تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد یازدهم، شماره اول، بهار ۱۳۹۷
۱۶۹-۱۵۹
http://dx.doi.org/10.22077/escs.2017.357.1070

اثر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و اسید جاسمونیک بر قندهای محلول، پرولین و آنزیم‌های اسطوخودوس (*Lavendula officinalis* L.) تحت تنش شوری

فرشته رضایی نسب، علیرضا پازکی، رضا منعم
گروه زراعت، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۸/۱۸؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۹/۲۲

چکیده

شوری خاک از عوامل محدودکننده عملکرد محصولات کشاورزی ازجمله گیاهان دارویی است و به‌عنوان یکی از اساسی‌ترین مشکلات کشاورزی محسوب می‌شود. ازاین‌روی، به‌منظور بررسی اثر اسید سالیسیلیک و اسید جاسمونیک بر قندهای محلول، پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاه دارویی اسطوخودوس (*Lavendula officinalis* L.) در شرایط تنش شوری، آزمایشی گلدانی، در سال ۱۳۹۳ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری و گلخانه واقع در منطقه ۴ به مرحله اجرا درآمد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا گردید که در آن تنش شوری از منبع نمک طعام (NaCl)، در چهار سطح (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار)، اسید سالیسیلیک در دو سطح (۰ و ۰/۷ میلی‌مولار) و اسید جاسمونیک در دو سطح (۰ و ۱۰۰ میکرومولار) در نظر گرفته شد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثرات ساده شوری نشان داد که این عامل سبب افزایش قندهای محلول (۵۹٪) و پرولین (۷۶٪)، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ازجمله؛ کاتالاز (۷۲٪)، سوپراکسیددیسموتاز (۶۷٪)، پراکسیداز (۶۳٪)، آسکوربات‌پراکسیداز (۶۰٪) و گلوتاتیون‌پراکسیداز (۷۲٪) شد. همچنین نتایج حاصل از پژوهش نشان داد، تنها اثر متقابل سه‌گانه عوامل آزمایشی بر صفات پراکسیداز، آسکوربات‌پراکسیداز معنی‌دار گردید. در این شرایط بیشترین میزان فعالیت پراکسیداز (۵۰/۲۷) میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه و آسکوربات‌پراکسیداز (۲۴/۱۲) میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه، در عامل شوری ۷۵ میلی‌مولار و عدم حضور دو ترکیب مذکور حاصل گردید. به‌طورکلی، به نظر می‌رسد که استفاده از اسید سالیسیلیک و اسید جاسمونیک از طریق افزایش فعالیت قندهای محلول و پرولین باعث افزایش مقاومت گیاه در شرایط تنش شوری گردید.

واژه‌های کلیدی: **سالیسیلات، جاسمونات، نمک طعام، گیاه دارویی**

مقدمه

اسطوخودوس گیاهی است دارویی از خانواده نعناعیان، ارتفاع بین ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متر، گل‌ها به‌صورت خوشه‌ای انتهایی و مجتمع در رأس ساقه است (Omidbeigi, 2006; Dadman et al., 2007). اسانس این گیاه از تقطیر گل و سرشاخه‌های گل‌دار آن به دست می‌آید. اسطوخودوس در صنایع آرایشی-بهداشتی (Fakhari et al., 2005) و نیز در طب سنتی به-منظور رفع خستگی‌های عصبی و افسردگی، ضد انگل و رفع بیماری‌های معده، تقویت‌کننده جریان گردش خون شریان های قلبی استفاده شده است (Berrington and Lall, 2012).

شوری یک تنش عمومی است که به‌طورکلی تولید گیاهان زراعی را کاهش می‌دهد (Katerji et al., 2009). گیاهان برای مقابله با تنش، دارای سیستم دفاعی با کارایی بالا هستند که می‌توانند رادیکال‌های آزاد را از بین برده یا خنثی کنند. این سیستم دفاعی شامل مکانیسم‌های آنزیمی و غیرآنزیمی است (Mittler, 2002). در درون سلول‌های گیاهی، پرولین به‌عنوان ماده حفظ تعادل اسمزی بین سیتوپلاسم و واکوئل عمل می‌کند (Matysik et al., 2002). اثر شوری بر تجمع پرولین در برنج گزارش شده است (Wanichan et al., 2003). در مقابله با تنش شوری، اسمولیت‌ها در داخل گیاه

* نگارنده پاسخگو: علیرضا پازکی. پست الکترونیک: pazoki_agri@yahoo.com

افزایش می‌یابند تا پتانسیل اسمزی را کاهش دهند و از این طریق با تنش اکسیداتیو مقابله می‌کنند. هرچه گیاه به شوری مقاوم‌تر باشد، افزایش میزان قند درونی آن بیشتر است (Kerepesi and Galiba 2000).

اسید سالیسیلیک به‌عنوان یک سیگنال مولکولی مهم در نوسانات گیاهی در پاسخ به تنش‌های محیطی شناخته شده است (Senaranta et al., 2000). افزایش پرولین و قندها نشان‌دهنده کاهش خسارت اکسیداتیو و نقش اسید سالیسیلیک در افزایش تحمل در برابر تنش است (Kshavrz et al., 2012). پرولین به‌عنوان مخزن ذخیره نیتروژن و یا به‌صورت ماده محلولی که پتانسیل اسمزی را کاهش می‌دهد، عمل می‌کند و گیاه را در تحمل تنش یاری می‌رساند (Akhondi et al., 2006). همچنین اسید سالیسیلیک روی سرعت تولید انواع اکسیژن فعال تحت شرایط تنش تأثیر می‌گذارد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز را تغییر می‌دهد و از این طریق تحمل گیاه به تنش‌های غیرزیستی را افزایش می‌دهد (Horvath et al., 2007).

اسید جاسمونیک به‌عنوان یک خانواده جدید از هورمون-های گیاهی نقش مهمی در تنظیم فرآیند رشد و نمو گیاه دارند (Abdala et al., 2003). کاربرد این عامل در هنگام تنش‌های مختلف ازجمله شوری و کم‌آبی برای افزایش مقاومت با القاء آنزیم سنتزکننده‌ی پرولین، باعث افزایش تولید پرولین می‌گردد (Fedina and Benderliev, 2000). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سبب خنثی کردن رادیکال‌های آزاد می‌شوند، رادیکال‌های آزاد برای سلول بی‌نهایت مضر هستند، چون سبب غیر فعال‌سازی آنزیم‌های فتوسنتزی می‌شوند (Ferrarese et al., 2003). در بررسی اثر متیل‌جاسمونات، نشان داده شده است که در شرایط تیمار با متیل جاسمونات فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه آرابیدوپسیس (Jung, 2004) و کلزا (Comparot et al., 2002) افزایش پیدا کرده است.

با توجه به موارد ذکرشده این تحقیق به‌منظور بررسی تأثیر تنش شوری بر صفات قندهای محلول، پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، گیاه دارویی اسطوخودوس (*Lavendula officinalis* L.) با کاربرد اسید سالیسیلیک و اسید جاسمونیک در جهت کاهش اثرات سوء ناشی از تنش انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۳ بر اساس یک آزمایش گلخانه‌ای در دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی(ره) شهرری و گلخانه واقع در منطقه ۴، به‌منظور بررسی اثر اسید سالیسیلیک و اسید جاسمونیک بر صفات قندهای محلول، پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاه دارویی اسطوخودوس (*Lavendula officinalis* L.) در شرایط تنش شوری، به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار انجام گردید که در آن شوری در چهار سطح (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار) از منبع نمک طعام (NaCl)، اسید سالیسیلیک در دو سطح (۰ و ۰/۷ میلی‌مولار) و اسید جاسمونیک در دو سطح (۰ و ۱۰۰ میکرومولار) در نظر گرفته شد. به فاصله یک آبیاری قبل از اعمال تنش، اسید سالیسیلیک و جاسمونیک با غلظت‌های ذکرشده با آب مقطر ترکیب و برای مقاوم‌سازی گیاه به تنش شوری محلول‌پاشی شدند و با اعمال تنش شوری، این دو ترکیب بر اساس نقشه طرح با آبپاش به‌صورت اسپری به گلدان‌ها داده شد و مجدداً پس از گذشت ۷ و ۱۲ و ۱۸ روز اسید سالیسیلیک و جاسمونیک به گلدان‌های در حال تنش اسپری گردید. گیاهان پس از گذشت ۶ هفته برای انجام آزمایش‌ها برداشت شدند. کاشت گلدانی نشاء اسطوخودوس با استفاده از خاک کشاورزی سنجش شده و پس از افزودن ۱۰ درصد کود دامی پوسیده انجام شد. در این طرح هیچ‌گونه کود شیمیایی استفاده نگردید (جدول ۱). تعداد ۶۴ گلدان با اندازه‌ی ۲۱ سانتی‌متر قطر دهانه گلدان انتخاب گردید. نشاءهای دوساله اسطوخودوس با ارتفاع ۱۵ سانتی‌متری از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی تهیه گردید و در هر گلدان به تعداد ۷ عدد، کاشته شد. در زمان برداشت جهت اندازه‌گیری صفات قندهای محلول، پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، از هر گلدان ۵ بوته انتخاب گردید، نمونه‌گیری از برگ‌ها بوده و صفات موردنظر در آن‌ها موردبررسی قرار گرفت و میانگین هر یک به‌عنوان مقدار عددی صفت موردنظر تعیین گردید.

سنجش قندهای محلول: ۰/۲ گرم برگ منجمد در ۳ میلی‌لیتر آب مقطر عصاره‌گیری شده و پس از عبور از صافی، به ۵۰ میکرولیتر از همگن صاف‌شده، ۰/۵ میلی‌لیتر فنل ۵٪ و ۲/۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۹۸٪ اضافه شد. جذب استانداردها به همراه جذب نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۴۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و

مقدار کل قندهای محلول، بر مبنای میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر نمونه تعیین گشت (Dubois et al., 1956).

سنجش غلظت پرولین: برای اندازه‌گیری پرولین محتوای بافت برگ، از روش (Bates et al., 1973) استفاده شد. ابتدا مقدار ۰/۲ گرم گیاه توزین شد و در ۳ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳٪ در هاون ساییده شد. سپس در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۸۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گشت. آنگاه به ۲ میلی‌لیتر از عصاره‌های صاف‌شده به مقدار ۲ میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک-گلاسیال اضافه شد و به مدت یک ساعت در آب ^{o}C ۱۰۰ قرار داده شد. پس از سرد شدن به مقدار ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه گشت. سرانجام فاز رویی که حاوی پرولین است در دستگاه اسپکتروفوتومتر قرار گرفت و اعداد در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید. واحد پرولین به‌صورت میلی‌گرم بر گرم وزن تر برآورد شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز: سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز به روش (Cakmak and Horst, 1991) انجام شد. ۰/۲ گرم برگ منجمد در ۳ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات ۲۵ میلی‌مولار عصاره‌گیری شد. همگن حاصل در ۱۵۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ^{o}C ۴ سانتریفیوژ شد، سپس محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده گشت و پس از قرار گرفتن در دستگاه اسپکتروفتومتر اعداد در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر قرائت گردید. واحد فعالیت به‌صورت تغییرات جذب به میلی‌گرم پروتئین در دقیقه در وزن تر بیان گردید.

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز: ۰/۲ گرم نمونه برگ منجمد در ۳ میلی‌لیتر بافرHEPES-KOH با pH ۷/۸ حاوی EDTA ۰/۱ میلی‌مولار عصاره‌گیری و همگن‌های حاصل در ۱۵۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ^{o}C ۴ سانتریفیوژ شد. بخش رویی برای سنجش فعالیت سوپراکسیددیسموتاز مورداستفاده قرار گرفت. اعداد در طول‌موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت گردید (Giannopolitis and Ries, 1997). واحد فعالیت نسبت به میلی‌گرم پروتئین در دقیقه برآورد شد.

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز: ۰/۲ گرم از بافت برگ تازه در نیتروژن مایع ساییده و در بافر پتاسیم فسفات ۰/۰۲ مولار ۶ در دمای ^{o}C ۴ عصاره‌گیری شد. سپس همگن حاصل در ۱۲۰۰۰ دور در دمای ^{o}C ۴-۲ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. محلول رویی جهت اندازه‌گیری فعالیت پراکسیداز مورداستفاده قرار گرفت. اعداد در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد و فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب به ازای میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بیان گشت (Ghanati et al., 2002).

جدول ۱. مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

Table 1. Physical and chemical characteristics of experimented soil

بافت Texture	مس Cu (mg/kg)	روی Zn (mg/kg)	آهن Fe (mg/kg)	منگنز Mn (mg/kg)	ماسه Sand (%)	لای Silt (%)	رس Clay (%)	پتاسیم K(ava) (mg/kg)	فسفر P(ava) (mg/kg)	نیتروژن totalN (%)	کربن آلی OC (%)	آهک TNV (%)	اسیدیته PH	شوری گل اشباع EC (ds/m)
شنی لوم (loam sandy)	0.87	1.23	8.12	14.32	68	14	18	221	121	0.18	2.16	12.5	7.59	14.10

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز: میزان فعالیت این آنزیم از روش رانیری و همکاران (Ranieri et al., 2001) سنجیده شد. ۰/۲ گرم برگ منجمد شده با ۶۰۰ میکرولیتر از EDTA ۱٪ مولار و ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۰/۰۵ مولار، ۴۰۰ میکرولیتر آسکوربیک اسید ۰/۵ میلی‌مولار، ۴۰۰ میکرولیتر H_2O_2 ۳۰ درصد و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره‌گیری گردید. سنجش مقدار فعالیت آنزیمی یک دقیقه پس از افزودن عصاره آنزیمی به محیط واکنش انجام شد. همچنین فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب به ازای میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بیان گردید.

سنجش فعالیت آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز: برای اندازه گیری آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز از روش (Paglia and valentine, 1967) استفاده شد. عصاره استخراجی به محلول بافر حاوی فسفات ۰/۵۶ مولار همراه با ۱/۲ مول EDTA و یک میلی‌مول نیترات سدیم و ۰/۲ میلی‌مول NADPH وارد گردید. بلافاصله میزان اکسیداسیون NADPH از طریق تعیین مقدار و جذب در ۳۴۰ نانومتر در ۳۰ درجه سانتی‌گراد

توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب به ازای میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بیان گردید.

تجزیه‌وتحلیل داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD انجام شد. برای رسم نمودارها، نرم‌افزار Excel مورداستفاده قرار گرفت.

نتایج و بحث

قندهای محلول

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین سطوح مختلف اثرات ساده و اثر متقابل دوگانه شوری و اسید سالیسیلیک در سایر اثرات متقابل دو و سه‌گانه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲). کاربرد اسید سالیسیلیک باعث افزایش میزان قندهای محلول در گیاه گردید، به‌گونه‌ای که محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و تنش شوری ۷۵ میلی‌مولار نسبت به عدم تنش شوری و عدم کاربرد این ماده ۶۸/۳۱ درصد میزان صفت مذکور را افزایش داد (شکل ۱). علت تجمع قندهای محلول در طی تنش شوری این است که قندهای نامحلول (نشاسته) تجزیه‌شده و قندهای محلول را ایجاد می‌کند تا پتانسیل اسمزی را حفظ کرده و خطر دهیدراتاسیون را کاهش دهد. علاوه بر این کاهش مصرف قند به دلیل کاهش فتوسنتز طی تنش شوری نیز عامل دیگری برای افزایش غلظت قندهای محلول در سلول می‌تواند باشد (Parvaiz and Satyawati, 2008). گزارش شده است که در گندم و جو (Keles and Oncel, 2004) به دنبال تنش اکسیداتیو مقدار تجمع قندها با تیمار ماده اسید سالیسیلیک افزایش می‌یابد.

پرولین

نتایج تجزیه واریانس حاکی از آن بود که تنها اثرات اصلی شوری، اسید سالیسیلیک و جاسمونیک برای پرولین در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲). با افزایش غلظت شوری، محتوی پرولین در گیاه افزایش یافت (جدول ۳). در شرایط طبیعی میزان ترکیب‌هایی مانند پرولین در سلول بسیار ناچیز است. به‌طورمعمول غلظت‌های مختلف شوری باعث افزایش بیوسنتز پرولین و تجمع آن در سیتوپلاسم سلول می شود (Kerepesi and Galiba, 2000; Wang and Han, 2009). به نظر می‌رسد در گیاهانی که تحت تنش شوری هستند، افزایش اسیدآمینه پرولین باعث حفظ فشار آماس و ادامه رشد سلول می‌گردد و یک نقش آنتی‌اکسیدانی در حفاظت از غشاهای بیولوژیک را دارد (Patakas et al., 2002). اثر شوری بر تجمع پرولین در بسیاری از گونه‌های گیاهی نظیر چغندرقند و گوجه‌فرنگی گزارش شده است (Wanichan et al., 2003). اثر اصلی کاربرد اسید سالیسیلیک بر میزان پرولین بیانگر این مطلب بود که محلول-پاشی این ماده سبب افزایش پرولین نسبت به عدم کاربرد آن شد. همچنین با مصرف اسید جاسمونیک نیز در محتوی پرولین روند صعودی مشاهده گردید، به صورتی که کاربرد اسید جاسمونیک نسبت به عدم کاربرد این ماده باعث افزایش ۱۵/۳۲ درصد میزان پرولین شد (جدول ۳). تجمع پرولین به‌عنوان یک پارامتر انتخاب برای تحمل تنش است. در شرایطی که تنش متوسط یا شدید باشد، غلظت اسیدآمینه پرولین نسبت به سایر اسیدهای آمینه افزایش می‌یابد (Akhondi et al., 2006). افزودن اسید سالیسیلیک در غلظت‌های مختلف می‌تواند با افزایش مقدار پرولین سبب بهبود مقاومت گیاه در شرایط تنش شود (Yazdanpanah et al., 2010). در پژوهشی بر گیاه عدس مشاهده گردید کاربرد ۰/۵ میلی‌مول اسید سالیسیلیک باعث افزایش پرولین و کاهش اثرات مخرب عدس شد و می‌تواند باعث بهبود مقاومت به شوری شود (Neelam and Preeti, 2009).

کاتالاز

نتایج تجزیه واریانس حاصل از داده‌های آزمایش نشان داد که تمامی اثرات اصلی شوری، اسید سالیسیلیک و جاسمونیک بر کاتالاز معنی‌دار گردید (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر ساده شوری بیانگر آن بود که این عامل باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز شد (جدول ۳). کاتالاز یکی از مهم‌ترین جاروب کننده‌های H_2O_2 محسوب می‌شود که این عمل را با تبدیل H_2O_2 به آب و O_2 انجام می‌دهد (Dixit et al., 2001). گزارش کردند شوری باعث افزایش در فعالیت کاتالاز در ژنوتیپ‌های گندم سازگار می‌گردد (Sairam et al., 2001). اثر اصلی مصرف اسید سالیسیلیک بر کاتالاز نشان داد، کاربرد این عامل سبب نزول صفت مورد آزمون گردید. همچنین نتایج مقایسه میانگین اثر اصلی اسید جاسمونیک بیانگر آن است که بیشترین میزان کاتالاز در عامل عدم مصرف اسید جاسمونیک و کمترین میزان آن در شرایط کاربرد این ماده است (جدول ۳). اسید سالیسیلیک، بازدارنده فعالیت آنزیم

کاتالاز است که یک آنزیم پاکسازی‌کننده پراکسیدهیدروژن است، درنتیجه کاهش فعالیت این آنزیم سبب افزایش این ماده در گیاه می‌شود (Horváth et al., 2002). اسید سالیسیلیک با باند شدن به آنزیم کاتالاز، سبب کاهش فعالیت آن در توتون می‌گردد (Chen et al., 1993).

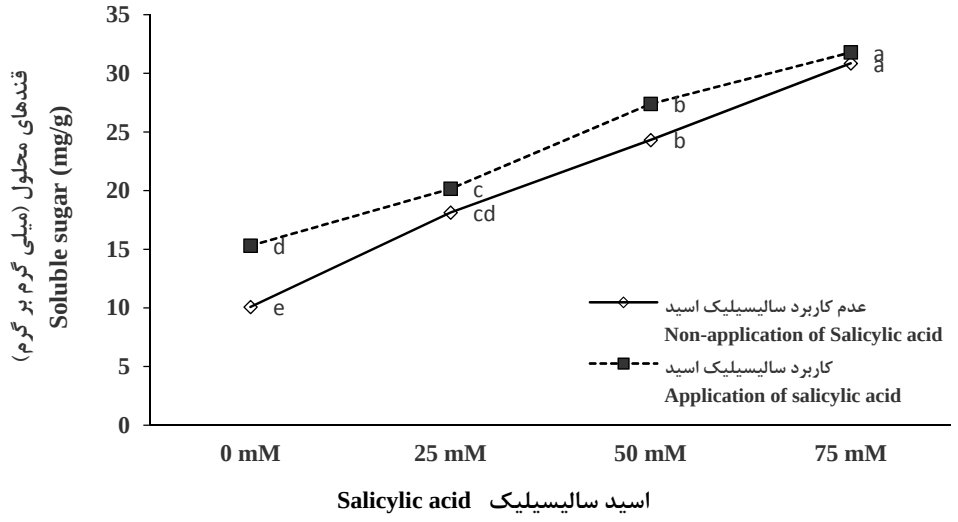
جدول ۲. تجزیه واریانس اثر عوامل آزمایشی بر صفات مورد آزمون

Table 2. Analysis of variance for experimented factors effect on evaluated traits

منابع تغییرات Sources of changes	درجه آزادی Degrees freedom	قندهای محلول Soluble sugar	پرولین Proline	کاتالاز Catalase	سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase	پراکسیداز Peroxidase	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	گلوتاتیون پراکسیداز Glutathione peroxidase
شوری (a) Salinity	3	1046.50**	4171.21**	753.88**	4345.90**	2415.22**	505.43**	4329.99**
اسید سالیسیلیک (b) Salicylic acid	1	127.38*	387.50**	61.43**	933.38**	285.78**	59.73**	1141.09**
اسید جاسمونیک (c) Jasmonic acid	1	254.12*	323.64**	17.64**	280.44*	37.18**	7.68**	287.13*
a×b	3	13.40*	14.73^{ns}	2.60^{ns}	106.40*	1.01^{ns}	0.21^{ns}	100.25^{ns}
a×c	3	8.18^{ns}	8.63^{ns}	2.03^{ns}	6.79^{ns}	7.91^{ns}	1.65^{ns}	43.08^{ns}
b×c	1	9.22^{ns}	2.39^{ns}	1.54^{ns}	0.02^{ns}	36.39**	7.57**	37.36^{ns}
a×b×c	3	12.43^{ns}	12.90^{ns}	0.39^{ns}	8.34^{ns}	8.59*	1.81*	18.09^{ns}
خطا Error	48	5.94	16.57	1.58	39.85	3.04	0.64	46.29
ضریب تغیرات C.V. (%)		*10.95*	*15.08*	*8.90*	*16.58*	*5.71*	*5.28*	*21.02*

ns، * و** به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی دار و اختلاف معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

ns, * and **, Non-significant and significant at 5% and 1% level of probability.



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و اسید سالیسیلیک بر قندهای محلول

Fig. 1. Comparison average interaction effect of salinity and Salicylic acid on soluble sugars.

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر ساده تنش شوری، اسید سالیسیلیک و اسید جاسمونیک بر صفات مورد آزمون

Table 3. Mean comparison simple effect Salt stress Salicylic acid and Jasmonic acid on evaluated traits

عامل‌ها Factors	قندهای محلول Soluble sugar	پرولین Proline	کاتالاز Catalase	سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase	پراکسیداز Peroxidase	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	گلوتاتیون پراکسیداز Glutathione peroxidase
شوری Salinity							
0 mM	12.69d	11.40d	5.98d	16.90c	16.56d	8.70d	15.03d
25 mM	19.15c	17.58c	11.45c	33.22b	25.60c	12.83c	26.19c
50 mM	25.85b	31.22b	17.49b	49.81a	34.98b	17.13b	33.92b
75 mM	31.32a	47.78a	21.64a	52.40a	45.14a	21.77a	54.33a
اسید سالیسیلیک Salicylic acid							
0 mM	20.84b	24.53b	15.12 a	41.90a	32.68a	16.07a	36.59a
0.7 mM	23.66a	29.46a	13.16b	34.26b	28.45b	14.14b	28.15b
اسید جاسمونیک Jasmonic acid							
0 µM	20.26b	24.76b	14.66a	40.17a	31.33a	15.45a	34.49a
100 µM	24.24a	29.24a	13.61b	35.99b	29.80b	14.76b	30.25b

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد می‌باشند.

Similar letters in each column represent no significant differences based on the LSD test in level 5 percent.

سوپراکسیددیسموتاز

نتایج تحقیق حاصل از داده‌ها نشان داد که تمامی اثرات اصلی شوری و اسید سالیسیلیک و جاسمونیک و نیز اثر متقابل دوگانه شوری و اسید سالیسیلیک معنی‌دار گردید (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل شوری و اسید سالیسیلیک، نشان داد که سالیسیلات سبب کاهش محتوی سوپراکسیددیسموتاز در تنش شوری گردید (شکل ۲). محققان گزارش کردند که پیش‌تیمار با اسید سالیسیلیک منجر به تجمع آبسیزیک اسید می‌شود که می‌تواند پیش سازگاری گیاهچه‌های تحت تنش شوری را تحریک کند، درنتیجه آبسیزیک اسید، سنتز محدوده وسیعی از پروتئین‌های ضد تنش را القا کرده و باعث ایجاد مقاومت در گیاهان می‌شود. بعلاوه، این طرز عمل سطح انواع اکسیژن‌های فعال را پایین می‌آورد، ازاین‌رو فعالیت SOD در ریشه‌های جوان گندم کاهش می‌یابد (Shakirova et al., 2003).

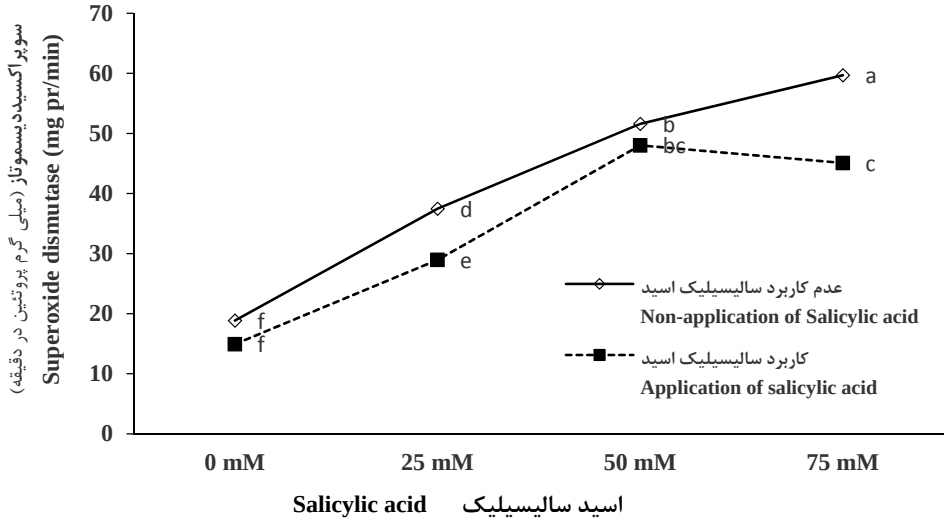
پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس حاکی از آن بود که به‌جز اثرات متقابل دوگانه شوری و اسید سالیسیلیک و نیز شوری و اسید جاسمونیک، در سایر اثرات اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید (جدول ۲). اثر دوگانه برهم‌کنش اسید سالیسیلیک و جاسمونیک بر فعالیت آنزیم پراکسیداز نشان داد که بیشترین کاهش در فعالیت این آنزیم مربوط به کاربرد این دو ترکیب به‌طور هم‌زمان است (شکل ۳). نتایج مقایسه میانگین اثر سه‌گانه بر پراکسیداز حاکی از آن بود که کمترین میزان فعالیت این آنزیم در عامل‌های عدم حضور تنش، کاربرد اسید سالیسیلیک و جاسمونیک و بیشترین میزان فعالیت پراکسیداز مربوط به سطح شوری ۷۵ میلی‌مولار و عدم حضور اسید سالیسیلیک و جاسمونیک بود (جدول ۴). در تنش، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاهان از قبیل پراکسیداز فعال می‌شوند که این ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) را تجزیه می‌کنند، درنتیجه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان با تحمل تنش در گیاهان، رابطه مستقیم دارند (Mittler, 2002). محققان گزارش کردند که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند پراکسیداز در برگ‌های کلزا تحت شرایط شوری افزایش می‌یابد (Ashraf and Ali, 2008).

آسکوربات پراکسیداز

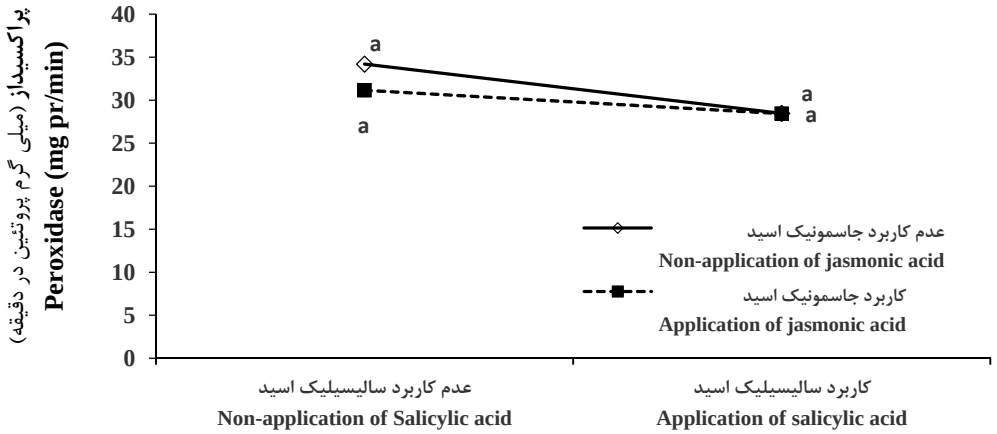
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که به‌جز اثر متقابل دوگانه شوری و اسید سالیسیلیک و همچنین شوری و اسید

جاسمونیک، در سایر اثرات اصلی و متقابل دوگانه و سه‌گانه اختلاف معنی‌داری حاصل گردید (جدول ۲). با توجه به مقایسه میانگین اثر متقابل اسید سالیسیلیک و جاسمونیک مشاهده شد که برهم‌کنش این دو ترکیب سبب کاهش فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز گردید (شکل ۴). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل سه‌گانه بر آسکوربات‌پراکسیداز حاکی از آن بود که بیشترین میزان فعالیت آسکوربات-پراکسیداز مربوط به سطح شوری ۷۵ میلی‌مولار و عدم حضور اسید سالیسیلیک و اسید جاسمونیک بود (جدول ۴). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند آسکوربات‌پراکسیداز غلظت O_2^{2-} و H_2O_2 را کاهش می‌دهد که از این طریق به کم کردن خطر OH می‌پردازد (Murgan and Harish, 2007). محققین نشان دادند که اسید سالیسیلیک باعث ممانعت فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز در برگ‌های گیاه تنباکو می‌شود (Conrath et al., 2002).



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و اسید سالیسیلیک بر سوپر اکسید دیسموتاز

Fig. 2. Comparison average interaction effect of salinity and Salicylic acid on Superoxide dismutase



شکل ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل اسید سالیسیلیک و اسید جاسمونیک بر پراکسیداز

Fig. 3. Comparison average interaction effect of Salicylic acid and Jasmonic acid on Peroxidase.

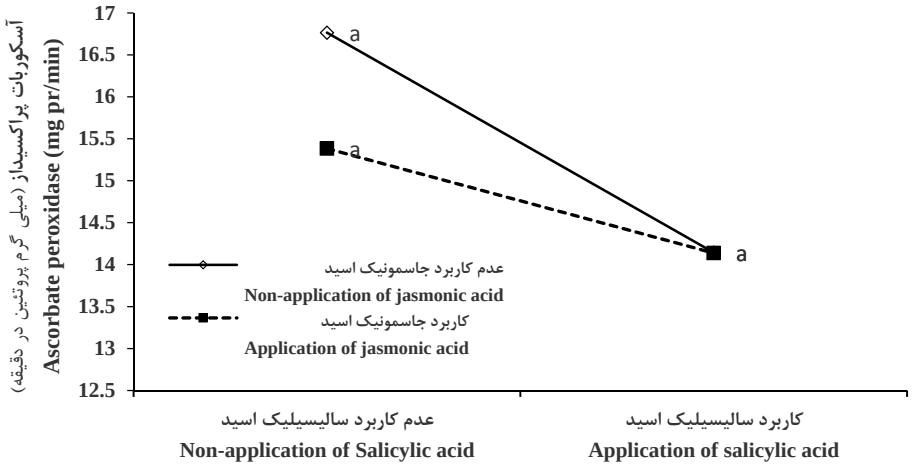
جدول ۴. مقایسه میانگین اثرات سه گانه تنش شوری، اسید سالیسیلیک و اسید جاسمونیک بر صفات مورد آزمون

Table 4. Mean comparison triple effect salt stress salicylic acid and jasmonic acid on evaluated traits

شوری Salinity	اسید سالیسیلیک Salicylic acid	اسید جاسمونیک Jasmonic acid	پراکسیداز Peroxidase	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase
صفر میلی‌مولار (0 mM)	No SA	No JA	20.01g	10.27g
		JA	17.79g	9.27g
	SA	No JA	14.96h	7.97h
		JA	13.46h	7.28h
۲۵ میلی‌مولار (25 mM)	No SA	No JA	27.68e	13.79e
		JA	27.29e	13.61e
	SA	No JA	23.37f	11.81f
		JA	24.05f	12.13f
۵۰ میلی‌مولار (50 mM)	No SA	No JA	39.22c	19.06c
		JA	34.56d	16.93d
	SA	No JA	32.91d	16.13d
		JA	33.25d	16.33d
۷۵ میلی‌مولار (75 mM)	No SA	No JA	50.27a	24.12a
		JA	44.63b	21.54b
	SA	No JA	42.62c	20.62b
		JA	43.03b	20.81b

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد می‌باشند. SA= کاربرد اسید سالیسیلیک؛ No SA = عدم کاربرد اسید سالیسیلیک؛ JA= کاربرد اسید جاسمونیک؛ No JA = عدم کاربرد اسید جاسمونیک.

Similar letters in each column represent no significant differences based on the LSD test in level 5 percent. SA = Application of Salicylic acid; No SA = Non- Application of Salicylic acid; JA = Application of Jasmonic acid; No JA = Non- Application of Jasmonic acid.



شکل ۴. مقایسه میانگین اثر متقابل اسید سالیسیلیک و اسید جاسمونیک بر آسکوربات پراکسیداز

Figure 4. Comparison average interaction effect of Salicylic acid and Jasmonic acid on Ascorbate peroxidase

گلوتاتیون‌پراکسیداز

بررسی نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تنها اثرات اصلی معنی‌دار گردید (جدول ۲). با توجه به نتایج به‌دست‌آمده می‌توان اذعان داشت که با افزایش غلظت شوری فعالیت صفت مذکور افزایش یافت. اثر اصلی کاربرد اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز بیانگر این مطلب است که محلول‌پاشی این ماده سبب کاهش فعالیت این آنزیم شد، به‌طوری‌که کمترین صفت مورد آزمون مربوط به کاربرد اسید

سالیسیلیک حاصل گردید. با مصرف اسید جاسمونیک نسبت به عدم مصرف این ماده ۱۲/۲۹ درصد در فعالیت آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز روند کاهشی مشاهده شد (جدول ۳). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مهم‌ترین ترکیبات در سیستم‌های جاروب کردن اکسیژن‌های رادیکال آزاد هستند (Pan et al., 2006). در گیاهان عالی سیستم جاروب کردن اکسیژن‌های رادیکال آزاد از چندین آنزیم آنتی‌اکسیدان ازجمله گلوتاتیون-پراکسیداز تشکیل شده است که می‌توانند از غشاءها در برابر اثرات مخرب رادیکال‌های اکسیژن فعال که در برابر تنش شرایط غیرزنده تولید می‌شود، محافظت کنند و موجب مقاومت و پایداری گیاهان در برابر تنش‌هایی همچون شوری شوند (Mohamadkhani and Heidari, 2007; Tan et al., 2006). بالا رفتن میزان این آنزیم‌ها در طی بروز تنش شوری در گیاه گندم گزارش شده است (Sairam et al., 2002). اسید سالیسیلیک با کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ازجمله گلوتاتیون‌پراکسیداز باعث افزایش هیدروژن‌پراکسید و برخی از گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردد که این مولکول‌ها برای فعال کردن ژن‌های عامل مقاومت به شرایط تنش‌زا وارد عمل می‌شوند، بعد از فعال شدن ژن‌های عامل مقاومت رادیکال‌های آزاد باید از سلول حذف شوند که ترکیبات آنتی‌اکسیدانتی در تیمار اسید سالیسیلیک برای حذف آن‌ها مصرف‌شده و میزان آن‌ها را کاهش می‌دهد (Hernandez et al., 2001). در پژوهش حاضر کاربرد اسید سالیسیلیک و جاسمونیک سبب کاهش فعالیت آنزیم نسبت به عدم مصرف گردیده است. می‌توان نتیجه گرفت این ترکیبات به‌طور مستقیم در از بین بردن رادیکال‌های آزاد نقش داشته و با پاک‌سازی گونه‌های فعال و کاهش اثرات تنش، از افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان جلوگیری می‌کند (Doulatabadian et al., 2008).

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش نشان داد که تنش شوری به‌صورت معنی‌داری تمامی صفات قندهای محلول، پرولین و میزان فعالیت آنزیم-های آنتی‌اکسیدان را افزایش داد. ترکیبات اسید سالیسیلیک و اسید جاسمونیک به‌صورت معنی‌داری در شرایط تنش موجب افزایش میزان قندهای محلول و پرولین شدند. همچنین به دنبال مصرف اسید سالیسیلیک و اسید جاسمونیک آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاهش یافتند. به‌بیان‌دیگر ضمن کاربرد این دو ترکیب، می‌توان اذعان داشت گیاه اسطوخودوس برای مقابله با تنش شوری از قندهای محلول و پرولین استفاده کرده است.

منابع

Abdala, G., Miersch, O., Kramell, R., Vigliocco, A., Agostini, E., Forchetti, G., Alemano, S., 2003. Jasmonate and octadecanoid occurrence in tomato hairy roots Endogenous level changes in response to NaCl. Plant Growth Regulation. 40, 21-27.

Akhondi, M., Safarnejad, E., Lahooti, M., 2006. Effect of drought stress on proline and accumulation of ions. Journal of Agricultural Science. 10, 165-173. [In Persian with English Summary].

Ashraf, M., Ali, Q., 2008. Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determinants of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.). Environmental and Experimental Botany. 63, 266-273.

Berrington D., Lall N., 2012. Anticancer activity of certain herbs and spices on the cervical epithelial carcinoma (HeLa) cell line. Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 564-927.

Cakmak, I., Horst W., 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glysin max*). Journal of Plant Phisiology. 83, 463-468.

Chen, Z., Ricigliano JR., Klessig D.F., 1993. Purification and characterization of a soluble salicylic acid binding protein from tobacco. Journal of Proceedings of the National Academy of Sciences of United State of America. 90, 9533-9537.

Comparot, S.M., Graham, C.M., Reid, D.M., 2002. Methyl jasmonate elicits a differential antioxidant response in light and dark grown canola (*Brassica napus*) roots and shoots. Journal Plant Growth Regulation. 38, 21-30.

Conrath, U., Pieterse, C.M.J., Mauch-Mani, B., 2002. Priming in plant–pathogen interactions. Trends in Plant Science. 7, 210-216.

Dadman, B., Omidbeygi, R., Sefidkan, F., 2007. Effect of nitrogen on essential oil of Mexican parsley. Journal of Iranian Aromatic and Medicinal Plants Research. 23(4).38, 484 - 91. . [In Persian with English Summary].

Dixit, V., Pandey, V., Shyam, R., 2001. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum*). Experimental Botany. 52, 1101-1109.

Doulatabadian, A., Modarres Sanavi, S.A.M., Etemadi, F., 2008. Effec of pretreatment of salicylic acid on wheat (*Trittcum aestivum* L.) seed germination under salt stress. Iranian Journal of Plant Biology. 692-702. [In Persian with English Summary].

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Annual Chemistry. 28, 350-356

Fakhari, A., Salehi, P., Heydari, R., Nejad Ebrahimi, S., Haddad, P., 2005. Hydrodistillation headspace solvent microextraction; a new method for analysis of the essential oil components of *Lavandula angustifolia* Mill. Journal of Chromatography A. 1098(1-2), 14-78.

Fedina, I.S., Benderliev, K.M., 2000. Response of secendesmus incrassatulus to salt stress as affected by methyl jasmonate. Biologica Plantarum. 43(4), 625–627.

Ferrarese, NG,P.L.L., M.L.L., Huber, D.A., Ravagnani, A.L.S., Ferraree –Filho, O., 2003. Conola (*Brassica napus* L.) seed effects on germination of Glycine max effects of cinnamic acid and benzoic acids and derivatives. Seed Science and technology. 31, 39-48.

Ghanati, F., Morita A., Yokota H., 2002. Induction of suberin and increase of liginin content by exess Boron in Tabacco cell. Soil Science and Plant Nutrition. 48(3), 357-364.

Giannopolitis, C., Ries, S., 1997. Superoxid desmutase. I. Occurence in higher plant. Plant Physiology. 59, 309-314.

Hernandez, J.A., Ferrer, M.A., Jimenez, A., Barcelo, A.R., Sevilla, F., 2001. Antioxidant systems and O2-/ H2O2 production the apoplast of pea leaves. Its relation with salt- induced necrotic lesions in minor veins. Plant Physiology. 127, 827-831.

Horváth, E., Janda, T., Szalai, G., Páldi, E., 2002. In vitro salicylic acid inhibition of catalase activity in maize: differences between the isoenzymes and a possible role in the induction of chilling tolerance. Plant Science. 163, 1129-1135.

Horvath, E., Szalai, G., Janda, T., 2007. Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. Plant Growth and Regulation. 26, 290-300.

Jung, S., 2004. Effect of chlorophyll reduction in *Arabidopsis thaliana* by methyl jasmonate or norflurazon on antioxidant systems. Plant Physiology and Biochemistry. 42, 231-255.

Katerji, N., Mastrorilli, M., van Horn, J.W., Lahmer, F.Z., Hamdy, A., Oweis, T., 2009. Durum wheat and barley productivity in saline -drought environments. European Journal of Agronom*y*. 31, 1-9.

Keles, Y., Oncel, I., 2004. Growth and solute composition in two wheat species experiencing combined influence of stress conditions. Russian Journal Plant Physiology. 51, 203-208.

Kerepesi, I., Galiba, G., 2000. Osmotic and salt stress Induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedling. Crop Science. 40(2), 482-487.

Kshavrz, H., Modares Sanavi, S.A.M., Zarin Kamr, F., Dolatabadian, A., Panahi, M., Sadaj Asilan, K., 2012. Evolution effect salicylic acid foliar on same traits biochemical two (*Brasica napus* L.) under cool stress. Iranian Agricultural Science. 42, 723-734.

Matysik, J., Alia Balu, B., Mohanty, P., 2002. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. Current Science. 82, 525-531.

Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. Annual Reviews on Plant Science. 7, 405-415.

Mohammdkhani, N., Heidari, R., 2007. Effects of drought stress on protective enzyme activities and lipid peroxidation in two maize cultivars. Pakistan Journal of Biological Sciences. 10 (21), 3835-3840.

Murgan, K., Harish, S.R., 2007. Antioxidant modulation in response to heavy metal induced Oxidative stress in Chodophora glomerata, Indian Journal of Experimental Biological. 45, 980-983.

Neelam, M., Saxena, P., 2009. Effect of salicylic acid on proline metabolism in lentil grown under salinity stress. Plant Science. 177, 181-189.

Omidbeigi, R., 2006. Production and Processing of Medicinal Plants. Beh Nashr Publication. [In Persian].

Paglia, D.E., Valentine, W.N., 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. The Journal of Laboratory and Clinical Medicine. 70(1), 158-169.

Pan, Y., Wu, L.J., Yu, Z.L., 2006. Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch). Plant Growth Regulation. 49, 157-165.

Parvaiz, A., Satyawati, S., 2008. Salt stress and phyto-blochemical responses of plants. Journal of Plant, Soil and Environmental. 54, 89-99.

Patakas, A., Nikolaou, N., Zioziou, E., Radoglou, K., Noitsakis, B., 2002. The role of organic solute and ion accumulation in osmotic adjustment in drought-stressed grapevines. Plant Science. 163, 361- 374.

Ranieri, A., Castagna, A., Baldan, B., Soldatini, G.F., 2001. Iron deficiency differently affects peroxidase isoforms in sunflower. Experimental Botany. 52(354), 25-35.

Sairam, R.K., Chandrasekhar, V., Srivastava, G.C., 2001. Comparison of hexaploid and tetraploid wheat cultivars in their response to water stress. Biologica Plantarum. 44, 89-94.

Sairam, R.K., Veerabhadra Rao, K., Srivastava, G.C., 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science. 163, 1037-1046.

Senaranta T., Ouchell D., Bunn E., Dixon, K., 2000. Acetyl salicylic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. Plant Growth Regulator. 30, 157-161.

Shakirova, F.M., Sakhabutdinova, A.R., Bezrukova, M.V., Fatkhutdinova, R.A., Fatkhutdinova, D.R., 2003. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. Plant Science. 164, 317-322.

Tan, Y., Liang, Z.S., Hongbo, H.B., Du, F., 2006. Effect of water deficits on the activity of anti-oxidative enzymes and osmoregulation among three different genotypes of Radix Astragali at graining stage. Colloids and Surfaces Botany Biointerfaces. 49, 60-65.

Wang, X.S., Han, J.G., 2009. Changes of Proline Content, Activity, and Active Isoforms on Antioxidative Enzymes in Two Alfalfa Cultivars under Salt Stress. Journal of Agricultural Sciences in China. 8(4), 431-440.

Wanichan, P., Kirdmanee, C., Vutyano, C., 2003. Effect of salinity on biochemical and physiological characteristics in correlation to selection of salt tolerance in Aromatic rice (*Oryza sativa* L.). Sciences Asia. 29, 333-330.

Yazdanpanah, S., Abasi, F., Baghzadeh, A., 2010. Effect of salicylic acid and ascorbic acid on proline, sugar and protein content in *Satureja hortensis* L. under aridity stress. Proceeding of the First National Conference of Environmental Stress in Agricultural Science 28-29 The University of Birjand. [In Persian with English Summary].