ارزیابی اثر تنش‌های خشکی و شوری بر خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی چهار گونه از جنس *Papaver*

بهنام داودنیا[۱]، جعفر احمدی[۲*]، صدیقه فابریکی اورنگ[۲]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد اصلاح نباتات، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

[۲]هیات‌علمی گروه تولید و اصلاح نباتات، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۰۶ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۰٤

چکیده

تحقیق حاضر به منظور ارزیابی تغییرات صفات مورفولوژیک و متابولیت‌های ثانویه در چهار گونه از جنس خشخاش (*P.bracteatum, P.somniferum, P.armeniacum, P.argemone*) تحت تنش خشکی و شوری انجام پذیرفت. این تحقیق در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل شوری با NaCl (۱۰۰mM)، خشکی (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و آبیاری نرمال (شاهد) بودند. برای سنجش فلاونوئیدکل، آنتوسیانین و محتوی آلکالوئید کل از روش اسپکتروفتومتری و برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل برگ از دستگاه spad استفاده گردید. آزمایش نشان داد که نوع تنش و گونه تأثیر بسیار معنی‌داری (P≤ ۰/۰۱) بر روی صفات مورفولوژیک داشتند. مقایسه میانگین نتایج نشان داد که مقادیر صفات مورفولوژیک، تحت تنش‌های خشکی و شوری به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کردند. به‌طوری‌که میزان کاهش در صفات مورفولوژیک در شرایط تنش خشکی بیشتر از تنش شوری بود. ولیکن مقادیر طول ریشه در شرایط تنش خشکی و وزن خشک اندام هوایی در تنش شوری افزایش نشان داد. در نتایج تجزیه واریانس مشخص شد که نوع تنش تأثیر معنی‌داری (P≤۰/۰۱) بر میزان آلکالوئید، فلاونوئید، آنتوسیانین کل و غلظت کلروفیل داشت. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که محتوی آلکالوئید، فلاونوئید و آنتوسیانین کل تحت تنش‌های خشکی و شوری در مقایسه با شرایط بدون تنش افزایش یافت. بیشترین ($OD.g^{-}$ $FW.^{1}$ ۲/۲۴) و کمترین ($OD.g^{-1}.FW$ ۱/۶۴) میزان آلکالوئید کل به‌ترتیب مربوط به گونه *P. bracteatum* در تنش خشکی و گونه *P. somniferum* در شرایط عدم تنش بود. گونه *P. somniferum* با کمترین کاهش در خصوصیات مورفولوژیکی، عملکرد بالایی در تولید متابولیت‌های ثانویه داشته است و اینکه تجمع متابولیت‌های ثانویه با تنش خشکی و شوری رابطه مثبت داشته و میزان افزایش متابلولیت‌های نمونه‌ها تحت تنش خشکی از شوری بیشتر بود.

واژه‌های کلیدی: تنش خشکی، خشخاش، شوری، متابولیت‌های ثانویه.

*نویسنده مسئول: njahmadi910@yahoo.com

مقدمه

امروزه به‌دلیل اثبات اثربخشی گیاهان دارویی و همچنین نگرانی‌هایی که به‌دلیل عوارض داروهای شیمیایی و محدودیت‌های استفاده طولانی‌مدت از آن‌ها وجود دارد، مصرف گیاهان دارویی و داروهای گیاهی در کشورهای مختلف افزایش‌یافته است (Dattner, 2003). گیاه دارویی خشخاش (*Papaver somniferum* L.) گیاهی متعلق به تیره شقایق (Papaveraceae)، علفی، با ارتفاع یک تا دو متر با ساقه‌ای قائم، منشعب، بی کرک (در بعضی نمونه‌ها خشن) و دارای برگ‌هایی متناوب بارنگ سبز غبارآلود است (Ali and Abbas, 2003). این گیاه تنها منبع اقتصادی مسکن‌هایی نظیر مورفین، کدئین و آنالوگ‌های نیمه سنتتیک شامل، اکسی کدون، هیدروکدون، بوپرنورفین و نالترکسون می‌باشد (Berenyi et al., 2009). دانه‌های گونه *Papaver argemone* نیز دارای اثر ملین بوده و از برگ‌های کوبیده شده آن برای رفع التهاب‌های جدی استفاده به عمل می‌آید (Ali and Abbas, 2003). خشخاش ایرانی یا همان *Papaver bractateum*، گیاهی دارویی است که در کوه‌های البرز در شمال تهران و کردستان ایران یافت می‌گردد و حاوی آلکالوئیدهای مورفینانی از قبیل تبائین، مورفین و کدئین می‌باشد؛ به‌طوری‌که آلکالوئید اصلی آن تبائین است (Tisserat and Berhow, 2009). *Papaver armeniacum* گونه‌ای است که دارای آلکالوئیدهای ایزوکوئینولینی آپورفین می‌باشد که از این دسته می‌توان به لیرینیدین، نوسیفرین و رومرین اشاره کرد.

گیاهان گروه بزرگ و متنوعی از ترکیبات آلی به نام متابولیت‌های ثانویه را تولید می‌کنند، که در سه خانواده مولکولی بزرگ گروه ترکیبات نیتروژن‌دار، ترپن‌ها و فنول‌ها دسته‌بندی می‌شوند (Chen et al., 2013). طبق تحقیقات فاکچینی و پارک (Facchini and Park, 2003) ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها از مؤثرترین و گسترده‌ترین متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که بیوسنتز آن‌ها در گیاهان به‌طورکلی سبب القای پاسخ به محرک‌های زنده و غیرزنده می‌شود (Rostampour et al., 2009). در پاسخ به تنش‌های شوری و خشکی، تولید ترکیبات ثانویه ممکن است افزایش یا کاهش نشان دهند، که تحقیقات زیادی در این زمینه انجام نشده است (Selmar, 2008). بنا به تحقیق انتشاری و شریفیان (Enteshari and Sharifian, 2012) تنش شوری با کاهش پتانسیل آب سبب کاهش سرعت طویل شدن و تورژسانس سلول می‌شود و از طرفی دیگر با کاهش تثبیت دی‌اکسید کربن رشد کلی گیاه را کاهش می‌دهد (Kasukabe et al., 2004). در همین رابطه ستایش‌مهر و اسماعیل‌زاده (Setayeshmehr and Esmailzadeh, 2013) گزارش کردند که تنش شوری سبب کاهش خصوصیات مورفولوژیک گیاه از قبیل طول ساقه و ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه و همچنین مقدار کلروفیل کل در گیاه دارویی گشنیز گردید، درحالی که مقادیر پرولین، قندهای محلول در بخش هوایی و ریشه و محتوی ترکیبات فنولی افزایش یافت. سایر تحقیقات گزارش کرده‌اند که تنش خشکی سبب کاهش میزان کلروفیل در مریم‌گلی (Bettaieb et al., 2011)، ریحان (Hosni and Omidbaigi, 2002) و بادرنجبویه (Abbaszadeh et al., 2008) گردید.

در این راستا، با توجه به اهمیت گونه‌های جنس خشخاش از نظر تفاوت در صفات مورفولوژیک و متابولیت‌های موجود در اندام‌های مختلف آن‌ها و نیز تاثیر تنش خشکی و شوری بر روی آن‌ها، در این تحقیق به بررسی تغییرات بیوشیمیایی و مورفولوژیکی گونه‌های مختلف این جنس تحت تنش خشکی و شوری پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بر روی چهار گونه از جنس خشخاش در محل گلخانه و آزمایشگاه ژنومیکس دانشگاه بین‌المللی امام خمینی انجام پذیرفت. بذور گونه‌های مورد مطالعه شامل، *P. somniferum*، *P.argemone*، *P. bracteatum* و *P. armeniacum* از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران (IBRC) تهیه شده و کشت گردیدند. بذور کشت شده در بازه زمانی ۸ تا ۱۲ روز جوانه زدند و جهت مطالعه، نمونه‌برداری در مرحله ۱۲ برگی، دو هفته بعد از اعمال تنش‌ها برداشت گردیدند. تیمارهای مورداستفاده در این پژوهش تنش خشکی در سطح ۵۰ درصد ظرفیت زراعی، تنش شوری با نمک NaCl (۱۰۰mM) و آبیاری نرمال (شاهد) بوده است.

به‌منظور سنجش صفات مورفولوژیک، برداشت گیاهان در دو مرحله انجام شد، در مرحله اول اندام هوایی گیاه برداشت شده و پارمترهای وزن تر اندام هوایی و ارتفاع گیاه به‌ترتیب ثبت شدند. در مرحله دوم ریشه شویی توسط الک انجام و مقادیر وزن تر ریشه و طول ریشه اندازه‌گیری شدند؛ سپس اندام‌های مذکور به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد داخل آون قرارگرفته و وزن خشک صفات اندام هوایی و ریشه اندازه‌گیری شدند. غلظت کلروفیل یا سبزینگی برگ گیاهان پس از اعمال تنش‌ها توسط دستگاه spad مدل (SPAD 502 Plus Chlorophyll Meter) اندازه‌گیری شد..

برای سنجش فلاونوئیدکل و آنتوسیانین (Nogues and Baker, 2000)، ۰/۲ گرم از بافت تر برگ در ۳ میلی‌لیتر متانول اسیدی (شامل متانول ۹۹/۵ درصد و هیدروکلریک اسید خالص به نسبت ۹۹ به ۱) همگن و درون تیوب دو میلی‌لیتری ریخته و به حجم رسانده شد. سپس به مدت پنج دقیقه با دور ۱۰۰۰g سانتریفیوژ شد و جذب عصاره رویی در طول موج ۳۰۰ و ۵۳۰ نانومتر به ترتیب برای فلاونوئیدکل و آنتوسیانین با دستگاه اسپکتروفتومتر DOUBLE BEAM مدل UV/Vis 4802 تعیین گردید و نتایج به‌صورت جذب در گرم وزن تر ($OD.g^{-1}.FW$) مورد مقایسه قرار گرفتند. برای سنجش محتوی آلکالوئید کل ابتدا نمونه‌ها در دمای ۷۰ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت درون آون قرارگرفته و خشک شدند. سپس ۰/۱ گرم از بافت خشک گیاه با دو میلی‌لیتر محلول اتانول اسیداستیک (۹۰ به ۱۰ اتانول : اسید استیک) کوبیده و همگن شد (Harborne, 1973). محلول همگن به فالکون‌های ۱۵ میلی‌لیتری منتقل و به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شده و به مدت چهار ساعت بر روی شیکر قرار گرفت. بعد از عبور محلول از کاغذ واتمن، به‌منظور کاهش حجم آن به ۲/۵ میلی‌لیتر، فالکون‌ها به‌صورت در باز در داخل بن‌ماری با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس هیدروکسید آمونیوم غلیظ قطره قطره به محلول افزوده شد تا رسوب تشکیل گردد. بعد از تشکیل رسوب، عمل سانتریفیوژ انجام و محلول رویی دور ریخته شد و رسوب موجود در دیواره تیوب در اسیدسولفوریک ۰/۱ مولار حل‌شده و جذب در طول‌موج ۳۶۰ نانومتر برحسب جذب در گرم وزن خشک ($OD.g^{-1}.DW$) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد.

در نهایت پس از بررسی نرمال بودن داده‌ها، تجزیه واریانس صفات به صورت فاکتوریل و مقایسه میانگین تیمارها به روش دانکن انجام پذیرفت. برای تجزیه‌های آماری از نرم‌افزارهای MSTATC و SPSS و ترسیم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

نتایج

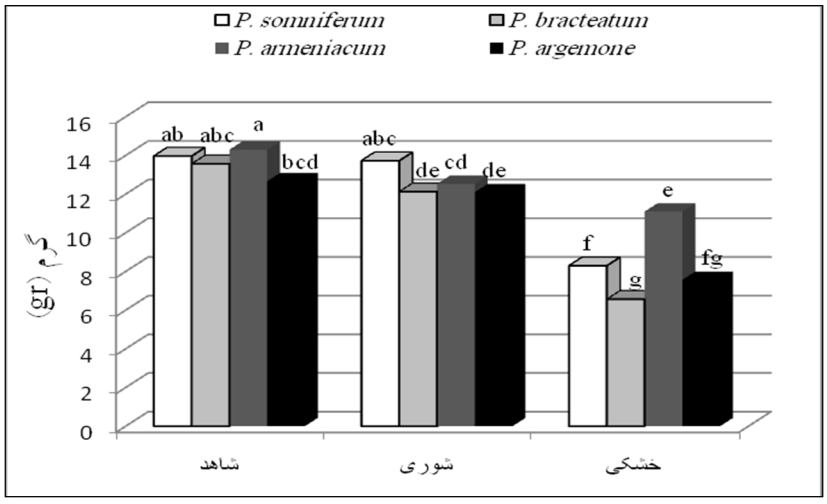
بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) تیمار تنش اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

(P≤۰/۰۱) بـر روی طـول ریشـه داشـت. بـا مقایسـه میانگین داده‌ها طول ریشه در تـنش خشـکی (۱۵/۶۳ سانتی‌متر) به‌طور معنی‌داری نسـبت بـه شـاهد (۱۱/۲ سانتی‌متر) افزایش یافت؛ درحالی‌که بین تنش شـوری و شاهد (به‌ترتیب با مقدار ۱۱/۷۵ و ۱۱/۲ سـانتی‌متر) اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول ۲). طبـق نتایج، نوع تنش اثـر بسـیار معنـی‌داری (P≤۰/۰۱) بـر روی وزن تر ریشه و اندام هوایی داشتند (جدول ۱) و با مقایسه میانگین داده‌ها، مقدار وزن‌تر اندام هوایی در شرایط تنش خشـکی (بـا ۸/۳۸ گـرم) و شـوری (بـا ۱۲/۶۳ گرم)، به طور معنی‌داری نسبت به شرایط عدم تنش (با ۱۳/۶۳ گرم) کـاهش پیـدا کـرد (جـدول ۲). نتایج مقایسه میانگین وزن‌تر اندام هوایی در گونه‌ها و شرایط مختلف تنش نشان داد کـه بیشـترین (بـیش از ۵۰ درصد) و کمتـرین (کمتـر از دو درصـد) کـاهش میزان وزن‌تر اندام هوایی بـه‌ترتیـب مربـوط بـه گونـه *P. bracteatum* در شـرایط تـنش خشـکی و گونـه *P. somniferum* در تنش شوری بود (شکل ۱).

جدول ۱: تجزیه واریانس اثر تیمارها بر صفات مورفولوژیک در چهار گونه جنس خشخاش (*P.bracteatum, P.somniferum, P.armeniacum, P.argemone*)

منابع تغییر (SOV)	df	میانگین مربعات (MS)					
		ارتفاع بوته	طول ریشه	وزن‌خشک ریشه	وزن‌تر ریشه	وزن‌خشک اندام هوایی	وزن‌تر اندام هوایی
گونه (A)	۳	۱۰/۸۲**	۱۷/۴۳**	۴۵/۳۷**	۵۲/۴۷**	۹/۸۳**	۷/۸۸**
استرس (B)	۲	۱۴/۳۰**	۷۰/۶۳**	۲۷/۷۷**	۵۲/۹۸**	۱۹/۵۱**	۹۲/۹۳**
اثرمتقابل (A×B)	۶	۴/۶۱**	۱/۳۱^{ns}	۳/۸۰**	۳/۲۴**	۱/۶۵**	۳/۳۶**
خطای آزمایشی	۲۴	۰/۳۳	۱/۳۴	۰/۴۶	۰/۴۶	۰/۳۸	۰/۵۲
CV%		۸/۶۷	۹/۰۰	۹/۴۵	۷/۷۹	۷/۹۷	۶/۲۱

n.s، *و**: به‌ترتیب اختلاف غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱.



شکل ۱: مقایسه میانگین اثر متقابل تنش و گونه بر وزن‌تر اندام هوایی در چهار گونه جنس خشخاش

جدول ۲: مقایسه میانگین اثر تیمارها بر صفات مورفولوژیک در چهار گونه جنس خشخاش

نوع گونه	ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)	طول ریشه (سانتی‌متر)	وزن خشک ریشه (گرم)	وزن تر ریشه (گرم)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	وزن تر هوایی (گرم)
P.somniferum	۷/۳۱^{A*}	۱۳/۱۰^{A}	۵/۳^{B}	۷/۳۶^{C}	۷/۹^{B}	۱۲/۰۰^{A}
P.bracteatum	۷/۴۷^{A}	۱۳/۶۰^{A}	۴/۳^{C}	۶/۰۰^{D}	۶/۹^{C}	۱۰/۷۶^{B}
P.armeniacum	۵/۷۱^{B}	۱۰/۸۰^{B}	۹/۲^{A}	۱۱/۱۲^{A}	۹/۹^{A}	۱۲/۶۴^{A}
P.argemone	۵/۶۰^{B}	۱۳/۸۶^{A}	۹/۰^{A}	۱۰/۲۹^{B}	۷/۰^{B}	۱۰/۷۸^{B}

نوع تنش	ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)	طول ریشه (سانتی‌متر)	وزن خشک ریشه (گرم)	وزن تر ریشه (گرم)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	وزن تر هوایی (گرم)
آبیاری نرمال (شاهد)	۷/۸۳^{A}	۱۱/۲^{B}	۸/۵۷^{A}	۱۰/۷۵^{A}	۸/۱۸^{B}	۱۳/۶۳^{A}
تنش شوری	۶/۲^{B}	۱۱/۷۵^{B}	۷/۴^{B}	۸/۷۸^{B}	۸/۷۶^{A}	۱۲/۶۳^{B}
تنش خشکی	۵/۷۵^{B}	۱۵/۶۳^{A}	۵/۶^{C}	۶/۵۵^{C}	۶/۳۲^{C}	۸/۳۸^{C}

*: حروف متفاوت در هر ستون اعداد دارای اختلاف آماری معنی‌دار در سطح یک درصد می‌باشند.

بر اساس مقایسه میانگین وزن‌تر ریشه در اثر متقابل تنش × گونه، بیشترین (۱۲/۹۳ گرم) و کمترین (۵/۴۷ گرم) وزن‌تر ریشه، به ترتیب مربوط به گونه *P. argemone* در شرایط عدم تنش و گونه *P. somniferum* تحت تنش خشکی بود (شکل ۲). با تجزیه واریانس داده‌ها، نوع گونه و تیمار تنش اثر بسیار معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۱) بر روی وزن خشک ریشه و وزن خشک اندام هوایی داشتند (جدول ۱)؛ به‌طوری‌که بیشترین (۸/۷۶ گرم) و کمترین (۶/۳۲ گرم) مقدار وزن خشک اندام هوایی، به‌ترتیب مربوط به تنش شوری و خشکی بود. در واقع در تنش شوری نه‌تنها میزان وزن خشک اندام هوایی کاهش نیافت، بلکه به مقدار کم و البته غیر معنی‌دار، افزایش داشت (جدول ۲). مقایسه میانگین وزن خشک اندام هوایی در گونه‌ها و شرایط مختلف تنش نشان داد که، گونه *P. armeniacum* در مقایسه با سایر گونه‌ها دارای بیشترین کاهش از لحاظ صفت مذکور در تنش خشکی و شوری بود (شکل ۳). همچنین براساس مقایسه میانگین اثر متقابل تنش × گونه، گونه‌های *P. bracteatum* و *P. argemone* در مقایسه با گونه‌های *P. somniferum* و *P. armeniacum* دارای حساسیت بیشتری نسبت به تنش خشکی ازنظر کاهش در وزن خشک ریشه بودند (شکل ۴). به‌طور کلی نتایج صفات مورفولوژیک نشان داد که میزان بیوماس‌تر و خشک در گونه‌های مختلف در تنش شوری نسبت به تنش خشکی کاهش کمتری داشت.

مطابق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳)، نوع تنش دارای اثر معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۱) بر روی فلاونوئید کل بود؛ به‌طوری‌که بیشترین ($OD.g^{-1}.FW$ ۳/۲) و کمترین ($OD.g^{-1}.FW$ ۳/۰۶) میزان فلاونوئید کل به‌ترتیب مربوط به تنش خشکی و شرایط عدم تنش بود. اما اختلاف معنی‌داری ازنظر فلاونوئیدکل بین تنش شوری و شرایط عدم تنش مشاهده نگردید (جدول ۴). مقایسه میانگین فلاونوئیدکل در گونه‌ها و شرایط مختلف تنش نشان داد که در همه گونه‌ها میزان صفت مذکور در تنش خشکی و شوری نسبت به شرایط عدم تنش افزایش داشت؛ به طوری که گونه *P. somniferum* در شرایط تنش خشکی دارای

بیشترین میزان فلاونوئید کل بود (شکل ۵). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که منابع تغییر گونه و تنش از نظر صفات کلروفیل، آنتوسیانین و آلکالوئیدکل در سطح احتمال یک درصد (P≤۰/۰۱) معنی‌دار بودند (جدول ۳). براساس مقایسه میانگین داده‌ها، مقدار آنتوسیانین و آلکالوئید کل در تنش خشکی (به ترتیب با ۱/۵۲ و ۱/۹۱ $OD.g^{-1}.FW$) و شوری (به‌ترتیب با ۱/۲۵ و ۱/۷۶ $OD.g^{-1}.FW$) نسبت به شاهد (به ترتیب با ۱/۰۵ و ۱/۳۶ $OD.g^{-1}.FW$) به‌طور معنی داری افزایش پیدا کرد (جدول ۴)؛ در حالی که میزان غلظت کلروفیل در گونه‌های مختلف در شرایط تنش کاهش پیدا کرد (شکل ۶). مقایسه میانگین اثر متقابل تنش × گونه در مورد آنتوسیانین و آلکالوئید کل نشان داد که، در گونه‌های *P. bracteatum* و *P. somniferum* به‌ترتیب میزان آنتوسیانین (شکل ۷) و آلکالوئید کل (شکل ۸) در مقایسه با سایر گونه‌ها تحت شرایط تنش خشکی و شوری افزایش بیشتری داشتند.

جدول ۳: تجزیه واریانس اثر تیمارها بر صفات بیوشیمیایی در چهار گونه جنس خشخاش (*P.bracteatum, P.somniferum, P.armeniacum, P.argemone*)

منابع تغییر (SOV)	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)			
		آنتوسیانین	غلظت‌کلروفیل	فلاونوئیدکل	آلکالوئیدکل
گونه (A)	۳	۰/۱۷**	۲۷/۸۶**	۰/۰۱^{ns}	۰/۴۸**
استرس (B)	۲	۰/۶۷**	۷۵/۶۹**	۰/۱۴**	۰/۹۷**
اثرمتقابل(A×B)	۶	۰/۱۸**	۲/۴۴^{ns}	۰/۰۱^{ns}	۰/۰۴*
خطای آزمایشی	۲۴	۰/۰۱	۱/۲۷	۰/۰۱	۰/۰۲
CV%		۸/۴	۳/۲۵	۲/۷۴	۷/۲۰

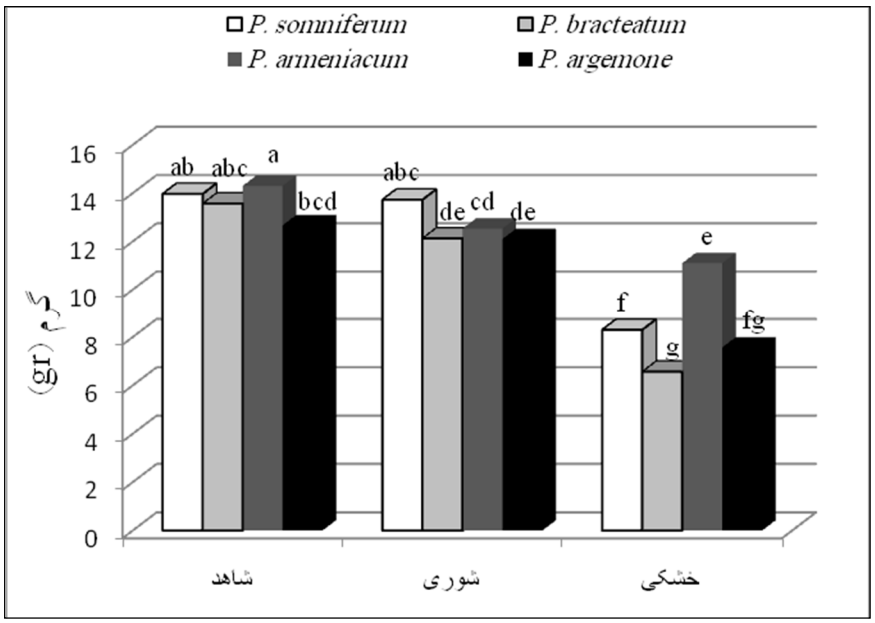
n.s، *و **: به ترتیب اختلاف غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱.

جدول ٤: مقایسه میانگین اثر تیمارها بر صفات بیوشیمیایی در گونه‌های خشخاش

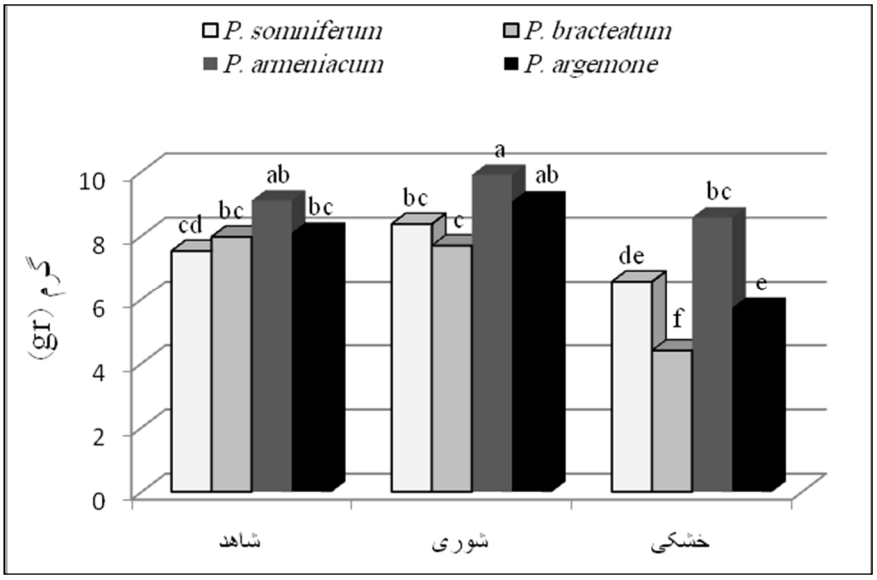
نوع گونه	غلظت کلروفیل (واحد spad)	فلاونوئیدکل ($OD.g^{-1}.FW$)	آنتوسیانین ($OD.g^{-1}.FW$)	آلکالوئید کل ($OD.g^{-1}.FW$)
P.somniferum	۳۲/۶۹^{C*}	۳/۱۷^{A}	۶۴^{A}	۱/۵۷^{B}
P.bracteatum	۳۴/۹۷^{B}	۳/۱۵^{A}	۱/۲۱^{B}	۲/۲۰^{A}
P.armeniacum	۳۴/۱۷^{B}	۳/۱۰^{A}	۱/۳۸^{B}	۱/۵۴^{B}
P.argemone	۳۶/۹۱^{A}	۳/۱۶^{A}	۱/۴۸^{B}	۱/۵۷^{B}

نوع تنش	غلظت کلروفیل (واحد spad)	فلاونوئیدکل ($OD.g^{-1}.FW$)	آنتوسیانین ($OD.g^{-1}.FW$)	آلکالوئید کل ($OD.g^{-1}.FW$)
آبیاری نرمال (شاهد)	۳۷/۵۷^{A}	۳/۰۶^{B}	۱/۰۵^{C}	۱/۳۶^{C}
تنش شوری	۳۳/۴۶^{B}	۳/۱^{B}	۱/۲۵^{B}	۱/۷۶^{B}
تنش خشکی	۳۳/۰۳^{B}	۳/۲^{A}	۱/۵۲^{A}	۱/۹۱^{A}

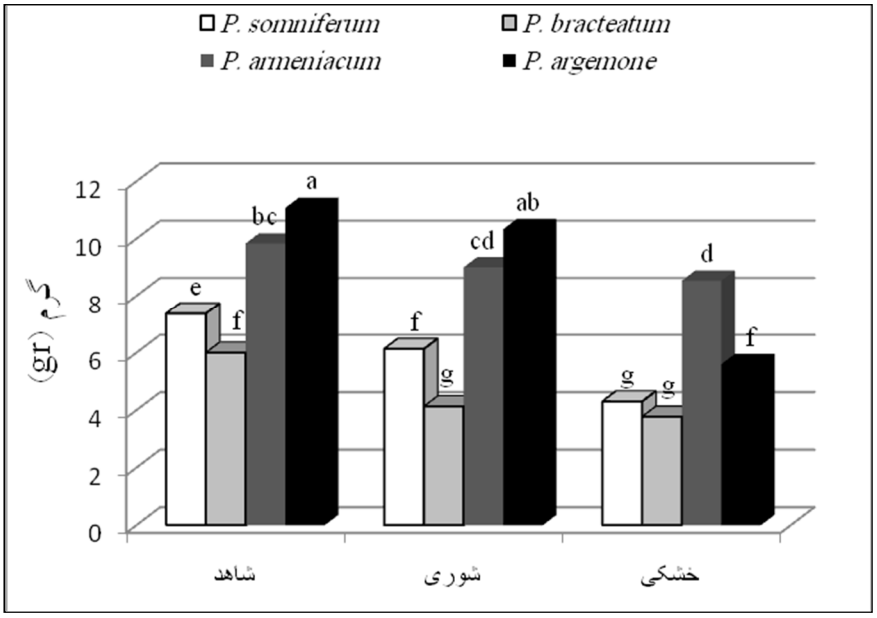
*:حروف متفاوت در هر ستون اعداد دارای اختلاف آماری معنی‌دار در سطح یک درصد می‌باشند..



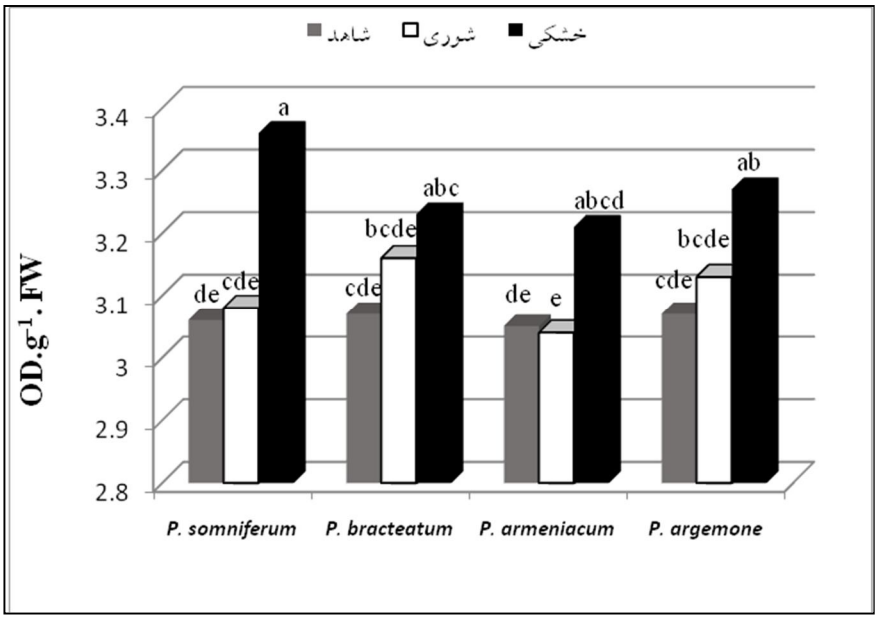
شکل ۲: مقایسه میانگین اثر متقابل تنش و گونه بر وزن‌تر ریشه در چهار گونه جنس خشخاش



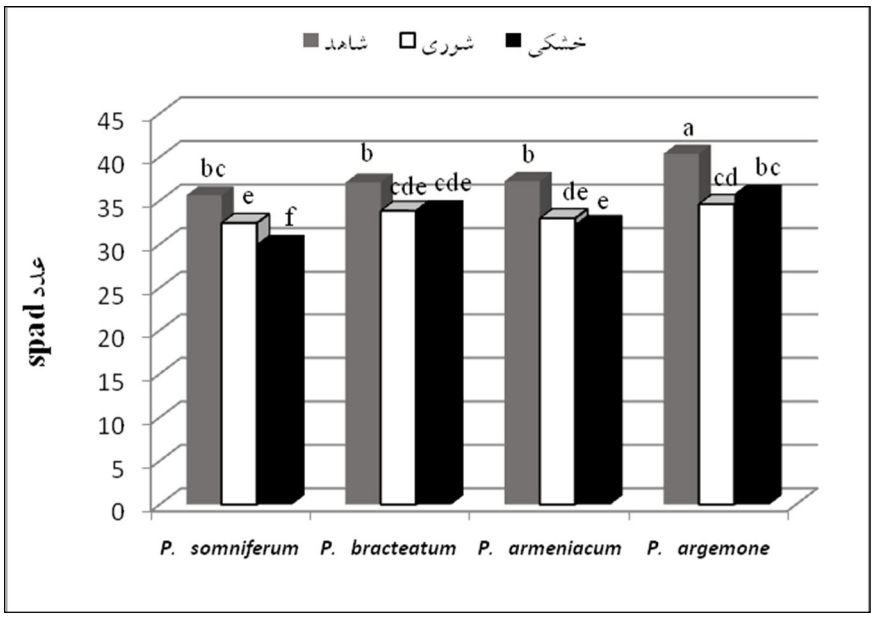
شکل ۳: مقایسه میانگین اثر متقابل تنش و گونه بر وزن‌خشک اندام هوایی در چهار گونه جنس خشخاش



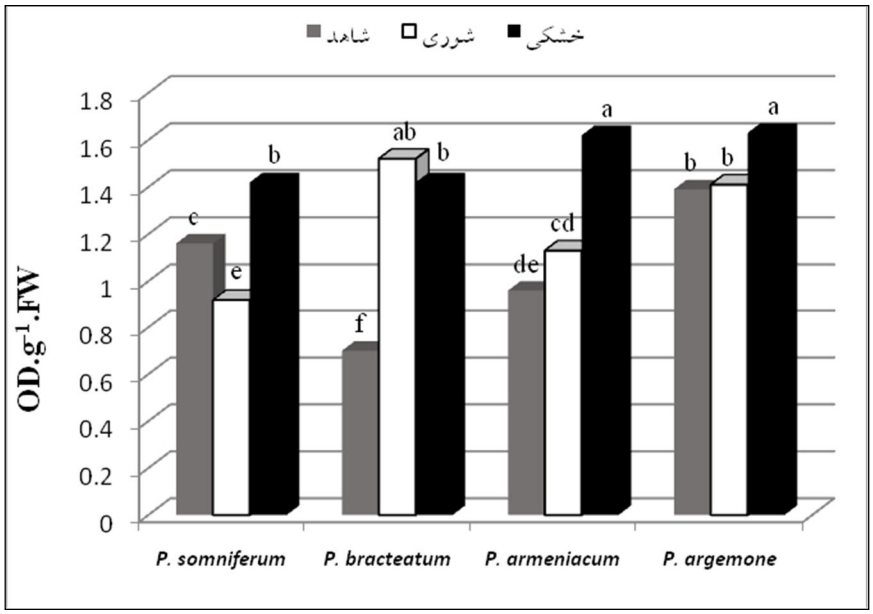
شکل ٤: مقایسه میانگین اثر متقابل تنش و گونه بر وزن‌خشک ریشه در چهار گونه جنس خشخاش



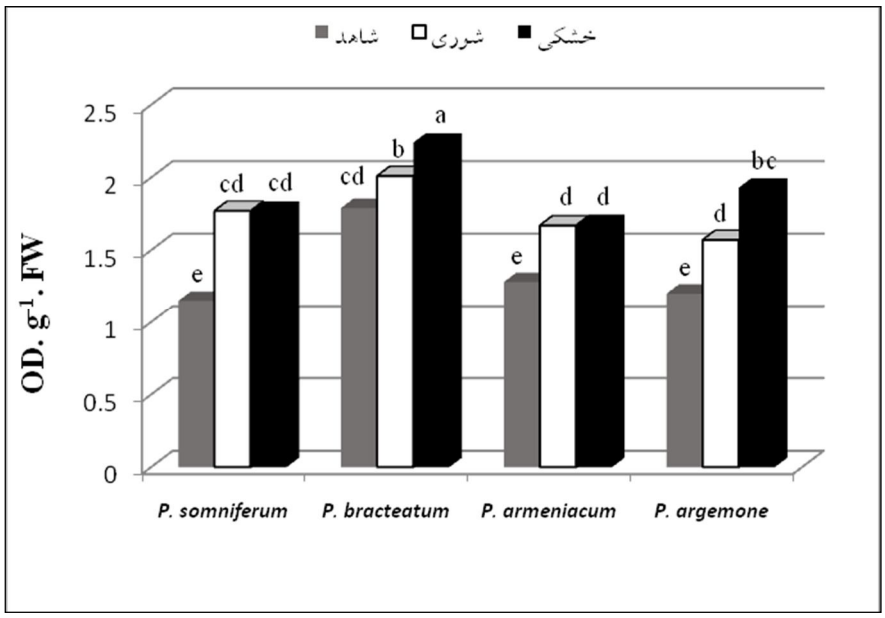
شکل ٥: مقایسه میانگین اثر متقابل تنش و گونه بر میزان فلاونوئید کل در چهار گونه جنس خشخاش



شکل ٦: مقایسه میانگین اثر متقابل تنش و گونه بر غلظت کلروفیل
در چهار گونه جنس خشخاش



شکل ۷: مقایسه میانگین اثر متقابل تنش و گونه بر محتوی آنتوسیانین
در چهار گونه جنس خشخاش



شکل ۸: مقایسه میانگین اثر متقابل تنش و گونه بر محتوی آلکالوئید کل در چهار گونه جنس خشخاش

بحث

متابولیت‌های ثانویه نقش مهمی در سازگاری گیاهان به شرایط محیط ایفا می‌کنند و تجمع آن‌ها در پاسخ به الیسیتورهای مختلف اتفاق می‌افتد. خشکی، شوری و سرما از عوامل محیطی هستند که بر روی رشد گیاه و تولید متابولیت‌های آن اثر می‌گذارند (Akula and Ravishankar, 2011). در پاسخ به تنش شوری و خشکی، تولید ترکیبات ثانویه ممکن است افزایش یا کاهش یابد؛ که تحقیقات زیادی در این زمینه انجام نشده است (Selmar, 2008). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مقادیر صفات مورفولوژیک تحت تنش‌های خشکی و شوری به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کردند؛ به طوری که میزان کاهش در صفات مورفولوژیک در شرایط تنش خشکی بیشتر از تنش شوری بود. ولیکن مقادیر طول ریشه در شرایط تنش خشکی و وزن خشک اندام هوایی در تنش شوری نه تنها کاهش نیافت، بلکه افزایش نیز داشت. در تحقیقی که مهدوی دامغانی و همکاران (Mahdavi-Damghani et al., 2010) در خشخاش انجام دادند، گزارش کردند که تحت تنش آبی مقدار هدایت روزنه‌ای، تعداد برگ و بیوماس گیاه خشخاش کاهش پیدا کرد؛ که با کاهش خصوصیات رشدی و مورفولوژیک در تحقیق حاضر هم‌راستا می‌باشد. همچنین در پژوهشی که زابو و همکاران (Szabo et al., 2003) در گیاه خشخاش انجام دادند، مشاهده شد که با اعمال تنش خشکی حجم رویشی گیاه به طور معنی‌داری در مقایسه با شرایط عدم تنش کاهش یافت. در مطالعه‌ای که بابایی و همکاران (Babaei et al., 2010) بر روی آویشن انجام دادند؛ گزارش کردند که با افزایش تنش خشکی ارتفاع بوته، تعداد ساقه جانبی، وزن خشک و وزن تر اندام رویشی، حجم ریشه، وزن تر و خشک ریشه و طول ریشه کاهش یافت؛ که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد؛ به‌جز طول ریشه که می‌تواند به دلیل محیط آزمایش و نوع گونه باشد؛ به‌طوری‌که در مطالعه‌ای بر روی گیاه همیشه بهار با افزایش خشکی طول ریشه افزایش پیدا کرد (Jafarzadeh et al., 2014).

مطابق با نتایج حاصل از این تحقیق، محتوی آلکالوئید، فلاونوئید و آنتوسیانین کل در هر دو شرایط تنش خشکی و شوری به طور معنی‌داری افزایش یافت؛ در حالی که میزان غلظت کلروفیل گیاه نه تنها افزایش پیدا نکرد، بلکه نسبت به شرایط عدم تنش کاهش نیز داشت. یکی از تغییراتی که در تنش‌های مختلف محیطی مانند شوری و خشکی اتفاق می‌افتد، تولید گونه‌های واکنشگر اکسیژن[1] (ROS) می‌باشد (که می‌تواند سبب تخریب کلروفیل شود (Yasar et al., 2006 ;Ozkur et al., 2009). در همین رابطه حیدری و همکاران (Heidari et al., 2015) گزارش داده‌اند که خشکی سبب کاهش شاخص محتوی کلروفیل، سرعت فتوسنتز و محتوی نسبی آب در گیاه دارویی بادیان رومی گردید که همسو با نتایج تحقیق حاضر می‌باشد. به نظر می‌رسد که ایجاد تنش اکسیداتیو در اثر تنش خشکی و شوری سبب تخریب کلروفیل گردیده و میزان فتوسنتز کاسته می‌شود؛ و چون تولید مواد اولیه متابولیت‌های ثانویه و همچنین رشد گیاه وابسته به فتوسنتز می‌باشد، درنتیجه میزان این متابولیت‌ها و رشد گیاه دچار تغییراتی می‌شود. بنابه تحقیق افشار و فولاد (Ashraf and Foolad, 2007)، تجمع مواد قندی، پرولین و تعدادی از اسمولیت‌ها در پاسخ به کم‌آبی سبب حفظ سلول از اثرات تخریبی گونه‌های واکنشگر اکسیژن می‌شود که افزایش تولید ترکیبات فنولی نیز در همین رابطه مانع نفوذ رادیکال‌های آزاد به درون سلول شده و واکنش پراکسیداتیو را محدود می‌کند (Rezazadeh et al., 2012). عباسپور و رضایی (Abbaspour and Rezaei, 2015) گزارش کردند که با افزایش تنش خشکی مقادیر کلروفیل a و کلروفیل b در گیاه بادرشبو کاهش یافت، ولیکن مقدار فلاونوئید، آنتوسیانین و ترکیبات فنولی افزایش یافت، که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. در تحقیقی دیگر نیز گزارش کردند که تنش خشکی سبب افزایش آنتوسیانین، پرولین، قندهای محلول و کارتنوئید در گیاه همیشه‌بهار گردید (Jafarzadeh et al., 2014). زابو و همکاران (Szabo et al., 2003) نیز گزارش کردند که تنش خشکی در گیاه *P. somniferum* سبب افزایش محتوی آلکالوئیدی گردید، به‌طوری‌که میزان مورفین، کدئین و نارکوتین در خشخاش به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد؛ در حالی که تنش مایکوتوکسین تأثیری بر محتوی آلکالوئید خشخاش نداشت. در همین رابطه گزارش شده است که در تنش خشکی مقدار متابولیت‌های ثانویه در خشخاش افزایش می‌یابد (Akula and Ravishankar, 2011). در مطالعه دیگری که در آن به تأثیر نوع واریته و تنش خشکی بر روی محتوی ایندول آلکالوئید در گیاه دارویی پریوش پرداخته‌شده بود، گزارش کرده‌اند که تنش خشکی میزان متابولیت مذکور را افزایش داد، ولیکن میزان آن در واریته Rosea بیشتر از واریته Alba بود؛ که با تفاوت محتوی آلکالوئیدی گونه‌های مختلف جنس خشخاش در تحقیق حاضر همسو می‌باشد (Jaleel et al., 2008).

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج آزمایش نشان داد که میزان تأثیر تنش خشکی بر کاهش رشد گیاه به‌مراتب بیشتر از تنش شوری بود؛ به‌طوری‌که حتی در مواردی تنش شوری اختلافی با شاهد نداشت. مقدار آنتوسیانین، فلاونوئیدکل و آلکالوئید کل در هر دو تنش شوری و خشکی افزایش پیدا کرد؛ ولیکن تنش خشکی نسبت به شوری تأثیر بیشتری برافزایش متابولیت‌های مذکور داشت. با توجه به اینکه امروزه یکی از اهداف کشت گیاهان دارویی، افزایش متابولیت‌های ثانویه بدون کاهش قابل‌توجه در سبزینگی و بیوماس تولیدی گیاه

1. Reactive Oxygen Species

می‌باشد، نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان‌دهنده این موضوع است که، گونه *P. somniferum* با حداقل کاهش بیوماس تر و خشک، می‌تواند عملکرد بالایی از آلکالوئیدهای با ارزش را تولید کند.

References

1. Abbaspour, H. and Rezaei, H. 2015. Effects of gibberellic acid on Hill reaction, photosynthetic Pigment and phenolic compounds in Moldavian dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) in different drought stress levels. Iranian Journal of Biology, 27: 893-903.
2. Abbaszadeh, B., Sharifi-ashurabadi, E. Lebaschy, M.H., Naderi-hajibaqerkandi, M. and Moghaddami, F. 2008. Effect of drought stress on prolin, soluble sugar, chlorophyll and relative water content (RWC) of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). Iranian Medicinal and Aromatic Plants Research, 23 (4): 504-513.
3. Akula, R. and Ravishankar, G.A. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. Plant signaling and behavior, 6(11): 1720-1731.
4. Ali, R.M. and Abbas, H.M. 2003. Response of salt stressed barley seedlings to phenylurea. Plant Soil and Environment, 49(4): 158-162.
5. Ashraf, M. and Foolad, M. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany, 59(2): 206-216.
6. Babaei K., Amini Dehaghi, M., Modares Sanavi, S.A.M. and Jabbari, R. 2010. Water deficit effect on morphology, prolin content and thymol percentage of Thyme (*Thymus vulgaris* L.), Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 26(2): 239-251.
7. Berenyi, S., Csutoras, C. and Sipos, A. 2009. Recent developments in the chemistry of thebaine and its transformation products as pharmacological targets. Current medicinal chemistry, 16(25): 3215-3242.
8. Bettaieb, I., Hamrouni-Sellami, I., Bourgou, S., Limam, F., and Marzouk, B. 2011. Drought effects on polyphenol composition and antioxidant activities in aerial parts of *Salvia officinalis* L. Acta Physiologiae Plantarum, 33(4): 1103-1111.
9. Chen, J., Gao, K., Liu, T., Zhao, H., Wang, J., Wu, H., Liu, B. and Wang, W. 2013. Aporphine alkaloids: a kind of alkaloids extracts source, chemical constitution and pharmacological actions in different botany: a review. Asian Journal of Chemistry, 25(18): 10015-10027.
10. Dattner, A.M. 2003. From medical herbalism to phytotherapy in dermatology: back to the future. Dermatologic therapy, 16(2): 106-113.
11. Enteshari, S. and Sharifian, S. 2012. Influence of salicylic acid on growth and some biochemical parameters in a C4 plant (*Panicum miliaceum* L.) under saline conditions. African Journal of Biotechnology, 11(3): 621-627.
12. Facchini, P.J. and Park, S.U. 2003. Developmental and inducible accumulation of gene transcripts involved in alkaloid biosynthesis in opium poppy. Phytochemistry, 64(1): 177-186.
13. Harborne, J.B. 1973. Phytochemical methods. Chapman and Hall Publications, London, pp. 288.
14. Heidari, N., Pouryousef, M. and Tavakoli, A. 2015. Effects of drought stress on photosynthesis, its parameters and relative water content of anise (*Pimpinella anisum* L.). Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 27: 829-839.
15. Hosni. A., Omidbaigi, R. 2002. Effects of water stress on some morphological, physiological and metabolic Basil. Journal of Agricultural Knowledge, 12(3): 47-59.
16. Jafarzadeh, L., Omidi, H. and Bostani, A.A. 2014. The study of drought stress and biofertilizer of nitrogen on some biochemical traits of Marigold medicinal

plant (*Calendula officinalis* L.). Plant Research Journal, 27 (2): 180-193.
17. Jaleel, C.A., Gopi, R., Sankar, B., Gomathinayagam, M. and Panneerselvam, R. 2008. Differential responses in water use efficiency in two varieties of *Catharanthus roseus* under drought stress. Comptes Rendus Biologies, 331(1): 42-47.
18. Kasukabe, Y., He, L., Nada, K., Misawa, S., Ihara, I. and Tachibana, S. 2004. Overexpression of spermidine synthase enhances tolerance to multiple environmental stresses and up-regulates the expression of various stress-regulated genes in transgenic Arabidopsis thaliana. Plant and Cell Physiology, 45(6): 712-722.
19. Mahdavi-Damghani, A., Kamkar, B., Al-Ahmadi, M.J., Testi, L., Munoz-Ledesma, F.J. and Villalobos, F.J. 2010. Water stress effects on growth, development and yield of opium poppy (*Papaver somniferum* L.). Agricultural Water Management, 97(10): 1582-1590.
20. Nogues, S. and Baker, N. R. 2000. Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean plants grown under enhanced UV-B radiation. Journal of Experimental Botany, 51(348): 1309-1317.
21. Ozkur, O., Ozdemir, F., Bor, M. and Turkan, I. 2009. Physiochemical and antioxidant responses of the perennial xerophyte *Capparis ovata* to drought. Environmental and Experimental Botany, 66(3): 487-492.
22. Rezazadeh, A., Ghasemnezhad, A., Barani, M. and Telmadarrehei, T. 2012. Effect of salinity on phenolic composition and antioxidant activity of artichoke (*Cynara scolymus* L.) leaves. Research Journal Medicinal Plant, 6: 245-252.
23. Rostampour, S., Sohi, H.H., Jourabchi, E. and Ansari, E. 2009. Influence of *Agrobacterium rhizogenes* on induction of hairy roots and benzylisoquinoline alkaloids production in Persian poppy (*Papaver bracteatum* L.): preliminary report. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 25(10): 1807-1814.
24. Selmar, D. 2008. Potential of salt and drought stress to increase pharmaceutical significant secondary compounds in plants. Landbauforschung Volkenrode, 58(1/2): 139.
25. Setayeshmehr, Z. and Esmailzadeh Behabadi, S. 2013. The effect of salinity on some physiological and biochemical properties of the herb coriander (*Coriandrum sativum* L.). Journal of Plant Production Research, 20 (3): 111-128.
26. Szabo, B., Tyihak, E., Szaba, G. and Botz, L. 2003. Mycotoxin and drought stress induced change of alkaloid content of *Papaver somniferum* plantlets. Acta Botanica Hungarica, 45(3-4): 409-417.
27. Tisserat, B. and Berhow, M. 2009. Production of pharmaceuticals from papaver cultivars *invitro*. Engineering in Life Sciences, 9(3): 190-196.
28. Yasar, F., Kusvuran, S. and Ellialtioglu, S. 2006. Determination of antioxidant activities in some melon (*Cucumis melo* L.) varieties and cultivars under salt stress. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 81(4): 627-630.

Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, 5th Year, Volume Two, Summer 2017

Evaluation of drought and salinity stresses on morphological and biochemical characteristics in four species of *Papaver*

Davoodnia, B [1], Ahmadi, J.[2*], Fabriki-Ourang, S.[2]

[1]M.Sc. student of Plant Breeding, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran
[2]Department of Plant Breeding, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran

Received: 26-12-2016 ; Accepted: 22-2-2017

Abstract

The presence study was carried out to determine the changes in morphological traits and secondary metabolites in four species of *Papaver* genus under drought and salinity stresses. This research was conducted in factorial experiment using a completely randomized design with three replications. The treatments were included, salinity with NaCl (100mM), drought stress (50% FC) and well-watered (control). The amount of total alkaloids, flavonoids and anthocyanins were determined by spectrophotometer and the content of leaf chlorophyll was measured using Spad *chlorophyll meter*. The results were showed that stresses and species had a significant effect ($P \leq 0.01$) on all of morphological traits. Mean comparison were showed that there is differences among stresses in terms of morphological traits; so in under drought stress, the amount of plant height (from 7.83 to 5.75 cm), root fresh weight (from 10.75 to 6.75 gr), root dry weight (from 8.57 to 5.6 gr), aerial fresh weight (from 13.63 to 8.38 gr) and aerial dry weight (from 8.18 to 6.32 gr) in compared with well-watered conditions was reduced. In contrast, root length in compared with well-watered irrigation increased (from 15.63 to 11.2 cm). But there was no considerable change in morphological traits under salinity stress in compared with well-watered conditions. Statistical results showed that stresses had significant effect ($P \leq 0.01$) on content of total alkaloid, total flavonoid, anthocyanin and chlorophyll concentration. The contents of total alkaloid, total flavonoid and anthocyanin increased under drought and salinity stresses in compared with well-watered condition. The highest (2.24 OD.g-1.FW) and the lowest (1.64 OD.g-1.FW) amount of total alkaloid was related to *P. bracteatum* under drought stress and P. *somniferum* in well-watered conditions, respectively. The P. *somniferum* could produce a high yield of alkaloids, because of minimal reduction in morphological characteristics. Overall, the accumulation of secondary metabolites under salinity and drought stresses has a positive correlation with stress tolerance and the metabolites accumulation under drought stress was higher than salinity.

Keywords: Drought, *Papaver* species, Stress, Salinity, Secondary metabolites.

*Corresponding author: njahmadi910@yahoo.com