بررسی اثر کاربرد همزمان اسید سالیسیلیک و روی بر شاخص‌های جوانه زنی و رشد رویشی گیاه ماش (*Vigna radiata* L.)

غزاله معصومی[۱]، مهرداد لاهوتی[۲] و هما محمودزاده[۳*]

۱) دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.
۲) استاد گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.
۳) دانشیار گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.

* نویسنده مسئول: **homa_mahmoodzadeh@yahoo.com**

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۶/۰۷ **تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۹/۱۰**

چکیده

اسید سالیسیلیک در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی مختلف و رشد و نمو گیاه نقش دارد. به‌منظور بررسی اثر سالیسیلیک اسید و عنصر روی بر صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاه ماش آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام شد. بذرهای ماش در گلدان‌های حاوی خاک زراعی کاشته شدند و پس از مرحله چهار برگی غلظت‌های مختلف روی(۰ ppm، ۱۰۰، ۲۰۰) و محلول پاشی اسید سالیسیلیک (۰ ppm، ۲۰۰، ۴۰۰) قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تنش روی، موجب کاهش معنی دار طول ریشه و اندام هوایی، وزن تر و خشک اندام هوایی و رنگدانه های فتوسنتزی، و افزایش معنی دار محتوی پرولین و فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز گردید. همچنین برهمکنش اسید سالیسیلیک و تنش روی، بر تمامی شاخص‌های اندازه‌گیری شده، به‌جز فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز و گایاکول پراکسیداز ازنظر آماری معنی‌دار بود. در این پژوهش تیمار با اسید سالیسیلیک باعث کاهش اثر کمبود روی و افزایش تحمل گیاه ماش گردید.

واژه‌های کلیدی: آنزیم آنتی اکسیدان، رنگدانه فتوسنتزی و پلی فنل اکسیداز.

Downloaded from cpj.iauahvaz.ac.ir at 15:42 IRST on Monday January 23rd 2017

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from cpj.iauahvaz.ac.ir at 15:42 IRST on Monday January 23rd 2017

مقدمه

فلزات سنگین اغلب به‌صورت آلاینده‌های محیطی مانند آلودگی‌های جوی، مراکز صنعتی، استفاده از فاضلاب‌های شهری و صنعتی به‌صورت برگشت‌ناپذیر وارد خاک می‌شوند. روی در غلظت‌های کم (ppm ۰/۵>) به‌عنوان یک عنصر میکرو برای گیاهان عمل می کند، اما در غلظت‌های بالاتر سمی است. مقدار آن در خاک به طور متوسط ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم می‌باشد. روی یک فعال کننده آنزیمی برای چندین آنزیم سلول‌های گیاهی مانند انیدراز، دهیدروژناز، اکسیداز و پراکسیدازهاست و نقش مهمی درتنظیم متابولیسم نیتروژن، تقسیم سلولی و فتوسنتز ایفا می‌کند. اولین علامت ظهور سمیت در بیشتر گونه ها، کلروز عمومی برگ‌های جوان می‌باشد و در موارد شدید برگ‌های جوان به‌دلیل تولید آنتوسیانین قرمز رنگ می شوند (Nagajyoti *et al.*, 2010).

فلزات سنگین توسط گیاهان جذب شده و در بافت‌های آن‌ها تجمع می‌یابند و اغلب به دو صورت باعث سمیت می-شوند: ۱- به‌صورت غیرمستقیم از طریق رقابت با سایر عناصر غذایی ضروری و قرارگیری به جای آن‌ها در ساختمان رنگدانه‌ها یا آنزیم‌ها و تخریب عملکرد آن‌ها. Subba و همکاران در سال (۲۰۱۴) مشاهده کردند غلظت‌های بالای Zn منجر به کاهش چشمگیر فتوسنتز و رنگدانه‌های فتوسنتزی شد (Subba *et al.*, 2014). ۲- مستقیم با تخریب ساختار سلول، حضور فلزات سنگین باعث ایجاد تنش اکسیداتیو می‌شود که به نوبه خود باعث ایجاد اثر سمی مختلف در گیاهان نظیر کاهش رشد، کاهش محتویات کلروفیل و فتوسنتز، مهار فعالیت‌های آنزیمی، آسیب به مولکول‌های زیستی نظیر لیپیدها، پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها به ویژه DNA می‌گردد (Nagajyoti *et al.*, 2010; Ahmad *et al.*, 2012). سالیسیلیک اسید (SA) یا اورتو هیدروکسی بنزوئیک اسید ($C_2H_6O_3$) به گروهی از ترکیبات فنلی تعلق دارد که به‌عنوان یک مولکول مهم برای تعدیل پاسخ‌های گیاه به تنش‌های محیطی شناخته شده است (Drazic and Mihailovic, 2005). سالیسیلیک اسید به‌وسیله سلول‌های ریشه تولید می شود و نقش به سزایی درفرایندهای فیزیولوژیکی مانند رشد و نمو گیاه، سرعت رشد و جذب یون‌ها، فتوسنتز (EL-Tayeb, 2005) و جوانه زنی (دولت آبادیان و همکاران، ۱۳۸۷) دارد.

اثر سالیسیلیک اسید در جلوگیری از تنش‌های زیستی(Belkhadi *et al.*, 2010) غیر زیستی مثل UV، خشکی، شوری، گرما، سرما و فلزات سنگین نیز مورد توجه قرار گرفته است (Tasgi *et al.*, 2003). این ماده با اثر روی متابولیت-هایی مانند آسکوربیک اسید، گلوتاتیون و نیز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز آثار سمی ناشی از تنش را کاهش می دهد. هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی اثر کاربرد همزمان اسید سالیسیلیک و عنصر روی بر شاخص‌های جوانه زنی و رشد رویشی گیاه ماش است.

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from cpj.iauahvaz.ac.ir at 15:42 IRST on Monday January 23rd 2017

مواد و روش ها

این پژوهش به‌منظور بررسی اثر اسـید سالیـسیلیک و عنصر روی بر صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاه ماش (*Vigna radiata* L.) رقم گوهر به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در فیتوترون دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد در سال ۱۳۹۳ انجام شد. عوامل آزمایش شامل غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک در سه سطح (۰ppm، ۱۰۰،۲۰۰) و محلول نیترات روی به‌عنوان منبع تامین‌کننده روی با سه سطح (۰،۲۰۰،۴۰۰ppm) بود. هر واحد آزمایش شامل یک گلدان یک کیلوگرمی حاوی خاک زراعی بود. گلدان‌ها ابتدا آبیاری گردیدند و پس از گذشت سه روز و اطمینان از خروج آب اضافی تعداد ۱۲ عدد بذر در هریک از آن‌ها کشت شد. پس از حصول اطمینان از جوانه زنی و استقرار گیاهچه در مرحله دوبرگی، اقدام به تنک گیاهچه‌های اضافی شد و در هر گلدان تعداد هشت گیاهچه جهت اعمال تیمارهای آزمایش باقی گذاشته شد. برگ‌های نشاءهای گیاهی ده روز بعد از کاشت بذور در خاک با اسید سالیسیلیک اسپری و سپس با نیترات روی محلول پاشی شدند.

اعمال تیمار هر ده روز و در سه نوبت انجام شد. سپس گیاهان برداشت شدند و با دقت با آب مقطر شستشو شدند و برخی صفات مورفولوژیکی مانند وزن تر و خشک بخش هوایی توسط ترازوی آزمایشگاهی Sartorius TE214S با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم انجام و سپس طول ریشه و ساقه توسط خط کش میلی‌متری اندازه‌گیری شد. صفات فیزیولوژیکی شامل میزان کلروفیل و کاروتنوئید کل برگ و صفات بیوشیمیایی شامل میزان پرولین برگ، فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز و گایاکول پراکسیداز برگ اندازه‌گیری شد.

سنجش کلروفیل

۰/۲ گرم از بافت برگ با استن ۸۰ درصد به‌تدریج ساییده تا کلروفیل وارد محلول استنی شده و در نهایت حجم محلول با استن هشت درصد توسط بالن ژوژه به ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. محلول حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ و سپس جذب نوری در طول موج‌های ۶۴۶، ۶۵۲، ۶۶۳، ۴۴۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر مدل UV1100 اندازه گیری شد. مقدار کلروفیل طبق فرمول های Arnon برای تخمین میزان کلروفیل a، b، a+b و کاروتنوئید به‌دست آمد (Arnon,1956).

رابطه ۱) $Chla\ (mg/\ gFW)= (12.25A\ (663)- 2.55A\ (646))\times V/W\times 1000$

رابطه ۲) $Chlb\ (mg/\ gFW)= (22.31A\ (646)- 4.91A(663))\times V/W\times 1000$

رابطه ۳) $Chl\ a+ b\ (mg/gFW)= (17.76A\ (646)+ 7.34(663))\times V/W\times 1000$

رابطه ۴) $Car\ (mg/\ gFW)= (4.96\ (440)- 0.267\ (chla+ b)\times V/W\times 1000$

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from cpj.iauahvaz.ac.ir at 15:42 IRST on Monday January 23rd 2017

سنجش پرولین

۰/۵ گرم از بافت تر در ۱۰ میلی‌لیتر محلول اسید سولفوسالیسیلیک ۳٪ ساییده و مخلوط همگنی تهیه شد و عصاره صاف شد. دو میلی‌لیتر اسید استیک و دو میلی‌لیتر ناین هیدرین به دو میلی‌لیتر عصاره صاف شده فوق، اضافه شد. محلول حاصل به‌مدت یک ساعت در حمام آب و در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرارداده شد. پس از آن برای پایان یافتن واکنش، لوله‌های آزمایش در داخل یک بستر یخی قرارگرفته و چهار میلی‌لیتر تولوئن به هر لوله اضافه گردید. غلظت پرولین نمونه-ها در تولوئن با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل UV1100 در طول موج ۵۲۰ نانومتر و در نهایت با توجه به منحنی استاندارد حاصل از غلظت‌های مختلف پرولین، برحسب میلی‌گرم در گرم وزن تر به روش Bates (۱۹۷۳) محاسبه شد.

سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز

برای سنجش گایاکول پراکسیداز از بافت تازه برگی به مقدار ۰/۱ گرم استفاده شد و سنجش به‌روش Mae-Adam و Nelson و Mae-adam (۱۹۹۲) انجام شد. به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم به عصاره آنزیم سه میلی‌لیتر محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH= ۶/۸ و ۵۰ میکرولیتر گایاکول و سپس ۵۰ میکرولیتر هیدروژن پراکسید سه درصد اضافه شد و بلافاصله تغییرات جذب نوری در طول موج ۴۳۶ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل UV1100 در فواصل زمانی ۱۵ ثانیه به‌مدت سه دقیقه ثبت گردید.

سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز

اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم به‌روش ریموند Raymond و همکاران (۱۹۹۳) انجام گرفت. ابتدا تعدادی لوله آزمایش در حمام آب ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس به هر لوله ۲/۵ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات ۰/۲ مولار با pH برابر ۶/۸ افزوده شد. بعد به آن ۰/۲ میلی‌لیتر پیروگالل ۰۲ /۰ مولار اضافه شد تا دمای لوله ها به ۴۰ درجه سانتی‌گراد برسد. سپس به هر لوله ۲ میلی لیتر عصاره آنزیمی افزوده شد و تغییرات جذب در طول موج ۴۳۰ نانومتر در فاصله زمانی۴ دقیقه ثبت شد. میزان فعالیت آنزیم براساس تغییرات جذب در ۴۳۰ نانومتر در دقیقه (Unit) درمیلی‌گرم پروتئین بیان گردید (Raymond *et al* ,1993). برای انجام تجزیه و تحلیل آماری داده ها از نرم افزار آماری SPSS استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون دانکن درسطح احتمال پنج درصد صورت گرفت و شکل ها با استفاده از نرم افزار Excel رسم شد.

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from cpj.iauahvaz.ac.ir at 15:42 IRST on Monday January 23rd 2017

نتایج و بحث

اثر اسید سالیسیلیک و عنصر روی برصفات مورفولوژیکی گیاه ماش

نتایج تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که عنصر روی اثر معنی داری بر صفات مورفولوژیکی گیاه ماش شامل طول بخش هوایی و ریشه و وزن تر و خشک بخش هوایی داشت (جدول ۱). برهمکنش اسید سالیسیلیک و تنش روی نیز بر صفات مذکور اثر معنی داری داشت.

جدول ۱: میانگین مربع‌های مربوط به صفت‌های مورفولوژیکی اندازه‌گیری شده در ماش در شرایط اسیدسالیسیلیک و روی

منابع تغییرات	درجه آزادی	طول بخش هوایی	طول ریشه	وزن تر بخش هوایی	وزن خشک بخش هوایی
روی	۲	۱۵۰/۲۰۸*	۱۹۶۱/۷۶۷*	۰/۴۲۲*	۰/۰۰۰*
اسیدسالیسیلیک	۲	۱۲۷۵/۵۱۷*	۱۰۳۱/۲۱۷ns	۰/۵۷۱ns	۳/۸۸۹ns
اسیدسالیسیلیک × روی	۴	۶۴۶/۳۱۷*	۳۳۴/۸۱۷*	۱/۱۵۸*	۰/۰۰۲*
خطای آزمایش	۱۸	۳۲۷/۴۳۰	۴۸۶/۶۱۱	۰/۲۶۹	۰/۰۰۱*
ضریب تغییرات (درصد)	-	۲۰/۰۴	۲۱/۰۴	۲۲/۳۱	۱۹/۰۹

ns، *و ** : به ترتیب بیان‌گر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد و بر اساس آزمون دانکن می باشند.

افزودن غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک به گیاهانی که تحت ppm ۲۰۰ روی بودند، موجب افزایش معنی دار طول ساقه در مقایسه با گیاهانی شد که تحت روی با غلظت ppm ۲۰۰ بودند. در حالی‌که اضافه کردن اسید سالیسیلیک به گیاهان تحت تیمار روی با غلظت ppm ۴۰۰ افزایش معنی‌داری ایجاد نکرد. طول ریشه گیاه در تیمارهای روی (نیترات روی ppm ۲۰۰ و۴۰۰) نسبت به شاهد کاهش نشان داد که از نظر آماری معنی‌دار بود. افزودن اسید سالیسیلیک با غلظت های ppm۲۰۰ و ۴۰۰ به گیاهان تحت تیمار روی موجب افزایش معنی‌دار طول ریشه در مقایسه با گیاه در شرایط تنش روی گردید. تیمارهای نیترات روی باعث افزایش معنی دار وزن تر بخش هوایی گیاهان ماش در مقایسه با شاهد شدند. اضافه کردن غلظت های اسید سالیسیلیک درتمامی تیمارها سبب افزایش معنی دار وزن تر در مقایسه با گیاهان تحت تیمار روی گردید. در مورد وزن خشک، غلظت‌های مختلف روی موجب کاهش معنی دار این فاکتور در مقایسه با شاهد شد. افزودن اسید سالیسیلیک با غلظت های مختلف به گیاهان تحت تیمار روی افزایش معنی داری در وزن خشک گیاهان ایجاد کرد (شکل ۲). فلزات سنگین از جمله روی به‌وسیله مهار تقسیم سلولی و یا کاهش گسترش سلولی در ناحیه طویل شدن و یا هر دو آن‌ها سبب کاهش طول ریشه می شوند (Nalilni and Chandra , 2002; Mukhopadhyay *et al.*, 2013, 2014). نظیر چنین پدیده ای را در ساقه‌ها به‌خصوص در ناحیه مریستمی می‌توان مشاهده کرد که علاوه بر

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from cpj.iauahvaz.ac.ir at 15:42 IRST on Monday January 23rd 2017

کاهش قدرت تقسیم، خاصیت الاستیکی سلول‌ها و غشای آن‌ها نیز کاهش می یابد (Mohanty *et al*., 1989). در رابطه با اثر اسید سالیسیلیک بر پارامترهای رشد گزارش‌های متعددی وجود دارد، ازجمله گزارش شده است که اسید سالیسیلیک کاهش رشد ناشی از فلزات سنگین را بهبود می بخشد (Pal *et al*., 2002 ; طویلی و همکاران، ۱۳۹۲). افزایش طول ریشه در تیمار اسید سالیسیلیک در مقایسه با گیاه در شرایط تنش روی به این دلیل است که اسید سالیسیلیک تقسیم سلولی را درون مریستم راسی گیاهچه افزایش می دهد و از این طریق رشد گیاه را بهبود می‌بخشد.

اثر اسید سالیسیلیک و عنصر روی برصفات فیزیولوژیکی ماش

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمار روی بر میزان کلروفیل a، b ,a+b وکاروتنوئید معنی‌دار بود ($p<0.05$). اثر برهمکنش اسید سالیسیلیک و عنصر روی نیز در تمام تیمارها معنی‌دار بود (جدول ۲).

جدول ۲: میانگین مربع‌های مربوط به رنگیزه‌های فتوسنتزی اندازه‌گیری شده در ماش در شرایط اسید سالیسیلیک و روی

منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a (میلی‌گرم درگرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی‌گرم درگرم وزن تر)	کلروفیل a+b (میلی‌گرم درگرم وزن تر)	کاروتنوئید (میلی‌گرم درگرم وزن تر)
عنصر روی	۲	۰/۰۸۱*	۰/۰۰۹*	۰/۱۴۰*	۰/۰۲۶*
اسیدسالیسیلیک	۲	۰/۰۷۹*	۰/۰۲۲ns	۰/۱۵۲*	۰/۰۲۷*
اسیدسالیسیلیک × عنصر روی	۴	۰/۰۱۴*	۰/۰۰۲*	۰/۰۰۶*	۰/۰۰۵*
خطای آزمایش	۱۸	۰/۰۱۲	۰/۰۰۷	۰/۰۱۲	۰/۰۰۲
ضریب تغییرات (درصد)	-	۲۲/۱۴	۲۰/۱۱	۱۸/۳۶	۲۳/۰۷

ns.* و **: به‌ترتیب بیان‌گر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد و بر اساس آزمون دانکن می باشند.

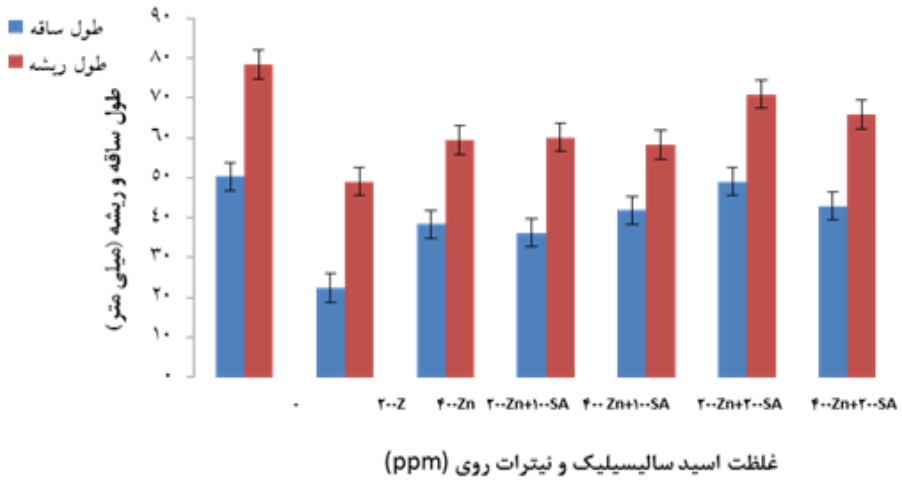
با توجه به شکل‌های ۳ و ۴ مشاهده می‌شود میزان کلروفیل a، b، a+b و کاروتنوئید برگ گیاه ماش در تیمارهای مختلف روی (۲۰۰ ppm و ۴۰۰ نیترات روی) کاهش یافت و این کاهش در تمامی موارد در مقایسه با شاهد معنی‌دار بود. افزودن مقادیر مختلف اسید سالیسیلیک به گیاهان در شرایط تیمار روی موجب افزایش فاکتورهای فوق گردید که در تمام موارد در مقایسه با گیاهان در شرایط تیمار روی تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید. کاهش میزان کلروفیل می تواند به‌واسطه کاهش سنتز کلروفیل و همچنین ناشی از تخریب آن باشد. تخریب مولکولی کلروفیل به‌علت جداشدن زنجیره فیتولی از حلقه پورفیرین در اثر رادیکال‌های آزاد اکسیژن و یا آنزیم کلروفیلاز صورت می گیرد (Parvaiz and Satyawati, 2008). کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک در تیمار روی زیاد باعث افزایش کلروفیل a+b شد. گزارش شده است که کاهش میزان کلروفیل برگ در شرایط تنش به‌دلیل عدم تعادل یون‌ها (از قبیل آهن و روی) نیز می تواند باشد. آهن از جمله مهم‌ترین عناصر در مسیر بیوسنتز کلروفیل می باشد، بنابراین تنش به‌طور غیرمستقیم بر بیوسنتز کلروفیل

Archive of SID

www.SID.ir

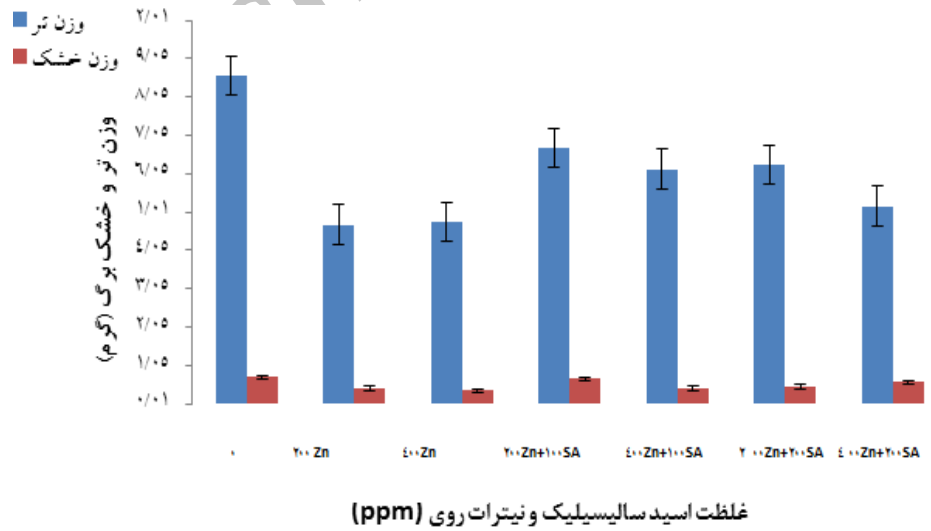
Downloaded from cpj.iauahvaz.ac.ir at 15:42 IRST on Monday January 23rd 2017

اثر می‌گذارد (kang and Saltveit., 2002). کاروتنوئیدها ترپن‌های ۴۰ کربنه‌ای هستند که در پلاست بافت‌های گیاهی حضور داشته و در تنش‌های محیطی نظیر تنش اکسیداتیو، حفاظت از بافت‌های فتوسنتزی به‌خصوص کلروفیل‌ها را به‌عهده دارند. فلزات سنگین در غلظت‌های بالا از طریق تخریب و بهم ریختگی ساختار کاروتنوئید مقدار آن‌ها را در گیاه کاهش می دهند (Candan *et al*., 2003) .



شکل ۱: برهمکنش سطوح مختلف عنصر روی و اسید سالیسیلیک بر طول ساقه و ریشه برگ گیاه ماش

Zn و SA: به‌ترتیب بیان‌گر روی و اسید سالیسیلیک می باشد.

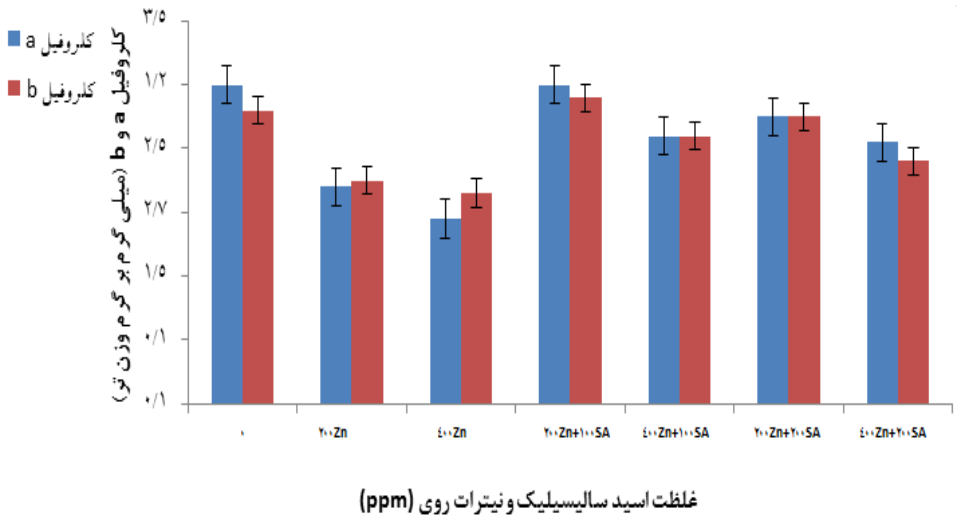


شکل ۲: برهمکنش سطوح مختلف عنصر روی و اسید سالیسیلیک بر میزان وزن تر و خشک برگ گیاه ماش

Zn و SA: به‌ترتیب بیان‌گر روی و اسید سالیسیلیک می باشد.

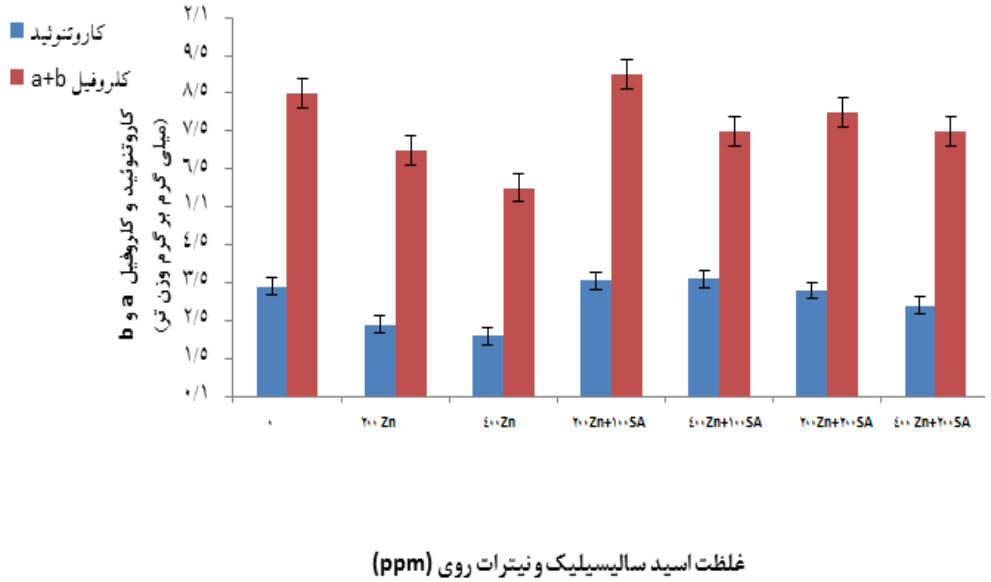
www.SID.ir

Downloaded from cpj.iauahvaz.ac.ir at 15:42 IRST on Monday January 23rd 2017



شکل ۳: برهمکنش سطوح مختلف عنصر روی و اسید سالیسیلیک برمیزان کلروفیل a وb برگ گیاه ماش

Zn و SA: به‌ترتیب بیان‌گر روی و اسید سالیسیلیک می باشد.



شکل ۴: برهمکنش سطوح مختلف عنصر روی و اسید سالیسیلیک بر میزان کاروتنوئید و کلروفیل a+b برگ گیاه ماش

Zn و SA: به‌ترتیب بیان‌گر روی و اسید سالیسیلیک می باشد.

www.SID.ir

Downloaded from cpj.iauahvaz.ac.ir at 15:42 IRST on Monday January 23rd 2017

اثر اسید سالیسیلیک و عنصر روی برصفات بیوشیمیایی ماش

نتایج تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی ماش نشان داد که اثر عنصر روی بر تمامی صفات بیوشیمیایی به‌جز فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۳). برهمکنش اسید سالیسیلیک و عنصر روی نیز در تمام موارد به‌جز فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز، معنی دار بود (جدول ۳). با اضافه کردن غلظت ppm ۲۰۰ اسید سالیسیلیک در گیاهان تحت تیمار روی کاهش معنی داری در میزان پرولین برگ گیاه ماش در مقایسه با گیاهان درشرایط تیمار روی به وجود آمد (شکل ۵). اسیدآمینه پرولین که تحت شرایط تنش‌زا مانند تنش فلزات سنگین در سلول‌های گیاهی تجمع می‌یابد، به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی مطرح می‌گردد. در حقیقت پرولین به‌دلیل نقش‌های محافظتی که در سلول ایفا می کند، در شرایط تنش‌های محیطی می‌تواند گیاه را از آسیب‌های احتمالی حفظ کند. درسلول‌های تحت تنش، پرولین سبب محافظت سلول و ممانعت از ایجاد سمیت درسلول می شود (Boyoumi *et al*., 2010). اسید سالیسیلیک به‌عنوان کاهش‌دهنده محتوای پرولین درون سلولی شناخته شده است (Hayat *et al*., 2010).

جدول ۳: میانگین مربع صفات بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در ماش درشرایط اسید سالیسیلیک و روی

منابع تغییرات	درجه آزادی	پرولین (میکرومولار درگرم وزن تر)	فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (میکرومولار درگرم وزن تر)	فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (میکرومولار درگرم وزن تر)
تنش روی	۲	۲۵۸/۲*	۲۵۷/۱ ns	۰۴۸/۰*
اسیدسالیسیلیک	۲	۴۹۴/۱۱*	۱۷۱/۰ ns	۰۳۴/۰*
اسیدسالیسیلیک × تنش روی	۴	۱۹۳/۱۱*	۲۹۵/۰ ns	۰۰۸/۰ ns
خطای آزمایش	۱۸	۴۱۴/۱	۲۴۸/۰	۰۱۰/۰
ضریب تغییرات (درصد)	-	۲۱/۱۹	۲۱/۰۱	۲۰/۰۲

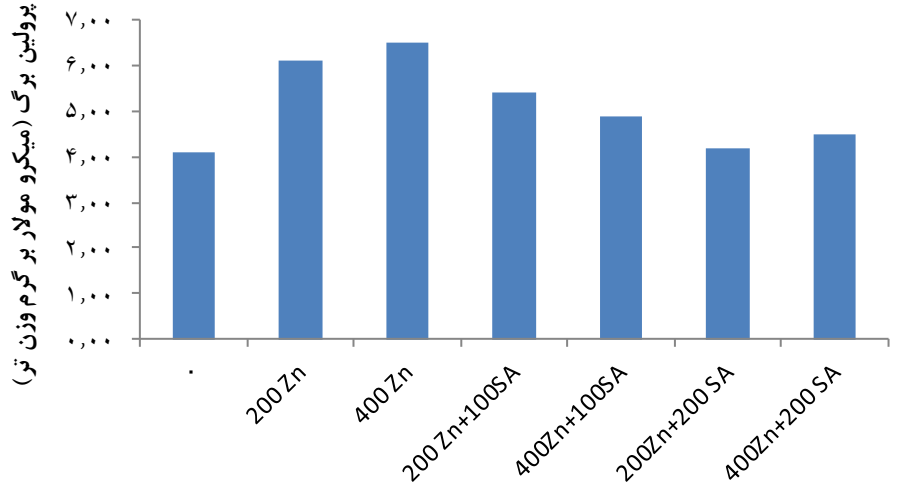
ns،* و **: به‌ترتیب بیان‌گر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می باشند.

در تیمارهای روی (نیترات روی ppm ۲۰۰ و۴۰۰) میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در برگ گیاه ماش در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش یافت، ولی این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. با اضافه کردن غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک در گیاهان تحت تیمار روی فعالیت این آنزیم کاهش یافت که از نظر آماری معنی دار نبود. آنزیم گایاکول پراکسیداز (*GPOX*) با فعالیت آنتی‌اکسیدانی خود باعث خنثی‌سازی و کاهش انواع اکسیژن فعال می‌شود (Ashraf and Harris, 2004;Mittle, 2002). درشرایط تنش، معمولا فعالیت آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز، اسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز تحریک می شود (Mishera *et al*., 2006).

Archive of SID

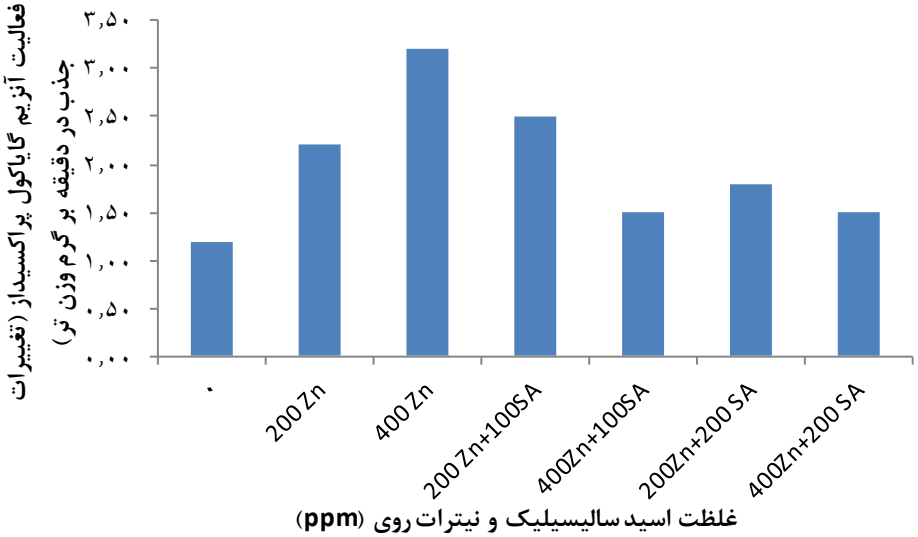
www.SID.ir

Downloaded from cpj.iauahvaz.ac.ir at 15:42 IRST on Monday January 23rd 2017



شکل ۵: برهمکنش سطوح مختلف عنصر روی و اسید سالیسیلیک بر میزان پرولین برگ گیاه ماش

Zn و SA: به‌ترتیب بیان‌گر روی و اسید سالیسیلیک می باشد.



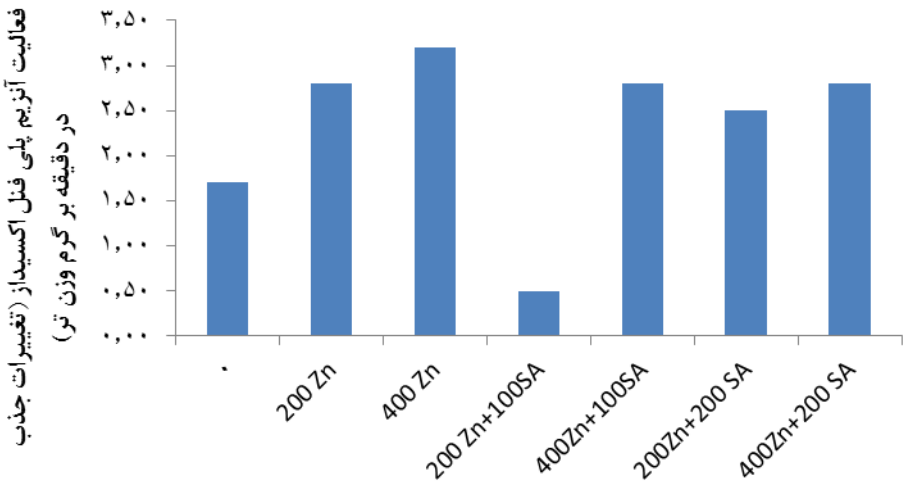
شکل ۶: برهمکنش سطوح مختلف عنصر روی و اسید سالیسیلیک برفعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز برگ گیاه ماش

Zn وSA: به‌ترتیب بیان‌گر روی و اسید سالیسیلیک می باشد.

در تحقیق حاضر نیز افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در تنش روی مشاهده گردید. نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد تیمار ppm ۴۰۰ نیترات روی سبب افزایش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز بخش هوایی در مقایسه با

www.SID.ir

گیاهان شاهد شدکه از نظر آماری معنی‌دار بود. با اضافه کردن غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک (۱۰۰ppm و ۲۰۰) به گیاهان تحت تیمار روی کاهش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز مشاهده شد که از نظر آماری معنی‌دار نبود.



شکل ۷: بر همکنش سطوح مختلف عنصر روی و اسید سالیسیلیک برفعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز برگ گیاه ماش

Zn و SA: به‌ترتیب بیان‌گر روی و اسید سالیسیلیک می باشد.

افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان یکی از ساز و کارهای سمیت‌زدایی فلزات سنـگین در گیاهان است (Shanker *et al.*, 2004). تیمار نیترات روی موجب القاء تنش اکسیداتیو در گیاهان شده که باعث افزایش ترکیبات ROS می شود. در این شرایط فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند پراکسیداز و کاتالاز افزایش می یابد (Hayat *et al.*, 2010). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تولید شده به وسـیله سلول های گیاهی شامل گایاکول پراکسـیداز و پلی فنل اکسـیداز سـبب حفاظت سلول و مقـاومت در برابر شرایط تنش در گیاه می شوند (Mittle, 2002) .

نتیجه گیری

به‌طور کلی، نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد اسید سالیسیلیک بر رشد رویشی گیاه مـاش در شـرایط تیمـار روی در اکثر موارد اثر مثبت داشته است. این اثر به‌ویژه در تیمارهای بالای تنش روی بیش تر قابل توجه بود، به‌طوری که تیمار بـا غلظت ppm ۲۰۰ اسید سالیسیلیک باعث کاهش اثر سوء تنش روی و افزایش تحمل گیاه ماش گردیـد. بنـابراین توصـیه می شود که از غلظت های بالاتر از ۱۰۰ppm اسید سالیسیلیک در مرحله چهار برگی گیاه استفاده گردد.

Downloaded from cpj.iauahvaz.ac.ir at 15:42 IRST on Monday January 23rd 2017

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from cpj.iauahvaz.ac.ir at 15:42 IRST on Monday January 23rd 2017

سپاسگزاری

وظیفه خود می‌دانیم که از مسئولان محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد که ما را در انجام این پژوهش یاری نمـوده اند، کمال تشکر و قدردانی را داشته باشیم.

منابع

دولت‌آبادیان، آ.، مدرس ثانوی، ع.، اعتمادی، ف. ۱۳۸۷. اثر پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک بر جوانه‌زنی بـذر گنـدم (*Triticum aestivum* L.) در شرایط تنش شوری، مجله زیست شناسی ایران، ۲۱ (۴): ۷۰۲-۶۹۲.

طویلی، ع.، صابری، م.، شهریاری، ع. و حیدری، م. ۱۳۹۲. بررسی اثر پیش تیمار سالیسیلیک اسید بر *Bromus tomentellus* Bioss. در شرایط تنش کادمیوم، مجله پژوهش‌های گیاهی، ۲۶(۲):۲۰۸- ۲۱۶.

Ahmed, A. H. H., Khalil M. K., Abd El-Rahman A. M. and Nadia A. M. H. 2012. Effect of zinc, tryptophan and indole acetic acid on growth, yield and chemical composition of valencia orange trees. Journal of Applied Science and Research, 8: 901–914.

Ashraf, M. and Harris, D. J. C. 2004. Potentioal biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Science, 166: 03-16.

Arnon, D. J. 1956. Chlorophyll absorption spectrum and quantitative determination. Biochemical and Biophysical Acta 20: 449-461.

Bayoumi, T., Eid, M. H., and Metwali, E. 2010. Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes. African Journal of Biotechnology 7: 2341-2352.

Bates, I., Waldern, R. P. and Teare, I. D. 1973. Rapid determination of free prolin for water stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207.

Belkhadi, A., Hediji, H., Abbes, Z., Nouairi, I., Barhoumi, Z., Zarrouk, M., Chaibi, W. and Djebali, W. 2010. Effects of exogenous salicylic acid pre-treatment on cadmium toxicity and leaf lipid content in *Linum usitatissimum* L.. Ecotoxicology and Environmental Safety 1-8.

Candan, N., Tarhan, L. 2003. Change in chlorophyll–carotenoid contents, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in Zn–stressed *Mentha pulegium*. Turkish Journal of Chemistry 27:21-30.

Drazic, G. and Mihailovic, N. 2005. Modification of cadmium toxicity in soybean seedlings by salicylic acid. Plant Physiology 168: 511-517.

EL-Tayeb, M.A., 2005 . Response of barley grains to the interactive effect of Salinity and Salicylic acid . Plant Growth Regulation. 45: 215-225.

Hayat, Q., Hayat, S., Irfan, M. and Ahmad, A. 2010. Effect of exogenous Salicylic acid under changing environment: Areview. Environmental and Experimental Botany. 68: 14-25.

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from cpj.iauahvaz.ac.ir at 15:42 IRST on Monday January 23rd 2017

Kang, H. M., and Saltveit, M. E. 2002. Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedlings leaves and roots are differently affected by salicylic acid. Physiol. Plantarum. 115: 571-576.

Mae-Adam, J.W. and Nelson Sharp, C. J. 1992. Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fese ue. Journal of Plant Physiology 99: 872-878.

Mohanty, N., Vass, I., Demeter, S. 1980. Copper toxicity affects photosystem electron transport at QB. Plant Physiology. 90: 175- 179.

Mishra S., Srivastava S., Tripathi, P. D. 2006. Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Baccopa monnieri* L. Plant Physiology and Biochemistry. 44: 25-37.

Mittle, R. 2002. Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. Annual Review of Plant Science 7: 405-415.

Mukhopadhyay, M., Das, A., Subba, P., Bantawa, P., Sarkar, B., Ghosh, P. D. and Mondal, T. K. 2013. Structural, physiological and biochemical profiling of tea plants (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) under zinc stress. Biology Plant 57:474–480.

Mukhopadhyay, M. and Mondal, T. K. 2014. The physio-chemical responses of *Camellia* plants to abiotic stresses. Journal of Plant Science and Research. 1(1):105.

Nagajyoti, P. C., Lee, K. D., Sreekanth, T. V. M. 2010. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. Environmental Chemistry Letters. 8:199–216.

Nalilni, P., Chandra, P. S., 2002. Effect of heavy metals Co^{+2}, Ni^{+2} on growths and metabolism of cabbage. Plant Science. 163: 753- 758.

Pal, M., Szalai, Z., Horvath, E., Paldi, E., Janda, T. 2002. Effect of Salicylic acid during heavy metal stress. Acta Biology Szegediensis. 46(34): 119- 120.

Parvaiz, A. and Satyawati, S. 2008. Salt stress and Phyto-biochemical responses of plants. Plant Soil Environment 54: 89-99

Raymond, J., Rakariyatham, N. and Azanza, J. 1993. Purification and some properties of polyphenol oxidase from Sunflower seeds.Phytochemistry, 34(4):927-931.

Shanker, A., Djanaguiraman, M., Sudhagar, R., Jayaram, K., and Pathmanabhan, G. 2004. Expression of metallithionein 3-like protein m RNA in sorghum cultivars under chromium stress. Current Science- Bangalore 86,901-910.

Subba, P., Mahato, S., Bhutia, K., Mondal, T. and Ghosh, S. 2014. Zinc stress induces physiological, ultra-structural and biochemical changes in mandarin orange (Citrus reticulata Blanco) seedlings. Physiology and Molecular Biology of Plants. 20(4): 461–473.

Archive of SID

www.SID.ir