تأثیر تنش شوری بر واکنش جوانه‌زنی گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.)

فاطمه شکارلو[۱]، نادعلی باقری[۲]، نادعلی بابائیان جلودار[۳] و اسماعیل بخشنده [۴*]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

[۲]استادیار گروه بیوتکنولوژی و اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

[۳]استاد گروه بیوتکنولوژی و اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

[۴*]استادیار پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

*نویسنده مسئول: e.bakhshandeh@sanru.ac.ir

چکیده

بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) در دنیا به‌عنوان یک گیاه دارویی با ارزش شناخته می‌شود. تنش شوری بعد از تنش خشکی از جمله مهم‌ترین تنش‌ها بوده که رشد و تولید گیاه را محدود می‌کند. بنابراین، این مطالعه با هدف بررسی اثر تنش شوری حاصل از NaCl (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ میلی‌مولار) بر پارامترهای جوانه‌زنی گیاه دارویی بادرنجبویه در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال ۱۳۹۵ انجام شد. نتایج نشان داد که تنش شوری بر تمامی صفات مورد مطالعه تأثیر معنی‌داری داشت. به‌طوری‌که، افزایش غلظت شوری از صفر تا ۲۰۰ میلی‌مولار موجب کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی به‌ترتیب ۹۳ و ۶۳ درصد و افزایش زمان تا شروع و پایان جوانه‌زنی به ترتیب ۳/۲ و ۱/۸ برابر نسبت به شرایط شاهد شد. آستانه‌ی تحمل به شوری این گیاه در مرحله جوانه‌زنی ۶۹/۵۹ میلی‌مولار برآورد گردید. همچنین، به ازای هر واحد افزایش در غلظت NaCl، سرعت جوانه‌زنی به طور خطی و با سرعتی معادل ۰/۰۰۰۵ عدد در ساعت کاهش و زمان تا شروع و پایان حداکثر جوانه‌زنی به‌ترتیب با سرعتی معادل ۰/۳۸ و ۰/۶۱ ساعت افزایش یافتند. در مجموع، از یافته‌های این مطالعه به خوبی می‌توان در مدل‌های شبیه‌سازی جوانه‌زنی گیاه بادرنجبویه به ویژه در شرایط تنش شوری استفاده نمود.

***کلمات کلیدی*: آستانه‌ی تحمل جوانه‌زنی، گیاه دارویی، تنش شوری.**

مقدمه

بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) گیاهی دارویی و چندساله از تیره‌ی نعناعیان (*Lamiaceae*) می‌باشد (Rahimi *et al.*, 2016). این گیاه در طب سنتی به‌عنوان ضداسپاسم، ضدنفخ، خواب‌آور، آرام‌بخش و تقویت‌کننده حافظه مورد استفاده قرار می‌گیرد (Shakeri *et al.*, 2016). بادرنجبویه بومی اروپا، شرق مدیترانه و غرب آسیا بوده (Moradkhani *et al.*, 2010) و در ایران در برخی مناطق مانند تهران، رودبار، کرج، قزوین، گرگان و آذربایجان کشت می‌گردد. این گیاه دارای اسانس روغنی فرّار و منبع غنی سیترال محسوب می‌شود که در صنعت عطرسازی کاربرد دارد (Atashi *et al.*, 2013). شوری پس از خشکی از مهم‌ترین و متداول‌ترین تنش‌های محیطی در جهان و از جمله ایران می‌باشد. به‌طورکلی، رشد گیاهان در شرایط تنش شوری، به علت اثر سمیّت یون‌ها بر جذب مواد غذایی و فعالیت آنزیم‌ها و یا از طریق تجمع املاح در خاک و کاهش پتانسیل اسمزی کاهش می‌یابد (Gholami *et al.*, 2012). محققین گزارش کردند که رشد رویشی و زایشی گیاه بادرنجبویه تحت تأثیر تنش شوری قرار گرفته و منجر به کاهش وزن خشک و عملکرد گیاه شده‌است (Archangi *et al.*, 2012). شوری از عوامل مهم ناتوانی بذر در مرحله جوانه‌زنی می‌باشد که از طریق کاهش سرعت و درصد جوانه‌زنی، تراکم نهایی گیاه در مزرعه را کاهش و استقرار

گیاهچه را به تأخیر می‌اندازد (Danesh *et al*., 2013). کاهش جوانه‌زنی بذر در این شرایط را می‌توان به افزایش فشار اسمزی، کاهش جذب آب توسط بذر، کاهش فعالیت‌های هورمونی یا آنزیمی مرتبط با فرآیند جوانه‌زنی (مانند فسفاتاز)، اختلال در حرکت ذخایر بذر و یا تأثیرگذاری بر ساختار اولیه‌ی اندام‌ها و سنتز پروتئین‌ها در جنین در حال رشد نسبت داد (Javadi *et al*., 2013 ،Nasri *et al*., 2016). محققین بیان داشتند که درصد و سرعت جوانه‌زنی بادرنجبویه تحت تنش شوری کاهش یافته به طوری‌که بالاترین درصد و سرعت جوانه‌زنی در غلظت صفر (شاهد) به‌ترتیب ۸۵ درصد و ۱۲ عدد در روز و کم‌ترین آن در ۱۶- بار به‌ترتیب ۶۳ درصد و ۵ عدد در روز مشاهده شد، اما آن‌ها از روش‌های ریاضی برای توصیف بهتر تأثیر شوری بر جوانه‌زنی این گیاه استفاده نکردند Danesh *et al*., (2013). بنابراین، هدف این مطالعه بررسی سطوح مختلف شوری حاصل از NaCl بر صفات جوانه‌زنی گیاه دارویی بادرنجبویه، کمّی‌سازی این صفات و تعیین آستانه تحمل جوانه‌زنی این گیاه بود.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر تنش شوری بر صفات جوانه‌زنی گیاه دارویی بادرنجبویه، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال ۱۳۹۵ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل ۵ سطح شوری حاصل از NaCl شامل صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار بود. تیمارها از طریق آب مورد استفاده برای جوانه‌زنی بذرها اعمال شدند. هر واحد آزمایشی شامل یک پتری‌دیش بود که تعداد ۵۰ عدد بذر در آن و بر روی کاغذ صافی واتمن شماره ۱ قرار گرفت. برای ضدعفونی، قبل از شروع آزمایش بذرها سه مرتبه در الکل ۷۰ درصد قرار گرفته (هر بار به مدت ۲۰ ثانیه) و سپس با آب مقطر شستشو شده و در نهایت بذرها در محلول هیپوکلریت‌سدیم ۲۰ درصد به مدت هفت دقیقه قرار گرفته و سپس چهار بار با آب مقطر شستشو شدند. پس از اعمال تیمارها، پتری‌دیش‌ها در اتاقک رشد و در دمای بهینه جوانه‌زنی (۱±۲۸ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند (Atashi *et al*., 2013). شمارش بذور جوانه‌زده چندین نوبت در طول روز و در ساعتی معین انجام شد (وابسته به‌شدت تنش شوری). به هنگام شمارش بذوری جوانه‌زده تلقی می‌شوند که طول ریشه‌چه آن‌ها ۲ میلی‌متر یا بیشتر بود. شمارش تا هنگامی‌که سه روز متوالی افزایشی در تعداد بذور جوانه‌زده مشاهده نشد، ادامه یافت. در طول آزمایش در صورت نیاز آب مقطر به پتری‌دیش‌ها اضافه شد. برای محاسبه‌ی درصد و سرعت جوانه‌زنی بذور از برنامه Germin استفاده گردید (Soltani and Madah, 2010). این برنامه D_{10} (مدت‌زمانی که طول می‌کشد تا جوانه‌زنی به ۱۰ درصد حداکثر خود برسد) و D_{90} (مدت‌زمانی که طول می‌کشد تا جوانه‌زنی به ۹۰ درصد حداکثر خود برسد) را برای هر تکرار و از طریق درون‌یابی منحنی افزایش جوانه‌زنی در مقابل زمان محاسبه می‌کند. سرعت جوانه‌زنی از طریق رابطه ($R_{50}=1/D_{50}$) برآورد شد. برای تعیین آستانه‌ی تحمل جوانه‌زنی به تنش شوری از رابطه به شکل زیر استفاده گردید (Ghaderi-Far *et al*., 2012):

$$G\%=G_{max}/(1+(x/x_{50})^b) \quad \text{(رابطه ۱)}$$

که در آن G؛ درصد جوانه‌زنی، G_{max}؛ حداکثر درصد جوانه‌زنی، x_{50}؛ آستانه‌ی تحمل به شوری و یا مقدار تنش شوری موردنیاز که از رسیدن به ۵۰ درصد حداکثر جوانه‌زنی جلوگیری می‌کند، b؛ نشان‌دهنده‌ی شیب منحنی در x_{50} و x سطوح شوری به کاربرده شده می‌باشند. در نهایت، تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۴ و ترسیم شکل‌ها به کمک نرم‌افزار سیگماپلات نسخه ۱۰ انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های آزمایشی نشان داد که تنش شوری بر کلیه‌ی صفات مورد بررسی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

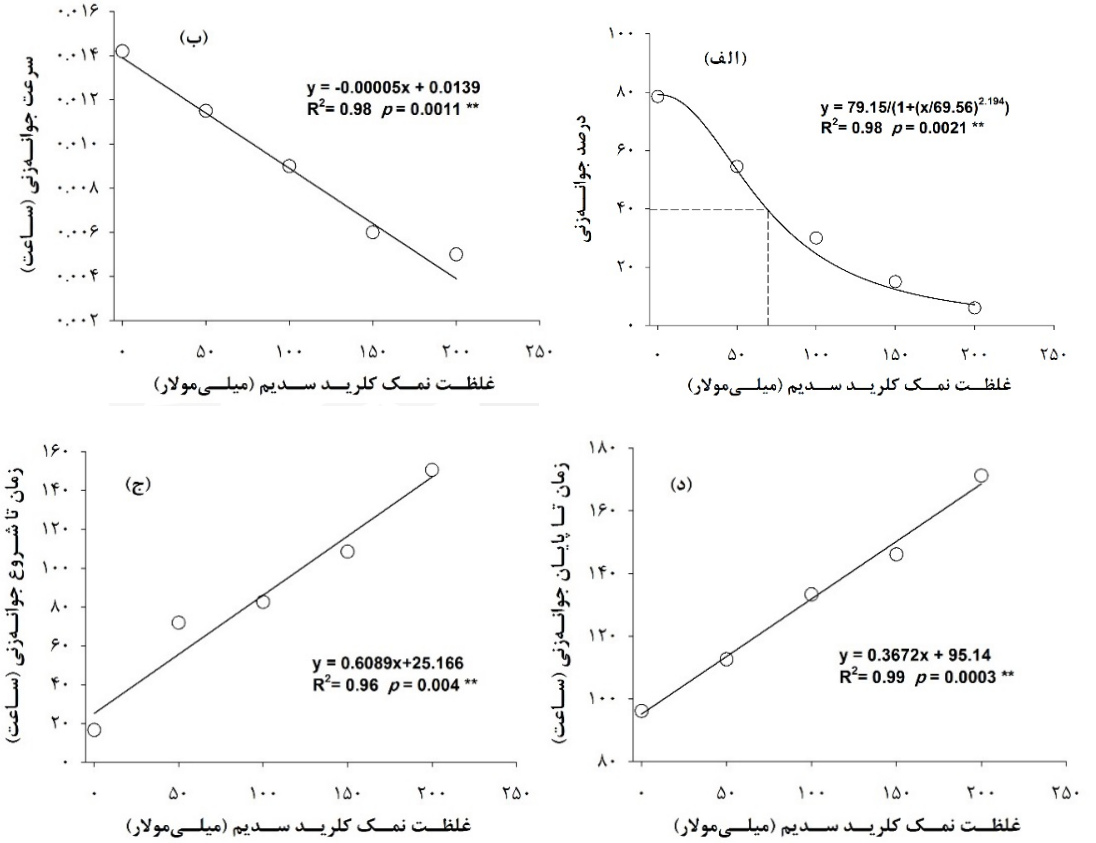
جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) و مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه تحت تأثیر سطوح مختلف شوری در گیاه دارویی بادرنجبویه.

منبع تغییر	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی (ساعت)	زمان تا شروع جوانه‌زنی (ساعت)	زمان تا پایان جوانه‌زنی (ساعت)
تنش شوری	۴	۱۴۱۸۰/۳ **	۰/۰۰۰۲۱ **	۲۱۰۱۷/۲ **	۱۱۷۰۳/۵ **
سطوح شوری					
صفر		۷۸/۵۰ ^{a}	۰/۰۱۴۲ ^{a}	۴۶/۶۶ ^{a}	۹۶/۱۴ ^{a}
۵۰		۵۴/۵۰ ^{b}	۰/۰۱۱۵ ^{b}	۷۱/۹۱ ^{b}	۱۱۲/۶ ^{a}
۱۰۰		۳۵/۷۵ ^{c}	۰/۰۰۹۹ ^{b}	۸۲/۶۳ ^{b}	۱۳۳/۳ ^{b}
۱۵۰		۱۳/۷۵ ^{d}	۰/۰۰۶۵ ^{c}	۱۰۸/۵ ^{c}	۱۴۶/۱ ^{b}
۲۰۰		۵/۷۵۰ ^{d}	۰/۰۰۵۲ ^{c}	۱۵۰/۶ ^{d}	۱۷۱/۲ ^{c}

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD).

افزایش تنش شوری از صفر تا ۲۰۰ میلی‌مولار موجب کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی بادرنجبویه به‌ترتیب ۹۳ و ۶۳ درصد نسبت به شاهد (بدون تنش) شد (جدول ۱). همچنین، درصد جوانه‌زنی نسبت به‌سرعت جوانه‌زنی بیشتر تحت تأثیر تنش شوری قرار گرفت. به طور مشابه، در آزمایشی دیگر افزایش تنش شوری جوانه‌زنی گیاه زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) را کاهش داد (Roodbari *et al*., 2013). در گیاه کنجد (*Sesamum indicum* L.) رقم داراب ۱۴، افزایش شوری از صفر تا ۱۲دسی‌زیمنس بر متر درصد و سرعت جوانه‌زنی را به‌ترتیب ۲۳ و ۵۴ درصد نسبت به شاهد کاهش داد. بین تیمارهای شوری صفر تا ۹ دسی‌زیمنس بر متر نیز از لحاظ صفات زمان تا شروع و پایان جوانه‌زنی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت اما غلظت‌های بالاتر شوری موجب افزایش معنی‌دار این صفات شد (Bakhshandeh and Ghadirian. 2010). در کلزا (*Brassica napus* L.) کاهش درصد جوانه‌زنی با افزایش تنش شوری مشاهده گردید (Valdiani *et al*., 2005). همچنین، در گیاه دارویی خرفه (*Portulaca oleracea* L.) با افزایش سطح شوری میزان جوانه‌زنی کاهش یافته و کمترین مقدار آن در زمان کاربرد ۲۰۰ میلی‌مولار نمک (NaCl) مشاهده شد (Rahdari *et al*.,2011). در سورگوم علوفه‌ای و ارزن مرواریدی تنش شوری بالاتر از ۱۳/۲ دسی‌زیمنس بر متر باعث کاهش سرعت جوانه‌زنی نسبت به شاهد گردید .به‌طوری‌که، درصد جوانه‌زنی بیشتر از سرعت جوانه‌زنی تحت تأثیر شوری قرار گرفت (Khalesroo *et al*., 2006). کاهش جوانه‌زنی بذر در محیط‌های شور را می‌توان به افزایش فشار اسمزی، اختلال در جذب آب، فعالیت آنزیم‌ها، حرکت ذخایر بذر و یا آسیب مستقیم اندام‌های اولیه و سنتز پروتئین در جنین نسبت داد (Javadi *et al*., 2013). بر اساس نتایج مطالعه حاضر با افزایش تنش شوری از صفر تا ۲۰۰ میلی‌مولار، زمان تا شروع و زمان تا پایان حداکثر جوانه‌زنی به‌ترتیب ۳/۲ و ۱/۸ برابر نسبت به شرایط شاهد افزایش یافت که نشان‌دهنده‌ی تأثیر بیشتر تنش شوری بر صفت زمان تا شروع حداکثر جوانه‌زنی می‌باشد (جدول ۱). با کم‌شدن سرعت جوانه‌زنی، زمان تا شروع و زمان تا پایان جوانه‌زنی بیشتر می‌گردد که این خود یکی از عوامل غیریکنواختی در جوانه‌زنی بذور و استقرار نامناسب گیاهان زراعی به‌ویژه در شرایط تنش می‌باشد. برای کمّی سازی رابطه‌ی بین درصد جوانه‌زنی در مقابل افزایش سطوح شوری و تعیین آستانه‌ی تحمل جوانه‌زنی بادرنجبویه از یک معادله‌ی سیگموئیدی (رابطه ۱) استفاده گردید (شکل۱). حداکثر درصد جوانه‌زنی (۷۹/۱۵ درصد) در غلظت شاهد (بدون تنش شوری) مشاهده شد. با افزایش تنش شوری درصد جوانه‌زنی کاهش یافت به‌طوری‌که در غلظت

۲۰۰ میلی‌مولار به کم‌ترین مقدار خود (حدود صفر) رسید. بر اساس ضرایب معادله آستانه‌ی تحمل به شوری بادرنجبویه در مرحله جوانه‌زنی ۶۹/۵۶ میلی‌مولار تخمین زده‌شد. علاوه بر این، جهت کمّی‌سازی تغییرات سرعت جوانه‌زنی، زمان تا شروع و زمان تا پایان حداکثر جوانه‌زنی نیز از یک معادله ساده خطی ($y=a+bx$) استفاده گردید. نتایج حاکی از آن بود که به ازای هر واحد افزایش در غلظت NaCl، سرعت جوانه‌زنی با سرعتی معادل ۰/۰۰۰۰۵ عدد در ساعت کاهش و زمان تا شروع و پایان حداکثر جوانه‌زنی به‌ترتیب با سرعتی معادل ۰/۳۸ و ۰/۶۱ ساعت افزایش یافت (شکل ۱).



شکل ۱- روند تغییرات حداکثر درصد جوانه‌زنی تحت تأثیر سطوح مختلف شوری و تعیین آستانه تحمل جوانه‌زنی (الف)، روند تغییرات سرعت جوانه‌زنی (ب)، زمان تا شروع (ج) و زمان تا پایان حداکثر جوانه‌زنی (د) تحت تأثیر سطوح مختلف شوری در بادرنجبویه.

نتیجه‌گیری

تنش شوری بر کلیه‌ی صفات جوانه‌زنی بادرنجبویه تأثیر معنی‌داری داشت. تنش شدید شوری (۲۰۰ میلی‌مولار) باعث کاهش ۹۳ و ۶۳ درصدی به‌ترتیب در سرعت و درصد جوانه‌زنی و افزایش ۳/۲ و ۱/۸ برابری به‌ترتیب در صفات زمان تا شروع و پایان جوانه‌زنی نسبت به شاهد شد. آستانه‌ی تحمل به شوری جوانه‌زنی این گیاه ۶۹/۵۹ میلی‌مولار برآورد گردید. از این نتایج به‌خوبی می‌توان در مدل‌های شبیه‌سازی جوانه‌زنی بادرنجبویه به‌ویژه در شرایط تنش شوری استفاده نمود.

منابع

Archangi, A., Khodambashi, M. and Mohammadkhani, A. 2012. The effect of salt stress on morphological characteristics and Na+, K+ and Ca+ ion contents in medicinal plant fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) under hydroponic culture. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture, 3: 1-10.

Atashi, S., Bakhshandeh, E., Zeinali, Z., Yassari, E. and da Silva, J. A. T. 2014. Modeling seed germination in *Melisa officinalis* L. in response to temperature and water potential. Acta Physiologiae Plantarum. 36:605-611.

Bakhshandeh, E. and Ghadirian, R. 2010. The effect of salinity on germination of three varieties of sesame (*Sesamum indicum* L.). 11th Iranian Crop Science Congress. Environmental Sciences Research Instute, Shahid Beheshti University, Tehran. (in Persian)

Danesh, L., Nabavi-Kalat, S., Sadrabadi-Hagigi, R. 2013. Evaluation of salinity effects on germination Indices of melissa (*Melissa officinalis* L.). The First National Conference on Agricultural Science with an Emphasis on Abiotic Stresses. (in Persian)

Ghaderi-Far, F., Alimagham, S., Kameli, A. and Jamali, M. 2012. Isabgol (*Plantago ovata* Forsk) seed germination and emergence as affected by environmental factors and planting depth. International Journal of Plant Production. 6:185-194.

Gholami, R., Kashefi, B. and Saeidi, S. S. 2014. Effect salicylic acid on allevation of salt stress on growth traits of *Salvia limbara* L. Plant Ecophysiology 5:63-73.

Javadi, H., Seghatoleslami, M. and Mosavi, S. 2014. The effect of salinity on seed germination and seedling growth of four medicinal plant species. Iranian Journal of Field Crops Research. 12:53-64. (in Persian)

Khalesroo, Sh. and Agaalikhani, M. 2006. Effects of salinity and drought on forage sorghum and millet seed germination. Journal of Agriculture and Horticulture. 77: 153-163. (in Persian)

Moradkhani, H., Sargsyan, E., Bibak, H., Naseri, B., Sadat-Hosseini, M., Fayazi-Barjin, A. and Meftahizade, H. 2010. *Melissa officinalis* L., a valuable medicine plant: A review. Journal of Medicinal Plants Research. 4:2753-2759.

Nasri, N., Saïdi, I., Kaddour, R. and Lachaâl, M. 2015. Effect of salinity on germination, seedling growth and acid phosphatase activity in lettuce. American Journal of Plant Sciences. 6:57.

Rahdari, P., Hoseini, S.M. and Tavakoli, Sh. 2011. The effect of salinity stress on seed germination in Purslane (*Portulaca oleraceae* L.). The Second Regional Conference on Sustainable Development of Natural Resources in The Caspian Sea. (in Persian)

Rahimi, M., Kordrostami, M., Maleki, M. and ModaresKia, M. 2016. Investigating the effect of drought stress on expression of WRKY1 and EREBP1 genes and antioxidant enzyme activities in lemon balm (*Melissa Officinalis* L.). 3 Biotech. 6:1-8.

Roodbari, N., Lahooti, M., Roodbari, S., Aein, A. and Ganjali, A. 2013. The Effect of salinity stress on germination and seedling growth of cumin (*Cuminum Cyminum* L.). Journal of Agriculture and Food Technology. 3:1-4.

Shakeri, A., Sahebkar, A. and Javadi, B. 2016. *Melissa officinalis* L.–A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. Journal of Ethnopharmacology. 188:204-228.

Soltani, A. and Madah, V. 2012. Simple applications for education and research in agriculture. Publication Society of Ecological martyr Beheshti University. (in Persian)

Valdiani, A. and Tajbakhsh, M. 2005. Study on the effects of salt stress in germination and embryo growth stages of the four prolific and new cultivars of winter rapeseed (*Brassica napus* L.). Pajouhesh va Sazandegi. 18:23-32.

Effect of Salt Stress on Seed Germination of Lemon Balm (*Melissa Officinalis* L.)

Fatemeh Shecarloo[1], Nadali Bageri[2], Nadali Babaian Jelodar[2] and Esmaeil Bakhshandeh[3*]

[1] M.Sc. Student of Plant Biotechnology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Iran.

[2] Department of Biotechnology and Plant Breeding, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Iran.

[3] Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Iran.

[*]*Corresponding Author:* e.bakhshandeh@sanru.ac.ir

Abstract

Lemon balm (*Melissa officinalis* L.) is one of the most important medicinal plants around the world. Salt stress (SS), after drought stress, is known as a serious stress which can limited plant growth and productivity. Therefore, the study aimed to investigate the effect of SS (NaCl, 0, 50, 100, 150 and 200 mM) on some seed germination parameters of lemon balm. The experiment was carried out based on a completely randomized design with four replications at Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University in 2016. The results indicate that all seed parameters were significantly affected by SS. On the other hand, as SS increased from 0 to 200 mM, germination percentage (GP) and germination rate (GR) decreased by 93 and 63%, and the time when germination started and terminated increased about 3.2 and 1.8 times, respectively, as compared with the control. Estimates indicate that the SS required for 50% inhibition of the maximum GP (about 79.15%) was 69.59 mM NaCl for this plant. In addition, GR linearly decreased 0.00005 number h^{-1} and the time when germination started and terminated increased linearly 0.38 and 0.61 h^{-1}, respectively, per mM increased in NaCl concentration. Consequently, these results can be used in lemon balm germination simulation models, particularly in SS condition.

***Keywords*: Tolerance threshold germination, lemon balm, salt stress**