

## بررسی اثر عصاره جلبک دریایی کاراجینان و سالیسیلیک اسید به عنوان محرک‌های زیستی بر رشد و تحمل به تنش سرما در گیاه بسترساز حنا (*Impatiens walleriana*)

مینا قنبری<sup>۱</sup>، همایون فرهمند<sup>۱و۲</sup> و فاطمه نصیبی<sup>۳\*</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان

<sup>۲</sup> بخش علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

<sup>۳</sup> گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه شهید باهنر کرمان

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۱۵، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۰/۰۶/۲۳)

### چکیده

کاراجینان و سالیسیلیک اسید از محرک‌های زیستی هستند که با اثر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه در مقاومت به تنش دخالت دارند. در این مطالعه کاراجینان در دو غلظت ۰/۵ و ۱ گرم بر لیتر و سالیسیلیک اسید در دو غلظت ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار برای پیش-تیمار محلول پاشی برگ‌ی استفاده شد. این مطالعه با آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار صورت گرفت. پیش‌تیمارها در مرحله شش برگ‌ی اعمال شدند و محلول‌ها در فاصله ۱۰ روز برای پنج مرتبه در اوایل صبح بر روی گیاه اسپری شدند. بعد از یک روز از اعمال آخرین پیش‌تیمار، تعدادی از گل‌دان‌ها به مدت ۲۴ ساعت به داخل یخچال با دمای ۵ درجه سانتی‌گراد برای تیمار سرما منتقل شدند، سپس گل‌دان‌ها به گلخانه برگشت داده شدند و بعد از یک روز نمونه‌ها از گل‌دان‌های سرمادیده و گل‌دان‌های شاهد جمع‌آوری شدند. در این تحقیق مشاهده شد پیش‌تیمار گیاهان با کاراجینان و سالیسیلیک اسید باعث افزایش تمام پارامترهای رشد، افزایش اسمولیت‌ها (شامل قندهای محلول و پرولین)، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گاباکول پراکسیداز شد، اما شاخص‌های تنش اکسیداتیو مانند نشت یونی، مالون دآلدئید و محتوی پراکسید هیدروژن را کاهش دادند. بهترین نتیجه در این آزمایش با کاربرد کاراجینان ۱ گرم بر لیتر و ۰/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید بدست آمد. این نتایج بیان می‌کند که کاراجینان و سالیسیلیک اسید با افزایش پارامترهای حفاظتی گیاه تا حدودی باعث افزایش مقاومت به تنش سرما در گل‌های بسترساز حنا گردید. به نظر می‌رسد که این ترکیبات به عنوان محرک‌های زیستی می‌توانند برای مدیریت تنش سرما در سایر گیاهان زینتی نیز مناسب باشند و بتوان از این مواد برای کاهش سرمازدگی‌های پاییزه و زمستانه گیاهان استفاده نمود.

کلمات کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تنش سرما، حنا، سالیسیلیک اسید، کاراجینان

### مقدمه

سلولی در شرایط دمای پایین در خود ایجاد کرده‌اند. سرما به دلیل کاهش فعالیت‌های آنزیمی، نشت غشا، ناپایداری کمپلکس‌های پروتئینی، کاهش سیالیت غشا، تجمع گونه‌های

گیاهان طیف وسیعی از نوسانات دما را در محیط طبیعی تجربه می‌کنند. بنابراین مکانیسم‌هایی برای کاهش آسیب

\* نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: nasibi.f@uk.ac.ir

شوری، بیماری‌های قارچی، حساسیت بالای UV، علف‌کش‌ها و نماتدها نیز می‌شود (Mousavi et al., 2017; Almaroai and Eissa, 2020). تعدادی از پلی‌ساکاریدهای مهم بدست آمده از جلبک‌های دریایی عبارت‌اند از: لامینارین (Laminarin) که غالباً از جلبک‌های قهوه‌ای مانند *Laminaria digitata* استخراج می‌شود، الوان (Ulvan) و کاراجینان (Caraginnan) که عمدتاً از جنس‌های خاص جلبک‌های قرمز متعلق به خانواده Rhodophyceae حاصل می‌شوند (Stadnik and Freitas, 2014). این پلی‌ساکاریدها علاوه بر ذخیره انرژی و عملکرد ساختاری، فعالیت‌های بیولوژیکی را نیز نشان می‌دهند. در دو دهه گذشته مطالعات نشان داده که این ماکرو مولکول‌ها می‌توانند به عنوان الیستوردر فعال کردن پاسخ‌های دفاعی گیاهان عمل کنند (Stadnik and Freitas, 2014).

سالیسیلیک اسید یکی از تنظیم‌کننده‌های رشدونمو گیاهی است که فرآیندهای گوناگون و گسترده‌ای از جمله جوانه‌زنی، جذب و انتقال یون، نفوذپذیری غشا و فتوسنتز را در گیاهان تحت تأثیر قرار می‌دهد و نقش مهمی در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه شامل تنظیم رشد، تکامل، بلوغ و گل‌دهی دارد. سالیسیلیک اسید هم‌چنین، سیگنال مهم در فعال‌سازی پاسخ‌های دفاعی گیاه در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده است و نقش آن در افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های مختلف گزارش شده است (Horvath et al., 2007).

برخی از گیاهان فصلی، باغچه‌ای یا بسترساز حساس به دمای پایین یا سرمازدگی هستند. گیاه مورد مطالعه در این پژوهش گل حنا با نام انگلیسی *Bedding impatiens* و نام علمی *Impatiens walleriana* از خانواده *Balsaminaceae* است. گل حنا از گیاهان فصلی بسیار پرکاربرد برای اهداف گوناگون فضای سبز بوده که به سرما حساس می‌باشد. برای کاهش حساسیت به سرما و یا افزایش تحمل به سرما از شیوه‌های گوناگونی استفاده می‌شود. یکی از روش‌ها برای جلوگیری از سرمازدگی و یا افزایش تحمل به سرما، کاربرد برونزای تنظیم‌کننده‌های رشدونمو گیاهی است. با توجه به مطالعات اندک انجام‌شده برای افزایش مقاومت به سرمازدگی

اکسیژن فعال و اختلال در فتوسنتز به‌عنوان تنش شناخته شده است (Thakur and Nayyar, 2013; Nasibi et al., 2020) و سرمازدگی بیانگر تغییرات مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی است که در نتیجه برخورد گیاه با سرما اتفاق می‌افتد (Jouyban et al., 2013). برخی از این تغییرات به‌عنوان نشانه‌های تنش سرما قابل مشاهده هستند اما اثرات اصلی سرمازدگی در فرآیندهای بیوشیمیایی و مولکولی اتفاق می‌افتد که نتیجه آن کاهش رشد، تغییر متابولیسم، کم‌شدن استحکام غشای سلولی و از دست دادن آب سلولی است و در شرایط تنش شدید حتی منجر به مرگ گیاه می‌شود. کاهش رشد برگ، پژمردگی، کلروز، نکروز و کاهش رشد و توسعه گیاه از علائم فنوتیپی تنش سرما در گیاهان است. سرما همچنین باعث تنش اکسیداتیو نیز می‌شود که منجر به کاهش یکپارچگی غشا، کاهش فتوسنتز و فرآیندهای متابولیسمی می‌شود (Pal et al., 2013). یکی از راه‌های افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های غیرزیستی از جمله سرما، استفاده از محرک‌های زیستی (Biostimulants) به‌عنوان پیش‌تیمار است که با تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی که در گیاه ایجاد می‌کنند باعث افزایش مقاومت گیاه به تنش می‌شوند.

یکی از ترکیبات طبیعی تنظیم‌کننده رشدونمو گیاهان عصاره‌های جلبک‌های دریایی است که به دلیل ماهیت طبیعی و نداشتن اثرات مخرب زیست محیطی امروزه بسیار مورد توجه قرار گرفته است و برای اهداف مختلف در کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Agarwal et al., 2021). در گذشته از جلبک‌های دریایی به دلیل داشتن ترکیبات آلی و معدنی تنها به‌عنوان کود ارگانیک استفاده می‌کردند اما امروزه به‌عنوان یک محرک زیستی در افزایش تحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی شناخته شده‌اند (Malik et al., 2021). جلبک‌های دریایی باعث افزایش رشد، عملکرد و پاسخ‌های دفاعی در گیاهان (Agraw et al., 2021; Hashmi et al., 2012) و بالابردن خواص آنتی‌اکسیدانی و تحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌شوند (Jayaraj et al., 2008). تیمار گیاهان با جلبک‌ها باعث کاهش اثرات گرما، کاهش رطوبت خاک،

ریشه، ریشه‌های گیاه با دقت از گلدان‌ها بیرون آورده، خاک اطراف ریشه شسته و رطوبت اضافی با دستمال خشک شده و وزن تر آن‌ها با ترازوی مذکور برحسب گرم اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک نمونه‌ها، نمونه‌های گیاهی در فویل آلومینیومی پیچیده و به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید. سپس وزن خشک نمونه‌ها با ترازوی مذکور برحسب گرم گیاه اندازه‌گیری و ثبت شد.

**اندازه‌گیری نشت یونی:** برای سنجش نشت یونی (EL) از هر بوته ۵ قطعه برگ مساوی به وسیله سوراخ‌کن کاغذ تهیه، سپس روی کاغذ صافی واتمن موجود جهت حذف نمک‌ها و الکترولیت‌های روی سطح و محل برش، با آب مقطر شستشو و در لوله‌های درب‌دار حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق در تاریکی نگهداری شدند. سپس هدایت الکتریکی اولیه ( $EC_1$ ) محلول در تماس با نمونه‌ها اندازه‌گیری شد ( $EC$  متر مدل Metrhme). برای تخریب دیواره سلولی و رهاشدن شیره سلولی لوله‌های حاوی قطعات برگ در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد منجمد و بعد از آن در دمای اتاق نگهداری شدند. عمل یخ‌زدن و ذوب‌کردن نمونه‌ها چند مرتبه به صورت متوالی برای پاره‌شدن و نشت محتویات درون سلول به محلول تکرار گردید، هدایت الکتریکی ثانویه ( $EC_2$ ) محلول حاصل پس از تکان دادن اندازه‌گیری و شاخص پایداری غشا با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (Sairam *et al.*, 1997).

$$EC = (EC_1/EC_2) \times 100$$

**اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی:** اندازه‌گیری غلظت مالون دآلدئید (MDA) به روش Heath و Packer (۱۹۶۸) انجام شد. برای محاسبه MDA از ضریب خاموشی معادل  $mm^{-1} \times 10^5 \times 155$  استفاده شد و نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر-حسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه و ارائه گردید.

**اندازه‌گیری مقدار فندهای محلول:** برای سنجش کربوهیدرات محلول از روش (Roe, 1955) استفاده گردید و غلظت هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

**سنجش مقدار پرولین:** برای اندازه‌گیری از روش (Bates

در این گیاه بستر ساز حساس به سرما، هدف از این پژوهش بررسی اثر کاربرد برگ‌گی سالیسیلیک اسید و کاراجینان به عنوان محرک‌های زیستی بر رشد و مو گیاه حنا و افزایش تحمل آن به تنش سرمازدگی است.

## مواد و روش‌ها

**کشت گیاه و تیمار:** بذر *Impatiens walleriana* مورد استفاده در این آزمایش از شرکت زعیم تهران با خلوص ۹۹ در صد با قوه نامیه ۹۰ درصد تهیه‌شده (بذر هیبرید) و تعداد سه بذر در هر توپ سینی کاشته شد. بعد از اینکه نشاها به مرحله چند برگ‌گی رسیدند بوته‌ها تنک شدند و به گلدان‌های اصلی با قطر دهانه ۵/۹ و ارتفاع ۱۳ سانتی‌متر منتقل شدند. بعد از گذراندن تنش جابجایی تیمارها اعمال شدند. در جهت برآورده کردن عناصر غذایی، محلول غذایی حاوی ۱۰٪ نیتروژن، ۱٪ آهن، ۸٪ فسفر و ۱٪ روی همراه با آب آبیاری به گلدان‌ها اضافه گردید. پیش تیمارهای مورد استفاده در این تحقیق کاراجینان (تهیه‌شده از شرکت Sigma) با غلظت ۰/۵ و ۱ گرم بر لیتر و سالیسیلیک (تهیه‌شده از شرکت Merck) با غلظت ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار بود. کاراجینان و سالیسیلیک اسید در آب مقطر قابل حل هستند و برای اطمینان از حل شدن آنها، از دستگاه ماکروویو و اولترا سونیک استفاده گردید. قسمت هوایی گیاه حنا به فاصله ۱۰ روز برای پنج مرتبه با این محلول‌ها در اوایل صبح اسپری شد. گیاهان کنترل با محلول آب مقطر اسپری شدند. بعد از یک روز از اعمال آخرین پیش تیمار، تعدادی از گلدان‌ها به مدت ۲۴ ساعت به داخل سردخانه با دمای ۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند، سپس گلدان‌ها به گلخانه برگشت داده شدند و بعد از یک روز نمونه‌ها از گلدان‌های سرمادیده و گلدان‌های بدون سرمادهی جمع‌آوری و بلافاصله با ازت مایع فریز و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد برای اندازه‌گیری‌های بعدی نگهداری شدند.

**اندازه‌گیری وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه:** وزن

تر قسمت هوایی گیاه حنا با ترازوی مدل AEL- 40SM LIBROR، برحسب گرم سنجش شد. برای اندازه‌گیری وزن تر

در ۱۵۰ میکرولیتر عصاره (حاصل از سنجش پروتئین کل) گزارش شد.

#### سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) (EC

**1.11.1.7**): فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از پیش‌ماده گایاکول اندازه‌گیری شد. افزایش جذب به دلیل اکسیداسیون گایاکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت سه دقیقه اندازه‌گیری شد. با استفاده از ضریب خاموشی تترآگایاکل معادل  $25/5 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  و فرمول  $A=\epsilon bc$ ، مقدار تترآگایاکل تشکیل شده محاسبه شد. فعالیت آنزیم هم برحسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل (میلی‌گرم) موجود در ۳۰ میکرولیتر عصاره (حاصل از سنجش پروتئین کل)، گزارش گردید (Plewa et al., 1991).

**مقدار پروتئین کل به روش برادفورد:** غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد آلومین محاسبه و برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید (Bradford, 1976).

تجزیه و تحلیل‌های آماری در این مطالعه با آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار صورت گرفت. تحلیل‌های آماری داده‌های بدست‌آمده حاصل سنجش‌های کمی مختلف در این مطالعه، با استفاده از نرم‌افزار SAS و به روش آنالیز واریانس انجام گرفت و اختلاف میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح اطمینان ۹۵٪ مقایسه شدند. شکل‌های مربوطه با نرم‌افزار Excel 2007 رسم گردید.

#### نتایج

**پارامترهای رشد:** در این تحقیق مشاهده شد که تنش سرما در گیاه حنا موجب کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک ساقه و ریشه می‌شود و کاربرد خارجی کاراجینان و اسید سالیسیلیک موجب افزایش وزن تر و خشک ریشه و ساقه در شرایط کنترل و تنش سرما شده است (شکل ۱). تیمار گیاه حنا با کاراجینان در غلظت ۰/۵ و ۱ گرم بر لیتر و در گیاهان آهار در غلظت ۱ گرم بر لیتر در شرایط گلخانه به ترتیب موجب افزایش ۱/۳، ۱/۴ و ۱/۲ برابری وزن تر ریشه گردید. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود تیمار گیاه حنا با سالیسیلیک اسید در هر دو شرایط گلخانه و تنش سرما موجب افزایش وزن تر ریشه

(et al., 1973) استفاده شد. برای محاسبه مقدار پرولین از منحنی استاندارد پرولین استفاده گردید و نتایج برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

**اندازه‌گیری میزان پراکسید هیدروژن ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ):** مقدار پراکسید هیدروژن براساس واکنش  $\text{H}_2\text{O}_2$  با پتاسیم یدید (KI) و با روش (Alexieva, 2001) انجام شد و برای محاسبه غلظت پراکسید هیدروژن از منحنی استاندارد استفاده شد.

#### سنجش مقدار پروتئین و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های

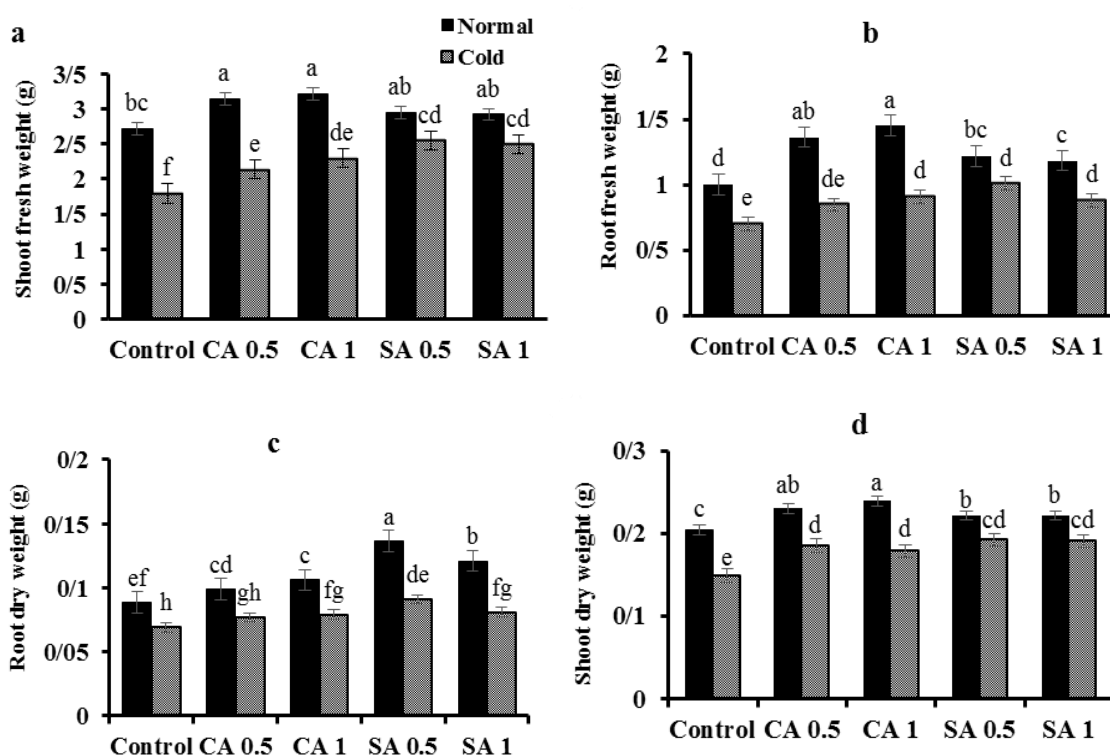
**آنتی‌اکسیدان:** برای سنجش مقدار پروتئین، ابتدا پروتئین‌ها از اندام هوایی گیاه در دمای ۰-۴ درجه سانتی‌گراد استخراج شدند. به این منظور یک گرم بافت تر برگ در یک هاون چینی محتوی سه میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH ۷/۲ که شامل اتیلن دی آمین تتراستیک اسید (EDTA) ۱ میلی‌مولار، فینیل متان سولفونیل فلورید (PMSF) ۱ میلی‌مولار و پلی وینیل پیرولیدون (PVP) ۱ درصد بود، سائیده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفوژ یخچال‌دار (Centrifuge 5804R, Germany از شرکت Eppendorf) در  $4000 \times g$  و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. از محلول رویی برای مطالعه آنزیم‌ها و نیز سنجش پروتئین استفاده گردید.

#### سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) (EC 1.11.1.6):

سنجش فعالیت کاتالاز براساس کاهش شدت جذب آب اکسیژنه در طول موج ۲۴۰ نانومتر صورت گرفت (اسپکتروفتومتر مدل Varian Cary50 (ساخت آلمان). غلظت آب اکسیژنه مصرف‌شده با استفاده از ضریب خاموشی معادل  $40 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  و رابطه  $A=\epsilon bc$  محاسبه گردید. یک واحد آنزیمی کاتالاز مقدار آنزیمی است که یک میکرومول  $\text{H}_2\text{O}_2$  را در یک دقیقه تجزیه می‌کند (Dhindsa et al., 1981).

#### سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

(CEC1.11.1.11): فعالیت این آنزیم براساس روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) اندازه‌گیری شد. یک واحد آنزیمی آسکوربات پراکسیداز، مقدار آنزیمی است که یک میکرومول آسکوربات را در یک دقیقه اکسید می‌کند. فعالیت آنزیم برحسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل (میلی‌گرم) موجود



شکل ۱- اثر تیمار کاراجینان (۰/۵ و ۱ گرم بر لیتر) و سالیسیلیک اسید (۰/۵ و ۱ میلی مولار) بر وزن تر و خشک اندام هوایی (a و d) و ریشه گیاه (b و c) حنا تحت شرایط کنترل و تنش سرمازدگی. میانگین‌ها با آزمون LSD مقایسه شدند. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح  $P < 0.05$  است.

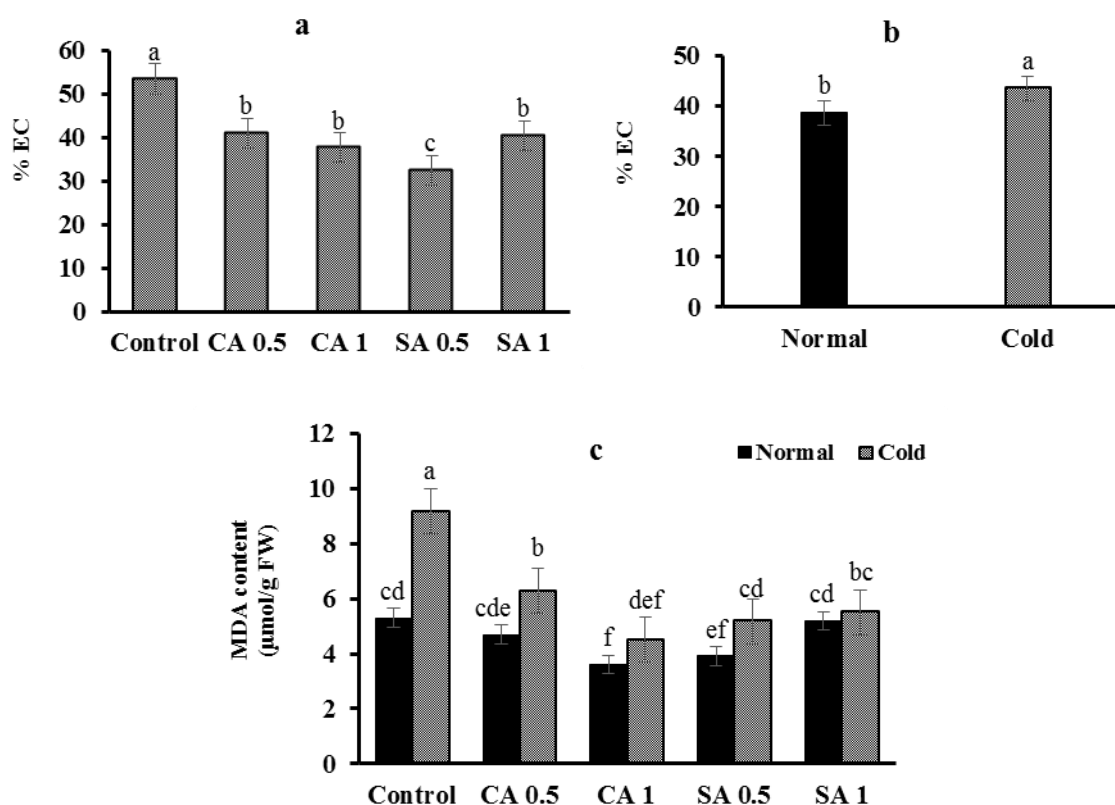
اسید در غلظت ۰/۵ و ۱ میلی مولار در شرایط تنش سرما کاهش معنی‌داری در مقدار مالون دالدهید در مقایسه با شاهد نشان داد اما در شرایط گلخانه تنها در غلظت ۰/۵ میلی مولار باعث کاهش مالون دالدهید گردید.

**مقدار قندهای محلول و پرولین:** در این پژوهش تنش سرما مقدار قندهای محلول را کاهش داد در حالیکه مقدار اسیدآمینه پرولین در شرایط سرمازدگی افزایش یافت. پیش- تیمار گیاهان با کاراجینان در هر دو غلظت مقدار قندهای محلول را در گیاهان شاهد افزایش داد اما تنها در غلظت یک گرم بر لیتر اثر معنی‌داری در افزایش قندها در گیاهان تحت تنش داشت. سالیسیلیک اسید در گیاهان شاهد اثر معنی‌داری بر مقدار قندهای محلول نداشت اما در گیاهان تحت تنش سرما در هر دو غلظت مقدار قندهای محلول را به میزان معنی‌داری افزایش داد. پیش تیمار گیاهان با هر دو ترکیب کاراجینان و سالیسیلیک اسید مقدار پرولین را در گیاهان تحت تنش به

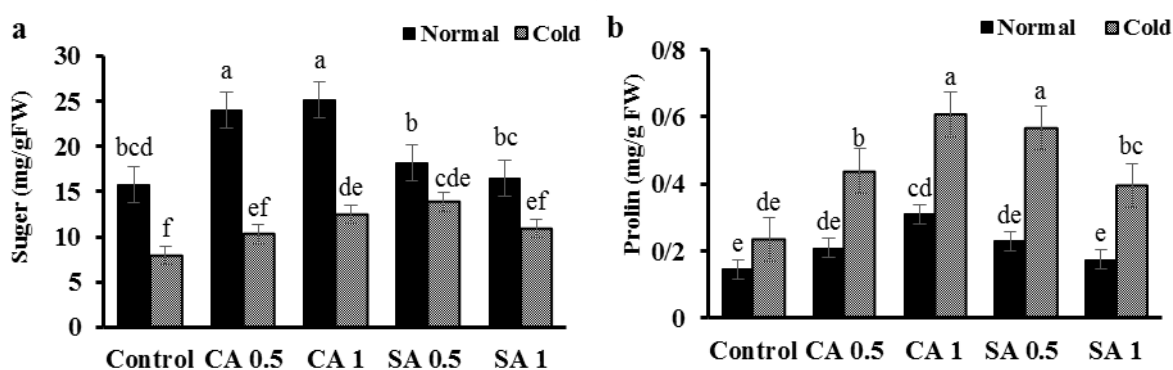
گردید، اما بین دو غلظت سالیسیلیک اسید اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

داده‌های حاصل از پیش تیمار سالیسیلیک اسید در گیاه حنا در غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی مولار در شرایط سرما به ترتیب موجب افزایش ۱/۳ و ۱/۲ برابری وزن خشک اندام هوایی نسبت به شاهد گردید.

**پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و نشت یون:** همان‌طور که در شکل ۲ نشان داده شده است تنش سرما در گیاه حنا موجب افزایش ۱/۷ برابری مقدار مالون دالدهید گردید. محلول پاشی گیاه حنا با کاراجینان در دو غلظت آن تحت تنش سرما باعث کاهش مالون دالدهید گردید. در این تحقیق همچنین مشاهده شد محلول پاشی گیاه حنا با کاراجینان در غلظت ۱ گرم بر لیتر مقدار مالون دالدهید را در شرایط گلخانه نیز به مقدار قابل توجهی کاهش داد اما کاراجینان ۰/۵ گرم بر لیتر اثر معنی‌داری نداشت. پیش تیمار گیاه حنا با سالیسیلیک



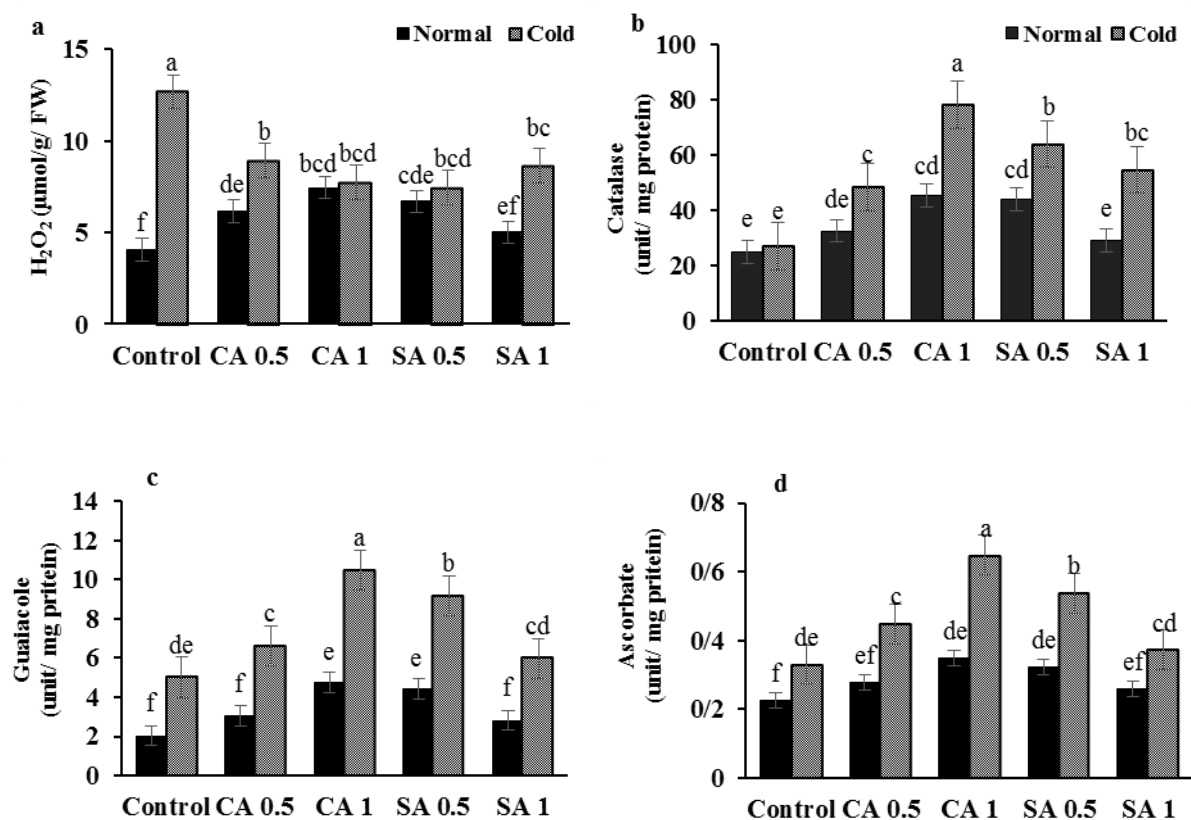
شکل ۲- اثر تیمار کاراجینان (۰/۵ و ۱ گرم بر لیتر) و سالیسیلیک اسید (۰/۵ و ۱ میلی مولار) بر درصد نشت یون (a و b) و پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی (c) گیاه حنا تحت شرایط کنترل و تنش سرمازدگی. میانگین‌ها با آزمون LSD مقایسه شدند. حروف یکسان بیانگر عدم-اختلاف معنی دار در سطح  $P < 0.05$  است.



شکل ۳- اثر تیمار کاراجینان (۰/۵ و ۱ گرم بر لیتر) و سالیسیلیک اسید (۰/۵ و ۱ میلی مولار) بر مقدار قندهای محلول (a) و اسیدآمینو پرولین (b) گیاه حنا تحت شرایط کنترل و تنش سرمازدگی. میانگین‌ها با آزمون LSD مقایسه شدند. حروف یکسان بیانگر عدم-اختلاف معنی دار در سطح  $P < 0.05$  است.

پژوهش نشان داد که تنش سرما باعث افزایش مقدار پراکسید هیدروژن در گیاه حنا نسبت به شاهد گردید و پیش‌تیمار گیاه

میزان معنی‌داری افزایش داد (شکل ۳). پراکسید هیدروژن و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: نتایج این



شکل ۴- اثر تیمار کاراجینان (۰/۵ و ۱ گرم بر لیتر) و سالیسیلیک اسید (۰/۵ و ۱ میلی مولار) بر مقدار پراکسید هیدروژن (a)، فعالیت آنزیم-های آنتی اکسیدان کاتالاز (b)، گایاکول پراکسیداز (c) و آسکوربات پراکسیداز (d) در گیاه حنا تحت شرایط کنترل و تنش سرمازدگی. میانگین‌ها با آزمون LSD مقایسه شدند. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح  $P < 0.05$  است.

برابری فعالیت کاتالاز شد. پیش‌تیمار گیاه حنا با سالیسیلیک اسید در هر دو غلظت نیز باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان تحت تنش سرما گردید.

شکل ۴c تغییرات فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز را در گیاه حنا تحت شرایط سرما و گلخانه نشان می‌دهد. بررسی نتایج نشان داد که تنش سرما موجب افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در گیاه حنا گردید. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود گیاه حنا تیمار شده با کاراجینان ۰/۵ و ۱ گرم بر لیتر در شرایط سرما افزایش معنی‌داری را در مقایسه با شاهد نشان دادند. در این تحقیق همچنین مشاهده شد پیش‌تیمار گیاهان حنا با کاراجینان در غلظت ۰/۵ و ۱ در شرایط گلخانه نیز باعث افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز شد. داده‌های حاصل از تیمار سالیسیلیک در گیاه حنا در دو غلظت ۰/۵ و ۱ میلی مولار افزایش معنی‌داری را

حنا با کاراجینان در هر دو غلظت در تنش سرما موجب کاهش معنی‌دار پراکسید هیدروژن در مقایسه با گیاهان تیمار شد. بررسی نتایج نشان داد پیش‌تیمار گیاه حنا با سالیسیلیک اسید در شرایط تنش سرما در هر دو غلظت باعث کاهش پراکسید هیدروژن گردید (شکل ۴a).

شکل ۴b تغییرات میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را در گیاه حنا تحت تنش سرما و شرایط گلخانه و تیمار شده توسط کاراجینان و سالیسیلیک نشان می‌دهد. بررسی داده‌ها در گیاه حنا تحت تنش سرما تفاوت معنی‌داری با شاهد نشان نداد. داده‌های حاصل از اندازه‌گیری کاتالاز نشان داد که گیاه حنا با کاراجینان در غلظت ۰/۵ و ۱ گرم در لیتر موجب افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم کاتالاز گردید. به‌طور کلی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با اسپری کاراجینان در غلظت ۰/۵ و ۱ گرم بر لیتر در گل حنا در شرایط گلخانه به‌ترتیب موجب افزایش ۱/۴ و ۲

تحت تنش سرما در مقایسه با شاهد نشان داد.

در این بررسی مشاهده می‌شود فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاه حنا در شرایط سرما اختلاف معنی‌داری در مقایسه با شاهد ندارد (شکل ۴d). اسپری گیاه حنا با کاراجینان در شرایط تنش سرما منجر به افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات گردید بطوریکه تیمار گیاه حنا با کاراجینان ۱ و ۰/۵ گرم بر لیتر به ترتیب منجر به افزایش ۲ و ۱/۵ برابری نسبت به شاهد سرما گردید. اسپری گیاه حنا با کاراجینان در غلظت ۱ گرم بر لیتر در شرایط گلخانه اثر معنی‌دار بر فعالیت آنزیم آسکوربات در مقایسه با شاهد نشان داد اما در غلظت ۰/۵ اختلافی مشاهده نشد. به‌علاوه در این پژوهش مشاهده می‌شود اسپری گیاه حنا با سالیسیلیک در غلظت ۱ و ۰/۵ میلی‌مولار افزایش ۱/۴ و ۲ برابری در فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به شاهد سرما گردید.

#### بحث

دما یکی از عوامل مهمی است که پراکنش گیاهان را از لحاظ جغرافیایی در یک محیط مطلوب تعیین می‌کند که در آن گیاهان می‌توانند زنده بمانند و چرخه زندگی خود را کامل کنند. کاهش رشد ریشه در اثر کاهش دما باعث کم‌شدن ظرفیت جذب آب و مواد معدنی توسط ریشه و به‌دنبال آن ظهور اثرات ثانویه ناشی از کمبود مواد غذایی و اختلال در رشد گیاه می‌شود. به‌دنبال کاهش رشد ریشه میزان رشد کل اندام گیاهی کاهش می‌یابد (Roman-Figueroa et al., 2021). گزارش شده است که استفاده از عصاره جلبک دریایی به دلیل وجود هورمون‌های رشد موجود در آن و اثر آن‌ها بر روند جذب و حرکت مواد مغذی در گیاهان موجب افزایش مواد مغذی در برگ شده در نهایت موجب افزایش وزن گیاه می‌شوند (Jupri et al., 2010; Mukherjee and Patel, 2021; Agarwal et al., 2020). همچنین گزارشی مبنی بر اینکه کاراجینان موجب افزایش نیتروژن و فسفر توسط ریشه و افزایش رشد عمومی گیاه می‌شود نیز ارائه شده است (Hashmi et al., 2012). علاوه بر این گزارش شده است سالیسیلیک

باعث افزایش میزان تقسیم مریستمی و رشد سلولی می‌شود و به‌دنبال آن رشد گیاه افزایش می‌یابد (Shakirova et al., 2003). نقش عصاره‌های جلبکی در افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی در اسفناج در شرایط تنش خشکی (Xu and Leskovar, 2015) و در گیاه یونجه (El-Sharkawy et al., 2017) و گوجه (Stasio et al., 2020) تحت تنش شوری، در پیاز تحت تنش خشکی (Almaroai and Eissa, 2020) گزارش شده است. نقش کاربرد سالیسیلیک اسید در افزایش وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه در گیاه همیشه‌بهار تحت تنش خشکی و در گیاه گلرنگ (Shakirova et al., 2003) و ذرت (Khodary, 2004) تحت تنش شوری نیز گزارش شده است.

پایداری غشا یک فاکتور مهم برای سازش گیاهان به تنش است و شاخص نشت الکترولیت یکی از روش‌های کارآمد در سنجش میزان آسیب غشایی و عملکرد غشا است (Bharwana et al., 2014). اولین مکان خسارت در اثر سرما غشای سلولی است. درجه حرارت پایین باعث تغییر سیالیت اسیدهای چرب غشا از حالت مایع به حالت کریستالی می‌شود (Mahajan and Tuteja, 2005). هنگامی که بافت‌های گیاهی در اثر سرما آسیب می‌بینند رادیکال‌های آزاد اکسیژن تجمع می‌یابند و موجب پراکسیداسیون غشا می‌شوند (Han and Bischof, 2004). کاهش سیالیت غشا در کنار پراکسیداسیون لیپیدها موجب آسیب رساندن به لیپیدهای غشایی و مختل شدن فعالیت غشای سلولی می‌شوند (Han and Bischof, 2004). تداوم این امر موجب تخریب بیشتر غشای سلول و خروج آب و افزایش نشت یونی و بروز پدیده آب‌گز شدن می‌شود (Azzarello et al., 2009). در این مطالعه کاربرد عصاره جلبکی کاراجینان و سالیسیلیک اسید هر دو باعث کاهش خسارات غشایی و حفظ پایداری غشا گردیده است که همین موضوع می‌تواند علت افزایش تحمل به تنش سرما در گیاهان پیش‌تیمار شده باشد. گزارش شده است که کاربرد عصاره جلبک دریایی در یونجه باعث پایین آمدن نشت الکترولیت در ژنوتیپ‌های حساس به شوری شد (El-Sharkawy et al., 2017).

سنتر محلول‌های سازگار به‌عنوان اسمولیت‌ها یکی از



مکانیسم‌های مقابله با تنش سرما و از دست دادن آب سلول است. علیرغم نقش قندها به عنوان اسمولیت، اما مقدار آنها در شرایط تنش در گیاهان مختلف متفاوت است. در این پژوهش مقدار قندهای محلول تحت تنش سرما در گل‌های حنا کاهش یافت (شکل ۳). به نظر می‌رسد کاهش قند در شرایط تنش سرما به علت کند شدن متابولیسم، افزایش تنفس است و کاهش فتوسنتز گیاه است. متابولیسم قندها به وسیله تنش‌های مختلف تحت تأثیر قرار می‌گیرد، قندها می‌توانند به عنوان رباينده‌های فعال اکسیژن باعث تثبیت غشا شوند و همچنین به عنوان سیگنال در تنظیم رشدونمو و در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی گیاهان از جمله تنش سرما عمل کنند (Uemura et al., 2006; Zeng et al., 2011). اسپری گیاهان با کاراجینان و سالیسیلیک اسید در هر دو شرایط مقدار کل قندهای محلول را افزایش داد. به نظر می‌رسد افزایش میزان قندها در گیاهان تیمار شده با کاراجینان و سالیسیلیک اسید موجب محافظت گیاهان در برابر تغییرات اسمزی، محافظت از غشای سلولی و آنزیم‌های سلولی و همچنین ذخیره انرژی برای ترمیم‌های پس از تنش سرما، جذب آب بیشتر از خاک و افزایش تحمل در مقابل تنش اسمزی و اکسیداتیو حاصل از تنش سرما می‌شود.

مشاهده شده است که اسپری گیاهان ریحان با کاراجینان در غلظت یک گرم بر لیتر تحت تنش زیستی، مقدار کل قندهای محلول را افزایش داده است (Mousavi et al., 2017). براساس گزارش‌های موجود اسید سالیسیلیک نیز با افزایش مقدار رنگیره‌های فتوسنتزی، کاهش تنش اکسیداتیو و محافظت از غشاهای کلروپلاستی موجب افزایش میزان قندهای موجود در گیاهان می‌شود و قندها علاوه بر نقش‌های اصلی، در تنظیم اسمزی نیز به گیاهان کمک می‌کنند (Khodary, 2004).

اسیدآمینو غیرساختاری پرولین در زمان تنش در گیاه تجمع می‌یابد و با پیوستن به فسفولیپیدهای غشایی و تغییرات در لایه هیدراته اطراف ماکرومولکول‌های زیستی از پروتئین‌ها و غشاها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو محافظت می‌کند (Verbruggen and Hermans, 2008). پرولین به عنوان یک اسمولیت در حفظ تعادل آب، کاهش خطرات حاصل از تولید گونه‌های فعال

اکسیژن، عامل پاکسازی رادیکال‌های هیدروکسیل و پایدارکننده ساختارهای سه بعدی پروتئین‌ها عمل می‌کند و در نتیجه سلول‌ها را از آسیب ایجاد شده به وسیله تنش محافظت می‌کند (Szabados and Savoure, 2010). از دیگر نقش‌های پرولین افزایش فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است. همچنین پرولین به دلیل ذخیره کربن و نیتروژن در ترمیم و رشد گیاه در شرایط کنترل و تنش نقش دارد (Weisany et al., 2012). در این مطالعه نیز تنش سرما مقدار پرولین را در گیاه حنا افزایش داد و محلول‌پاشی گیاهان با کاراجینان و سالیسیلیک اسید در شرایط سرما مقدار پرولین را دو تا سه برابر افزایش داد (شکل ۳b). افزایش پرولین با اسپری کاراجینان و سالیسیلیک اسید می‌تواند در کاهش اثرات تنش سرما از جمله کاهش تنش اکسیداتیو، کاهش تخریب غشای سلولی و کاهش پتانسیل آب سلول و حفاظت اسمزی و فراهم کردن منابع نیتروژنی نقش مهمی را ایفا کند. گزارش شده است اسپری گیاهان ریحان (سالم و پارازیته شده توسط گیاه سس) با کاراجینان یک میلی‌مولار مقدار پرولین را افزایش داد (Mousavi et al., 2017). کاربرد عصاره جلبک دریایی باعث افزایش پرولین تحت تنش شوری در گیاه یونجه نیز شده است (El-Sharkawy et al., 2017). علاوه بر این گزارش شده است که کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید نیز در گیاهانی که در معرض تنش‌های محیطی هستند سبب تجمع پرولین می‌شود (Shakirova et al., 2003).

تنش سرما منجر به تجمع گونه‌های فعال اکسیژن و تنش اکسیداتیو می‌شود (Suzuki and Mittler, 2006). افزایش غلظت این گونه‌های فعال اکسیژن باعث آسیب به ماکرومولکول‌ها و ساختارهای سلولی و در نهایت منجر به مرگ سلول می‌شود (Krasensky and Jonak, 2012). سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی با سازوکارهای آنزیمی و غیرآنزیمی می‌تواند گونه‌های فعال اکسیژن را از بین ببرد و خسارات ناشی از تنش اکسیداتیو را کاهش دهند (Candan and Tarhan, 2003). اثر عصاره جلبکی در افزایش سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه در چند مورد گزارش شده است. در گیاه لوبیا، تیمار عصاره

## نتیجه‌گیری

نتیجه این پژوهش مقایسه‌ای نشان داد که سالیسیلیک اسید و کاراجینان با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، حفظ پایداری غشاء و افزایش سنتز ترکیبات اسمززا تا حد زیادی اثرات منفی سرمازدگی را در گیاه حنا کاهش داد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بهترین نتیجه با کاربرد کاراجینان یک گرم بر لیتر و ۰/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید بدست آمد. به نظر می‌رسد که این ترکیبات سازگار با محیط‌زیست می‌توانند برای مدیریت تنش سرما در سایر گیاهان زیتنی نیز مناسب باشند و بتوان از این مواد برای کاهش سرمازدگی‌های پاییزه و زمستانه گیاهان استفاده نمود.

جلبک دریایی تحت تنش خشکی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز در گیاه شده است (Mansori *et al.*, 2015). نقش سالیسیک اسید نیز در افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان تحت تنش‌های غیرزیستی متعددی گزارش شده است (Farooq *et al.*, 2008; Metwally *et al.*, 2003; Syeed *et al.*, 2011; Agarwal *et al.*, 2005).

در این مطالعه، همچنین پیش‌تیمار گیاهان با این ترکیبات، پراکسیداسیون لیپیدها را کاهش داد و شاخص پایداری غشا افزایش نشان داد که خود نشانه یکپارچگی غشا و کاهش تنش اکسیداتیو است. بنابراین کاراجینان و سالیسیلیک اسید احتمالاً با فعال کردن سیستم آنتی‌اکسیدانی موجب افزایش مقاومت به تنش اکسیداتیو ناشی از تنش سرما در گیاه حنا شدند.

## منابع

- Agarwal, P. K., Dangariya, M. and Agarwal, P. (2021) Seaweed extracts: Potential biodegradable, environmentally friendly resources for regulating plant defence. *Algal Research* 58: 102363.
- Agarwal, S., Sairam, R. K., Srivastava, G. C. and Meena, R. C. (2005) Changes in antioxidant enzymes activity and oxidative stress by abscisic acid and salicylic acid in wheat genotypes. *Biologia Plantarum* 49: 541-550.
- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S. and Karanov, E. (2001) The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant Cell and Environment* 24: 1337-1344.
- Almaroai, Y. and Eissa, M. (2020) Role of marine algae extracts in water stress resistance of onion under semiarid conditions. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 20: 1092-1101.
- Azzarello, E., Mugnai, S., Pandolfi, C., Masi, E., Marone, E. and Mancuso, S. (2009) Comparing image (fractal analysis) and electrochemical (impedance spectroscopy and electrolyte leakage techniques for the assessment of the freezing tolerance in olive. *Trees* 23: 159.
- Bates, L. S. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Bharwana, S. A., Ali, S., Farooq, M. A., Ali, B., Iqbal, N., Abbas, F. and Ahmad, M. S. A. (2014) Hydrogen sulfide ameliorates lead-induced morphological, photosynthetic, oxidative damages and biochemical changes in cotton. *Environmental Science and Pollution Research* 21: 717-731.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Candan, N. and Tarhan, L. (2003) The correlation between antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in *Mentha pulegium* organs grown in Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> and Mn<sup>2+</sup> stress conditions. *Plant Science* 165: 769-776.
- Dhindsa, R. S., Dhindsa, P. and Thorpe, A. T. (1981) Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decrease levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany* 32: 93-101.
- El-Sharkawy, M., El-Beshbeshy, T., Al-Shal, R. and Missaoui, A. (2017) Effect of plant growth stimulants on alfalfa response to salt stress. *Agricultural Sciences* 8: 267-291.
- Farooq, M., Aziz, T., Basra, S. M. A., Cheema, M. A. and Rehman, H. (2008) Chilling tolerance in hybrid maize induced by seed priming with salicylic acid. *Journal of Agronomy and Crop Science* 194: 161-168.
- Han, B. and Bischof, J. C. (2004) Direct cell injury associated with eutectic crystallization during freezing. *Cryobiology* 48: 8-21.
- Hashmi, N. M., Khan, M. M. A., Moinuddin, M., Khan, Z. H., Ali, A. and Varshney, L. (2012) Depolymerized carrageenan ameliorates growth, physiological attributes, essential oil yield and active constituents of *Foeniculum vulgare* Mill. *Carbohydrate Polymer* 90: 407-412.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplast, kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archive of Biochemistry and Biophysics* 125: 189-198.

- Horvath, E., Szalai, G. and Janda, T. (2007) Induction of abiotic stress tolerance by SA signaling. *Journal of Plant Growth Regulation* 26: 290-300.
- Jayaraj, J., Wan, A., Rahman, M. and Punja, Z. K. (2008) Seaweed extract reduces foliar fungal diseases on carrot. *Crop Protection* 27: 1360-1366.
- Jouyban, Z., Hasanzade, R. and Sharafi, S. (2013) Chilling stress in plants. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences* 5: 2961.
- Jupri, A., Kurnianingsih, R., Julisaniah, N. I. and Nikmatullah, A. (2010) Effect of seaweed extracts on growth and yield of rice plants. *Nusantara Bioscience* 2: 24-29.
- Khodary, S. E. A. (2004) Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt-stressed maize plants. *International Journal of Agriculture and Biology* 6: 5-8.
- Krasensky, J. and Jonak, C. (2012) Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *Journal of Experimental Botany* 63: 1593-1608.
- Mahajan, S. and Tuteja, N. (2005) Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 444: 139-158.
- Malik, A., Mor, V., Tokas, J., Punia, H., Malik, S. and Malik, K. (2021) Biostimulant-treated seedlings under sustainable agriculture: A global perspective facing climate change. *Agronomy* 11: 14.
- Mansori, M., Chernane, H., Latique, S., Benaliat, A., Hsissou, D. and El Kaoua, M. (2015) Seaweed extract effect on water deficit and antioxidative mechanisms in bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Applied Phycology* 27: 1689-1698.
- Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M. and Dietz, K. J. (2003) Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. *Plant Physiology* 132: 272-281.
- Mousavi, E. A., Nasibi, F., Manouchehri Kalantari, K. and Oloumi, H. (2017) Stimulation effect of carrageenan on enzymatic defense system of sweet basil against *Cuscuta campestris* infection. *Journal of Plant Interactions* 12: 286-294.
- Mukherjee, A. and Patel, J. S. (2020) Seaweed extract: Biostimulator of plant defense and plant productivity. *International Journal of Environmental Science and Technology* 17: 553-558.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology* 22: 867-880.
- Nasibi, F., Kalantari, Kh. and Manzari Tavakoli, Z. (2020) Effects of hydrogen sulfide on cold-induced oxidative damage in *Cucumis sativus* L. *International Journal of Horticultural Science and Technology* 7: 199-211.
- Pal, M., Gondor, O. and Janda, T. (2013) Role of salicylic acid in acclimation to low temperature. *Acta Agronomica Hungarica* 61: 161-172.
- Plewa, M. J., Smith, S. R. and Wanger, E. D. (1991) Diethylthiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. *Mutation Research* 247: 57-64.
- Roe, J. H. (1955) The determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent. *Journal of Biological Chemistry* 212: 335-343.
- Sairam, R. K., Deshmukh, P. S. and Shukla, D. S. (1997) Tolerance to drought and temperature stress is relation to increased antioxidant enzyme activity in Wheat. *Journal of Agronomy and Crop Sciences* 178: 171-177.
- Shakirova, F. M., Sakhabutdinova, A. R., Bezrukova, M. V., Fatkhutdinova, R. A. and Fatkhutdinova, D. R. (2003) Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Plant Science* 164: 317-322.
- Stadnik, M. J. and Freitas, M. B. D. (2014) Algal polysaccharides as source of plant resistance inducers. *Tropical Plant Pathology* 39: 111-118.
- Stasio, E. D., Cirillo, V., Raimondi, G., Giordano, M., Esposito, M. and Maggio, A. (2020) Osmo-priming with seaweed extracts enhances yield of salt-stressed tomato plants. *Agronomy* 10: 1559
- Suzuki, N. and Mittler, R. (2006) Reactive oxygen species and temperature stresses: A delicate balance between signaling and destruction. *Physiologia Plantarum* 126: 45-51.
- Syed, S., Anjum, N. A., Nazar, R., Iqbal, N., Masood, A. and Khan, N. A. (2011) Salicylic acid-mediated changes in photosynthesis, nutrients content and antioxidant metabolism in two mustard (*Brassica juncea* L.) cultivars differing in salt tolerance. *Acta Physiologiae Plantarum* 33: 877-886.
- Szabados, L. and Savoure, A. (2010) Proline: A multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science* 15: 89-97.
- Thakur, P. and Nayyar, H. (2013) *Plant Acclimation to Environmental Stress*. Springer, New York.
- Uemura, M., Tominaga, Y., Nakagawara, C., Shigematsu, S., Minami, A. and Kawamura, Y. (2006) Responses of the plasma membrane to low temperatures. *Acta Physiologiae Plantarum* 126: 81-89.
- Verbruggen, N. and Hermans, C. (2008) Proline accumulation in plants: A review. *Amino Acids* 35: 753-759.
- Weisany, W., Sohrabi, Y., Heidari, G., Siosemardeh, A. and Ghassemi-Golezani, K. (2012) Changes in antioxidant enzymes activity and plant performance by salinity stress and zinc application in soybean (*Glycine max* L.). *Plant Omics Journal* 5: 60-67.

- Xu, C. and Leskovar, D. (2015) Effects of *A. nodosum* seaweed extracts on spinach growth, physiology and nutrition value under drought stress. *Scientia Horticulturae* 183.
- Zeng, Y., Yu, J., Cang, J., Liu, L., Mu, Y., Wang, J. and Zhang, D. (2011) Detection of sugar accumulation and expression levels of correlative key enzymes in winter wheat (*Triticum aestivum*) at low temperatures. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 75: 681-687.

## A study on the effect of seaweed extract carrageenan and salicylic acid (as bio stimulants) on growth and tolerance to chilling stress in bedding plant *Impatiens Walleriana*

Mina Ghanbari <sup>1</sup>, Homayoon Farahmand <sup>1,2</sup>, Fatemeh Nasibi <sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

<sup>3</sup>Department of Horticultural Sciences, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

<sup>4</sup>Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

(Received: 05/05/2021, Accepted: 14/09/2021)

### Abstract

Carrageenan and salicylic acid are bio stimulants that are involved in stress resistance by affecting the physiological and biochemical processes of the plant. In this study, carrageenan in two concentrations of 0.5 and 1 g / l and salicylic acid in 0.5 and 1mM concentrations were used for foliar application. This study was performed by factorial experiment in a completely randomized design with three replications. The pretreatments were applied in 6-leaf stage and the solutions were sprayed on the plant five times in the early morning in 10 days. One day after the last pretreatment, several pots were transferred to the refrigerator for 24 hours at a temperature of 5 °C for chilling stress, then the pots were returned to the greenhouse and after one day, samples of plant were collected from control and cold tressed pots. In this study, it was observed that pretreatment of plants with carrageenan and salicylic acid increased all growth parameters, osmolytes (including soluble sugars and proline), antioxidant enzymes including catalase, ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase activity, but reduced the oxidative stress index such as ion leakage, malondaldehyde and hydrogen peroxide content. The best results were obtained with the use of carrageenan 1 g / l and 0.5 mM salicylic acid. These results indicated that carrageenan and salicylic acid increased the resistance to cold stress in *Impatiens* flowers by increasing the protective parameters of the plant. It seems that these compounds as bio stimulants can be suitable for managing cold stress in other ornamental plants and can be used to reduce the chilling stress of autumn and winter in plants.

**Key words:** Antioxidant enzymes, Carrageenan, Cold stress, *Impatiens*, Salicylic acid

Corresponding author, Email: nasibi.f@uk.ac.ir