

تأثیر عصاره جلبک دریایی بر رشد و شاخص‌های فیزیولوژیک گوجه فرنگی در

شرایط تنش خشکی^۱

The Effect of Seaweed Extract (*Sargassum angustifolium* L.) on Growth and Physiological Indices of Tomato under Drought Stress Conditions

افسانه محکمی، مازیار حبیبی پیرکوهی، امیرغفار شهریاری* و محمد حامد قدوم پاریزی پور^۲

چکیده

گوجه‌فرنگی از مهمترین محصولات غذایی و اقتصادی در ایران و سراسر جهان است. گوجه‌فرنگی برای رشد کافی به مقدار زیادی آب نیاز دارد و به‌شدت زیر تأثیر تنش خشکی قرار می‌گیرد. با توجه به وجود گزارش‌هایی مبنی بر تأثیر مثبت عصاره جلبک‌های دریایی بر افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های نازیوا، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی تأثیر عصاره جلبک دریایی *Sargassum angustifolium* بر رشد و شاخص‌های فیزیولوژیک گوجه فرنگی در شرایط تنش خشکی انجام شد. این پژوهش به‌صورت فاکتوریل شامل دو فاکتور، عصاره جلبک در سه سطح (صفر، ۰/۵ و ۱ گرم در لیتر) و تنش خشکی در سه سطح (نرمال یا عدم تنش، $FC=60\%$ و $FC=40\%$) با سه تکرار انجام شد. بر اساس نتیجه‌های به‌دست آمده مشخص شد که تیمار عصاره جلبک دریایی به شکل معنی‌داری باعث افزایش ارتفاع گیاه، میزان کلروفیل، ترکیب‌های فنولی، محتوای لیکوپن، میزان پرولین، بهبود قابلیت زدودن گونه‌های اکسیژن فعال و افزایش سطح فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در گیاه گوجه فرنگی شد. بهترین نتیجه‌ها مربوط به ویژگی‌های ریخت‌شناسی و فیزیولوژیک در تیمار یک گرم بر لیتر عصاره جلبک دریایی به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، ترکیب‌های فنولی، فعالیت آن‌تی اکسیدانی، لیکوپن.

مقدمه

وجود تنش‌های محیطی به‌ویژه تنش خشکی همواره به عنوان یکی از عوامل محدودکننده رشد و موانع دستیابی به عملکرد بهینه گیاهان زراعی و باغی در نواحی خشک و نیمه خشک مطرح بوده است. تنش، ناشی از تأثیر عوامل زیوا و یا نازیوای محیطی است که باعث می‌شود فعالیت‌های فیزیولوژیک گیاه دچار آسیب شود که این امر در کاهش رشد و عملکرد گیاه منعکس می‌شود. به‌عبارت دیگر، تنش بیانگر قرار گرفتن گیاه در برابر یک یا چند عامل محیطی است که باعث از دست رفتن عملکرد رشد و تولید و همچنین کاهش ارزش اقتصادی گیاه می‌شود (۸). میزان آب در دسترس گیاه از جمله مهمترین عوامل اقلیمی است که رشد گیاهان را در سراسر جهان زیر تأثیر قرار داده و کمبود آن باعث تغییرهای ریخت‌شناسی، فیزیولوژیک و زیست‌شیمیایی در گیاهان زراعی و باغی می‌شود. تنش خشکی زمانی اتفاق می‌افتد که دسترسی گیاه به آب کاهش پیدا کند. تنش خشکی در واقع یکی از مهمترین تنش‌های محیطی است که تأثیر منفی بر رشد گیاه داشته و بدین ترتیب سطح تولید کشاورزی را به شکل چشمگیری کاهش می‌دهد. کمبود بارندگی و همچنین توزیع نامنظم باران در طول فصل رشد عامل

تاریخ پذیرش: ۹۹/۲/۲۲

۱- تاریخ دریافت: ۹۸/۱۰/۳۰

۲- به‌ترتیب استادیار پژوهشکده فناوری تولیدات گیاهی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، استادیار شرکت زیست پژوهان باران، مرکز رشد و نوآوری افضلی‌پور، دانشگاه شهید باهنر کرمان، استادیار گروه کشاورزی و منابع طبیعی، مرکز آموزش عالی اقلید و استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: shahriari.ag@eghlid.ac.ir

اصلی بروز تنش خشکی در گیاهان زراعی به شمار می‌رود (۱۲). تنش خشکی یکی از شایع‌ترین و مخرب‌ترین تنش‌های نازیوا در بخش کشاورزی است که باعث کاهش عملکرد گیاهان باغی در نواحی مختلف جهان از جمله ایران - که بخش بزرگ آن در اقلیم نیمه‌خشک قرار دارد - می‌شود. وقتی رشد گیاه در اثر تنش خشکی کاهش یابد، دستیابی به عملکرد بالای گیاهان بسیار مشکل می‌شود. بر اساس برآوردهای انجام شده، حدود ۴۰٪ از زمین‌های کشاورزی دنیا در نواحی نیمه‌خشک قرار دارند که این امر نشان دهنده اهمیت تنش خشکی در کاهش تولیدهای گیاهی بوده و نیازمند پیش‌آگاهی برای محافظت از گیاهان در برابر این تنش است (۱۶).

گوجه فرنگی یک گیاه باغی با ارزش غذایی و اقتصادی بالا است که همواره در بازارهای داخلی و جهانی سطح تقاضای زیادی را شاهد بوده است. این گیاه از یک سو به‌عنوان منبعی غنی از ویتامین‌ها، ماده‌های معدنی و ماده‌های مغذی لازم برای رشد و سلامت انسان مطرح بوده و از سوی دیگر، بازاریسندی بالایی برای تولید انواع مختلفی از غذاها دارد، همین امر منجر به افزایش تقاضا برای گوجه فرنگی شده است (۹). همانند دیگر گیاهان، گوجه فرنگی نیز در برابر تنش خشکی حساس است و بخش مهمی از پتانسیل رشد و عملکرد این گیاه در رویارویی با تنش خشکی کاهش می‌یابد. تحمل گیاه در برابر تنش یک ویژگی چند ژنی است و در زمان رویارویی با تنش، واکنش‌هایی چون بیان ژن‌های ویژه تنش، انباشت متابولیت‌ها، گسترش شبکه ریشه‌ای و کاهش سطح آب برگ بروز می‌یابد. از آنجایی که مسیر متابولیکی تحمل تنش بسیار پیچیده بوده و ژن‌های مختلفی در آن درگیر هستند، استفاده از روش‌های مبتنی بر مهندسی ژنتیک برای افزایش تحمل گیاهان به تنش چندان موفقیت‌آمیز نبوده است (۲۱). در مقابل، استفاده از ترکیب‌های محرک زیستی^۱ رویکردی موثر و در عین حال مقرون‌به‌صرفه برای افزایش میزان تحمل گیاهان در برابر تنش خشکی است. به همین دلیل در دو دهه اخیر توجه زیادی به ترکیب‌های محرک زیستی به‌عنوان راهکاری برای غلبه بر تنش‌های زیوا و نازیوا شده است (۱۲، ۱۵).

عصاره جلبک‌های دریایی یکی از مهمترین محرک‌های زیستی هستند که به شکل گسترده‌ای در تولید محصول‌های زراعی و باغی مورد استفاده قرار می‌گیرند. کاربرد عصاره جلبک‌های دریایی در خاک و یا به صورت پاششی باعث افزایش محتوای کلروفیل، بهبود عملکرد فتوسنتز، افزایش جذب ماده‌های غذایی توسط گیاهان، بهبود قابلیت جذب و حفظ آب و به طور کلی افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های زیوا و نازیوا می‌شود (۴، ۲۰، ۲۲، ۲۳). اثرهای مثبت عصاره حاصل از گونه‌های مختلف جلبک قهوه‌ای *Sargassum* تاکنون در مطالعه‌های مختلفی گزارش شده است (۷، ۱۸). اگرچه تاثیرهای مثبت عصاره جلبک‌های دریایی بر بهبود عملکرد و همچنین بهبود سطح مقاومت گیاهان باغی و زراعی به تنش‌های زیوا و نازیوا توسط پژوهشگران زیادی گزارش شده است (۱۴، ۲۱)، با این حال پژوهش‌های زیادی درباره سازوکارهای یاخته‌ای و شیوه تاثیرگذاری ترکیب‌های موجود در عصاره جلبک‌های دریایی بر ویژگی‌های فیزیولوژیک و ریخت‌شناسی گیاهان انجام نشده و کماکان سوال‌های بی‌پاسخ زیادی در این زمینه وجود دارد. این در حالی است که آگاهی از نحوه تاثیرگذاری عصاره جلبک بر سازوکارهای دخیل در مقاومت به تنش باعث خواهد شد که بتوان راهبردهای بهتری را برای استفاده از ترکیب‌های طبیعی جهت افزایش مقاومت گیاهان باغی به تنش‌های مختلف از جمله تنش خشکی در نظر گرفت.

با توجه به مطالب بالا و با توجه به توانایی عصاره جلبک دریایی در بهبود مقاومت گیاهان به تنش خشکی از یک سو، و با در نظر گرفتن اهمیت گوجه فرنگی به‌عنوان یک محصول باغی با ارزش بازاری بالا از سوی دیگر، این پژوهش با هدف ارزیابی تاثیر عصاره جلبک دریایی *Sargassum angustifolium* بر رشد و شاخص‌های فیزیولوژیک گوجه فرنگی زیر شرایط تنش خشکی انجام شد. هدف این پژوهش مشخص نمودن تاثیر عصاره جلبک مورد نظر بر برخی از شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه گوجه فرنگی به تنش خشکی بود.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره جلبک (AE)^۲

جلبک قهوه‌ای *S. angustifolium* از سواحل چابهار گردآوری و به آزمایشگاه انتقال داده شد و با شست و شو، ناخالص‌های آن حذف گردید. نمونه‌های جلبک زیر شرایط سایه خشک و سپس با استفاده از آسیاب پودر شد. ۱۵ گرم از پودر جلبک با

۳۰۰ میلی لیتر اتانول (۷۰٪) مخلوط و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق روی شیکر هم زده شد. عصاره حاصل از کاغذ صافی گذرانده شد و برای حذف اتانول در یک دستگاه تبخیر چرخشی قرار گرفت. مایع روپی حاوی عصاره جلبک در دمای ۴۰ درجه سلسیوس خشک شده و رسوب جلبکی دوباره در آب مقطر به حالت شناور درآمد و عملیات رقیق سازی تا رساندن به غلظت یک گرم در لیتر انجام شد.

کشت گیاه و اعمال تنش خشکی

این پژوهش در اواخر شهریور سال ۱۳۹۸ در دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام شد. گیاهچه‌های گوجه فرنگی رقم ریوگراند در گلدان‌های حاوی خاک با شرایط $pH=5.5-6.5$ ، هدایت الکتریکی (EC) برابر با $1.2-1.8\text{mS/cm}$ ، میزان ازت برابر با ۱۴۰ تا ۱۷۰ میلی گرم در لیتر، محتوای P_2O_5 بین ۱۶۰ تا ۲۷۰ میلی گرم در لیتر و محتوای پتاسیم برابر با ۲۰۰ تا ۳۵۰ میلی گرم بر لیتر کشت شدند. در هر گلدان ۳ بذر گوجه فرنگی کاشته شد که پس از تندش، یک گیاهچه حفظ و بقیه گیاهچه‌ها حذف شدند. در هر تیمار سه گلدان مورد بررسی قرار گرفت و برای اعمال تیمارها محلول عصاره جلبک (شامل سه غلظت صفر (شاهد)، ۰/۵ گرم در لیتر و ۱ گرم در لیتر) به میزان ۱۰۰ میلی لیتر به ازای هر گیاهچه به صورت محلول پاشی مورد استفاده قرار گرفت. تنش خشکی در سه سطح نرمال (شاهد=عدم تنش)، $FC=60\%$ و $FC=40\%$ اعمال شد. برای تعیین FC از روش وزنی استفاده شد. سایر مقادیر FC نیز متناسب با وزن گلدان‌ها تعیین گردید. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد.

اعمال تیمار عصاره جلبک

پس از تهیه عصاره جلبک، در مرحله سه برگی گیاهچه‌ها تیمار عصاره جلبک روی گیاهچه‌های گوجه فرنگی اعمال شد. اعمال تیمارها به صورت محلول پاشی در فواصل سه روز در میان تا پایان دوره آزمایش صورت گرفت.

اندازه‌گیری فراسنجه‌های رشدی

ارتفاع گیاه

ارتفاع گیاهان با استفاده از خط کش دقیق بر اساس سانتی متر اندازه‌گیری شد.

رنگدانه‌های فتوسنتزی

میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a و کلروفیل b با استفاده از روش Arnon (۱) اندازه‌گیری شد. بدین منظور ۰/۳ گرم از برگ‌های گیاهچه‌ها با ۶ میلی لیتر استون ۸۰٪ در تاریکی مخلوط گردید. میزان جذب (A) با استفاده از اسپکترومتر در دو طول موج ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر اندازه‌گیری و میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی بر حسب میلی گرم بر لیتر محاسبه شد.

اندازه‌گیری محتوای فنولی

برای اندازه‌گیری کل محتوای فنولی، ۰/۵ سی سی عصاره متانولی با ۵ سی سی فولین سیوکالتیو مخلوط شده و سپس ۴ سی سی کربنات سدیم یک مولار اضافه شد. محلول بالا ۱۵ دقیقه در تاریکی قرار گرفت و بعد در طول موج ۷۶۵ نانومتر میزان جذب خوانده شد. برای اندازه‌گیری محتوای فنولی، با استفاده از استاندارد گالیک اسید منحنی کالیبراسیون رسم شد. نتیجه‌ها بر حسب میلی گرم اسید گالیک در هر گرم ماده خشک ($\text{mg eq. GA g}^{-1} \text{DM}$) گزارش شد (۲).

اندازه‌گیری لیکوپن

اندازه‌گیری لیکوپن با استفاده از روش Murtic و همکاران (۱۷) انجام شد. بدین منظور ۰/۵ گرم از نمونه‌های هموژنیزه شده گوجه فرنگی توزین و به ارلن مایر حاوی ۵ میلی لیتر BHT با غلظت ۰/۰۵ درصد (وزنی به حجمی) در استون افزوده شده و سپس ۵ میلی لیتر اتانول و ۱۰ میلی لیتر هگزان به محیط واکنش اضافه و ارلن مایر حاوی مخلوط واکنش به مدت ۱۵ دقیقه در یخ روی شیکر چرخشی قرار داده شد. در ادامه ۳ میلی لیتر آب دیونیزه به مخلوط واکنش اضافه شده و نمونه‌ها دوباره به مدت ۵ دقیقه در یخ تکان داده شدند. پس از قرار دادن نمونه در دمای اتاق، میزان جذب لایه رویی در طول موج ۵۰۳ نانومتر خوانده و میزان لیکوپن بر حسب میکروگرم به ازای گرم ماده تر بیان شد.

$$Lycopene = \frac{(4503) \times (0.0312)}{g}$$

فعالیت آنتی اکسیدانی

قدرت از بین بردن رادیکال‌های آزاد بر اساس روش پیشنهادی Shukla و همکاران (۲۱)، اندازه‌گیری شد. بدین منظور، ۲۰۰ میلی گرم از نمونه‌های برگ با ۱۵ میلی لیتر اتانول ۸۰٪ مخلوط و به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۵۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. ۲۵۰ میکرولیتر از این عصاره به ۲۵۰ میکرولیتر متانول و ۵۰۰ میکرولیتر ۱-۱ دی فنیل ۲-پیکریل هیدرازیل (DPPH) افزوده شد. این مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شده و میزان جذب در ۵۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. از معرف ترولاکس به عنوان کنترل مثبت استفاده شد و نتیجه‌ها بر حسب معادل ترولاکس به ازای هر گرم از وزن خشک گزارش شد.

اندازه‌گیری پرولین

برای اندازه‌گیری پرولین از روش Bates و همکاران (۳) استفاده شد. ابتدا ۰/۲ گرم گیاهچه توزین شده و در هاون چینی در ۳ میلی لیتر سولفوسالسیلیک اسید ۳٪ به خوبی ساییده و سپس سانتریفیوژ شد. پس از آن ۲ میلی لیتر عصاره صاف شده با ۲ میلی لیتر معرف ناین هیدرین و ۲ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال مخلوط شد. لوله‌ها پس از بستن در به مدت یک ساعت در آب ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند. پس از سرد شدن لوله‌ها در دمای اتاق به هرکدام مقدار ۴ میلی لیتر تولوئن اضافه شده و با استفاده از دستگاه ورتکس به مدت ۲۰-۱۵ ثانیه تکان داده شدند. فاز روپی که حاوی پرولین بود با سمپلر برداشته و بعد از قرار دادن استانداردها در دستگاه اسپکتروفتومتر اعداد میزان جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. غلظت پرولین بر حسب میلی گرم بر گرم بافت تازه برگ (وزن تر) با استفاده از منحنی استاندارد تعیین گردید.

اندازه‌گیری فعالیت سوپراکسید دیسموتاز

فعالیت سوپراکسید دیسموتاز^۱ (SOD) با استفاده از روش Mansori و همکاران (۱۴) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. مخلوط واکنش به ۲۰۰ μL از مخلوط آنزیمی اضافه شد. سپس میزان جذب مخلوط واکنش در دمای ۲۰ درجه سلسیوس و طول موج ۵۶۰ نانومتر میزان جذب سنجیده شد. درصد بازدارندگی^۲ (%I) با استفاده از فرمول زیر اندازه‌گیری شد:

$$\%I = \frac{Ab - As}{As}$$

در فرمول بالا، Ab بیانگر میزان جذب استاندارد (بلنک) و As بیانگر میزان جذب نمونه است. فعالیت SOD بر حسب واحد بر میلی گرم پروتئین (U/mg protein) بیان می‌شود که هر واحد بیانگر ۵۰٪ تغییر در درصد بازدارندگی است.

آنالیز آماری

این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل فاکتور اول سه سطح مختلف تنش خشکی (نرمال یا عدم تنش، FC=60% و FC=40%) و فاکتور دوم سه غلظت مختلف عصاره جلبک (صفر، ۰/۵ گرم در لیتر و ۱ گرم در لیتر) به صورت محلول پاشی بود. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS 20 و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ انجام گرفت.

نتایج و بحث

بر اساس نتیجه‌های تجزیه واریانس اثر جداگانه تیمارهای جلبک و خشکی بر تمام فراسنجه‌های مورد بررسی معنادار شد ($P < 0.01$). در رابطه با اثر متقابل، تنها برهمکنش تنش خشکی و عصاره جلبک بر سوپراکسید دیسموتاز معنی دار شده است ($P < 0.01$).

ویژگی‌های ریخت‌شناسی

نتیجه‌های حاصل از کاربرد عصاره جلبک دریایی بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی گیاه گوجه فرنگی شامل ارتفاع بوته در شکل ۱ نشان داده شده است. نتیجه‌های مقایسه میانگین نشان داد که تیمار عصاره جلبک به شکل معنی‌داری باعث افزایش ارتفاع گیاه گوجه فرنگی زیر شرایط تنش خشکی شده است ($P < 0.01$). همچنین، بر اساس نتیجه‌های به‌دست آمده مشخص شد که برهمکنش تنش خشکی و عصاره جلبک بر ارتفاع گیاه از لحاظ آماری معنادار نبود.

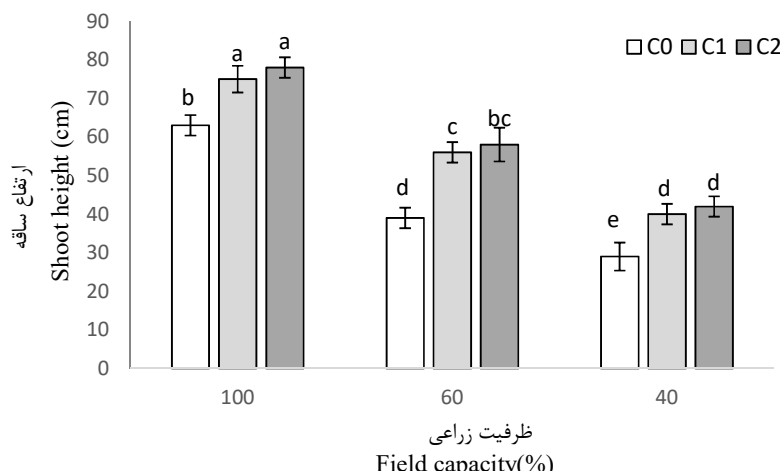


Fig. 1. Mean comparison of water deficit stress and application of algae extract on plant height. The letters C₀, C₁ and C₂ represent 0, 0.5 and 1 g L⁻¹ seaweed extract, respectively. Means followed by the same letters are not significantly different at 1% level based on Duncan's multiple range test.

شکل ۱- مقایسه میانگین تاثیر تنش کم آبی و کاربرد عصاره جلبک بر ارتفاع شاخساره در گیاهچه گوجه فرنگی. حروف C₀، C₁ و C₂ به ترتیب بیانگر غلظت صفر، ۰/۵ و ۱ گرم در لیتر جلبک دریایی است. میانگین‌های دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند.

رنگدانه‌های فتوسنتزی

شکل‌های ۲ و ۳ تاثیر عصاره جلبک دریایی بر میزان کلروفیل a و b در گیاه گوجه فرنگی را نشان می‌دهد. بر اساس نتیجه‌های حاصل از مقایسه میانگین، بیشترین میزان کلروفیل در گیاهان تیمار شده با غلظت ۱ گرم در لیتر مشاهده شد. میزان کلروفیل در گیاهان تیمار شده با هر دو غلظت عصاره جلبک به طور معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد بود ($P < 0.01$). به طور کلی، تیمار عصاره جلبک باعث افزایش معنی‌دار محتوای کلروفیل a و b در همه تیمارهای تنش خشکی شد.

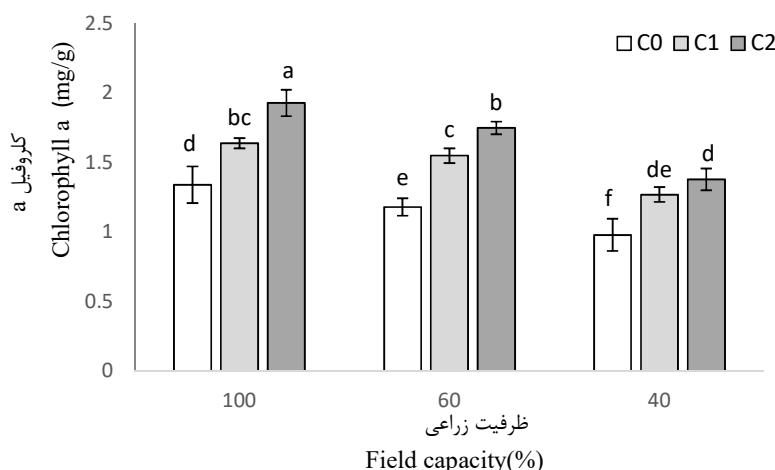


Fig. 2. Mean comparison of water deficit stress and application of algae extract on chlorophyll a content. The letters C₀, C₁ and C₂ represent 0, 0.5 g / l, and 1 g L⁻¹ seaweed concentration, respectively. Means followed by the same letters are not significantly different at 1% level based on Duncan's multiple range test.

شکل ۲- مقایسه میانگین اثر تنش کم آبی و تیمار عصاره جلبک بر محتوای کلروفیل a در گیاهچه گوجه فرنگی. حروف C₀، C₁ و C₂ به ترتیب بیانگر غلظت صفر، ۰/۵ گرم در لیتر و ۱ گرم در لیتر جلبک دریایی است. میانگین‌های دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند.

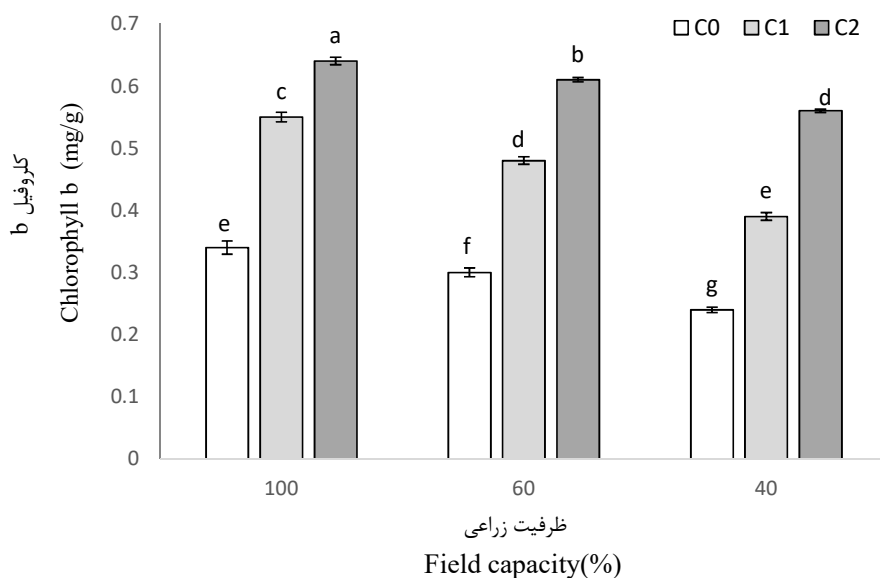


Fig. 3. Mean comparison of water deficit stress and algae extract on chlorophyll b content. The letters C0, C1 and C2 represent 0, 0.5 g L⁻¹, and 1 g L⁻¹ seaweed concentration, respectively. Means followed by the same letters are not significantly different at 1% level based on Duncan's multiple range test.

شکل ۳- مقایسه میانگین اثر تنش کم آبی و تیمار عصاره جلبک بر محتوای کلروفیل b در گیاهچه گوجه فرنگی. حروف C0، C1 و C2 به ترتیب بیانگر غلظت صفر، ۰/۵ گرم در لیتر و ۱ گرم در لیتر جلبک دریایی است. میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند.

محتوای فنولی

میزان ترکیب‌های فنولی در گیاهان تیمار شده توسط عصاره جلبک دریایی *Sargassum* در مقایسه با گروه شاهد در شکل ۴ نشان داده شده است. براساس نتیجه‌های به‌دست آمده از مقایسه میانگین مشخص شد که تنش خشکی باعث افزایش میزان ترکیب‌های فنولی در تمامی گیاهان (اعم از گیاهان تیمار شده و گیاهان گروه شاهد) شده است. همچنین بر اساس نتیجه‌های به‌دست آمده مشخص شد که تیمار عصاره جلبک دریایی به شکل معنی‌داری باعث افزایش محتوای فنولی گیاهان گوجه فرنگی در پایان دوره آزمایش شد. همچنین اختلاف بین دو تیمار غلظت جلبک از لحاظ آماری معنی‌دار شد که نشان می‌دهد افزایش غلظت عصاره جلبک تاثیر معنی‌داری بر بهبود سطح ماده‌های فنولی درون گیاه داشت ($P < 0.01$).

لیکوپن

محتوای لیکوپن گیاهچه‌های گوجه فرنگی در پایان دوره تنش زیر تیمار با عصاره سارگاسوم در شکل ۵ نشان داده شده است. نتیجه‌ها نشان داد که در گیاهان تیمار نشده با عصاره جلبک که زیر تنش خشکی قرار داشتند، میزان محتوای لیکوپنی برابر با ۸۸/۲۵ میکروگرم بود. با این حال در اثر کاربرد عصاره جلبک دریایی در غلظت ۰/۵ گرم در لیتر این مقدار به ۹۰/۸۷ میکروگرم رسید که تفاوت معنی‌داری با گیاهان کنترل داشت ($P < 0.01$). همچنین با افزایش غلظت عصاره جلبک به ۱ گرم در لیتر میزان محتوای لیکوپن هم افزایش معنی‌داری داشت ($P < 0.01$) و به ۹۹/۱۸ میکروگرم رسید.

پرولین

شکل ۶ تغییرهای ایجاد شده در میزان پرولین گیاهان گوجه فرنگی زیر تنش را در دو حالت عدم تیمار با عصاره جلبک و کاربرد عصاره جلبک دریایی نشان می‌دهد. بر اساس نتیجه‌های به‌دست آمده مشخص شد که استفاده از عصاره جلبک دریایی در هر دو سطح ۰/۵ گرم در لیتر (تیمار I) و ۱ گرم در لیتر (تیمار II) به شکل معنی‌داری باعث افزایش پرولین در گوجه فرنگی شده است ($P < 0.01$).

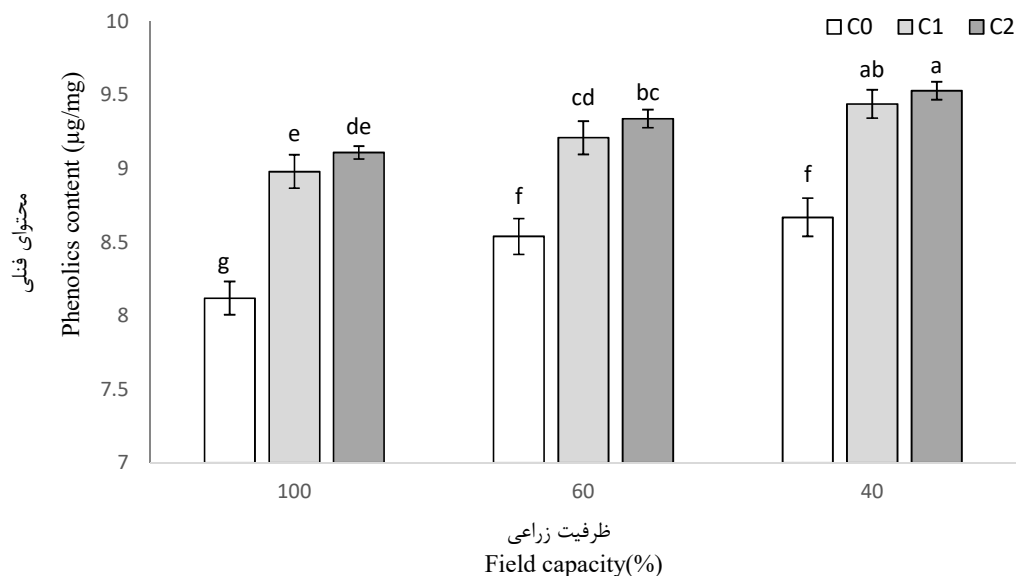


Fig. 4. Comparison of phenolic Content in tomato plant as a result of Application of Seaweed Extract During drought Stress. The letters C0, C1 and C2 represent 0, 0.5 g L⁻¹, and 1 g L⁻¹ seaweed concentration, respectively. Means followed by the same letters are not significantly different at 1% level based on Duncan's multiple range test.

شکل ۴- مقایسه محتوای فنولی در گیاه گوجه فرنگی در اثر کاربرد عصاره جلبک دریایی حین تنش خشکی. حروف C0, C1 و C2 به ترتیب بیانگر غلظت صفر، ۰/۵ گرم در لیتر و ۱ گرم در لیتر جلبک دریایی است. میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند.

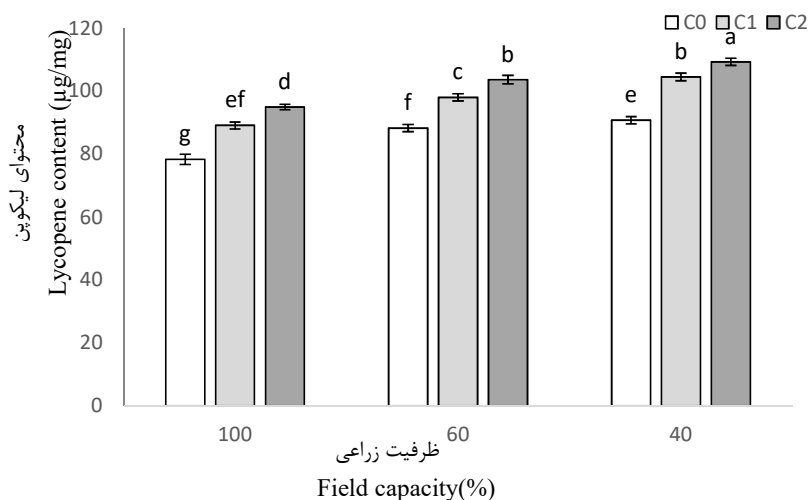


Fig. 5. Increase of lycopene content in tomato plant under drought stress due to application of seaweed extract. The letters C0, C1 and C2 represent 0, 0.5 g L⁻¹, and 1 g L⁻¹ seaweed concentration, respectively. Means followed by the same letters are not significantly different at 1% level based on Duncan's multiple range test.

شکل ۵- افزایش میزان لیکوپن در گیاه گوجه فرنگی زیر تنش خشکی با کاربرد عصاره جلبک دریایی. حروف C0, C1 و C2 به ترتیب بیانگر غلظت صفر، ۰/۵ گرم در لیتر و ۱ گرم در لیتر جلبک دریایی است.

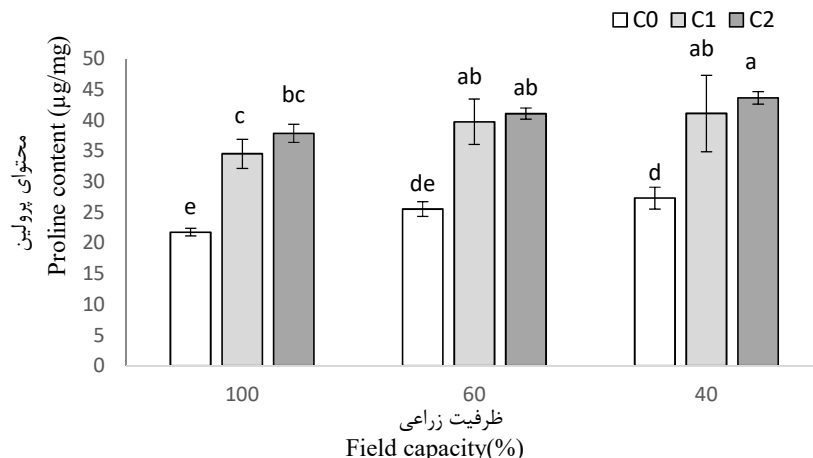


Fig.6. Comparison of proline content in tomato plants under stress with and without the use of seaweed extract. The letters C0, C1 and C2 represent 0, 0.5 g L⁻¹, and 1 g L⁻¹ seaweed concentration, respectively. Means followed by the same letters are not significantly different at 1% level based on Duncan's multiple range test.

شکل ۶- مقایسه میزان پرولین در گیاهان گوجه فرنگی زیر تنش با و بدون کاربرد عصاره جلبک دریایی. حروف C0، C1 و C2 به ترتیب بیانگر غلظت صفر، ۰/۵ گرم در لیتر و ۱ گرم در لیتر جلبک دریایی است. میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

قدرت از بین بردن رادیکال‌های آزاد در گیاهان تیمار شده و هم‌چنین گیاهان گروه شاهد با استفاده از آزمون DPPH مورد اندازه‌گیری قرار گرفت که نتیجه‌های آن در شکل ۷ مشاهده می‌شود. بر اساس نتیجه‌های نشان داده شده در این نمودار مشخص شد که تیمار عصاره جلبک دریایی به شکل معنی‌داری قابلیت زدودن گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) را در گیاهان تیمار شده در مقایسه با شاهد افزایش داده است ($P < 0.01$). بالاترین مقدار از بین بردن رادیکال‌های آزاد در تیمار ۱ گرم در لیتر عصاره جلبک مشاهده شد.

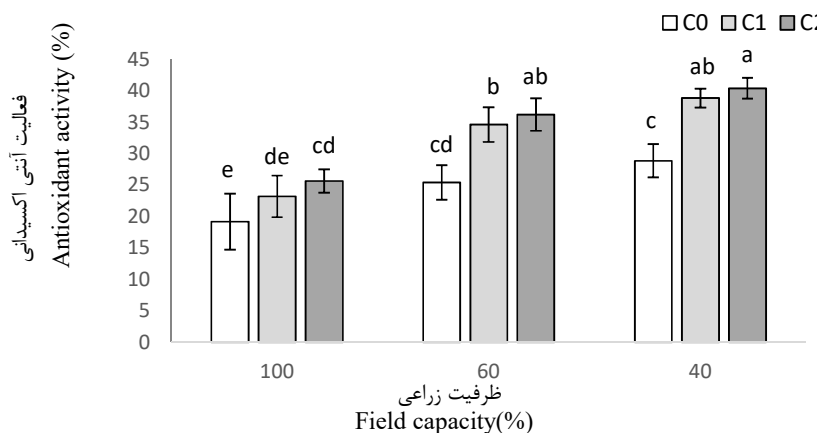


Fig. 7. Enhancement of free radical scavenging power by application of seaweed extract in tomato seedlings. The letters C0, C1 and C2 represent 0, 0.5 g L⁻¹, and 1 g L⁻¹ seaweed concentration, respectively. Means followed by the same letters are not significantly different at 1% level based on Duncan's multiple range test.

شکل ۷- افزایش قدرت از بین بردن رادیکال‌های آزاد با کاربرد عصاره جلبک دریایی در دانه‌های گوجه فرنگی. حروف C0، C1 و C2 به ترتیب بیانگر غلظت صفر، ۰/۵ گرم در لیتر و ۱ گرم در لیتر جلبک دریایی است. میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند.

فعالیت سوپراکسید دیسموتاز

فعالیت آنزیم SOD به عنوان یک سازوکار آنتی اکسیدانی که در زمان تنش در گیاهان فعال می شود، اندازه گیری شد و نتیجه های آن در شکل ۸ نشان داده شده است. اختلاف بین گیاهان تیمار و شاهد از لحاظ فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) معنی دار بود ($P < 0.01$).

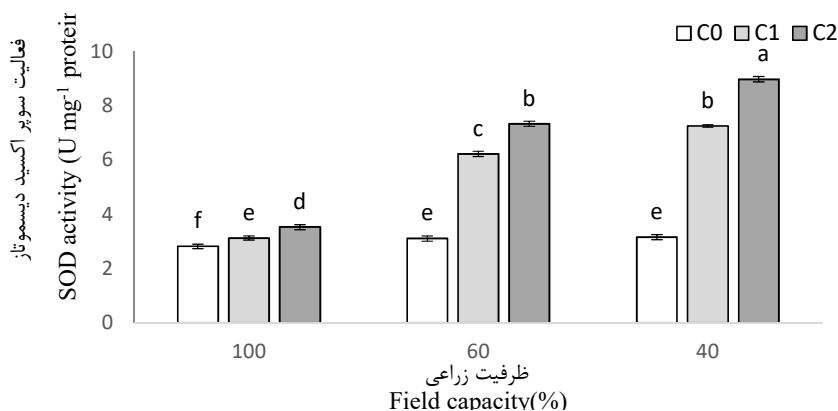


Fig. 8. Changes in the activity of superoxide dismutase. The letters C0, C1 and C2 represent 0, 0.5 g L⁻¹, and 1 g L⁻¹ seaweed concentration, respectively. Means followed by the same letters are not significantly different at 1% level based on Duncan's multiple range test.

شکل ۸- تغییرها در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز. حروف C0، C1 و C2 به ترتیب بیانگر غلظت صفر، ۰/۵ گرم در لیتر و ۱ گرم در لیتر جلبک دریایی است. میانگین های دارای حرف های مشترک اختلاف معنی دار در سطح ۱٪ آزمون چند دامنه ای دانکن ندارند.

بحث

نتیجه های به دست آمده نشان داد که محلولپاشی برگی عصاره جلبک نسبت به گروه شاهد باعث افزایش معنی داری در ارتفاع گیاهچه شد. این تأثیر مثبت، با نتیجه های گزارش شده برای استفاده از جلبک دریایی در سایر محصول های زراعی و باغی همسو است. به عنوان مثال، در پژوهش انجام شده توسط حق پرست و همکاران (۱۰) نیز مشاهده شد که محلولپاشی با ماده های طبیعی به ویژه عصاره جلبک دریایی توانست باعث افزایش رشد گیاهان نخود زیر تنش خشکی شود. هرناندز-هررا و همکاران (۱۱) نیز گزارش کردند که استفاده از عصاره جلبک دریایی تأثیر مثبتی بر رشد گیاهان زیر تنش خشکی داشت. تأثیر مثبت جلبک دریایی بر شاخص های رشد ممکن است به حضور اکسین (۱۴، ۲۴)، سیتوکینین (۲۱) و سایر عوامل تقویت کننده رشد (۲۵) و هم چنین عنصرهای ریز مغذی (۱۲) مربوط باشد.

نتیجه های به دست آمده در این پژوهش اثر مثبت عصاره جلبک بر رنگدانه های فتوسنتزی را نشان می دهد. بهبود عملکرد دستگاه فتوسنتز ممکن است افزایش وزن خشک شاخه و رشد گیاه در اثر کاربرد عصاره جلبک دریایی را توجیه کند. نتیجه ها نشان می دهد که اثر مثبت عصاره جلبک دریایی بر رنگدانه های فتوسنتزی در درجه اول ناشی از کاهش تخریب کلروفیل در هنگام کمبود آب است (۱۵). بتائین یک عامل بیولوژیکی قابل توجه در عصاره جلبک دریایی است که باعث افزایش محتوای کلروفیل گیاهان می شود (۲۳). بنابراین، بهبود میزان کلروفیل گیاهان گوجه فرنگی تیمار شده با عصاره جلبک ممکن است به دلیل محتوای بتائین عصاره جلبک دریایی باشد. با توجه به این که از بین رفتن رنگدانه های فتوسنتزی یکی از عوامل اصلی کاهش رشد و کاهش عملکرد محصول در هنگام تنش خشکی است، پیشنهاد می شود که اثر محافظتی عصاره جلبک بر کلروفیل و سایر رنگدانه های فتوسنتزی باعث تأثیر در کاربرد برون سازی عصاره جلبک در ارتقاء گیاه شود.

تنش خشکی یکی از عوامل ایجاد کننده تنش های اکسیداتیو در گیاهان است که باعث بهم خوردن تعادل بین تولید گونه های فعال اکسیژن ROS و فعالیت های آنتی اکسیدانی و دفاعی گیاه می شود. به همین دلیل است که در هنگام تنش

خشکی همواره تنش اکسیداتیو نیز اتفاق می‌افتد (۵). تنش آبی منجر به انباشت ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی در واکوئل‌های بافت‌های اپیدرمی گیاهان می‌شود. با این وجود، گاهی افزایش میزان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی آنقدر زیاد نیست که بتواند مانع از واکنش‌های اکسیداتیو شود (۱۳). بنابراین، لازم است با استفاده از تیمارهایی، میزان تولید ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان زیر تنش افزایش داده شود تا بدین ترتیب اثرهای مخرب اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی کاهش یابد. عصاره جلبک‌های دریایی به دلیل قدرت بالایی که در حذف رادیکال‌های آزاد دارند در سالیان اخیر مورد توجه قرار گرفته‌اند (۲۰). نتیجه‌های به‌دست آمده در این پژوهش نشان داد که کاربرد عصاره جلبک دریایی سارگاسوم تاثیر مثبتی بر افزایش قدرت جذب رادیکال‌های آزاد داشته و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به عنوان یک عامل آنتی‌اکسیدان طبیعی را نیز به شکل معنی‌داری افزایش می‌دهد. این یافته با نتیجه‌های گزارش شده توسط سایر پژوهشگران مبنی بر تاثیر عصاره جلبک‌های دریایی بر افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز همخوانی دارد (۷، ۱۴، ۱۸).

همچنین نتیجه‌های به‌دست آمده در این پژوهش نشان داد که محتوای لیکوپن گوچه فرنگی زیر تاثیر مستقیم شرایط رشدی گیاه قرار دارد. لیکوپن به دلیل اثرهای مفیدی که برای سلامت انسان دارد، مهمترین ترکیب زیستی گوچه فرنگی محسوب می‌شود (۹). در مطالعه‌های پیشین نیز نشان داده شده است که رنگدانه‌های گیاهی چون لیکوپن، آنتوسیانین‌ها و زانتوفیل در اثر تیمار تنش خشکی افزایش می‌یابند (۹، ۱۹). نتیجه‌های به‌دست آمده در این پژوهش نیز نشان داد که تیمار عصاره جلبک به شکل معنی‌داری میزان لیکوپن گوچه فرنگی را افزایش داد. در رابطه با افزایش لیکوپن زیر تنش خشکی، اعتقاد بر این است که خشکی باعث تحریک تولید اسید آبسازیک (ABA) شده و این هورمون باعث افزایش تولید لیکوپن و رنگدانه‌های دیگری چون زانتوفیل می‌شود (۱۰). نتیجه‌های به‌دست آمده در این پژوهش با نتیجه‌های گزارش شده توسط Mansori و همکاران (۱۴) مبنی بر افزایش تولید لیکوپن در اثر تیمار جلبک و همچنین با نتیجه‌های Klunklin و Savage (۱۳) مبنی بر افزایش محتوای لیکوپن در اثر تیمار خشکی همخوانی دارد.

از دیگر نتیجه‌های به‌دست آمده در این پژوهش، افزایش میزان پرولین در اثر تیمار با عصاره جلبک دریایی است. پرولین آمینو اسیدی است که در ایجاد تحمل در برابر به‌تقریب تمامی تنش‌های نازیوا نقش دارد. بر اساس نتیجه‌های به‌دست آمده در این مطالعه مشخص شد که هر دو سطح عصاره جلبک سارگاسوم تاثیر معنی‌داری بر افزایش غلظت پرولین در گیاه گوچه فرنگی دارد. این یافته‌ها با نتیجه‌های گزارش شده توسط دیگر پژوهشگران همخوانی دارد (۸، ۱۰).

نتیجه‌گیری

در مجموع، نتیجه‌های به‌دست آمده در این پژوهش همخوان با دیگر گزارش‌های منتشر شده در این زمینه می‌تواند بیانگر این موضوع باشد که عصاره جلبک دریایی می‌تواند به‌عنوان یک محرک طبیعی به شکل چشمگیری تحمل گیاهان در برابر تنش خشکی را بهبود بخشد. این یافته بیانگر آن است که با توجه به وجود تنش خشکی در بسیاری از مناطق کشور می‌توان از عصاره جلبک سارگاسوم به عنوان یک منبع ارزان قیمت و اثربخش برای افزایش تحمل گیاهان باغی نسبت به تنش خشکی استفاده کرد. با این وجود انجام پژوهش‌های بیشتر در این زمینه برای اطمینان از تاثیر عصاره جلبک بر کاهش اثرهای منفی تنش ضروری به نظر می‌رسد.

References

منابع

1. Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol. 24:1-15.
2. Atkinson, N.J., T.P. Dew, C. Orfila and P.E. Urwin. 2011. Influence of combined biotic and abiotic stress on nutritional quality parameters in tomato (*Solanum lycopersicum*). J. Agric. Food. Chem. 59(17):9673-9682.
3. Bates, L. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 39:205-207.
4. Battacharyya, D., M. Babgohari, P. Rathor and B. Prithiviraj. 2015. Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. Sci. Hort. 196:39-48.
5. Bitarafan, z., H. Asghari, I. Hasanlu, A. Slavery and f. Moradi. 2019. Response of native masses of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) to biochar application in low irrigation conditions. Agric. Ecol. 403-415. [in Persian]

6. Elferjani, R. and R. Soolanayakanahally. 2018. Canola responses to drought heat and combined stress: shared and specific effects on carbon assimilation seed yield and oil composition. *Front. Plant Sci.* 9:1224.
7. Erulan, V., P. Soundarapandian, G. Thirumaran and G. Ananthan. 2009. Studies on the effect of *Sargassum polycystum* (C, Agardh 1824) extract on the growth and biochemical composition of *Cajanus cajan* (L.) Mill sp. *Amer-Eurasi. J. Agric. Env. Sci.* 6(4):392–399.
8. Fang, Y. and L. Xiong. 2015. General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. *Cell Mol. Life Sci.* 72(4):673–689.
9. Haghighi, M., M. Mozaffarian., Afifi, Z. 2014. Investigation of the effect of superabsorbent polymer and different levels of irrigation on growth and some quantitative and qualitative characteristics of tomato fruit (*Lycopersicum esculentum* L.). *Hort. Sci.* 1: 125-133. [in Persian]
10. Haghparast, m., Maleki Farahani. 1392. The effect of under-irrigation and foliar application of natural substances on vegetative characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *Iran. Cereals Res.* 2:77. [in Persian]
11. Hernández-Herrera, R., M. Santacruz-Ruvalcaba, F. Briceño-Domínguez, D.R. Di Filippo-Herrera and D.A. Hernández-Carmona. 2018. Seaweed as potential plant growth stimulants for agriculture in Mexico. *Hidrobiológica*, 28(1):129–140.
12. Khan, W., U.P. Rayirath, S. Subramanian, M.N. Jithesh, P. Rayorath, D.M. Hodges and B. Prithiviraj. 2009. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *J. Plant Growth Regul.* 28(4):386–399.
13. Klunklin, W. and G. Savage. 2017. Effect on quality characteristics of tomatoes grown under well-watered and drought stress conditions. *Foods*, 6(8):56.
14. Mansori, M., H. Chernane, S. Latique, A. Benaliat, D. Hsissou and M. El Kaoua. 2015. Seaweed extract effect on water deficit and antioxidative mechanisms in bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Appl. Phycol.* 27(4):1689–1698.
15. Martynenko, A., K. Shotton, T. Astatkie, G. Petrash, C. Fowler, W. Neily and A.T. Critchley. 2016. Thermal imaging of soybean response to drought stress: the effect of *Ascophyllum nodosum* seaweed extract. *Springerplus*. 5(1):1393. doi: 10.1186/s40064-016-3019-2.
16. Mohammadi, M.H.S, N. Etemadi, M.M. Arab, M. Aalifar, M. Arab and M. Pessarakli. 2017. Molecular and physiological responses of Iranian Perennial ryegrass as affected by Trinexapac ethyl Paclobutrazol and Absciscic acid under drought stress. *Plant Physiol. Bioch.* 111:129–143.
17. Murtic, S., R. Oljaca and M. Smajic. 2018. Effects of seaweed extract on the growth, yield and quality of cherry tomato under different growth conditions. *Acta Agric. Slov.* 111:315–325.
18. Park, P.J., S. J. Heo, E.J. Park, S.K. Kim, H.G. Byun, B.T. Jeon and Y.J. Jeon. 2005. Reactive oxygen scavenging effect of enzymatic extracts from *Sargassum thunbergii*. *J. Agric. Food Chem.* 53(17):6666–6672.
19. Riggi E., C. Patané and G. Ruberto. 2008. Content of carotenoids at different ripening stages in processing tomato in relation to soil water availability. *Aust. J. Agric. Res.* 59(4):348–353.
20. Shukla, P.S., K. Shotton, E. Norman, W. Neily, A.T. Critchley and B. Prithiviraj. 2017. Seaweed extract improve drought tolerance of soybean by regulating stress-response genes. *AoB Plants*. 10(1):plx051.
21. Shukla, P.S., T. Borza, A.T. Critchley, D. Hiltz, J. Norrie and B. Prithiviraj. 2018. *Ascophyllum nodosum* extract mitigates salinity stress in *Arabidopsis thaliana* by modulating the expression of miRNA involved in stress tolerance and nutrient acquisition. *PloS One*. 13(10):e0206221.
22. Subramanian, S., J.S. Sangha, B.A. Gray, R.P. Singh, D. Hiltz, A.T. Critchley and B. Prithiviraj. 2011. Extracts of the marine brown macroalga *Ascophyllum nodosum* induce jasmonic acid dependent systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* against *Pseudomonas syringae* pv, tomato DC3000 and *Sclerotinia sclerotiorum*. *Eur. J. Plant Pathol.* 131(2):237–248.
23. Thirumaran, G., M. Arumugam, R. Arumugam and P. Anantharaman. 2009. Effect of seaweed liquid fertilizer on growth and pigment concentration of *Abelmoschus esculentus* (L.) medikus. *Amer-Euras. J. Agron.* 2(2):57–66.

24. Vinoth, S., P. Gurusaravanan, S. Sivakumar and N. Jayabalan. 2019. Influence of seaweed extracts and plant growth regulators on in vitro regeneration of *Lycopersicon esculentum* from leaf explant. J. Appl. Phycol. 31(3):2039–2052.
25. Zhang, X., K. Wang and E.H. Ervin. 2010. Optimizing dosages of seaweed extract-based cytokinins and zeatin riboside for improving creeping bentgrass heat tolerance. Crop Sci. 50(1):316–320.

The Effect of Seaweed Extract (*Sargassum angustifolium* L.) on Growth and Physiological Indices of Tomato under Drought Stress Conditions

A. Mohkami, M. Habibi-Pirkoohi, A.Gh. Shahriari*, M.H. Ghodoum Parizipour¹

Tomato is one of the most important foods and economic crops in Iran and worldwide. Tomatoes require a lot of water to grow well and are adversely affected by drought. Considering the reports published on positive effects of seaweed extract on increasing resistance of plants to abiotic stresses, the present study aimed to evaluate the effects of a seaweed extract (*Sargassum angustifolium*) on growth and yield indices of tomato under drought stress. This study was conducted as a factorial experiment with three concentrations of algae extract (0, 0.5, 1 g L⁻¹) and three levels of drought stress (control, 40% FC, 60% FC) plus a non-stress treatment with three replications. To evaluate the effects of algae extract on tomato under drought stress conditions, a combination of morphological and physiological characteristics including plant height, photosynthetic pigment content, lycopene content, phenolic compounds and antioxidant activities were measured. Results showed that treatment by seaweed extract significantly increased plant resistance to drought stress and significantly increased plant height and the content of chlorophyll, phenolics, lycopene, and proline content and significantly improved reactive oxygen species scavenging capacity and superoxide dismutase activity in tomato. The best results of morphological and physiological traits were obtained using 1 g L⁻¹ seaweed extract.

Keywords: Antioxidant activity, Proline, Phenolic compounds, Lycopene.

¹ Assistant Professor of Research and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman, Assistant Professor of Zist Pajoohan Baran Co, Afzalipour Center, Shahid Bahonar University of Kerman, Assistant Professor of Department of Agriculture and Natural Resources, Higher Education Center of Eghlid, Assistant Professor of Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources, University of Khuzestan, Mollasani, Iran, respectively.

* Corresponding author, Email: (Shahriari.ag@eghli.ac.ir).