

تأثیر کلرید سدیم و سالیسیلیک اسید بر سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در گیاه ذرت (*Zea mays* L.)

نغمه مؤمنی^۱، محمد جواد آروین^۲، غلامرضا خواجه‌جویی‌نژاد^۱، فاطمه دانشمند^۳ * و بتول کرامت^۴
^۱ گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران
^۲ گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران
^۳ گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران ۴۶۹۷-۱۹۳۹۵، ج. ا. ایران
^۴ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

چکیده

تنش شوری در گیاهان، به تنش اسمزی، تنش اکسیداتیو و سمیت یونی منجر می‌شود. در این مطالعه، نقش سالیسیلیک‌اسید به عنوان تنظیم‌کننده رشد در کاهش تنش اکسیداتیو حاصل از تنش شوری در گیاه ذرت بررسی شد. تیمارهای سالیسیلیک‌اسید در سه سطح (شاهد، خیساندن بذر در آب، خیساندن بذر در محلول سالیسیلیک‌اسید ۰/۱ میلی‌مولار) و شوری در دو سطح (صفر و ۸۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) اعمال شد. در این گیاهان، تنش شوری سبب کاهش شاخص‌های رشد و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و نشت یونی شد. علاوه بر این، تنش شوری باعث کاهش محتوای مخزن آسکوربات و ترکیبات فنلی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز شد. در حالی که پیش‌تیمار سالیسیلیک‌اسید از طریق افزایش در مقدار آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی از جمله مخزن آسکوربات و ترکیبات فنلی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز، تنش اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپید و نشت یونی را کاهش داد. نتیجه کاهش تنش، در بهبود شاخص‌های رشد مشاهده شد. افزایش مقدار و فعالیت این آنتی‌اکسیدان‌ها نقش مؤثر آنها را در کاهش تنش اکسیداتیو و افزایش مقاومت گیاهان به تنش شوری و نقش سالیسیلیک‌اسید را در القای این مقاومت نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: تنش اکسیداتیو، تنش شوری، سالیسیلیک‌اسید، سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی

مقدمه

شوری، عدم تعادل مواد معدنی (سمیت عناصر یا کمبود آنها)، گرما و سرما از جمله مهم‌ترین عواملی هستند که تولید محصول را تحت تأثیر قرار می‌دهند. تنها ۱۰

عوامل محیطی متعددی بر رشد و نمو و در نهایت، تولید محصول در گیاهان تأثیر می‌گذارند. خشکی،

جاروب شدن و یا خنثی شدن آنها توسط آنزیم‌ها یا مولکول‌های آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی دارد (Yazici *et al.*, 2007). گیاهان برای مقابله با ROS دارای سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان هستند که شامل دو قسمت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان آنزیمی و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی است. در شرایط طبیعی بین میزان تولید ROS و فعالیت مکانیسم‌های از بین برنده ROS تعادل وجود دارد، اما در تنش‌های محیطی و زنده این تعادل به هم خورده، باعث تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شود (Abdul Jaleel *et al.*, 2009).

کاهش تنش اکسیداتیو و افزایش مقاومت به تنش‌های محیطی اغلب به سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی قوی مرتبط است. سالیسیلیک‌اسید (SA) یا ارتوهیدروکسی بنزوئیک‌اسید تنظیم‌کننده رشد است که ماهیت فنلی دارد و نقش مهمی در جذب و انتقال یون‌ها، میزان فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای ایفا می‌کند. سالیسیلیک‌اسید هورمونی درون‌زا (اندوژن) است که سنتز ترکیبات آنتی‌اکسیدان را طی تنش‌های زنده و محیطی تنظیم می‌کند (Senaratna *et al.*, 2000; Horvath *et al.*, 2007) و احتمال دارد که کاربرد برون‌زای آن نیز بتواند در کاهش تنش‌های زنده و محیطی نقش داشته باشد.

ذرت، گیاهی از خانواده غلات با دوره رشد نسبتاً کوتاه و عملکرد بالاست که در سطح جهانی از نظر میزان تولید در واحد سطح پس از گندم در رتبه دوم و از نظر سطح زیر کشت پس از گندم و برنج مقام سوم را به خود اختصاص داده است (Xu *et al.*, 2004). قدرت تطابق و سازگاری آن با شرایط اقلیمی گوناگون زیاد بوده، از محصولات عمده مناطق معتدل و نیمه

درصد از زمین‌های قابل کشت جهان رها از تنش‌های محیطی هستند (Orcutt and Nilsen, 2000). شوری و خشکی وسیع‌ترین عوامل ایجادکننده تنش در گیاهان در سطح جهان هستند. برای مثال، بیش از ۴۵ درصد از زمین‌های کشاورزی جهان به طور دائم یا مکرر تحت تأثیر خشکی هستند (در قسمتی از جهان که حدود ۳۸ درصد جمعیت جهان ساکن هستند) و قسمت وسیعی از کره زمین، بیش از 3×10^6 کیلومتر مربع یا تقریباً ۶ درصد کل زمین‌های قابل کشت جهان تحت تأثیر شوری قرار دارند. حدود یک سوم از زمین‌های کشاورزی جهان، به طور قابل ملاحظه‌ای شور هستند. سالانه حدود دو میلیون هکتار از زمین‌های کشاورزی جهان (حدود یک درصد) تبدیل به زمین‌های شوری می‌شوند که یا فاقد کارآیی برای تولید محصول می‌شوند و یا تولید محصول در آنها کاهش می‌یابد (Manchanda and Ashraf and Foolad, 2007; Garg, 2008). بنابراین، روز به روز از میزان زمین‌های مناسب برای کشاورزی کاسته می‌شود، در حالی که نیاز غذایی بشر روز به روز در حال افزایش است.

شوری به عنوان عاملی محیطی همه مراحل رشدونمو گیاه، از جوانه‌زنی تا تولید دانه و میوه را تا حدودی تحت تأثیر قرار می‌دهد. البته پاسخ گیاهان به شوری به نوع گیاه، مراحل نموی گیاه، شدت و مدت تنش بستگی دارد (Manchanda and Garg, 2008). تنش شوری تعادل بین تولید گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS) و از بین بردن آنها را به هم می‌زند. مقدار ROS در سلول بستگی به سرعت تولید شدن آنها، سرعت واکنش آنها با مولکول‌های هدف نظیر پروتئین‌ها، لیپیدها یا اسیدهای نوکلئیک، سرعت تجزیه،

کود اووره به شکل سرک به گلدان‌ها داده شد. شیوه و محاسبه مقادیر کودها با توجه به مساحت هر گلدان و مقدار کود مورد نیاز برای گیاه در شرایط مزرعه انجام شد.

بذر مورد استفاده از رقم ذرت هیبرید سینگل کراس ۷۰۴ (KSC704) از مرکز تحقیقات کشاورزی کرمان تهیه و در هر گلدان ۵ بذر سالم ضد عفونی شده با سم^۱ کاربوکسین تیرام به عمق ۳ تا ۵ سانتی متر کاشته شد و پس از ظهور گیاهچه در مرحله ۳ برگی به ۳ بوته^۲ تنک شد. آبیاری تا زمان اعمال تنش شوری به صورت یک روز در میان با توجه به ظرفیت مزرعه برای همه گلدان‌ها به طور یکسان انجام شد.

نخست طی چند آزمایش مقدماتی غلظت سالیسیلیک اسید و غلظت نمک و مدت زمان تیمار بهینه شد. سپس، این آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار انجام شد. عوامل مورد بررسی عبارتند از: شوری در دو سطح (صفر و ۸۰ میلی مولار) و سالیسیلیک اسید در سه سطح (شاهد، خیساندن بذر در آب، خیساندن بذر در محلول سالیسیلیک اسید ۰/۱ میلی مولار). برای پیش تیمار، بذرها به دو گروه تقسیم شدند: بذرها برای تیمار خیساندن بذر در آب به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر و سایر بذرها به مدت ۶ ساعت در محلول ۰/۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید خیسانده شدند. نسبت وزن بذر به حجم محلول ۱ به ۵ بود. زمان اعمال تنش شوری یک ماه پس از کشت گیاهان در مرحله ۶ برگی برای تیمارهای مورد آزمایش انجام شد. شیوه اعمال تنش با توجه به عصاره اشباع خاک در ۶ مرحله برای جلوگیری از وارد شدن شوک ناگهانی به گیاه و در هر مرحله به میزان

گرمسیری به شمار می‌رود. سهم ذرت در تأمین غذای انسان ۲۰-۲۵ درصد و در تغذیه دام و طیور ۶۰-۷۵ درصد و به عنوان ماده اولیه برای فرآورده‌های صنعتی در حدود ۵ درصد است. در چند سال گذشته اقدامات درخور توجهی برای توسعه تولید ذرت در کشور انجام شده است، به طوری که سطح زیر کشت ذرت دانه‌ای از ۶۰ هزار هکتار در سال ۱۳۷۱ با میانگین عملکرد ۴/۱ تن به ۳۵۴ هزار هکتار و میانگین ۷/۵ تن دانه در هکتار در سال ۱۳۸۶ رسیده است (مهراییان مقدم و همکاران، ۱۳۹۰). با وجود این، کماکان همه ساله مقادیر درخور توجهی ذرت دانه‌ای از خارج از کشور وارد می‌شود. بنابراین، انتظار می‌رود با استفاده از راهکارهای مناسب با توجه به شرایط اقلیمی مناطق مختلف کشور، افزایش تولید این محصول استراتژیک میسر شود. در این بررسی، نقش پیش تیمار سالیسیلیک اسید در کاهش تنش اکسیداتیو حاصل از تنش شوری در گیاه ذرت بررسی شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت گلخانه‌ای در گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۲۷ سانتی متری و با گنجایش ۸ کیلوگرم خاک انجام شد. خاک گلدان‌ها، شن و خاک مزرعه با نسبت ۳ به ۱ بود که پیش از پر کردن گلدان‌ها نخست شن شسته و خشک و سپس با خاک مزرعه که با استفاده از سرنده غربال‌گیری شده بود، مخلوط شد. برای تقویت خاک و تأمین عناصر مورد نیاز اولیه گیاه، ۹۲ گرم کود اووره، ۱۳۸ گرم کود سوپر فسفات تریپل و ۹۲ گرم کود سولفات پتاسیم به خاک گلدان‌ها اضافه و مخلوط شد. همچنین، در مرحله ۴ تا ۵ برگی مجدداً

لوله‌های آزمایش را به مدت ۲ ساعت درون حمام آب گرم با دمای ۳۲ درجه سانتیگراد قرار داده، میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها (EC_1) با استفاده از EC متر مدل Metrhom (ساخت سوئیس) اندازه‌گیری شد. سپس لوله‌های آزمایش در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو و پس از خنک شدن لوله‌ها تا ۲۵ درجه سانتیگراد، میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها (EC_2) مجدداً اندازه‌گیری شد و با فرمول زیر درصد نشت یونی محاسبه شد.

$$\text{درصد نشت یونی} = \frac{EC_1}{EC_2} \times 100$$

پراکسیداسیون لیپیدها

پراکسیداسیون لیپیدها با اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید (MDA) به روش Heath و Packer (۱۹۶۹) و اندازه‌گیری سایر آلدئیدها (پروپانال، بوتانال، هگزانال، هپتانال و پروپانال دی‌متیل استال) با روش Meirs و همکاران (۱۹۹۲) بررسی شد. برای اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید (MDA)، ۰/۲ گرم از بافت فریز شده گیاه (ساقه و برگ) با ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ g سانتیفریوژ شد. به یک میلی‌لیتر از محلول رویی حاصل، ۴ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک اسید (TCA) ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباریتوریک اسید (TBA) بود، اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد در حمام آب گرم حرارت داده شد، سپس بلافاصله در یخ سرد شد و دوباره مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ g سانتیفریوژ شد. شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل

۴۰۰ میلی‌لیتر محلول NaCl (۸۰ میلی‌مولار) برای هر گلدان انجام شد و برای گلدان‌های شاهد از آب مقطر استفاده شد. در مرحله سوم، اعمال تنش شوری از ۳ گلدان شاهدی که برای اندازه‌گیری هدایت الکتریکی (EC , Electrical Conductivity) در نظر گرفته شده بود، برای اطمینان از صحت شیوه اعمال تنش، EC خاک آنها اندازه‌گیری شد. همچنین، پس از برداشت گیاهان، خاک ۳ گلدان از گلدان‌های شاهد و گلدان‌های تحت تیمار شوری به طور تصادفی انتخاب و EC خاک آنها اندازه‌گیری شد.

برداشت گیاهان ۴ ماه پس از کاشت از سطح خاک انجام شد. پس از برداشت گیاهان، اندام هوایی آنها در نیتروژن مایع فریز و برای اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی در فریزر ۸۰- درجه سانتیگراد قرار داده شد و سپس شاخص‌های رشد، نشت یونی، پراکسیداسیون لیپیدها، مقدار آسکوربات، دهیدروآسکوربات و آسکوربات کل، مقدار ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز اندازه‌گیری شد.

شاخص‌های رشد

وزن تر اندام هوایی و ریشه گیاهان در گروه‌های تیماری مختلف اندازه‌گیری و بر حسب گرم گزارش شد.

نشت یونی

برای سنجش میزان آسیب به غشا، میزان نشت یونی از روش Ben Hamed و همکاران (۲۰۰۷) استفاده شد. ۰/۲ گرم از بافت سالم و تازه اندام هوایی گیاه را پس از شستشو با آب مقطر برای شستشوی یون‌های احتمالی از سطح گیاه درون لوله آزمایش در پیچ‌دار قرار داده و ۱۰ میلی‌لیتر آب یون‌گیری شده به آن اضافه شد. سپس

متافسفریک اسید ۵ درصد ساییده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در g ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ شد.

برای اندازه گیری آسکوربات 300 میکرولیتر از عصاره سانتریفوژ شده درون لوله آزمایش ریخته شد و محلول های زیر به ترتیب به آن اضافه شد. ابتدا 750 میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم 100 میلی مولار، سپس 300 میکرولیتر آب مقطر اضافه شد و مخلوط حاصل ورتکس و به مدت 10 دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. سپس به ترتیب 600 میکرولیتر تری کلرواستیک اسید 10 درصد، 600 میکرولیتر ارتوفسفریک اسید 44 درصد و 600 میکرولیتر آلفا آلفا دی پیریدیل 4 درصد و 10 میکرولیتر $FeCl_3$ (475 میلی گرم در 0.5 میلی لیتر آب) اضافه و مخلوط حاصل بلافاصله ورتکس شد و به مدت 20 دقیقه در حمام آب گرم با دمای 40 درجه سانتیگراد قرار گرفت. سپس لوله آزمایش از حمام خارج و مجدداً ورتکس شد و برای بار دوم به مدت 20 دقیقه در حمام آب گرم با دمای 40 درجه سانتیگراد قرار گرفت. سپس شدت جذب در طول موج 525 نانومتر خوانده شد. برای محاسبه مقدار آسکوربات از میلی گرم بر گرم وزن تر گزارش شد.

برای اندازه گیری آسکوربات کل 300 میکرولیتر از عصاره سانتریفوژ شده در لوله آزمایش ریخته و محلول های زیر به ترتیب به آن اضافه شد. ابتدا 750 میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم 100 میلی مولار سپس 150 میکرولیتر دی تیو ترائیتول 10 میلی مولار و مخلوط حاصل 10 دقیقه در درجه حرارت اتاق قرار داده شد. سپس 150 میکرولیتر N -اتیل مالامید 0.5 درصد اضافه و مخلوط حاصل ورتکس و مدت 10 دقیقه در درجه

Varian Cary 50 (ساخت آلمان) در طول موج 532 نانومتر خوانده شد. ماده مورد نظر برای جذب در این طول موج، کمپلکس قرمز MDA-TBA است. جذب سایر رنگیزه های غیراختصاصی در 600 نانومتر تعیین و از این مقدار کسر شد. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ استفاده شد و نتایج حاصل از اندازه گیری بر حسب نانومول بر گرم وزن تر محاسبه شد.

برای اندازه گیری سایر آلدئیدها، 0.2 گرم از بافت فریز شده گیاه (برگ و ساقه) در 5 میلی لیتر تری کلرواستیک اسید 0.1 درصد ساییده شد. عصاره حاصل 5 دقیقه در g ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ شد و به یک میلی لیتر از محلول رویی، 4 میلی لیتر محلول تری کلرواستیک اسید 20 درصد که حاوی 0.5 درصد تیوباربتوریک اسید بود، اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت 30 دقیقه در حمام آب گرم با دمای 95 درجه سانتیگراد قرار داده شد، سپس بلافاصله در یخ سرد شد. دوباره مخلوط سرد شده به مدت 10 دقیقه در g ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ شد و شدت جذب آن در طول موج 455 نانومتر خوانده شد. جذب سایر رنگیزه های غیراختصاصی در 600 نانومتر خوانده شد و از این مقدار کسر شد. برای محاسبه غلظت این آلدئیدها از ضریب خاموشی معادل $10^5 \times 0.458$ استفاده شد. نتایج بر حسب نانومول بر گرم وزن تر محاسبه شد.

آسکوربات، دهیدروآسکوربات و آسکوربات کل

برای سنجش مقدار آسکوربات و دهیدروآسکوربات و آسکوربات کل از روش De Pinto و همکاران (۱۹۹۹) استفاده شد. 0.5 گرم بافت فریز شده گیاه (ساقه و برگ) در 10 میلی لیتر

تهیه عصاره آنزیمی

برای تهیه عصاره آنزیمی یک گرم بافت تر در هاون چینی حاوی ۳ میلی لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با اسیدیته ۷/۲ که شامل اتیلن دی آمین تترااستیک اسید (EDTA) یک میلی مولار، فنیل متان سولفونیل فلورید (PMSF) یک میلی مولار و پلی وینیل پیرولیدون (PVP) یک درصد بود، ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ یخچال دار در ۱۴۰۰۰ g و از محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها استفاده شد.

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) (EC 1.11.1.6)

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از محاسبه کاهش جذب H_2O_2 در ۲۴۰ نانومتر و با روش Dhindsa و Motowe (۱۹۸۱) انجام شد. میزان H_2O_2 موجود در مخلوط واکنش پس از یک دقیقه با استفاده از ضریب خاموشی $\epsilon = 0.28 \text{ mMol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ و فرمول $A = \epsilon bc$ محاسبه شد که نشان‌دهنده میزان فعالیت آنزیم کاتالاز است.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

(EC 1.11.1.1)

در این سنجش، به دنبال اکسید شدن آسکوربات با شروع واکنش آنزیمی، کاهش جذب در ۲۹۰ نانومتر، ۲ دقیقه پس از شروع واکنش نسبت به زمان شروع واکنش محاسبه شد. با استفاده از تغییرات جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر، ضریب خاموشی آسکوربات ($\epsilon = 2.8 \text{ mMol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) و فرمول $A = \epsilon bc$ ، میزان آسکوربات برجای مانده پس از ۲ دقیقه انجام واکنش آنزیمی محاسبه شد (Nakano and Asada, 1981).

حرارت اتاق قرار گرفت. سپس ۶۰۰ میکرولیتر تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد، ۶۰۰ میکرولیتر ارتوفسفریک اسید ۴۴ درصد، ۶۰۰ میکرولیتر آلفا آلفا دی پیریدیل ۴ درصد و ۱۰ میکرولیتر $FeCl_3$ (۴۷۵ میلی گرم در ۰/۵ میلی لیتر آب) اضافه شد. مخلوط حاصل با ورتکس به هم زده شد و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۴۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت، سپس مجدداً ورتکس شد و برای بار دوم به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۴۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت و شدت جذب در ۵۲۵ نانومتر خوانده و با استفاده از آسکوربات منحنی استاندارد رسم شد. نتایج بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد. غلظت دهیدروآسکوربات نیز از تفاضل غلظت آسکوربات کل (مخزن آسکوربات) از غلظت آسکوربات به دست آمد.

ترکیبات فنلی کل

محتوای ترکیبات فنلی کل با استفاده از روش Sonald و Laima (۱۹۹۹) انجام شد. ۰/۱ گرم از اندام هوایی گیاه را در ۵ میلی لیتر اتانول ۹۵ درصد ساییده و به مدت ۲۴-۷۲ ساعت در تاریکی نگهداری شد. سپس به یک میلی لیتر از محلول رویی ۱ میلی لیتر اتانول ۹۵ درصد اضافه شد و با آب مقطر ۲ بار تقطیر حجم محلول به ۵ میلی لیتر رسانده شد، سپس ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین ۵۰ درصد و ۱ میلی لیتر کربنات سدیم ۵ درصد به آن اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت یک ساعت در تاریکی نگهداری شد. سپس، جذب هر نمونه در طول موج ۷۲۵ نانومتر خوانده شد و با استفاده از گالیک اسید منحنی استاندارد رسم شد و غلظت ترکیبات فنلی کل بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز (GPOD) (EC 1.11.1.7)

نتایج

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از گایاکول و اندازه گیری میزان جذب تترایاکول تشکیل شده از گایاکول در نتیجه فعالیت پراکسیداز، در ۴۷۰ نانومتر انجام شد. میزان جذب تترایاکول (حاصل از اکسید شدن گایاکول) در ۴۷۰ نانومتر در لحظه شروع واکنش پس از اضافه نمودن عصاره آنزیمی و پس از یک دقیقه خوانده شد. با استفاده از تغییرات جذب در یک دقیقه در ۴۷۰ نانومتر، ضریب خاموشی تترایاکول ($\epsilon=25.5 \text{ mMol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) و فرمول $A=\epsilon bc$ ، مقدار تترایاکول تشکیل شده محاسبه شد (Plewa et al., 1991).

تحلیل آماری

این آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار انجام شد. عوامل مورد بررسی، شوری در دو سطح و سالیسیلیک اسید در سه سطح بود. محاسبه آماری داده‌ها با نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح ۵ درصد و با نرم‌افزار MSTAT-C انجام شد.

در این مطالعه، تنش شوری باعث کاهش شاخص‌های رشد، افزایش نشت یونی و مقدار مالون‌دی‌آلدئید و سایر آلدئیدها (پراکسیداسیون لیپیدها) و کاهش آسکوربات کل (مخزن آسکوربات) شد (جدول ۱). به علاوه، تنش شوری باعث کاهش مقدار ترکیبات فنلی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان آسکوربات پراکسیداز (APX)، کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (GPOD) شد (جدول ۲).

پیش تیمار سالیسیلیک اسید (SA) در مقایسه با شاهد باعث افزایش شاخص‌های رشد، کاهش نشت یونی و مقدار پراکسیداسیون لیپیدها (مقدار مالون‌دی‌آلدئید و سایر آلدئیدها) و افزایش آسکوربات کل (مخزن آسکوربات) شد (جدول ۱). به علاوه، این پیش تیمار باعث افزایش مقدار ترکیبات فنلی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان آسکوربات پراکسیداز (APX)، کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (GPOD) شد (جدول ۲).

جدول ۱- تأثیر تیمارهای شوری (NaCl) و سالیسیلیک اسید (SA) بر شاخص‌های رشد (وزن تر اندام هوایی و ریشه)، نشت یونی و پراکسیداسیون لیپیدها (مالون‌دی‌آلدئید و سایر آلدئیدها). مقادیر میانگین ۵ تکرار \pm انحراف استاندارد است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است.

سایر آلدئیدها (نانومول بر گرم وزن تر)	مالون‌دی‌آلدئید (نانومول بر گرم وزن تر)	نشت یونی (درصد)	وزن تر ریشه (گرم)	وزن تر اندام هوایی (گرم)	
۰/۷۳±۰/۰۳ ^c	۹/۵۷±۰/۰۷ ^b	۴۸/۹۸±۰/۵۰ ^b	۱۷۴/۷±۰/۰۷ ^c	۱۹۴/۷۶±۰/۸۵ ^c	شاهد خشک
۰/۵۹±۰/۰۳ ^d	۶/۱۳±۰/۰۱۲ ^d	۲۹/۱۸±۰/۴۸ ^d	۲۱۲/۶±۰/۰۹ ^b	۲۴۰/۴۰±۰/۸۰ ^b	خیساندن در آب
۰/۳۴±۰/۰۲ ^f	۵/۱۶±۰/۰۱۱ ^e	۲۲/۷۷±۰/۶۵ ^e	۲۳۷/۶±۰/۰۸ ^a	۲۵۸/۰۰±۰/۸۷ ^a	خیساندن در SA (۰/۱ میلی مولار)
۱/۰۵±۰/۰۵ ^a	۱۰/۶۴±۰/۰۹ ^a	۷۵/۲۰±۰/۴۲ ^a	۹۶/۴±۰/۰۹ ^f	۱۲۵/۱۰±۰/۷۰ ^f	شوری (۸۰ میلی مولار)
۰/۸۰±۰/۰۵ ^b	۸/۲۸±۰/۰۱۰ ^c	۴۸/۳۴±۰/۷۰ ^b	۱۱۹/۴±۰/۰۶ ^e	۱۶۲/۲۰±۰/۷۵ ^e	شوری و خیساندن در آب
۰/۴۲±۰/۰۴ ^e	۶/۱۳±۰/۰۸ ^d	۳۶/۶۷±۰/۵۵ ^c	۱۳۰/۴±۰/۰۸ ^d	۱۷۰/۴۰±۰/۹۹ ^d	شوری و خیساندن در SA (۰/۱ میلی مولار)

جدول ۲- تأثیر تیمارهای شوری (NaCl) و سالیسیلیک‌اسید (SA) بر مقدار آسکوربات، دهیدروآسکوربات، دئیدروآسکوربات و آسکوربات کل (مخزن آسکوربات)، ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و پراکسیداز (GPOD). مقادیر میانگین ۵ تکرار \pm انحراف استاندارد است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است.

پراکسیداز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین)	آسکوربات پراکسیداز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین)	کاتالاز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین)	ترکیبات فنلی (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	آسکوربات کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	دهیدروآسکوربات (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	آسکوربات (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	
۰/۰۱۱±۰/۰۲ ^c	۰/۰۱۱±۰/۰۰۵ ^d	۰/۱۱±۰/۰۴ ^d	۰/۸۹±۰/۰۶ ^{bc}	۲/۶۴±۰/۰۳ ^d	۰/۴۲±۰/۰۳ ^d	۲/۲۲±۰/۰۲ ^c	شاهد خشک
۰/۰۱۹±۰/۰۳ ^b	۰/۰۲۴±۰/۰۰۳ ^c	۰/۱۶±۰/۰۳ ^d	۱/۰۳±۰/۰۷ ^b	۳/۲۴±۰/۰۲ ^b	۰/۶۷±۰/۰۲ ^b	۲/۵۷±۰/۰۴ ^a	خیساندن در آب
۰/۰۲۷±۰/۰۳ ^a	۰/۰۳۶±۰/۰۰۲ ^b	۰/۲۵±۰/۰۳ ^c	۱/۷۵±۰/۰۸ ^a	۳/۶۰±۰/۰۴ ^a	۰/۹۸±۰/۰۳ ^a	۲/۶۲±۰/۰۵ ^a	خیساندن در SA (۰/۱ میلی‌مولار)
۰/۰۱۸±۰/۰۴ ^b	۰/۰۲۴±۰/۰۰۵ ^c	۰/۲۳±۰/۰۲ ^c	۰/۶۴±۰/۰۶ ^d	۲/۲۵±۰/۰۲ ^e	۰/۳۰±۰/۰۴ ^e	۱/۹۲±۰/۰۳ ^c	شوری (۸۰ میلی‌مولار)
۰/۰۲۲±۰/۰۳ ^b	۰/۰۳۶±۰/۰۰۳ ^b	۰/۴۶±۰/۰۲ ^b	۰/۶۷±۰/۰۵ ^{cd}	۲/۶۴±۰/۰۴ ^d	۰/۵۲±۰/۰۱ ^c	۲/۱۱±۰/۰۲ ^d	شوری و خیساندن در آب
۰/۰۲۳±۰/۰۳ ^{ab}	۰/۰۴۸±۰/۰۰۶ ^a	۰/۵۸±۰/۰۱ ^a	۰/۸۹±۰/۰۶ ^{bc}	۳/۰۸±۰/۰۴ ^c	۰/۶۵±۰/۰۲ ^b	۲/۴۳±۰/۰۳ ^b	شوری و خیساندن در SA (۰/۱ میلی‌مولار)

بحث و نتیجه‌گیری

می‌شود. در این شرایط، مقدار NADP^+ در دسترس برای انجام واکنش‌های نوری فتوسنتز کاهش می‌یابد. بنابراین، O_2 به عنوان پذیرنده الکترون عمل نموده، باعث تولید رادیکال سوپراکسید و به دنبال آن سایر گونه‌های فعال اکسیژن و در نهایت، تنش اکسیداتیو می‌شود (Abdul Jaleel *et al.*, 2009; Sudhakar *et al.*, 2001). گیاهان برای مقابله با این اکسیدان‌ها، مکانیسم‌های حفاظتی خاصی دارند که شامل مولکول‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان است. آنتی‌اکسیدان‌ها به سه گروه کلی تقسیم‌بندی می‌شوند که شامل: ۱- ترکیبات غشایی و محلول در چربی مانند آلفاتوکوفرول و کاروتنوئیدها، ۲- ترکیبات قابل حل در آب مانند آسکوربات، گلوکاتینون، ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها و ۳- آنزیم‌هایی نظیر سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و گلوکاتینون‌ردوکتاز هستند. آنزیم

در این پژوهش، تنش شوری باعث کاهش شاخص‌های رشد در گیاه ذرت شد. مشابه با نتایج این مطالعه، کاهش شاخص‌های رشد در بسیاری از گیاهان مانند گوجه‌فرنگی (Shibli *et al.*, 2007)، عدس (Bandeouglu *et al.*, 2004) و جو (El-Tayeb, 2005) در تنش شوری گزارش شده است. به طور کلی، تنش شوری در گیاهان باعث تنش‌های خشکی و سمیت یونی می‌شود. شوری خود ترکیبی از دو تنش اسمزی و یونی است، به علاوه، این دو تنش باعث ایجاد تنش ثانویه‌ای به نام تنش اکسیداتیو می‌شوند (Orcutt and Nilsen, 2000; Chinnusamy *et al.*, 2005; Parida and Das, 2005). تنش شوری با القای تنش آبی به بسته شدن روزنه، کاهش غلظت CO_2 در سلول‌های مزوفیل برگ گیاهان تحت تنش منجر و باعث تجمع NADPH در کلروپلاست

در افزایش دفاع آنتی اکسیدانی دارد (Agarwal and Pandey, 2004).

ترکیبات فنلی از مشتقات مسیر فنیل پروپانوئید بوده، از اجزا سیستم دفاع غیر آنزیمی و آنتی اکسیدانی سلول محسوب می شوند. این ترکیبات می توانند به عنوان خاموش کننده و یا جاروب کننده رادیکال های آزاد اکسیژن و یا سایر گونه های فعال اکسیژن عمل نمایند (Solecka, 1997). با توجه به نقش ترکیبات فنلی در کاهش و یا مهار اتو اکسیداسیون لیپیدها، جاروب کردن رادیکال های آزاد، خاموش کردن اکسیژن یکتایی یا تجزیه پراکسیدها، این ترکیبات به عنوان آنتی اکسیدان ضروری برای حفاظت در برابر تکثیر و پیشروی زنجیره اکسیداتیو و دفاع در برابر گونه های فعال اکسیژن عمل می کنند (Ksouiri et al., 2007). آسکوربات نیز یکی از این مواد آنتی اکسیدان است که در چرخه آسکوربات-گلوتاتیون که چرخه بسیار مهمی در تجزیه H_2O_2 است، نقش اساسی را ایفا می کند. به علاوه، آسکوربات می تواند با واکنش مستقیم با رادیکال سوپراکسید اکسیده شود یا به عنوان عامل احیا کننده رادیکال آلفا کروموسیل در آلفا توکوفرول اکسید شده، مصرف شود (Parida and Das, 2005).

گزارش های متعددی وجود دارد که بیان کننده افزایش تنش اکسیداتیو در هنگام تنش شوری و به تبع آن تغییر فعالیت سیستم دفاع آنتی اکسیدان است (Sudhakar et al., 2001; Parida and Das, 2005; Masood et al., 2006; Ben Hamed et al., 2007). گونه های فعال اکسیژن باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و تغییر در نفوذپذیری غشا (نشت یونی) و خسارت به سلول می شوند. بنابراین، اندازه گیری مالون دی آلدئید و سایر آلدئیدهای تولید شده در طی پراکسیداسیون لیپیدها و نشت یونی

سوپر اکسید دیسموتاز، یکی از جاروب کننده های اصلی O_2^- است و عمل آنزیمی آن به تولید H_2O_2 و O_2 منجر می شود. کاتالاز، یکی از انواع پراکسیدازهاست که شکستن H_2O_2 را کاتالیز می کند. کاتالاز که ظاهراً در کلروپلاست وجود ندارد H_2O_2 را به آب و مولکول O_2 می شکند، در حالی که پراکسیدازها H_2O_2 را با اکسید نمودن یک سوسترای همراه نظیر ترکیبات فنلی و یا سایر آنتی اکسیدان ها نظیر آسکوربات تجزیه می کنند (Sudhakar et al., 2001; Parida and Das, 2005).

H_2O_2 در نتیجه فعالیت SOD تشکیل می شود که ترکیبی سمی و خطرناک برای سلول است. بنابراین، در طی واکنشی به H_2O تبدیل می شود. برخی از آنزیم ها از جمله پراکسیدازها، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز مقدار H_2O_2 را در سلول تنظیم می کنند. آسکوربات پراکسیداز، یک پراکسیداز اختصاصی است که H_2O_2 را از طریق چرخه آسکوربات-گلوتاتیون تجزیه می کند. آنزیم کاتالاز در پراکسی زوم ها و گلی اکسی زوم های گیاهی وجود دارد. کاتالاز نقش تجزیه H_2O_2 تولید شده طی تنفس نوری در پراکسی زوم ها یا H_2O_2 تولید شده طی بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب در گلی اکسی زوم ها را بر عهده دارد. افزایش فعالیت کاتالاز پاسخ سازشی برای غلبه بر آسیب های ناشی از سطوح سمی و احیا کننده H_2O_2 است که طی متابولیسم سلول تولید می شود. پراکسیدازهای گیاهی (POD) که آنزیم هایی گسترده در بین گیاهان عالی هستند، نقش مهمی در سیستم دفاع آنتی اکسیدانی سلول داشته، گونه های فعال اکسیژن را سم زدایی می کنند. PODها سلول را در برابر مقادیر سمی H_2O_2 حفاظت می کند (Parida and Das, 2005). آنزیم پراکسیداز (گایاکول پراکسیداز) یکی از آنزیم های اکسید کننده ترکیبات فنلی بوده، نقش مهمی

APX و در نتیجه فعال شدن چرخه آسکوربات-گلوتاتیون و جاروب‌کننده‌های پراکسید هیدروژن و به دنبال آن با افزایش فعالیت CAT و سایر پراکسیدازها با تنش اکسیداتیو مقابله می‌شود.

کاهش تنش اکسیداتیو و آسیب‌غشایی همراه با افزایش شاخص‌های رشد در پاسخ به پیش‌تیمار سالیسیلیک‌اسید ممکن است به القای پاسخ‌های آنتی‌اکسیدان مربوط باشد که سلول‌ها را از آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تنش محافظت می‌کند. هنگامی که سالیسیلیک‌اسید در غلظت و زمان مناسب به کار برده می‌شود باعث ایجاد تنش اکسیداتیو موقت و گذرا در سلول‌های گیاهی می‌شود که به عنوان یک فرآیند مقاوم‌سازی (hardening) عمل می‌کند و باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول می‌شود (Hayat and Ahmad, 2007; Horvath et al., 2007). سالیسیلیک‌اسید با تغییر فعالیت آنزیم‌هایی نظیر سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز یا NAD(P)H اکسیداز متصل به غشای سیتوپلاسمی (آنزیم‌های دخیل در تولید یا تجزیه H_2O_2) باعث افزایش موقت و جزئی در مقدار H_2O_2 (به عنوان پیامبر ثانویه) شده که به القای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول منجر می‌شود. برای القای فعالیت آنتی‌اکسیدانی، غلظت‌های بسیار اندکی از H_2O_2 مورد نیاز است و H_2O_2 در غلظت‌های بالا خود به عنوان عامل ایجادکننده تنش اکسیداتیو محسوب می‌شود.

بنابراین، نتایج این بررسی نشان داد که کاربرد سالیسیلیک‌اسید با فعال کردن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان باعث افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از تنش شوری و در نتیجه بهبود رشد گیاه ذرت شده است.

شاخص‌های مناسبی برای اندازه‌گیری میزان آسیب اکسیداتیو وارد شده به غشا هستند (Sudhakar et al., 2001). در این تحقیق نیز شوری باعث افزایش نشت یونی و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها در برگ‌های گیاه ذرت شد. علاوه بر این، شوری باعث کاهش در مقدار مخزن آسکوربات و ترکیبات فنلی (به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی) در گیاهان مورد آزمایش شد. کاهش محتوای آسکوربات در گوجه‌فرنگی (He and Zhu, 2008) و کاهش ترکیبات فنلی در شرایط تنش شوری در گیاه فلفل (Navarro et al., 2006) گزارش شده است. در تنش شوری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز افزایش یافت. در این مطالعه، افزایش تنش اکسیداتیو و به تبع آن کاهش شاخص‌های رشد در تنش شوری، نشان‌دهنده عدم کارایی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در این گیاه در مقابله با میزان تنش شوری اعمال شده در این آزمایش است.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که پیش‌تیمار با سالیسیلیک‌اسید باعث کاهش تنش اکسیداتیو حاصل از تنش شوری در گیاه ذرت شد که نتیجه آن در بهبود شاخص‌های رشد مشخص است. سالیسیلیک‌اسید به افزایش مقدار آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی نظیر ترکیبات فنلی و مخزن آسکوربات منجر شد، این ترکیبات آنتی‌اکسیدان با مکانیسم‌های متعددی مانند جاروب کردن رادیکال‌های آزاد، دادن هیدروژن، خاموش کردن اکسیژن یکتایی و یا قرار گرفتن به عنوان سوبسترای آنزیم‌های پراکسیداز نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا می‌کنند (Chu et al., 2000; He and Zhu, 2008). پیش‌تیمار با سالیسیلیک‌اسید باعث افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان آنزیمی مانند آنزیم‌های APX، CAT و GPOD شد. با افزایش فعالیت

منابع

- عملکرد علوفه و دانه ذرت در شرایط تنش خشکی در مزرعه، مجله به زراعی نهال و بذر (۱)، ۲۷: ۴۱-۵۵.
- Abdul Jaleel, C., Riadh, K., Gopi, R., Manivannan, P., Ines, J., Al-Juburi, H. J., Chang-Xing, Z., Hong-Bo, S. and Panneerselvam, R. (2009) Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constrains. *Acta Physiologia Plantarum* 31: 427-436.
- Agarwal, S. and Pandey, V. (2004) Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. *Biologia Plantarum* 48(4): 555-560.
- Ashraf, M. and Foolad, M. R. (2007) Role of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany* 59(2): 206-216.
- Bandeoglu, E., Egidogan, F., Yucel, M. and Avni Oktem, H. (2004) Antioxidant responses of shoots and roots of lentil to NaCl-salinity stress. *Plant Growth Regulation* 42: 69-77.
- Ben Hamed, K., Castagna, A., Salem, E., Ranieri, A. and Abdelly, C. (2007) Sea fennel (*Crithmum maritimum* L.) under salinity conditions: a comparison of leaf and root antioxidant responses. *Plant Growth Regulation* 53: 185-194.
- Chinnusamy, V., Jagendorf, A. and Zhu, J. K. (2005) Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Science* 45: 437-448.
- Chu, Y. H., Chang, C. L. and Hsu, H. F. (2000) Flavonoid content of several vegetable and their antioxidant activity. *Journal Science Food Agriculture* 80: 561-566.
- De Pinto, M. C., Francis, D. and Gara, L. (1999) The redox state of ascorbate-dehydroascorbate pairs a specific sensor of cell division in tobacco By-Z cells. *Protoplasma* 209: 90-97.
- Dhindsa, R. S. and Motowe, W. (1981) Drought tolerance in two mosses: correlation with enzymatic defense against lipid peroxidation. *Journal of Experimental Botany* 32: 79-91.
- مهرابیان مقدم، ن. آروین، م. ج. خواجویی نژاد، غ. و مقصودی، ک. (۱۳۹۰) اثر اسید سالیسیلیک بر رشد و
- El-Tayeb, M. A. (2005) Response of barley grain to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation* 42: 215-224.
- Hayat, S. and Ahmad, A. (2007) Salicylic acid: a plant hormone. 1st Edition, Springer, Netherlands.
- He, Y. and Zhu, Z. Y. (2008) Exogenous salicylic acid alleviates NaCl toxicity and increases antioxidative enzyme activity in *Lycopersicon esculentum*. *Biological Plantarum* 52: 792-795.
- Heath, R. L., Packer, L. (1969) Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archive of Biochemistry and Biophysic* 125: 189-198.
- Horvath, E., Szalai, G. and Janda, T. (2007) Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. *Journal of Plant Growth Regulation* 26: 290-300.
- Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, M., Grignon, C. and Abdelly, C. (2007) Salinity effect on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiology and Biochemistry* 45: 244-248.
- Manchanda, G. and Garg, N. (2008) Salinity and its effects on the functional biology of legumes. *Acta Physiologia Plantarum* 30: 595-618.
- Masood, A., Shab, N. A., Zeeshan, M. and Abraham, G. (2006) Differential response of antioxidant enzymes to salinity stress in two varieties of *Azolla* (*Azolla pinnata* and *Azolla filiculoides*). *Environmental and Experimental Botany* 58: 216-222.
- Meirs, S. Philosophadas, S. and Aharoni, N. (1992) Ethylene increased accumulation of

- fluorescent lipid peroxidation products detected during senescence of parsley by a newly developed method. *Journal of American Society for Horticultural Science* 117:128-132
- Nakano, Y. and Asado, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology* 22(5): 867-880.
- Navarro, J. M., Flores, P., Garrido, C. and Martinez, V. (2006) Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. *Food Chemistry* 96: 66-73.
- Orcutt, D. M. and Nilsen, E. T. (2000) The physiology of plants under stress, soil and biotic factors. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Parida, A. K. and Das, A. B. (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60: 324-349.
- Plewa, M. J., Smith, S. R. and Wanger, E. D. (1991) Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. *Mutant Research* 247: 57-64.
- Senaratna, T., Teuchela, D., Bumm, E. and Dixon, K. (2000) Acetylsalicylic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Journal of Plant Growth Regulation* 30: 157-161
- Shibli, R. A., Kushad, M., Yousef, G. G. and Lila, M. A. (2007) Physiological and biochemical responses of tomato micro shoots to induced salinity stress with associated ethylene accumulation. *Plant Growth Regulation* 51: 159-169.
- Soland, S. F. and Laima, S. K. (1999) Phenolics and cold tolerance of *Brassica napus*. *Plant Agriculture* 1: 1-5.
- Solecka, D. (1997) Role of phenyl propanoid compounds in plant responses to different stress factor. *Acta Physiologia Plantarum* 19(3): 257-268.
- Sudhakar, C., Lakshmi, A., and Giridarakumar, S. (2001) Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Science* 141: 613-619.
- Xu, N., Yrle, K., Miler, P. O. and Cheilch N. (2004) Coregulation of ear growth and internode elongation in corn. *Plant Growth Regulation* 44: 231-241.
- Yazici, I., Turkan, F., Sekmen, A. H. and Demiral, T. (2007) Salinity tolerance of purslane (*Portulaca oleracea* L.) is achieved by enhanced antioxidative system, lower level of lipid peroxidation and proline accumulation. *Environmental Experimental Botany* 61(1): 49-57.

The effect of sodium chloride and salicylic acid on antioxidant defense system in maize (*Zea mays* L.)

Naghme Momeni ¹, Mohammad Javad Arvin ², Gholamreza Khagoei nejad ¹,
Fatemeh Daneshmand ^{3*} and Batoul Keramat ⁴

¹ Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran

² Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran

³ Biology Department, Payame Noor University, 19395-4697 Tehran, I. R. of Iran

⁴ Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran

Abstract

Salt stress causes ionic, osmotic and oxidative stresses in plants. Salicylic acid (SA) is a plant-produced phenolic compound that can function as growth regulator. In this study, the role of SA pretreatment in inducing tolerance to oxidative stress induced by salt in maize plants was investigated. In this research, effects of SA in three levels (control, soaked in water and soaked in solution of 0.1 mM salicylic acid) and also salt stress (0 and 80 mM NaCl) were studied. Salinity decreased growth parameters but increased lipid peroxidation and electrolyte leakage. In addition, salt stress decreased the content of ascorbate pool and phenolic compounds and increased the activity of antioxidant enzymes including ascorbate peroxidase (APX), catalase (CAT) and peroxidase (GPOD). Meanwhile, SA pretreatment reduced lipid peroxidation and electrolyte leakage by increasing the nonenzymatic antioxidants such as ascorbate pool and phenolic compounds but the activity of ascorbate peroxidase (APX), catalase (CAT) and peroxidase (GPOD) which were reflected in improving the plants growth. However, it was concluded that SA was able to induce protective reactions via increasing quantity and activity of these antioxidants under salt stress conditions.

Key words: Oxidative stress, Salt stress, Salicylic acid, Antioxidant defense system

* Corresponding Author: f.daneshmand@yahoo.com