

## اثرات سالیسیلیک اسید بر گیاهچه شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra L.*) در شرایط تنش شوری

مهری بهنام نیا و اکرم شنوایی زارع

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه دامغان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۲/۲۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۷/۱)

### چکیده:

تنش شوری یکی از عوامل محیطی محدودکننده رشدونمو در گیاهان می‌باشد که بر روی صفات مورفولوژیک و فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاهان اثر منفی دارد. به منظور کاهش این اثرات از ترکیبات و تنظیم‌کننده‌های مختلف رشد استفاده می‌شود. در این پژوهش تأثیر هورمون اسید سالیسیلیک (SA) در ۳ سطح (۰، ۱ و ۲ میلی‌مولار) بر تخفیف تنش شوری (محلول کلرید سدیم با غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار) در گیاه شیرین‌بیان در مرحله جوانه‌زنی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از اندازه‌گیری طول، وزن تر و خشک گیاهچه و پارامترهای بیوشیمیایی نظیر میزان رنگیزه‌های فتوستتزی، پروتئین و آنتوسیانین در اندام هوایی گیاهچه با نرم‌افزار SPSS آنالیز شد. نتایج نشان داد که غلظت بالای شوری کاهش معنی‌داری بر صفات مورفولوژیک دارد. ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک در شرایط تنش، موجب افزایش طول و وزن گیاهچه گردید. پارامترهای بیوشیمیایی مانند محتوی رنگیزه‌های فتوستتزی، پروتئین‌های محلول و آنتوسیانین‌ها نیز تحت تاثیر تنش کاهش داشتند و در حضور اسید سالیسیلیک، مقدار آنتوسیانینها در مقایسه با نمونه شاهد و شرایط تنش بطور معنی‌داری افزایش یافت. اثر مثبت اسید سالیسیک بر روی اثر بازدارندگی نمک در غلظت پایین‌تر (۱ میلی‌مولار) نسبت به غلظت ۲ میلی‌مولار، بیشتر مشاهده گردید. همچنین بیشترین اثر مثبت در تیمار توام غلظت ۵۰ میلی‌مولار NaCl و ۱ میلی‌مولار SA مشاهده شد. بنابراین به نظر می‌رسد که کاربرد هورمون اسید سالیسیلیک در غلظت‌های کم به منظور کاهش اثرات مخرب ناشی از تنش شوری در گیاه شیرین بیان مفید باشد.

کلمات کلیدی: سالیسیلیک اسید، شیرین بیان، تنش شوری.

### مقدمه:

دخانیات و صنایع دیگر دارد. ماده‌ی مؤثره شیرین‌بیان اسید گلیسریریزیک می‌باشد که حدود ۵۰ مرتبه از قند شیرین‌تر بوده و میزان آن در گیاه حدود ۵ تا ۲۰ درصد می‌باشد. اسید گلیسریریزیک با افزایش سن گیاه افزایش می‌یابد و گیاه شناسان معتقدند که میزان اسید در واریته ایرانی بیشتر از سایر واریته‌ها است (Amani et al., 2005). همچنین این

شیرین‌بیان با نام علمی *Glycyrrhiza glabra L.* از جمله گیاهان دارویی خودرو، علفی و چند ساله که متعلق به تیره باقلا (Fabaceae) می‌باشد و دارای ۳۰ گونه در دنیا و ۳ گونه در ایران است که در بین آنها *G. glabra L.* بیشترین پراکنش را در سطح ایران دارد. عصاره‌ی ریشه‌ی این گونه در سرتاسر دنیا کاربرد وسیعی در پزشکی، صنایع غذایی،

رشد را در این گیاهان بهبود می‌بخشد (Hanan, 2007).  
 با توجه به گسترش روز افزون جمعیت و کمبود زمین  
 های قابل کشت، تنش شوری به عنوان یک عامل محدود  
 کننده در تولیدات گیاهی است. بنابراین مقابله با این تنش  
 به صورت‌های مختلفی از جمله استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های  
 با کارایی بالا، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. از ترکیبات  
 آنتی‌اکسیدان که دارای نقش هورمونی نیز می‌باشد، اسید  
 سالیسیلیک است. در این پژوهش نقش اسید سالیسیلیک بر  
 تخفیف تنش شوری روی گیاه دارویی شیرین‌بیان مورد  
 بررسی قرار گرفت.

#### مواد و روش‌ها:

بذر مورد استفاده در این مطالعه متعلق به جنس  
*Glycyrrhiza glabra* L. می‌باشد که از شرکت پاکان بذر  
 اصفهان تهیه گردید. ابتدا بذرهای سالم و یکنواخت به  
 مقدار مورد نیاز انتخاب و به منظور شکستن خواب بذر  
 به مدت ۲۰ دقیقه در محلول اسید سولفوریک ۸۰٪ و  
 سپس چندین بار با آب مقطر مورد شستشو قرار گرفتند.  
 تعداد ۱۰ بذر درون ظروف پتری شیشه‌ای ضدعفونی شده  
 که حاوی یک لایه کاغذ صافی بود قرار داده شد و به هر  
 ظرف پتری به میزان ۱۲ میلی‌لیتر از محلول ۵۰، ۱۰۰ و  
 ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl، محلول اسید سالیسیلیک ۱ و ۲  
 میلی‌مولار و محلول‌های حاوی غلظت‌های توام SA و  
 NaCl اضافه گردید. البته پتری شاهد فقط حاوی ۱۲ میلی  
 لیتر آب مقطر بود. پتری دیش‌ها در دمای ۲۵ درجه  
 سانتی‌گراد به مدت ۵ روز قرار داده شدند. تعداد بذرهای  
 جوانه زده در هر پتری هر روز ثبت گردید. طول گیاهچه با  
 خطکش ۰/۰۰۱ متر و وزن گیاهچه باترازوی مدل  
 Sartorius با دقت  $10^{-4}$  گرم اندازه‌گیری شد. برای  
 اندازه‌گیری وزن خشک، ابتدا نمونه‌ها در فویل آلومینیومی  
 پیچیده و به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه  
 خشک و سپس توزین شدند.  
 برای سنجش‌های بیوشیمیایی، نمونه‌های تازه برگ‌ها از هر

ترکیب فعالیت ضد ویروسی و ضد التهابی دارد  
 (امیدبگی، ۱۳۸۴). البته بررسی‌های انجام شده نشان داده  
 که ساخت و مقدار مواد مؤثره گیاهان دارویی تحت تأثیر  
 ژنوتیپ و عوامل محیطی است (Filippo, 2002).  
 شوری به عنوان یک فاکتور محیطی تمام مراحل رشد  
 و نمو گیاه از جوانه‌زنی تا تولید دانه و میوه را تحت تأثیر  
 قرار می‌دهد. البته پاسخ گیاهان به شوری به نوع گیاه،  
 مراحل نمو گیاه، شدت و مدت تنش بستگی دارد  
 (Manchanda and Garg, 2008). جوانه‌زنی دانه‌ها بخش  
 حساسی از مراحل نمو گیاهی است. شوری از طریق  
 افزایش فشار اسمزی و به دنبال آن کاهش جذب آب  
 توسط بذور و همچنین از طریق اثرات سمی یون‌های  
 سدیم و کلر، جوانه‌زنی بذور را تحت تأثیر قرار می‌دهد  
 (زینلی و همکاران، ۱۳۸۱). اعمال تیمارهای هورمونی  
 می‌تواند بر پاسخ گیاهان به تنش شوری تأثیر گذاشته و از  
 اثرات مخرب آن بر روی گیاه بکاهد  
 (El-Tayeb, 2005; Eraslan et al., 2007). بسیاری از  
 تحقیقات نشان داده که پیش‌تیمار بذر گیاهان مختلف به  
 وسیله SA باعث مقاومت آنها در هنگام بروز تنش‌های  
 مختلف و خصوصاً شوری می‌شود. اسید سالیسیلیک  
 C7H6O3 یا اورتو‌هیدروکسی بنزوئیک اسید (SA) و  
 ترکیبات وابسته متعلق به گروهی از ترکیبات فنلی می‌باشند  
 (El-Tayeb, 2005). اسید سالیسیلیک به‌وسیله سلول‌های  
 ریشه تولید می‌شود و نقش محوری در فرآیندهای  
 فیزیولوژیکی مختلف مثل رشد و نمو گیاه، جذب یون،  
 فتوسنتز و جوانه‌زنی ایفا می‌کند (Popova, et al., 1997).  
 تیمار سالیسیلیک اسید باعث افزایش طول ریشه‌چه در گیاه  
 گندم و جو می‌شود (Hanan, 2007) و بین دو غلظت  
 مختلف اسید، غلظت پایین‌تر (۱ میلی‌مولار) تأثیر بیشتری  
 دارد. افزایش تجمع ABA در گیاهان گندم تیمار شده با  
 اسید سالیسیلیک در شرایط تنش شوری، اثر محافظتی این  
 ترکیب را در برابر شوری ثابت می‌کند. همچنین افزودن  
 اسید سالیسیلیک در گندم باعث مهار اثر شوری گردیده و

۰/۰۵ گرم از بافت تر در یک هاون چینی حاوی ۳ میلی لیتر بافر فسفات با pH=۷/۵ در دمای ۴ درجه سانتی گراد به طور کامل سائیده شده سپس به لوله سانتریفیوژ منتقل و پس از ۱۰ دقیقه سکون، به مدت ۲۵ دقیقه در 5000g سانتریفیوژ شدند. به لوله های آزمایش مقدار ۰/۱ میلی لیتر عصاره پروتئینی محلول رویی و ۳ میلی لیتر معرف برادفورد افزوده شده و به سرعت ورتکس و در فاصله زمانی ۲ دقیقه تا یک ساعت جذب آنها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. برای تهیه معرف برادفورد، ۰/۱ گرم کوماسی بریلانت بلو G250 در 50 ml اتانول ۹۵٪ حل گردیده و پس از یک ساعت 100 ml اسید فسفوریک ۸۵٪ افزوده و با آب مقطر حجم کلی به یک لیتر رسانده شد و محلول با کاغذ صافی صاف گردید.

به منظور رسم منحنی استاندارد، غلظت های صفر، ۱، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰ میلی گرم در لیتر آلبومین گاوی ساخته شد. کلیه مراحل کار بر روی آنها مانند نمونه مجهول تکرار گردید. برای تعیین غلظت پروتئین های نمونه های مجهول از منحنی استاندارد حاصل استفاده گردید. این تحقیق در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام و برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. هر پتری دیش به عنوان یک تکرار می باشد و در هر ظرف ۱۰ بذر قرار داده شد. آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS version 17 صورت گرفت. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام پذیرفت.

### نتایج:

**تغییرات طول گیاهچه:** همان طور که در شکل ۱ نشان می دهد، افزایش غلظت کلرید سدیم، موجب کاهش معنی دار طول گیاهچه نسبت به شاهد گردید. در غلظت های مختلف کلرید سدیم (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی لیتر) کاربرد برون زای ۱ میلی مولار اسید سالیسیلیک طول گیاهچه را به طور معنی داری نسبت به شرایط تنش شوری افزایش داد، اما در محلول ۲ میلی مولار SA تغییرات معنی دار

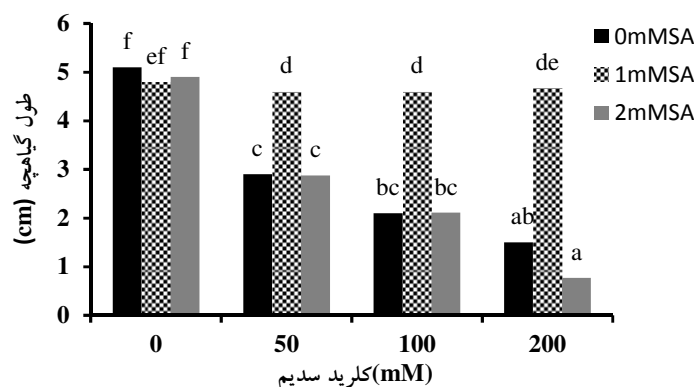
تیمار، داخل فویل آلومینیومی قرار گرفتند و پس از قرار گرفتن در نیتروژن مایع، در فریزر ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. به منظور سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئید از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) استفاده شد. ۰/۰۵ گرم از برگ های فریز شده در هاون چینی با ۵ میلی لیتر استن ۸۰٪ سائیده و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. جذب عصاره با دستگاه اسپکتروفتومتر UV/Vis در طول موج های ۶۴۷ و ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. جهت تنظیم دستگاه، استن ۸۰٪ مورد استفاده قرار گرفت. غلظت رنگیزه با استفاده از رابطه های زیر محاسبه گردید.

$$\begin{aligned} Chla &= (12.25 A_{663} - 2.79 A_{647}) \\ Chlb &= (21.21 A_{647} - 5.1 A_{663}) \\ ChlT &= 7.15 A_{663} + 18.71 A_{647} \\ Car &= A_{470} + [(0.114)(A_{663}) - (0.638)(A_{647})] \end{aligned}$$

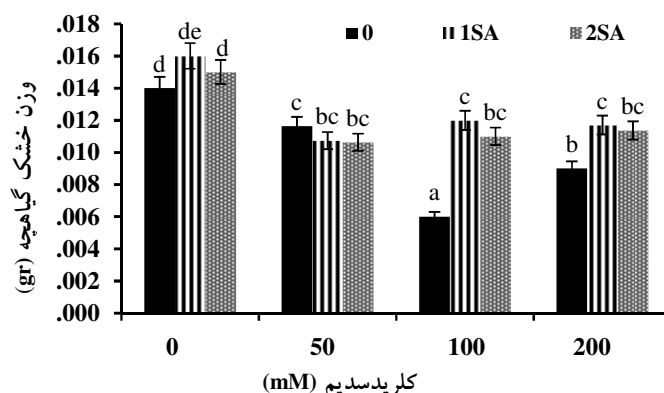
در این فرمول Chla، Chlb، ChlT و Car به ترتیب غلظت کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها (شامل کاروتن ها و گزانتوفیل ها) می باشد. نتایج حاصل از اندازه گیری مقدار رنگیزه های فتوسنتزی برحسب میلی گرم کلروفیل بر گرم وزن تر محاسبه و ارائه گردیدند.

از روش Wagner (۱۹۷۹) جهت اندازه گیری مقدار آنتوسیانین ها استفاده شد. ۰/۰۵ گرم از بافت برگ را در هاون چینی با ۵ میلی لیتر متانول اسیدی (متانول خالص و اسید کلریدریک خالص به نسبت حجمی ۱:۹۹) کاملاً سائیده و عصاره حاصل در لوله های آزمایش سرپیچ دار به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت. بعد از سانتریفیوژ عصاره به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه، جذب محلول بالایی در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه گیری شد. برای محاسبه غلظت برحسب میکرومول  $(A = \epsilon bc)$ ، جذب خوانده شده b: عرض کوت c: غلظت محلول مورد نظر و ضریب خاموشی  $(\epsilon)$  ۳۳۰۰۰ سانتی متر بر مول در نظر گرفته شد.

سنجش غلظت پروتئین با استفاده از روش Bradford (۱۹۷۹) انجام شد. برای استخراج پروتئین ها از برگ ها،



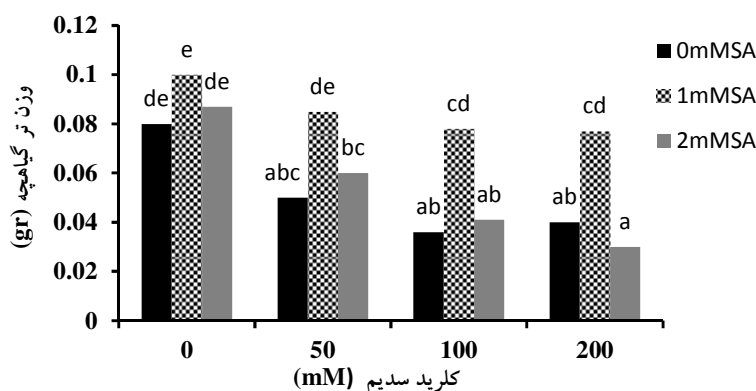
شکل ۱- تأثیر تنش شوری (غلظت ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی مولار) و اسید سالسیلیک (غلظت ۰، ۱ و ۲ میلی مولار) بر روی طول گیاهچه شیرین بیان: حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ آزمون دانکن می باشد.



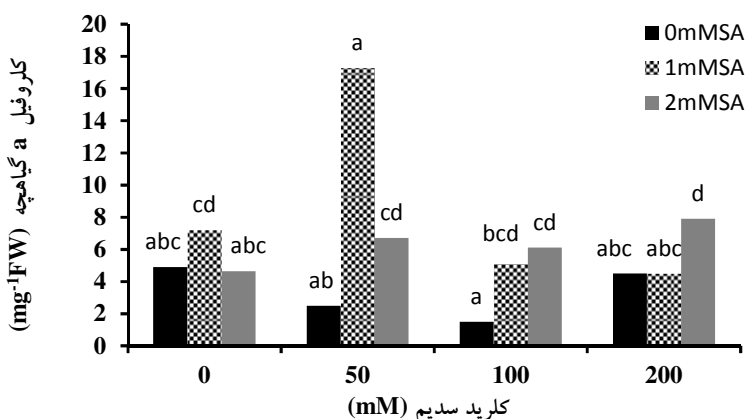
شکل ۲- تأثیر تنش شوری (غلظت ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی مولار) و اسید سالسیلیک (غلظت ۰، ۱ و ۲ میلی مولار) بر وزن خشک گیاهچه شیرین بیان: حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ آزمون دانکن می باشد.

شکل ۳ نشان می دهد با افزایش غلظت کلرید سدیم، وزن خشک گیاهچه نسبت به شاهد به طور معنی داری کاهش پیدا کرد (در سطح ۰/۰۵). اما در غلظت ۲۰۰ میلی مولار نسبت به غلظت ۱۰۰ میلی مولار وزن خشک افزایش یافت. در حضور اسید سالسیلیک ۱ میلی مولار در کلیه غلظت های کلرید سدیم، وزن خشک گیاهچه به طور معنی داری نسبت به شرایط تنش افزایش یافت. اما با افزودن اسید ۲ میلی مولار این افزایش معنی دار نشد (به استثنای NaCl ۵۰ mM و SA ۲mM) و همچنین در مقایسه با غلظت ۱ میلی مولار تأثیر کمتری داشت. بیشترین وزن خشک گیاهچه در تیمار ۱ میلی مولار اسید سالسیلیک با میانگین gr ۰/۰۱۶ و کمترین وزن خشک آن در غلظت

نگردید. بیشترین طول گیاهچه در تیمار ۱ میلی مولار اسید با میانگین ۵/۳۸ سانتی متر و کمترین طول آن در غلظت ۲۰۰ میلی مولار NaCl با میانگین ۱/۰۲ سانتی متر مشاهده شد. تغییرات وزن گیاهچه: کاهش وزن تر گیاهچه با افزایش غلظت کلرید سدیم با استثنا محلول ۲۰۰ mM همابستگی داشت (شکل ۲). در تیمارهای توام ۱ mM SA با غلظت های مختلف کلرید سدیم، افزایش وزن تر گیاهچه معنی دار و در مقایسه با SA ۲ mM بیشتر بود. بیشترین وزن تر گیاهچه در تیمار ۱ میلی مولار اسید سالسیلیک با میانگین ۰/۰۹۷ گرم و کمترین وزن تر در تیمار توام غلظت ۲۰۰ میلی مولار NaCl و ۲ میلی مولار SA با میانگین ۰/۰۳۳ گرم سنجش شد.



شکل ۳- تأثیر تنش شوری (غلظت ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی مولار) و اسیدیسیلیک اسید (غلظت ۰، ۱، ۲ میلی مولار) بر وزن تر گیاهچه شیرین بیان: حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ آزمون دانکن می باشد.



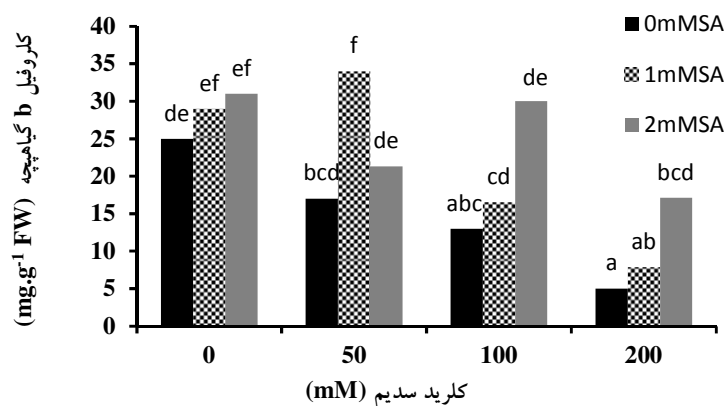
شکل ۴- تأثیر تنش شوری (غلظت ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی مولار) و اسیدیسیلیک اسید (غلظت ۰، ۱، ۲ میلی مولار) بر مقدار کلروفیل a گیاهچه شیرین بیان: حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ آزمون دانکن می باشد.

تیمار ۱ میلی مولار اسید سالیسیلیک توام با شوری ۵۰ میلی مولار با میانگین ۳۵/۱۶ میلی گرم بیشترین میزان و کم ترین مقدار آن در غلظت ۲۰۰ میلی مولار NaCl با میانگین ۷/۰۹ میلی گرم بود.

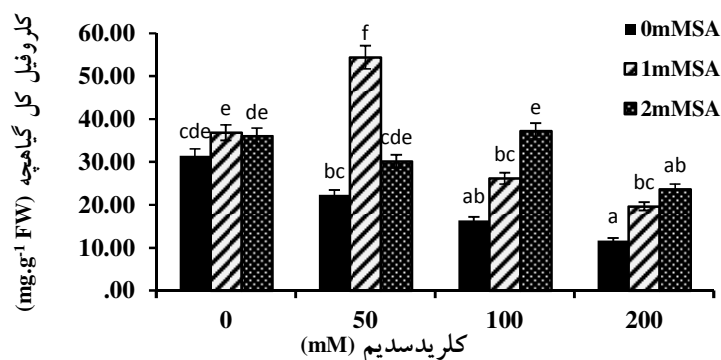
با توجه به شکل ۶، افزایش غلظت کلرید سدیم موجب کاهش معنی دار مقدار کلروفیل کل نسبت به شاهد (به استثنای تیمار ۵۰ میلی مولار NaCl) گردید. بیشترین میزان کلروفیل کل گیاهچه در تیمار توام ۱ میلی مولار اسید و شوری ۵۰ میلی مولار با میانگین ۲۲/۳۰ میلی گرم و کم ترین مقدار آن در غلظت ۲۰۰ میلی مولار NaCl با میانگین ۱۱/۶۹ میلی گرم مشاهده شد. کاربرد برونزای غلظت های ۱

۱۰۰ میلی مولار NaCl با میانگین ۰/۰۱۲ gr اندازه گیری گردید. تغییرات میزان رنگیزه های فتوسنتزی: همان گونه که شکل ۴ نشان می دهد، مقدار کلروفیل a با افزایش شوری، به استثناء غلظت ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم کاهش یافت. بیشترین میزان کلروفیل a گیاهچه در تیمار ۱ میلی مولار اسید سالیسیلیک توام با شوری ۵۰ میلی مولار با میانگین ۱۸/۶۱ میلی گرم و کم ترین مقدار آن در غلظت ۱۰۰ میلی مولار NaCl با میانگین ۱/۸۲ میلی گرم مشاهده شد.

شکل ۵ بیان می کند که مقدار کلروفیل b با افزایش شوری، نسبت به شاهد کاهش یافت و کاهش در تیمار ۲۰۰ میلی مولار NaCl معنی دار شد. کلروفیل b گیاهچه در



شکل ۵- تأثیر تنش شوری (غلظت ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی مولار) و سالیسیلیک اسید (غلظت ۰، ۱۰، ۲ میلی مولار) بر مقدار کلروفیل b گیاهیچه شیرین بیان: حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ آزمون دانکن می باشد.

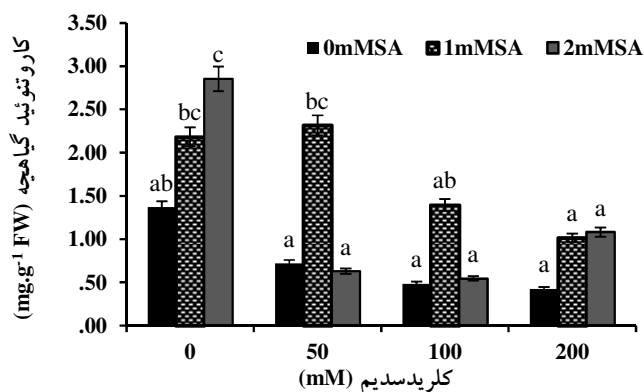


شکل ۶- تأثیر تنش شوری (غلظت ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی مولار) و سالیسیلیک اسید (غلظت ۰، ۱۰، ۲ میلی مولار) بر مقدار کلروفیل کل گیاهیچه شیرین بیان: حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ آزمون دانکن می باشد.

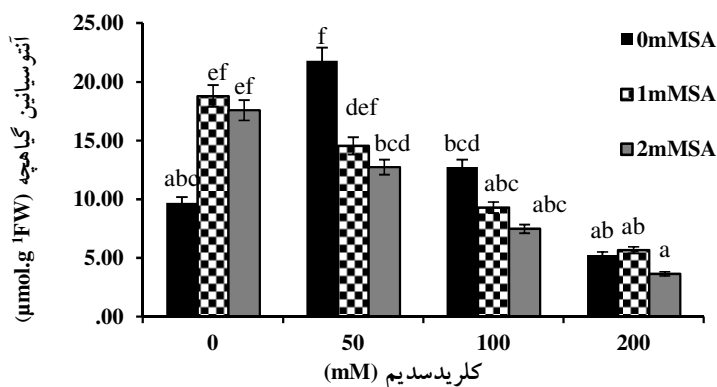
ترین مقدار آن در غلظت ۲۰۰ میلی مولار NaCl با میانگین ۰/۴۲mg مشاهده شد.

تغییرات میزان آنتوسیانین: بر اساس نمودار ۸، مقدار آنتوسیانین در غلظت ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم، نسبت به شاهد به طور معنی داری افزایش یافت. اما افزایش مقدار آنتوسیانین در غلظت های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار در مقایسه با شاهد، معنی دار نبود. در تیمارهای اسید سالیسیلیک، مقدار آنتوسیانین در مقایسه با نمونه شاهد به طور معنی داری افزایش یافت. بیشترین مقدار آنتوسیانین گیاهیچه در تیمار ۵۰ میلی مولار NaCl با میانگین ۲۱/۸۲ nM و کم ترین مقدار آنتوسیانین آن در تیمار ۲۰۰ میلی مولار NaCl و ۲

۲ میلی مولار SA در تنش های مختلف شوری موجب افزایش معنی دار کلروفیل کل در مقایسه با شرایط تنش گردید. شکل ۷ نشان می دهد که کاهش محتوی رنگیزه های کاروتنوئیدی با افزایش شوری، نسبت به شاهد و بین غلظت های مختلف کلریدسدیم معنی دار نشد. در حضور اسید سالیسیلیک ۱ میلی مولار، تفاوت کاروتنوئید بین تمامی تیمارها (به استثنای ۵۰ میلی مولار NaCl) در مقایسه با شاهد (در سطح ۰/۰۵) معنی دار نبود. تیمار اسید ۱ میلی مولار باعث افزایش معنی دار در میزان کاروتنوئیدها، در مقایسه با شاهد شد. بیشترین میزان کاروتنوئید در تیمار ۲ میلی مولار اسید با میانگین ۲/۵۸ میلی گرم و کم



شکل ۷- تأثیر تنش شوری (غلظت ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی مولار) و سالیسیلیک اسید (غلظت ۰، ۱، ۲ میلی مولار) بر مقدار کاروتنوئیدهای گیاهچه شیرین بیان: حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون دانکن می‌باشد.



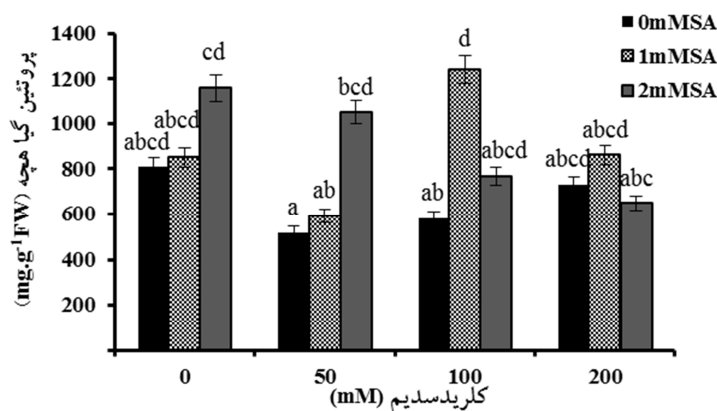
شکل ۸- تأثیر تنش شوری (غلظت ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی مولار) و سالیسیلیک اسید (غلظت ۰، ۱، ۲ میلی مولار) بر مقدار آنتوسیانین اندام‌هوایی گیاهچه: حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون دانکن می‌باشد.

طول گیاهچه در شرایط تنش، کاهش یا عدم انتقال مواد غذایی از لپه‌ها به جنین می‌باشد. همچنین کاهش جذب آب بوسیله بذر در شرایط تنش موجب کاهش ترشح هورمون‌هایی از جمله اسید جیبرلیک و فعالیت آنزیم‌ها و در نتیجه اختلال در رشد گیاهچه می‌شود (کافی و همکاران، ۱۳۸۴). کاهش طول ریشه در گیاه گوجه‌فرنگی (El-Tayeb, 2005) و چغندر قند (Eraslan, et al., 2007) تحت تنش شوری گزارش شده است. در شرایط تنش شوری اعمال تیمار سالیسیلیک اسید منجر به مقاومت گیاه در برابر تنش گردید. طبق گزارش Hanan (۲۰۰۷)، تیمار سالیسیلیک اسید باعث افزایش طول ریشه چه در گیاه گندم

میلی مولار اسید با میانگین ۲/۱۲ nM مشاهده شد. تغییرات مقدار پروتئین: نتایج نمودار ۹ نشان می‌دهد که اعمال تنش کلریسدیم موجب کاهش قابل ملاحظه‌ای در مقدار پروتئین‌های محلول گردید. در شرایط کنترل کاربرد SA تغییر معنی‌داری در مقدار پروتئین نداشت. در شرایط تنش، تاثیر ۱ میلی مولار SA نسبت به ۲ mM موجب افزایش معنی‌دار و بیشتر مقدار پروتئین گردید.

#### بحث:

نتایج نشان می‌دهد که با افزایش تنش شوری طول گیاهچه شیرین بیان کاهش یافت (شکل ۱). یکی از دلایل کاهش



شکل ۹- تأثیر تنش شوری (غلظت ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی مولار) و سالیسیلیک اسید (غلظت ۰، ۱، ۲ میلی مولار) بر مقدار پروتئین اندام‌هوایی گیاهچه شیرین‌بیان: حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون دانکن می‌باشد.

این‌دول استیک و سیتوکینین را در شوری افزایش داده و باعث افزایش رشد می‌شود. افزایش تجمع ABA در گیاهان گندمی که تحت تنش شوری با اسید سالیسیلیک تیمار شده‌اند، اثر محافظتی این ترکیب در برابر شوری را ثابت و رشد را در این گیاه بهبود بخشید (Hanan, 2007).

کاهش مقدار کلروفیل و کاروتنوئید در شرایط تنش شوری در گیاه گوجه‌فرنگی (Gao, 2006; Tari, 2009) گزارش شده‌است. در پژوهش حاضر نیز مقدار رنگبره‌های فتوسنتزی کاهش یافت (شکل ۴، ۵، ۶ و ۷). البته در تیمار ۲۰۰ میلی مولار نمک، مقدار کلروفیل و کاروتنوئیدها نسبت به غلظت‌های پایین‌تر افزایش یافته‌است. افزایش مقدار رنگبره‌های فتوسنتزی تحت تنش شوری در هویج نیز گزارش شده‌است (Eraslan *et al.*, 2007). همچنین در پژوهش حاضر، در تیمارهایی که تحت تنش شوری و هورمون اسید سالیسیلیک قرار گرفتند، اثر مثبت SA بر روی مقدار رنگبره‌های فتوسنتزی مشاهده گردید. در غلظت‌های پایین شوری، غلظت پایین‌تر هورمون (۱ mM) مؤثر بود. ولی در غلظت‌های بالاتر شوری (۱۰۰-۲۰۰) غلظت بالای هورمون (۲ mM) مؤثرتر بوده است. طبق مطالعات Khan و همکاران (۲۰۰۵) در شرایط تنش شوری، برگ‌ها ابتدا کلروزه می‌شوند و سپس شروع به ریزش می‌کنند. کاهش در مقدار رنگبره‌های فتوسنتزی گیاهان به

و جو می‌شود (Hanan, 2007) که در بین دو غلظت مختلف سالیسیلیک اسید، غلظت پایین‌تر (۱ میلی مولار) تأثیر بیشتری داشت. براساس نتایج بدست آمده توسط مظاهری و کلانتری (۱۳۸۵) نیز سطوح بالای سالیسیلیک اسید، بر خلاف غلظت‌های پایین باعث کاهش طول گیاهچه کلزا شد.

وزن‌تر گیاهچه با اعمال شوری کاهش نشان داد (نمودار ۲) که البته در غلظت ۲۰۰ mM نسبت به ۱۰۰ میلی مولار کلریدسدیم، وزن‌تر افزایش یافت. همچنین شوری در گیاهچه شیرین‌بیان سبب کاهش معنی‌دار وزن خشک نسبت به شاهد شد (نمودار ۳). به نظر می‌رسد یکی از دلایل کاهش وزن گیاهچه در پتانسیل‌های پایین آب، تحرک کم مواد غذایی و انتقال کمتر آنها از لپه‌ها به محور جنینی باشد (Tari, 2009). نتایج Parida و همکاران (۲۰۰۵) نیز نشان داد غلظت بالای نمک در محیط جوانه‌زنی بذر سورگوم سبب کاهش وزن گیاهچه شد. این نتایج با گزارش Fares و Ghoulam (۲۰۰۱) در مورد اثر تنش شوری در چغندر قند مطابقت دارد. در گزارش Hussein و همکاران (۲۰۰۷) آمده‌است که وزن خشک گیاهچه ذرت در پاسخ به شوری کاهش پیدا می‌کند. براساس مشاهدات Shakirova و همکاران (۲۰۰۳) در مورد گندم، تیمار اسید سالیسیلیک مقدار هورمون‌های اسید

مقدار پروتئین‌های محلول نسبت به غلظت‌های پایین‌تر، افزایش یافت. در غلظت ۵۰ میلی‌مولار، کاهش مقدار پروتئین به دلیل کاهش سنتز پروتئین و یا به دلیل افزایش هیدرولیز آن ناشی از افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئاز می‌باشد (Parasher, 1987). رادیکال‌های فعال اکسیژن که در شرایط تنش شوری ایجاد می‌شود، باعث اکسیداسیون زنجیره‌های آمینو اسید و در نهایت منجر به افزایش تجزیه پروتئین می‌شود (Horvath et al., 2007). در گزارشی هم که از دو کولتیوار برنج بدست آمده‌است، مقدار کل پروتئین‌ها افزایش یافته است (Demiral and Turkan, 2005). از طرفی، با افزایش تنش شوری، ژن‌های حفاظتی در گیاه فعال شده، در نتیجه باعث تولید و افزایش پروتئین‌های شوک حرارتی (HSP) می‌شود. همچنین، اسید سالیسیلیک با تأثیر بر تشکیل پروتئین‌های دفاعی، پروتئین کینازها و رویسکو و افزایش سنتز پروتئین‌های مهار کننده پروتئاز، مقدار پروتئین در شرایط تنش را افزایش می‌دهد (Horvath et al., 2007). در این تحقیق با اعمال هورمون اسید سالیسیلیک، محتوی پروتئین‌های محلول برگ افزایش نشان داد (شکل ۹).

### نتیجه گیری:

گیاهان در طول حیات خود با انواع تنش‌های محیطی مواجه می‌شوند. تنش‌های محیطی منجر به بروز تغییراتی در رشد گیاهان دارویی و نیز در مقدار و ساخت مواد مؤثره آن‌ها نظیر گلیکوزیدها، آلکالوئیدها و امثال آن می‌گردند. نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که شوری باعث کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و پروتئین و در نتیجه کاهش صفات مورفولوژیک (طول، وزن تر و خشک) گیاهچه شیرین بیان به‌طور معنی‌داری شد. اما افزایش معنی‌دار آنتوسیانین در غلظت کم شوری و کاهش آن در غلظت‌های بالاتر مشاهده گردید. در این تحقیق، اثر جبران کننده و تقویتی اسید سالیسیلیک در رشد گیاهچه شیرین بیان در شرایط تنش شوری مشاهده شد و اینکه

دلیل بسته شدن روزنه‌ها و جلوگیری از بیوسنتز کلروفیل می‌باشد. تنش شوری باعث افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کلروپلاست شده و باعث آسیب به غشاء کلروپلاستی می‌شود (Zhang et al., 2003). همچنین سمیت یونی ناشی از غلظت بالای سدیم و افزایش فعالیت آنزیم کلروفیل‌از منجر به کاهش مقدار کلروفیل می‌گردد (Khan et al., 2003). مقدار کاروتنوئیدها در تنش شوری کاهش پیدا می‌کند که علت آن تخریب بتا کاروتن و تشکیل زآگزانتین می‌باشد (Sultana et al., 1999). کاهش مقدار کاروتنوئیدها در این پژوهش معنی‌دار نبود. گزارش شده است که استفاده از هورمون اسید سالیسیلیک منجر به افزایش مقدار کاروتنوئید می‌گردد. القای سنتز کاروتنوئیدها در شرایط تنش می‌تواند به دلیل نقش محافظتی آنها در تشکیلات فتوسنتزی باشد. زیرا این باعث خاموش شدن اکسیژن یکتایی و جلوگیری از تنش اکسیداتیو می‌شوند (Koyro, 2006).

آنتوسیانین به عنوان گیرنده رادیکال‌های آزاد، گیاهان را در برابر تنش‌های اکسیداتیو محافظت می‌کنند (Schaler and Kieber, 2002). طبق نتایج بدست آمده در این پژوهش، مقدار آنتوسیانین در غلظت پایین‌تر شوری (۵۰ Mm) افزایش پیدا کرد که باعث ایجاد مقاومت بیشتر در برابر شوری گردید. تجمع آنتوسیانین در ریشه‌های ذرت (Kalimoorthy and Rao, 1994)، آرابیدوپسیس (Mita et al., 1997)، عشقه (Murray, 1994) و برگ‌های توت (Ramanjulu et al., 1993) در استرس شوری گزارش شده‌است. ولی در غلظت بالای شوری، مقدار آن در مقایسه با گیاه شاهد کاهش پیدا کرد. کاهش آنتوسیانین در غلظت‌های بالاتر را نمی‌توان به مقاومت کم گیاه در برابر شوری نسبت داد، زیرا ممکن است گیاه از مکانیسم‌های دیگری برای مقاوم‌سازی خود استفاده کرده باشد.

در این تحقیق با اعمال تنش شوری (۵۰ میلی‌مولار) مقدار پروتئین کاهش پیدا کرد. اما با افزایش غلظت نمک،

فیزیولوژیک و مورفولوژیک گیاهان آزمون نموده و در سطح وسیع پیشنهاد کرد.

تیمار ۱ میلی مولار این ترکیب اثر بیشتری نسبت به غلظت ۲ میلی مولار آن داشت. بنابراین، می توان این تنظیم کننده رشد و نمو گیاهی را در شرایط مزرعه نیز روی پارامترهای

#### منابع:

- Filippo, L., Moretti, A. and Lovat, A. (2002) Seed yield, yield components oil content and essential oil and composition of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascene* L. *Industrial Crop and Products* 15: 59-69.
- Gao, S. (2006) Silicon decreases transpiration rate and conductance from stomata of maize plants. *Journal of Plant Nutrition* 29:1637-1647.
- Ghoulam, C. and Fares, K. (2001) Effect of salinity on seed germination and early seedling growth of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Seed Science Technology* 29: 357-364.
- Hanan, E. (2007) Influence of salicylic acid on stress Tolerance during seed germination of *Triticum aestivum* and *Hordeum vulgare*. *Advances in Biology Research* 1: 40-48.
- Horvath, E., Szalai, G. and Janda, T. (2007) Induction of Abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. *Plant Growth Regulation* 26 :290-300.
- Hussein, M.M., Balbaa, L.K., Gaballah, M.S. (2007) Salicylic acid and salinity effects on growth of maize plant. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 3:321-328.
- Kaliemoorthy, S. and Rao, A. S. (1994) Effect of salinity on anthocyanin accumulation in the root of maize. *Indian Journal of Plant Physiology*. 37:169-170.
- Khan, M. A., Ahmad, M. Z., Hameed, A. (2006) Effect of sea salt and L-ascorbic acid on the seed germination of halophytes. *Journal of Arid Environments* 67:535-540.
- Koyro, H. W. (2006) Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of potential cash crop halophyte Plant *Agocoronopus*(L.). *Environmental and Experimental Botany* 56:136-149.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids, the pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
- Manchanda, G. and Garg, N. (2008) Salinity and its effects on the functional biology of legumes. *Acta Physiologiae Plantarum* 30: 595-618.
- Mita, S., Murano, N., Akaiko, M. and Nakamura, K. (1997) Mutants of *Arabidopsis thaliana* with pleiotropic effects on the expression of the gene for beta-amylase and on the accumulation of anthocyanin that are inducible by sugars. *Plant Journal* 11: 841-851.
- Murray, Y. (1994) Ca<sup>2+</sup> regulation of outward rectifying K<sup>+</sup> channel in the plasma membrane of tobacco cultured cells in suspension: a role of
- امیدیگی، ر. (۱۳۸۴) تولید و فرآوری گیاهان دارویی، جلد اول. مشهد. انتشارات آستان قدس رضوی.
- زینلی، ا.، سلطانی، ا.، گالشی، س. (۱۳۸۱) واکنش اجزای جوانه زنی بذر به تنش شوری در کلزا. مجله علوم کشاورزی ایران. ۳۲: ۱۳۷-۱۴۱.
- کافی، م.، نظامی، ح.، حسینی، و.، معصومی، ع. (۱۳۸۴). اثرات فیزیولوژیک تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلیکول بر جوانه زنی ژنوتیپ های عدس. مجله پژوهش های زراعی ایران ۳: ۶۹-۷۹.
- مظاهری تیرانی، م. و منوچهری کلانتری، خ. (۱۳۸۵) بررسی سه فاکتور سالیسیلیک اسید، تنش خشکی و اتیلن و اثر متقابل آنها بر جوانه زنی بذر کلزا (*Brassica napus* L) مجله زیست شناسی ایران ۹: ۴۰۸-۴۱۸.
- Amani, M., Sotudeh- Gharebagh, R., Mostaoufi, N., Kashani, H. (2005) Optimal extraction of glycyrrhetic acid from licorice root. *Journal of Technology* 3: 376-580.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochemistry* 72 : 248 254.
- Demiral, T. and Turkan, I. (2005) Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense system and proline content in roots of two *rice* cultivars differing in salt tolerance. *Environment Experimental Botany*. 53: 247-257.
- El-Tayeb, M. A. (2005) Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation* 45:215-225.
- 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.

- hormonal status of *wheat* seedlings induced by salicylic acid and salinity . *Plant Science* 164 : 317-322.
- Sultana, N. Ikeda, T. and Itoh, R. (1999 ) Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. *Environmental and Experimental Botany* 42: 211-220.
- Tari, B. (2009) Acclimation of tomato plants to salinity stress after a salicylic acid pretreatment. *Acta Biologica Szegediensis* 46: 55-56.
- Wagner, G. J. (1979) Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanins in protoplast. *Plant Physiology* 64: 88-93.
- Zhang, S., Weng, J., Pan, J., Tu, T., Yao, S. and Xu, C. (2003) Study on the photogeneration of superoxide radicals in Photosystem II with EPR spin trapping techniques. *Photosynthesis Research* 75:41-48.
- the K<sup>+</sup> channel in mitigation of salt-stress effects by external Ca<sup>+</sup>. *Plant Cell Physiology* 39: 1039-1044.
- Parasher, A. (1987) Effect of different levels of soil salinity on the chemical composition of wheat. *Plant Physiology and Biochemical India* 14:153-158.
- Parida, A. and Das, A. B. (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60: 324-349.
- Popova, L., Pancheva, T. and Uzunova, A. (1997) Salicylic acid properties biosynthesis and physiological role. *Plant Journal* 23:85-93.
- Ramanjulu, S., Veeranjanyulu, K. and Sudhakar, C. (1993) Pysiological changes induced by NaCl in mulberry var. Mysore local. *Indian Journal Plant Physiol* 36:273-275.
- Shakirova, F. M., Sakhabutdinova, A. R., Bozrutkova, M. V., Fatkhutdinova, R. A. and Fatkhutdinova, D. R. (2003) Changes in the

## The effects of salicylic acid on licorice seedlings (*Glycyrrhizaglabra L.*) under salt stress

Mehri Behnamnia\* and Akram Shenavai Zare

Department of Biology, Faculty of Sciences, Damghan University, Iran.

(Received: 16 May 2013; Accepted: 23 September 2013)

### Abstract:

Salinity is one of the limiting factors of growth and development of the plants having a negative effect on morphological and physiological processes in plants. In order to reduce these adverse effects, different compounds and regulators could be used. In this study, the effect of hormone salicylic acid (SA) at 3 levels (0, 1 and 2 mM) to relieve stress (NaCl soluble at concentrations of 0, 50, 100 and 200 mM) was investigated at germination stage. Seedling length, dry weight and biochemical parameters such as the content of photosynthetic pigment, protein and anthocyanins were assayed and then analyzed by SPSS software. Recent results showed that high salt concentrations significantly reduced the morphological characteristics. But, exogenous 1 mM SA, in salt stress increased the length and the weight. Biochemical parameters such as content of photosynthetic pigments, soluble proteins and anthocyanins were also reduced by stress and in the presence of SA, anthocyanin content increased significantly compared with control and stress conditions. The positive effect of salicylic acid on the inhibitory effect of lower salt concentration (1 mM) was more than concentration of 2 mM. Also most promotive effect was observed in 50 mMNaCl with 1 mM SA treatment. On the basis of our results, it seems that the use of low concentrations of salicylic acid reduced the harmful effects of salinity in plants.

**Key words:** Salicylic acid, Licorice, Salt stress

\* Corresponding Author: behnamnia@du.ac.ir