اثر تنش شوری بر برخی صفات رشدی و محتوای پرولین ریشه و برگ گیاه بادرنجبویه (Melissa officinalis L.) در شرایط کشت گلدانی

رقیه دهقانی[۱]، طیبه رجبیان[۱]، داریوش طالعی[۲] و عذرا صبورا[۳]

۱-گروه زیست شناسی، دانشکده علوم‌پایه، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۲- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۳- گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا (س)، تهران، ایران

Email:dehghani.physiology@gmail.com

The effects of salinity on growth parameters and prolin content of leaves and roots of *Melissa officinalis* in pot culture condition

R. Dehghani[1], T. Radjabian[1], D. Talei[2] and A. Saboora[3]

[1] Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahed University, Tehran, Iran
[2]Medicinal Plants Research Center. Shahed University, Tehran, Iran
[3]Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iranepartment of

اثر تنش شوری بر برخی صفات رشدی و محتوای پرولین ریشه و برگ گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) در شرایط کشت گلدانی

چکیده

تنش شوری به دلیل کاهش پتانسیل اسمزی محلول خاک (تنش اسمزی)، سمیت یونی و اختلال تغذیه ای در گیاه بعنوان یکی از مهمترین عوامل محدود کننده رشد و توسعه‌ی گیاهان محسوب می‌شود. بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) گیاهی از تیره نعناعیان (Lamiaceae) است که به دلیل داشتن روغن اسانسی و اسیدهای فنولی در گروه گیاهان داروئی دسته بندی می شود. هدف از اجرای این پژوهش بررسی اثرات تنش شوری بر برخی صفات رشدی و محتوای پرولین برگ و ریشه و شناسایی سازوکارهای احتمالی درگیر در ایجاد تحمل و مقاومت گیاه به تنش می‌باشد. برای این منظورآزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ سطح شوری (۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲ دسی زیمنس بر متر) و با ۳ تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش سطح شوری ارتفاع و وزن تر و خشک گیاهچه‌ها، طول و وزن تر و خشک ریشه‌ها، و همچنین طول و عرض و تعداد برگ‌ها کاهش یافت، اما محتوای پرولین برگ و ریشه با افزایش سطح شوری افزایش یافت. بیشترین محتوای پرولین در برگ و ریشه به ترتیب در سطوح شوری ۹ و ۶ دسی زیمنس بدست آمد. بیشترین کاهش پارامترهای رشدی در سطح شوری ۹ دسی زیمنس بر متر مشاهده شد، در حالی که تمامی گیاهچه‌ها در تیمار ۱۲ دسی زیمنس بر متر به دلیل عدم تحمل شوری و سمیت بالای آن از بین رفتند. یافته های این مطالعه نشان می‌دهد که کاهش پارامترهای رشدی و افزایش میزان پرولین سازوکاری برای تحمل و مقاومت گیاه به تنش شوری می باشد.

کلمات کلیدی: صفات رشدی، پرولین، بادرنجبویه، تنش شوری

مقدمه

تنش شوری یکی از عمده تنش های غیر زیستی و محیطی است که به دلیل کاهش پتانسیل اسمزی محلول خاک (تنش اسمزی)، سمیت یونی (تنش یونی)، اختلال تغذیه ای و تغییر ارتباط آبی در گیاه و یا ترکیبی از این عوامل بعنوان یکی از مهمترین عوامل محدود کننده رشد و توسعه ی گیاهان است. علائم پاسخ‌های دفاعی سلول ها در مقابله با تنش شوری منجر به تولید گونه‌های خطرناک اکسیژن (ROS) در آن‌ها می‌شود. در این شرایط گیاهان برای سازش با شرایط تنش با تولید مواد اسمزی سازگار، کنترل جذب یون‌ها توسط ریشه‌ها و انتقال آن ها به برگ‌ها، کدبندی سلولی یون‌ها، تغییر در مسیرهای فتوسنتزی، تغییر ساختار غشاها و القاء آنزیم‌های پاداکسیدان و هورمون‌ها تغییراتی را در متابولیسم خود ایجاد می کنند. تحمل به شوری، توانایی گیاهان برای تکمیل چرخه زندگی در غلظت‌های بالای نمک محلول می باشد. میزان تاثیر تنش شوری بر روی فرایندهای فیزیولوژیکی و رشدی گیاه به نوع و غلظت نمک، مرحله ی رشد و نمو، گونه گیاهی و مدت زمان قرار گرفتن در معرض تنش شوری بستگی دارد. مواد سازگار اسمزی سبب حفاظت گیاه در برابر آسیب یون‌های سمی، حفظ تعادل اسمزی، تداوم جذب آب و حفظ ساختارهای سلولی می‌شوند. این ترکیبات شامل: قندها، پلی‌ال‌ها، قندهای الکلی، یون ها و آمینواسیدهایی همچون پرولین و گلایسین-بتائین می‌باشند[۶]. انباشته شدن اسمولیت‌هایی مانند پرولین یک

سازوکار شناخته شده در برابر شرایط تنش شوری است و به عنوان یک معیار انتخاب برای گونه‌های متحمل به شوری پیشنهاد شده است. پرولین از گیاهان عالی در مقابل تنش اسمزی از طریق تنظیم فشار اسمزی و حفاظت از کمپلکس انتقال الکترون، غشا سلول، پروتئین‌ها و آنزیم‌هایی مانند روبیسکو، محافظت می‌کند[۳]. بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.)گیاهی چند ساله از تیره نعناعیان است. بادرنجبویه به دلیل دارا بودن روغن اسانسی و ترکیبات فنلی و خواص دارویی آن‌ها در گروه گیاهان داروئی دسته بندی می شود. اجزای اصلی روغن اسانسی گیاه بادرنجبویه را سیترونلال، سیترال و ژرانیال تشکیل می‌دهند. اسیدهای فنلی چون رزمارینیک اسید و همچنین فلاوونوئیدهایی مانند لوته‌ئولین، ایزوکوئرسیترین، اپی‌ژنین-۷-O-گلیکوزید، نیز در این گیاه شناسایی شده است. بادرنجبویه در طب سنتی به عنوان مقوی، پاداسپاسم، پادنفخ، معرق، آرام بخش، تقویت کننده ی حافظه، کاهش اثرات تنش میگرن، سوءهاضمه، اختلالات عصبی، بی‌خوابی استفاده می شود. از دیگر مصارف داروئی این گیاه تعدیل کننده ی بیماری آلزایمر نوع خفیف و متوسط، تحریک سیستم ایمنی بدن، درمان سرما خوردگی، اوریون، بی خوابی، آرام بخش خفیف و پادافسردگی است[۱۰]. هدف از این پژوهش بررسی اثر تنش شوری بر برخی صفات رشدی و محتوای پرولین برگ و ریشه گیاه بادرنجبویه و همچنین بررسی میزان تحمل گیاه به این تنش است.

مواد و روش ها

مواد گیاهی

بذرهای رسیده و سالم گیاه بادرنجبویه از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید.

روش ها

سترون کردن بذرهای بادرنجبویه و کشت آن‌ها

بذرهای سالم به مدت ۳ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۱۰٪ سترون شدند و پس از شستشو با آب مقطر سترون در پتری دیش های حاوی کاغذ صافی مرطوب قرار داده شدند و به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور و در دمای ۲۹ °C تا مرحله جوانه‌زنی نگهداری شدند.

کشت دانه رست‌ها و تیمار آن‌ها با غلظت‌های مختلف کلرورسدیم

دانه رست‌های حاصل از جوانه زنی بذرها به گلدان‌های حاوی ماسه شسته شده انتقال داده شدند. گلدان‌ها در محیط گلخانه با شرایط شدت نور ۴۰۰-۶۰۰ میکرومول بر متر بر ثانیه، رطوبت ۶/۵±۳۵/۹٪، دوره نوری ۸/۱۶ نور/تاریکی و دمای ۲۵ ±۲ °C نگهداری شدند. گیاهان تا مرحله ی ۴ برگی تنها با آب مقطر آبیاری شدند و بعد از این مرحله آن‌ها ابتدا با محلول هوگلند ۲۰٪ و سپس از هفته هشتم به بعد با هوگلند ۵۰٪ تغذیه شدند. پس از ۴ ماه رشد رویشی و تبدیل آن‌ها به مرحله ی گیاه کامل به مدت ۲۰ روز به صورت یک روز در میان با غلظت های مختلف کلرورسدیم (سطوح شوری ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲ دسی زیمنس/متر) بصورت طرح بلوک کامل تصادفی با ۳ تکرار تیمار شدند.

اندازه گیری صفات رشدی

از هر واحد آزمایشی تعداد ۲۵ گیاهچه بصورت تصادفی انتخاب و میانگین طول و عرض برگ ها، تعداد برگ و طول اندام‌های هوایی و ریشه‌ها قبل از تیمار و بعد از تیمار اندازه گیری شدند. تعداد ۹ گیاهچه از هر واحد آزمایشی

بصورت تصادفی انتخاب شدند و وزن تر ریشه و اندام های هوایی آن‌ها اندازه گیری شد. وزن خشک نمونه‌ها در آون در دمای °C ۱۰۵ بعد از مدت ۲۴ ساعت اندازه‌گیری شد.

سنجش محتوای پرولین برگ و ریشه

محتوای پرولین نمونه‌ها به روش Bate و همکاران [۵] سنجش شد و بر حسب میکروگرم بر گرم وزن تر در نمونه ها محاسبه گردید.

نتایج و بحث

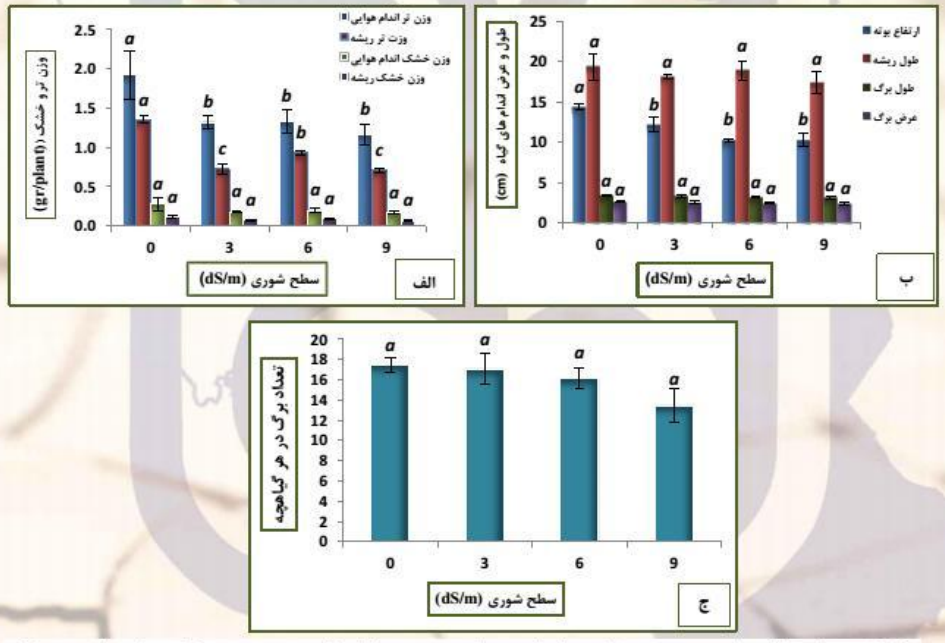
صفات رشدی

در پژوهش حاضر تجزیه واریانس دو طرفه نشان داد، افزایش سطح شوری سبب کاهش معنی‌داری در طول گیاهچه‌ها می‌شود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که کمترین و بیشترین کاهش طول گیاهچه‌ها بترتیب در سطوح شوری ۳ و ۹ دسی زیمنس بر متر به میزان ۱۵/۳۵٪ و ۲۸/۶۳٪ نسبت به شاهد مشاهده شد. طول ریشه، تعداد برگ و طول و عرض برگ در همه تیمارهای شوری کاهش یافت و بیشترین کاهش نسبت به شاهد در سطح شوری ۹ دسی زیمنس برمتر به ترتیب به میزان ۱۰/۰۲٪، ۲۲/۹۰٪، ۸/۹۱٪ و ۷/۶۱٪ مشاهده شد، اما این کاهش معنی دار نبود (شکل-۱). تنش شوری رشد گیاه و بهره‌وری گیاه را با تاثیر بر صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی و فرآیندها و عملکردها کاهش می‌دهد. کاهش ارتفاع گیاه و دیگر صفات رشدی گیاه اولین اثرات آشکار تنش شوری بر گیاهان تحت تنش می باشد. کاهش و بروز اختلال در رشد در سطوح شوری زیاد در گیاهان تحت تنش شوری را می‌توان به چند عامل مانند تنش آب، سمیت یونی، عدم تعادل جذب یون‌ها و کمبود مواد غذایی می‌توان نسبت داد [۱۲]. در پژوهش حاضر وزن تر و خشک گیاهچه‌ها و وزن تر و خشک ریشه‌ها با افزایش سطح شوری کاهش یافت و بیشترین کاهش نسبت به شاهد در سطح شوری ۹ دسی زیمنس بر متر و به ترتیب به میزان ۳۹/۴۴٪، ۳۹/۵۳٪، ۴۷/۲۹٪ و ۶۶/۴۱٪ مشاهده شد (شکل-۱). مطالعاتی که توسط Mousavi و همکاران [۱۱] بر روی *Thymus kotschyanus* L. صورت گرفت نشان داد، طول گیاهچه‌ها و وزن خشک آن‌ها با افزایش سطح شوری کاهش قابل ملاحظه ای می‌یابد. همچنین مشابه با نتایج حاضر، Khorasaninejad و همکاران [۸] گزارش دادند که با افزایش سطح شوری پارامترهای رشدی (طول گیاهچه، طول ریشه، وزن تر و خشک گیاهچه و ریشه) *Mentha piperita* L. کاهش می یابد. مطابق با نتایج حاصل از Balal [۴] نتایج پژوهش حاضر نیز نشان داد وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی تحت شرایط تنش شوری کاهش می یابد. علت توقف رشد را می توان به کاهش طویل شدن سلول و تقسیم سلولی که تحت کنترل اکسین و سنتز آن توسط شوری کاهش می یابد، نسبت داد. اگرچه ارتفاع گیاه به صورت ژنتیکی کنترل می شود، اما عوامل محیطی در بیان ژن اثر زیادی دارند[۴].

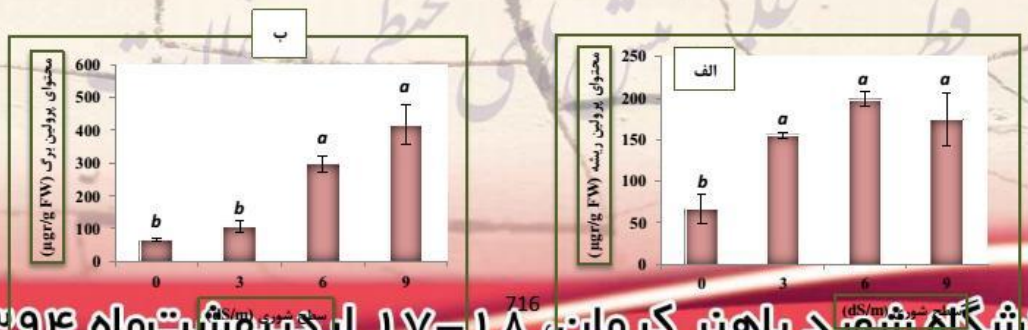
پرولین

یکی از سازوکارهای مهم و یک پاسخ دفاعی اولیه در گیاهان تحت تیمار تنش شوری انباشت ترکیبات سازگار مانند پرولین برای حفظ فشار اسمزی سلول است. گزارش‌ها نقش مهم پرولین در تنظیم اسمزی، حفاظت از ساختار سلول و عملکرد آن در ارقام متحمل به شوری و حساس را نشان داده اند. انباشت پرولین یک شاخص فیزیولوژیکی مهم برای پاسخ گیاه به تنش شوری است[۱]. در پژوهش حاضر با افزایش سطح شوری (۹ دسی زیمنس بر متر) میزان پرولین برگ (۱۱/۷۱±۶۶/۶۴ میکروگرم بر گرم وزن تر) و ریشه (۱۰۶/۵۷±۴۱۵/۷۹ میکروگرم بر گرم وزن

تر) به طورمعنی‌داری افزایش یافت. محتوای پرولین ریشه در همه‌ی سطح شوری افزایش یافت و بیشترین افزایش مقدار پرولین در ریشه نسبت به شاهد در سطح شوری ۶ دسی زیمنس به میزان ۱۷۳/۵۰میکروگرم بر گرم وزن تر مشاهده شد (شکل-۲). مطالعات Kiarostami و همکاران [۹] بر روی گیاه *Rosmarinus officinalis* نشان داد که مقدار محتوای پرولین در این گیاه با افزایش سطح شوری افزایش می‌یابد. مطابق با نتایج مطالعه حاضر، Amuthavalli و همکاران[۲] گزارش داده‌اند که محتوای پرولین در اندام هوایی نوعی نخود تحت شرایط تنش شوری نسبت به شاهد ۳/۵-۳ برابر افزایش یافت. انباشت پرولین ممکن است به دلیل افزایش پروتئولیز یا کاهش سنتز پروتئین باشد. پرولین می تواند سبب حفظ آنزیم‌ها و افزایش ثبات غشا و محافظت از آسیب رادیکال‌های آزاد اکسیژن تحت شرایط تنش شود [۲]. انباشت پرولین و نقش سازگاری آن تنها وقتی که رشد مهار می شود صورت می‌گیرد[۷].



شکل ۸: تغییرات پارامترهای رشدی تحت تاثیر تیمارهای مختلف شوری پس از اعمال تنش شوری در گیاهچه‌های بادرنجبویه، الف: وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه‌ها، ب: طول و عرض اندام های مختلف گیاهچه‌ها و ج: میانگین تعداد برگ در هر گیاهچه .



شکل ۹: تغییرات میزان محتوای پرولین برگ (الف) و ریشه (ب) گیاهچه‌های بادرنجبویه تحت تاثیر تیمارهای مختلف شوری.

نتیجه گیری

با افزایش سطح شوری پارامترهای رشدی گیاه بادرنجبویه کاهش یافت. در حالی که میزان محتوای پرولین برگ و ریشه گیاه با افزایش سطح شوری افزایش یافت که این سازوکارهای دفاعی گیاه برای افزایش تحمل و مقاومت خود به شرایط تنش شوری می باشد. با توجه به مکانیسم های دفاعی گیاه بادرنجبویه در برابر تنش شوری این گیاه نیمه متحمل به شوری است.

References

1- Akça, Y. and Samsunlu, E. 2012. The effect of salt stress on growth, chlorophyll content, proline and nutrient accumulation, and k/Na ratio in walnut . Pak. J. Bot, 44(5), 1513-1520.
2- Amuthavalli, P. and Sivasankaramoorthy, S. 2012. Effect of salt stress on the growth and photosynthetic pigments of pigeon pea (Cajanus cajan). Journal of Applied Pharmaceutical Science, 2 (11), 131-133.
3- Ashraf, M. and Foolad, M.R. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany, 59, 206-216.
4- Balal, R. M. Yasin Ashraf, M. Khan, M. Jaskani, M. Ashfaq, M. 2011. Influence of salt stress on growth and biochemical parameters of citrus rootstocks. Pakistan Journal of Botany, 43, 2135-2141..
5- Bates, L.S. Waldren, R.P. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free prolin for water-stress studies. Plant Soil, 39, 205-207..
6- Chutipaijit, S. Cha-um, S. and Sompornpailin, K. 2011. High contents of proline and anthocyanin increase protective response to salinity in Oryza sativa L. spp. Indica. Ajcs, 5(10), 1191-1198.
7- Datta, J. K. Nag, S. Banerjee, A. and Mondai, N. K. 2009. Impact of salt stress on five varieties of Wheat (Triticum aestivum L.) cultivars under laboratory condition. Journal of Applied Sciences and Environmental Management, 13(3).
8- Khorasaninejad, S. Mousavi, A. Soltanloo, H. Hemmati, Kh. and Khalighi, A. 2011. The effect of salinity stress on growth parameters, essential oil yield and constituent of peppermint (Mentha piperita L.). World Applied Sciences Journal, 11 (11), 1403-1407.
9- Kiarostami, K. Mohseni, R. and Saboora, A. 2010. Biochemical changes of Rosmarinus officinalis under salt stress. Journal of Stress Physiology & Biochemistry, 6(3), 114-122.
10- Moradkhani, H. Sargsyan, E. Bibak, H. Naseri, B. Sadat-Hosseini, M. Fayazi-Barjin, A. Meftahizade, H. 2010. Melissa officinalis L., a valuable medicine plant: A review. Journal of Medicinal Plants Research, 4 (25), 2753-2759.

11- Mousavi, R. Ardakani, M.R. Mirza, M. Vazan, S. Paknejad, F. 2014. Nutrient uptake and physiological parameters in early growth Stages of Thymus kotschyanus L. under saline conditions. International Journal of Biosciences, 5, 153-161.
12- Muhammad, Z. and Hussain, F. 2010. Vegetative growth performance of five medicinal plants under NaCl salt stress. Pak. j. bot, 42(1), 303-316.

The effects of salinity on growth parameters and prolin content of leaves and roots of *Melissa officinalis* in pot culture condition

Abstract:

Salinity is an environmental crisis around the world is due to the reduction of the osmotic potential of the soil solution (osmotic stress), the toxicity of ionic stress (ionic) and eating disorders in the plant, or a combination of these factors is considered as one of the main limiting factor is the growth and development of plants. *Melissa officinalis* L. is a perennial herb of the Lamiaceae family which due to its essential oil content of phenolic acids is classified as a medicinal plant. The purpose of this research was to survey the effects of salinity on plant growth traits and proline content in the leaves and roots of *M. officinalis* L. plants under different salinity levels and to identify possible mechanisms involved in the plant stress tolerance and resistance. This experiment was conducted by applying a randomized complete block design with 5 levels of salinity (0, 3, 6, 9, and 12 dS/m) and 3 replications were done. The results showed that with increasing the levels of salinity, plant height, root length, width and height, number of the leaves and fresh and dry weights of roots was reduced. Also, proline content of the leaves and roots increased with increasing salinity levels. The highest contents of proline in leaves and roots were obtained at 6 and 9 dS/m, respectively. The highest reduction in different growth indices of treated plants was detected at 9 dS/m. However due to the salt toxicity, all the plants subjected to 12 dS/m salinity were died. Levels of salinity on plant height and proline content in leaves and roots showed a significant impact. The findings of this research suggest that the reduction in growth parameters and increase in proline content were the main mechanisms which improved tolerance and resistance of *M. officinalis* plants against salinity stress.

Keywords: Growth parameters, Proline, Melissa officinalis, Salinity stress