بررسی چگونگی کاهش اثرات تنش شوری با استفاده از محلولپاشی پراکسید هیدروژن در گیاه دارویی مرزنجوش (*Origanum majorana* L.)

یحیی سلاح ورزی، مرتضی گلدانی، جعفر نباتی، مرتضی علیرضایی

دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

مرزنجوش از مهمترین گیاهان دارویی به شمار می رود که امکان تولید و گسترش آن در ایران به خوبی مهیاست. به منظور بررسی اثر پراکسید هیدروژن جهت کاهش صدمات ناشی از تنش شوری در گیاه مرزنجوش، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل سه غلظت مختلف از پراکسید هیدروژن، به صورت محلول پاشی (۰، ۲/۵ و ۵ میلی مولار) و چهار سطح نمک NaCl (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار) بودند. نتایج نشان داد که محلول پاشی پراکسید هیدروژن می‌تواند وزن خشک ریشه و شاخساره در مرزنجوش را افزایش دهد و از این طریق کاهش وزن ناشی از تنش شوری را جبران نماید. از سوی دیگر با افزایش غلظت پراکسید هیدروزن تا ۵ میلی مولار بر محتوای کلروفیل کل و کاروتنوییدهای برگ گیاه مرزنجوش به ترتیب برابر ٤٦/٨ و ١٠٠/٦ درصد در مقایسه با شاهد افزوده شد. تنش شوری در این آزمایش بر محتوای درونی پراکسید هیدروژن تأثیر معنی داری نداشت ولی باعث افزایش اسید آمینه پرولین و کاهش نسبت پتاسیم به سدیم در برگ گیاه مرزنجوش گردید. این در صورتی است که غلظت بالای پراکسید هیدروژن (mM ۵) توانست غلظت درون سلولی آن، محتوای پرولین و نسبت پتاسیم به سدیم را به ترتیب برابر ١٠٤/٦، ٣٢٠/٧ و ٧٧/٦ درصد در مقایسه با شاهد افزایش دهد.

کلمات کلیدی: پرولین، تنش شوری، کلروفیل، محلول پاشی، رادیکال‌های آزاد

مقدمه

تنش اکسیداتیو یک تنش ثانویه است که در نتیجه تنش شوری بوجود آمده و می‌تواند منجر به تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن و یا پراکسید هیدروژن گردد. این رادیکال‌های آزاد می‌توانند خساراتی را به لیپیدهای غشا، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک وارد سازند (٦). شواهد متعددی از فعالیت بیولوژیکی رادیکال‌های آزاد اکسیژن و به خصوص H_2O_2 وجود دارد. پراکسید هیدروژن در گیاهان، می‌تواند نقشی دوگانه داشته باشد به طوری که این ترکیب در غلظت‌های پایین به عنوان یک پیام حد واسط جهت تولید سالسیلیک اسید و اتیلن عمل می‌نماید که سبب تطابق بیشتر با شرایط تنش‌زا می‌شود(٤). اما H_2O_2 در غلظت‌های بالا تخریب بافت و نهایتا مرگ گیاه را به دنبال دارد. شواهد موجود نشان می دهد که H_2O_2 به صورت مستقیم در بیان بسیاری از ژنها دخالت داشته و بدین ترتیب سبب بروز پاسخ‌های دفاعی فوق‌حساسیت و یا فعالیت بیشتر سیستم آنتی‌اکسیدانی (٤) گیاهان در شرایط تنش‌های محیطی می‌شود. مرزنجوش (*Origanum majorana* L.) یکی از مهمترین گیاهان خانواده نعناییان است. براساس گزارشات انجام شده جنس مرزنجوش یکی از گیاهان مهم در خصوص محتوی ترکیبات شیمیایی آن می‌باشد (١).

مواد وروش‌ها

گیاهچه‌های مرزنجوش پس از دوره استقرار و تا پایان آزمایش تحت شرایط شوری صفر میلی مولار (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار نمک NaCl قرار گرفتند. محلول پاشی پراکسید هیدروژن با غلظت‌های ۲/۵ و ۵ میلی مولار از یک هفته قبل از اعمال تنش شوری آغاز و با فواصل زمانی هر ۷ روز یکبار تکرار شد. گیاهان شاهد تنها بوسیله آب مقطر محلول‌پاشی شدند.

بنابراین آزمایش حاضر به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار انجام پـذیرفت. چهـار هفتـه پـس از اعمـال تنش شوری و همزمان با ظهور گل‌آذین در گیاهان شاهد، صفات مورد نظر مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج و بحث

با افزایش کاربرد برگی پراکسید هیدروژن بر محتوای رنگدانه‌های گیاه افزوده شد، به گونه‌ای که در غلظت ۵ میلی مـولار از آن محتوای کلروفیل کل و کاروتنوییدهای برگ گیاه مرزنجوش به ترتیب بـا ٤٦/٨ و ١٠٠/٦ درصـد افـزایش نسـب بـه شـاهد بـه بالاترین مقدار خود رسیدند. مطابق با نتایج پژوهش حاضر افراد متعددی گزارش نموده اند که پیش تیمار پراکسـید هیـدروژن، گیاهان را در برابر بسیاری از تنش ها محافظت می نماید (۲).

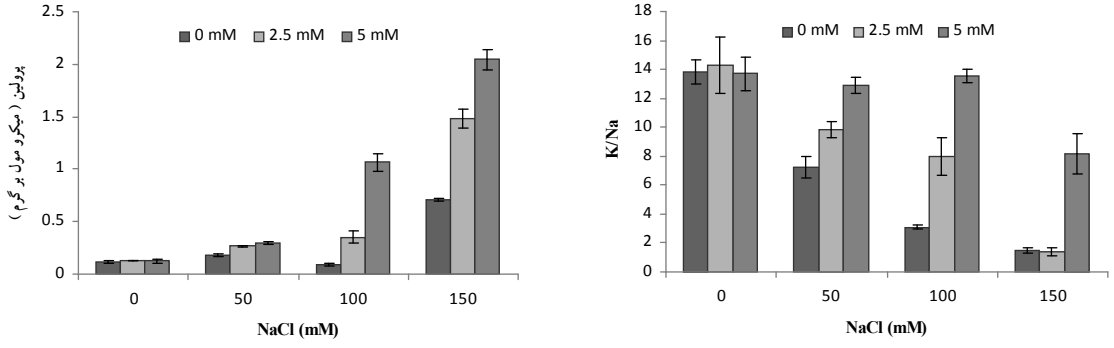
جدول ۱. تاثیر غلظت های متفاوت پراکسید هیدروژن و سطوح مختلف شوری بر برخی ویژگی های مرزنجوش.

تیمار	S_{Dw}[1] (g/plant)	R_{Dw} (g/plant)	CHL. a (mg/gfw)	CHL. b (mg/gfw)	X+C (mg/gfw)	CHL. t (mg/gfw)	PRO. µmol/gfw	H_2O_2 mmol/gfw	K:Na ratio
شوری (mM)									
۰ (شاهد)	۲/۷۸ a[2]	۲/۱۱ a	۰/۹۷ a	۰/۵ ab	۰/۲٤	۱/۷۲ a	۰/۱۲ d	٦/۰٦	۱۳/۹ a
۵۰	۲/٤۷ a	۱/٤۰ b	۱/۲۱ a	۰/٦٦ a	۰/۲۷	۲/۱۵ a	۰/۲٤ c	۵/۰۱	۹/٦ b
۱۰۰	۲/۳ ab	۱/۱٦ c	۰/٦۱ b	۰/۳٤ c	۰/۲۰	۱/۱٦ b	۰/۵۰ b	٤/٦٤	۸/۸ b
۱۵۰	۲/۰۲ b	۰/۸٤ d	۰/٦٤ b	۰/۳ bc	۰/۱٦	۱/۰٤ b	۱/۵٤ a	۲/٦۱	٦۸ c
H_2O_2 (mM)									
۰ (شاهد)	۲/۱٤ b	۱/۲۲ b	۰/٦۹	۰/٤٤	۰/۱٤ b	۱/۲۸ c	۰/۱۸ c	۳/۲۰ b	٦/۷ c
۲/۵	۲/۳٦ b	۱/۲۸ b	۰/۸۸	۰/٤۸	۰/۲٦ a	۱/٦۳ b	۰/۵۵ b	٤/۷۳ b	۸/۳ b
۵	۲/۸۱ a	۱/۷٤ a	۱/۰۸	۰/۵٤	۰/۲۹ a	۱/۸۸ a	۰/۷۷ a	٦/٦٤ a	۱۱/۹ a

۱- S_{Dw}، R_{Dw}، CHLa، CHLb، X+C، CHL t، PRO.، CAR. T، A.A و PHE. به ترتیب نشانگر وزن خشک بخش هوایی، وزن خشک ریشه، کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوییدها، کلروفیل کـل، پـرولین، محتـوای درون سـلولی پراکسید هیدروژن و نسبت پتاسیم به سدیم است. ۲- میانگین هایی که در هر ستون و برای هر عامل، مشـترک مـی باشـند، بـر اساس آزمون *LSD* ($p<۰/۰۵$)، معنی دار نیستند.

اثرات اصلی شوری و پراکسید هیدروژن و همچنین اثر متقابل آنها بـر محتـوای پـرولین بـرگ گیـاه مرزنجـوش معنـی‌دار بـود (جدول ۱). بر این اساس با افزایش غلظت نمک و پراکسید هیدروژن، پرولین گیـاه نیـز افـزایش یافـت (جـدول ۱). همچنـین پرولین تجمع یافته در گیاهان، باعث افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی و خنثی سازی رادیکال های آزاد هیدروکسیل می‌گردد (۷). پراکسید هیدروژن بر مقادیر درون سلولی این ماده (H_2O_2) تاثیر معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). به طوری که محلول‌پاشی برگی با پراکسید هیدروژن در غلظت های ۲/۵ و ۵ میلی مـولار، باعـث افـزایش ٤٦/٨ و ١٠٤/٦ درصـدی مولکـول هـای H_2O_2 در سلول های برگی گیاه مرزتجوش در مقایسه با شاهد شدند(جدول ۱). مطابق با نتایج ایـن پـژوهش، هـو و همکـاران (٤) نیـز گزارش کردند که همزمان با کاربرد H_2O_2 بر مقادیر درون زای این مولکول در سلول های برگی افزوده می گردد.

بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش در مورد نسبت K/Na مشخص گردید که اختلاف بین سطوح پراکسـید هیـدروژن، اثـر شوری و همچنین اثر متقابل شوری و پراکسید هیدروژن در سطح احتمال خطای ۱٪ معنی دار بوده است (جـدول ۱). پـیش از این نیز، افزایش غلظت سدیم و کاهش یون های پتاسیم در اثر تنش های شدید شوری در گیاهان مختلـف مـورد اشـاره قـرار گرفته است (۵).



شکل ۲- تاثیر غلظت های متفاوت پراکسید هیدروژن و سطوح مختلف شوری بر پرولین (چپ) و نسبت پتاسیم به سدیم (راست)

منابع

١- ممبینی، ت. م ممبینی،. و م. آقایی. ١٣٨٦. بررسی آثار فارماکولوژیک جنس مرزنجوش (*Origanum* spp.). مجله گیاهان داروئی. ٢٩: ١٨-٣٥.

2-Gecheva, T., Gadjeva, I., Van Breusegemb, F., Inzéb D., Dukiandjieva, S., Tonevaa, V. and Minkov I. 2002. Hydrogen peroxide protects tobacco from oxidative stressby inducing a set of antioxidant enzymes. Cell. Mol. Life Sci. 59: 708–714.

3-Hu, Y., Ge, Y., Zhang, C., Ju, T. and Cheng, W. 2009. Cadmium toxicity and translocation in rice seedlings are reduced by hydrogen peroxide pretreatment. Plant Growth Regul. 59:51–61

4-Hung SH, Yu CW, Lin CH (2005). Hydrogen peroxide functions as a stress signal in plants. Bot. Bull. Acad. Sin. 46: 1-10.

5-Kaya, C., Higgs, D., Ince, F., Amador, B. M., Cakir, A. & Sakar, E. (2003). Ameliorative effects of potassium phosphate on salt stressed pepper and cucumber. J Plant Nutr, 26,807–820.

6-Noctor, G. & Foyer, C. H. (1998). Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol., 49,249–279.

7-Smirnoff, N. & Cumbes, Q. J. (1989). Hydroxyl radical scavenging of compatible solutues. Phytochemistry, 28,1057-1060.

Study of alleviation mechanism of salinity effects in oregano (*Origanum majorana* L.) by H_2O_2 spray

Y. Selahvarzi[1], M. Goldani, J. Nabati, M. Alirezaii
Academic members, Ph.D and master graduated of Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. Mashhad. Islamic Republic of Iran, Respectively

Abstract
Oregano is enumerated as one of the most important of medicinal plant that its production and development is possible in Iran. In order to study the effect of exogenous application of hydrogen peroxide on salt tolerance in oregano (*Origanum majorana* L.) an experiment was conducted in greenhouse conditions. This study was designed as factorial based on completely randomized design with 3 replications. Different concentration of hydrogen peroxide (0, 2.5 and 5 mM) and four levels of NaCl (0, 50, 10 and 150 mM) were treated in this study. Results showed that foliar application of hydrogen peroxide can improve shoot and root dry weight and alleviate adverse effects of salinity. In the other hand, high concentration of hydrogen peroxide (5mM) increased total chlorophyll and caroteoid content about 46.6 and 100.6 percent comparing to control plant respectively. Salt stress had no significant effect on cellular hydrogen peroxide, but it increased free proline and reduced K:Na ratio. While hydrogen peroxide content, free proline and K:to Na ratio were increased 104.6, 320.7 and 77.8 percent by high level of hydrogen peroxide, respectively.

Keywords: chlorophyll, free radical, Stress, spray, Proline