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 برروی 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) برتخفیف تنش شوری (محلول کلریدسدیم با غلظت‌های ۰ ، ۵۰ ، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار) در گیاه شیرین‌بیان در مرحله جوانه‌زنی مورد بررسی قرارگرفت. نتایج حاصل از اندازه‌گیری طول ، وزن‌تر و خشک گیاهچه و پارامترهای بیوشیمیایی نظیر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی ، 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 سالسیلیک در شرایط تنش، موجب افزایش طول و وزن گیاهچه گردید. پارامترهای بیوشیمیایی مانند محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی ، 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 (۱میلی مولار) نسبت به غلظت ۲ میلی‌مولار، بیشتر مشاهده گردید. همچنین بیشترین اثر مثبت در تیمار توام غلظت ۵۰ میلی مولار NaCl و ۱ میلی مولار 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: سالسیلیک اسید، شیرین بیان، تنش شوری.

مقدمه:

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، دخانیات و صنایع دیگر دارد. ماده‌ی مؤثره شیرین‌بیان اسید گلیسریزیک می‌باشد که حدود ۵۰ مرتبه ازقند شیرین‌تر بوده و میزان آن در گیاه حدود ۵ تا ۲۰ درصد می‌باشد. اسید گلیسریزیک 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

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی:behnamnia@du.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-23]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.5.6.8]

ترکیب فعالیت ضد ویرویسی و ضد التهابی دارد (امیدبیگی، 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 C7H603 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 (۱میلی مولار) 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 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. ازترکیبات 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 بذور 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 ضدعفونی‌شده 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 برگی از هر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-23]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.5.6.8]

تیمار، داخل فویل آلومینیومی قرار گرفتند و پس از قرارگرفتن 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 برگ‌های فریز شده در هاون چینی با ۵ میلی‌لیتر 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 موج‌های ۶۴۷ و ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. جهت تنظیم دستگاه، استن ۸۰٪ مورداستفاده قرار گرفت. غلظت رنگیزه با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه گردید.

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

در این فرمول Chla، Chlb، ChlT و Car به ترتیب غلظت کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئیدها (شامل کاروتن‌ها و گزانتوفیل‌ها) می‌باشد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی برحسب میلی‌گرم کلروفیل بر گرم وزن‌تر محاسبه و ارائه گردیدند.

از روش Wagner (۱۹۷۹) جهت اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین‌ها استفاده شد. ۰/۰۵ گرم از بافت برگی را در هاون چینی با ۵ میلی‌لیتر متانول اسیدی (متانول خالص و اسیدکلریدریک خالص به نسبت حجمی (۱:۹۹) کاملاً سائیده و عصاره حاصل در لوله‌های آزمایش سرپیچ‌دار به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. بعد از سانتریفیوژ عصاره به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه، جذب محلول بالایی در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه غلظت برحسب میکرومول ($A=\varepsilon bc$)، A : جذب خوانده شده b: عرض کوت c: غلظت محلول مورد نظر و ضریب خاموشی (ε) ۳۳۰۰۰ سانتی‌متر بر مول در نظر گرفته شد.

سنجش غلظت پروتئین با استفاده از روش Bradford (۱۹۷۹) انجام شد. برای استخراج پروتئین‌ها از برگ‌ها، ۰/۰۵ گرم از بافت‌تر در یک هاون چینی حاوی ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات با pH=۷/۵ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به طورکامل سائیده شده سپس به لوله سانتریفیوژ منتقل و پس‌از ۱۰ دقیقه سکون، به مدت ۲۵ دقیقه در 5000g سانتریفیوژ شدند. به لوله‌های آزمایش مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره پروتئینی محلول رویی و ۳ میلی‌لیتر 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 کوماسی‌بریلیانت‌بلو 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.

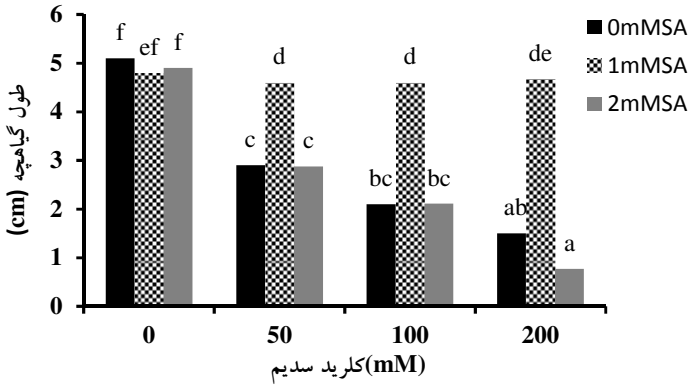
به منظور رسم منحنی استاندارد، غلظت‌های صفر، ۱، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر آلبومین گاوی ساخته شد. کلیه مراحل کار بر روی آنها مانند نمونه مجهول تکرار گردید. برای تعیین غلظت پروتئین‌های نمونه‌های مجهول از منحنی استاندارد حاصل استفاده گردید.

این تحقیق در قالب یک طرح کاملا تصادفی انجام و برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. هر پتری‌دیش به عنوان یک تکرار می‌باشد و در هر ظرف ۱۰ بذر قرار داده شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS version17 صورت گرفت. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن درسطح احتمال ۵ درصد انجام پذیرفت.

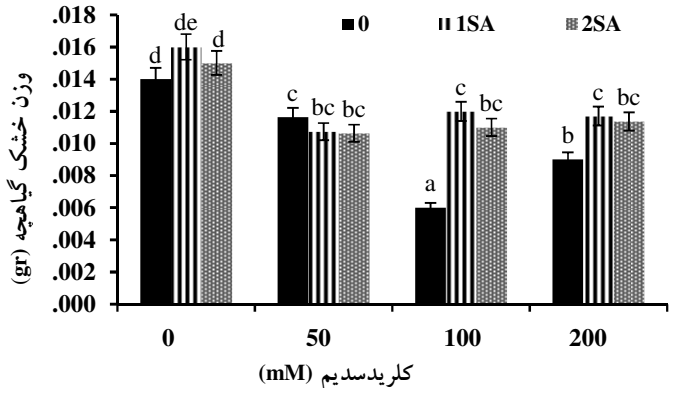
نتایج:

تغییرات طول گیاهچه: همان‌طور که در شکل ۱ نشان می‌دهد، افزایش غلظت کلریدسدیم، موجب کاهش معنی‌دار طول گیاهچه نسبت به شاهد گردید. در غلظت های مختلف کلریدسدیم (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌لیتر) کاربرد برون‌زای ۱ میلی‌مولار اسید سالسیلیک طول گیاهچه را به‌طور معنی‌داری نسبت به شرایط تنش شوری افزایش داد، اما در محلول ۲ میلی مولار SA تغییرات معنی‌دار

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-23]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.5.6.8]



شکل ۱- تاثیر تنش شوری (غلظت ۰،۵۰ ،۱۰۰ ، ۲۰۰ میلی‌مولار) و اسید سالسیلیک (غلظت ۰، ۱ و۲ میلی‌مولار) بر روی طول گیاهچه شیرین‌بیان: حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون دانکن می‌باشد.



شکل ۲- تأثیر تنش شوری (غلظت ۰،۵۰ ،۱۰۰ ، ۲۰۰ میلی‌مولار)و اسید سالسیلیک (غلظت ۰ ، ۱ و۲ میلی‌مولار) بر وزن خشک گیاهچه شیرین‌بیان: حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون دانکن می‌باشد.

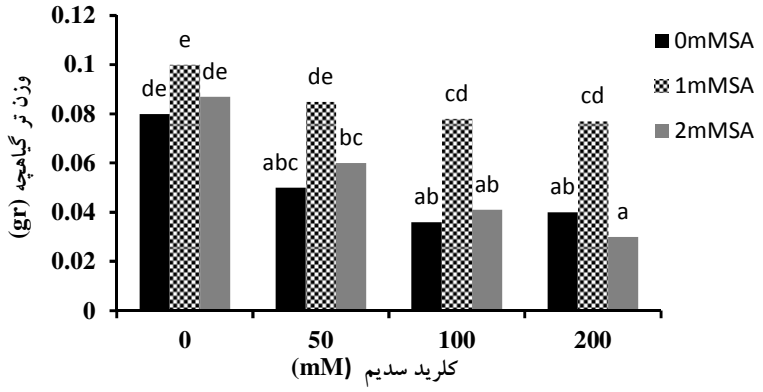
نگردید. بیشترین طول گیاهچه در تیمار ۱ میلی‌مولار اسید با میانگین ۵/۳۸ سانتی‌متر و کم‌ترین طول آن در غلظت ۲۰۰ میلی مولار NaCl با میانگین ۱/۰۲ سانتی‌متر مشاهده شد.

تغییرات وزن گیاهچه: کاهش وزن‌تر گیاهچه با افزایش غلظت کلریدسدیم باستثنا محلول mM ۲۰۰ هماهنگی داشت (شکل ۲). در تیمارهای توام mM SA ۱ باغلظت‌های مختلف کلریدسدیم، افزایش وزن‌تر گیاهچه معنی‌دار و در مقایسه با mM SA ۲ بیشتر بود. بیشترین وزن‌تر گیاهچه در تیمار ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با میانگین ۰/۰۹۷ گرم و کم‌ترین وزن‌تر در تیمار توام غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl و ۲ میلی‌مولار SA با میانگین ۰/۰۳۳ گرم سنجش شد.

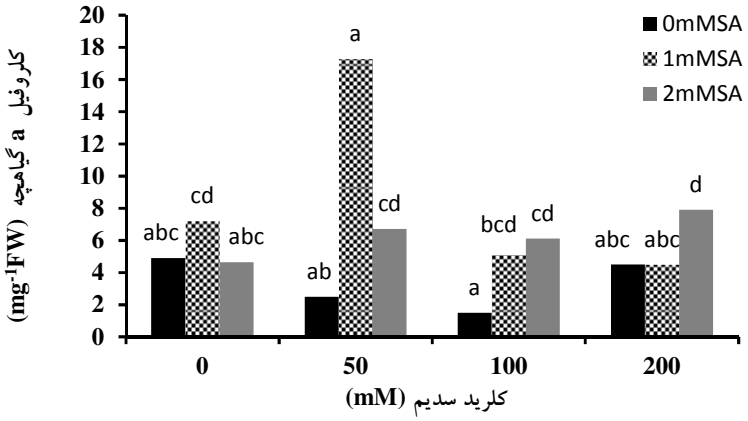
شکل ۳ نشان می‌دهد با افزایش غلظت کلریدسدیم، وزن خشک گیاهچه نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد (در سطح ۰/۰۵). اما در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار نسبت به غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار وزن خشک افزایش یافت. در حضور اسید سالیسیلیک ۱ میلی‌مولار در کلیه غلظت‌های کلریدسدیم، وزن خشک گیاهچه به‌طور معنی‌داری نسبت به شرایط تنش افزایش یافت. اما با افزودن اسید ۲ میلی‌مولار این افزایش معنی‌دار نشد (به استثنای mM NaCl ۵۰ و ۲mM SA) و همچنین در مقایسه با غلظت ۱ میلی‌مولار تأثیر کمتری داشت. بیشترین وزن خشک گیاهچه در تیمار ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با میانگین gr ۰/۰۱۶ و کمترین وزن خشک آن در غلظت

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-23]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.5.6.8]



شکل ۳- تأثیر تنش شوری (غلظت ۰،۵۰ ، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی‌مولار) و سالسیلیک اسید (غلظت ۰،۱ و۲ میلی مولار) بر وزن‌تر گیاهچه شیرین‌بیان: حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون دانکن می‌باشد.



شکل ۴ – تأثیر تنش شوری (غلظت ۰ ،۵۰ ، ۱۰۰ ، ۲۰۰ میلی‌مولار) و اسید سالسیلیک (غلظت ۰،۱ و ۲ میلی‌مولار) بر مقدار کلروفیلa گیاهچه شیرین‌بیان: حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون دانکن می‌باشد.

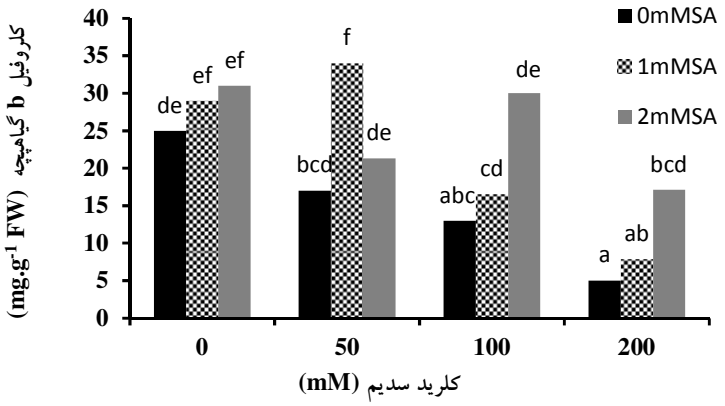
۱۰۰ میلی‌مولار NaCl با میانگین gr ۰/۰۱۲ اندازه‌گیری گردید.

تغییرات میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی: همان گونه که شکل ۴ نشان می‌دهد، مقدار کلروفیل a با افزایش شوری، به استثناء غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم کاهش یافت. بیشترین میزان کلروفیل a گیاهچه در تیمار ۱ میلی‌مولار اسید سالسیلیک توأم با شوری ۵۰ میلی‌مولار با میانگین ۱۸/۶۱ میلی‌گرم و کم‌ترین مقدار آن در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار NaCl با میانگین ۱/۸۲ میلی‌گرم مشاهده شد.

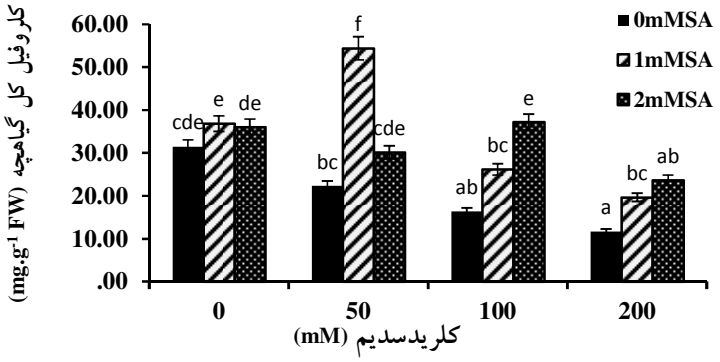
شکل ۵ بیان می‌کند که مقدار کلروفیل b با افزایش شوری، نسبت به شاهد کاهش یافت و کاهش در تیمار ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl معنی‌دار شد. کلروفیل b گیاهچه در تیمار ۱ میلی‌مولار اسید سالسیلیک توام با شوری ۵۰ میلی‌مولار با میانگین ۳۵/۱۶ میلی‌گرم بیشترین میزان و کم ترین مقدار آن در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl با میانگین ۷/۰۹ میلی‌گرم بود.

با توجه به شکل ۶، افزایش غلظت کلریدسدیم موجب کاهش معنی‌دار مقدار کلروفیل کل نسبت به شاهد (به استثنای تیمار ۵۰ میلی‌مولارNaCl) گردید. بیشترین میزان کلروفیل کل گیاهچه در تیمار توام ۱ میلی‌مولار اسید و شوری ۵۰ میلی‌مولار با میانگین ۲۲/۳۰ میلی‌گرم و کم ترین مقدار آن در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl با میانگین ۱۱/۶۹میلی‌گرم مشاهده شد. کاربرد برون‌زای غلظت‌های ۱

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-23]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.5.6.8]



شکل ۵- تأثیر تنش شوری (غلظت ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی‌مولار) و سالسیلیک اسید (غلظت ۰، ۱ و۲ میلی‌مولار) بر مقدار کلروفیل b گیاهچه شیرین‌بیان: حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون دانکن می‌باشد.



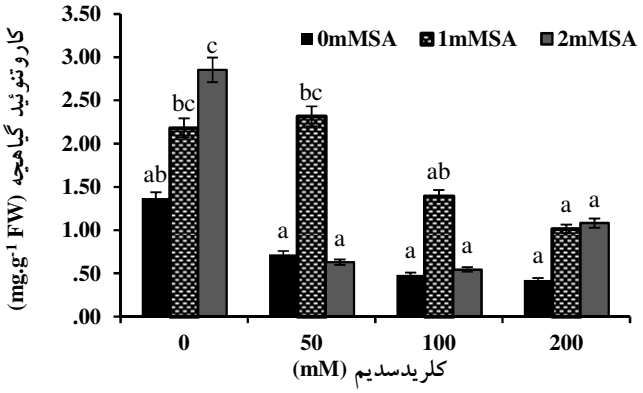
شکل ۶- تأثیر تنش شوری (غلظت ۰ ، ۵۰، ۲۰۰،۱۰۰ میلی‌مولار) و سالسیلیک اسید (غلظت ۰، ۱و ۲ میلی‌مولار) بر مقدار کلروفیل کل گیاهچه شیرین‌بیان: حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون دانکن می‌باشد.

و ۲ میلی مولار SA در تنش‌های مختلف شوری موجب افزایش معنی‌دار کلروفیل کل در مقایسه با شرایط تنش گردید.

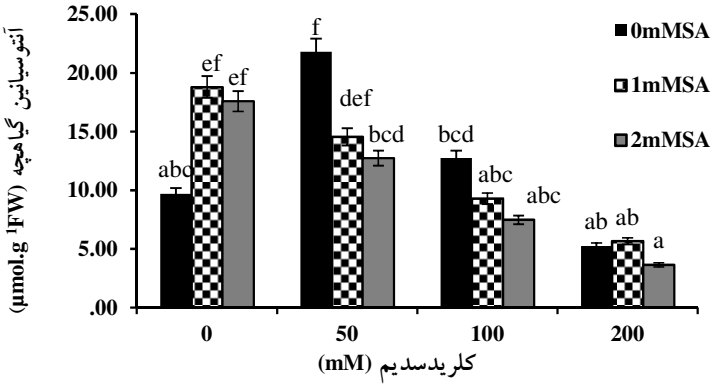
شکل ۷ نشان می‌دهد که کاهش محتوی رنگیزه‌های کاروتنوئیدی با افزایش شوری، نسبت به شاهد و بین غلظت‌های مختلف کلریدسدیم معنی‌دار نشد. در حضور اسید سالسیلیک ۱ میلی‌مولار، تفاوت کاروتنوئید بین تمامی تیمارها (به استثنای ۵۰ میلی‌مولارNaCl) در مقایسه با شاهد (در سطح ۰/۰۵) معنی‌دار نبود. تیمار اسید ۱ میلی‌مولار باعث افزایش معنی‌دار در میزان کاروتنوئیدها، در مقایسه با شاهد شد. بیشترین میزان کاروتنوئید در تیمار۲ میلی‌مولار اسید با میانگین ۲/۵۸ میلی‌گرم و کم ترین مقدار آن در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl با میانگین ۰/۴۲mg مشاهده شد.

تغییرات میزان آنتوسیانین: بر اساس نمودار ۸، مقدار آنتوسیانین در غلظت ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. اما افزایش مقدار آنتوسیانین در غلظت‌های ۲۰۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار در مقایسه با شاهد، معنی‌دار نبود. در تیمارهای اسید سالسیلیک، مقدار آنتوسیانین در مقایسه با نمونه شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بیشترین مقدار آنتوسیانین گیاهچه در تیمار ۵۰ میلی‌مولار NaCl با میانگین ۲۱/۸۲ nM و کم‌ترین مقدار آنتوسیانین آن در تیمار ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl و ۲

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-23]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.5.6.8]



شکل ۷- تأثیر تنش شوری (غلظت ۰ ،۵۰، ۱۰۰،۲۰۰ میلی مولار) و سالسیلیک اسید (غلظت ۰ ، ۱و۲ میلی‌مولار) بر مقدار کاروتنوئیدهای گیاهچه شیرین‌بیان: حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون دانکن می‌باشد.



شکل ۸- تأثیر تنش شوری (غلظت ۰ ،۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی‌مولار) و سالسیلیک اسید (غلظت ۰ ،۱ و۲ میلی‌مولار) بر مقدار آنتوسیانین اندام‌هوایی گیاهچه : حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون دانکن می‌باشد.

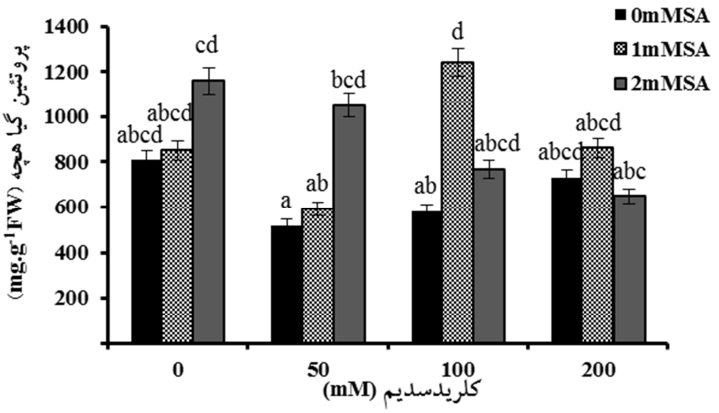
میلی‌مولار اسید با میانگین ۲/۱۲ nM مشاهده شد.

تغییرات مقدار پروتئین: نتایج نمودار ۹ نشان می‌دهد که اعمال تنش کلریدسدیم 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 میلی‌مولار 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 طول گیاهچه در شرایط تنش، کاهش یا عدم انتقال مواد غذایی از لپه ها به جنین می‌باشد. همچنین کاهش جذب آب بوسیله بذر در شرایط تنش موجب کاهش ترشح هورمونهایی ازجمله اسید جیبرلیک وفعالیت آنزیم‌ها و در نتیجه اختلال در رشد گیاهچه می‌شود (کافی و همکاران، ۱۳۸۴). کاهش طول ریشه در گیاه گوجه‌فرنگی (El-Tayeb, 2005) و چغندرقند (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 سالسیلیک اسید باعث افزایش طول ریشه چه در گیاه گندم

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-23]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.5.6.8]



شکل۹- تأثیر تنش شوری (غلظت ۰، ۵۰، ۱۰۰ ، ۲۰۰ میلی‌مولار) و سالسیلیک اسید (غلظت ۰ ،۱ و۲ میلی‌مولار) بر مقدار پروتئین اندام‌هوایی گیاهچه شیرین‌بیان: حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون دانکن می‌باشد.

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

وزن‌تر گیاهچه با اعمال شوری کاهش نشان داد (نمودار۲) که البته در غلظت ۲۰۰ mM نسبت به ۱۰۰ میلی‌مولار 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 باگزارش Ghoulam و Fares (۲۰۰۱) در مورد اثر تنش شوری در چغندرقند مطابقت دارد. در گزارش Hussein و همکاران (۲۰۰۷) آمده‌است که وزن خشک گیاهچه ذرت در پاسخ به شوری کاهش پیدا می کند.. براساس مشاهدات Shakirova و همکاران (۲۰۰۳) در مورد گندم، تیمار اسید سالیسیلیک مقدار هورمون‌های اسید 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 رنگیره‌های فتوسنتزی کاهش یافت (شکل ۴، ۵، ۶ و ۷). البته در تیمار ۲۰۰ میلی‌مولار نمک، مقدار کلروفیل و کاروتنوئیدها نسبت به غلظت‌های پایین‌تر افزایش یافته‌است. افزایش مقدار رنگیزه‌های 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 سالسیلیک قرار گرفتند، اثر مثبت SA بر روی مقدار رنگیزه‌های 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 رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاهان به

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-23]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.5.6.8]

دلیل بسته‌شدن روزنه‌ها وجلوگیری از بیوسنتر 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). مقدارکاروتنوئیدها 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 سالسیلیک منجر به افزایش مقدار کاروتنوئید می‌گردد. القای سنتز کاروتنوئید ها در شرایط تنش می‌تواند به دلیل نقش محافظتی آنها در تشکیلات فتوسنتزی باشد. زیرا این ا 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 (۵۰میلی مولار) مقدار پروتئین کاهش پیدا کرد. اما با افزایش غلظت نمک، 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 سالسیلیک با تأثیر بر تشکیل پروتئین‌های دفاعی، پروتئین کینازها و روبیسکو 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 سالسیلیک، 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، وزن‌تر 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 شیرین‌بیان در شرایط تنش شوری مشاهده شد و اینکه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-23]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.5.6.8]

تیمار ۱ میلی‌مولار این ترکیب اثر بیشتری نسبت به غلظت ۲ میلی‌مولار آن داشت. بنابراین، می‌توان این تنظیم‌کننده رشد و نمو گیاهی را در شرایط مزرعه نیز روی پارامترهای فیزیولوژیک و مورفولوژیک گیاهان آزمون نموده و در سطح وسیع پیشنهاد کرد.

منابع:

امیدبیگی، ر. (۱۳۸۴) تولید و فرآوری گیاهان دارویی، جلد اول. مشهد. انتشارات آستان قدس رضوی.

زینلی، ا.، سلطانی، ا.، گالشی، س. (۱۳۸۱) واکنش اجزای جوانه‌زنی 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 جوانه‌زنی ژنوتیپ‌های عدس. مجله پژوهش‌های زراعی ایران۳.: ۶۹– ۷۹.

مظاهری تیرانی، م. و منوچهری کلانتری، خ. (۱۳۸۵) بررسی سه فاکتور سالسیلیک اسید، تنش خشکی و اتیلن و اثر متقابل آنها بر جوانه‌زنی بذر کلزا (*Brassica napus* L) مجله زیست شناسی ایران ۹: ۴۰۸– ۴۱۸.

Amani, M., Sotudeh- Gharebagh, R., Mostaoufi, N., Kashani, H. (2005) Optimal exteraction of glycyrrhetinic 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 Experimantal 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.

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 Tecchnology 29: 357-364.

Hanan, E. (2007) Influence of salicylic acid on stress Tolerance during seed germination of *Triticumaestivum* 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.

Kaliamoorthy, 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 biologyof 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^{2+} regulation of outward rectifying K+ channel in the plasma membrane of tobacco cultured cells in suspension: a role of

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-23]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.5.6.8]

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^+ channel in mitigation of salt-stress effects by external Ca^+. 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., Veeranjaneyulu, 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

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-23]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.5.6.8]

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

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-05-23]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.5.6.8]