https://ijpb.ui.ac.ir/?lang=en
Journal of Plant Biological Sciences
E-ISSN: 3041-9603
Vol. 15, Issue 4, No. 58, winter 2023
Document Type: Research Paper
Received: 11/06/2024 Accepted: 26/11/2024

Effect of abiotic elicitors and plant growth regulators on Morpho-physiological and biochemical characteristics of Purslane (*Portulaca oleracea* L.)

Zahra Savari[1], Ali Ganjeali[1]*, Monireh Cheniany[1]

[1]Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Abstract

Purslane *(Portulaca oleracea* L.) is widespread in various regions around the world. The present study aimed to investigate the effects of different concentrations of salicylic acid, gibberellic acid, and naphthalene acetic acid, as well as the application of mechanical and salinity stresses, on morpho-physiological traits, phenolic compounds, flavonoids, and photosynthetic pigments. Salinity stress at 160 mM NaCl was applied four weeks after seed sowing (seedling stage). Plant growth regulators such as salicylic acid (50 and 100 mg L^{-1}), gibberellic acid (50 and 100 mg L^{1}), and naphthalene acetic acid (130 and 200 mg L^{-1}) and control treatment (distilled water), were sprayed on the leaves during the vegetative stage with two intervals 14 days apart. Wounding treatment was applied eight weeks after sowing (beginning of the reproductive stage) and then all plants were harvested after 24 h. The highest dry weight of the aerial parts and roots was related to the external application of 100 mg L^{-1} salicylic acid and the control treatment, respectively. Salinity, wounding, and external application of growth regulators significantly increased cell membrane stability and the content of photosynthetic pigments. The highest total phenol and flavonoid content was associated with the 50 mg L^{-1} gibberellic acid and 160 mM salinity stress, respectively. It seems that the increased activity of enzymes involved in anabolic processes, particularly phenylalanine ammonia-lyase, plays a key role in enhancing phenolic and flavonoid content.

Keywords: Gibberellic acid, Mechanical stress, Naphthalene acetic acid, Phenolic compounds, Salicylic acid, Salinity stress.

*Corresponding author: ganjeali@um.ac.ir

3041-9603 © University of Isfahan
This is an open access article under the CC BY-NC-ND/4.0/ License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

10.22108/ijpb.2024.141800.1366

Introduction

Purslane (*Portulaca oleracea* L.) belongs to the Portulacaceae family (Rashed et al., 2004). Due to antimicrobial properties and antioxidant activity, phenolic compounds play an important role in improving resistance to environmental stresses (Oraibi et al., 2017). Growth regulators, including salicylic acid, have various effects on important physiological processes such as flowering, photosynthesis, and antioxidant activity, as well as improving tolerance to biotic and abiotic stresses (Hayat et al., 2008). Studies indicate that the use of gibberellin has various effects on the growth and development of many plants, and often in high concentrations, it has intensified the growth of some plants (Abbasi et al., 2019). Environmental stresses have often improved the content of phenolic compounds, antioxidant capacity, and fatty acid content in various plants including purslane (Choi et al., 2005; Wahid & Ghazanfar, 2006; Boo et al., 2011; Sarker et al., 2018). Anthocyanin, flavonoids, and various phenolic compounds are among the strong antioxidant defense systems of plants that are responsible for removing or inactivating ROS accumulated in stressed plants (Chai et al., 2005). Since very little information is available about the response of purslane to the individual application of growth regulators, as well as wound and salinity stresses, particularly regarding phenolic and flavonoid compounds, the present study was conducted.

Materials and Methods

The seeds were planted in early March 2022 in plastic pots containing a mixture of soil and sand in a ratio of 2:1. After four weeks of planting (seedling stage), salt stress was applied at 160 mM and the control plants were irrigated based on 90% of the field capacity. In the fourth week (vegetative growth stage), growth regulators were sprayed once every two weeks, including salicylic acid (50 and 100 mg L-1), gibberellic acid (50 and 100 mg L-1), and naphthalene acetic acid (130 and 200 mg L-1), by spraying on the leaves. Wound treatment was applied to the leaves 56 days after sowing (flowering stage). The measurement of the dry weight of the aerial part and the root was done after the plants were removed from the pots for 48 hours in an oven at a temperature of 50 °C. The relative water content and membrane stability index were measured according to the methods of Bian & Jiang (2009) and Sairam & Saxena (2000) respectively. Alcoholic extract was prepared with the method of EI. Kashef et al. (2018). Total phenol and flavonoid content were measured by the method of Velioglu et al. (1998) and Chang et al. (2002) respectively. Photosynthetic pigments were determined by the method of Lichtenthal (1987).

Results and Discussion

In this study, the highest root dry weight was observed in the control treatment. This can be attributed to negative effects such as osmotic stress, ion toxicity, and reduced nutrient absorption from the soil solution. These factors are among the main reasons for decreased plant growth and development under such conditions (Hassegawa et al., 2000; Munns, 2002). Results showed that the salt stress of 160 mM caused a significant increase in the relative water content of the leaves compared to the control (Figure 3). Wound treatment and external application of growth regulators significantly increased cell membrane stability and photosynthetic pigment content. This suggests that the increase in the content of photosynthetic pigments, including carotenoids, with the increase in the level of applied stress, indicates the defense mechanisms of plants in the face of stress (Kholova et al., 2010; Yidiz & Terzi, 2013). It seems that plant growth regulators, including salicylic acid, play an important role in the processes of plant growth and development by facilitating the absorption of nutrients and influencing the activity of photosynthetic enzymes (Mashayekhi & Atashi, 2012). The results of comparing the average data showed that the highest phenolic content of the total shoot related to the external application of gibberellic acid was 50 mg L^{-1} (Figure 5). The increase in the content of phenolic

compounds can be attributed to the important role of gibberellin in increasing the activity of the enzyme phenylalanine ammonia-lyase, which is one of the most important key enzymes in the biosynthesis of compounds (Al-Ameer & Craker, 2007; Adil et al., 2007). Also, in this study, the highest amount of flavonoid content was related to plants that were affected by 160 mM salt stress (Figure 6). The increase of flavonoids under the influence of salinity stress is probably due to the effective role of these compounds in chelating toxic ions. Previous investigations confirm that the increase in phenolic compounds is related to the increase in the activity of enzymes involved in the metabolic processes of phenolic compounds, which is related to the synthesis of new phenols under salt stress (Adil et al., 2007).

Conclusion

The highest aerial and root dry weight was related to the external application of salicylic acid 100 mg L^{-1} and the control treatment, respectively. Wound treatment and external application of growth regulators significantly increased cell membrane stability and photosynthetic pigment content. Gibberellic acid (50 mg L^{-1}) and salinity stress (160 mM) significantly increased the content of total phenol and flavonoid compared to the control. It seems that the main reasons are encouraging the activity of enzymes involved in anabolic processes of phenolic and flavonoid content, especially the phenylalanine ammonia-lyase.

علوم زیستی گیاهی، سال پانزدهم، شمارهٔ پیاپی پنجاه و هشتم، زمستان ۱۴۰۲، صفحهٔ ۹۶-۷۳
تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۰۳/۲۲
تاریخ بررسی مجدد: ۱۴۰۳/۰۹/۰۴
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۰۹/۰۶
مقاله پژوهشی

بررسی تأثیر عوامل غیرزیستی و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه خرفه (*Portulaca oleracea* L.)

زهرا ساوری[۱]، علی گنجعلی*[۱]، منیره چنیانی[۱]
[۱] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

چکیده

خرفه با نام علمی *Portulaca oleracea* L. در مناطق مختلف دنیا گسترش دارد. پژوهش حاضر با هدف بررسی غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید، جیبرلیک اسید و نفتالین استیک اسید و نیز تنش‌های مکانیکی و شوری بر صفات مورفوفیزیولوژیکی، محتوی ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و رنگیزه‌های فتوسنتزی انجام شد. چهار هفته پس از کاشت بذور (مرحله گیاهچه‌ای)، تیمارهای آزمایشی شامل تنش شوری به میزان ۱۶۰ میلی‌مولار، سالیسیلیک اسید و جیبرلیک اسید هر یک با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و نفتالین استیک اسید با غلظت‌های ۱۳۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و تیمار شاهد (آب مقطر) در مرحله رشد رویشی به برگ‌های گیاه در دو مرحله با فاصله ۱۴ روز اسپری شد. تنش مکانیکی (زخم)، ۸ هفته پس از کاشت (شروع مرحله رشد زایشی) روی برگ گیاهان اعمال شد و پس از ۲۴ ساعت گیاهان در تمامی تیمارهای آزمایشی برداشت شدند. بیشترین وزن خشک بخش هوایی و ریشه به ترتیب به کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و تیمار شاهد مربوط بود. تیمار زخم و کاربرد خارجی تنظیم کننده‌های رشد، پایداری غشای سلول و محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی را به طور معنی‌داری افزایش دادند. در این پژوهش بیشترین محتوی فنل کل و فلاونوئید به ترتیب به تیمار جیبرلیک اسید ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر و تنش شوری ۱۶۰ میلی‌مولار مربوط بود. به نظر می‌رسد جیبرلیک اسید و تنش شوری با تقویت فعالیت آنزیم‌های درگیر در فرآیندهای آنابولیستی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی بویژه آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز از جمله دلایل اصلی افزایش محتوی ترکیبات فوق باشد.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات فنلی، تنش شوری، تنش مکانیکی، جیبرلیک اسید، سالیسیلیک اسید، نفتالین استیک اسید

*Corresponding author: ganjeali@um.ac.ir

3041-9603 © University of Isfahan
This is an open access article under the CC BY-NC-ND/4.0/ License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

10.22108/ijpb.2024.141800.1366

مقدمه

خرفه با نام علمی (*Portulaca oleracea* L.) و متعلق به خانواده Portulacaceae است (Rasheed et al., 2004). خرفه گیاهی علفی، یکساله با ساقه‌های قرمز تا ارغوانی است. ویژگی مهم این گیاه، داشتن برگ‌های گوشتی است که می‌تواند مقدار زیادی آب ذخیره کند. خرفه حاوی عصاره شیری است و نام *Portulaca* یعنی شیر از نام لاتین "*Laca*" گرفته شده و بیشتر در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری پراکنده شده است (Iranshahy et al., 2017). از جمله تأثیرات دارویی خرفه می‌توان به تأثیر آن درکاهش طیف وسیعی از بیماری‌ها از جمله مشکلات شدید تنفسی، دستگاه گوارش، کلیه‌ها، التهاب و غیره اشاره کرد (Iranshahy et al ., 2017). خرفه به عنوان یکی از غنی‌ترین منابع گیاهی برای انواع ویتامین‌ها شناخته شده است (Kim et al., 2013). ترکیبات فنلی به علّت داشتن خواص ضدمیکروبی در فعالیت‌های آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی نقش دارند (Fazly Bazzaz et al., 1997). فلاونوئیدها دسته‌ی مهمی از ترکیبات فنلی هستند که اعمال متعددی از جمله بهبود مقاومت در برابر تنش‌های محیطی و نیز فعالیت آنتی اکسیدانی را برعهده دارند (Oraibi et al., 2017). تأثیر تنظیم کننده‌های رشد گیاه از جمله اکسین‌ها، سیتوکینین‌ها، جیبرلین‌ها (GA)، آبسیزیک اسید (ABA) و ۲و۴ اپی براسینولید(EBR) و براسینوستروئیدها(BRs)، سایر تنظیم کننده‌های رشد گیاه مانند پلی آمین، اسید سالیسیلیک (SA) و اسید جاسمونیک (JA) نیز شناخته شده است (Du et al., 2017). اکسین، جیبرلیک اسید، سیتوکینین و پلی‌آمین در بین تنظیم کننده‌های رشد گیاهی نقش مهمی در کنترل رشد گیاه و فعالیت هورمونی به جهت القای گلدهی دارند. همچنین بر اساس پژوهش‌ها استفاده خارجی آنها منجر به افزایش گلدهی در طی بهاره سازی می‌شود. در پاسخ به عوامل محیطی و ژنتیکی، هورمون‌ها از مهم‌ترین عوامل داخلی تنظیم کننده رشد گیاهان زراعی محسوب می‌شوند (King & Evans, 2003). بررسی‌ها حاکی از آن است که تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در غلظت‌های پائین نیز به عنوان ترکیبات ترارسان علامت عمل می کنند و برای رشد و نمو گیاه ضروری هستند (Osman et al., 2016). نتایج پژوهش‌ها نشان دادند کاربرد هورمون‌ها اغلب منجر به بهبود صفات فیزیولوژیکی گیاه شده است (Shahrivar et al., 2020).

سالیسیلیک اسید به عنوان یک هورمون گیاهی آثار مختلفی بر فرآیندهای مهم گیاه نظیرگلدهی، سیستم فتوسنتزی، فعالیت آنتی اکسیدانی و نیز تحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی دارد (Hayat et al., 2008) و اغلب سبب مقاومت گیاه در مقابل بیماری‌ها می‌شود (Hashempour et al., 2014). سالسیلیک اسید همچنین با افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی و حفظ آن‌ها در مواجه با تنش خشکی سبب افزایش مقاومت گیاه به شرایط تنش زا شده و منجر به بهبود صفات فیزیولوژیکی گیاه شده است. در این راستا گزارش‌ها حاکی از آن است که سالیسیلیک اسید سبب تسهیل جذب عناصر غذایی شده و با بهبود فعالیت‌های آنزیمی و انتقال قندها در مبدا و مقصد، نقش موثری در

فرآیندهای فتوسنتزی دارند (Mashayekhi & Atashi, 2012). نتایج حاصل حاکی از آن است که استفاده از جیبرلین تأثیر متنوع و متفاوتی بر رشد و نمو بسیاری از گیاهان داشته و اغلب در غلظت‌های بالا، رشد بعضی از گیاهان را تشدید نموده است (Abbasi et al., 2019).

تنش‌های محیطی اغلب محتوی ترکیبات فنلی، ظرفیت آنتی اکسیدانی و محتوی اسیدهای چرب را در گیاهان مختلف از جمله خرفه بهبود داده‌اند. در این راستا مدارکی وجود دارد که تأیید می‌کنند تیمارهای زخم، سرما، شوری از جمله تنش‌هایی هستندکه با تأثیر بر فعالیت آنزیم‌های مسیر بیوسنتز ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی بر محتوی این ترکیبات تأثیر دارند (Choi et al., 2005; Wahid & Ghazanfar, 2006; Boo et al., 2011; Sarker et al., 2018). در یک آزمایش جیبرلین با فعال سازی برخی آنزیم‌ها، موجب افزایش محتوی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و افزایش مقاومت گیاه دارویی مرزه (*Satureja horetnsis* L.) تحت تنش شوری شد (Firoozeh et al., 2019). در پاسخ تحت تنش شوری، تولید ROS افزایش‌یافته که نتیجه آن برهم خوردن تعادل ردوکس سلولی است. این شرایط سبب ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو در اجزای مختلف سلول می‌شود که در نهایت به مختل شدن اعمال حیاتی سلول از جمله غیر فعال سازی آنزیم‌ها، پراکسیداسیون لیپیدها، تخریب ساختار غشاء، تولید و تجمع مالون دی آلدهید منجر می‌شود (Møller & Kristensen, 2004; Gupta & Huang, 2014). در این راستا گیاهان برای جلوگیری از آسیب‌های ناشی از تنش‌های اکسیداتیو، مقادیر متفاوتی از ترکیبات آنتی اکسیدانی تولید می‌کنند که سبب محافظت آنزیم ها در برابر گونه‌های اکسیژن فعال می‌شود (Parida & Das, 2005). آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی مختلف از جمله سیستم‌های دفاع آنتی اکسیدانی قوی هستند که مسئول حذف و یا غیر فعال کردن ROS انباشت شده تحت تأثیر تنش در گیاهان هستند (Chai et al., 2005). در پژوهش دیگر، افزایش محتوی ترکیبات فنلی در گیاهان تحت تنش های سرما و زخم گزارش شده است. پژوهشگران معتقدند بهبود سطح ترکیبات فنلی به علّت افزایش سنتز سوبرین و لیگنین در دیواره سلولی است که با هدف افزایش تحمل به تنش شوری انجام شده است (Jacobo-Velázquez & Cisneros-Zevallos, 2012; Savatin et al., 2014). با توجه به اینکه اطلاعات اندکی درباره واکنش گیاه به کاربرد انفرادی تنظیم کننده‌های رشد و نیز تنش‌های زخم و شوری بر صفات مورفوفیزیولوژیک و به‌ویژه بر محتوی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در گیاه خرفه وجود دارد. بنابراین پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد NAA (1- نفتالین استیک اسید)، GA (جیبرلیک اسید)، SA (سالسیلیک اسید) ونیز تأثیر تنش‌های غیرزیستی (شوری– مکانیکی) بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه خرفه انجام شده است.

مواد و روش‌ها

کشت بذرها

گیاهان خرفه (*Portulaca oleracea* L.) به شماره هرباریومی (FUMH) 21808 توسط کارشناسان هرباریوم دانشگاه فردوسی مشهد شناسایی شدند. بذرهای یکدست و سالم گیاهان فوق انتخاب و سپس کاملاً استریل شدند. بذرها در اوایل اسفند ماه سال ۱۴۰۱ در گلدان‌های پلاستیکی (۲۰ سانتی‌متر قطر و ۱۷ سانتی‌متر ارتفاع) محتوی مخلوطی از خاک و ماسه به نسبت ۲ به ۱ کشت شدند. بذرها در عمق ۴ میلی‌متری خاک قرار گرفته و رطوبت خاک در طول دوره آزمایش در محدوده ۷۵ الی ۹۰ درصد ظرفیت زراعی نگهداری شد. این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی و آزمایشگاه تحقیقاتی فیزیولوژی گیاهی دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد.

اعمال تیمار شوری

بعداز گذشت چهار هفته از کاشت بذرهای خرفه (مرحله گیاهچه‌ای)، تنش شوری به مقدار ۱۶۰میلی‌مولار (NaCl) اعمال شد و گیاهان شاهد بر اساس ۹۰ درصد ظرفیت زراعی آبیاری شدند. برای ثابت نگه داشتن مقدار نمک در گلدان‌ها، مقدار EC گلدان‌ها در طول رشد اندازه‌گیری و مقدار نمک به میزان تعیین شده، در طول دوره آزمایش ثابت نگهداری شد. گیاهان موجود در گلدان‌ها پس از برداشت به دو بخش ریشه و اندام هوایی تفکیک و برای اندازه‌گیری صفات مورد نظر آماده شدند.

اعمال تیمار زخم (تنش مکانیکی)

پس از گذشت ۵۶ روز از کاشت بذرها (مرحله گل‌دهی) تیمار زخم روی برگ گیاهان اعمال شد. برای اعمال تنش زخم از یک تیغ کاملاً استریل استفاده شد به طوری که برش‌های نسبتاً عمیقی بر روی برگ‌های بالغ ایجاد و رگبرگ را قطع کرد (Teixeira, 2009). پس از گذشت ۲۴ ساعت از تیمار زخم، فرآیند جمع آوری برگ‌هایی که روی آن‌ها اعمال تنش زخم صورت گرفته بود، انجام شد.

محلول پاشی تنظیم کننده‌های رشد

پایان هفته چهارم (مرحله رویشی) محلول پاشی تنظیم کننده‌های رشد شامل: سالیسیلیک اسید در دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، جیبرلیک اسید با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و نفتالین استیک اسید با غلظت‌های ۱۳۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، انجام شد. ابتدا اولین مرحله محلول پاشی اعمال شد به طوری که هر یک از غلظت‌های تنظیم کننده‌های رشد بر روی برگ‌های گیاه اسپری شدند و تمام سطح و پشت برگ‌های گیاه آغشته به هورمون مورد نظر شد. در ادامه پس از گذشت ۱۴ روز از اولین محلول پاشی، مرحله دوم محلول پاشی انجام و سپس بعد از گذشت ۸ هفته برداشت انجام شد.

صفات مورفوفیزیولوژیکی

برای اندازه گیری وزن خشک گیاهان پس از تمیزشدن برگ‌ها، به مدت ۷۲ ساعت در آون (U25 memmert، آلمان) با دمای ۵۰ درجه

سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس توسط ترازو وزن شدند. برای اندازه‌گیری وزن خشک ریشه نمونه‌های حاصل از تیمارهای اعمال شده، ابتدا ریشه گیاهان از گلدان‌ها خارج شد و پس از شستشوی کامل آن‌ها، به مدت ۴۸ ساعت در آون دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و سپس وزن شدند.

برای تعیین محتوای آب نسبی برگ، ابتدا از هر تیمار مقدار معینی از برگ دوم گیاهان برداشت شد و توسط ترازو دیجیتال وزن و در ادامه به مدت ۴۸ ساعت به حالت غوطه ور در آب مقطر قرار گرفت. سپس برگ‌ها از آب خارج و سطح برگ‌ها کاملاً خشک و نهایتاً وزن شدند. در ادامه برگ‌ها در آون ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک و مجددا وزن آن‌ها تعیین شد. محتوای آب نسبی موجود در برگ مربوط به هر تیمار از معادله زیر محاسبه شد.

رابطه (۱):

$$RWC= (FW – DW /TW – DW) \times 100$$

در این معادله، RWC محتوای آب نسبی، FW وزن تر برگ، DW وزن خشک برگ و TW وزن برگ در حالت تورژسانس کامل است (Bian & Jiang, 2009).

جهت تعیین شاخص پایداری غشای سلولی، از هر تیمار دو برگ به وزن ۰/۱ گرم برداشت شد و داخل دو سری لوله آزمایش، محتوی ۱۰ میلی لیتر آب مقطر قرار گرفتند. سپس یک سری از لوله‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری ۴۰ درجه سانتی‌گراد (C_1) و سری دیگر از لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد (C_2) قرار گرفتند. پس از این که دمای لوله‌ها تا حد دمای محیط کاهش پیدا کرد؛ هدایت الکتریکی نمونه‌ها توسط دستگاه EC متر (مدل Jenway) اندازه‌گیری و سپس شاخص پایداری غشای سلولی (MSI) از رابطه زیر محاسبه شد (Sairam & Saxena, 2000).

رابطه (۲):

$$MSI = \{1- (C_1 / C_2)\} \times 100$$

بررسی صفات بیوشیمیایی

عصاره گیری از نمونه‌ها جهت سنجش ترکیبات فنلی

جهت تهیه عصاره الکلی، ابتدا یک گرم از پودر خشک شده توسط هاون، در ۱۰ میلی‌لیتر متانل ۸۰ درصد (v/v) به مدت ۲۴ ساعت خیسانده و روی شیکر قرار گرفت. در مرحله بعدی نمونه‌ها در سانتریفیوژ با دور ۴۵۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفته و روشناور آن برداشت شد. نهایتاً محلول حاصل جهت تبخیر حلال در زیر هود شیمیایی قرارگرفت(El Kashef et al., 2018). پس از خشک شدن کامل، نمونه‌های به دست آمده وزن شدند و جهت آنالیزهای بعدی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

تعیین محتوی فنل کل

جهت تعیین محتوای فنل کل از روش Velioglu و همکاران (۱۹۹۸) استفاده شد. در مرحله اول یک میلی‌گرم از عصاره تهیه شده در یک میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد حل شد. در ادامه به۱۵۰۰

میکرولیتر معرف فولین (۱۰٪)، ۲۰۰ میکرولیتر عصاره اضافه شد و به مدت زمان ۵ دقیقه دردمای اتاق و تاریکی نگهداری شد. سپس ۱۵۰۰ میکرولیتر بیکربنات سدیم ۷ درصد (v/w) به محتویات هر لوله اضافه و در نهایت پس از ۹۰ دقیقه جذب آن در طول موج ۷۵۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر UV-120-02 (Shimadzu، ژاپن) خوانده شد. مقدار فنل کل به صورت میلی‌گرم گالیک اسید (GAE) در هر گرم وزن خشک عصاره تعیین شد.

تعیین محتوی فلاونوئید کل

جهت تعیین محتوای فلاونوئید کل، یک میلی‌گرم از پودر عصاره در ۱/۵ میلی‌لیتر متانل ۸۰ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر $AlCl_3$ ده درصد (w/v) آبی، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار آبی و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و پس از ۳۰ دقیقه قرارگرفتن در تاریکی و دمای محیط، جذب آن توسط اسپکتروفتومتر UV -120-02 (Shimadzu، ژاپن) در طول موج ۴۱۵ نانومترخوانده شد. از سطوح مختلف کوئرستین (QE) برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شده و مقدار فلاونوئید کل به‌صورت میلی‌گرم کوئرستین در صد گرم وزن خشک نمونه گزارش شد (Chang et al., 2002).

تعیین میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی

برای تعیین میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) استفاده شد. در ابتدا ۰/۱ گرم بافت تر برگ با ۴ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد در هاون چینی سائیده شد. محلول حاصل به مدت ۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ و سپس در طول موج های ۶۴۷، ۶۶۴ و ۴۷۰ نانومتر جذب محلول رویی تعیین شد. میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها با فرمول‌های زیر برحسب میلی‌گرم در گرم وزن تر (mg Chl / gfw) محاسبه شد.

رابطه (۳):

$$\text{Chl a (mg g}^{-1}\text{ FW)} = [(12.25*A_{664}) - (2.79*A_{647})] * (V/W)$$

$$\text{Chl b (mg g}^{-1}\text{ FW)} = [(21.21*A_{647}) - (5.1*A_{664})] * (V/W)$$

$$\text{Chl Total (mg g}^{-1}\text{ FW)} = \text{Chl a} + \text{Chl b}$$

$$\text{Charotenoid (mg g}^{-1}\text{ FW)} = [((1000*A_{470}) - (1.8*\text{Chl a}) - (85.02*\text{Chl b})) / 198)] * (V/W)$$

آنالیز آماری

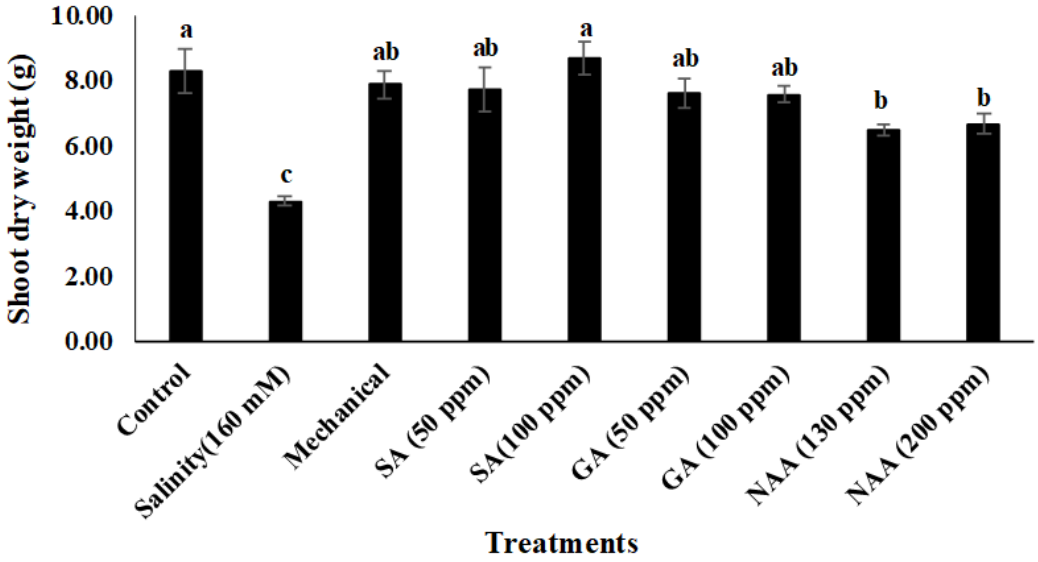
پژوهش در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل واریانس‌ها با نرم افزار SPSS انجام شد و میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ($P\leq 0.05$) مقایسه شدند و مقادیر خطای استاندارد برای هر صفت نمایش داده شد.

نتایج و بحث

وزن خشک بخش هوایی و ریشه

نتایج حاصل از مقایسه میانگین پژوهش حاضر نشان داد تفاوت معنی‌داری بین سالیسیلیک اسید ۱۰۰میلی‌گرم بر لیتر و سایر تیمارها اگرچه بالاتر بود، وجود نداشت. اعمال تنش شوری و کاربرد

خارجی نفتالین استیک اسید در هر دو غلظت ۱۳۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به صورت معنی‌دار سبب کاهش وزن خشک بخش هوایی نسبت به شاهد شد (شکل ۱).

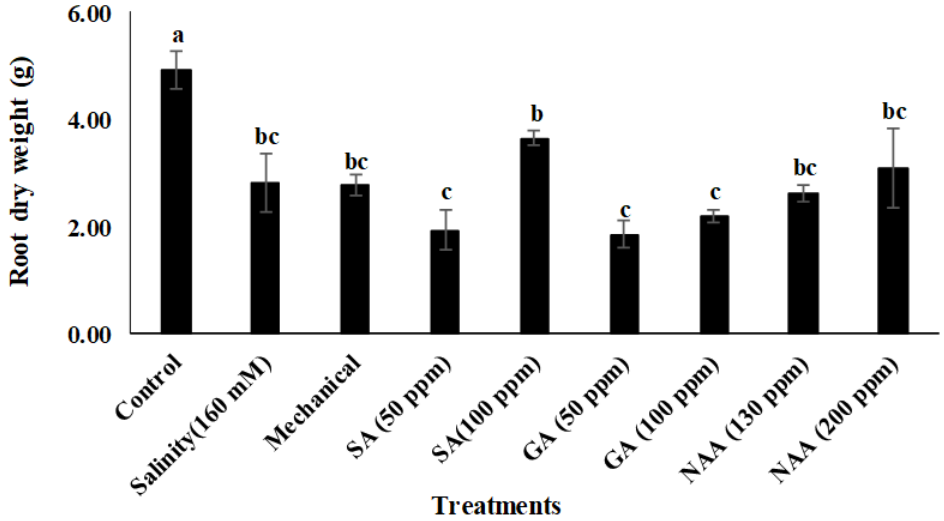


شکل ۱- مقایسه میانگین مشاهدات وزن خشک بخش هوایی گیاه خرفه تحت تأثیر تنش‌های غیر زیستی (شوری–زخم) و کاربرد خارجی تنظیم کننده‌های رشد (GA جیبرلیک اسید– SA سالیسیلیک اسید – NAA نفتالین استیک اسید).میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، مطابق آزمون دانکن (P≤۰/۰۵) اختلاف معنی‌داری ندارند. میله های هر یک از ستون‌ها مقدار خطای استاندارد را نشان می‌دهند.

Figure1- Means Comparison for shoot dry weight of purslane plant under abiotic stresses (salinity-wounding) and the external application of plant growth regulators (GA, SA and NAA). Means that have at least one letter in common are not significantly different according to Duncan's test (P≤0.05).

همچنین نتایج مقایسه میانگین مربوط به وزن خشک ریشه نشان دادند همه تیمارهای مورد پژوهش، وزن خشک ریشه را نسبت به شاهد به صورت معنی‌داری کاهش دادند. در این بررسی بیش‌ترین وزن خشک ریشه به تیمار شاهد تعلق داشت (شکل ۲). در یک بررسی وزن تر و خشک گیاه خرفه مانند ارتفاع و سطح برگ در غلظت‌های بالای شوری به صورت معنی‌داری کاهش یافتند (Rahimi et al., 2011). همچنین نتایج حاصل از بررسی پژوهشگران حاکی از آن بود درگیاهان خرفه مواجه با شوری ۱۴۰ میلی‌مولار NaCl، وزن تر و خشک بخش هوایی گیاه به صورت معنی‌دار کاهش یافتند (Yazici et al., 2007). با توجه به این پژوهشگران معتقدند تأثیر منفی ناشی از ایجاد تنش‌های اسمزی و سمیت یونی و نیز تغییر در قابلیت جذب عناصر غذایی موجود در محلول خاک (به علّت بر همکنش‌های موجود با نمک سدیم)، از جمله دلایل اصلی کاهش رشد و نمو گیاه در شرایط فوق هستند (Hassegawa et al., 2000; Munns, 2002). پژوهشگران معتقدند آنچه سبب انباشت Na در مواجه با تنش شوری می‌شود، از دست رفتن تمامیت غشاء است که نتیجه آن کاهش زی‌توده گیاه است. به نظر می‌رسد از دست رفتن

فشار تورگر سلول‌ها در نتیجه تنش اسمزی و سمیت ناشی از حضور یون‌های سمی در محیط است که از دست رفتن آن به عنوان یک خطر بزرگ برای حیات سلول گیاهی شناخته می‌شود (Ramos et al., 2004; Yazici et al., 2007).



شکل ۲- مقایسه میانگین مشاهدات وزن خشک ریشه گیاه خرفه تحت تأثیر تنش‌های غیر زیستی (شوری–زخم) و کاربرد خارجی تنظیم کننده های رشد (GA جیبرلیک اسید– SA سالیسیلیک اسید – NAA نفتالین استیک اسید).میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، مطابق آزمون دانکن (P≤۰/۰۵) اختلاف معنی‌داری ندارند.میله های هریک از ستون‌ها مقدار خطای استاندارد را نشان می‌دهند.

Figure 2- Means Comparison for root dry weight of purslane plant under abiotic stresses (salinity - wounding) and the external application of plant growth regulators (GA, SA and NAA). Means that have at least one letter in common are not significantly different according to Duncan's test (P≤0.05).

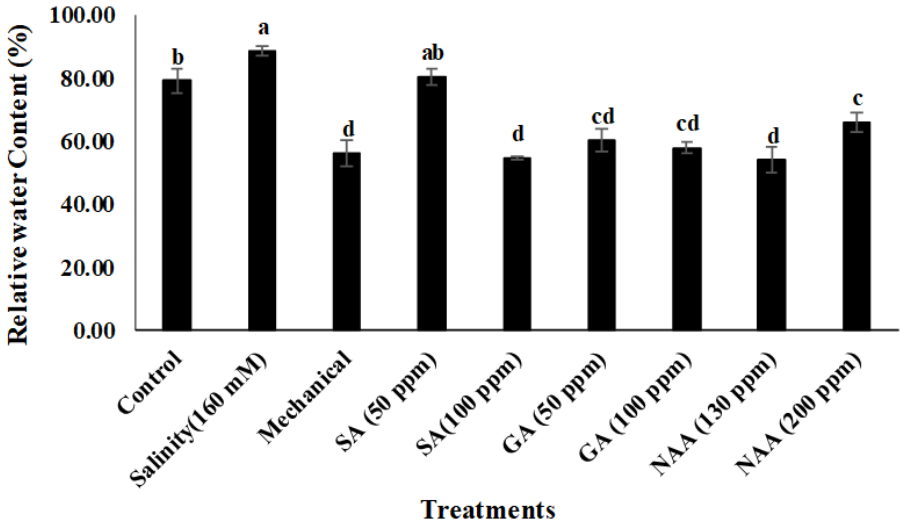
محتوای آب نسبی برگ و پایداری غشای سلول

بررسی نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان دادند تنش شوری ۱۶۰ میلی‌مولار به‌صورت معنی‌دار محتوای آب نسبی برگ گیاه خرفه را نسبت به شاهد افزایش داد. اگرچه این افزایش نسبت به اعمال کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر معنی‌دار نبود، ولی نسبت به شاهد و سایر تیمارهای اعمال شده معنی‌دار بود (شکل۳). به طور کلی در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه، سالیسیلیک اسید نقش سیگنالی و ترارسان دارد. بر اساس بررسی‌های صورت گرفته، محلول‌پاشی برگی سالیسیلیک اسید با افزایش محتوای رطوبت نسبی برگ سبب حفظ فشار تورژسانس و افزایش حجم برگ شده و نیز غشای سلولی را محافظت می‌کند (Colom & Vazzana, 2003). نتایج نشان دادند در گیاهان ریحان که در شرایطی مواجه با تنش کم آبی رشد کرده‌اند، کاربرد سالیسیلیک اسید موجب افزایش شاخص‌های رشد، محتوی نسبی آب بافت‌ها و نیز سبب کاهش میزان پرولین و نیز نشت الکترولیتی شده است (Kordi et al., 2013). نتایج به دست آمده نشان دادند تیمار زخم و کاربرد خارجی نفتالین استیک اسید در هر دو غلظت ۱۳۰ و ۲۰۰

میلی‌گرم بر لیتر و نیز کاربرد خارجی جیبرلیک اسید در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به صورت معنی‌داری سبب افزایش پایداری غشای سلولی نسبت به شاهد شدند (شکل۴).

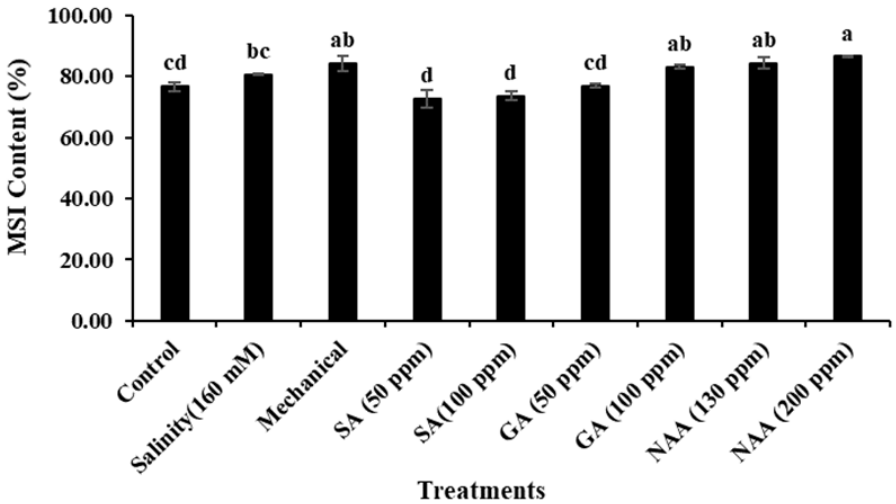
محتوای فنل کل و فلاونوئید

مقایسه میانگین نتایج حاکی از تأثیر معنی‌دار بودن کاربرد خارجی تنظیم کننده‌های رشد بر محتوای فنل کل بخش هوایی گیاه داشت. نتایج مقایسه میانگین مشاهدات نشان دادند بیش‌ترین محتوی فنل کل اندام هوایی مربوط به کاربرد خارجی جیبرلیک اسید ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر بود که اختلاف آن با تیمار شاهد و نیز سایر تیمارها معنی‌دار است (شکل ۵). امروزه یکی از مهم‌ترین تنظیم کننده‌های رشد گیاهی جیبرلین‌ها هستند که به طور طبیعی در گیاهان عالی وجود دارند (Abbasi et al., 2019). در بیوسنتز ترکیبات فنلی آنزیم‌های متعددی نقش دارند، از جمله مهم‌ترین این آنزیم‌ها فنیل آلانین آمونیالیاز، سینامات ۴-هیدروکسیلاز(C4H) و چالکون سنتاز هستند (Winkel–Shirley, 2001). در یک آزمایش مطابق با نتایج به دست آمده، کاربرد جیبرلین سبب افزایش محتوی ترکیبات فنلی شد. پژوهشگران این آزمایش افزایش محتوی ترکیبات فنلی را به علّت نقش پر اهمیت جیبرلین در افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) دانستند. بررسی‌ها نشان داده است فعالیت این آنزیم شدیداً تحت تأثیر شرایط محیطی و هورمونی است و نقش قابل توجهی در کنترل سنتز فنل کل دارد (Al-Amier & Craker, 2007; Adil et al., 2007). محتوی فنل کل در کاربرد ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سالیسیلیک اسید تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد نداشت، ولی با افزایش غلظت به ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، محتوی فنل کل نسبت به تیمار شاهد به صورت معنی داری کاهش یافت. مطابق با نتایج این آزمایش، در یک پژوهش با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید به ۱۰۰ پی پی ام، میزان تولید فنل کل در گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) کاهش یافته بود (Abpaykar et al., 2021). عوامل مختلفی از جمله غلظت، نوع الیسیتور به کار رفته بر میزان تولید متابولیت‌های ثانویه تأثیرگذار است، بنابراین می‌توان چنین گفت غلظت‌های بالای الیسیتور منجر به ایجاد پاسخ‌های فوق حساس و مرگ سلولی می شود. در حالی که غلظت‌های بهینه آن‌ها برای تولید متابولیت‌های ثانویه مورد نیاز است (Yan et al., 2006; Namdeo, 2007; Roewer et al., 1992)



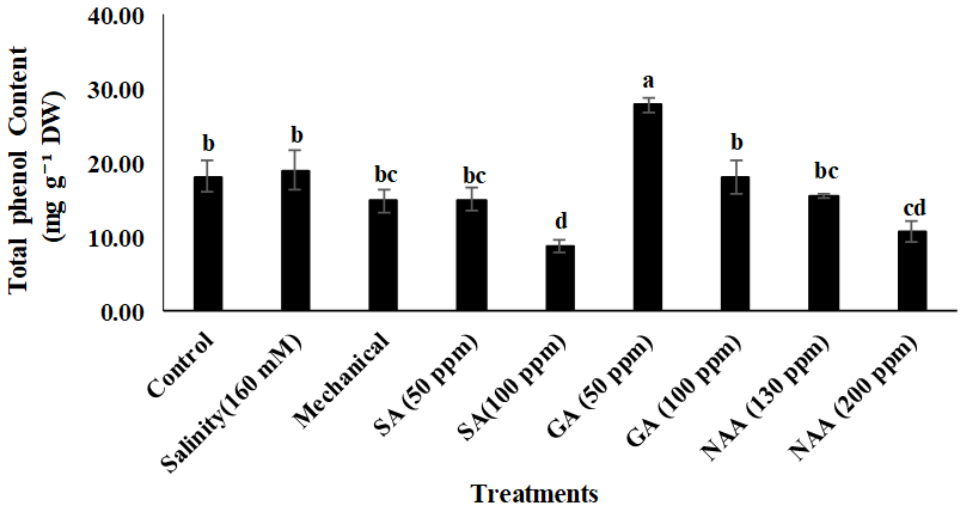
شکل ۳- مقایسه میانگین مشاهدات محتوای آب نسبی موجود در برگ گیاه خرفه تحت تأثیر تنش‌های غیر زیستی (شوری- زخم) و کاربرد خارجی تنظیم کننده‌های رشد (GA جیبرلیک اسید – SA سالیسیلیک اسید – NAA نفتالین استیک اسید). میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، مطابق آزمون دانکن (P≤۰/۰۵) اختلاف معنی‌داری ندارند. میله های هریک از ستون‌ها مقدار خطای استاندارد را نشان می‌دهند.

Figure 3- Means Comparison for relative water content of purslane plant under abiotic stresses (salinity-wounding) and the external application of plant growth regulators (GA, SA and NAA). Means that have at least one letter in common are not significantly different according to Duncan's test (P≤0.05).



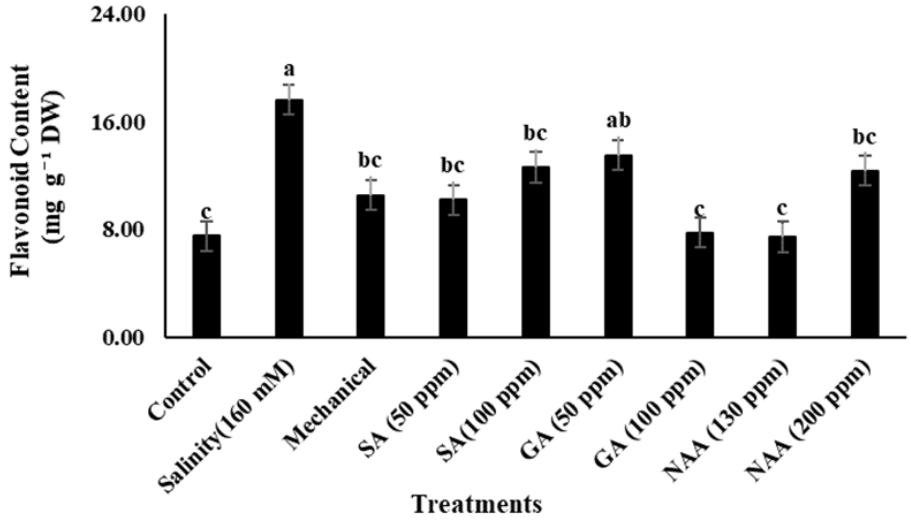
شکل ۴- مقایسه میانگین مشاهدات پایداری غشاء سلولی گیاه خرفه تحت تأثیر تنش‌های غیرزیستی (شوری- زخم) و کاربرد خارجی تنظیم کننده‌های رشد (GA جیبرلیک اسید– SA سالیسیلیک اسید– NAA نفتالین استیک اسید). میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، مطابق آزمون دانکن (P≤۰/۰۵) اختلاف معنی‌داری ندارند.میله‌های هریک از ستون‌ها مقدار خطای استاندارد را نشان می‌دهند.

Figure 4- Means Comparison for MSI content of purslane plant under abiotic stresses (salinity - wounding) and the external application of plant growth regulators (GA, SA and NAA). Means that have at least one letter in common are not significantly different according to Duncan's test (P≤0.05).



شکل ۵- مقایسه میانگین مشاهدات محتوای ترکیبات فنلی بخش هوایی گیاه خرفه تحت تأثیر تنش‌های غیرزیستی (شوری–زخم)و کاربرد خارجی تنظیم کننده‌های رشد (GA جیبرلیک اسید – SA سالیسیلیک اسید – NAA نفتالین استیک اسید). میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، مطابق آزمون دانکن (P≤۰/۰۵) اختلاف معنی‌داری ندارند.میله‌های هریک از ستون‌ها مقدار خطای استاندارد را نشان می‌دهند.

Figure 5- Means Comparison for total phenol content of purslane plant under abiotic stresses (salinity - wounding) and the external application of plant growth regulators (GA, SA and NAA). Means that have at least one letter in common are not significantly different according to Duncan's test (P≤0.05).



شکل۶- مقایسه میانگین مشاهدات محتوای فلاونوئید بخش هوایی گیاه خرفه تحت تاثیر تنش های غیر زیستی (شوری – زخم) و کاربرد خارجی تنظیم کننده‌های رشد (GA جیبرلیک اسید– SA سالیسیلیک اسید– NAA نفتالین استیک اسید). میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون دانکن (P≤۰/۰۵) اختلاف معنی‌داری ندارند.میله‌های هریک از ستون‌ها مقدار خطای استاندارد را نشان می‌دهند.

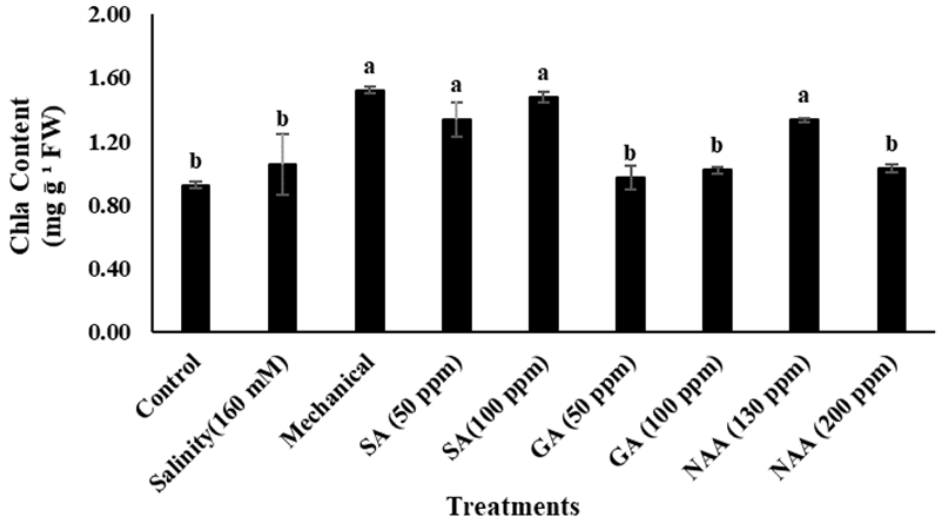
Figure 6- Means Comparison for flavonoid content of purslane plant under abiotic stresses (salinity - wounding) and the external application of plant growth regulators (GA, SA and NAA). Means that have at least one letter in common are not significantly different according to Duncan's test (P≤0.05).

مقایسه میانگین داده‌های مربوط به سنجش فلاونوئید نشان دادند بیش‌ترین میزان محتوی فلاونوئید مربوط به گیاهانی بود که تحت تأثیر تنش شوری ۱۶۰ میلی‌مولار قرار گرفته بودند (شکل۶). بر اساس نتایج حاصل، پژوهش‌های انجام شده توسط سایر پژوهشگران نیز تأثیر تنش شوری را در افزایش محتوی ترکیبات فنلی مانند فلاونوئیدها تأیید نمودند، افزایش فلاونوئیدها تحت تأثیر تنش شوری، احتمالاً به علّت نقش موثر این ترکیبات در کلات کردن یون‌های سمی است (Wahid & Ghazanfar, 2006). به طوری که این ترکیبات در گیاهان مواجه با تنش‌های زیستی و غیر زیستی به صورت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی عمل می‌کند و همچنین در مراکز تولید ROS که هسته سلول‌های مزوفیلی هستند حضور آن‌ها تأئید شده است. این فرضیه مطرح است که احتمالاً جابجایی و کاتابولیسم اکسین را فلاونوئیدها تنظیم می کنند و در برهم کنش گیاه-محیط نقش بسزایی دارند (Kumar & Pandey, 2013). پژوهش‌های قبلی نشان دهنده آن است که افزایش ترکیبات فنلی مرتبط با افزایش فعالیت آنزیم‌های درگیر در فرآیندهای متابولیسم ترکیبات فنلی است که در ارتباط با سنتز از نو فنل‌ها تحت تنش شوری دارد (Adil et al., 2007).

همچنین در این آزمایش کاربرد خارجی جیبرلیک اسید ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سبب افزایش میزان محتوی فلاونوئید شد که این افزایش اگر چه نسبت به سایر تیمارها معنی‌دار نبود، ولی نسبت به شاهد معنی‌دار است (شکل۶).

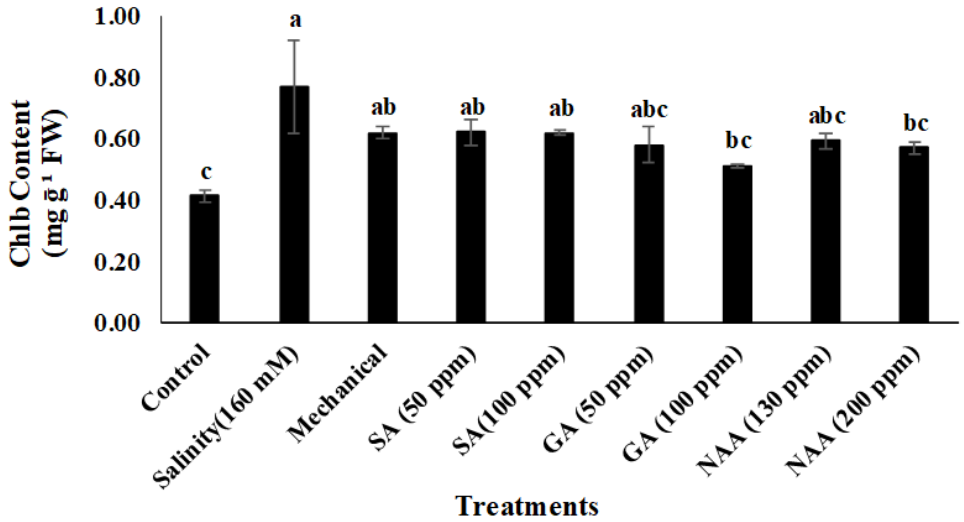
رنگدانه‌های فتوسنتزی

مواد تنظیم کننده رشد گیاهی با تأثیر بر روی بیوسنتز و تجزیه کلروفیل به طور مستقیم فتوسنتز گیاه را تحت تأثیر قرار می دهند. رنگدانه‌های کاروتنوئید با جذب طول موج‌های کوتاه قادرند اکسیژن یکتایی را به سه تایی تبدیل کنند و به نحوی با حذف رادیکال‌های آزاد، نقش روبندگی داشته باشند (Kordi et al., 2013). مقایسه میانگین مشاهدات مربوط به رنگیزه‌های فتوسنتزی نشان دادند به‌جز کلروفیل a، محتوای سایر رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط مواجه با تنش شوری به صورت معنی‌داری افزایش یافت (شکل‌های۱۰-۷). در گیاه دارویی مرزه (*Satureja horetnsis* L.) تیمار شوری و جیبرلین محتوی کلروفیل a را نسبت به شاهد افزایش داد (Firoozeh et al., 2019). افزایش محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کاروتنوئیدها با افزایش سطح تنش اعمال شده، دلیلی بر سازوکارهای دفاعی گیاهان در مواجه با تنش است. به طوری که در ذرت و جو تحت تنش شوری، افزایش میزان کاروتنوئیدها در ارقام متحمل مشاهده شده است (Kholova et al., 2010; Yidiz & Terzi, 2013). در پژوهش حاضر، کاربرد خارجی جیبرلیک اسید و نفتالین استیک اسید در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از نظر محتوی کلروفیل a نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری نداشتند، ولی تیمار زخم محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها را نسبت به شاهد افزایش داد (شکل‌های ۱۰-۷). کاربرد خارجی جیبرلین در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر به صورت معنی‌دار میزان کلروفیل کل و کاروتنوئیدها را نسبت به شاهد افزایش داد (شکل‌های ۹ و ۱۰).



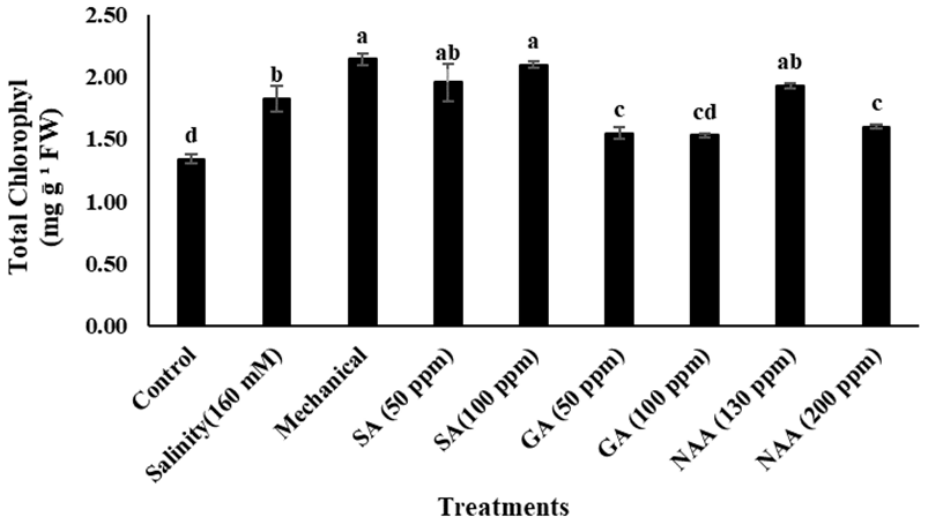
شکل۷ - مقایسه میانگین مشاهدات میزان کلروفیل a تحت تأثیر تنش‌های غیرزیستی (شوری–زخم) و کاربرد خارجی تنظیم کننده‌های رشد (GA جیبرلیک اسید– SA سالیسیلیک اسید– NAA نفتالین استیک اسید). میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، مطابق آزمون دانکن (P≤۰/۰۵) اختلاف معنی‌داری ندارند. میله‌های هریک از ستون‌ها مقدار خطای استاندارد را نشان می‌دهند.

Figure 7- Means Comparison for chla content of purslane plant under abiotic stresses (salinity - wounding) and the external application of plant growth regulators (GA, SA and NAA). Means that have at least one letter in common are not significantly different according to Duncan's test (P≤0.05).



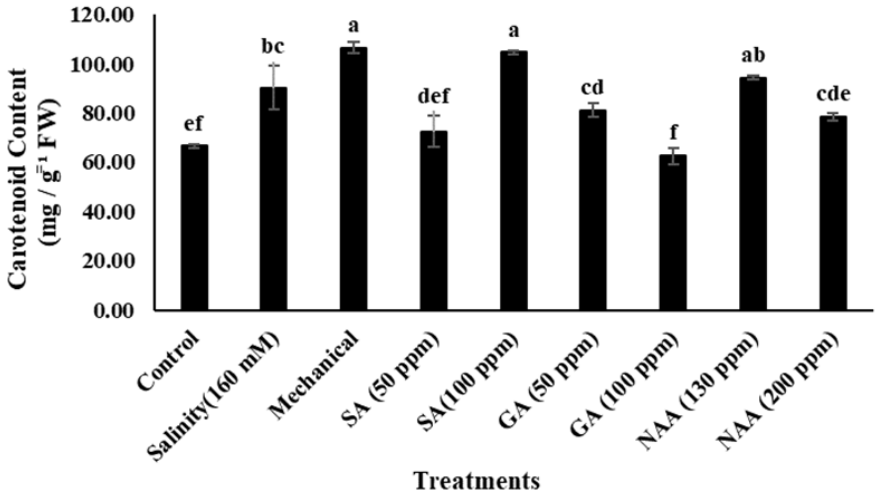
شکل ۸- نتایج مقایسه میانگین مشاهدات حاصل از میزان کلروفیل b تحت تاثیر تنش‌های غیرزیستی (شوری- زخم) و کاربرد خارجی تنظیم کننده‌های رشد (GA جیبرلیک اسید– SA سالیسیلیک اسید– NAA نفتالین استیک اسید). میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، مطابق آزمون دانکن (P≤۰/۰۵) اختلاف معنی‌داری ندارند. میله‌های هریک از ستون‌ها مقدار خطای استاندارد را نشان می‌دهند.

Figure 8- Means Comparison for chlb content of purslane plant under abiotic stresses (salinity - wounding) and the external application of plant growth regulators (GA, SA and NAA). Means that have at least one letter in common are not significantly different according to Duncan's test (P≤0.05).



شکل ۹- مقایسه میانگین مشاهدات میزان کلروفیل کل تحت تأثیر تنش‌های غیرزیستی (شوری–زخم) و کاربرد خارجی تنظیم کننده‌های رشد (GA جیبرلیک اسید– SA سالیسیلیک اسید– NAA نفتالین استیک اسید). میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، مطابق آزمون دانکن (P≤۰/۰۵) اختلاف معنی‌داری ندارند. میله‌های هریک از ستون‌ها مقدار خطای استاندارد را نشان می‌دهند.

Figure 9- Means Comparison for total chlorophyl content of purslane plant under abiotic stresses (salinity-wounding) and the external application of plant growth regulators (GA, SA and NAA). Means that have at least one letter in common are not significantly different according to Duncan's test (P≤0.05).



شکل ۱۰- مقایسه میانگین مشاهدات میزان کاروتنوئید تحت تأثیر تنش های غیر زیستی (شوری-زخم) و کاربرد خارجی تنظیم کننده‌های رشد (GA جیبرلیک اسید– SA سالیسیلیک اسید–NAA نفتالین استیک اسید). میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، مطابق آزمون دانکن (P≤۰/۰۵) اختلاف معنی‌داری ندارند. میله‌های هریک از ستون‌ها مقدار خطای استاندارد را نشان می‌دهند.

Figure10- Means Comparison for carotenoid content of purslane plant under abiotic stresses (salinity - wounding) and the external application of plant growth regulators (GA, SA and NAA). Means that have at least one letter in common are not significantly different according to Duncan's test (P≤0.05).

تأثیر بهبود دهندگی سالیسیلیک اسید از نظر محتوی میزان کلروفیل و متعاقب آن افزایش راندمان فتوسنتز در گزارش‌های متعدد تأئید شده است (Mahajan & Tuteja, 2005). در این آزمایش کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید به صورت معنی‌داری محتوی کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل را نسبت به شاهد افزایش داد (شکل‌های ۹-۷). غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سالیسلیک اسید، محتوی کاروتنوئیدها را نسبت به شاهد به صورت معنی‌داری افزایش داد (شکل۱۰). در یک آزمایش کاربرد خارجی سالسیلیک اسید شاخص کلروفیل گیاه و ظرفیت فتوسنتزی گیاه را افزایش داد. پژوهشگران این آزمایش تأثیر بهبود دهندگی سالیسیلیک اسید بر ظرفیت فتوسنتزی گیاه را به تأثیر تحریکی فعالیت روبیسکو و محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی نسبت دادند (Ommen et al ., 1999). به نظر می‌رسد تنظیم کننده‌های رشد گیاهی از جمله سالیسیلیک اسید با تسهیل در جذب عناصر غذایی و تأثیرگذاری بر فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی، نقش بهبود دهندگی در فرآیندهای رشد و نموی گیاه دارند (Mashayekhi & Atashi, 2012).

نتایج ما حاکی از آن بود که کاربرد خارجی جیبرلیک اسید ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نیز میزان کلروفیل کل و کاروتنوئیدها را نسبت به شاهد به صورت معنی‌داری افزایش داد (شکل ۹ و۱۰). نتایج مشابهی درباره کاربرد نفتالین استیک اسید بر روی میزان کلروفیل کل (شکل ۹) و نیز کاربرد غلظت ۱۳۰ میلی‌گرم بر لیتر آن از نظر میزان کلروفیل a و کاروتنوئیدها مشاهده شد (شکل‌های ۱۰ و۷).

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان دادند بیش‌ترین وزن خشک ریشه به تیمار شاهد مربوط بود و اعمال سایر تیمارهای آزمایشی وزن خشک ریشه را به صورت معنی‌داری کاهش داد. کاربرد تنش شوری و نفتالین استیک اسید در هر دو غلظت مورد بررسی سبب کاهش وزن خشک بخش هوایی نسبت به شاهد شد. بیش‌ترین محتوای آب نسبی برگ به شرایط تنش شوری مربوط بود. تیمار زخم و کاربرد خارجی مواد تنظیم کننده‌های رشد شامل نفتالین استیک اسید و جیبرلیک اسید در غلظت ۱۰۰میلی‌گرم بر لیتر به صورت معنی‌داری سبب افزایش ضریب پایداری غشای سلول شد. بیش‌ترین محتوی فنل کل به کاربرد خارجی جیبرلیک اسید و در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیترمربوط بود. تنش شوری و کاربرد خارجی جیبرلیک اسید به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر محتوی فلاونوئیدها را به صورت معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش داد. نتایج آزمایش ما حاکی از آن بود که شوری محتوی کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید را بهبود بخشید، تأثیر تنش مکانیکی افزایشی و محتوی تمامی رنگیزه‌های فتوسنتزی را بهبود داد. در این آزمایش کاربرد سالیسیلیک اسید نیز از نظر تأثیر بر رنگدانه‌های فتوسنتزی نقش بهبود دهندگی داشت. کاربرد خارجی جیبرلیک اسید تنها در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر و نفتالین استیک اسید در هر دو غلظت ۱۳۰ و ۲۰۰

میلی‌گرم بر لیتر سبب افزایش کلروفیل کل شدند. نتایج به دست آمده بیان‌گر نقش موثر تنظیم کننده‌های رشد و نیز تنش‌های شوری و مکانیکی بر محتوی فنل، فلاونوئید و رنگدانه‌های فتوسنتزی است.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد بخاطر حمایت مالی این پروژه از محل گرنت شماره۵۸۱۹/۳ سپاسگزاری می شود.

References

Abbasi, A., Maleki, A., Babaei, F., Safari, H., & Rangin, A. (2019). The role of gibberellic acid and zinc sulfate on biochemical performance relate to drought tolerance of white bean under water stress. *Cellular and Molecular Biology*, *65*(3), 1-10. https://doi.org/10.14715/cmb/2019.65.3.1

Abpaykar, M., Ganjali, S., Fahmideh, L., & Heidari, F. (2021). Effect of different levels of salicylic acid foliar application on phenols, flavonoids, antioxidant activity, and photosynthetic pigments of peppermint. *Crop Science Research in Arid Regions*, *3*(1), 97-110. https://doi.org/10.22034/csrar.2021.288792.1095 [In Persian].

Adil, I. H., Cetin, H. I., Yener, M. E., & Bayındırlı, A. (2007). Subcritical (carbon dioxide+ethanol) extraction of polyphenols from apple and peach pomaces, and determination of the antioxidant activities of the extracts. *The Journal of Supercritical Fluids*, *43*(1), 55-63. https://doi.org/10.1016/j.supflu.2007.04.012

Al-Amier, H., & Craker, L. E. (2007). In vitro selection for stress tolerant spearmint. *Issues in New Crops and New Uses*, 306-310. https://B2n.ir/q35160

Bian, S., & Jiang, Y. (2009). Reactive oxygen species, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in leaves and roots of Kentucky bluegrass in response to drought stress and recovery. *Scientia Horticulturae*, *120*(2), 264-270. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.10.014

Boo, H. O., Heo, B. G., Gorinstein, S., & Chon, S. U. (2011). Positive effects of temperature and growth conditions on enzymatic and antioxidant status in lettuce plants. *Plant Science*, *181*(4), 479-484. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.07.013

Chai, T. T., Fadzillah, N. M., Kusnan, M., & Mahmood, M. (2005). Water stress-induced oxidative damage and antioxidant responses in micropropagated banana plantlets. *Biologia Plantarum*, *49*, 153-156. https://doi.org/10.1007/s00000-005-3156-9

Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, *10*(3). https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748

Choi, Y. J., Tomás-Barberán, F. A., & Saltveit, M. E. (2005). Wound-induced phenolic accumulation and browning in lettuce (*Lactuca sativa L.*) leaf tissue is reduced by exposure to n-alcohols. *Postharvest Biology and Technology*, 37(1), 47-55. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.03.002

Colom, M. R., & Vazzana, C. (2003). Photosynthesis and PSII functionality of drought-resistant and drought-

sensitive weeping lovegrass plants. *Environmental and Experimental Botany*, *49*(2), 135-144. https://doi.org/10.1016/S0098-8472(02)00065-5

Du, H., Ahmed, F., Lin, B., Li, Z., Huang, Y., Sun, G., & Gao, Z. (2017). The effects of plant growth regulators on cell growth, protein, carotenoid, PUFAs and lipid production of *Chlorella pyrenoidosa* ZF strain. *Energies*, *10*(11), 1696. https://doi.org/10.3390/en10111696

El Kashef, R. K., Soliman, A. S., Hassan, H. M., & Abd-Elhak, N. A. (2018). Evaluation of total phenolic content and antioxidant activity of different solvent extracts of Egyptian purslane leaves. *Current Science*, *7*, 616-623. https://www.curresweb.com/csi/csi/2018/616-623.pdf

Fazly Bazzaz, B. S., Haririzadeh, G., Imami, S. A., & Rashed, M. H. (1997). Survey of Iranian plants for alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins [Khorasan Province]. *International Journal of Pharmacognosy*, *35*(1), 17-30. https://doi.org/10.1076/phbi.35.1.17.13275

Firoozeh, R., Khavarinejad, R., Najafi, F., & Saadatmand, S. (2019). Effects of gibberellin on contents of photosynthetic pigments, proline, phenol and flavonoid in savory plants (*Satureja hortensis L.*) under salt stress. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, *31*(4), 894-908. https://plant.ijbio.ir/article_1182_en.html?lang=en&lang=en [In Persian].

Gupta, B., & Huang, B. (2014). Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. *International Journal of Genomics*. https://doi.org/10.1155 /2014/701596

Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K., & Bohnert, H. J. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Biology*, *51*(1), 463-499. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.51.1.463

Hashempour, A., Ghasemnezhad, M., Fotouhi Ghazvini, R., & Sohani, M. M. (2014). The physiological and biochemical responses to freezing stress of olive plants treated with salicylic acid. *Russian Journal of Plant Physiology*, *61*, 443-450. https://doi.org/10.1134/S1021443714040098

Hayat, S., Hasan, S. A., Fariduddin, Q., & Ahmad, A. (2008). Growth of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in response to salicylic acid under water stress. *Journal of Plant Interactions*, *3*(4), 297-304. https://doi.org/10.1080/17429140802320797

Iranshahy, M., Javadi, B., Iranshahi, M., Jahanbakhsh, S. P., Mahyari, S., Hassani, F. V., & Karimi, G. (2017). A review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Portulaca oleracea L. Journal of Ethnopharmacology*, *205*, 158-172. https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.05.004

Jacobo-Velázquez, D. A., & Cisneros-Zevallos, L. (2012). An alternative use of horticultural crops: stressed plants as biofactories of bioactive phenolic compounds. *Agriculture*, *2*(3), 259-271. https://doi.org/10.3390/agriculture2030259

Kafi, M., & Rahimi, Z. (2010). Salinity Effects on Germination Properties of Purslane (*Portulaca oleracea L.*). *Iranian Journal of Field Crops Research*, *8*(4), 615-621. https://doi.org/10.22067/gsc.v8i4.7954

Kholova, J., Sairam, R. K., & Meena, R. C. (2010). Osmolytes and metal ions accumulation, oxidative stress and antioxidant enzymes activity as determinants of salinity stress tolerance

in maize genotypes. *Acta Physiologiae Plantarum*, *32*, 477-486. http://dx.doi.org/10.1007/s11738-009-0424-y

Kim, I. Y., Lee, M. H., Shim, S. B., & Chun, Y. J. (2013). Skin lightening and wrinkle improving efficacy of organic *Portulaca oleracea* extract in skin care cosmetic. *International Journal of Bio-Science and Bio-Technology,* 5(5), 75-84. http://dx.doi.org/10.14257/ijbsbt.2013.5.5.08

King, R. W., & Evans, L. T. (2003). Gibberellins and flowering of grasses and cereals: prizing open the lid of the "florigen" black box. *Annual Review of Plant Biology*, *54*(1), 307-328. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.54.031902.135029

Kordi, S., Saidi, M., & Ghanbari, F. (2013). Induction of drought tolerance in sweet basil (*Ocimum basilicum L.*) by salicylic acid. *International Journal of Agricultural and Food Research*, *2*(2), 18-26. https://doi.org/10.24102/IJAFR.V2I2.149

Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal*, (1), 162750. http://dx.doi.org/10.1155/2013/162750

Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In *Methods in enzymology* (Vol. 148, pp. 350-382). Academic Press. https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1

Mahajan, S., & Tuteja, N. (2005). Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *444*(2), 139-158. https://doi.org/10.1016/j.abb.2005.10.018

Mashayekhi, K., & Atashi, S. (2012). The effect of foliar application of boric acid and sucrose on some biochemical properties of strawberry plants cv. Camarosa. *Journal of Plant Production Research*, *19*(4), 157-172. https://jopp.gau.ac.ir/article_1066.html [In Persian].

Møller, I. M., & Kristensen, B. K. (2004). Protein oxidation in plant mitochondria as a stress indicator. *Photochemical and Photobiological Sciences*, *3*, 730-735. https://doi.org/10.1039/B315561G

Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment*, *25*(2), 239-250. https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00808.x

Namdeo, A. G. (2007). Plant cell elicitation for production of secondary metabolites: a review. *Pharmacognosy Reviews*, *1*(1), 69-79. https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20083090443

Ommen, O. E., Donnelly, A., Vanhoutvin, S. V. A. N., Van Oijen, M., & Manderscheid, R. (1999). Chlorophyll content of spring wheat flag leaves grown under elevated CO_2 concentrations and other environmental stresses within the 'ESPACE-wheat'project. *European Journal of Agronomy*, *10*(3-4), 197-203. https://doi.org/10.1016/S1161-0301(99)00011-8

Oraibi, A., AlShammari, A., Mohsien, R., & Obaid, W. (2017). Investigation the antibacterial activity of *Portulaca oleracea L.* tissue cultures in vitro. *Journal of Pharmaceutical Research International*, *18*(5), 1-7. https://B2n.ir/k77779

Osman, N. I., Sidik, N. J., & Awal, A. (2016). Effects of variations in culture media and hormonal treatments upon callus induction potential in endosperm explant of *Barringtonia racemosa L. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(2), 143-147.

https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.10.007

Parida, A. K., & Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *60*(3), 324-349. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.06.010

Rahimi, Z., Kafi, M., Nezami, A., & Khozaie, H. R. (2011). Effect of salinity and silicon on some morphophysiologic characters of purslane (*Portulaca oleracea* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, *27*(3), 359-374. https://doi.org/10.22092/ijmapr.2011.6369 [In Persian].

Rasheed, A. N., Afifi, F. U., Shaedah, M., & Taha, M. O. (2004). Investigation of the active constituents of *Portulaca oleraceae* L.(Portulacaceae) growing in Jordan. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences,17(1)*, 37-45. https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/emr-68035

Ramos, J., López, M. J., & Benlloch, M. (2004). Effect of NaCl and KCl salts on the growth and solute accumulation of the halophyte *Atriplex nummularia*. *Plant and Soil*, *259*, 163-168. https://doi.org/10.1023/B:PLSO.0000020953.50331.a5

Roewer, I. A., Cloutier, N., Nessler, C. L., & De Luca, V. (1992). Transient induction of tryptophan decarboxylase (TDC) and strictosidine synthase (SS) genes in cell suspension cultures of Catharanthus roseus. *Plant Cell Reports*, *11*, 86-89. https://doi.org/10.1007/BF00235259

Sairam, R. K., & Saxena, D. C. (2000). Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science*, *184*(1), 55-61. https://doi.org/10.1046/j.1439-037x.2000.00358.x

Sarker, U., Islam, M. T., & Oba, S. (2018). Salinity stress accelerates nutrients, dietary fiber, minerals, phytochemicals and antioxidant activity in *Amaranthus tricolor* leaves. *Plos One*, *13* (11), e0206388. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206388

Savatin, D. V., Gramegna, G., Modesti, V., & Cervone, F. (2014). Wounding in the plant tissue: the defense of a dangerous passage. *Frontiers in Plant Science*, *5*, 470. https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00470

Shahrivar, Z., Abtahi, F., & Hatami, M. (2020). Effect of growth regulator salicylate on some physiological and biochemical parameters of peppermint (*Mentha piperita* L.) under drought stress. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 32(4), 724-735. https://sid.ir/paper/363146/en [In Persian].

Teixeira, M. (2009). *Growth conditions, omega-3 fatty acid concentrations and gene expression of fatty acid desaturases in Portulaca Oleracea leaves* [Doctoral dissertation, Universidade do Algarve (Portugal)]. ProQuest. https://B2n.ir/s25445

Velioglu, Y., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *46*(10), 4113-4117. https://doi.org/10.1021/jf9801973

Wahid, A., & Ghazanfar, A. (2006). Possible involvement of some secondary metabolites in salt tolerance of sugarcane. *Journal of Plant Physiology*, *163*(7), 723-730. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.07.007

Winkel-Shirley, B. (2001). Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant*

Physiology, *126*(2), 485-493. https://doi.org/10.1104/pp.126.2.485

Yan, Q., Shi, M., Ng, J., & Wu, J. Y. (2006). Elicitor-induced rosmarinic acid accumulation and secondary metabolism enzyme activities in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots. *Plant Science*, *170*(4), 853-858. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.12.004

Yazici, I., Türkan, I., Sekmen, A. H., & Demiral, T. (2007). Salinity tolerance of purslane (*Portulaca oleracea L.*) is achieved by enhanced antioxidative system, lower level of lipid peroxidation and proline accumulation. *Environmental and Experimental Botany*, *61*(1), 49-57. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.02.010

Yıldız, M., & Terzi, H. (2013). Effect of NaCl stress on chlorophyll biosynthesis, proline, lipid peroxidation and antioxidative enzymes in leaves of salt-tolerant and salt-sensitive barley cultivars. *Journal of Agricultural Sciences*, *19*(2), 79-88. https://doi.org/10.1501/Tarimbil-0000001232