ژنتیک نوین
دوره دوازدهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۶
صفحه ۲۵۲ - ۲۴۱

مطالعه اثرات باکتری محرک رشد و اسید سالیسیلیک در گیاه نعناع سبز (*Mentha spicata* L.) تحت شرایط تنش خشکی

Study the effects of Plant Growth Promoting Bacteria and salicylic acid in green mint (*Mentha spicata* L.) under drought stress conditions

کمال صالحی*[۱]، محمود سلوکی[۲]، محمود تنها[۳]

۱- دانشجوی دکتری، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه هرمزگان، هرمزگان، ایران
۲- دانشیار، گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه اصلاح گیاهان، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

Salehi K*[1], Solouki M[2], M Tanha[3]

1- PhD Student, Department of Biotechnology, College of Agriculture, University of Hormozgan, Hormozgan, Iran
2- Associate Professor, Department of Plant Breeding, College of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran
3- Graduate MSc Student, Department of Plant Breeding, College of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: kamalsalehi88@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۹۵/۱/۲۹ - تاریخ پذیرش: ۹۵/۶/۲۸)

چکیده

به‌منظور بررسی اثر باکتری *Bacillus amyloliquefaciens* 1732 و اسید سالیسیلیک بر صفات آنتی-اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی و هم‌چنین بیان ژن لیمونن هیدروکسیلاز در گیاه نعناع سبز تحت تنش خشکی آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی شامل سه سطح تنش خشکی، ۸۰ درصد ظرفیت زراعی (شاهد)، ۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی، به‌عنوان فاکتور A، کود زیستی (تلقیح و عدم تلقیح) فاکتور B و اسید سالیسیلیک (صفر و یک میلی‌مولار) به‌عنوان فاکتور C در سه تکرار انجام شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که کاربرد باکتری و اسید سالیسیلیک سبب افزایش آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی فنل و فلاونوئید شد. هم‌چنین میزان بیان ژن لیمونن هیدروکسیلاز به‌عنوان ژن دخیل در سنتز منوترپن‌ها در شرایط تنش تحت تیمار باکتری و اسید سالیسیلیک افزایش یافت. کاربرد تیمار باکتری و اسید سالیسیلیک اثر معنی‌داری بر آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نداشت در حالی تنش خشکی سبب افزایش بسیار معنی‌داری بر فعالیت-های آنتی اکسیدانی شد. نتایج این آزمایش حاکی از آن است که باکتری و اسید سالیسیلک با افزایش فنل کل و فلاونوئید و افزایش متابولیت‌های ثانویه به‌عنوان اولین سد دفاعی، اثرات مخرب تنش خشکی را کاهش داده است. در نتیجه گیاه تحمل بیشتری را از خود نشان داده و انرژی کمتری را صرف تولید آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نموده است.

واژه‌های کلیدی

آنزیم‌های آنتی اکسیدانی
اسید سالیسیلیک
تنش خشکی
فلاونوئید
فنل کل
لیمونن هیدروکسیلاز

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.9.1]

مقدمه

گیاه نعناع سبز با نام علمی *Mentha spicata* L. یکی از گونه‌های موجود در جنس Mentha و متعلق به خانواده نعنائیان (Lamiaceae) است. این گیاه برای اولین بار درسال ۱۶۷۲ در منطقه‌ای از آمریکا کشت داده شد و دارای پراکنش وسیع در مناطق معتدل اروپا، آسیا، شمال آمریکا و به‌خصوص در نواحی مدیترانه است (Lewis 1998). ترپنوئیدها یک خانواده بزرگ از محصولات طبیعی هستند که به‌عنوان بهترین ترکیبات اسانس و رزین‌های دفاعی گیاه در گیاهان معطر شناخته می‌شوند. مونوترپن‌ها از اجزای اصلی اسانس گیاه نعناع سبز و یک گروه از ترپنوئیدها به‌شمار می‌آیند (McCartny et al. 2003). اکثر مونوترپن‌ها به واسطه‌ی تغییراتی که در ژرنال دی فسفات (GPP) در ابتدای مسیر سنتز ترپنوئیدها رخ می‌دهد حاصل می‌شوند و در طی این مسیر لیمونن توسط آنزیم ترپن سنتتاز تولید می‌شود. لیمونن ۳-هیدروکسیلاز به‌عنوان یک سیتوکروم P450 (یک کمپلکس آنزیمی) اکسیژناز وظیفه‌ی هیدروکسیله نمودن لیمونن (در کربن شماره۳) را دارد که در تولید و انتقال سایر ایزوپروپانوئیدها نقش دارد. این فعالیت در ابتدای متابولیسم رخ می‌دهد و این مشخصه تولید و متابولیسم مونوترپن‌ها در گیاه نعناع است (Croteau and Gershenzon. 1994).

از میان تنش‌های محیطی، تنش خشکی مهم‌ترین عامل محدود کننده تولید محصولات در سیستم‌های کشاورزی در مناطق خشک و نیمه خشک به حساب می‌آید (Debaeke and Abdellah. 2004). تنش خشکی تقریباً تمامی جنبه‌های رشد گیاه و بیشتر فرآیندهای فیزیولوژیک آن را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Hung 2000). تنش‌های غیر زیستی از طریق ایجاد تغییراتی در مسیر متابولیسم کربوهیدرات‌ها بر افزایش یا کاهش سطح بیان ژن‌های مربوطه، اثر گذار می‌باشند (Gupta and Kaur. 2005). بنابراین باعث القای بیان و یا ممانعت از بیان برخی از ژن‌ها می‌شوند (Kasuga et al. 1999). در شناسایی ژن‌های درگیر در سنتز پروتئین‌ها به‌منظور القای تحمل نسبی به خشکی با افزایش راندمان فتوسنتز و تجمیع پروتئین‌های محلول تحقیقاتی انجام شده‌است (Yangn et al. 2011). در این راستا گروه‌های مختلفی از ژن‌های درگیر شامل ژن‌های سنتز آنزیمی، فاکتورهای کنترلی[1]، عوامل رونویسی[2]، هورمون‌ها و پروتئین‌های هموستاتیک شناسایی شده‌اند (Chen et al. 2010). باکتری‌های منطقه ریزوسفر از طریق مکانیسم‌های مختلف می‌توانند باعث افزایش رشد و عملکرد گیاه شده که اصطلاحاً ریزوباکتری‌های محرک رشد[3](PGPR) نامیده می‌شوند (Lynch 1990). مهم‌ترین سازوکارهای تاثیر این باکتری-ها عبارتند از: افزایش فراهمی زیستی عناصر معدنی با تثبیت زیستی عناصر معدنی، تثبیت زیستی نیتروژن، محلول کردن فسفر و پتاسیم و مهار زیستی عوامل بیماری‌زا با تولید مواد تنظیم کننده رشد گیاه بویژه اکسین‌ها، جبرلین‌ها و سیتوکنین‌ها (Vessey 2003). تلقیح گیاه با باکتری محرک رشد *Paenibacillus polymyxa*، باعث افزایش القای بیان ژن *ERD15* در گیاه آرابیدوپسیس شده‌است و این ژن عامل تحمل به خشکی در این گیاه است (Timmusk and Wagner 1999).

اسید سالیسیلیک یا اسید ارتوهی۳ دروکسی بنزوئیک و ترکیبات متعلق به آن از مشتقات فنل‌های گیاهی می‌باشند (Popova et al. 1997). سالیسیلیک اسید یکی از مولکول‌های سیگنالی را در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی در گیاه القا می‌کند (Arfan et al. 2007). علاوه بر این، سالیسیلیک اسید به‌عنوان یک مولکول پیام‌رسان در مقاومت اکتسابی سیستمیک شناخته می‌شود و باعث افزایش القای مقاومت گیاه به سایر تنش‌ها می‌شود (Raskin 1992). نقش حمایتی اسید سالسیلیک مربوط به تنظیم رادیکال آزاد، آنتی اکسیدان‌ها، القا بیان ژن، جذب و پخش عناصر است (Meth welly et al. 2003) در مطالعه‌ای بیان ژن *H6H* و ایزوفرم‌های PMT تحت تاثیر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک در ریشه-های مویین و اندام‌های مختلف شابیزک افزایش یافت (Moradi et al. 2010).

گزارشات متعددی مبنی بر اهمیت نقش باکتری‌های محرک رشد و اسید سالیسیلیک بر کاهش اثرات ناشی از تنش‌ها از طریق افزایش بیان ژن‌های دفاعی و در نتیجه افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش‌ها وجود دارد. بر این اساس، با توجه به نقش کلیدی

[1] Regulatory Factor
[2] Transcription Factor
[3] Plant growth promoting rhizobacteria

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.9.1]

باکتری محرک رشد و اسید سالیسیلیک در توسعه‌ی میکانیزم‌های دفاعی، پژوهش حاضر به‌منظور بررسی اثر دو تیمار فوق بر بیان ژن لیمونن هیدروکسیلاز به‌وسیله تکنیک Real Time PCR و برخی از صفات دفاعی آنزیمی و غیر آنزیمی در گیاه نعناع تحت تنش خشکی انجام شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر باکتری‌های محرک رشد و محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر برخی صفات فیزیولوژیک گیاه نعناع سبز تحت شرایط تنش خشکی آزمایشی در آبان ماه سال ۱۳۹۲ در گلخانه پژوهشگاه دانشگاه زابل به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. عوامل مورد بررسی شامل تنش خشکی به‌عنوان فاکتور A در سه سطح (۸۰ به‌عنوان شاهد،٦٠ و ٤٠ درصد ظرفیت زراعی)، باکتری به‌عنوان فاکتور B در دو سطح (صفر یا شاهد و 10^{-9} CFU/mL) و اسید سالیسیلیک به‌عنوان فاکتور C به‌صورت محلول پاشی در دو غلظت صفر و یک میلی-مولار بود.

ریزوم‌های نعناع سبز از کلکسیون گیاهان پژوهشکده دانشگاه زابل تهیه شد. ریزوم‌های جوان در گلدان‌های با ابعاد ۲۰×۱۵ کشت شدند. کشت ریزوم‌ها در عمق یک سانتی‌متری از سطح خاک صورت گرفت و در هر گلدان تعداد سه الی چهار ریزوم کشت داده شد. خاک گلدان‌ها نیز مخلوط مساوی از خاک برگ و هوموس بود. گلدان‌ها در شرایط یکسان در دمای روزانه ۲۵ تا ۳۰ و شبانه ۱۸ تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. به‌دلیل استقرار مناسب باکتری روی ریشه و امکان تکثیر بهتر، بعد از ١٤ روز اعمال تنش خشکی به روش وزنی–حجمی صورت پذیرفت. پس از گذشت ۱۷ روز در شرایط تنش، محلول پاشی اسید سالیسیلیک اعمال شد. به‌منظور ایجاد شرایط یکسان از آب‌مقطر در محلول پاشی گیاه شاهد استفاده شد.

به‌منظور اعمال تنش خشکی ابتدا ۱۰ گلدان مشابه با گلدان‌های آزمایشی تا حد اشباع آبیاری و پس از گذشت ٤٨ ساعت گلدان-ها هر دو ساعت یک‌بار توزین شدند. در زمان ثابت شدن وزن گلدان‌ها از هر گلدان یک نمونه خاک تهیه، توزین و سپس جهت تعیین وزن خشک به آون با دمای ۱۰۳ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند و به‌مدت ٤٨ ساعت در آن قرار گرفتند. درصد آب خاک در حالت ظرفیت زراعی از طریق معادله زیر تعیین شد:

۱۰۰ × (وزن خشک خاک / وزن خشک خاک – وزن تر خاک) =درصد آب خاک (Nezami et al. 2012).

باکتری از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران به‌صورت لیوفیلیزه تهیه شد. برای تهیه مایع تلقیح سویه باکتری از محیط کشت‌های نیترینت آگار (NA) ونیترینت براث (NB)، استفاده شد (۰/۸ گرم پودر استاندارد شرکت مرک المان در ۱۰۰ میلی‌لیترآب مقطرpH=7). به این ترتیب که یک حلقه از کشت ٤٨ ساعته باکتری در محیط NA به فالکون‌ها انتقال یافته و به‌مدت ٣٦ ساعت روی شیکر با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه و دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. سپس از این سوسپانسیون سری‌های رقت مختلف تهیه شد. به‌منظور تعیین مناسب‌ترین رقت جهت تولید کلنی‌های باکتری در سوسپانسیون‌های اصلی، به روش شمارش کلنی‌های ایجاد شده بر روی محیط کشت صورت گرفت. برای تیمار خاک ابتدا بر اساس حجم وضعیت رطوبتی گلدان‌ها، مقدار متناسب برای آن‌ها مشخص شد به نحوی که پس از افزودن این مقدار آب، از زیر گلدان بیش از چند قطره خارج نشود، سپس سوسپانسیون باکتری با جمعیت 10^9 سلول باکتری به خاک اضافه شد (Kim et al. 1997; Raupach and Kloepper 1998).

اسید سالیسیلیک با جرم مولکولی ۱۳۸/۱۲ گرم در دو غلظت در سطح یک میلی‌مولار (1 mM) و غلظت صفر (شاهد آب مقطر) بر اساس روش Sayyari et al. (2009) به‌دست آمد.

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی بر اساس روش Folin-Ciocalteut (Soland and Laima 1999) صورت گرفت. شدت جذب با دستگاه اسپکتوفتومتر با طول موج ۷۲۵ نانومتر و برای محاسبه غلظت ترکیب‌های فنلی از منحنی استاندارد گالیک اسید بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در گرم بافت تازه استفاده شد.

میزان فلاونوئید کل با روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید اندازه-گیری شد (Toor and Savage 2005). شدت جذب در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. غلظت نمونه‌ها با استفاده از منحنی

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.9.1]

استاندارد کوئرستین بر اساس میزان معادل میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره به دست آمد.

میزان جذب آب‌اکسیژنه در عصاره آنزیمی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲٤۰ نانومتر در زمان یک دقیقه قرائت شد. تغییرات جذب به‌دست آمده در زمان یک دقیقه، به ضریب خاموشی مولی این واکنش که برابر $۳٦M^{-1}cm^{-1}$ است تقسیم شد و فعالیت آنزیم کاتالاز بر حسب واحد در گرم وزن تر بیان شد (Beers and Sizer 1952).

میزان جذب آب اکسیژنه در عصاره آنزیمی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٤۷۰ نانومتر در زمان یک دقیقه قرائت شد. تغییرات جذب به‌دست آمده در زمان یک دقیقه، به ضریب خاموشی مولی این واکنش که برابر $۲٦/٦mM^{-1}.cm^{-1}$ است تقسیم شد و فعالیت آنزیم گایاکول پروکسیداز بر حسب واحد در گرم وزن تر بیان شد (Nakano and Asada 1981).

جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به روش Sairam et al. (2002) جذب کمپلکس واکنشی در طول موج ۲۹۰ نانومتر یادداشت و با استفاده از ضریب خاموشی $mmol^{-1}$ cm^{-1} ۲/۸ میزان فعالیت آنزیم محاسبه شد.

برای استخراج RNA کل از برگ نعناع، از محلول RNX Plas (شرکت سینا ژن) همراه با کلروفرم، ایزوپروپانول، اتانول ۷۵ درصد و آب DEPC (دی اتیل پیروکربنات) طبق دستورالعمل استفاده شد. پس از استخراج RNA کل، کیفیت آن به‌وسیله الکتروفورز ژل آگارز بررسی شد. بعد از استخراج RNA سنتز DNA با استفاده از کیت 2-Steps RT-PCR kit ساخت شرکت Vivantis انجام شد. به‌منظور بررسی و کنترل بیان ژن *lim3h*، با توجه به مطالعات Tahsili et al. (2010) از ژن توبولین (*Tubb4*) (Accession number: DQ435662.1) به‌عنوان کنترل داخلی استفاده شد. طراحی آغازگرهای اختصاصی برای ژن‌های *lim3h* و *Tubulin* با استفاده از نرم‌افزار Primer3web از طریق پایگاه داده NCBI[1] انجام شد (جدول ۱).

تکثیر ژن‌های *lim3h* و *Tubulin* برای اندازه‌گیری بیان ژن توسط واکنش Real Time PCR بر اساس روش استاندارد به‌صورت نسبی انجام گرفت. کمیت نسبی در Real Time PCR به‌وسیله اندازه‌گیری افزایش تشعشع فلورسنس در نتیجه اتصال رنگ Eva Green با استفاده از دستگاه RG-3000 Corbett Research انجام گرفت. اجزای واکنش Real Time PCR، شامل Master Mix (1Xغلظت در حجم نهایی)، cDNA (10 ng) و هر آغازگر (µM ۱/۰ – ۰/۱) بود. به‌منظور به‌دست آوردن دمای بهینه اتصال آغازگرها به توالی مورد نظر، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با شیب دمایی توسط دستگاه ترموسایکلر ساخت شرکت Eppendorf آلمان انجام گرفت. دمای مطلوب اتصال ژن *lim3h* و *Tubulin* ٦۰ درجه سانتی‌گراد تعیین شد. هم‌چنین برنامه حرارتی برای تکثیر هر دو ژن با استفاده از روش Real Time PCR یکسان و طبق جدول ۲ بود. پس از واکنش تکثیر به روش QReal Time PCR داده‌های خام به صورت Ct (Threshold cycle) از دستگاه استخراج شد. برای هر نمونه سه تکرار در نظر گرفته شد و از روش $\Delta\Delta Ct$ برای تجزیه داده‌ها استفاده شد.

همه آزمایش‌ها با سه تکرار و سه نمونه مستقل انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد انجام شد.

جدول ۱- مشخصات آغازگرهای طراحی شده

primer	Primer sequence (5′→3′)	GC (%)
Forward *lim3h*	AGGATAGCGACGCTTACGTG	55.0
Reverse *lim3h*	TCAGCGAGTCCTTCACCAAC	50.0
Forward *Tub*	CTCCTTGAGCTAGTCGTCGC	60.0
Reverse *Tub*	AACAAGGCAAAAACATTCCG	58.0

جدول۲- شرایط دمایی و زمانی واکنش Real time PCR

مرحله	دما و زمان مورد استفاده
فعال سازی ابتدای آنزیم	۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه
٤۰چرخه شامل مراحل زیر	
واسرشت شدن	۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه
اتصال آغازگرها	٦۰درجه سانتی‌گراد به مدت ٤۵ ثانیه
بسط ترکیبی	۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه
منحنی ذوب	افزایش دما از ۵۰درجه تا ۹۹ درجه هر ۵ ثانیه ۱ درجه

[1] National Center for Biotechnology Information

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

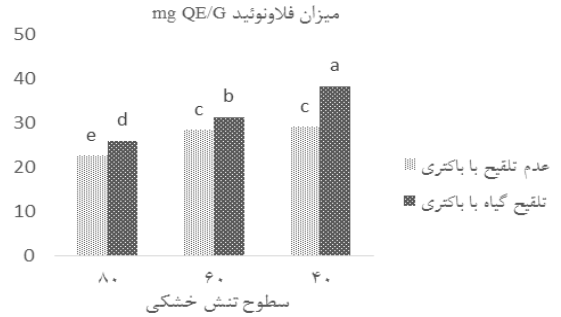
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.9.1]

نتایج و بحث

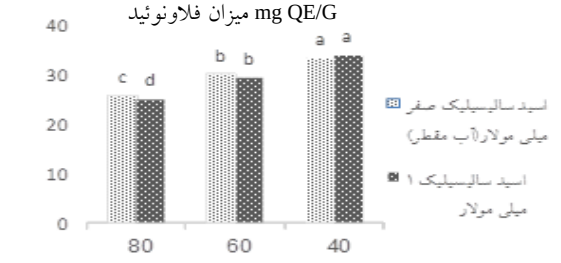
با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) اثر متقابل دو گانه هر سه فاکتور بر میزان فلاونوئید در سطح یک درصد معنی‌دار شد. بیش‌ترین میزان فلاونوئید مربوط به اثر متقابل دوگانه تنش خشکی شدید (۴۰ درصد ظرفیت زراعی) و باکتری به میزان ۳۸/۴۴ بود. کم‌ترین میزان فلاونوئید (۲۲/۶۸) در گیاه شاهد تحت تنش ملایم بود (شکل۱). هم‌چنین در اثر متقابل دو گانه خشکی و اسید سالیسیلیک بیش‌ترین میزان مربوط به تیمار اسید سالیسیلیک یک میلی‌مولار و تنش خشکی در سطح ۴۰ درصد ظرفیت زراعی بود (شکل۲). در بررسی اثر متقابل باکتری و اسید سالیسیلیک بیش‌ترین میزان مربوط به تلقیح گیاه توسط باکتری و اسید سالیسیلیک صفر میلی‌مولار بود (شکل۳).

با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) برای میزان فنل کل اثر متقابل دوگانه تنش خشکی و باکتری، باکتری و اسید سالیسیلیک در سطح یک درصد و اسید سالیسیلیک و تنش خشکی در سطح پنج درصد معنی‌دار شد. بیش‌ترین میزان فنل (۰/۳۸۵) در ترکیب باکتری و اسید سالیسیلیک حاصل شد (شکل۶) و کم‌ترین آن مربوط به تیمار شاهد به میزان ۰/۱۹ (شکل٤) بود. هم‌چنین در بررسی ترکیب دوگانه تنش خشکی و اسید سالیسیلیک بیش‌ترین میزان فنل مربوط به تنش خشکی شدید (۴۰ درصد ظرفیت زراعی) بدون اسید سالیسیلیک (آب-مقطر) بود (شکل۵)، که بیانگر نقش بیشتر تنش خشکی در تولید فنل کل در گیاه است.

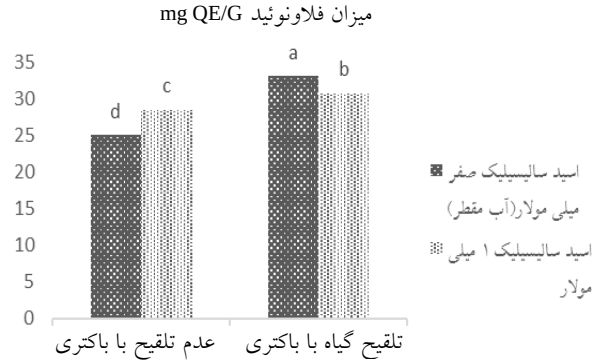
با توجه به نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) تنش خشکی اثر بسیار معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان آسکوربات پروکسیداز دارد. بیش‌ترین میزان فعالیت آن با میانگین ۰/۱۳۵ (واحد گرم بر وزن تر) مربوط به بالاترین سطح تنش (۴۰ درصد ظرفیت زراعی) و کم‌ترین آن با میانگین ۰/۱۱۳ (واحد گرم بر وزن تر) در گیاه شاهد مشاهده شد (جدول٤). اثرات اصلی باکتری و اسید سالیسیلیک و سایر اثرات متقابل بر روی این آنتی اکسیدان معنی‌دار نبود (جدول ۳).



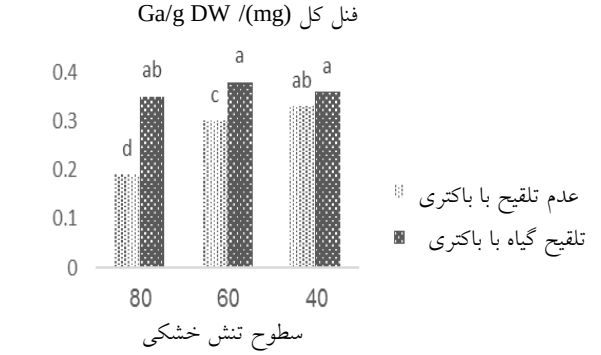
شکل ۱- اثر متقابل تنش خشکی و باکتری بر میزان فلاونوئید



شکل ۲- اثر متقابل تنش خشکی و اسید سالیسیلیک بر میزان فلاونوئید

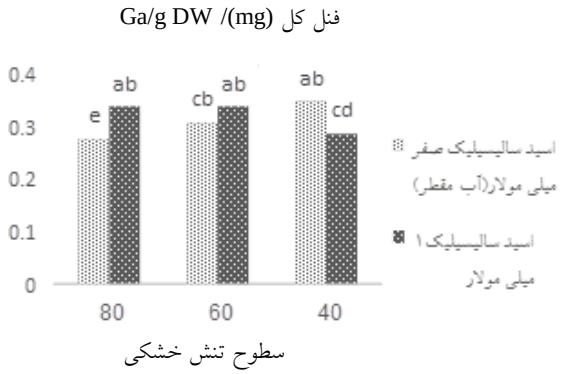


شکل ۳- اثر متقابل باکتری و اسید سالیسیلیک بر میزان فلاونوئید

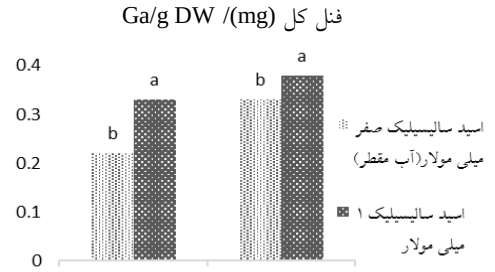


شکل ٤- اثر متقابل تنش خشکی و باکتری بر میزان فنل

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.9.1]



شکل ۵- اثر متقابل تنش خشکی و اسید سالیسیلیک بر میزان فنل کل



شکل ٦- اثر متقابل باکتری و اسید سالیسیلیک بر میزان فنل کل

بر طبق جدول تجزیه واریانس (جدول شماره ۳) تنش خشکی اثر بسیار معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان گایاکول پروکسیداز دارد. بیش‌ترین میزان فعالیت آن با میانگین ۰/۰٤۰ (واحد گرم بر وزن تر) مربوط به بالاترین سطح تنش (٤۰ درصد ظرفیت زراعی) و کم‌ترین آن با میانگین ۰/۰۲۳ (واحد گرم بر وزن تر) در گیاه شاهد مشاهده شد (جدول ٤). اثرات اصلی باکتری و اسید سالیسیلیک و سایر اثرات متقابل بر روی این آنتی اکسیدان معنی‌دار نبود (جدول ۳).

تنش خشکی تاثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر میزان فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان کاتالاز داشت (جدول ۳). بیش‌ترین میزان فعالیت این آنزیم در تنش شدید خشکی (٤۰ درصد ظرفیت زراعی) با میانگین ۰/۲۷٤ (واحد گرم بر وزن تر) و کمترین میزان آن مربوط به گیاه شاهد در تنش ملایم (۸۰ درصد ظرفیت زراعی) با میانگین ۰/۱۰۹ (واحد گرم بر وزن تر) بود. اثرات اصلی باکتری و اسید سالیسیلیک و سایر اثرات متقابل بر روی این آنزیم آنتی‌اکسیدان نیز معنی‌دار نبود (جدول ۳).

در میزان بیان ژن لیمونن ۳ هیدروکسیلاز اثر متقابل سه تیمار (تنش خشکی، باکتری و اسید سالیسیلیک) در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). بررسی میانگین اثرات اصلی (جدول ٤) بیانگر این است که با افزایش میزان تنش خشکی بیان ژن لیمونن ۳ هیدروکسیلاز افزایش می‌یابد. به صورتی که در تنش۸۰، ٦۰ و٤۰ درصد ظرفیت زراعی میزان بیان این آنزیم به‌ترتیب ۰/۹٤، ۲/۲۹ و ۳/٤٥ افزایش نشان داد.

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده

منابع تغییرات	درجه آزادی	فلاونوئید	فنل کل	کاتالاز	گایاکول پروکسیداز	آسکوربات پروکسیداز	لیمونن هیدروکسیلاز
تنش خشکی	۲	۲۷۰/۵۰**	۰/۰۲۱**	۰/۰۸۵**	۰/۰۰۸۷**	۰/۰۰۱٦**	۱۸/۹۳۷**
باکتری	۱	۲٤۰/۵۰**	۰/۰٦٦**	۰/۰۰۰٤۲^{ns}	۰/۰۰۰۳٦^{ns}	۰/۰۰۰۵٦^{ns}	۵/۲۵۹**
سالیسیلیک اسید	۱	۳/۰۹*	۰/۰۰۸*	۰/۰۰۰۵۰^{ns}	۰/۰۰۰۰٤٤^{ns}	۰/۰۰۰٦٤^{ns}	۰/۵۱۸*
خشکی*باکتری	۲	۳۸/۰۰٦**	۰/۰۱۱**	۰/۰۰۰٦٦^{ns}	۰/۰۰۰۰٤۱^{ns}	۰/۰۰۰۵۹^{ns}	۰/۰۵٤۵**
خشکی*سالیسیلیک	۲	٤/۷۸**	۰/۰۰۵*	۰/۰۰۰٦۸^{ns}	۰/۰۰۰۰۲۹^{ns}	۰/۰۰۰٦۲^{ns}	۰/٤۷٤**
باکتری*سالیسیلیک	۱	۷٦/۰٦**	۰/۰۵۱**	۰/۰۰۰٤٦^{ns}	۰/۰۰۰۰۱۷^{ns}	۰/۰۰۰۵۹^{ns}	۳/۰۸۵**
خشکی*باکتری*سالیسیلیک	۲	۱/۹۵^{ns}	۰/۰۰۳^{ns}	۰/۰۰۰٦۳^{ns}	۰/۰۰۰۰۱۲^{ns}	۰/۰۰۰٦۰^{ns}	۰/۳۵٤*
خطا		۲/٦٦	۰/۰۰۱۵	۰/۰۰۰۲۲	۰/۰۰۰۲۰	۰/۰۰۰۱۸	۰/۰۷۸
C.V%		۳/٤۱	۱۲/۲٤	۸/۲۹	۱۳/۹۷	۱۱/۰۵	۱۲/٦۱

ns، * و** به‌ترتیب غیر معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.9.1]

جدول٤- میانگین‌های اثرات اصلی صفات اندازه‌گیری شده

فاکتور	فلاونوئید	فنل کل	کاتالاز	گایاکول پروکسیداز	آسکوربات پروکسیداز	لیمونن هیدروکسیلاز
a_1	٢٤/٦٧ c	٠/٢٧٣ b	٠/١٠٩c	٠/٠٢٣c	٠/١١٣c	٠/٩٤c
a_2	٣٠/٠٨ b	٠/٣٣٨ a	٠/١٦٠b	٠/٠٣٢b	٠/١١٧b	٢/٢٩b
a_3	٣٣/٦٦ a	٠/٣٤٨ a	٠/٢٧٤a	٠/٠٤٠a	٠/١٣٥a	٣/٤٥a
b_1	٢٦/٩٤ b	٠/٢٨ b	٠/١٨٤a	٠/٠٣٣a	٠/١٢٦a	١/٨٤b
b_2	٣٢/٠١ a	٠/٣٦٦ a	٠/١٧٧a	٠/٠٣١a	٠/١١٨a	٢/٦a
c_1	٢٩/١١ b	٠/٣٠٧ b	٠/١٨٥a	٠/٠٣٢١a	٠/١٢٦a	٢/١b
c_2	٢٩/٨٣ a	٠/٣٤٦ a	٠/١٧٧a	٠/٠٣٢٣a	٠/١١٨a	٢/٣٤a

با توجه به جدول ٥ بیش‌ترین میزان (٤/٢٨) مربوط به اثر متقابل تنش شدید (٤٠ درصد ظرفیت زراعی) و باکتری محرک رشد می‌باشد. کم‌ترین میزان (٠/٦٦) مربوط به گیاه شاهد در تنش ملایم (٨٠ درصد ظرفیت زراعی) بود. با توجه به مشاهدات این پژوهش با افزایش شدت تنش خشکی، میزان ترکیبات فنولی به عنوان متابولیت‌های ثانویه افزایش یافت، که به‌عنوان یک شاخص بالقوه برای دفاع آنتی اکسیدانی است (Cheruiyot et al. 2007). زمانی که گیاه در معرض تنش قرار می‌گیرد مقدار زیادی از گونه-های فعال اکسیژن تولید می‌شود. در بسیاری از گیاهان، سیستم آنزیمی برای از بین بردن این رادیکال‌ها فعال می‌شوند (Jubany-Mari et al.,2010). پیش از آنکه سیستم آنزیمی وارد عمل شود، فلاونوئیدها دست به کار شده و به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی به‌طور مستقیم در پاک سازی گونه‌های فعال اکسیژن عمل می‌کند. خواص آنتی اکسیدانی فلاونوئیدها به اثر بازدارندگی آن‌ها در تنفس میتوکندریایی بر می‌شود (Sangtarash et al. 2009) و به-طور غیر مستقیم به‌وسیله شلاته کردن آهن مانع تنش اکسیداتیو می‌شوند (Yang et al. 2001; Seyoum et al. 2006; Blokhina et al. 2003). در پژوهش حاضر افزایش میزان ترکیب‌های فنلی در تنش خشکی ارتباط مستقیم با ظرفیت آنتی اکسیدانی آن‌ها را نشان داد، که در گزارشات Sangtarash et al. (2009) در گیاه شلغم (*Brassica rapa* L.) و گیاه *Cistus clusii* (Hernandez et al. 2004)، نیز نتایج مشابهی ارائه شده‌است. از آنجایی-که ترکیبات فنولی (فنول کل و فلاونوئید) از طریق مسیر فنیل پروپانوئید ساخته می‌شود و آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز آنزیم کلیدی این مسیر متابولیکی مهم است می‌توان تجمع این مواد را مربوط به القای این آنزیم توسط باکتری‌های محرک رشد (Maxwell et al. 1989; Petter and Verma 1990) و اسید سالیسیلیک (Solecka and Kacperska 2003; Sgarbi et al. 2003) دانست. تخمین زده شده که ٨٠ درصد باکتری‌های ایزوله شده از ریزوسفر قادر به تولید IAA هستند. مشخص شده‌است که بین فلاونوئید و هورمون اکسین برهمکنش‌هایی در جهت تشکیل گرهک وجود دارد، که می‌توان نتیجه گرفت باکتری محرک رشد منجر به افزایش فلاونوئیدها در گیاه می‌شوند (Maxwell et al. 1989; Petter and Verma 1990). Sang-Mo et al.(2014a) در تحقیق روی گیاه سویا (*Glycine max* L.) تحت تیمار تنش خشکی و باکتری *Pseudomonas putida* دریافتند که کاربرد باکتری به واسطه تولید فیتوهورمون‌ها (IAA) می‌تواند باعث افزایش میزان فلاونوئید و افزایش مقاومت گیاه در شرایط تنش شود.

اسید سالیسیلیک به‌عنوان یک سیگنال دهنده ممکن است در تنظیم بیان ژن *PAL* (فنیل آلانین آمونیالیاز) و بیوسنتز فنیل پروپانوئید نقش داشته باشد و سبب القاء این ژن شود، که موجب تجمع اسیدهای فنلی و فلاونوئید در گیاه می‌شود (Solecka and Kacperska 2003; Sgarbi et al. 2003). هم‌چنین افزایش ترکیبات فنولی و فلاونوئید تحت تیمار اسیدسالیسیلیک در گوجه-فرنگی (*Solanum lycopersicum*) (Ding et al. 2002) و جعفری (*Petroselinum crispum* L) (Thulke and Conrath 1998) گزارش شده‌است.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.9.1]

در شرایط تنش کمبود آب روزنه‌ها در گیاه بسته می‌شوند و متعاقب آن غلظت CO_2 در بافت مزوفیل کاهش می‌یابد و به دنبال این وضعیت واکنش‌های تاریکی فتوسنتز مختل شده و محصولات حاصل از واکنش‌های روشنایی، که شامل NADPH و ATP است، مصرف نمی‌شود. از این رو به‌علت عدم اکسید شدن مولکول NADPH، مصرف $NADP^+$ به منظور دریافت الکترون کاهش می‌یابد، بنابراین مولکول اکسیژن در مسیر زنجیره انتقال الکترون به‌عنوان پذیرنده جانشین الکترون عمل می‌کند و منجر به شکل‌گیری رادیکال سوپراکسید (O_2^-)، رادیکال پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و هیدروکسیل (OH^-) می‌شود. ROS به‌طور بالقوه دارای پتانسیلی است که با بسیاری از ترکیبات سلولی واکنش داده و سبب خسارت به غشا و سایر ماکرومولکول‌های ضروری می‌شود (Blokhina et al. 2002). آنزیم آسکوربات پروکسیداز نقش اساسی در متابولیزه کردن ترکیبات فعال اکسیژن و جلوگیری از خسارات ناشی از تنش اکسیداتیو را به عهده دارد Hamrahi et al. (1387). فعالیت آنتی اکسیدانی آنزیم آسکوربات پروکسیداز با افزایش تنش اسمزی افزایش می‌یابد.

این نتایج توسط Sairam et al. (2002) در گیاه گندم (*Triticum aestivum* L.) و Blokhina et al. (2003) در گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla* L.) گزارش شده‌است. آنزیم گایاکول پروکسیداز نیز تحت تنش، افزایش معنی‌داری را نشان داد. توزیع فضایی آنزیم‌هایی نظیر گایاکول سوپر اکسید در غشاها می‌تواند تا حدودی در برقراری مقاومت نسبت به خشکسالی مهم باشد (Bowler et al. 2002). آنزیم پراکسیداز در شکستن هیدروژن پراکسید نقش دارد و در دیواره سلولی، شبکه آندوپلاسمی، دستگاه گلژی و واکوئل یافت می‌شوند (Schloss et al. 1987). گایاکول به‌عنوان دهنده الکترون عمل می‌کند و از پراکسید هیدروژن برای اکسیداسیون انواع مختلف سوبستراهای آلی و غیر آلی استفاده می‌کند (Dinakar et al. 2009). افزایش فعالیت آنتی اکسیدان گایاکول پراکسیداز در اثر خشکی و یا درجه حرارت بالا توسط سایر محققین مانند Grace et al. (1998) در ماهونیا (*Mahonia repens* L.)، و Jasinska et al. (2007) در نخود (*Cicer arietinum* L.) نیز گزارش شده‌است. همچنین با افزایش شدت تنش میزان آنزیم کاتالاز نیز افزایش می‌یابد. در موجودات زنده پراکسید هیدروژن به‌وسیله کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز سم زدایی می‌شود. کاتالاز آنتی اکسیدانی است که پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل می‌کند (Mittler et al. 2002).

طبق نتایج تحقیقات Kellos et al. (2008) بر روی ذرت (*Zea mays*) Sairam et al.(1998) بر روی گندم (*Triticum aestivum*) Manivannan et al.(2008) بر روی آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تنش خشکی به طرز معنی‌داری افزایش می‌یابد که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. آنچه که از نتایج این مطالعه مشخص است این نکته می‌باشد که باکتری و اسید سالیسیلیک تاثیر غیر معنی‌داری بر افزایش فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی اکسیدانی داشته‌اند. کمتر بودن فعالیت آنزیم در تیمارهای حاوی باکتری نشان دهنده این است که باکتری گیاه را در شرایط مناسب‌تری قرار داده و آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی کمتری تولید شده‌است که این نتایج با نتایج Sang-Mo et al. (2014b)، در گیاه خیار (*Cucumis sativus* L.) تحت تنش خشکی، و نتایج Heidari and Golpayegani (2012) در ریحان (*Ocimum basilicum* L.) تطابق کامل دارد. تاثیر سالیسیلیک اسید در تعدیل پاسخ گیاه و کاهش فعالیت آنزیم‌ها در محدوده وسیعی از تنش‌های اکسیداتیو گزارش شده‌است (Shirasu et al. 1997)؛ که با نتایج حاصل از این بررسی مطابقت دارد. کاهش فعالیت‌های آنتی اکسیدانی ممکن است نتیجه‌ای از غیر فعال شدن آنزیم، از طریق مولکولهای تاثیر گذار مرتبط با تنش باشد. از طرفی احتمال دارد که کاهش فعالیت این آنزیم‌ها به‌دلیل نیاز کمتر سلول‌ها برای متابولیسم آنتی اکسیداتیو پس از اعمال تیمار با اسید سالیسیلیک باشد. همچنین تغییرات القا شده در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی به شدت و مدت تیمار و هم‌چنین گونه و سن گیاه وابسته می‌باشد. ممکن است اسید سالیسیلیک به‌طور مستقیم در از بین بردن رادیکال‌های آزاد نقش داشته باشد و با پاک‌سازی این گونه‌های فعال، از افزایش فعالیت آنزیم جلوگیری کند. سالیسیلیک اسید در غلظت‌های یک میلی‌مولار و پایین تر به‌عنوان ترکیبات ضد تنشی باعث رفع اثرات ناشی از اکسیداتیو می‌شود Mazaheri et al. (1387) . هم‌چنین با توجه به نتایج به‌دست آمده از صفات فیزیولوژیکی مبنی بر افزایش این صفات تحت تیمار باکتری و سالیسیلیک در تنش خشکی می‌توان نتیجه گرفت که

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.9.1]

صفات آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی توانسته‌اند به‌عنوان اولین سد دفاعی خسارات اکسیداتیو را کاهش و نیاز سلول را به‌منظور متابولیسم آنتی اکسیداتیوها کاهش دهد. کاهش میزان آنزیم‌های آنتی اکسیدانی به‌واسطه افزایش میزان فلاونوئید (Sangtarash et al. 2009) و پرولین (Trovato et al. 2008; Aktas et al. 2007) در گزارشات به اثبات رسیده است.

ژن لیمونن ۳-هیدروکسیلاز، رمز کنندهٔ آنزیم لیمونن هیدروکسیلاز بوده و وظیفه‌ی هیدروکسیله نمودن لیمونن (قرار دادن OH در کربن شماره۳) در مسیر تولید و سنتز مونوترپن‌ها در گیاه نعناع سبز(*Mentha spicata* L.) را بر عهده دارد که سبب تجزیه لیمونن به طیف وسیعی از ساختارهای متابولیت ثانویه می‌شود (Croteau and Gershenzon 1994; Croteau 1991). تنش خشکی سبب افزایش متابولیت‌های ثانویه در گیاه می‌شود (Nowak et al. 2010). بر طبق فرضیه موازنه رشد-تمایز هر کمبودی که رشد را بیش از فتوسنتز محدود کند تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه را افزایش می‌دهد (Herms and Mattson 1992). برخی از ژن‌ها در گیاه مسئول پاسخ به تنش خشکی می‌باشند، که سطح رونویسی آن‌ها در طی تنش خشکی افزایش یا کاهش می‌یابد، و محصولات این ژن‌ها در پاسخ به تنش خشکی درگیر هستند. این ژن‌ها به واسطه دریافت، انتقال سیگنال و فعال‌سازی فاکتورهای نسخه-برداری نقش ایفا می‌کنند و به این ترتیب محصول آن‌ها، پاسخ‌های دفاعی را در گیاه بر علیه تنش به‌دنبال خواهد داشت (Shinozaki and Yamaguchi-Shinozaki 1999). بر طبق آزمایشات انجام شده در مورد اثر تنش خشکی بر بیان برخی ژن‌ها گزارش شده که تنش خشکی سبب افزایش میزان بیان ژن *LEA* (Late Embryogenesis Abundant)، در گیاه لوبیا (*phaseolus vulgaris* L.) شده که باعث افزایش مقاومت در برابر تنش خشکی شده-است (Ghareghani et al. 1390). افزایش متابولیت‌های ثانویه و اجزای اسانس در زمان تنش نشان دهنده نقش حفاظتی این ترکیبات به‌عنوان عوامل غیر آنتی اکسیدانی می‌باشد که در نتایج Charles et al.(1990) مبنی بر افزایش مقدار منتون و کل سزکوئی ترپن‌ها در گیاه نعناع (*Mentha spicata* L.)، لینالول و کاویکول در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*) (Simon et al. 1992) و میزان مونوترپن‌ها در گیاه جعفری (*Petroselinum crispum*) (Mohamed et al. 2002) تحت تنش خشکی در یک راستا قرار دارد. اصطلاح مقاومت سیستمیک القایی[1] برای باکتری‌های محرک رشد که باعث القا تغییرات فیزیکی و شیمیایی و افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های غیر زنده می‌شوند، پیشنهاد شده‌است (Yang et al. 2009). همان‌گونه که اشاره شد وجود IAA در یک باکتری بیانگر اثر بخشی مناسب جهت مقاومت در برابر تنش در گیاه می-باشد (Boiero et al. 2006). گزارشاتی مبنی بر افزایش میزان منتول در اسانس نعناع تحت تاثیر هورمون اکسین ارائه شده‌است (Singh and Mishra. 2001). هم‌چنین مصرف IAA باعث افزایش لیمونن در اسانس گیاه دارویی شوید (*Anethum graveolens L.*) شد، نتایج این مطالعه همچنین نشان داد که اسید سالیسیلیک سبب افزایش رونویسی از ژن رمز کننده آنزیم لیمونن هیدروکسیلاز می‌شود. در گزارش Gao-Bin et al. (2009) مبنی بر بررسی اثر محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر بیان ژن‌های دخیل در بیوسنتز آرتیمیسین در گیاه گندواش (*Artemisia annua L.*) مشخص شد که اسید سالیسیلیک به‌عنوان یک آنتی اکسیدان القاگر، میزان بیان ژن‌های *HMGR* و *ADS* را افزایش داده که در نتیجه غلظت آرتیمیسین و میزان متابولیت‌های ثانویه در گیاه افزایش یافته است.

باتوجه به مشاهدات این تحقیق باکتری و اسید سالیسیلک با افزایش صفات غیر آنزیمی فنل کل و فلاونوئید و افزایش متابولیت‌های ثانویه به‌عنوان اولین سد دفاعی اثرات مخرب تنش خشکی را کاهش داده‌اند. در نتیجه گیاه مقاومت بهتری را از خود نشان داده است و انرژی کمتری را صرف تولیدهای آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نموده است. مطالعات فراوانی بر روی باکتری‌ها خصوصا سویه‌های *Bacillus amyloliquefaciens* 5033, FZB42, 5113 صورت گرفته است، هم‌چنین پژوهش و تحقیق بر روی ریزجانداران و کاربرد آنان به خصوص باکتری‌ها در صنعت کشاورزی و اهمیت تجاری آن‌ها رو به افزایش است. در این تحقیق برای اولین بار سویه *Bacillus amyloliquefaciens*1732 مورد مطالعه قرار گرفت و به‌عنوان عامل تاثیرگذار بر فرایند رشد گیاه در شرایط تنش گزارش شد. لذا پیشنهاد می‌شود از این سویه برای مطالعات بیشتر در سایر

[1] Induced systemic resistance

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.9.1]

گیاهان و هم‌چنین دیگر تنش‌های محیطی استفاده شود. هم‌چنین پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی اثر این سویه‌ی باکتری با سایر سویه‌های دیگر بر روی رشد گیاهان در محیط‌های کشت متفاوت مورد مطالعه و مقایسه قرار گیرد.

جدول ۵- اثرات متقابل تنش خشکی، باکتری و اسید سالیسیلیک بر میزان بیان ژن لیمونن هیدروکسیلاز

سطوح خشکی	عدم تلقیح باکتری b_1		تلقیح باکتری b_2	
خشکی در سطح ۸۰ درصد ظرفیت زراعی	c_1	۰/٦٦e	c_1	۱/۱٤e
	c_2	۰/۹۳e	c_2	۱/۰۲e
خشکی در سطح ٦۰ درصد ظرفیت زراعی	c_1	۰/۹٦e	c_1	۲/۹۲cd
	c_2	۲/۵۱d	c_2	۲/۷٦d
خشکی در سطح ٤۰ درصد ظرفیت زراعی	c_1	۲/٦۷d	c_1	٤/۲۸a
	c_2	۳/۳۳cb	c_2	۳/۵۲b

تفاوت حروف در هر ستون به معنی وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد (b_1 تیمار گیاه عدم آلوده شده با باکتری، b_2 گیاه آلوده شده با باکتری، c_1 عدم محلول پاشی اسید سالیسیلیک، c_2 محلول پاشی اسید سالیسیلیک با غلظت یک میلی‌مولار).

منابع

Aktas LY, B Turkyilmaz, H Akca and Parlak, S (2007). Role of abscisic acid and proline treatment oninduction of antioxidant enzyme activities and drought tolerance responses of *Laurus nobilis* L. Grainlings. pp:14-27.

Arfana M, Atharb HR, and Arfana M (2007). Does exogenous application of salicylic acid through the rooting medium modulate growth and photosynthetic capacity in two differently adapted spring wheat cultivars under salt stress. Journal of Plant Physiology,164: 685-694.

Beers R and Sizer T (1952). Spectrophotometric Method for Measuring the Breakdown of Hydrogenperoxide by Catalase. Journal of Biological Chemistry, 195: 133-138.

Blokhina O, Virolainen E and Fagerstedt KV 2003. Antioxidants,oxidative damage and oxygen deprivation stress:a review. Annals of Botany, 91:179-194.

Blokhina O, Virolainen E, and Fagested K 2002. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress. Annual of Botany, 91: 179-194.

Boiero L, Perrig D, Masciarelli O, Penna C, Cassan F and Luna V. (2006). Phytohormone production by three strains of Bradyrhizobium japonicum, and possible physiological and technological implications. Applied Microbiology and Biotechnology, 74:874- 880.

Bowler C, Vanmotago M and Inze D (2002). Super oxide dismotase and stress tolerance, Annual Review of Plant physiology. 43: 83-116.

Charles DJ, Joly RJ and Simon JE (1990). ffects of osmotic stress on the essential oil content and composition of peppermint. Phytochemistry, 29: 2837-2840.

Chen L, Ren F, Zhong H, Jiang W, and Li X (2010). Identification and expression analysis of genes in response to high-salinity and drought stresses in *Brassica napus*. Biochimica Biophysica Acta 42: 154-164.

Cheruiyot EK, Mumera LM, Ngetich WK, Hassanali A, Wachira F (2007). Polyhenols as potential indicators for osmotic tolerance in tea (*Camellia sinensis* L.). Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 71: 2190-2197.

Croteau R 1991. Metabolism of monoterpenes in mint (*Mentha species* L.). Planta Physiology and Chemistry of Natural Products. 57: 10-14

Croteau R, Gershenzon J (1994). Genetic control of monoterpene biosynthesis in mints (*Mentha amiaceae* L). Recent Advances in Phytochemistry.28: 193-229.

Debaeke P, and Abdellah A 2004. Adaptation of crop management to water limited environments. European Journal of Agronomy. 21: 433-446.

Dinakar N, PC Nagajyothi, and S Suresh 2009. Cadmium induced changes on proline, antioxidant enzymes, nitrate and nitrite reductases in (*Arachis hypogeae* L.). Journal of Environmental Biology, 30: 289-294.

Ding CK, Wang CY, and Gross KC (2002). Jasmonate and salicylate induce the expression of athogenesis-related-protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit. Planta. 214: 895-901.

Gao-Bin Pu, Dong-Ming Ma, Jian-Lin Chen, Lan-Qing Ma, Hong Wang, Guo-Feng Li, He-Chun Ye, Ben-Ye Liu 2009. Salicylic acid activates artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua* L. Plant Cell Reports, 28:1127-1135.

Grace SC, Logan BA and Adams WW (1998). Seasonal differences in foliar content of chlorogenic acid, a

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.9.1]

phenylpropanoid antioxidant, in Mahonia repens. Plant, Cell and Environment, 21: 513-521.
Gupta A, and Kaur N (2005). Sugar signaling and gene expression in relation to carbohydrate metabolism under abiotic stresses in plants. Journal Biotechnology Science. 30: 761-776.
Hamrahi S, Habibi D, Madani H, Bojar M (2008). The effect of Cycocel on antioxidant enzymes micronutrients as indices of drought stress resistance in *Brassica napus* L. Journal of New Findings in Agriculture, 2:3.(In Farsi).
Heidari M and Golpayegani A (2012). Effects of water stress and inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on antioxidant status and photosynthetic pigments in basil (*Ocimum basilicum* L.). Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 11: 57-61.
Herms DA and Mattson WJ (1992). The dilemma of plants: To grow or defend. The Quarterly Review of Biology, 67:283- 325.
Hernandez I, Alegre L and Munné-Bosch S (2004). Drought-induced changes in flavonoids and other low molecular weight antioxidants in Cistus clusii grown under Mediterranean field conditions. Tree Physiology, 24: 1303-1311.
Hung B (2000). Role of root morphological and physiological characteristics in drought resistance of plant. Plant Environmental Interaction.39-36.
Jasinska pp and Anderson Jw (2007). Light-dependent reduction of hydrogen peroxide by ruptured pea choloroplasts. Plant Physiology.69:1407-1413.
Jubany-Marí T, Munné-Bosch S, Alegre L (2010). Redox regulation of water stress responses in field-grown plants. Role of hydrogen peroxide and ascorbate. Plant Physiology and Biochemistry,48: 351-358.
Kasuga M, Liu Q, Miura S, Yamaguchi-Shinozaki K, and Shinozaki K (1999). Improving plant drought,salt and freezing tolerance by gene transfer of a single stress-inducible transcription factor. Nature Biotechnology 17: 287-291.
Kim DS, Weller DM and Cook J (1997). Population Dynamics of Bacillus sp. L324-92R12 and Pseudomonas fluorescens 2-79RN10 in the Rhizosphere of Wheat. The American Phytopathological Society, 87: 559-564.
Lewis, K. 1998. Peppermint and spearmint, theoxford review: 1-6.
Liu F, Xing Sh, Ma H, Du Z, Ma B (2013). Cytokinin-producing, plant growth-promoting rhizobacteria that confer resistance to drought stress in *Platycladus orientalis* container seedlings. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97: 9155-9164.
Lynch JM (1990). Microbial metabolites. IN:Lynch JM. (Ed.), The Rhizosphere Wiley, Chichester, 177-206.
Manivannan P, CA Jaleel, CX Zhao R Somasundaram M M Azooz and R. Panneerselvam. (2008). Variations in growth and pigment compositon of sunflower varieties under early season drought stress. Global Journal of Molecular Sciences, 3: 50-56.
Maxwell, CA Hartwig, UA Joseph, CM Phillips, DA (1989). Chalcone and two related flavonoids from alfalfa roots induce nog genes of Rhizobium meliloti. Plant Physiology, 91: 842-847.
Mazaheri M, Kalantari KH, Hassibi N (2008). Study the interaction of ethylene and salicylic acid on induction of oxidative stress and mechanisms of resistance in canola plants (*Brassica napus* L.). Iranian journal of biology, 21:421-431. (In Farsi).
McCartny HA, Foster SJ, Fraaije BA and Ward E (2003). Molecular diagnostics for fungal plant pathogens. Pest Management Science, 59: 129- 142.
Meth welly A Finkemeire I, Georgi M and Dietz KJ (2003). Salicylic acid alleviates the Cadmium toxicity in Barley seedlings.Plant physiology, 132:281-327.
Mittler R 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science. 7:405-410.
Mohamed A-HM, Harris PJ, Henderson C and Senatore, F. (2002). Effect of Drought Stress on the Yield and Composition of Volatile Oils of Drought-Tolerant and Non-Drought-Tolerant Clones of Tagetes minuta.Planta Medica, 68: 472- 474.
Moradi A, Sharifi M, Mousavi A (2010). Study on gene expression of Hydroxylase (*H6H*) and putrescine N-methy1 transferase (PMT) isozymes under different concentrations of salicyclic acid in hairy roots and different organs of *Atropa belladonna* L. Journal of Biology 24:366-372. (In Farsi).
Nakano Y and Asada K (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology, 22:867-880.
Nezami S, Nemati H, Arayyio H, Bagheri A (2012). Reaction of Genous Mint to water deficiency stress under controlled conditions. Water and Soil Journal (Agricultural Science and Technology). 26: 1053-1061. (In Farsi).
Nowak, A Martin Corina E. Tarnita and Edward O. Wilson. 2010. The evolution of eusociality. international weekly journal of science, 466:1057-1062.
Petter NK Varma DPS (1990). Phenolic compounds as regulators of gene expression in plant-microbe interaction. Molecular Plant-Microbe Interactions Journal, 3: 4-8.
Popova, Pancheva T, Uzunova A (1997). Salicylic acid: properties, biosynthesis and physiological role. Bulgarian Journal of Plant Physiology, 23: 85-93.
Qareqanipour N, Khodambashi M, Shiran B, Mplaei A (1390). *LEA* gene expression in genotypes of beans (*Phaseolus vulgaris* L) under water deficiency stress on growth and productive phases. Modern Genetics. 7:223-240.
Raskin I (1992). Role of salicylic acid in plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 43: 463-739.
Raupach GS, and Kloepper JW (1998). Mixtures of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Enhance Biological Control of Multiple Cucumber Pathogens. The American Phytopathological Society, 88: 1158-1164.
Sairam RK, Rao KV and Srivastava GC, (2002). Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.9.1]

activity and osmolyte concentration. Plant Science, 163: 1037-1046.
Sairam RK, PS Deshmukh and DC Saxena (1998). Role of antioxidant systems in wheat genotypes tolerance to water stress. Biologia Plantarum. 41: 387-394.
Sang-Mo K, Ramalingam R, Abdul L Kh, Min-Ji Kim a,Jae-Man Park a, Bo-Ra Kim a, Dong-Hyun Shin a, In-Jung Lee. (2014). Gibberellin secreting rhizobacterium, Pseudomonas putida H-2-3 modulates the hormonal and stress physiology of soybean to improve the plant growth under saline and drought conditions. Plant Physiology and Biochemistry, 84:115-124.
Sang-Mo K, Abdul L, Kh, MuhammadW, Young-Hyun Y, Jin-Ho, Jong-Guk K, Muhammad H and In-Jung Leea. (2014). Plant growth-promoting rhizobacteria reduce adverse effects of salinity and osmotic stress by regulating phytohormones and antioxidants in *Cucumis sativus*. Journal of Plant Interactions,9: 673-682.
Sangtarash MH, Qaderi MM, Chinnappa CC and Reid DM (2009). Carotenoid differential sensitivity of canola (*Brassica napus*) seedlings to ultraviolet-B radiation, water stress and abscisic acid. Environmental and Experimental Botany, 66: 212-219.
Sayyaria M, Babalare M, Kalantarie S, Serranoc M, Valerod D (2009). Effect of salicylic acid treatment on reducing chilling injury in stored pomegranates. Postharvest Biology and Technology, 53: 152-154.
Schloss P, Walter C, and Mader M (1987). Basic peroxidases in isolated vacuoles of (*Nicotiana tabacum* L.). Planta. 170: 225-229.
Seyoum A, Asres K and El-Fiky FK 2006. Structure–radical scavenging activity relationships of flavonoids. Phytochemistry, 67: 2058-2070.
Sgarbi E, Fornasiero RB, Lins AP, Bonatti PM (2003). Phenol metabolism is differentially affected by ozone in two cell lines from grape (*Vitis vinifera* L.) leaf Plant Science Journal, 165: 951-957.
Shinozaki K and Yamaguchi-Shinozaki K 1999. Molecular responses to cold, drought, heat, and salt stress in higher plant. Landes Company, 170 pp.
Shirasu K, Nakajima H, Rajashekar K, Dixon RA and Lamb C (1997). Salicylic acid potentiates an agonist-dependent gain control that amplifies pathogen signal in the activation of defense mechanisms. Plant Cell, 9: 261-270.
Simon JE, Bubenheim RD, Joly RJ and Chares DJ (1992). Water stress induced alteration in essential oil content and composition of sweet basil. Journal of Essential Oil Research, 4: 71- 75.
Singh P, Mishra A (2001). Influence of gibberellins and ethereal on growth, chlorophyll content, protein, enzyme activities and essential monoterpene oil inefficient genotype Menthaspicata var. Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences, 22: 283-286.
Soland SF, Laima SK (1999). Phenolics and cold tolerance of *Brassica napus*.Plant Agriculture1: 1-5
Solecka D, Kacperska A (2003). Phenylpropanoid deficiency affects the course of plant acclimation to cold. Physiol. Plantarum, 119: 253-262.
Tahsili J, Sharifi M, Behmanesh B, Pourbozorgi Rudsari N Ziaei M (2010). Gene expression of eugnol O- methyl tranferase and components of essenteial oils in (*Ocimum basilicium* L.) at different stages of Growth. Journal of Biology, 23: 25-18.
Thulke O, Conrath U (1998). Salicylic acid has a dual role in the activation of defence-related genes in parsley. The Plant Journal, 14: 35-42.
Timmusk S and Wagner EGH (1999). The plant growthpromoting rhizobacterium Paenibacillus polymyxa induces changes in Arabidopsis thalianan gene expression: a possible connection between biotic and abiotic stress responses. Molecular Plant-Microbe Interactions Journal, 12:951-959.
Toor RK and Savage GP (2005). Antioxidant activity in different fractions of tomatoes. Food Research Internationa,l 38: 487-494.
Trovato M, R Mattioli and P Costantino (2008). Multiple roles of praline in plant stress tolerance and development. Rendiconti Lincei. 19: 325-346.
Vessey JK (2003) Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil, 255: 571-586.
Yang B, Kotani A, Aria K and Kusu F (2001). Estimation of the antioxidant activities of flavonoids from their oxidation potentials. *Analytical Sciences*, 17: 599-604.
Yang J, Kloepper JW and Ryu CM (2009). Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. Trends in Plant Science, 14:1-4.
Yang M, Yang Q, Fu T, and Zhou Y (2011). Overexpression of Brassica napus BnLAS gene in Arabidopsis affects plant development and increases drought tolerance. Plant Cell Reports 30: 373-388.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.9.1]