بررسی مقایسه ای اثر سالیسیلیک اسید و ژیبرلیک اسید برسرعت جوانه زنی بذر عدس (*Lens culinaris* L.)

*مژگان محمدی[1] ، حمید فهیمی[2] ، احمد مجد[2]

*۱-دانشجوی کارشناسی ارشد واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی،عهده دار مکاتبات، Email:mojgan.m30@Gmail.com

۲-گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی،واحد علوم وتحقیقات

چکیده

در این پژوهش اثر پیش تیماری سالیسیلیک اسید (SA) و ژیبرلین (GA)به طور جداگانه و همراه با هم بر در صد جوانه زنی بذر ،سرعت جوانه زنی بذر ، رشد طولی ریشه و اندام هوایی دانه رست های عدس وفعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان مورد بررسی قرار گرفت۰آزمایش ها در قالب طرح فاکتوریل انجام شد۰بذر ها پس از هفت ساعت پیش تیماری با سالیسیلیک اسید و ژیبرلین به تنهایی و توأم به پتری دیش ها ی حاوی کاغذ صافی منتقل شدند. سپس گیاهان پیش تیمار ۳ روزه به گلدان‌های حاوی پرلیت انتقال یافتند ۰نتایج نشان داد، سالیسیلیک اسید و ژیبرلین (به تنهایی) باعث افزایش در صد جوانه زنی بذر و سرعت جوانه زنی بذر گردید۰در برهم کنش این دو هورمون فقط در تیمار ۱۵۰ میکرو مولار سالیسیلیک اسید همراه با ۱۰۰ میکرو مولار ژیبرلین نسبت به شاهد افزایش معنی دار درصد جوانه زنی بذر مشاهده شد و در برهم کنش متقابل ۱۰۰ میکرو مولار سالیسیلیک اسید همراه با ۱۰۰ میکرو مولار ژیبرلین حد اکثر افزایش در سرعت جوانه زنی بذر عدس مشاهده گردید. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در حضور ژیبرلین (به تنهایی) افزایش و در حضور سالیسیلیک اسید کاهش نشان داد۰ژیبرلین به تنهایی ،باعث افزایش رشد طولی اندام هوایی دانه رست های عدس نسبت به شاهد گردید۰

واژه های کلیدی : سالیسیلیک اسید ،ژیبرلین ،سرعت جوانه زنی ،رشد طولی، آنزیم های آنتی اکسیدان ،*Lens culinaris* L.

مجله زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی

واحد گرمسار،۱۳۸۸، دوره۴، شماره۴، ۴۴-۳۳

The comparative effects of Salicylic acid and Gibberellin on seed germination of the lentil(*Lens culinaris* L.)

Mohammadi M[1]., Fahimi H[2].and Majd A[3]

1- MSc Islamic Azad University,Science and Research Branch. 2- Department of Biology, Islamic Azad University, Science and Research Campus, Tehran-Iran

Abstract

In this research,the effects of Salicylic acid and gibberellin either alone or in combination on the percentage of germination and germination rate of seeds, and longitudinal growth of root and shoot of seedlings of Lentil(*Lens culinaris* L.) and the activity polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POX) were studied. seeds were transferred to petri dishes after 7h pretreatment with salicylic acid and gibberellin and interactional solutions of salicylic acid and gibberellin. Then the 3day's pretreatment plants were transferred to pots containing perlit. The results showed that salicylic acid and gibberellin caused to increase of percentage of germination and germination rate of seeds. The obtained results showed that in the treatment of Salicylic acid (150µM) in combination with gibberellin (100 µM) significant increase in the percentage of germination of seeds compared to the control.and in the interaction between 100 µM Salicylic acid in combination with 100 µM gibberellin maximum increase was seen in the germination rate of seed of Lentil. Enzymes assay showed that enzyme activity was increased in gibberellin alone and salicylic acid reduced activity of antioxidant enzyme. Gibberellin alone, caused more increase of longitudinal growth of shoots of seedlings of Lentil than control,and hadn't significant effect in longitudinal growth of root.

Keywords: Salicylic acid, Gibberellin, Germination rate, Longitudinal growth,Antioxidant enzymes,Lens culinaris L.)

مجله زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی

واحد گرمسار،۱۳۸۸، دوره۴، شماره۴، ۴۴-۳۳

مقدمه

سالیسیلیک اسید یا اورتوهیدروکسی بنزوئیک اسید (SA) از ترکیبات فنلی در گیاهان است که به عنوان ماده شبه هورمونی که نقش مهمی در تنظیم رشد و نمو گیاه دارد محسوب می شود(Kang&Wang,2003)۰سالیسیلیک اسید نقش محوری در تنظیم فرایند های فیزیولوژیکی مختلف مثل جوانه زنی بذر ،بسته شدن روزنه ،مهار بیوسنتز اتیلن گیاه ،افزایش میزان فتوسنتز و محتوی کلروفیل ،تولید میوه،تولید گرما و گلیکولیز ایفا می کند (El-Tayeb,2005;Popova,et al.,2003)۰مقدار

www.SID.ir

زیادی از سالیسیلیک اسید در نمونه های خاک برداشت شده از ریزوسفر ذرت و لوبیا گزارش شده است (Raskin,1992)۰درسال۲۰۰۵،El-Tayebبه‌اثرتحریک کنندگی سالیسیلیک اسید بر جوانه‌زنی بذر جو پی برد۰ عواملی مثل «کنترل ژنی ،اندازه دانه ، پوست دانه ،زیست پذیری ،کشت و کار عمیق ،رطوبت خاک ،غلظت اکسیژن و دما »جوانه زنی بذر و ظهور دانه رست را تحت تأثیر قرار می دهد(Rajasekaran,et al.,2002)۰

سالیسیلیک اسید باعث طویل شدن سلول ها و همچنین تقسیم سلولی می شود که این کاربا همکاری سایر تنظیم کننده هااز جمله اکسین انجام می شود۰سالیسیلیک اسید گسترش،تقسیم و مرگ سلولی را تنظیم کرده،ودر واقع بین رشد وپیری تعادل ایجاد می‌نماید(Popova,et al,1997)۰

جوانه زنی بذر فرایند پیچیده ای است که با جذب آب آغاز می شود و پس از یک وقفه کوتاه پرو تئین آنزیمی ساخته و فعال می شودو بازدارنده های بیوسنتز ژیبرلین از جوانه زنی بذر باز داری می کنند (Matilla, et al.,2008)۰ضمن آن که ژیبرلین با افزایش تقسیم سلولی و طویل شدن سلول ها نیز بر جوانه زنی و رشد اولیه دانه رست ها در شرایط تنشی تأثیر می گذارد(Kaur, et al.,1998)۰یکی از مهمترین عوامل موثردر جوانه زنی آزاد سازی ذخایر غذایی از جمله نشاسته می باشد۰این فرایند توسط آنزیم α- آمیلازتسهیل می شود۰GA3نه تنها در افزایش بیوسنتز آنزیم α- آمیلاز نقش دارد،بلکه فرایند ترشحی آنزیم α- آمیلازنیز پس از رونویسی ژن بوسیله ژیبرلین تنظیم می شود(Nanjo,etal.,2004; Kaur, et al., 2000)۰

آنزیم پلی فنل اکسیداز در تمایز سلولی و همچنین بیوسنتز لیگنین نقش داشته ، لذا افزایش فعالیت آن احتما لاً با دخالت آن در بیوسنتز لیگنین و چوبی شدن سلول های ریشه ای که مرحله نهایی تمایز است رابطه دارد(McCue, et al .,2000).تحقیقات نشانگر آن است که ژیبرلین باعث افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در گیاهان عدس می شود (برزین، ۱۳۸۷).

غلظت بالای سالیسیلیک اسید در ساقه همانند عامل تنش زا عمل نموده است و در نتیجه **آن** فعالیت آنزیم های ضد تنش اکسیداتیو مانند پراکسیداز و کاتالاز افزایش یافته است(مداح، **۱۳۸۴**). در ذرت سالیسیلیک اسید سبب تغییراتی در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در زمان سرمازدگی می شود (Janda,etal.,1999). . اخیراً ثابت شده است که پلی فنل اکسیداز احتمالاً در دفاع در برابر تهاجم پاتو ژن ها یا آفات شرکت می کند Aydemir,et al.,2004)

از آنجا که تعداد گیاهان در واحد سطح برای کشاورزان مهم است ، بنابراین در شروع کار باید اطلاع دقیقی از درصد جوانه زنی برای محاسبه تعداد بذر در واحد سطح داشته باشند(Lopez, et al ., 1999).۰ با توجه به نقش سالیسیلیک اسید و ژیبرلین روی جوانه زنی و رشد گیاه در این تحقیق اثر عوامل فوق بر جوانه زنی مورد تحقیق قرار گرفت۰ و از طرفی برای اینکه استفاده از SA از نظر اقتصادی نسبت به GA_3 مقرون به صرفه تر است در این مطالعه بررسی شد که چه غلظتی از SA می تواند جایگزین GA_3 در جوانه زنی بذر عدس شود؟

مواد و روش ها

در این تحقیق از گیاه عدس(*Lens culinaris* L.) رقم مشهدی استفاده گردید۰پیش تیمارSA در۵سطح(۰ ، ۵۰ ، ۱۰۰،۱۲۰و۱۵۰میکرومولار)انجام گرفت، و پیش تیمار GA_3 در۳سطح(۰،۵۰ و۱۰۰میکرومولار) اعمال گردید و برای مشاهده اثر متقابل این دو هورمون، پیش تیمارSA و GA_3 در قالب طرح فاکتوریل اعمال گردید۱۵ عدد بذر سالم و یکنواخت، در محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد استریل شدند، سپس بذرها چندین بار با آب مقطر شستشو داده شدند و به پتری های حاوی کاغذ صافی خیس شده با محلول های فوق(به مقدار مساوی)انتقال یافتندپتری های آماده به روش فوق در ژرمیناتور(Sanyang Model Glle can) در دمای۲۳درجه

Archive of SID

www.SID.ir

سانتی گراد و رطوبت نسبی۹۰-۸۰درصد، دوره ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و۸ساعت تاریکی و شدت روشنایی ۴۲۰۰ لوکس قرار گرفتند۰ برای هر تیمار ۴ تکرار در نظر گرفته و هر دو ساعت یکبار به مدت سه روز تعداد بذرهای جوانه زده شمارش گردید۰ خروج ریشه اصلی را از پوست بذر به عنوان زمان شروع جوانه زنی در نظر گرفته (Shakirova,2003)و سپس درصد جوانه زنی بذرها (Germination percentage (GP از رابطه زیر به دست آمد(PG=100(N' /N (درصد)

N' :تعداد بذرهای جوانه‌زده،N :تعداد کل بذرها می‌باشد.

زمان لازم برای جوانه زنی ۵۰٪ بذرها را به عنوان سرعت جوانه زنی در نظر گرفته و آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید۰ به منظور دستیابی به اهداف مورد نظر در این پژوهش ،آزمایش ها به طور کلی به ۲ گروه تقسیم بندی شدند که عبارتند از:

- بررسی اثر پیش تیماری ژیبرلین و سالیسیلیک اسید به طور جداگانه وتوام بر جوانه زنی بذر و برخی از فرایند های رشدو تکوین در گیاهانی که درپتری به مدت ۱۰ روز کشت داده شدند.

- انتقال گیاهان پیش تیمار ۳روزه به گلدان های حاوی پرلیت و بررسی روند رشد وتکوین آنها در کشت گلدانی.

با توجه به این که بذر های عدس کوچکند و اندوخته غذایی کمی دارند ، به منظور بررسی مراحل رشد ،دانه رست های۳روزه به گلدان های حاوی پرلیت منتقل شدند۰و دانه رست ها از روز چهارم با محلول غذایی اصلاح شده Hoagland & Arnon درسال۱۹۵۷ حاوی عناصر غذایی کم مصرف و پر مصرف (۱:۲V/V)آبیاری شدند.این محلول به صورت یک روز در میان به محیط کشت گیاهان اضافه می شد۰ pH کلیه محلول ها در ۶/۵ تنظیم گردید ۰گیاهان در شرایط تنظیم شده با مدت روشنایی ۱۶ ساعت ، شدت روشنایی ۱۷۵ میکرو مول/فوتون/متر مربع /ثانیه تناوب دمایی C ۲۶ °C/۲۲°(شب / روز) و رطوبت نسبی۷۰-۶۰در صد رشد یافتند .به منظور بررسی رشد طولی ریشه و اندام هوایی در روز هفتم، طول دانه رست ها با کاغذ میلی متری اندازه گیری گردید۰به منظور سنجش فعالیت آنزیم ها ابتدا عصاره آنزیمی به دست آمد.۰/۵ گرم بافت تازه گیاهی با ۵ میلی لیتراز بافر تریس –گلایسین سرد باpH برابر۸،در هاون چینی برروی یخ سائیده شد۰ محلول حاصل به لوله های سانتریفوژ منتقل شد۰لوله ها در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای۴ °C به مدت ۶۰ دقیقه سانتریفوژ شده و از رو شناور برای سنجش آنزیمی استفاده شد۰در صورتی که امکان سنجش آنزیم بلا فاصله پس از استخراج‌حاصل نشد،رو شناور به فریزر منتقل شد.

-سنجش فعالیت آنزیم پر اکسیداز :

ابتدا تعدادی لوله آزمایش را در یخ قرار داده و به هر کدام ۴ میلی لیتر بافر استات۰/۲ مولار با pH برابر۵ و ۰/۴ میلی لیتر آب اکسیژنه ۳ در صد و ۰/۲ میلی لیتر بنزیدین ۰/۰۲ مولار ، متانول ۵۰ در صد اضافه شد و در نهایت ۰/۱ میلی لیتر از عصاره استخراجی به هر لوله اضافه شد و تغییرات جذب در طول زمان بلافاصله در طول موج ۵۳۰ نانومتر اندازه گیری شد ۰فعالیت آنزیم در دانه رست ها به مدت ۳ دقیقه در برابر شاهد فاقد عصاره آنزیمی با استفاده از دستگاه اسپکترو فتومتر(Shimadzu UV-2120 PC) ثبت شد.

میزان فعالیت آنزیم براساس تغییرات جذب در ۵۳۰نانومتر در دقیقه (Unit) در میلی گرم پروتئین بیان گردید ۰(Biles & Abeles,1991)

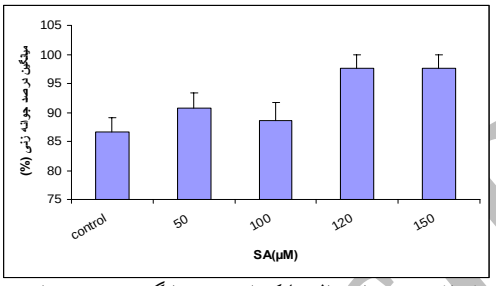
- سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز :

اندازه گیری این آنزیم به روش ریموند Raymond و همکاران (۱۹۹۳) انجام گرفت ۰ابتدا تعدادی لوله آزمایش در حمام آب ۴۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد و سپس به هر لوله ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار باpH برابربا ۶/۸ افزوده شده بعد به آن۰/۲ میلی لیتر پیرو گالل ۰/۰۲ مولار اضافه شد و اجازه داده شد تا دمای لوله ها به ۴۰ در جه سانتی گراد برسد ۰سپس به هر لوله ۰/۲ میلی لیتر عصاره آنزیمی افزوده شد و تغییرات جذب در طول موج ۴۳۰ نانومتر در فاصله زمانی ۴ دقیقه ثبت گردید ۰میزان فعالیت آنزیم بر اساس تغییرات جذب در ۴۳۰ نانومتر در دقیقه (Unit) در میلی گرم پروتئین بیان

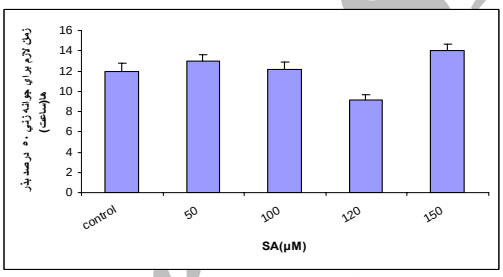
Archive of SID

www.SID.ir

گردید (Raymond,et al.,1993).عملیات آماری: مقایسه میانگین ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون دانکن با ضریب اطمینان ۹۵٪ محاسبه و برای رسم نمودارها از نرم افزار Exel استفاده شد۰.نتایج آنالیز واریانس حاصل مربوط به جوانه زنی بذر عدس در پیش تیمار SA در نمودار ۱و۲ مشخص شده است۰ افزایش غلظتSA(به‌تنهایی)باعث افزایش درصد جوانه زنی بذرهای عدس نسبت به شاهد شده و این افزایش معنی دار نمی باشد(P< ۰/۰۵)(نمودار۱)۰ سرعت جوانه زنی تنها در تیمار ۱۲۰ میکرومولار نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار نشان می‌دهد(P< ۰/۰۵)(نمودار ۲)۰

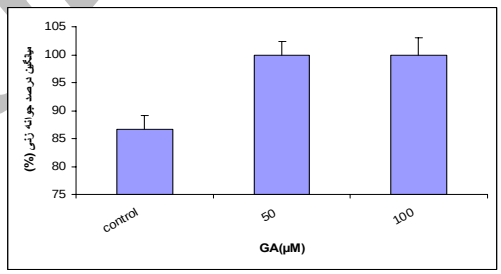


نمودار ۱- اثرپیش تیمار سالیسیلیک اسید بر میانگین درصد جوانه زنی بذر

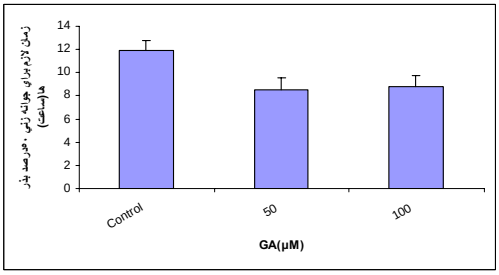


نمودار۲- اثر پیش تیمار سالیسیلیک اسید برمدت زمان لازم برای جوانه زنی۵۰ درصد بذرها

نتایج حاصل از پیش تیمار ژیبرلین نیز در نمودار ۳و ۴ مشخص شده است۰ افزایش غلظت GA_3 باعث افزایش درصد جوانه زنی بذرهای عدس نسبت به شاهد می شود(P< ۰/۰۵)(نمودار ۳)۰ در مورد سرعت جوانه زنی بذر افزایش غلظت GA_3 نسبت به شاهد افزایش معنی داری نشان می دهد(P< ۰/۰۵) (نمودار۴)۰



نمودار ۳- اثر پیش تیمار ژیبرلین بر میانگین درصد جوانه زنی بذر

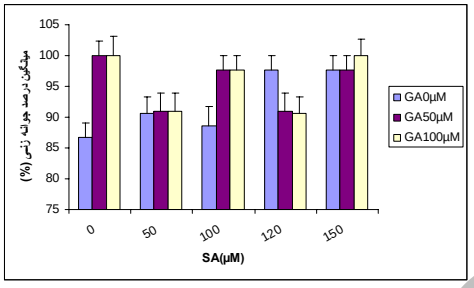


نمودار ۴- اثر پیش تیمار ژیبرلین بر زمان لازم برای جوانه زنی ۵۰ درصد بذرها

Archive of SID

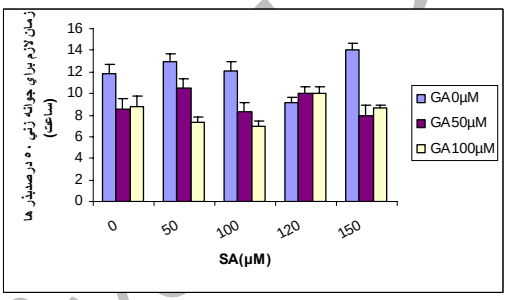
www.SID.ir

نتایج در برهم کنش متقابل پیش تیمار SA و GA_3 نشان داد که افزایش درصد جوانه زنـی در تیمـار ۱۵۰ میکرومـولار SA همراه با ۱۰۰ میکرومولار GA_3 نسبت به شاهد افزایش معنی داری از نظـر آمـاری($P< ۰/۰۵$) نـشان مـی دهـد و در سـایر سطوح SA افزایش معنی داری نشان نمی دهد (نمودار۵)۰



نمودار۵- تأ ثیر پیش تیمار ژیبرلین وسالیسیلیک اسید بر میانگین درصد جوانه زنی بذر

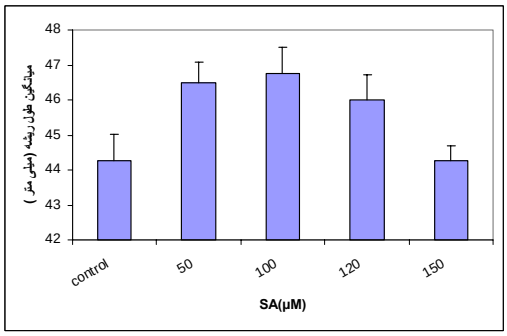
در مورد سرعت جوانه زنی در برهم کنش متقابل SA و GA_3 نسبت به شاهد افزایش نشان می دهد۰ حداکثر سرعت جوانـه زنی در تیمار ۱۰۰ میکرومولار GA_3 همراه با ۱۰۰ میکرومولار SA مشاهده شد و نسبت به شاهد افزایش معنی داری نـشان می دهد($P< ۰/۰۱$) (نمودار۶)۰



نمودار ۶- تأثیر پیش تیمار ژیبرلین و سالیسیلیک اسید بر زمان لازم برای جوانه زنی ۵۰ درصدبذرها

بررسی مقایسه ای بین SA و GA_3 نـشان داد، در نتـایج مربوط به درصد جوانه زنی بذر و سرعت جوانه زنی بـذر در دانه رست های عدس: حضور GA_3 نسبت به SA در سطح$P< ۰/۰۵$اختلاف معنی داری با GA_3 نداشت و بـه نتایج حاصـل از حـضور GA_3(بـه تنهـایی)نزدیـک تـر بود(نمودار۵).در مورد سرعت جوانه‌زنی بذر، غلظـت۱۲۰ میکرومولار از نظر آماری($P< ۰/۰۵$) اختلاف معنی داری با GA_3 ندارد و بـه نتـایج حاصـل از حـضور GA_3(بـه تنهایی) نزدیک تر است (نمودار۶).

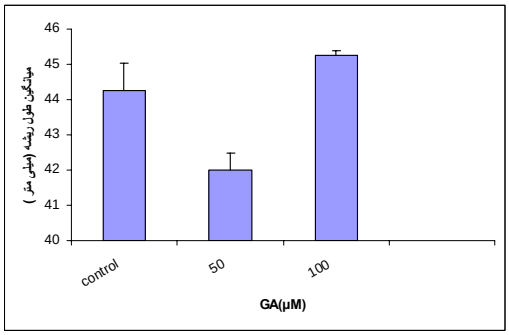
رشد طولی ریشه در پاسخ به پیش تیماریSA (به تنهایی) نسبت به شاهد رشد معنی داری در سـطح$P< ۰/۰۵$نـشان داد ولی این افزایش معنی دار نبود (نمودار۷)۰ در پـیش تیماری با GA_3(به تنهایی) اختلاف معنی‌داری نسبت بـه شاهد در سطح $P< ۰/۰۵$ نداشت(نمودار۸)۰



نمودار۷- اثرپیش تیمار سالیسیلیک اسید بر میانگین طول ریشه (میلی متر)

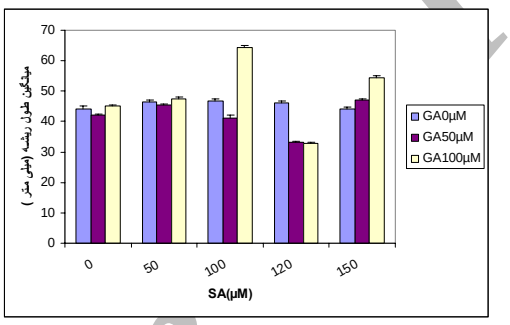
Archive of SID

www.SID.ir



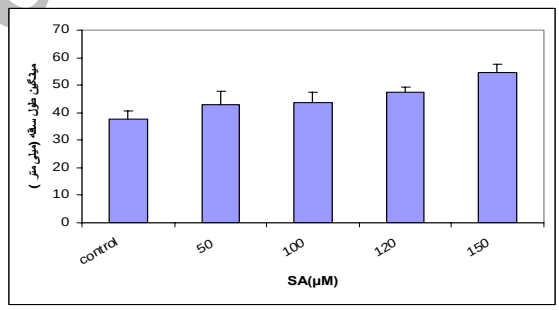
نمودار۸- اثرپیش تیمار ژیبرلین بر میانگین طول ریشه (میلی متر)

در پیش تیماری متقابل GA_3 و SA ، اختلاف معنی داری نسبت به شاهد در سطح P< ۰/۰۵ مشاهده نشد، حداقل رشد طولی ریشه در تیمار ۱۰۰ میکرومولار GA_3 همراه با ۱۲۰ میکرومولار SA مشاهده شد و حداکثر رشد طولی ریشه در تیمار ۱۰۰ میکرومولار GA_3 همراه با ۱۰۰ میکرومولار SA مشاهده شد و از نظر آماری در سطح P< ۰/۰۵ نشان داد (نمودار۹)۰



نمودار۹- تأ ثیر متقابل پیش تیمار ژیبرلین وسالیسیلیک اسید بر میانگین طول ریشه (میلی متر)

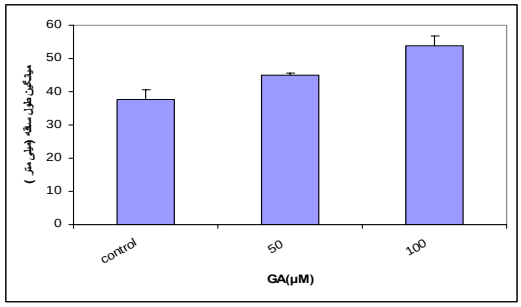
در مورد رشد طولی اندام هوایی، افزایش غلظت SA به تنهایی باعث افزایش رشدطولی اندام هوایی شد، ولی این افزایش فقط در تیمار ۱۵۰ میکرومولار SA معنی دار بود (نمودار۱۰)۰ افزایش غلظت GA_3 (به تنهایی) باعث افزایش رشد طولی اندام هوایی نسبت به شاهد شد که در تیمار ۱۰۰ میکرومولار GA_3 از نظر آماری در سطح P< ۰/۰۵ معنی دار بود (نمودار ۱۱)۰ نتایج نشان داد که در مورد رشد طولی اندام هوایی ژیبرلین نسبت به سالیسیلیک اسیدتأثیر بیشتر دارد(نمودار۱۲)۰



نمودار۱۰- اثرپیش تیمار سالیسیلیک اسید بر میانگین طول اندام هوایی (میلی متر)

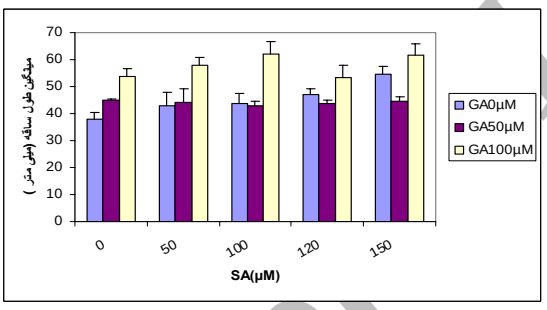
Archive of SID

www.SID.ir



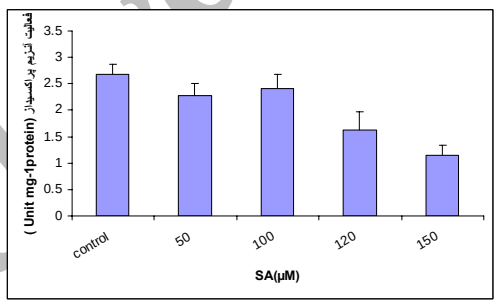
نمودار۱۱- اثرپیش تیمار ژیبرلین بر میانگین طول اندام هوایی (میلی متر)

در برهم کنش متقابلGA_3 و SA،افزایش رشدطولی اندام هوایی مشاهده شد،حداکثر رشد طولی اندام‌هوایی در تیمارهای۱۰۰ میکرومولار GA_3 همراه با ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار SA مشاهده شد که بین این دو تیمار از نظر آماری اختلاف معنی دار وجود نداشت (نمودار۱۲)۰



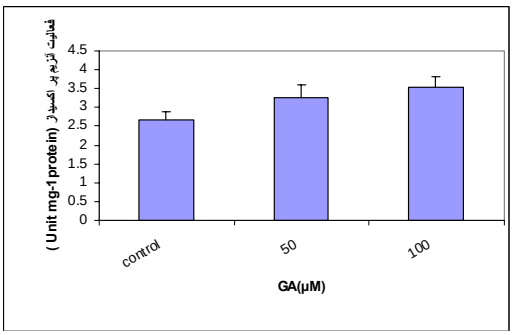
نمودار۱۲- تأ ثیر متقابل پیش تیمارژیبرلین و سالیسیلیک اسید بر میانگین طول اندام هوایی (میلی متر)

در مورد فعالیت آنزیم پراکسیداز ،افزایش غلظت SA (به تنهایی) نسبت به شاهد کاهش معنی دار (P<۰/۰۱)در فعالیت این آنزیم نشان داد ۰به طوری که فعالیت این آنزیم در بالاترین سطح SA (۱۵۰ میکرو مولار) به حد اقل خود رسید(نمودار ۱۳).



نمودار۱۳-ا ثر پیش تیمار سالیسیلیک اسید در تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز(Unit mg^{-1}protein)

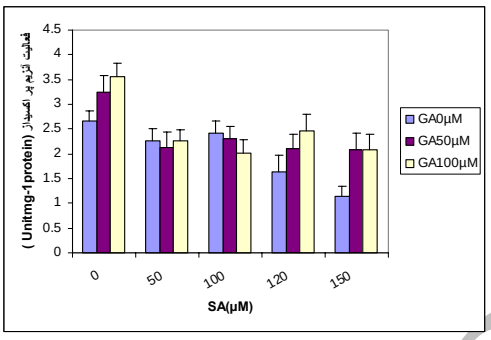
افزایش غلظت GA_3 به طور جداگانه نیز باعث افزایش معنی دار (P<۰/۰۱) فعالیت آنزیم پر اکسیداز در دانه رست های عدس نسبت به شاهد شد ۰ولی بین تیمار ۵۰ میکرو مولار و۱۰۰ میکرو مولارGA_3 اختلاف معنی دار نشان نداد ۰حداکثر فعالیت آنزیم در تیمار ۱۰۰میکرومولار GA_3 نسبت به شاهد مشاهده شد ،که از نظر آماری(P<۰/۰۱)معنی دار بود(نمودار۱۴).



نمودار۱۴ اثر پیش تیمار ژیبرلین در تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز(Unit mg^{-}

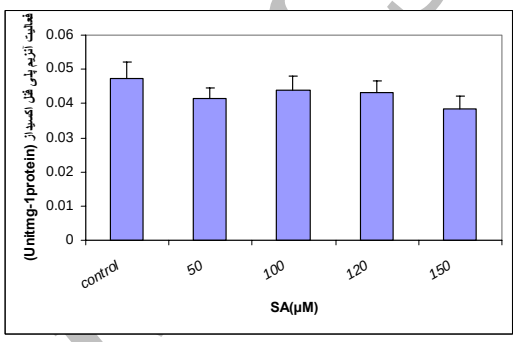
Archive of SID
www.SID.ir

در بر همکنش متقابلGA_3 و SA ، کاهش فعالیت آنزیم پر اکسیداز نسبت به شاهد مشاهده شد، که این کاهش از نظر آماری در سطح P<۰/۰۵ معنی دار نبود(نمودار۱۵).



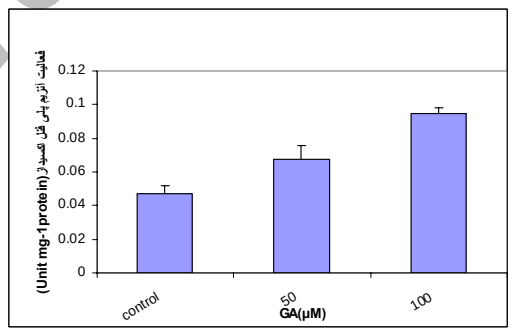
نمودار۱۵ - تأثیرمتقابل پیش تیمار ژیبرلین وسالیسیلیک اسید در تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز(Unit mg^{-1}protein)

در مورد فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز ، به تدریج با افزایش غلظت SA به تنهایی نسبت به شاهد ، کاهش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز مشاهده شد، که در بالاترین سطح SA (۱۵۰ میکرو مولار)،به حداقل فعالیت خود رسید۰که از نظر آماری نسبت به شاهد کاهش معنی دار در سطح P<۰/۰۵ نشان داد و در بقیه تیمارهایSA کاهش فعالیت این آنزیم از نظر آماری معنی دار نیست(نمودار۱۶).



نمودار۱۶-اثر پیش تیمار سالیسیلیک اسید در تغییرات فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز(Unit mg^{-1}protein)

با افزایش غلظتGA_3 (به تنهایی) نسبت به شاهد افزایش فعالیت این آنزیم مشاهده شد به طوری که در بالاترین سطحGA_3 (۱۰۰ میکرومولار) به حداکثر خود رسید. و در بین سطوح مختلف GA_3افزایش معنی داری از نظر آماری در سطح P<۰/۰۵ مشاهده شد(نمودار۱۷).

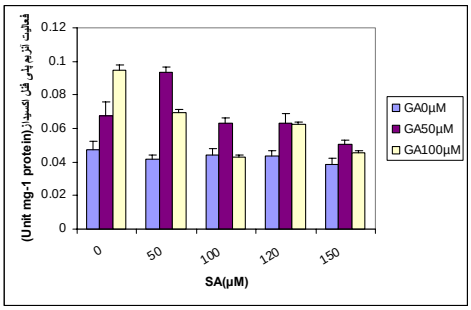


نمودار۱۷- اثر پیش تیمار ژیبرلین در تغییرات فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز(Unit mg^{-1}protein)

در برهمکنش متقابلGA_3 و SA ، اختلاف فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز نسبت به شاهد مشاهده شد ،که این اختلاف در برخی از تیمار ها که از نظر آماری (P<۰/۰۵) معنی دار نبود۰ولی در غلظت ۵۰ میکرومولارGA_3 و ۵۰ میکرومولارSAافزایش در فعالیت این آنزیم مشاهده شدو از نظر آماری(P<۰/۰۵)معنی دار بود(نمودار۱۸).

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار۱۸- تأثیر متقابل پیش تیمار ژیبرلین و سالیسیلیک اسیددر تغییرات فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز(Unit mg^{-1}protein)

بحث

طبق نتایج به دست آمده درصد و سرعت جوانه زنی بـذر عدس در اثر پیش تیماری با SA افزایش می یابـد۰ ولـی این افزایش از نظر آماری نسبت به شاهد معنی دار نبـود (نمودار۱)۰ در مورد سالیسیلیک اسید بر جوانـه زنـی بـذر گزارشات ضد ونقیصی وجود دارد۰

Rajasekaran در سال۲۰۰۲نشان داد که کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید باعث تحریک جوانه زنی بذر می شود ۰در سال ۲۰۰۵ ، El-Tayeb به اثر تحریک کنندگی سالیسیلیک اسید بر جوانه زنی بذر جو پی برد۰ مداح در سال ۱۳۸۴ گزارش کرد، سالیسیلیک اسید در غلظت های کم موجب افزایش درصد جوانه‌زنی می‌گردد اما این افزایش نسبت به گیاهان شاهد معنی دار نیست۰خیساندن دانه‌های گندم درغلظت کم سالیسیلیک اسید (۰/۰۵mM) به مدت ۳ ساعت جوانه زنی را فعال می‌سازد ۰(Shakirova, 2003)

نتایج پژوهش ما بـا نتـایج Shakirova در سـال۲۰۰۳ ، Rajasekaran در سـال ،El-Tayeb۲۰۰۲ در سـال ۲۰۰۵ و مداح در سال ۱۳۸۴ همسو می باشـد.مکانیـسمی که سالیسیلیک اسیدباعث افزایش جوانه زنی بذر می شود هنوز به درستی مشخص نیـست، بـر طبـق گـزارشNun وهمکاران در سال۲۰۰۳سالیسیلیک اسیدمی توانـد باعـث مهار فعالیت کاتالاز شود۰کاهش کاتالاز منجر بـه افـزایش H2O2می‌گردد، هیدروژن پر اکسید که برای بافت هـای گیاهی سمی است،می تواند جوانه زنی برخی از بذر ها را بهبود بخشد۰

پیش تیمار بذر ها با ژیبرلین ۵۰و۱۰۰ میکرومـولار سـبب افزایش درصد و سرعت جوانه زنی بذر عدس می شود.

همچنین در پژوهش ما ،افزایش غلظت ژیبرلین به تنهـایی باعث افزایش معنی دار درصد و سرعت جوانه زنـی بـذر عدس نسبت به شاهد شد(نمودار ۴).این داده ها با نتـایج بـرزین در سـال۱۳۸۷،Kaurوهمکـاران در سـال ۲۰۰۰، Nanjo وهمکاران در سال۲۰۰۴مربوط به نقـش ژیبـرلین در افزایش جوانه زنی بذر مطابقت دارد. Kaurوهمکاران در سال ۲۰۰۰ نشان دادند که افزودن ژیبرلین بـه صـورت برون زا باعث افزایش دسترسی به ژیبرلین درون زا شده و در نتیجه موجبات افزایش جوانه زنی در شرایط تنـشی را فراهم می آورند Nanjo وهمکاران در سال۲۰۰۴ گزارش کردند که ژیبرلین نه تنهـا در افـزایش بیوسـنتز آنـزیم α- آمیلاز نقش دارد،بلکه فرایند ترشحیα- آمیلازنیز پـس از رونویسی ژن به وسیله ژیبرلین تنظیم می شود. بـرزین در سال ۱۳۸۷ نشان داد،استفاده از ژیبرلین در محـیط کـشت موجب افزایش درصدجوانه زنی حتی در محـیط هـای در حال تنش می شود۰حضور ژیبرلین نسبت به سالیـسیلیک اسید اثر بیشتری بر جوانه زنـی بـذر هـای عـدس ایجـاد کـرد۰ولـی غلظـت ۱۲۰و ۱۵۰ میکرومـولار سالیـسیلیک اختلاف معنی داری در سـطحP<۰/۰۵ نـدارد و بـا نتـایج حاصل از حضور ژیبرلین(به تنهایی) نزدیـک تـر اسـت (نمودار ۵). پس از آن جا که استفاده از سالیسیلیک اسـید نـسبت بـه ژیبـرلین از نظـر اقتـصادی مقـرون بـه صـرفه است،سالیسیلیک اسید بـا غلظـت ۱۲۰میکرومـولاررا مـی توان جایگزین ژیبرلین کرد. در برهم کنش متقابل ژیبرلین و سالیـسیلیک اسـید ، در تیمـار ۱۵۰ میکـرو مـولار سالیسیلیک اسـید همـراه بـا ۱۰۰ میکـرو مـولار ژیبـرلین افزایش معنی داری نـسبت بـه شـاهد در سـطح P<۰/۰۵

Archive of SID

www.SID.ir

مشاهده شد ۰ این امکان وجود دارد که سالیسیلیک اسید و ۲-۶دی هیدروکسی بنزوئیک اسید جوانه زنی بذر را از طریق بیوسنتز ژیبرلین تحریک کنندو به عنوان القا کنندگان ترموژن عمل نمایند(Shah,2003)۰بنابراین در برهمکنش متقابل این دو هورمون،سطوح بالاتر ژیبرلین و سالیسیلیک اسید با همکاری هم باعث افزایش جوانه زنی بذر های عدس شده است .

با توجه به این واقعیت در صورت سبز نشدن و سر از خاک بیرون نیاوردن دانه رست به مدت طولانی امکان مورد حمله قرار گرفتن و از بین رفتن آنها توسط میکرو ار گانیسم های موجود در خاک وجود دارد،گزارش در صد جوانه زنی بذر باید با عامل زمان همراه باشد تا بتواند تعداد دانه رست های تولید شده در مدت زمان مشخصی را نشان دهد۰بنابر این از پارامتر سرعت جوانه زنی استفاده می شود.

سالیسیلیک اسید موجب افزایش رشد طولی ریشه و اندام هوایی می شود که این نتایج با نتایج Maia و همکارانش در سال ۲۰۰۰ ، McCue در سال۲۰۰۰،Shakirova در سال ۲۰۰۳وFariduddin و همکاران در سال ۲۰۰۳ مطابقت دارد. افزایش طول دانه رست های سویا و وزن خشک آنها در غلظت های mg/kg ۱۰۰ و ۵۰۰ سالیسیلیک اسید توسط Maia و همکارانش در سال ۲۰۰۰ گزارش شده است۰ همچنین McCue در سال ۲۰۰۰ نشان داد تیمار نخود فرنگی با آب یا سالیسیلیک اسید که pH آنها بر روی ۳ تنظیم شده بود، موجب افزایش زی توده و طول دانه رست ها گردید ۰ ساز و کاری که سالیسیلیک اسید رشد ریشه و اندام هوایی را در برخی از گیاهان افزایش می دهد به خوبی شناخته نشده است،اما احتمال داده می شود که سالیسیلیک اسید طویل شدن و تقسیم سلولی را به همراه مواد دیگری از قبیل اکسین تنظیم نماید(Shakirova,2003)۰ واز طرفی سالیسیلیک اسید از اکسیداسیون اکسین جلو گیری می کند(Fariduddin,etal.,2003)۰McCue در سال ۲۰۰۰ گزارش کرد،pH پایین سالیسیلیک اسید و غلظت کم آن می تواند با فعال کردن پمپ های پروتون غشاء موجب افزایش جذب مواد غذایی و فشار اسمزی شده، در نتیجه میزان بیوسنتز و ماده سازی افزایش می یابد۰ همراه با این افزایش ماده سازی، pH اسیدی موجب سست شدن دیواره شده و زمینه برای رشد سلول ها فراهم می گردد، بدین ترتیب طول دانه رست نیزافزایش می یابد۰ اما ، غلظت های زیاد سالیسیلیک اسید هما نند عامل تنش زا موجب کاهش بیوسنتزها شده است۰ این کاهش ماده سازی، باعث کاهش وزن و طول دانه رست می گردد.

ژیبرلین باعث افزایش رشد طولی اندام هوایی گردید و بر رشد طولی ریشه تأثیری نداشت(نمودارهای۸ و۱۱). این داده ها با نتایجKhan وهمکاران درسال۲۰۰۵ و Kaur و همکاران در سال ۱۹۹۸ مطابقت دارد.Khan وهمکاران درسال۲۰۰۵ مشاهده کردند که تیمار با ۱۰ میکرومولار ژیبرلین، رشد گیاهان خردل را در مقایسه با گروه شاهد افزایش می دهد۰ بعلاوه GA_3 برون زا (اگزوژن) با بالا بردن قابلیت دسترسی اسید ژیبرلیک درون زا رشد دانه رست ها در گیاه نخود را افزایش می دهند (Kaur, et al.,1998). همچنین گزارش شده است که ژیبرلین ها از تنظیم کننده های اصلی گسترش دیواره سلولی و در نتیجه رشد سلولی محسوب می شوند(Pignocchi & Foyer, 2003) ۰این هورمون، هم با افزایش تقسیم سلولی و نیز با تحریک طویل شدن سلولی موجبات افزایش رشد گیاه را فراهم می آورند (Kaur, et al., 1998, Ouzounidou & Ilias, 2005)۰غنی ترین محل ژیبرلین در گیاهان، میوه ها، جوانه ها، برگهای جوان و نوک ریشه هاست۰ هرچند که ریشه ها یکی از منابع غنی ژیبرلین در گیاه هستند ولی این هورمون ها از نظر تشدید رشد ریشه اثری ندارند و از ریشه به سایر اندام های گیاه منتقل می شوند(فهیمی، ۱۳۸۷)۰در بر همکنش متقابل این دو هورمون ،از طریق افزایش بیوسنتز ژیبرلین منجر به افزایش رشد طول دانه رست نیز می شود.

تیمار با ژیبرلین موجب افزایش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز شد، به طوری که در بالاترین سطح ژیبرلین (۱۰۰ میکرومولار) فعالیت این دو آنزیم به

Archive of SID

www.SID.ir

حداکثر خود رسیده است و این افزایش در سطح($P<0/01$)معنی داراست(نمودارهای۱۴و۱۷)۰این داده ها با نتایج Vitoria **و** همکاران در سال ۲۰۰۳ **مطابقت دارد.آنها گزارش کرد ند که** افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان ناشی از کاربرد GA_3 می تواند ناشی از افزایش القای رونویسی ژن و سنتز پروتئین آنزیم و یا به واسطه تغییرات پس از ترجمه ای پروتئین های آنزیم های موجود باشد. همچنین گزارش شده است که GA_3 با تأثیر مثبت بر جذب مواد معدنی در تأمین کوفاکتورهای ضروری در آنزیم های آنتی اکسیدان نقش اساسی ایفا نموده و از این طریق در افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان نقش داشته است(Panou-Philtheo, et al., 2002)۰ ژیبرلین باعث افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در گیاهان عدس می شود(برزین، ۱۳۸۷).

به تدریج با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید نسبت به شاهد کاهش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز مشاهده شد (نمودارهای ۱۳و۱۶) .که با نتایج مداح در سال ۱۳۸۴و Srivastava در سال ۲۰۰۱همسو می باشد. نتایج مداح در سال۱۳۸۴ نشان داد،غلظت بالای سالیسیلیک اسید در ساقه همانند عامل تنش زا عمل نموده است و در نتیجه آن فعالیت آنزیم های ضد تنش اکسیداتیو مانند پراکسیداز و کاتالاز افزایش یافته است۰ گیاهان از آنزیم های آنتی اکسیدانت برای افزایش تحمل در برابر تنش اکسیداتیو استفاده می کنند۰ مهار فعالیت پراکسیداز در نخودفرنگی تحت تیمار سالیسیلیک اسید توسط Srivastava در سال ۲۰۰۱ گزارش شد۰ سالیسیلیک اسید یک ترکیب فنلی شبه هورمون می باشد که به عنوان یک تنظیم کننده ی داخلی نقش مهمی را در مکانیسم های دفاع در برابر تنش های زنده و غیر زنده بازی می کند(Szalai,etal,2000). همچنین آنزیم های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز، آنزیم های مسئول برای اکسیداسیون ترکیبات فنلی هستند(Sheen & Calvert, 1969)۰ افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت می تواند ناشی از افزایش القای رونویسی ژن و سنتز پروتئین آنزیم و یا به واسطه تغییرات پس از ترجمه (Post translation) پروتئین های آنزیم های موجود باشد(Vitoria, et al., 2001)۰ و نیز در برهم کنش متقابل ژیبرلین و سالیسیلیک اسید، کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز نسبت به شاهد مشاهده می شود(نمودارهای۱۵و۱۸).

منابع

۱-برزین ،گ. (۱۳۸۷)بررسی اثرات متقابل اسید ژیبرلیک و پتاسیم بر جوانه زنی بذر و برخی فرایند های فیزیولوژیک در مراحل رشد عدس ۰پایان نامه دکتری ، دانشگاه آزاداسلامی، واحد علوم وتحقیقات ۰

۲-فهیمی ،ح۰ (۱۳۸۷)تنظیم کننده های رشد گیاهان چاپ اول ، موسسه انتشارات ،چاپ دانشگاه تهران۰

۳-مداح، م۰ (۱۳۸۴) اثر بررسی سالیسیلیک اسید بر برخی جنبه های رشد و نموی ، تکوینی ، عملکرد و مقاومت گیاه نخود فرنگی *Cicer arietinua* در شرایط طبیعی و کشت در شیشه (in vitro)۰ پایان نامه ی دکتری۰ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات۰

4-Aydemir, T.(2004) Partial purification and characterization of polyphenol oxidase from artichoke(*Cynara scolymus* L.)heads. *FoodChemistry* , **87**: 59–67.

Biles,C.,Abeles,F.(1991)Xylem sap proteins. *Plant physiol*,**96**:597-601. **5-**

6-El-Tayeb,M.A.(2005) Response of barley Gains to the interactive effect of salinity and salicylic acid.*Plant Growth Regulation***,** **45**:215-225.

7-Fariduddin, Q., Hayat S., Ahmad A.(2003) Salicylic acid influences net photosynthetic rate,carboxylation efficiency, nitrate reductase activity and seed yield in *Brassica juncea*.*Photosynthetica***41**(2):281-284.

8-Hoagland,D.R.,Arnon,D.I.(1957) California agriculture experiment station .*Circular*, **347**:1-32.

9-Janda,T.,Szalai,G.,Tari,I.,Paldi,E.(1999) Hydroponic treatment with salicylic acid drecreases the effects of chilling injury in maize(*Zeamays*L.)plants.*Planta*,**208**:175-180

10-Kang,C.,Wang,Ch.(2003) Salicylic acid changes activities of H_2O_2 metabolizing enzymes and increases the chilling tolerance of *banana* seedlings. *Environment and Experimental Botany*,9-15.

Archive of SID

www.SID.ir

22-Pignocchi,C.,Foyer,C.H.(2003) Apoplastic ascorbate metabolism and its role in the regulation of cell signaling.Current Opinion. *Plant Biol,* **6**:379-389.

23-Popova,L.,Pancheva,T.,Uzunova,A.(1997) Salicylic acid:properties , biosynthesis and physiological role. *Rev.Plant Physiol*,85-93.

24- Popova, L., Ananieva, V., Hristova, V., Christov, K., Georgieva, K., Alexieva, V. and stoinova, Zh.(2003) Salicylic acid- and Methyl jasmonate- induced protection on photosynthesis to paraquat oxidative stress. Bulg. J. *plant physiol*., special issue, 133-152

25-Rajasekaran, L. R., Stiles, A., Surette, M.A.,Sturz, A.V., Blake, T. J., Caldwell, C. and Nowak, J.(2002) Stand Establishment Technologies for Processing Carrots: Effects of various temperatures regimes on germination and the role of Salicylates in promoting germination at low temperatures.*Canadian Jornal of Plant science*,**82**:443-450.

26-Raskin, I.(1992) Role of salicylic acid in plants. *Annu. Rev. plant physiol. Plant mol. Biol*,.439-463.

27Raymond,J.,Rakariyatham,N.,Azansa,J.L.(1993)Purification and some properties of polyphenol oxidase from sunflower seeds .*Phytochemistry*, **34**: 927-931.

28-Shah,J.(2003) The salicylic acid loop plant defense. *Current opinion in plant Biology*,**6**. 365-371.

29-Shakirova, F.M.(2003) Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by SA and salinity.*Plant science*,**164**:317-322.

30-Sheen,S.J.,Calvert ,J.(1969) Studies on polyphenol content activities and isoenzymes of polyphenol oxidase ,and peroxidase during air-curing in three tobacco types.*Plant Physiol*, **44:**199-204**.**

31-Srivasta,K.(2001) Shoot regeneration from immature cotyledons of *Cicer aretinum*. *Biology plantarum,* **44**:333-337.

Szalai,G.,Janda,T.,Paldi,E.(2000) Effects of cold acclimation and salicylic acid on changes in ACC and MACC contents in maize during chilling. *Bio Plant*,**43**:637-640.

32Vitoria,A.P.,Lea,P.J.,Azevedo,R.A.(2001) Antioxidant enzymes responses to cadmium in radish tissues.*Phytochemistry*,**57**:701-710.

11-Kaur,S.,Gupta,A.K.,Kaur,N.(2000) Effect of GA_3,kinetin and indole acetic acid on carbohydrate metabolism in chickpea seedlings germination under water stress. *Plant Growth Regul*, **30**:61-70.

12Kaur,S.,Gupta,A.K.,Kaur,N.(1998)a.Gibber ellic acid and kinetin partially reverse the effect of water stress on germination and seedling growth in chickpea.*Plant Growth Regul*, **25**:29-33.

13-Khan,N.A.,Mobin.,Samiullah.(2005). The influence of gibberellic acid and sulfur fertilization rate on growth and S-use efficiency of mustard (*Brassica juncea*). *Plant and Soil*,**270**:269-274.

14-Lopez, M.,Humara, J. M.,Casares, A. and Majada, J.(1999) The effect of temperature and water stress on laboratory germination of *Eucaliptus globulus* Labill.seeds of different sizes. *INRA, EDP sciences*, **57**: 245-250.

15-Maia,F.C.,Moraes,D.M.(2000) Salicylic acid:quality effects of soybean seeds.*Revista Brasileira de sementes*,**22**:264-270.

16-Matilla ,A.J., Matilla-Vazquez ,M.A.(2008) Involvement of ethylene in seed physiology.*Plant Science,***175**:87-97.

17-McCue .P., Zheng.Z.,Pinkham ,J.l., Shetty, K.(2000) A modle for enhanced pea seedling vigour following low pH and salicylic acid treatments.*process Biochemistry*,**35**:603-613.

18-Nanjo, N., Asatsuma, S., Itoh, K., Hori,H .,Mitsui,T ., Fujisawa,Y.(2004)

Posttranscriptional regulation of α-amylase II-4 expression by gibberellin in germinating rice seed *Plant Physiology and Biochemistry*, **42** :477–484

19-Nun,N.B., Plakhine,D., M. Joel,D., M.Mayer,A.(2003) Changes in the activity of the alternative oxidase in Orobanche seeds during conditioning and their possible physiological function. *Phytochemistry*, 64: 235–241

20-Ouzounidou,G.,Ilias,I.(2005) Hormone-induced protection of

sunflower photosynthetic apparatus against copper toxicity.*Biologia Plantarum*,**49**:223-228.

21-Panou-Philtheou,H.,Koukourikou-petridou,M.,Bosabalidis,

A.,Karataglis ,S.(2002)Relation of endogenous and applied gibberellins to growth and accumulation of essential elements in aregano plants grown in copper rich soils .*Adv.Hort .Sci*,**16**:63-71.

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir