمواقایی، ر. (۱۳۹۲). تأثیر برخی هورمون‌ها و ترکیبات ازته روی ظرفیت، سرعت و هماهنگی جوانه زنی بذر های قیچ تحت تنش شوری. مجله پژوهش‌های گیاهی. ۴. ۴۶۵-۴۷۵.
- 4- Adil, H.I., Cetin, H.I., Yener, M.E and Bayindirh, A. (2007). Subcritical (carbon dioxide + ethanol) extraction of polyphenols from apple and peach pomaces, and determination of the antioxidant activities of the extracts. The Journal of Supercritical Fluids. 43: 55-63.
- 5- Al-Amier, H and Craker, L. E. (2006). In vitro selection for stress tolerant spearmint. Botanicals and Medicinals. 306-310.
- 6- Apse, M. P and Blumwald, E. (2002). Engineering salt tolerance in plants. Current Opinion in Biotechnology. 13: 146-150.
- 7- Azevedo Neto, A., Prisco, J.T., Filho, J.E., Lacerda, C.F., Silva, J.V., Costa, P.H and Gomes-Filho, E. (2004). Effects of salt stress on plant growth, stomatal response and solute accumulation of different maize genotypes. Brazilian Journal of Plant Physiology. 16: 31-38.
- 8- Bajji, M., Lutts, S and Kinet, J.M. (2001). Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum Desf*) cultivars performing differently in arid condition. Plant Science. 160: 669-681.
- 9- Bandeoglu, E., Eyidogan, F., Yucel, M and Oktem, H. A. (2004). Antioxidant responses of shoots and roots of Lentil to NaCl-salinity stress. Plant Growth Regulation. 42: 69-77.
- 10- Bandurska, H. (1998). Implication of ABA and proline on cell membrane injury of water deficit stressed barley seedling. Acta Physiologiae Plantarum. 20: 375-381.
- 11- Bartels, D and Sunkar, R. (2005). Drought and salt tolerance in plants. Critical Reviews in Plant Science. 24: 23-58.
- 12- Bates L.S., Waldren R.P and Teare I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil. 39: 205-207.
- 13- Bernstein, N., Kravchik, M and Dudai, N. (2009). Salinity-induced changes in essential oil, pigments and salts accumulation in sweet basil (*Osimum basilicum*) in relation to alteration of morphological development. Annals Applied Biology. 156: 167-177.
- 14- Borsani, O., Valpuestan, V and Botella, M. A. (2001). Evidence for a Role of Salicylic Acid in the Oxidative Damage Generated by NaCl and Osmotic Stress in Arabidopsis Seedlings. Plant Physiology. 126: 1024-1030.
- 15- Chai, T.T., Fadzillah, N.M., Kusnan, M and Mahmood, M. (2005). Water stress-induced oxidative damage and antioxidant responses in micropropagated banana plantlets. Biologia Plantarum. 49: 153-156.
- 16- Chowdhury, S.R and Chowdhury, M.A. (1985). Hydrogen peroxide metabolism as an index of salt and water stress tolerance in Jute. Physiol Plant. 65: 503-507.
- 17- Chun, O.K., Kim, D.O and Lee, C.Y. (2003). Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 51: 8067-872.
- 18- Demiral, T and Turkan, I. (2005). Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. Environmental and Experimental Botany. 53: 247-257.
- 19- Draikewicz, M. (1994). Chlorophyllase Occurrence functions, mechanism of action, effect of external and internal factors. Photosynthetica. 30: 321-331.
- 20- El Tayeb, M. A. (2005). Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regulation. 45: 215-224.
- 21- Emongor, V. (2007). Gibberellic acid influence on vegetative growth nodulation and yield of Cowpea (*Vigna radiata*) Walp. Journal of Agronomy. 6: 509-517.

- 22- Eraslan, F., Inal, A., Gunes, A and Alpaslan, M.(2007). Impact of exogenous salicylic acid on the growth, antioxidant activity and physiology of carrot plants subjected to combined salinity and boron toxicity. *Science Horticulture*. 113: 120-128.
- 23- Frantz, J.M and Bugbee, B.(2002). Anaerobic conditions improve germination of a gibberellic acid deficient rice. *Crop Science*. 42: 651-654.
- 24- Gordon, M.H.(1990). The mechanism of antioxidant action in vitro. 1-18. In: Hudson, B.J.F., (Ed.). *Food Antioxidant* (Elsevier Applied Science). New York, NY, USA. 329p.
- 25- Health, R.L and Packer, L.(1968). Phytoperoxidation in isolate chloroplast .I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 125:189-198.
- 26- Iqbal, N., Umar, Sh., Nafees, A., Khan, M and Iqbal, R.(2014). A new perspective of phytohormones in salinity tolerance: Regulation of proline metabolism. *Environmental and Experimental Botany*.34-42.
- 27- Jiang, Y and Huang, N. (2001). Drought and salt stress injury to two cool season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. *Crop Science*. 41: 436-442.
- 28- Kerepesi, I and Galiba, G.(2000). Osmotic and salt stress induced alternation in soluble carbohydrate content in wheat seedling. *Crop Science*.40: 482-487.
- 29- Kubis, J.(2005). The effect of exogenous spermidine on superoxide dismutase activity, H₂O₂ and superoxide radical level in barley leaves under water deficit condition. *Acta Physiologie Plantarum*. 7: 289-295.
- 30- Kuznetsov, V and Shevyakova, N. I.(1999). Proline under stress, biological role, metabolism and regulation. *Russian journal of Plant Physiology*. 46: 274-287.
- 31- Levent Tuna, A., Kaya, C., Dikilitas, M and Higgs, D.(2008). The combined effects of gibberellic acid and salinity on some antioxidant enzyme activities, plant growth parameters and nutritional status in maize plants. *Environmental and Experimental Botany*.62. 1-9.
- 32- Lichtenthaler, H. K.(1994). Chlorophylls and carotenoids pigments of photosynthetic biomembrances. *Methods in Enzymology*. 148. 350-382.
- 33- Martin, M., Miceli, F., Morgan, J.A., Scalet, M and Zerbi, G.(1993). Synthesis of osmotically active substances in winter wheat leave as related to drought resistance of different genotypes. *Agronomy and Crop Science*. 171: 176-184.
- 34- Martens, S and Mithofer, A. (2005). Flavones and flavone synthases. *Phytochemistry*. 66: 2399-2407.
- 35- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Science*. 7: 405-410.
- 36- Moller, I. M and Kristensen, B. K.(2004). Protein oxidation in plant mitochondria as a stress indicator. *Photochemical and Photobiological Science*. 3: 730-735.
- 37- Monneveux, P and Belhassen, E. (1996). The diversity of drought adaptation in the wide. *Plant Growth*. 20: 85-92.
- 38- Motohashi, N. (2006). The lutein prevention and treatment for age-related diseases. *Biological Sciences*. 8: 187-256.
- 39- Navaris-Izzo, F., Pinzino, C., Quartacci, M.F., Sgherri, C.L.M and Izzo, R.(1994). Intracellular membrane kinetics of superoxide production and changes in thylakoids of resurrection plant upon dehydration and rehydration. *Proceeding of Royal Society of Edinburgh*.102: 187-191.
- 40- Parida, A.K and Das, A.B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 60: 324-349.
- 41- Rajalakshmi, D and Narasimhan, S.(1996). Food antioxidants: Sources and methods of evaluation: 65-83. In: Madhavi, D.L., Deshpande, S.S. and Salunkhe, D.K., (Eds.). *Food Antioxidants- Technological, Toxicological, and Health Perspectives*. Marcel Dekker, Inc., New York. 512p.
- 42- Safarnejad, A. (2004). Characterization of somaclones of *Medicago sativa* for drought tolerance. *Journal Agricultural Science Technology*. 6: 121-127.
- 43- Said –Al Ahl, H.A and Omer, E. A. (2011). Medicinal and aromatic plants production under salt stress. *A Review Kerta Rolonica*. 57: 72-87.
- 44- Sairam, R.K., Rao, V.K and Srivastava, G.C.(2002). Differential response of wheat cultivar genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science*. 163: 1037-1048.
- 45- Sairam, R.K., Srivastava, G.C., Agarwal, S and Meena, R.C. (2005). *faiences in antioxidant*

- activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes. *Biological Plantarum*. 49: 85-91.
- 46- Sanchez, F.J., Manzanares, M., Andres, E.F., Tenorio, J.L and Ayerb, L. (1998). Turgor maintenance osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. *Field Crops Research*. 59: 225-253.
- 47- Sefidkon, F., Abbasi, K and Bakhshi Khaniki, G.(2006). Influence of drying and extraction methods on yield and chemical composition of the essential oil of *Satureja hortensis*. *Food Chemistry*. 99: 19- 23.
- 48- Stankovic, MS., Niciforovic, N., Topuzovic, M and Solujic, S. (2011). Total phenolic content, flavonoid concentrations and antioxidant activity of the whole plant and plant parts extracts from *Teucrium montanum* L. *Biotechnology*. 25: 2222-2227.
- 49- Stewart, C.R and Voetberg, G.(1985). Relationship between stress-induced ABA and proline accumulations in Excised barley leaves. *Plant Physiology*. 79:24-27.
- 50- Sweetie, R.K., Chander, R and Sharma, A.(2007). Antioxidant potential of mint (*Mentha Spicata* L.) in radiationprocessed lamb meat. *Food Chemistry*. 100: 451-458.
- 51- Zhishen, J., Mengcheng, T and Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid content in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*. 64: 555-559.
- 52- Zou, Y., Lu, Y and Wei, D. (2004). Antioxidant activity of flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. in vitro. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 52: 5032-5039.

Effects of gibberellin on contents of photosynthetic pigments, proline, phenol and flavonoid in savory plants (*Satureja hortensis* L.) under salt stress

Firuzeh R.¹, Khavari-Nejad R.A.¹, Najafi F.² and Saadatmand S.¹

¹Dept. of Biology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, I.R. of Iran.

² Dept. of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, I.R. of Iran.

Abstract

Salinity is one of the main obstacles to the successful growth and production of plants. Hormonal factors such as gibberellin as plant growth regulators can have different physiological and biochemical effects in plants under salt stress. In present research, the effects of different concentrations of sodium chloride (0, 30, 60, 90 and 120 mM NaCl) and gibberellin (0 and 100 $\mu\text{g L}^{-1}$) on photosynthetic pigments, proline, malondialdehyde, phenol and flavonoid contents were studied. Results showed that with addition levels of salinity and application of gibberellin, rate of chlorophylls *a* and *b* also decreased. In the other hand, different concentrations of NaCl caused significant increase in contents of proline, phenol and flavonoid in comparison with control. In interaction of salinity and gibberellin also contents of these compounds increased significantly in comparison with control and individual treatments of NaCl. The accumulation of malondialdehyde that shows the rate of degradation and peroxidation of membrane lipids were significantly increased by salt treatments, while combined application of GA₃ and NaCl caused reduction in malondialdehyde (MDA) content. These results showed that gibberellin can reduce negative effects on lipids peroxidation and thus increases the resistance of plants to salt stress conditions.

Key words: Flavonoids, Gibberellin, Proline, Phenol, Salinity, Savory