

مطالعه تشریحی گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) در مراحل مختلف نموی و تأثیر تنش خشکی و تیمار سالیسیلیک اسید بر برخی ویژگی‌های ریخت‌شناسی و مولکولی آن

فاطمه جمال امید^۱، هانیه محجل شجاع^{۱*} و ریحانه سریری^۲

^۱ ایران، تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده علوم طبیعی، گروه علوم گیاهی

^۲ ایران، رشت، دانشگاه گیلان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۷/۱۳

چکیده

بادرنجبویه از گیاهان دارویی مهمی است که باتوجه به عدم وجود مطالعات تکوینی در این گیاه، پژوهش حاضر نخست در جهت شناخت ساختار تشریحی و سپس نحوه پاسخ‌دهی آن به تنش خشکی (صفر، ۲/۳ fc، ۱/۳fc) و تأثیر کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید (صفر، ۰/۷ و ۱/۵ میلی مولار) صورت گرفت. برای این منظور بذر گیاه بادرنجبویه پس از استریلیزاسیون در گلدان‌های مناسب کشت گردید و اعمال تنش خشکی تیمار سالیسیلیک اسید در مرحله شش برگی انجام شد. همزمان تعدادی گلدان بدون تیمار برای مطالعات تشریحی کشت شد. آزمایشات به صورت فاکتوریل اسپلیت بلات در زمان با سه تکرار انجام شد. تشریح اندام‌های بادرنجبویه تشابه این گیاه با دیگر گیاهان خانواده نعناعیان را نشان داد و با پیشرفت مرحله نموی بتدریج بر ضخامت بافت‌های استحکامی افزوده گردید و در ساقه، پیدایش یک دسته آوند چوب و آبکش جدید در حد فاصل دستجات آوندی قدیمی تأیید شد. در قسمت بررسی تنش‌ها بر بافت‌شناسی، کاهش قطر دهانه آوند چوبی و افزایش طول کرک‌ها مشاهده شد که تیمار سالیسیلیک اسید در کاهش آثار ناشی از تنش خشکی بسیار مطلوب بود. مطالعات مولکولی به کمک تکنیک qRT-PCR نشان داد که بیان ژن تیروزین آمینوترانسفراز (*TAT*) تغییر قابل ملاحظه‌ای در شرایط تنش نداشته و بیشترین مقدار بیان آن در شرایط تنش خشکی ۲/۳ fc و غلظت ۰/۷ mM سالیسیلیک اسید مشاهده شد. می‌توان نتیجه گرفت تیمار سالیسیلیک اسید بر مطالعات بافت‌شناسی، در گیاهان تحت تنش خشکی اثر مثبت داشته، ولی بر روی بیان ژن *TAT* در گیاهان تحت تنش خشکی تأثیر معنی‌دار نداشته است.

واژه‌های کلیدی: بادرنجبویه، خشکی، سالیسیلیک اسید، ساختار تشریحی، ژن *TAT*

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۴۱۱۸۷۴۳۳، پست الکترونیکی: mohajelh@yahoo.com

مقدمه

و لبه‌های آنها تیز و دندانه‌دار است. گل‌های سفید یا صورتی کم‌رنگ آن حاوی خوشه‌های کوچک دارای ۴ الی ۱۲ شکوفه می‌باشند. طعم و عطر این گیاه شبیه به لیمو بوده و همین امر در نامگذاری آن نقش داشته است (۶۴ و ۶۰). خشکی یکی از مهمترین استرس‌های غیرزیستی است که رشد و تکوین گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد

بادرنجبویه یا Lemon balm با نام علمی *Melissa officinalis* گیاه دارویی به خوبی شناخته شده از خانواده نعناعیان (Lamiaceae) می‌باشد که بصورت بوته‌ای و چند ساله تا ارتفاع حدود ۱ متر رشد می‌کند. برگ‌های قلبی شکل این گیاه نرم و کرک‌دار بوده و ۲ الی ۸ سانتی‌متر طول دارند. سطح برگ‌ها، بزرگ و دارای رگه‌های عمیق می‌باشد

گونه‌های گیاهی مختلف و در شرایط تیماری متفاوت مورد بررسی قرار گرفته که می‌توان به مواردی همچون تاثیر یونهای آهن بر محتوای رزمارینیک اسید در گیاهچه-های *Melissa officinalis* (۵۶)، تاثیر نانوذرات گوناگون در تولید رزمارینیک اسید در گونه‌های گیاهی (۴۶ و ۳۷ و ۴۲) و تاثیر عصاره مخمر در تولید این متابولیت در گیاهان مختلف (۴۹) اشاره نمود. پژوهش‌های متعددی تاثیر کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید را در گیاهان، مورد بررسی قرار داده و به این نتیجه رسیده‌اند که این ترکیب نقش حفاظتی در گیاهان تحت تنش دارد و سبب مقاومت به تنش شوری در گیاهچه‌های گندم (۵۸) تحمل به گرما در توتون (۱۵) و مقاومت به تنش خشکی در گوجه فرنگی (۲۶) می‌گردد. البته گونه گیاهی و مرحله نموی آن، همچنین غلظت سالیسیلیک اسید و نحوه استعمال آن در نحوه‌ی پاسخ‌دهی به تیمار سالیسیلیک اسید متفاوت است (۳۹ و ۲۹ و ۲۷). با توجه به استقرار جغرافیایی ایران در منطقه خشک و نیمه خشک و مواجهه با شرایط کم آبی، لزوم استفاده از راهکارهایی جهت افزایش مقاومت گیاهان به تنش خشکی امری ضروری و اجتناب ناپذیر است. علی‌رغم کاربرد دارویی وسیع گیاه بادرنجبویه در سطح کشور، مطالعات تکوینی-تشریحی در مورد آن بسیار اندک بوده و تاثیر تنش کم آبی در رشد و نمو این گیاه تابحال مورد بررسی قرار نگرفته است. هدف از پژوهش حاضر، مطالعه خصوصیات تکوینی-تشریحی اندام‌های مختلف گیاه بادرنجبویه در مراحل متفاوت نموی و بررسی تاثیر تنش خشکی بر برخی پارامترهای رشدی و خصوصیات مولکولی این گیاه در حضور یا عدم حضور سالیسیلیک اسید می‌باشد.

مواد و روشها

تهیه بذرها و ضد عفونی کردن آنها: بذر گیاه بادرنجبویه از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان تهیه گردید. بذرها درون آب و مایع ظرفشویی به مدت ۵-

(۱۹ و ۴۰). در سطح یاخته‌ای، پاسخ گیاه به کمبود آب می‌تواند به صورت آسیب‌های یاخته‌ای (کوچک شدن یاخته) ظاهر شود، به طوریکه اندازه سلول در جریان کمبود آب از آوند چوب به سلول‌های اطراف محدود گردد و تقسیم سلولی کاهش یابد (۳۱ و ۵۱ و ۳۹). در پژوهش Makbul و همکاران روی گیاهان سویای تحت تنش کم آبی گزارش شده است که کورتکس این گیاهان توسط یک لایه کلانشیم، ۴ تا ۵ ردیف سلول‌های پارانشیم تخم مرغی شکل با فضای بین سلولی تشکیل شده است که نسبت به گیاهان شاهد افزایش در ضخامت پوست دیده شده است (۴۳). تنش کم آبی در برگ‌های زیتون به افزایش تراکم کرک، کاهش اندازه سلول‌های بشره‌ای و مزوفیلی منجر می‌شود (۱۲). Al-Khalifah و همکاران نشان دادند که تنش کم آبی در *comosum Calligonum* باعث افزایش شدید تعداد آوندهای چوب باریک و بسیار باریک با دیواره سلولی ضخیم می‌شود (۷). موفقیت گونه‌های گیاهی در شرایط تنش بستگی به تعداد فراوان آوندهای چوبی و همچنین باریک بودن این آوندها دارد. SA یک ترکیب فنلی است که در تکوین و رشد گیاه نقش دارد و پاسخ دهی گیاه را نسبت به عوامل زیستی و غیر زیستی سازماندهی می‌کند (۴۵) و به عنوان مولکول سیگنالی، اثر گذاری مطلوبی بر رشد و گسترش گیاه دارد (۳۷). همچنین، تقسیم و مرگ سلولی را نیز تنظیم کرده و در واقع بین رشد و پیری تعادل ایجاد می‌نماید (۵۳). خصوصیات دارویی گیاه بادرنجبویه به دلیل وجود طیف وسیعی از مواد موثره در آن می‌باشد که مهمترین آنها ترکیبی به نام رزمارینیک اسید است که استر کافئیک اسید و ۳ و ۴ دی‌هیدروکسی فنیل لاکتیک اسید می‌باشد. بیوستز رزمارینیک اسید از دو اسیدآمینوی فنیل-آلانین و تیروزین آغاز می‌شود که آنزیم‌های کلیدی درگیر آن، آنزیم فنیل آلانین آمینو لیاز (PAL) و آنزیم تیروزین آمینو ترانسفراز (TAT) می‌باشند (۶۳ و ۶۲). به دلیل اهمیت دارویی و کاربردهای صنعتی رزمارینیک اسید، تولید آن در

از گیاهانی که در شرایط تنش خشکی و تیمار سالیسیلیک اسید قرار داشتند در سه مرحله نمونه‌برداری شد (شکل ۱). برای این منظور از نمونه‌های فیکس شده در محلول FAA، برش‌گیری گردید و فاکتورهای مورد نظر (اندازه‌گیری قطر دهانه آوند چوب، و طول کرک) با استفاده از نرم افزار Image J بررسی شدند.

مطالعات مولکولی: به منظور بررسی بیان ژن *TAT*، استخراج RNA کل از گیاهچه‌های منجمد شده در فریزر 80°C - با استفاده از تریزول با استفاده از روش Chomczynski (1993) صورت گرفت. برای ساخت cDNA در حجم $20\ \mu\text{l}$ بر اساس پروتکل کیت Thermoscience Fisher، از $1\ \mu\text{l}$ RNA با $1\ \mu\text{l}$ oligoDT و آب DEPC مخلوط شد. میکروتیوب‌ها به مدت ۵ دقیقه در دمای 65°C قرار گرفتند. سپس $1\ \mu\text{l}$ آنزیم رونوشت-بردار معکوس (RT)، $2/5\ \mu\text{l}$ بافر آنزیم، $2/5\ \mu\text{l}$ RNase inhibitor و در نهایت آب دیونیزه استریل تا رسیدن به حجم نهایی $20\ \mu\text{l}$ به تیوب‌ها اضافه شد و تیوب‌ها به مدت ۶۰ دقیقه در دمای 42°C قرار گرفتند. در مرحله آخر تیوب‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای 70°C - قرار داده شدند تا آنزیم RT غیرفعال شود. برای نگهداری طولانی مدت، cDNA ها به فریزر 20°C - منتقل گردیدند. پرایمرها از طریق سایت NCBI طراحی شده و توسط شرکت پیشگام سنتز گردید (جدول ۲).

برای اندازه‌گیری بیان ژن *TAT* سه تکرار از هر نمونه‌ی مورد آزمایش استفاده شد. محتوای هر میکروتیوب با توجه به جدول ۱ تهیه و با شرایط دمایی و زمانی ۹۵ (۱۰)، ۵۹ (۳۰)، ۷۲ (۳۰) به دستگاه Real Time (Light Cycler® 96) System Roche- Germany PCR منتقل شد.

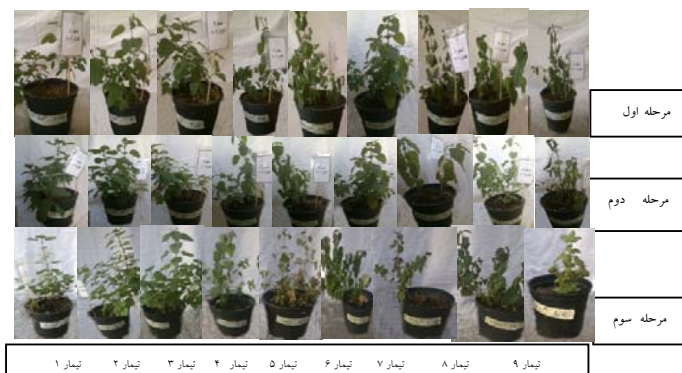
آنالیز آماری: کشت گیاهان با سه تکرار در قالب بلوک‌های کاملاً تصادفی انجام شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از جدول ۲. پرایمرهای مربوط به ژن‌های تکثیر شده برنامه SAS 9.4 در قالب طرح اسپلیت بلات \times زمان و

۳ دقیقه قرار گرفته و ۳ بار آبکشی گردیدند. سپس به مدت ۲۰ دقیقه درون محلول هیپوکلریت سدیم ۵٪ گذاشته شده و پس از ۳ بار آبکشی با آب مقطر استریل، به مدت ۲۵- ۲۰ ثانیه در الکل ۷۰٪ قرار داده شدند و سپس با آب مقطر استریل ۳ بار آبکشی شده و در یک گلدان به عنوان خزانه کشت گردیدند (به دلیل ریز بودن بذرها در تمامی مراحل از پارچه مش استفاده شد). بعد از دو هفته بذر ها شروع به جوانه زدن نمودند، گلدان‌های مناسب کشت با خاک مناسب بادرنجبویه با نسبت ۳:۱:۱ ماسه، رس و لومن آماده گردید. در هر گلدان به قطر ۲۰ سانتی متر سه جوانه-ی دو برگی کشت شد. پس از تعیین ظرفیت زراعی (field capacity, fc)، تیمار خشکی در سه سطح صفر، $1/3$ ظرفیت مزرعه‌ای ($1/3\text{fc}$) و $2/3$ ظرفیت مزرعه‌ای ($2/3\text{fc}$) بعد از مرحله ۶ برگی بر روی گیاهچه‌ها اعمال شد (۱۴). تیمار سالیسیلیک اسید نیز با سه غلظت صفر، $0/7$ و $1/5$ میلی مولار دو هفته بعد از اعمال تنش خشکی به صورت اسپری بروی قسمت هوایی گیاه اعمال گردید. (اثر ساده تیمارها به تنهایی و اثر متقابل آن‌ها در سه مرحله تکوینی، سه سطح خشکی و سه سطح سالیسیلیک اسید در هر کدام از فاکتورهای اندازه‌گیری شده، مطالعه شد. سطوح صفر در تیمار سالیسیلیک اسید و تنش خشکی نشان دهنده نمونه‌های شاهد می‌باشند).

مطالعات تشریحی: به منظور انجام مطالعات تشریحی، نمونه‌گیری از برگ، ساقه و دمبرگ گیاهچه‌های بدون تنش در سه مرحله تکوینی (مرحله قبل از گلدهی، مرحله گلدهی و مرحله بعد از گلدهی) انجام شد و نمونه‌ها به مدت ۳۰ روز در محلول فیکساتور FAA تثبیت گردیدند. سپس برش‌گیری به روش دستی انجام گرفت و برش‌ها با محلول سبز متیل و قرمز کنگو رنگ آمیزی شدند. در نهایت مشاهده نمونه‌های مختلف با میکروسکوپ نوری انجام شد.

به منظور اندازه‌گیری قطر دهانه آوند چوب و طول کرک،

مقایسه میانگین‌ها به روش LSD با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵٪ مورد بررسی قرار گرفت.



شکل ۱- تصاویر نمونه‌های گیاهی سه مرحله‌رویشی (قبل گلدهی (مرحله اول نمو)، گلدهی (مرحله دوم نمو) و بعد از گلدهی (مرحله سوم نمو)) در تیمارهای سالیسیلیک و تنش خشکی. تیمار ۱ (سالیسیلیک اسید صفر، خشکی صفر)، تیمار ۲ (سالیسیلیک اسید ۰/۷، خشکی صفر)، تیمار ۳ (سالیسیلیک اسید ۱/۵، خشکی صفر)، تیمار ۴ (سالیسیلیک اسید صفر، خشکی ۲/۳)، تیمار ۵ (سالیسیلیک اسید صفر، خشکی ۱/۳)، تیمار ۶ (سالیسیلیک اسید ۰/۷، خشکی ۲/۳)، تیمار ۷ (سالیسیلیک اسید ۰/۷، خشکی ۱/۳)، تیمار ۸ (سالیسیلیک اسید ۱/۵، خشکی ۲/۳)، تیمار ۹ (سالیسیلیک اسید ۱/۵، خشکی ۱/۳).

آن توسط یک ردیف سلول اپیدرمی احاطه می‌شود. سطح اپیدرم توسط لایه‌ای نازک از پوستک (کوتیکول) پوشیده می‌شود که فراوانی سلول‌های کرک بر روی آن بسیار بالاست. در زیر اپیدرم، در ناحیه مریستم زمینه‌ای، سلول‌های کلانشیم مشاهده می‌شوند که تراکم آن‌ها در چهار گوشه نسبت به بخش‌های دیگر بیشتر است و در زیر سلول‌های کلانشیم در ناحیه پوست، سلول‌های پارانشیمی به اشکال نامنظم و چند وجهی مشاهده می‌شوند که دارای منافذ بین‌سلولی هستند (شکل ۲E). اندودرم آخرین لایه پارانشیم زمینه‌ای است. استوانه آوندی شامل آوند چوب و آبکش بوده و لایه کامبیوم آوندی به شدت در حال تقسیم می‌باشد. دستجات چوب و آبکش در چهار گوشه به صورت منظم دیده می‌شوند که بر روی آوندهای آبکش سلول‌های فیبر مستقر شده‌اند. در ناحیه مغز نیز سلول‌های پارانشیمی بزرگی مشاهده می‌شوند (شکل ۲A).

کوتیکول در هر دو سطح اپیدرم به صورت ناصاف است و بر سطح کوتیکول تریکوم‌های محافظت‌کننده‌ای وجود دارند (شکل ۲B، ۲F). سلول‌های اپیدرم فوقانی مستطیلی شکل هستند و از کوتیکول نازکی پوشیده شده‌اند. در

جدول ۱- مواد مصرفی در RT-PCR

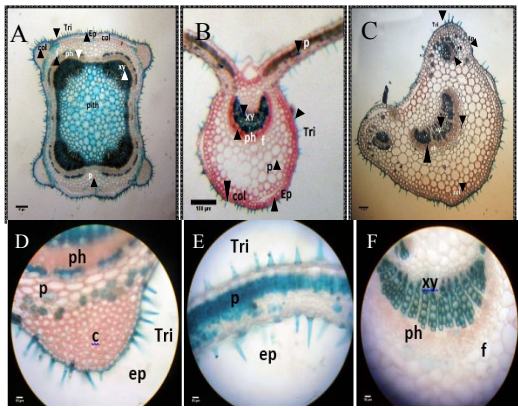
مواد	حجم مورد نیاز برای یک واکنش
Real-Time Mastermix 2X	۶/۲۵ µl
آب مقطر استریل	۲/۲۵ µl
Forward Primer	۰/۵ µl
Reverse Primer	۰/۵ µl
Template DNA	۳ µl
Total volume	۱۲/۵ µl

جدول ۲- پرایمرهای مربوط به ژن‌های تکثیر شده

نام پرایمر	توالی پرایمر
TAT-f	5'-CCTACAAGCTACCAGCCGACTC-3'
TAT-r	5'-GCCCGTAGATTGGGAAACACG-3'
B-Actin-f	5'-TGTATGTTGCCATCCAGGCCG-3'
B-Actin-r	5'-AGCATGGGAAGCGCATAACC-3'

نتایج

بررسی ریخت‌شناسی و بافت‌شناسی ساختمان ساقه، برگ و دم‌برگ در مرحله قبل از گلدهی: طبق بررسی‌های میکروسکوپی صورت گرفته مشخص گردید که ساقه گیاه بادرنجبویه چهار گوش می‌باشد که خارجی‌ترین قسمت



شکل ۲- مرحله اول نموی (قبل از گلدهی). A. برش عرضی ساقه. B. برش عرضی برگ. C. برش عرضی دم‌برگ (D×۱۰۰). سلول‌های کلانشیم و کرک ساقه. E. سلول‌های پارانثسیم و کرک پهنک برگ. F. دستجات آوندی رگبرگ مرکزی برگ (۴۰۰×). مرحله اول نمونه برداری، متد قرمز کنگو- سبز متیل، ep = اپیدرم، Tri = کرک، vb = دستجات آوندی، f = فیبر، p = پارانثسیم، xy = آوند چوب، ph = آوند آبکش، c = کلانشیم، pi = مغز

در ناحیه مغز نیز سلول‌های پارانثسیم با فشردگی بیشتری دیده می‌شوند (شکل ۳A). برش عرضی برگ‌ها در این مرحله نشان داد که بر روی سلول‌های اپیدرم، کرک‌ها با تراکم بالا و طول بلند قرار دارند (شکل ۳B، ۳C) و تراکم و ضخامت سلول‌های کلانشیم که در زیر اپیدرم قرار دارند، بیشتر گردیده و سلول‌های فیبر بر روی آوند آبکش رگبرگ میانی مشاهده می‌شوند. آوند چوب با فشردگی بیشتر در مرکز رگبرگ میانی دیده می‌شود (شکل ۳F). در ناحیه پهنک ضخامت پارانثسیم نردبانی بیشتر شده و کرک‌ها کشیده‌تر هستند (شکل ۳C).

برش مقطع دم‌برگ‌ها نشان داد که بر روی سطح سلول‌های اپیدرم، فراوانی کرک‌ها بیشتر از مرحله قبل شده و آوند-های جانبی دم‌برگ به صورت کامل تشکیل شده‌اند و دسته آوند مرکزی به وضوح مشاهده می‌گردد. سلول‌های فیبر بر روی آوندهای مرکزی مشاهده شدند (شکل ۳F).

بررسی ریخت‌شناسی و بافت‌شناسی ساختمان ساقه، برگ و دم‌برگ در مرحله بعد از گلدهی: مشاهدات

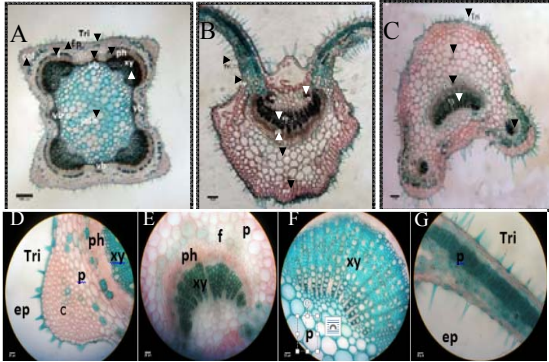
اپیدرم تحتانی سلول‌ها کوچک و حالت موجی پیدا می‌کنند. در دو سطح اپیدرم علاوه بر تریکوم‌های غیرترشحي تریکوم‌های غده‌ای راسی نیز وجود دارند و کرک‌های سپری شکل فقط در اپیدرم فوقانی دیده می‌شوند. کرک‌های غده‌ای از پایه تک ردیفی و سر یک ردیفی تشکیل شده‌اند. در زیر اپیدرم پهنک، یک ردیف سلول پارانثسیم نردبانی و ۲ تا ۳ ردیف سلول پارانثسیم اسفنجی مشاهده می‌شود. در قسمت رگبرگ مرکزی، در زیر اپیدرم فوقانی و تحتانی ۲ تا ۳ لایه کلانشیم مشاهده می‌شود که در مراحل اولیه تشکیل می‌باشند. آوند چوبی به صورت نیم هلال در قسمت مرکزی قرار گرفته و شامل چندین گروه اشعه مغزی یک ردیفه، دو ردیفه و چند ردیفه می‌باشد و آوند آبکش در سطح آوند چوبی به طرف اپیدرم تحتانی مشاهده می‌شود. توسعه سلول‌های اسکلرانثیمی (فیبر) در سطح آوند آبکش بسیار اندک است (شکل ۲G، ۲B). در برش عرضی دم‌برگ، سطح مقطع، بیضوی است که توسط یک لایه سلول اپیدرمی کرک‌دار پوشیده شده است. ناحیه پوست، از سلول‌های پارانثسیم کروی با فضای بین سلولی تشکیل شده و در قسمت میانی دم‌برگ یک دسته آوند بزرگ هلالی شکل قرار دارد که در بخش‌های انتهایی هلال (کناره‌های دم‌برگ) دو دسته آوند کوچک اما کامل مشاهده می‌شود (شکل ۲C).

بررسی ریخت‌شناسی و بافت‌شناسی ساختمان ساقه و

برگ و دم‌برگ در مرحله گلدهی: در این مرحله، در برش

عرضی ساقه، اپیدرم به صورت یک لایه سلولی دیده می‌شود که بر روی آن سلول‌های کرک با فراوانی بالایی یافت می‌شوند و ضخامت کوتیکول بیشتر از مرحله قبل است. سلول‌های کلانشیم در چهار گوشه برش‌ها مشاهده می‌شوند (شکل ۳D) و در ناحیه استوانه آوندی آوندهای چوب و آبکش قرار گرفته‌اند که تجمع سلول‌های فیبر بر روی سلول‌های آبکش و چوب بیشتر از مرحله قبل می‌باشد (شکل ۳E).

داشت. تراکم بالایی از فیبر اطراف این دو دسته آوند مشاهده شد. در این مرحله، تراکم بالایی از بافت کلانشیم در زیر سلول‌های اپیدرم دمبرگ قرار داشت (شکل ۴C).

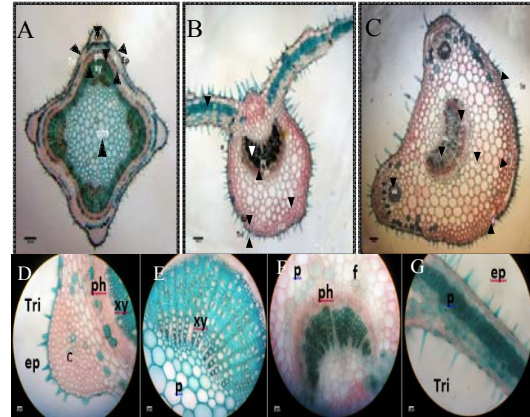


شکل ۴- مرحله سوم نموی (بعد از گلدهی). A. برش عرضی ساقه. B. برش عرضی برگ. C. برش عرضی دمبرگ (×۱۰۰). D. سلول‌های کلانشیم و کرک ساقه. E. دستجات آوندی رگبرگ مرکزی برگ. F. آوند چوبی ساقه. G. پهنک برگ (×۴۰۰). مرحله نمونه برداری، متد قرمز کنگو- سبز متیل، ep = اپیدرم، Tri = کرک، vb = دستجات آوندی، f = فیبر، p = پارانشیم، xy = آوند چوب، ph = آوند آبکش، c = کلانشیم، pi = مغز

مقایسه قطر دهانه آوند چوب و طول کرک‌ها در ساقه نمونه‌های شاهد و تحت تنش: بمنظور آگاهی از نحوه‌ی پاسخ دهی گیاه بادرنجبویه در مقابل تنش خشکی و نقش سالیسیلیک اسید در این رابطه، قطر دهانه آوند چوبی در ساقه، برگ و دمبرگ و نیز طول کرک‌های ساقه و برگ در مراحل متفاوت نموی گیاه (قبل از گلدهی، گلدهی و بعد از گلدهی) در شرایط تنش و شاهد اندازه‌گیری شد.

با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۵)، اثر تنش خشکی و تیمار سالیسیلیک اسید و مرحله نموی (زمان نمونه برداری) هرکدام به تنهایی و نیز تاثیر متقابل بین سالیسیلیک اسید × خشکی و یا سالیسیلیک اسید × خشکی × زمان نمونه برداری بر قطر دهانه آوند چوبی و طول کرک-های ساقه در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود. با توجه به جدول ۳-الف بزرگترین مساحت دهانه آوند چوب مربوط به ساقه گیاهان تیمار شده با اسید سالیسیلیک ۰/۷ mM در مرحله گلدهی (۷۸/۱۷ μm) و کوچکترین

میکروسکوپی ساقه در مرحله بعد از گلدهی یک تفاوت اساسی با دو مرحله قبل نشان داد و آن پدید آمدن یک دسته آوند چوب و آبکش در فاصله دو دسته آوند بود که علائم تشکیل آن از مراحل قبل نیز قابل تشخیص بود (شکل ۴A).



شکل ۳- مرحله دوم نموی (گلدهی). A. برش عرضی ساقه. B. برش عرضی برگ. C. برش عرضی دمبرگ (×۱۰۰). D. سلول‌های کلانشیم ساقه. E. آوند های چوبی ساقه. F. دستجات آوندی رگبرگ مرکزی برگ. G. کرک و سلول های پارانشیم پهنک (×۴۰۰). مرحله دوم نمونه برداری، متد قرمز کنگو- سبز متیل، ep = اپیدرم، Tri = کرک، vb = دستجات آوندی، f = فیبر، p = پارانشیم، xy = آوند چوب، ph = آوند آبکش، c = کلانشیم، pi = مغز تراکم و ارتفاع کرک‌ها بر روی سلول‌های اپیدرم زیاد و سلول‌های فیبر بر روی آوند آبکش به صورت یک حلقه کامل مشاهده گردید. آوندهای چوب پیوسته تر و مترکم تر از مراحل قبل بودند (شکل ۴A، ۴F، ۴D). در مقطع عرضی برگ، سلول‌های اپیدرم با کوتیکول ضخیم مشاهده شدند که کرک‌ها با تراکم و طول زیاد دیده شد (شکل ۴B، ۴G). تراکم سلول‌های پارانشیم نردبانی افزایش نشان داد و کناره‌های آوند چوب و آبکش مرکزی، به صورت هلال به سمت اپیدرم فوقانی پیچیده شد (شکل ۴E، ۴B). سلول‌های اپیدرمی دمبرگ در این مرحله کوتیکول ضخیمی داشته که بر روی آن کرک‌ها با فراوانی نسبتاً بالا مشاهده شدند. مقطع دمبرگ در ناحیه آوندهای جانبی به صورت زائده مانند دیده شد که دو دسته آوند کامل در داخل آن قرار

مرحله قبل از گلدهی و برای گیاهان تحت تیمار کم آبی با $1/3$ ظرفیت مزرعه‌ای و تیمار $1/5$ mM سالیسیلیک اسید مشاهده شد ($43/52 \mu\text{m}$). در مورد صفت طول کرک‌ها، کوتاهترین طول مربوط به برگ گیاهان شاهد قبل از مرحله گلدهی ($15/61 \mu\text{m}$) و بلندترین طول مربوط به گیاهان تحت تنش خشکی $1/3$ ظرفیت مزرعه‌ای و در مرحله بعد از گلدهی بود ($37/61 \mu\text{m}$). بهترین نتیجه از برهمکنش بین تیمارهای خشکی و سالیسیلیک اسید نیز در مرحله گلدهی برای گیاهان تحت تنش خشکی با $2/3$ ظرفیت مزرعه‌ای و سالیسیلیک اسید $0/7$ mM مشاهده شد ($38/51 \mu\text{m}$).

مقایسه قطر دهانه آوند چوب در دم‌برگ نمونه‌های شاهد و تحت تنش: قطر دهانه آوند چوبی در دم‌برگ نمونه‌های شاهد و تحت تنش خشکی در سه مرحله قبل از گلدهی، گلدهی و پس از گلدهی اندازه‌گیری شد و تاثیر تیمار سالیسیلیک اسید بر تغییر اندازه این پارامتر بررسی گردید. با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۵)، تاثیر تنش خشکی و تیمار سالیسیلیک اسید و زمان هرکدام به تنهایی و نیز تاثیر متقابل بین سالیسیلیک اسید × خشکی بر قطر دهانه آوند چوبی در دم‌برگ معنی‌دار بود اما اثر متقابل تنش خشکی × تیمار سالیسیلیک اسید × زمان در صفت مذکور معنی‌دار نبود (با احتمال ۵٪). با توجه به جدول ۳-ج بزرگترین قطر آوند چوبی در دم‌برگ مربوط به گیاهان تیمار شده با سالیسیلیک اسید در مرحله گلدهی ($50/82 \mu\text{m}$) و کمترین مقدار مربوط به گیاهان تحت تنش خشکی با $1/3$ ظرفیت مزرعه‌ای و در مرحله قبل از گلدهی بود ($25/95 \mu\text{m}$). بهترین نتیجه از برهمکنش بین سالیسیلیک اسید و خشکی نیز در مرحله گلدهی در گیاهان تحت تنش خشکی $2/3$ ظرفیت مزرعه‌ای و تیمار $1/5$ mM سالیسیلیک اسید به دست آمد ($47/07 \mu\text{m}$).

مساحت آن مربوط به ساقه گیاهان تحت تیمار کم آبی با $1/3$ ظرفیت مزرعه‌ای و در مرحله گلدهی ($44/9 \mu\text{m}$) مشاهده گردید. بهترین نتیجه از برهمکنش بین تیمارهای خشکی و سالیسیلیک اسید نیز برای گیاهان تحت تیمار خشکی با $1/3$ ظرفیت مزرعه‌ای و سالیسیلیک اسید $0/7$ mM و در مرحله بعد از گلدهی مشاهده شد ($67/79 \mu\text{m}$). در مورد صفت طول کرک‌ها، کوتاهترین طول کرک‌های ساقه برای گیاهان شاهد قبل از مرحله گلدهی ($15/05 \mu\text{m}$) و بلندترین کرک‌ها مربوط به گیاهان تحت تنش خشکی با $2/3$ ظرفیت مزرعه‌ای و در مرحله پس از گلدهی بود ($27/66 \mu\text{m}$). بهترین نتیجه از برهمکنش بین تیمارهای خشکی و سالیسیلیک اسید نیز برای گیاهان تحت تیمار خشکی با $2/3$ ظرفیت مزرعه‌ای و سالیسیلیک اسید $0/7$ mM و در مرحله بعد از گلدهی مشاهده شد ($30/42 \mu\text{m}$).

مقایسه قطر دهانه آوند چوب و طول کرک‌ها در برگ نمونه‌های شاهد و تحت تنش: قطر دهانه آوند چوبی و طول کرک‌ها در برگ نمونه‌های شاهد و تحت تنش خشکی در سه مرحله قبل از گلدهی، گلدهی و پس از گلدهی اندازه‌گیری شد و تاثیر تیمار سالیسیلیک اسید بر تغییر اندازه این پارامتر بررسی گردید. با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۵)، اثر تنش خشکی و تیمار سالیسیلیک اسید و زمان هرکدام به تنهایی بر قطر دهانه آوند چوبی و طول کرک‌های برگ در سطح احتمال ۵٪ بصورت معنی‌دار بود اما اثرات متقابل آن‌ها، تنها برای طول کرک‌ها معنی‌دار بوده و برای قطر دهانه آوندها معنی‌دار نبود. با توجه به جدول ۳-ب بزرگترین مساحت دهانه آوند چوبی برگ‌ها مربوط به گیاهان تیمار شده با اسید سالیسیلیک $0/7$ mM در مرحله بعد از گلدهی ($54/8 \mu\text{m}$) و کوچکترین مساحت آن مربوط به برگ گیاهان تحت تیمار کم آبی با $1/3$ ظرفیت مزرعه‌ای و در مرحله قبل از گلدهی ($23/92 \mu\text{m}$) بود. بهترین نتیجه از برهمکنش بین سالیسیلیک اسید و خشکی نیز، در

جدول ۳- مقایسه میانگین برخی از صفات تشریحی بررسی شده تحت شرایط تنش‌های مختلف در ساقه (الف)، برگ (ب) و دمبرگ (ج) گیاهان بادرنجبویه در مراحل مختلف نموی. مقادیر SA براساس میلی مولار و مقادیر خشکی بر اساس ظرفیت مزرعه‌ای می‌باشند. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون LSD است.

الف:

تیمار	قطر دهانه آوند چوبی ساقه (میکرومتر)			طول کرک ساقه (میکرومتر)		
	قبل از گلدهی	گلدهی	بعد از گلدهی	قبل از گلدهی	گلدهی	بعد از گلدهی
شاهد	۵۳/۰۶gj	۶۵/۵۱ah	۷۰/۳۳ad	۱۵/۰۵b	۲۰/۹ab	۲۰/۳۶ab
سالیسیلیک اسید ۰/۷ (mM)	۶۹/۱۴ae	۱۷/۷۸a	۷۱/۳۹ac	۱۵/۸۱b	۲۰ab	۲۱/۸۷ab
سالیسیلیک اسید ۱/۵ (mM)	۷۰/۶۲ad	۷۷/۹۵ab	۶۶/۴۲ag	۱۶/۴۲b	۲۴/۶۶ab	۲۶/۰۳ab
خشکی ۲/۳ fc	۵۹/۲۵j	۵۷/۷۴j	۶۳/۵۳j	۱۸/۱۰ab	۲۳/۳۶ab	۲۷/۶۶ab
خشکی ۱/۳ fc	۴۹/۴۵cj	۴۴/۹cj	۴۶/۶۳bi	۲۰ab	۲۳/۸۱ab	۲۳/۶۹ab
خشکی ۲/۳ fc و سالیسیلیک اسید ۰/۷ (mM)	۵۴/۷۳ej	۵۷/۱۴cj	۶۱/۶۳j	۲۱/۶۵ab	۲۶/۲۵b	۳۰/۴۲a
خشکی ۲/۳ fc و سالیسیلیک اسید ۱/۵ (mM)	۵۸/۰۹fj	۶۶/۰۶ci	۶۳/۳۱hj	۲۵/۳۳ab	۲۸ab	۲۹/۹۷a
خشکی ۱/۳ fc و سالیسیلیک اسید ۰/۷ (mM)	۵۶/۷۶ej	۵۸/۷cj	۶۷/۷۹ij	۲۵/۸۱ab	۲۴/۱۴ab	۲۵/۳۹ab
خشکی ۱/۳ fc و سالیسیلیک اسید ۱/۵ (mM)	۵۳/۶۶cj	۶۲/۱۸ah	۵۸/۵۶ci	۲۴/۱۱ab	۲۴ab	۲۴/۶۸a

ب:

تیمار	برگ (قطر دهانه آوند چوبی (میکرومتر)			طول کرک برگ (میکرومتر)		
	قبل از گلدهی	گلدهی	بعد از گلدهی	قبل از گلدهی	گلدهی	بعد از گلدهی
شاهد	۴۸/۶۸ad	۵۳/۳۴ab	۴۱/۴۷bg	۱۵/۶۱j	۱۸/۲۵hj	۲۲/۲۹gj
سالیسیلیک اسید ۰/۷ (mM)	۴۹/۵ad	۵۳/۱۹eh	۵۴/۸a	۱۷/۱۱hj	۱۶/۱۹ij	۲۰/۱۴gj
سالیسیلیک اسید ۱/۵ (mM)	۵۰/۹۷ac	۴۸/۳۸ad	۴۷/۶۳ae	۲۳/۰۶gj	۲۰gj	۲۵/۴۶ej
خشکی ۲/۳ fc	۳۰/۶۱h	۳۱/۹۲eh	۳۳/۱۲fh	۲۴/۸۴gj	۲۳/۵۱gj	۲۵/۶۶ej
خشکی ۱/۳ fc	۲۳/۹۲gh	۳۵/۸۵fh	۳۱/۱۱fh	۳۱/۷۱ab	۳۴/۴۵ab	۳۷/۶۱a
خشکی ۲/۳fc و سالیسیلیک اسید ۰/۷ (mM)	۳۸/۵۰bg	۴۱/۷۶ag	۳۴/۵۵eh	۳۱/۷۳cd	۳۸/۳۱a	۳۸/۵۱a
خشکی ۲/۳fc و سالیسیلیک اسید ۱/۵ (mM)	۳۵/۸۵b	۳۴/۶۹cg	۳۴/۴۷fh	۲۶/۲۶f	۲۸/۸۸cd	۳۰/۹cd
خشکی ۱/۳fc و سالیسیلیک اسید ۰/۷ (mM)	۴۱/۷۳cg	۴۲/۴۲bg	۳۵/۱۶dg	۳۰/۵۲cd	۳۳/۱۳cd	۲۶/۷۶de
خشکی ۱/۳fc و سالیسیلیک اسید ۱/۵ (mM)	۲۳/۵۲eh	۴۰/۲۴fh	۳۵/۵۶fh	۳۲/۷۰cd	۳۱/۲۸cd	۳۶/۶۲ab

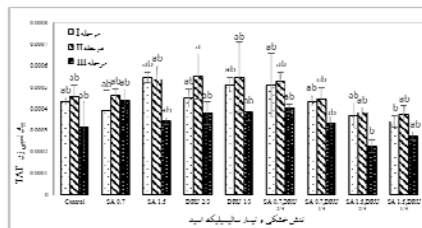
ج:

تیمار	قطر دهانه آوند چوبی دمبرگ (میکرومتر)		
	قبل از گلدهی	گلدهی	بعد از گلدهی
شاهد	۳۸/۵۱gh	۴۱/۲۰bf	۴۵/۵۱ab
سالیسیلیک اسید ۰/۷ (mM)	۴۱/۴۲hi	۴۱/۱۹a	۳۸/۲۱ab
سالیسیلیک اسید ۱/۵ (mM)	۴۹/۳۹ab	۵۰/۸۲a	۴۵/۳۵be
خشکی ۲/۳fc	۲۸/۳۵hi	۳۱/۸۹ij	۳۱/۹۸j
خشکی ۱/۳fc	۲۵/۹۵ch	۳۵/۷۱di	۳۰/۰۲bg
خشکی ۲/۳fc و سالیسیلیک اسید ۰/۷ (mM)	۴۲/۷۵ej	۴۶/۹۷cf	۴۳/۴۵hj
خشکی ۲/۳fc و سالیسیلیک اسید ۱/۵ (mM)	۳۳/۹۸gj	۴۷/۰۷bg	۳۹/۱۸ch
خشکی ۱/۳fc و سالیسیلیک اسید ۰/۷ (mM)	۴۱/۲۵fj	۴۵/۲۳di	۴۲/۹۶hj
خشکی ۱/۳fc و سالیسیلیک اسید ۱/۵ (mM)	۳۸/۴۷dh	۳۹/۱۳be	۳۱/۴۶bg

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعات تشریحی گیاهان شاهد: مطالعات تکوینی بر روی ساقه، برگ و دم‌برگ گیاه بادرنجبویه در سه مرحله نمو نشان داد که این اندام‌ها از نظر ساختار تشریحی مشابه با سایر گیاهان خانواده نعنائیان می‌باشند. در مرحله قبل از گلدهی سلول‌های اپیدرمی کوچک با تقسیمات فراوان و همراه با کوتیکول نازک در ساقه مشاهده شدند و به تدریج که بر سن گیاه افزوده شد، ضخامت کوتیکول نیز افزایش پیدا کرد. تعداد زیادی کرک غده‌ای و غیر غده‌ای بر روی اپیدرم وجود داشت که با پیشرفت مرحله نمو بر طول آن‌ها افزوده شد. در زیر اپیدرم، سلول‌های کلانشیمی قرار داشت که در مراحل اولیه شامل لایه‌های با ضخامت کمتر و با افزایش سن گیاه بر تعداد لایه‌های آن افزوده شد که بدلیل نقش استحکامی این لایه در مراحل پیشرفته رشد گیاه می‌باشد. در قسمت‌های درونی‌تر، بافت پارانشیمی قرار داشت که سلول‌های اندودرم داخلی‌ترین بخش آن را تشکیل داده و در داخل اندودرم دایره محیطیه قرار داشت که آوند چوب و آبکش را احاطه کرده بود و دستجات آوندی به صورت کوتترال، در چهار گوشه ساقه استقرار داشتند. به تدریج با پیشرفت مرحله نمو گیاه بر تعداد دستجات چوب و آبکش افزوده شد، بطوریکه در مرحله پس از گلدهی یک دسته آوند چوب و آبکش جدید در حد فاصل دستجات آوندی قدیمی، قابل مشاهده بود (۶ و ۵۲). بررسی ساختار تشریحی برگ در مراحل نمو مختلف نشان داد که کرک‌های اپیدرمی بر روی این اندام، شامل کرک‌های ساده ی تک سلولی یا چندسلولی بودند که با تراکم نسبتاً بیشتر در سطح زیرین پهنک و خصوصاً در ناحیه رگبرگ اصلی قرار داشتند و کرک‌های غده‌ای ترشح‌کننده نیز بر روی اپیدرم مشاهده گردید.

بررسی بیان ژن تیروزین آمینو ترانسفراز (*TAT*) در گیاهان شاهد و تحت تیمار در مراحل مختلف نمو: به منظور بررسی الگوی بیان ژن تیروزین آمینو ترانسفراز (*TAT*) RNA از نمونه‌های شاهد و تحت تیمار در سه مرحله نمو (قبل از گلدهی، گلدهی و پس از گلدهی) استخراج شد و کیفیت آن بر روی ژل آگارز بررسی گردید. پس از کسب اطمینان از خلوص بالای RNA استخراج شده، سنتز cDNA از روی آن صورت پذیرفت. واکنش RT-PCR با پرایمرهای اختصاصی ژن خانه دار اکتین و ژن تیروزین آمینو ترانسفراز (*TAT*) انجام گرفت. با توجه به جدول آنالیز واریانس (جدول ۵)، تاثیر تنش خشکی و تیمار سالیسیلیک اسید به تنهایی بر میزان بیان ژن معنی دار نبود، اما تاثیر متقابل بین سالیسیلیک اسید×خشکی تفاوت معنی‌داری در بیان ژن مذکور در شرایط تنشی مختلف نشان داد (در سطح احتمال ۵٪). با توجه به جدول ۴ بیشترین میزان بیان نسبی ژن *TAT* در شرایط تیمار با تنش خشکی ۲/۳ ظرفیت مزرعه‌ای و سالیسیلیک اسید ۰/۷ mM در مرحله گلدهی (۰/۰۰۰۵۲۷) و کمترین میزان آن در شرایط تنشی خشکی ۲/۳ ظرفیت مزرعه‌ای و سالیسیلیک اسید ۱/۵ mM و در مرحله بعد از گلدهی (۰/۰۰۰۲۲۵) مشاهده شد. بر اساس نتایج همین جدول میزان بیان نسبی ژن *TAT* در تمام شرایط تنشی، در مرحله پس از گلدهی کمتر از مرحله گلدهی و قبل از آن بود (جدول ۵).



شکل ۴- اثر تنش خشکی (DRU) (۰، ۱/۳ fc و ۲/۳ fc) و تیمار سالیسیلیک اسید (SA) (۰/۷ و ۱/۵ میلی مولار) بر بیان نسبی ژن *TAT* در گیاه بادرنجبویه در سه مرحله قبل گلدهی (مرحله I)، مرحله گلدهی (مرحله II) و بعد از گلدهی (مرحله III). مقادیر، میانگین ۳ تکرار ±SE است.

جدول ۵. جدول تجزیه واریانس برخی صفات بررسی شده تحت تنش خشکی و سالیسیلیک اسید گیاه بادرنجبویه. ** بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد و ns بیانگر عدم معنی‌داری می‌باشد.

بیان نسبی ژن TAT	میانگین مربعات					درجه آزادی	منبع تغییرات
	طول کرک برگ	طول کرک ساقه	مساحت آوند چوب دمبرگ	مساحت آوند چوب برگ	مساحت آوند چوب ساقه		
3/039097E-10ns	۴/۲۱۸۱۰۴۸	۲/۲۷۰۲۲	۱۷/۶۹۹۳۳۸	۴۸/۵۷۰۴۹۴	۲/۴۹۲۱۱۸۱	۲	تکرار
3/8827779E-8ns	۹۵/۰۸۱۹۲۸۴**	۴۲/۶۹۵۸۲۲**	۵۵/۰۹۴۲۱۶۸**	۳۵۶/۸۲۱۷۸۶**	۳۸۶/۲۰۴۵۴۴**	۲	سالیسیلیک اسید
5/7276229E-9ns	۲۰۲/۰۹۶۵۱۶۸**	۱۱۶۵/۲۲۶۴۷۹**	۳۴۰/۲۵۳۱۶**	۱۷۱۷/۷۵۹۴۵۳**	۱۳۶۱/۴۸۴۲۷۰**	۲	خشکی
6/1529214E-8**	۱/۱۷۹۸۰۸۹**	۲۰۱/۹۱۱۹۰۱**	۲۰۹/۲۹۶۸۴۲**	۴۴/۸۰۴۹۹۶ns	۲۵۰/۰۹۷۰۰۴**	۴	سالیسیلیک اسید×خشکی
1/2154202E-8	۱۳/۳۴۱۰۵۱۶	۱۲/۵۷۸۷۴۹	۲۸/۰۰۷۵۶۶	۲۳/۷۵۹۶۲	۷/۲۶۰۶۵۱	۱۶	خطا (۱)
1/2183587E-7**	۱۹۷/۰۴۹۲۴۴۶**	۳۰۰/۵۲۰۷۸۷**	۱۴۲/۴۱۴۶۳۱**	۸۰/۷۷۰۶۱۲**	۱۸۳/۲۳۲۱۵۹**	۲	زمان نمونه برداری
5/2778419E-9ns	۲۳/۰۸۲۷۵۵۹**	۲۴/۸۵۸۶۶۶**	۳۸/۹۳۷۷۳ns	۴۰/۲۶۳۷۸۳ns	۵۳/۱۸۱۵۹۳**	۴	زمان نمونه برداری×سالیسیلیک اسید
7/9646266E-9ns	۳۹/۵۶۷۲۲۷۱**	۱۴/۱۰۹۵۳۶**	۲۳/۷۵۴۱۸۳ns	۱۱/۵۹۱۸۹۴ns	۴۳/۳۸۹۷۷۴**	۴	زمان نمونه برداری×خشکی
1/0648574E-8ns	۱۴/۹۷۶۲۷۷**	۶۱/۶۶۱۷۶۶**	۲۵/۰۷۱۹۸ns	۴۴/۹۸۰۳۹ns	۸۰/۷۶۲۶۲۴**	۸	زمان نمونه برداری×سالیسیلیک اسید×خشکی
1/4078286E-8	۱۱/۰۸۱۶۷۸۲	۷/۸۹۲۹۰۷	۱/۱۲۹۲۵۵	۳/۰۹۱۸۱۸	۱۷/۸۸۰۰۲۴	۴	تکرار(زمان)
1/3876436E-8	۱۶/۵۵۵۷۹۵	۱۰/۶۲۷۱۸۲	۲۳/۰۲۶۲۵۱	۱۵/۰۹۹۱۰۵	۱۰/۷۹۶۷۵۰	۳۲	خطا(۲)

رشدی گیاهان انجام گرفته که اهمیت آب را در نگهداری فشار اسمزی سلول و گسترش صحیح سلولی به اثبات رسانده‌اند (۵۰ و ۱۷). در شرایط کم آبی، شیوه‌های مقابله و سازگاری گیاهان بسیار متنوع بوده و شامل تغییر در محتوای متابولیتی و افزایش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان (۴ و ۲۵)، افزایش میزان پروتئین و اسیدآمینو هایی همچون (۱۶)، کاهش میزان فتوسنتز و مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی (۲ و ۶۵)، افزایش محتوای قندی گیاهان (۹) و تغییرات وسیع هورمونی (۴۷) می‌باشد. Makbul و همکاران با تحقیقی که بر روی سویاهای تحت تنش کم‌آبی انجام دادند، کاهش تعداد سلول‌های بافت آوند چوبی را نسبت به شاهد مشاهده کردند (۴۳). در گیاه بادرنجبویه تنش خشکی سبب کاهش سطح برگ و کاهش دوره رشدی آن می‌گردد (۱). افزایش تراکم و طول کرک‌ها در مراحل مختلف رشد گیاهان نسبت به شرایط محیطی مختلف دستخوش تغییرات عمده‌ای می‌گردند (۴۸). Banon و همکاران (۲۰۰۴) افزایش تعداد، تراکم و اندازه کرک‌ها در اثر تنش کم آبی را گزارش دادند (۱۰). اما مطالعات Shirzadi نشان داد که تفاوت معنی‌داری در تولید بیومس بادرنجبویه در شرایط خشکی وجود ندارد (۵۹). مطالعات ستایش مهر و گنجعلی در رابطه با گیاه دارویی شوید

با پیشرفت مرحله نموی گیاه بر طول کرک‌های برگی افزوده شد. در زیر اپیدرم فوقانی و تحتانی سلول‌های کلانشیمی قرار داشتند که ضخامت لایه‌های آن نیز بتدریج با پیشرفت مرحله نموی گیاه افزوده گشت و در بخش میانی آنها سلول‌های بافت پارانیشم استقرار داشتند. در قسمت استوانه آوندی برگ، آوند آبکش با دیواره نازک سلولزی قرار داشت که بر روی سلول‌های آن لایه نازکی از بافت اسکلرانیشم بود که بتدریج بر ضخامت آن افزوده شد و آوند چوب نیز در مجاورت آوندهای آبکش قرار گرفته و در بین سلول‌های آن، اشعه مغزی یک یا دوسلولی با دیواره نازک سلولزی مشاهده شد. مقطع عرضی دمبرگ به صورت گرد یا بیضوی با دو زایده کناری بود که بر روی سلول‌های اپیدرمی آن کرک‌های ساده و غده‌ای قرار داشت. در قسمت مریستم زمینه سلول‌های کلانشیم و در بخش درونی تر بافت پارانیشم مشاهده شد که سلول‌های دایره محیطیه داخل پارانیشم وجود داشت. اطراف دستجات آوندی مرکزی و

کناری دمبرگ سلول‌های اسکلرانیشمی مشاهده شدند (۵۲ و ۶).
مطالعات تشریحی گیاهان تحت تنش: تحقیقات بسیاری در زمینه تنش خشکی و نقش مهاری آن در فرآیندهای

چوبی شدن می‌گردد (۲۰ و ۲۴). کاهش قطر دهانه آوند چوبی بدلیل افزایش چوبی شدن نشان دهنده سازگاری گیاه با شرایط تنشی و جلوگیری از هدر رفتن آب است که می‌تواند به دلیل افزایش بالای بیان ژن‌های مختلفی همچون ژن فنیل آلانین آمونیلایز (PAL) و افزایش فعالیت آنزیم مربوطه و بدنبال آن افزایش میزان لیگنیفیکاسیون دیواره سلولی صورت گیرد (۱۹). کاهش قطر دهانه آوندی بدلیل افزایش شدت چوبی شدن در اثر تنش‌هایی همچون کم آبی و شوری در گیاهان مختلف همچون گیاه آفتابگردان (۴۲) و گیاه *Ctenanthe setosa* (۳۸) نیز گزارش شده است. تاثیر کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید در گیاهان با شرایط مختلف تنشی (شوری، خشکی، اشعه فرابنفش و پاتوژنها) به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است. وابسته به گونه گیاهی، مرحله نموی گیاه، غلظت به کار رفته هورمون و نحوه استعمال آن (محلول پاشی یا آبیاری) این تاثیرات متفاوت است. هرچند مکانیسم عمل این ترکیب فنولی هنوز بطور دقیق مشخص نشده است، اما شواهد نشان می‌دهد که افزایش تقسیمات سلولی و توسعه سلولی به‌مراه عمل هورمون‌هایی نظیر اکسین (۲۲ و ۲۷ و ۶۱)، تحریک سنتز ترکیبات لیگنینی (۳۰) و افزایش میزان متابولیت‌های ثانویه (۶۶) می‌تواند پاسخگوی عملکردهای SA در گیاهان باشد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که کاربرد غلظت اندک این هورمون در افزایش قطر دهانه آوندهای چوبی نسبت به غلظت بالای آن موثرتر بوده و نیز در شرایط حضور توام خشکی و تیمار با سالیسیلیک اسید، غلظت پایین سالیسیلیک اسید، در اغلب موارد افزایش قطر دهانه آوندها را باعث گردید. مطالعات انجام گرفته در گیاه لوبیا تحت تنش خشکی (۵) و گیاه کانولای آفت زده (۲۳) نیز نشان دادند که محلول پاشی سالیسیلیک اسید در غلظتهای پایین سبب بهبود پارامترهای مورفولوژیک-تشریحی گیاهان تحت تنش شده و افزایش تعداد آوندهای چوبی و قطر دهانه آوندها را باعث می‌شود. افزایش تعداد آوندهای چوبی در حضور سالیسیلیک اسید

(*Anethum graveolens* L) نشان داد که با افزایش تنش خشکی کلیه صفات ظاهری مانند طول ساقه، طول ریشه، سطح برگ و تعداد برگ کاهش یافت (۵۷).

در تحقیقی که بر روی گیاه نخود توسط مداح و همکاران (۱۳۸۵) انجام شد، اسپری سالیسیلیک اسید باعث افزایش سلول‌های بافت پارانشیم گردید (۳). در گیاه سویا و ذرت، محلول پاشی با سالیسیلیک اسید بر افزایش طول و ارتفاع ریشه موثر نبود، اما سطح برگ افزایش پیدا کرد (۳۵). لیان در سال ۲۰۰۰ تاثیر مثبت اسپری سالیسیلیک اسید بر روی افزایش سطح برگ سویا را نشان داد (۴۱). محلول پاشی گیاه گندم با سالیسیلیک اسید، میزان تقسیم سلولی مریستم رأسی ریشه‌های اولیه را که منجر به افزایش رشد طولی می‌شوند، را زیاد کرد (۵۸) در یک بررسی دیگر کاربرد سالیسیلیک اسید بر گیاه خربزه، اثر معنی‌دار بر رشد گیاهچه و وزن خشک ریشه داشت (۳۶). در بررسی تأثیر اسیدسالیسیلیک بر صفات ریخت‌شناسی بنفشه آفریقایی (*Saintpaulia onantha*)، گزارش شده است که غلظت ۵-۱۰ مولار از اسیدسالیسیلیک باعث افزایش در تعداد برگها، قطر رزت، تعداد غنچه‌های گل و کاهش تعداد روز تا گلدهی می‌شود (۳۲).

سالیسیلیک اسید با تولید انواع گونه‌های فعال اکسیژن موجب پیام‌رسانی در گیاه و افزایش سنتز متابولیت‌های ثانویه شده و با کاهش pH دیواره سلولی فعالیت آنزیم‌هایی همچون اکسیدازها و پر اکسیدازها را افزایش می‌دهد (۳۰ و ۵۵). در این پژوهش، تاثیر تنش خشکی و تیمار سالیسیلیک اسید هرکدام به تنهایی و نیز اثر متقابل آن‌ها در گیاه بادنجوبیه بر روی برخی پارامترهای مورفولوژیک-تکوینی و مولکولی نشان داد که خشکی به تنهایی سبب کاهش قطر دهانه آوند چوبی شده و تیمار سالیسیلیک اسید به تنهایی افزایش قطر دهانه آوند چوبی را در پی داشت، اگرچه مرحله تکوینی گیاه نیز در این امر موثر بود. بر اساس مطالعات، تیمار خشکی در گیاهان عمدتاً باعث تخریب بافت‌های درونی و افزایش بافت استحکامی و

شرایط تنشی نداشته و بیشترین مقدار بیان معنی‌دار آن در شرایط تنش خشکی و تیمار با غلظت پایین سالیسیلیک اسید (خشکی $fc \frac{2}{3}$ و $mM \frac{0.75}{SA}$) مشاهده شد که آن نیز تفاوت چشمگیری با شرایط شاهد نداشت. مقدار بیان ژن *TAT* در مرحله گلدهی نسبت به مرحله قبل و بعد از گلدهی افزایش داشته ولی هورمون سالیسیلیک اسید در افزایش بیان *TAT* موثر نبوده و فقط تنش خشکی سبب افزایش مقدار بیان ژن *TAT* در مرحله گلدهی بوده است. بر اساس گزارشات متعدد، فعالیت آنزیم‌های درگیر در مسیرهای بیوسنتزی متابولیت‌های ثانویه، از گیاهی به گیاه دیگر و در شرایط تنشی گوناگون بسیار متفاوت است. نتایج بدست آمده با نتایجی که نصیری (۲۰۱۴) بر روی بیان ژن *TAT* در گیاه بادرنجبویه که تحت تیمار با عصاره مخمر بود همخوانی ندارد، در نتایج آن‌ها گزارش شده بود که بیان ژن *TAT* با تولید رزمارینیک اسید هماهنگ است (۴۹). اما در تحقیقی دیگر کمال زاده و همکاران بیان کردند که در گیاه بادرشبو تیمار شده با نانو ذرات بیان ژن *PAL* روند افزایشی داشته اما بیان ژن *TAT* از الگوی خاصی پیروی نکرد (۱۸). در گیاه مریم گلی تیمار شده با عصاره مخمر، فعالیت آنزیم *PAL* بدون تغییر و فعالیت آنزیم *TAT* چندین برابر شد (۶۳).

به طور کلی می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که استعمال غلظت‌های پایین سالیسیلیک اسید در شرایط تنش خشکی در گیاه بادرنجبویه تاثیر مطلوبی بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی-بافت‌شناسی گیاه داشته و سازگاری و تحمل هر چه بیشتر گیاه به شرایط تنشی را موجب می‌گردد.

سپاسگزاری

از دانشگاه گیلان و تبریز که شرایط را برای کار آزمایشگاهی نویسندگان آماده نمودند، تشکر و قدردانی می‌شود.

نقش موثر این هورمون را در تکوین و توسعه بافت گزلیم بدلیل دخالت آن در سنتز لیگنین دیواره سلولی آوندهای چوب و بدنبال آن افزایش انتقال آب و مواد غذایی در گیاه خاطر نشان می‌سازد (۳۰). البته گزارشات متعددی مبنی بر مسمومیت سالیسیلاتی و کاهش اثرات مثبت این ترکیب فنولی در حضور غلظت‌های بالای آن نیز وجود دارد (۵۴ و ۵۸). کرک‌ها زایده سلول‌های اپیدرمی گیاهان می‌باشند که دارای نقش پوششی یا ترشحي بوده و در مراحل مختلف رشد گیاهان و نیز نسبت به شرایط محیطی مختلف دستخوش تغییرات عمده ای می‌گردند (۵۴). در پژوهش حاضر گیاهان تحت تنش (خشکی یا سالیسیلیک اسید یا هر دو تواما) افزایش طول کرک‌ها را نسبت به نمونه شاهد از خود نشان دادند که از دلایل آن می‌توان به جلوگیری از تبخیر و تعرق بیشتر و حفظ آب درون سلولی اشاره در شرایط تنشی نمود (۴۲ و ۴۷). افزایش تراکم و طول کرک‌های برگ در شرایط تنشی دیگری همچون رویارویی با تشعشعات فرابنفش جهت محافظت از لایه‌های زیرین برگ و یا در هوای آلوده جهت جلوگیری از ورود آلاینده-های گازی از طریق روزنه‌ها به درون برگ مشاهده شده است (۳۴ و ۴۴).

مطالعات مولکولی در گیاهان تحت تنش

تنش‌های مختلف در گیاهان، طیف وسیعی از تغییرات در سطح مولکولی را موجب می‌گردند که طی آن بیان مجموعه ای از ژن‌ها کاهش، برخی افزایش و عده ای نیز بدون تغییر باقی می‌مانند. افزایش محتوای متابولیتی مانند ترکیبات ثانویه (فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین)، گیاه بادرنجبویه تحت تنش خشکی و تیمار سالیسیلیک اسید که در مطالعه پیشین به آن اشاره نمودیم (۳۳) می‌تواند ناشی از تغییر بیان ژن‌های کلیدی درگیر در مسیر بیوسنتز رزمارینیک اسید (*RA*) و افزایش فعالیت آنزیم‌های مربوطه باشد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیان ژن تیروزین آمینو ترانسفراز (*TAT*) که مسیر تیروزینی سنتز *RA* را هدایت می‌کند، تغییر قابل ملاحظه‌ای در هیچ کدام از

منابع

- ۱- اردکانی، م.، عباس زاده، ب.، شریفی عاشورآبادی، ا.، لباسچی، م.، معاونی، پ.، محبتی، ف. (۱۳۸۹). اثر تنش خشکی بر شاخص های رشد بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.). گیاه و زیست بوم. ۲۱ (۵): ۴۷-۵۸.
- ۲- افشارمحمدیان، م.، امید پور، م.، جمال امید، ف. (۱۳۹۷). اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر محتوا و شاخص های فلورسانس کلروفیل دو رقم لوبیا. مجله پژوهش‌های گیاهی. ۳ (۳۱): ۷۰۹-۶۹۴.
- ۳- مداح، م.، فلاحیان، ف.، صباغ پور، ح.، چلبیان، ف. (۱۳۸۵). اثر سالیسیلیک اسید بر عملکرد، اجزا عملکرد و ساختار تشریحی گیاه نخود (*Cicer arietinum* L.). ویژه نامه زیست‌شناسی. ۶۲ (۱۶): ۶۱-۷۰.
- ۴- نصیری پزنجانی، س.، رضوی زاده، ر.، علومی، ح. (۱۳۹۶). بررسی محتوای ترکیبات فنیل پروپانوییدی شیرابه و ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه آنغوزه (*Ferula assa-foetida* L.) در برخی رویشگاه‌های طبیعی استان کرمان. مجله پژوهش‌های گیاهی. ۳ (۳۰): ۶۴۴-۶۵۵.
- 5- Abdela K A A., Hafez Y M., El-Afry M M., Tantawy D L. (2015). Effect of Salicylic acid and Abscisic acid on morpho-physiological and anatomical characters of faba bean plants (*Vicia faba* L.) under drought stress. International Journal of Plant Production 6 (11): 1771-1788.
- 6- Abdel-Naime W A., Refaat Fahim J., Fouad M A., Kamel MS. (2016). Botanical studies of the leaf of *Melissa officinalis* L., Family: Labiatae, cultivated in Egypt. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 5(6): 98-104.
- 7- Al-Khalifah N., Khan P., Al-Abdulkader A., Nasroun T. (2006). Impact of water stress on the sapwood anatomy and functional morphology of Calligonum comosum. IAWA Journal 27(3): 299-312.
- 8- Ashraf A., Iris F., Manfred G., Karl-Josef D. (2003). Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. *Plant Physiology* 132: 272-281.
- 9- Bakhshi khani G., Javadi S., Mehdikhani P., Tahmasebi D. (2011). Investigation of drought stress effects on some quantity and quality characteristics of new eugenics sugar beet genotypes. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal* 1 (3): 65-74.
- 10- Bañon S., Fernandez J., Franco J., Torrecillas A., Alarcón J., Sánchez-Blanco M J. (2004). Effects of water stress and night temperature preconditioning on water relations and morphological and anatomical changes of *Lotus creticus* plants. *Scientia Horticulturae* 101(3): 333-342.
- 11- Borsani O., Valpuesta V., 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(3): 1024-1030.
- 12- Bosabalidis A., Kofidis M and G. (2002). Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive cultivars. *Plant Science* 163(2): 375-379.
- 13- Chomczynski P. (1993). A Reagent for the Single-step Simultaneous Isolation of RNA, DNA and Proteins from Cell and Tissue Samples. *Biotechniques* 15(3): 532-535
- 14- Cong Z T., Lü H., Ni G. (2014). A simplified dynamic method for field capacity estimation and its parameter analysis. *Water Science and Engineering* 7(4): 351-362.
- 15- Dat JF., Lopez-Delgado H., Foyer CH., Scott I M. (1998). Parallel changes in H₂O₂ and catalase during thermotolerance induced by salicylic acid or heat acclimation in mustard seedlings. *Plant Physiology* 116: 1351-1357
- 16- Da Man., Yong-Xia Bao., Lie-Bao Han. (2011). Drought tolerance associated with proline and hormone metabolism in two tall fescue cultivars. *Horticultural science* 46(7): 1027-1032
- 17- Delaney T P., Uknes S., Vermooij B., Friedrich L. (1994). A central role of salicylic acid in plant disease resistance. *Science* 266(5188): 1247-1250.
- 18- Dong J., Wan G., Liang Z. (2010). Accumulation of salicylic acid-induced phenolic compounds and raised activities of secondary metabolic and antioxidative enzymes in *Salvia miltiorrhiza* cell culture. *Journal of Biotechnology* 148(2-3): 99-104.
- 19- Duan H., Amthor J S., Duursma R A., O'grady A P., Choat B., Tissue D T. (2013). Carbon dynamics of eucalypt seedlings exposed to progressive drought in elevated [CO₂] and elevated temperature. *Tree Physiology* 33(8): 779-792.
- 20- Duldulao MCG., Gomez RA. (2008). Effects of vehicular emission on morphological characteristics of young and mature leaves of sunflower (*Tithonia diversifolia*) and napier grass (*Pennisetum purpureum*). *BSU Graduate School Research Journal* 85: 142-151.
- 21- Elhamahmy M A M., Mahmoud M F., Bayoumi T Y. (2016). The effect of applying exogenous salicylic acid on aphid infection and its

- influence on histo-physiological traits and thermal imaging of canola. *Cercetări Agronomice În Moldova* (166): 67-85.
- 22- Fariduddin Q., Hayat S., Ahmad-A. (2003). Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity, and seed yield in *Brassica juncea*. *Photosynthetica* 41(2): 281-284.
- 23- Gill S S., Tuteja N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry* 48(12): 909-930.
- 24- Goldberg R., Pang A., Rolando C., Francesh C. (1991). Cell wall peroxidases and lignification: tissue and substrate specificity. *Biochemical, Molecular And Physiological Aspects Of Plant Peroxidases* 109-220.
- 25- Guo H Y Y., Yu Y., Yang M M., Kong D S. (2018). Effect of Drought Stress on Lipid Peroxidation, Osmotic Adjustment and Antioxidant Enzyme Activity of Leaves and Roots of *Lycium ruthenicum Murr.* Seedling. *Russian Journal of Plant Physiology* 2(65): 244–250
- 26- Hayat S., Hasan S A., Fariduddin Q., Ahmad A. (2008). Growth of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in response to salicylic acid under water stress. *Journal of Plant Interactions* 3(4): 297-304.
- 27- Hayat S., Iran M., Ahmad A. (2010). Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: a review. *Environmental and Experimental Botany* 68(1): 14-25.
- 28- Herrera-Vásquez A., Salinas P., Holuigue L. (2015). Salicylic acid and reactive oxygen species interplay in the transcriptional control of defense genes expression. *Front Plant Science* 6: 171.
- 29- Horváth E., Szalai G., Janda T. (2007). Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. *Journal of Plant Growth Regulation* 26(3): 290-300.
- 30- Humphreys J M., Chapple C. (2002). Rewriting the Lignin Roadmap. *Current Opinion In Plant Biology* 5: 224-229.
- 31- Hussain A I., Anwar F., Sherazi S T H., Przybylski R. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry* 108(3): 986-995.
- 32- Jabbarzadeh Z., Khosh-Khui M., Salehi H. (2009). The effect of foliar-applied salicylic acid on flowering of African violet. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 3(4): 4693-4696.
- 33- Jamal Omidi F., Mohajjel Shoja H., Sariri R. (2018). Effect of water deficit stress on secondary metabolites of *Melissa officinalis* L.: role of exogenous salicylic acid. *Caspian Journal of Environmental Sciences (CJES)* 16(2). 123-136.
- 34- Karabourniotis G., Bornman J F. (1999). Penetration of UV-A, UV-B and blue light through the leaf trichome layers of two xeromorphic plants, olive and oak, measured by optical fibre microprobes. *Physiologia Plantarum* 105(4): 655-661.
- 35- Khan A., Safdar M., Khan M M A., Khattak K N., Anderson R A. (2003). Cinnamon improves glucose and lipids of people with type 2 diabetes. *Diabetes care* 26(12): 3215-3218.
- 36- Korkmaz A., Topal T., Oter S . (2007). Pathophysiological aspects of cyclophosphamide and ifosfamide induced hemorrhagic cystitis; implication of reactive oxygen and nitrogen species as well as PARP activation. *Cell biology and toxicology* 23(5): 303-312.
- 37- Krantev A., Yordanova R., Janda T., Szalai G., Popova L. (2008). Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. *Journal of plant physiology* 165(9): 920-931.
- 38- Kutlu N., Terzi R., Tekeli C., Şenel G., Battal P., Kadioğlu A. (2009). Changes in anatomical structure and levels of endogenous phytohormones during leaf rolling in *Ctenanthe setosa* under drought stress. *Turkish Journal of Biology* 33 (2): 115-122.
- 39- Le Gall H., Philippe F., Domon J-M., Gillet F., Pelloux J., Rayon C. (2015). Cell wall metabolism in response to abiotic stress. *Plants* 4(1): 112-166.
- 40- Li Y., Sperry J S., Shao M. (2009). Hydraulic conductance and vulnerability to cavitation in corn (*Zea mays* L.) hybrids of differing drought resistance. *Environmental and Experimental Botany* 66(2): 341-346.
- 41- Lian B., Zhou X., Miransari M., Smith D. (2000). Effects of salicylic acid on the development and root nodulation of soybean seedlings. *Journal of Agronomy and Crop Science* 185(3): 187-192.
- 42- Majd A., Jonoubi P., Zeinipour M. (2009). Research on the effects of water stress on anatomical structure of Sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Journal of Developmental Biology* 1(4): 11-24.
- 43- Makbul S., Güler N S., Durmuş N ., Güven S. (2011). Changes in anatomical and physiological parameters of soybean under drought stress. *Turkish Journal of Botany* 35(4): 369-377.
- 44- MCG M., RA G. (2008). Effects of vehicular emission on morphological characteristics of

- young and mature leaves of sunflower (*Tithonia diversifolia*) and napier grass (*Pennisetum purpureum*). BSU Graduate School Research Journal 85: 142-151.
- 45- Miura K., Tada Y. (2014). Regulation of water, salinity, and cold stress responses by salicylic acid. *Frontiers in plant science* 5: 4.
- 46- Monica R C., Cremonini R. (2009). Nanoparticles and higher plants. *Caryologia* 62(2): 161-165.
- 47- Moradi P. (2018). The impact of drought stress on growth and hormone alterations in Thyme plant. *Journal of Plant Process and Function* 6 (19): 311-322.
- 48- Morales M A., Alarcón J J., Torrecillas ASánchez-Blanco MJ. (2000). Growth and water relations of *Lotus creticus creticus* plants as affected by salinity. *Biologia plantarum* 43(3): 413-417.
- 49- Nasiri-Bezenjani M., Riahi-Madvar A., Baghizadeh A. (2014). Rosmarinic acid production and expression of tyrosine aminotransferase gene in *Melissa officinalis* seedlings in response to yeast extract. *Journal of Agricultural Science and Technology* 16(4): 921-930.
- 50- Neumann P M. (1995). The role of cell wall adjustments in plant resistance to water deficits. *Crop science*. 35(5): 1258-1266.
- 51- Nonami H. (1998). Plant water relations and control of cell elongation at low water potentials. *Journal of Plant Research* 111(3): 373-382.
- 52- Pegoraro R L., Techio V H., Barp E A., Soares GLG. (2011). Morpho-anatomical changes in leaves of *Mentha x gracilis* Sole (Lamiaceae) submitted to different levels of shade. *INSULA Revista de Botânica* (40): 55.
- 53- Popova L., Pancheva T., Uzunova A. (1997). Salicylic acid: properties, biosynthesis and physiological role. *Bulgarian Journal of Plant Physiology* 23(1-2): 85-93.
- 54- Raskin I. (1992). The role of salicylic acid in plants. *Annual review of plant physiology and plant molecular biology* 43: 439-463.
- 55- Sairam R K., Deshmukh P S., Shukla D S. (1997). Increased antioxidant enzyme activity in response to drought and temperature stress related with stress tolerance in wheat genotypes. (ISSP), IARI, and New Delhi p. 69
- 56- Salestani K E., Riahi-Madvar A., Maziyar M A. (2014). Antioxidant Enzymes Activity and Anthocyanin Content in Fe²⁺ treated Lemon Balm Seedlings. *International Journal of Farming and Allied Sciences* 3 (5): 562-565
- 57- Setayesh M Z., Ganjeali A. (2013). Effects of drought stress on growth and physiological characteristics of dill (*Anethum graveolens* L.). *zhongguo zhong yao za zhi* 39(11):1995-9
- 58- Shakirova F M., Sakhabutdinova A R., Bezrukova MV., Fatkhutdinova R. (2003). AChanges in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Plant science* 164(3): 317-322.
- 59- Shirzadi M., Khajehpoor R., Hemayati S. (2010). Study on application of some organic matters and drought stress on agronomic traits and yield of lemon balm (*Melissa officinalis*). *Plant Ecophysiol* 2: 165-168.
- 60- Turhan M. (2006). Hand book of herbal plants, chapter 4. 3: 184-245.
- 61- Wang L-J., Fan L., Loescher W., Duan W. (2010). Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under heat stress and accelerates recovery in grapevine leaves. *BMC plant biology* 10(1): 34.
- 62- Weitzel C., Petersen M. (2010). Enzymes of phenylpropanoid metabolism in the important medicinal plant *Melissa officinalis* L. *Planta* 232(3): 731-742.
- 63- Yan Q., Shi M., Ng J., Wu J. (2006). Elicitor-induced rosmarinic acid accumulation and secondary metabolism enzyme activities in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots. *Plant Science* 170: 853-858.
- 64- Zargari A. (1995). Medicinal plants, Tehrari University Publications. ISBN.
- 65- Zulini L., Rubinigg M., Zorer R., Bertamini M. (2007). Effects of Drought Stress on Chlorophyll Fluorescence and 2 Photosynthetic Pigments in Grapevine Leaves (*Vitis vinifera* cv. 'White 3 Riesling'). *Acta horticulturae* 754:289-294.
- 66- Zuzana D., Veronika P., Miroslav R. (2013). Salicylic acid regulates secondary metabolites content in leaves of *Matricaria chamomilla*. *Biologia* 68(5): 904-909

Study of anatomical structure of *Melissa officinalis* and the effects of drought stress and salicylic acid treatment on its morphological and molecular characteristics

Jamal Omidi F., Mohajel shoja H. and Sariri R.¹

¹ Dept. of Plant Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, I.R. of Iran

² Dept. of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, I.R. of Iran

Abstract

Melissa officinalis L. is an important medicinal plant. Due to the lack of developmental studies in this plant, the present study was first used to identify the structure and then how to respond to drought stress (0, fc 2/3, fc 1/3) and the effect External application of salicylic acid (0, 0.7 and 1.5 mM). For this purpose, the seeds of lemon balm were cultured in appropriate pots after sterilization. At the same time, a number of untreated pots were cultivated for anatomical studies. Experiments were performed as split plot split factorial with three replications. The description showed the similarity of this plant with other plants of the family of Lamiaceae, and with the advancement of the stage of development, gradually, the thickness of the sclerenchyma tissue was increased, In the study of stresses on histology, decreasing the diameter of the xylem and increasing the length of the trichomes, salicylic acid treatment was highly desirable in reducing the effects of drought stress. Molecular studies using the qRT-PCR technique showed that the expression of tyrosine aminotransferase (*TAT*) gene was not significantly altered under stress conditions and the highest expression was observed in drought stress conditions of 2/3 fc and salicylic acid 0.7 mM. It can be concluded that salicylic acid treatment has a positive effect on histological studies in plants under drought stress, but has no significant effect on *TAT* gene expression in plants under drought stress.

Key words: *Melissa Officinalis* L., Drought stress, Salicylic acid, developmental stages, *TAT* gene