اثرات جیبرلین بر محتوای رنگیزه های فتوسنتزی، پرولین، فنل و فلاونوئید در گیاه دارویی مرزه (*Satureja hortensis* L.) تحت تنش شوری

رعنا فیروزه[1*]، رمضانعلی خاوری نژاد[1]، فرزانه نجفی[2] و سارا سعادتمند[1]

[1] تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

[2] تهران، دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۹۵/۷/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۲۸

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،۳۰،۶۰،۹۰ و۱۲۰ میلی مولار) و جیبرلین (صفر و ۱۰۰ میکروگرم در لیتر) بر محتوای رنگیزه های فتوسنتزی، پرولین، مالون دی آلدهید، 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 آلدهید که میزان تخریب و پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی را نشان می دهد نیز با افزایش غلظت کلریدسدیم 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

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 یابد، کاهش شدید فتوسنتز، 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

کربوهیدرات های محلول، پتانسیل اسمزی خود را کاهش می دهد و به عبارت دیگر تنظیم اسمزی صورت می گیرد (۳۳ و ۱۸). این کار به گیاهان اجازه می دهد 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 زمان بر 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 نمی دهد(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 یون های معدنی از محیط و تجمع آن ها در بخش های هوایی و یا از طریق سنتز مواد حل شونده سازگار از جمله پرولین که به عنوان اسمولیت عمل می کنند، این کار را انجام می دهد(۳۷). گیاه مرزه نیز از جمله گیاهانی است که به نظر می رسد توانایی تولید اسمولیت های سازگار از جمله پرولین و به دنبال آن توانایی تحمل به شوری را دارد و از طرفی انتظار می رود متابولیت های ثانویه ای که خاصیت دارویی آن را تعیین می کنند 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 متابولیت های ثانویه متنوع خواص دارویی و ضدمیکروبی فراوانی دارد (۴۷). ترکیبات فنلی و فلاونوئیدهای موجود در این گیاه آنتی اکسیدان های قوی هستند که آثار مهمی در بیولوژی سلولی دارند و با جمع آوری رادیکال های آزاد در جلوگیری از گسترش جهش های ژنی و سلولی نقش بسزایی را می توانند ایفا کنند. به طور کلی محصولات یک گیاه دارویی زمانی مقرون به صرفه است که مقدار متابولیت های اولیه و ثانویه آن به حد مطلوب رسیده باشد، پس انتخاب عوامل محیطی تاثیرگذار و ارقام گیاهی مناسب می تواند ما را در رسیدن به هدف اصلی که تولید گیاهانی با حداکثر خواص دارویی و درمانی است کمک کند (۳۴ و۴۳ و ۴۷).

از بارزترین رویدادها و تغییرات بیوشیمیایی مهم دیگری که ضمن تنش شوری در گیاه رخ می دهد، تجمع گونه های فعال اکسیژن (ROS) است که تعادل ردوکس سلولی را مختل کرده و باعث تنش اکسیداتیو می شود که این خود می تواند منجر به غیرفعال سازی آنزیم ها، پراکسیداسیون لیپیدها، تخریب ساختار غشاء، تولید و تجمع مالون دی آلدهید شود(۳۶). افزایش در محتوای مالون دی آلدهید 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 تنش های اکسیداتیو واکنش هایی صورت می گیرد و در گونه های مختلف گیاهی، مقادیر متفاوتی از ترکیبات آنتی اکسیدان سنتز شده که آن ها را در مقابل گونه های مضر اکسیژن فعال شده محافظت می کند (۴۰). برای مثال گیاهان سیستم های دفاع آنتی اکسیدان قوی مانند آنتوسیانین ها، فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی مختلفی را به کار می اندازند 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 می دهند(۱۵). فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی علاوه بر این که آنتی اکسیدان های قوی هستند جزء متابولیت های ثانویه گیاهی نیز محسوب می شوند. به طور کلی باید گفت یکی از مهمترین عواملی که تولید متابولیت‌های ثانویه را در گیاهان تحت تأثیر قرار می‌دهد تنش های محیطی است(۱۳). به نظر می رسد که شوری نیز به عنوان یکی از

تنش های محیطی وارد شده بر گیاهان با فعال سازی تعدادی از مکانیسم های سلولی که منجر به تحریک و افزایش تولید سلسله ای از متابولیت های ثانویه موجود در سلول گیاهی می شود بر فرآیند تولید این ترکیبات تاثیرگذار باشد.

از سوی دیگر اعمال تیمارهای فیتوهورمونی می تواند بر پاسخ گیاهان به تنش شوری تاثیر گذاشته و از اثرات مخرب آن بر گیاه بکاهد(۲۳). یکی از موثرترین هورمون ها جیبرلین است که انتظار می رود 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 غلظت های مختلف آب شور نشان داد که پارامترهای رشدی گیاه در اثر استفاده اسید جیبرلیک بهبود یافته و استفاده از این هورمون، استقرار گیاه را بهبود بخشید. به نظر می رسد که آثار بازدارندگی شوری بر پارامترهای رشدی این گیاه با استفاده از جیبرلین، کم می شود. این نتایج موافق با یافته هایی است که استفاده از تنظیم کننده های رشد گیاه نظیر جیبرلین را بر عوامل بازدارنده ی رشدی موثر می دانند(۲۱).

در این راستا به جهت بررسی چگونگی تغییرات ترکیبات درون سلولی در گیاه مرزه تحت شرایط شور و همچنین نقش تنظیم کننده های رشد گیاهی از جمله جیبرلین که انتظار می رود با تاثیر 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 غلظت های مختلف شوری و جیبرلین و همچنین برهم کنش آنها در گیاه مرزه و نقش آنها در افزایش هر چه بیشتر خواص دارویی این گیاه مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روشها

آماده سازی 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 گلدان های حاوی ماسه مرطوب منتقل شدند. گلدان ها در شرایط گلخانه، با درجه حرارت ۱±۲۵ سانتی گراد در روز و ۱±۱۸ سانتی گراد 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، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ میلی مولار کلریدسدیم (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 برگ ها 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 رنگیزه های فتوسنتزی: جهت بررسی محتوای کلروفیل های a و b در غلظت های مختلف از شوری و جیبرلین و همچنین تاثیر برهمکنش این عوامل بر میزان رنگیزه های فتوسنتزی ۰/۱ گرم از برگ های تازه مرزه به هاون چینی منتقل شده و با حدود ۱۰ میلی لیتر استون ۸۰ ٪ به خوبی ساییده شدند و محلول یکنواختی بدست آمد.

سپس محلول فوق توسط یک قیف و کاغذ صافی واتمن

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 کلروفیل های a وb به روش Lichtenthaler (1994) و از روی میزان جذب آنها در طول موج های ۶۶۳/۲ و ۶۴۶/۸ نانومتر بر حسب $mg\ g^{-1}$ F. W برای تمام نمونه ها محاسبه شد(۳۲).

سنجش پرولین:نقش پرولین در امر سازگاری گیاهان به تنش های محیطی از جمله شوری بسیار مهم و ضروری است. در این پژوهش بمنظور اندازه گیری محتوای پرولین و تغییرات آن در گروه های مختلف تیماری ۰/۲ گرم وزن تر قسمت انتهایی ریشه، در ۵ میلی لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ ٪ ساییده 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، لوله های 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 دی آلدهید(MDA) که نتیجه آسیب و تخریب غشاء سلولی در طی تنش شوری است، قابل اندازه گیری می باشد. این اندازه گیری ها با استفاده از روش Health وPacker (1968) انجام گرفت(۲۵). به این منظور ۰/۲ گرم بافت تازه ریشه یا برگ را در ۵ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد سائیده و عصاره حاصل به مدت ۵ دقیقه در g ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد. به یک میلی لیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ، ۴ میلی لیتر TCA ۰/۲ درصد که حاوی ۵ درصد تیوباربیتوریک اسید بود، اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد حمام آب گرم حرارت داده، سپس بلافاصله در یخ سرد و دوباره به مدت ۱۰ دقیقه در g ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ 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 (رنگیزه های غیراختصاصی) در۶۰۰ نانومتر خوانده و از این مقدار کسر گردید. برای محاسبه غلظت (MDA) از ضریب خاموشی معادل cm^{-1} (μM^{-1} ۰/۱۵۵) استفاده و بر اساس واحد $\mu\ mol\ g^{-1}$ (F.W.) بیان شد.

سنجش میزان فنل کل و فلاونوئیدها: فنل و فلاونوئیدها از جمله متابولیت های ثانویه ای هستند که به نظر می رسد در شرایط تنش زای محیطی و همچنین در حضور برخی از فیتوهورمون ها میزان تولید و تجمع آنها در سلول گیاهی تغییر می یابد، 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

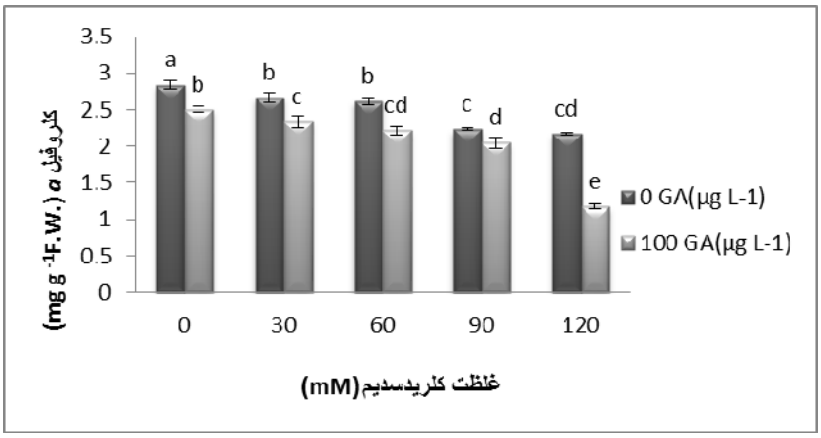
۵ درصد اضافه شد. ترکیب برای مدت یک ساعت در تاریکی ماند. سپس جذب نمونه ها با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۱۵ نانومتر خوانده شد و غلظت فنل بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک محاسبه شد. برای رسم منحنی استاندارد نیز از اسید گالیک در غلظت های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۵ ،۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر استفاده شد، و کلیه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

میزان سنجش فلاونوئیدها نیز با استفاده از آزمون رنگ سنجی کلرید آلومینیوم صورت گرفت (۵۲ و ۵۱). به این ترتیب که ۰/۵ میلی لیتر عصاره اتانولی با ۲ میلی لیتر آب مقطر و ۱۵۰ میکرولیتر نیترات سدیم ۵ درصد مخلوط شد و پس از ۶ دقیقه به آن ۱۵۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد و ۲ میلی لیتر هیدروکسیدسدیم ۱ مولار اضافه گردید و پس از گذشت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق میزان جذب در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه گیری شد. میزان کل ترکیبات فلاونوئیدی موجود در عصاره با استفاده از معادله به دست آمده از منحنی استاندارد کوئرستین محاسبه و نتایج بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک بیان شد.

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 میانگین ها استفاده شد. رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel انجام گرفت.

نتایج

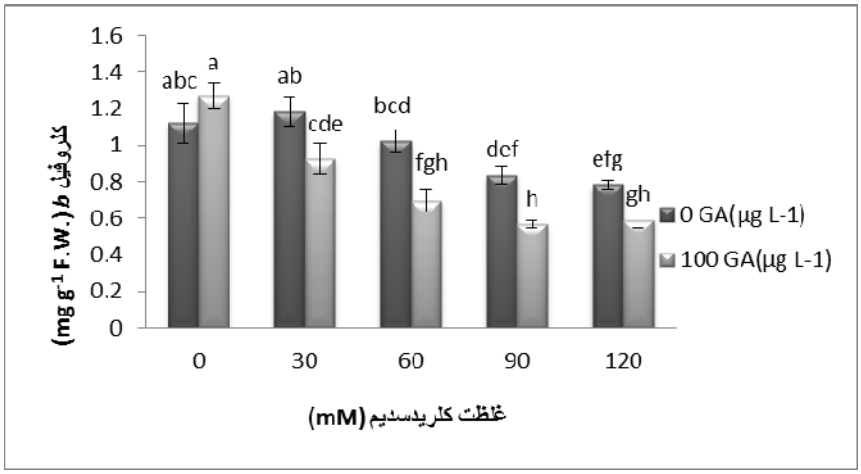
نتایج حاصل از اندازه گیری میزان کلروفیل *a* در برگ های گیاه مرزه: اندازه گیری ها نشان داد که شوری و جیبرلین به تنهایی به طور معنی داری محتوای کلروفیل *a* برگ ها را نسبت به نمونه شاهد کاهش می دهد، این در حالی است که اثر متقابل شوری و جیبرلین بر محتوای کلروفیل *a* معنی دار نبود(جدول۱). به این ترتیب نمونه شاهد با ۲/۸۳ میلی گرم بر گرم بافت تازه بیشترین و تیمار بر هم کنش ۱۲۰ میلی مولار کلریدسدیم و ۱۰۰ میکروگرم در لیتر جیبرلین با ۱/۱۷ میلی گرم بر گرم بافت تازه کمترین میزان کلروفیل *a* برگ را به خود اختصاص دادند (شکل۱).



شکل۱- اثر برهمکنش کلریدسدیم و جیبرلین بر میزان کلروفیل *a* در برگ گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.)

نتایج حاصل از اندازه گیری میزان کلروفیل *b* در برگ های گیاه مرزه: نتایج تحقیق نشان داد که از نظر میزان کلروفیل *b*، بین سطوح مختلف شوری تفاوت معنی داری در سطح یک درصد مشاهده گردید(جدول۱). تیمارهای شوری تنها و تیمارهای متقابل شوری در جیبرلین میزان کلروفیل *b* را به طور چشم گیری کاهش دادند، میزان کلروفیل *b* فقط در تیمار جیبرلین تنها به طور معنی داری نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت. به این ترتیب کمترین

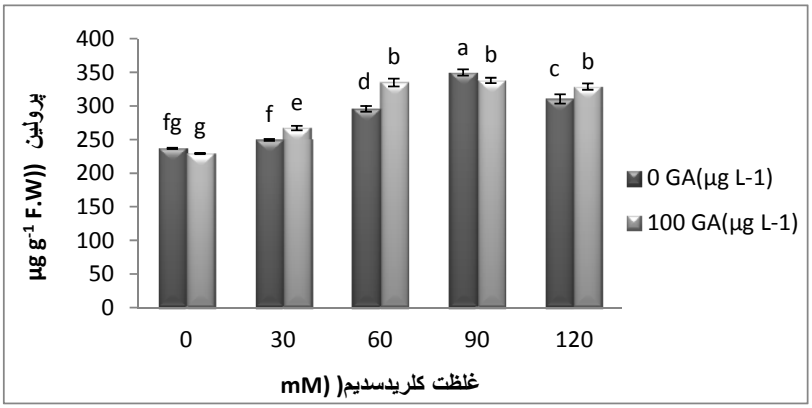
مقدار کلروفیل *b* را تیمار ۹۰ میلی مولار کلریدسدیم بهمراه کاربرد ۱۰۰ میکروگرم در لیتر جیبرلین و بیشترین مقدار کلروفیل *b* را تیمار ۱۰۰ میکروگرم در لیتر جیبرلین از خود نشان دادند (شکل۲).



شکل۲- 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 غلظت های مختلف میزان تولید و تجمع پرولین در ریشه گیاه مرزه را افزایش داد.

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 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(جدول۱ و شکل۳).

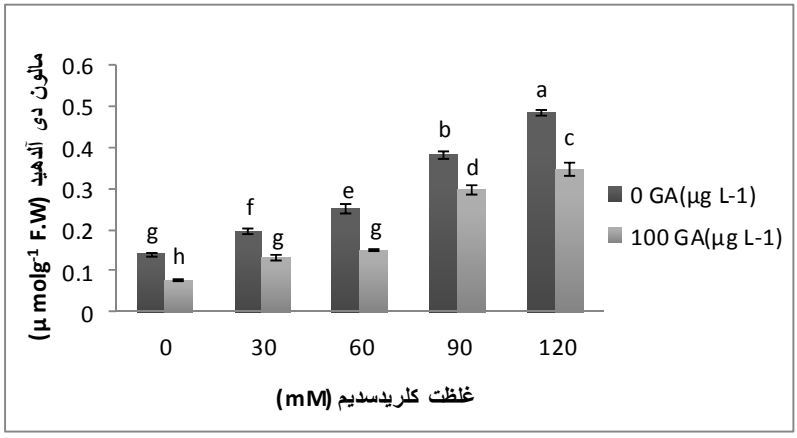


شکل ۳- اثر برهمکنش کلریدسدیم و جیبرلین بر میزان پرولین در ریشه گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.)

علت اینکه از غلظت ۹۰ میلی مولار کلریدسدیم به بعد دیگر تجمع پرولین افزایش نمی یابد را می توان اینگونه توجیه کرد که پرولین نمی تواند بیشتر از این، اثر تخریبی نمک را هم پوشانی کند و تجمع بیش از حد آن برای سلول امری بی فایده محسوب می شود. از طرفی در غلظت های بالای کلریدسدیم تولید ترکیبات حاصل از

فتوسنتز و اسکلت کربنی مورد نیاز به عنوان پیش ماده جهت سنتز پرولین کم می شود و در نتیجه سنتز این مولکول ها نیز تحت تاثیر قرار می گیرد (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 دی آلدهید(MDA) که یکی از محصولات پراکسیداسیون لیپیدهاست، مشخص می شود. آزمایشات اندازه گیری میزان مالون دی آلدهید تولید شده در گیاهان تحت تنش نشان داد که تیمارهای کلریدسدیم به تنهایی به طور چشم گیر و معنی داری بر پراکسیداسیون لیپیدها تاثیر گذاشته و باعث افزایش میزان مالون دی آلدهید نسبت به نمونه شاهد شد. اثر جیبرلین هم تاثیر معنی داری بر میزان مالون دی آلدهید داشت. اثر دوگانه شوری بهمراه جیبرلین نیز در این آزمایش در سطح ۱ درصد معنی دار شد (جدول۱) و باعث افزایش میزان مالون دی آلدهید گردید، ولی روند افزایش آن نسبت به تیمارهای شوری بدون کاربرد جیبرلین با یک شیب ملایم تری پیش رفت. پس می توان اینگونه نتیجه گرفت که جیبرلین توانست تا حدودی از پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب های 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 دی آلدهید ریشه را نشان دادند(شکل ۴).



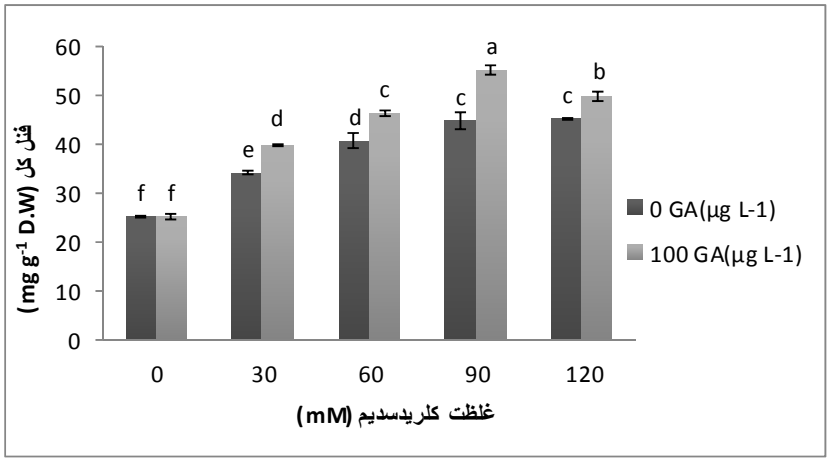
شکل۴ – اثر برهمکنش کلریدسدیم و جیبرلین بر میزان مالون دی آلدهید در ریشه گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.)

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 داده ها نشان داد که اثر تیمارهای شوری تنها و تیمارهای برهم کنش شوری و جیبرلین بر میزان فنل کل در سطح یک درصد معنی دار شد، این در حالی است که تیمار جیبرلین تنها، هیچ اثر معنی داری را روی میزان ترکیبات فنلی ایجاد نکرد (جدول۱). 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 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 (شکل۵).

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

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 اندازه گیری میزان فلاونوئیدها در گیاهان تحت تیمار شوری و جیبرلین نشان داد که تیمار ۱۲۰ میلی مولار کلریدسدیم و تیمارهای برهم کنش ۹۰ میلی مولار 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 گروه های تیماری به خود اختصاص دادند(شکل ۶).



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

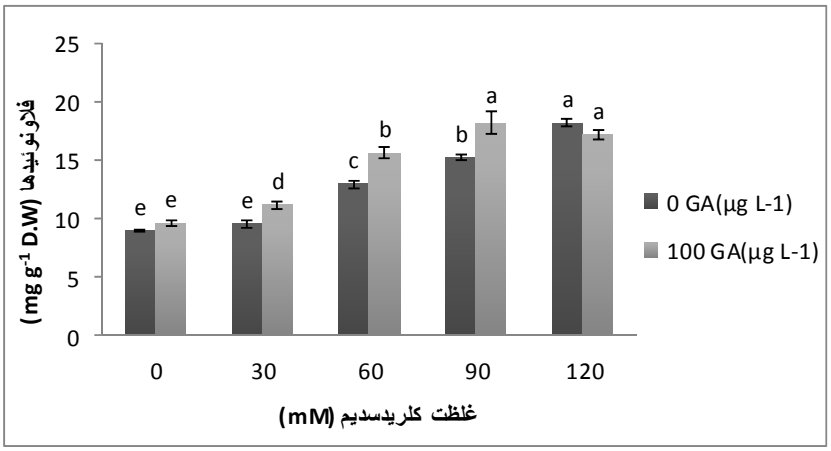
بحث

بررسی تاثیر شوری و جیبرلین بر رنگیزه های فتوسنتزی در برگ های گیاه مرزه: رنگیزه های فتوسنتزی از سری مولکول زیستی هستند که در فرآیند فتوسنتز نقش دارند و میزان آن ها در گیاهان زنده به عنوان یکی از عوامل مهم در حفظ ظرفیت فتوسنتزی است(۲۷). تنش شوری از جمله تنش هایی است که باعث تغییر در میزان این مولکول ها در سلول های گیاهی می شود. به این ترتیب که افزایش مقدار ترکیبات فعال اکسیژن طی تنش شوری باعث کاهش میزان کلروفیل ها می شود. همچنین رادیکال های سوپراکسید و محصول همراه آن ها یعنی پراکسیدهیدروژن، نیز می توانند باعث تجزیه رنگیزه های کلروفیل شوند و به دنبال تجزیه این مولکول ها، ساختارهای تیلاکوئیدی در کلروپلاست ناپدید می گردد (۳۹).

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

منبع تغییرات	درجه آزادی df	F					
		کلروفیل *a*	کلروفیل *b*	پرولین	مالون دی آلدهید	فنل	فلاونوئید
NaCl	۴	۵۴/۳۸۶**	۲۲/۹۰۲**	۲۶۰/۱۱۰**	۴۱۳/۸۲۹**	۵۳۱/۸۱۹**	۱۳۲/۹۷۴**
GA_3	۱	۹۳/۲۳۳**	۱۸/۴۰۸**	۱۱/۷۶۵*	۲۵۶/۲۰۰**	۱۹۰/۱۴۴ ns	۲۲/۶۷۵**
NaCl x GA_3	۴	۱/۴۸۲ ns	۴/۲۲۲*	۱۶/۴۱۷**	۶/۱۳۰**	۱۷/۱۳۴**	۶/۳۲۱*
خطا	۲۰	۰/۰۰۹	۰/۰۱۳	۵۳/۱۶۰	۰/۰۰۰	۱/۱۳۵	۰/۶۲۷

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



شکل۶- اثر برهمکنش کلریدسدیم و جیبرلین بر میزان فلاونوئیدها در ریشه گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.)

در طی تنش شوری از طرفی مشخص شده است که مقدار اتیلن و اسید آبسیزیک افزایش می یابد که افزایش این ترکیبات باعث تحریک فعالیت آنزیم کلروفیلاز می شود که افزایش فعالیت این آنزیم نیز یکی از عوامل موثر در کاهش میزان کلروفیل ها طی تنش شوری است (۱۹). از دیگر دلایل کاهش کلروفیل گیاه می توان به فعال شدن مسیر کاتابولیسمی کلروفیل و یا عدم سنتز کلروفیل اشاره کرد(۴۴). آزمایشات متعددی نشان می دهد که تحت تنش شوری، مقدار رنگیزه های کلروفیلی گیاه کاهش پیدا می کند(۲۲). برای مثال گزارش شده که میزان کلروفیل های *a* و *b* در گیاه جو با به کارگیری NaCl کاهش یافت(۲۰).

نتایج این تحقیق نیز گویای کاهش رنگدانه های فتوسنتزی تحت شرایط تنش شوری است. در برهم کنش شوری و جیبرلین نیز کاهش میزان کلروفیل نسبت به نمونه شاهد مشاهده شد، چرا که در شرایط تنش شوری، هورمون جیبرلین با تاثیری که بر تحریک رشد برگ در گیاه می گذارد باعث افزایش در تعداد برگ ها و همچنین سطح برگ در گیاه مرزه شده و بدین ترتیب با افزایش تعداد برگ به نوعی توزیع پیش ماده های لازم جهت بیوسنتز کلروفیل در کلروپلاست برگ ها کاهش یافته و نهایتاً منجر به کاهش شاخص کلروفیل در برگ می شود.

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 می توان 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 غلظت های مختلف کلریدسدیم و جیبرلین بر محتوای پرولین به طور معنی داری آشکار شد. شوری و جیبرلین غلظت پرولین را نسبت به نمونه شاهد افزایش دادند. تنظیم اسمزی در گیاهان، مکانیسم عمده اجتناب از تنش های آبی در محیط های خشک و شور است. به طور کلی کاهش پتانسیل اسمزی در اثر تجمع مواد محلول سازگار در شرایط تنش های خشکی و شوری رخ می دهد و شدت انجام آن به سرعت و میزان توسعه تنش، نوع و سن اندام و تنوع ژنتیکی درون و بین گونه ای بستگی دارد (۸ و ۱۸). به طور کلی مشخص شده است که این مواد محلول با واکنش های عادی بیوشیمیایی سلول تداخل ندارند و به عنوان محافظان اسمزی در طی تنش اسمزی عمل می کنند، در بین مواد محلول سازگار شناخته شده پرولین گسترده ترین نوع آن هاست و تجمع آن، در فرآیند سازگاری به تنش شوری، نقش مهمی دارد (۲۶).

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

تجمع پرولین در بافت های گیاهی که آب از دست داده اند اولین بار در سال ۱۹۵۴ گزارش شد. تنش های محیطی از جمله شوری موجب افزایش ذخیره پرولین در برگ گیاهان می شود و افزایش سطح این ترکیبات در گیاهان از نظر سازگاری گیاه اهمیت دارد و گیاهان را قادر می سازد تا در شرایط تنش زا زنده بمانند. پرولین می تواند آثار نامطلوب تنش را بر فعالیت آنزیمی و ساختار غشاهای سلولی تقلیل نماید و تولید رادیکال های 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 پروتئین ها و یا افزایش تجزیه پروتئین ها که خود با کاهش رشد همراه است می باشد. 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 آبسیزیک القا شود به طوریکه افزایش میزان پرولین آزاد در برگ گیاهان تیمار شده با این هورمون مشاهده شده است (۴۹).

پرولین اسید آمینه ذخیره ای 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 برگ ها سریع تر و بیشتر از سایر اندام هاست. تجمع پرولین به گیاه کمک می کند 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 سمت مسیر و فرآیندهایی غیر از متابولیسم اولیه و بیوسنتز مولکول های آلی ضروری از جمله پروتئین ها و آنزیم ها هدایت می کند (۴۶).

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

Safarnejad در سال ۲۰۰۴ با بررسی تنش اسمزی بر ژنوتیپ های یونجه عنوان کرد که ژنوتیپ های مقاوم عکس العمل سریع تر و بیشتری از نظر تجمع پرولین نسبت به گونه های 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 جیبرلین ها نیز نشان می دهد که جیبرلین ها باعث افزایش در فعالیت RNA پلی مراز شده و در نتیجه میزان رونویسی از بخش هایی از DNA را افزایش می دهند. جیبرلین ها با القاء تغییراتی در مراحل رونویسی و یا ترجمه برخی از ژن ها موجب تغییرات کمی و کیفی در سنتز برخی از اسیدهای آمینه از جمله پرولین می شوند(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 مکانیسم های مقاومت در برابر تنش

شوری، وابسته به دو لایه لیپیدی و اسیدهای چرب غیراشباع آن است که درطی تنش، پایداری غشاء را تضمین می کنند (۴۴).

رادیکال های 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 می شود (۱۴ و ۴۵). شواهد نشان می دهد که مالون دی آلدهید محصول تجزیه اسیدهای چرب غیراشباع است که به عنوان نشانگر زیستی برای اندازه گیری پراکسیداسیون لیپیدها استفاده می شود (۳۵). در پژوهش حاضر، میزان MDA افزایش معنی داری در گیاهانی که با NaCl تیمار شده بودند نشان داد که این نشان دهنده اثر تنش شوری بر تخریب غشاست.

افزایش در محتوای مالون دی آلدئید در شرایط تنش شوری در برنج (۱۸) و عدس (۹) نیز گزارش گردیده است. شدت این پاسخ یعنی تولید مالون دی آلدهید می تواند با توجه به میزان شوری خاک و آب و یا نوع گونه های گیاهی متفاوت باشد، برای مثال دیده شد که، سطح شوری یکسان، پاسخ متفاوت لیپیدهای غشایی را در ارقام متفاوت کلزا (*Brassica napus* L.) با درجه ی 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 می شود (۴۵) که با نتایج این تحقیق نیز مطابقت دارد. بررسی ها نشان داده است که تنظیم کننده های رشد گیاهی با جلوگیری از آسیب به اسیدهای چرب و کاهش نفوذپذیری غشاء و حفاظت از غشاء تیلاکوئیدی در زمان تنش شوری نقش خود را ایفا می کند و این اثر را احتمالا با کاهش مقدار H_2O_2 انجام می دهد (۱۴)، از سوی دیگر علت کاهش پراکسیداسیون لیپیدها در گیاه را می توان در نتیجه عملکرد جیبرلین در از بین بردن رادیکال های فعال اکسیژن دانست. که احتمال می رود این هورمون با تأثیر بر روی فعالیت آنزیم های پالاینده رادیکال های آزاد موجب کاهش در محتوای رادیکال های سوپر اکسید و پراکسید هیدروژن گردیده است و از فعالیت لیپوکسیژناز و تجزیه اسیدهای چرب غشاء جلوگیری کرده است (۳۸ و ۳۱).

بررسی تاثیر جیبرلین بر میزان فنل کل تحت تنش شوری: آنتی اکسیدان ها براساس عملکردشان به دو گروه اصلی آنتی اکسیدان های اولیه و ثانویه تقسیم می شوند. آنتی اکسیدان های اولیه الکترون یا هیدروژن خود را به رادیکال های آزاد می دهند درحالی که آنتی اکسیدان های ثانوی به عنوان همیار عمل می کنند، یعنی از طریق دادن هیدروژن و بازیابی آنتی اکسیدان اولیه و یا جاروب کننده های اکسیژن و عوامل کلاته کننده نقش خود را ایفا می‌نمایند. فنل ها و فلاونوئیدها معمولاً به عنوان آنتی اکسیدان های ثانویه و جاروب کننده رادیکال های آزاد عمل می کنند(۲۴).

گیاهان منبع غنی از ترکیبات فنلی هستند که مهم ترین آنتی اکسیدان های طبیعی و ثانویه به شمار می آیند. به عنوان مثال عصاره نعناع ترکیبات فنلی بالایی دارد و بدین سبب فعالیت آنتی اکسیدانی خوبی را از خود نشان می دهد یا عصاره رزماری ثابت شده که دارای فعالیت بالای آنتی اکسیدانی است و این فعالیت با محتوی فنلی گیاه رابطه مستقیم دارد (۴۸ و ۵۰).

از طرفی رابطه بنیانی خوبی بین مقدار کلی فنولیک های بافت گیاهی و شدت تنشی که گیاهان در معرض آن قرار می گیرند، وجود دارد. در حقیقت مقاومت گیاهی به کمک ترکیبات فنولیک، همین طور آنتی اکسیدان ها و پلی آمین ها تکمیل می شود (۴).

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

هاست. گروه های هیدروکسی آزاد متصل به حلقه آروماتیک توان جاروب کردن رادیکال های آزاد را داشته، بدین لحاظ آسیب های اکسیداتیو را کاهش داده، ساختارهای سلولی را از تأثیرات منفی شوری محافظت می کند (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 آنزیم های درگیر در متابولیسم ترکیبات فنلی مطرح می شود که اشاره بر سنتز ازنو فنل ها تحت تنش شوری دارد. افزایش فنل های محلول برای دخالت در بیوسنتز لیگنین نیز منعکس کننده 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 می توان به نقش جیبرلین در افزایش فعالیت آنزیم آلانین آمونیالیاز (PAL) و به دنبال آن افزایش سنتز ترکیبات فنلی مرتبط دانست. چرا که فعالیت این آنزیم شدیدا تحت تاثیر شرایط هورمونی و محیطی است و نقش مهمی در کنترل فنولیک های کل دارد(۴ و ۵). به عنوان مثال طبق آزمایشهای انجام شده روی درخت های زیتون تحت تنش خشکی، دیده شد که با افزایش آبیاری فعالیت آنزیم آلانین آمونیالیاز (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 آن ها و یا حذف آن هاست. به هر حال سیستم دفاعی در پاسخ به افزایش تشکیل ترکیبات فعال اکسیژن تحت شرایط تنش آغاز به کار می کند (۲۹) و گیاه برای پیشگیری از آسیب های شدید ناشی از این ترکیبات، سیستم های دفاعی آنتی اکسیدان را به کار می برد. این سیستم های آنتی اکسیدان آنزیمی و غیر آنزیمی هستند که در جهت سازگاری گیاه به شرایط تنش فعال می شوند، از جمله ترکیبات غیرآنزیمی می توان توکوفرول ها، کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها را نام برد (۱۶).

فلاونوئیدها گروه پیچیده ای از متابولیت های ثانویه گیاهی هستند که دارای ۹۰۰۰ مولکول متفاوت با اعمال زیستی گسترده مانند پیام رسانی در برهم کنش بین گیاهان و میکروارگانیسم ها، دفاع در برابر گیاه خواران و پاتوژن ها، محافظت در برابر نور UV، رنگ دانه گرده گل ها برای جذب گرده افشان ها و یا تحریک جوانه زنی دانه گرده و رشد لوله گرده و همچنین سازگاری گیاهان به شرایط تنش زای محیطی می توان اشاره کرد (۵۲ و۳۴ و۳۳). خاصیت آنتی اکسیدانی فلاونوئیدها وابسته به ساختار شیمیایی آنهاست. به عنوان مثال فعالیت آنتی اکسیدانی فلاونوئیدها با افزایش تعداد گروه های هیدروکسیل متصل به حلقه B به ویژه روی کربن موقعیت ۳ افزایش می یابد(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 آنتی اکسیدان هایی محسوب می شود که گیاه جهت مقاومت به شرایط تنشی تولید کرده و این گونه به تنش اعمال شده پاسخ می دهد.

نتیجه گیری کلی

با توجه به نتایج بدست آمده میتوان نتیجه گرفت که شوری در غلظت های مختلف می تواند موجب تولید و تجمع بیشتر برخی از متابولیت ها 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 فعال سازی برخی آنزیم ها و تاثیر مثبت بر روند سنتز یک سری متابولیت های ثانویه، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در گیاه سبب افزایش هر چه بیشتر مقاومت گیاه مرزه به تنش شوری می گردد که این خود عواملی است که باعث می‌شود تا خواص دارویی و آنتی اکسیدانی گیاه مرزه افزایش یابد.

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 دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) در شرایط تنش خشکی. مجله پژوهشهای گیاهی. ۵. ۸۹۳- ۹۰۳.

۳- عموآقایی، 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). Chlorophylase 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 Biochemestry 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 furfgrasses 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, H_2O_2 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 preventation and treatment for age-related diseseases. Biological Sciences. 8: 187-256.

39- Navaris-Izzo, F., Pinzino, C., Quartacci, M.F., Sgherri, C.L.M and Izzo, R.(1994). Intracellular membrane kintics 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 tress 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*. FoodChemistry.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]

[1]Dept. 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 µg 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 GA_3 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