

اثر پیش تیمار اسید سالیسیلیک بر جوانه‌زنی بذر گندم (*Triticum aestivum* L.) در شرایط تنش شوری

آریا دولت آبادیان، سید علی محمد مدرس ثانوی* و فاطمه اعتمادی

دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت

تاریخ دریافت: ۸۶/۷/۱۸ تاریخ پذیرش: ۸۶/۱۱/۲۳

چکیده

بمنظور بررسی اثر پیش تیمار سالیسیلیک اسید بر جوانه‌زنی، فعالیت آنزیمهای آنتی‌اکسیدان و میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشای گیاهیچه گندم در تنش شوری، آزمایشی در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس طراحی شد. بذرهای گندم، رقم روشن پس از خیساندن در محلولهای (۰، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) سالیسیلیک اسید بمدت ۲۴ ساعت، جهت جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری، به پتری‌دیشهای حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محلول NaCl با غلظتهای (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار) منتقل شد، پس از جوانه‌زنی درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، و وزن خشک گیاهیچه، فعالیت آنزیمهای کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، پلی‌فنول اکسیداز و میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تنش شوری باعث کاهش درصد جوانه‌زنی در بذرهای گندم شده، بطوریکه غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار نمک سبب کاهش ۱۷/۶۴ درصد جوانه‌زنی نسبت به تیمار شاهد می‌شود. همچنین مشاهده شد که سالیسیلیک اسید تأثیر مثبتی بر جوانه‌زنی داشته و هم در شاهد و هم در تیمارهای تنش دیده سبب افزایش جوانه‌زنی می‌شود. استفاده از سالیسیلیک اسید موجب افزایش رشد طولی ریشه‌چه و ساقه‌چه و وزن خشک گیاهیچه می‌گردد. کاربرد سالیسیلیک اسید ۱ میلی‌مولار اثر بازدارندگی بر جوانه‌زنی و رشد دارد. سنجش فعالیت آنزیمی نشان داد که فعالیت آنزیمها در شرایط تنش شوری افزایش یافته و سالیسیلیک اسید سبب کاهش فعالیت این آنزیمها یا بعبارتی کاهش اثر تنش شوری می‌شود.

واژه‌های کلیدی: سالیسیلیک اسید، جوانه‌زنی، آنزیمهای آنتی‌اکسیدان، تنش شوری، گندم

* نویسنده مسئول، تلفن تماس: ، پست الکترونیک: modaresa@modares.ac.ir

مقدمه

می‌گیرد. آبسزیک اسید تولید شده در واکنش به شوری سبب بسته شدن روزنه‌ها شده و ورود دی‌اکسید کربن را به گیاه محدود می‌کند (۳۰). تنش شوری باعث تجمع انواع اکسیژن فعال در سلول و آسیب رساندن به لیپیدهای غشا، پروتئینها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود (۳۶). مواد آنتی-اکسیدان موجود در گیاهان سبب خنثی‌سازی این رادیکالهای آزاد می‌گردند که از مهمترین آنها می‌توان آسکوربیک اسید، توکوفرول و گلوتاتیون را نام برد (۵۴). همچنین سالیسیلیک اسید نقش مهمی، در ایجاد مقاومت

در طبیعت گیاهان در برابر نوسانات محیطی مختلفی از جمله خشکی و شوری قرار دارند که رشد آنها را محدود می‌کند (۵). گیاهان برای حفظ بقای خود، مکانیسمهای مختلفی برای سازش با این تغییرات محیطی دارند که از آن جمله می‌توان به مکانیسمهای مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و تغییرات مولکولی اشاره کرد (۵). تنش شوری می‌تواند بر فرآیندهای فیزیولوژیکی، از جوانه‌زنی تا تکوین گیاه مؤثر گذار باشد. فتوسنتز که یک مسیر کلیدی در فیزیولوژی گیاهان است بشدت تحت تأثیر شوری قرار

اندامکهای سلولی گیاه می‌شود. این رادیکالهای آزاد اکسیژن ممکن است بوسیله آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تبدیل به پراکسید هیدروژن شده و سپس توسط آسکوربات پراکسیداز و گلووتاتیون ردوکتاز در کلروپلاست تبدیل به آب شود. همچنین آب اکسیژنه منتشر شده به قسمت بیرونی کلروپلاست بوسیله آنزیم کاتالاز در سلولهای برگ پاکسازی می‌شود (۲۵). آنزیم کاتالاز در پاکسازی گونه‌های اکسیژن فعال تولید شده در اثر تنش شوری در برنج نقش دارد (۴۵). در زمان تنش، معمولاً فعالیت آنزیمهای مانند سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و گلووتاتیون ردوکتاز تحریک می‌شود (۳۳). در این پژوهش تأثیر پیش تیمار سالیسیلیک اسید بر جوانه‌زنی، رشد، فعالیت آنزیمهای آنتی‌اکسیدان و میزان اکسیداسیون لیپیدهای غشایی گیاهچه‌های گندم در شرایط تنش شوری مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روشها

بمنظور بررسی اثر پیش تیمار سالیسیلیک اسید بر جوانه‌زنی، رشد، فعالیت آنزیمهای آنتی‌اکسیدان و میزان اکسیداسیون لیپیدهای غشای گیاهچه‌های گندم در شرایط تنش شوری، آزمایشی در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس بصورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی جمعا با ۱۲ تیمار و ۳ تکرار انجام گرفت. بذرهاي گندم (*Triticum aestivum* L.) رقم روشن پس از ضدعفونی با هیپوکلرید سدیم بمدت ۵ دقیقه و اتانول ۹۶ درصد بمدت ۳۰ ثانیه، بخوبی با آب مقطر شسته و ۲۴ ساعت در محلولهای با غلظتهای (۰، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) سالیسیلیک اسید بطور جداگانه خیس‌اندازه شد. پس از آن، بذرهاي خیس خورده در محلول سالیسیلیک اسید، به پتری‌دیشهای استریل حاوی کاغذ صافی شماره ۱ انتقال یافت. برای ایجاد تنش شوری از محلول NaCl با غلظتهای (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار) و بمیزان ۱۰ میلی‌لیتر در هر پتری‌دیش استفاده شد سپس

به تنشهای محیطی بر عهده دارد (۴۰). بر طبق نظرات راسکین (۴۰) سالیسیلیک اسید باید در زمهره هورمونهای گیاهای دسته بندی شود. سالیسیلیک اسید یا اورتو هیدروکسی بنزوئیک اسید، یک تنظیم کننده‌ی رشد درونی از گروه ترکیبات فنلی طبیعی می‌باشد که در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه نقش دارد. القای گل‌دهی، رشد و نمو، سنتز اتیلین، تأثیر در باز و بسته شدن روزنه‌ها و تنفس از نقشهای مهم سالیسیلیک اسید بشمار می‌رود (۴۰). بعنوان مثال، در سوسن سفید (*Lilium spp*) هنگام گل‌دهی گرما تولید می‌شود که در جذب یونها از ریشه و ضریب هدایت روزنه‌ها نقش دارد (۴۰). سالیسیلیک اسید در تنظیم و ایجاد علامتهایی برای تجلی ژنها در زمان پیری در گیاه مدل آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) دخالت دارد (۳۵). علاوه بر این مانع رسیدگی میوه‌ها (۴۹) می‌شود. سالیسیلیک اسید در گیاهانی که تحت تنشهای محیطی قرار دارند نقش حفاظتی دارد. سالیسیلیک اسید سبب افزایش مقاومت به شوری در گیاهچه‌های گندم (۴۳) و مقاومت به کمبود آب می‌گردد (۴). این ماده در گوجه‌فرنگی و لوبیا نیز سبب افزایش مقاومت به درجه حرارتهای پائین و بالا شده (۴۲) و باعث کاهش آسیب عناصر سنگین در برنج می‌گردد (۳۴). تولید پروتئینهای شوک گرمایی در توتون (*Nicotiana tabacum*) (۱۰) و تجمع لکتینها در گندم (۴۳) نیز به سالیسیلیک اسید نسبت داده می‌شود. کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید سبب ایجاد تحمل به گرما (۱۵) سرما زدگی (۲۷) و تنش شوری در دولپه‌ای‌ها نیز می‌گردد (۷). همچنین در ذرت سالیسیلیک اسید سبب تغییراتی در فعالیت آنزیمهای آنتی‌اکسیدان در زمان سرمادگی می‌شود (۲۷). بطور کلی سالیسیلیک اسید اثرات کلیدی در گیاهان از جمله تأثیر در جذب عناصر غذایی (۲۳)، پایداری غشا (۲۲)، روابط آبی (۲)، عملکرد روزنه‌ها (۱)، بازدارندگی سنتز اتیلین (۴۹) و افزایش رشد (۳۸) دارد. همانطور که ذکر شد تنشهای محیطی سبب تولید رادیکالهای آزاد اکسیژن در کلروپلاست و دیگر

۷/۸ حاوی EDTA ۰/۱ میلی مولار، کربنات سدیم ۵۰ میلی مولار با pH ۱۰/۲، L-methionine ۱۲ میلی مولار، نیتروبلوتترازولیوم ۷۵ میکرومولار، ریئوفلاوین ۱ میکرومولار و ۲۰۰ ماکرولیتزر عصاره آنزیمی می باشد. نمونه‌ها بمدت ۱۵ دقیقه در معرض نور قرار گرفت و پس از این مدت جذب آنها در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. همچنین از یک لوله آزمایش حاوی مخلوط واکنش بجزء عصاره آنزیمی بعنوان شاهد (بلانک) استفاده شد. یک واحد فعالیت سوپراکسید دیسموتاز بعنوان مقدار آنزیمی در نظر گرفته می شود که منجر به مهار ۵۰ درصد احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم می گردد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز: سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز به روش ککمک و هورست (۱۱) انجام شد. ۰/۲ گرم نمونه منجمد در ۳ میلی لیتر بافر سدیم فسفات ۲۵ میلی مولار با pH ۶/۸ عصاره گیری شد. همگن حاصل در دور ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه، بمدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ و محلول روئی برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده شد. تجزیه آب اکسیژنه با کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر پیگیری و به ازای هر میلی گرم پروتئین در عصاره آنزیمی بیان شد.

سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز: سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز بر طبق روش قناتی و همکاران (۱۹) تعیین گردید. ۰/۲ گرم از بافت تازه در نیتروژن مایع و در بافر پتاسیم فسفات ۰/۰۲ مولار، pH = ۶/۸ در دمای ۴-۰ درجه سانتی گراد سائیده و عصاره گیری شد، سپس همگن حاصل در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴-۲ درجه سانتی گراد بمدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و محلول روئی جهت اندازه گیری فعالیت پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت. مخلوط واکنش شامل ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی، ۵۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۵ میلی مولار و ۵۰۰ میکرولیتر متیل کانتکول ۰/۰۲ مولار در ۱۹۰۰ میکرولیتر بافر پتاسیم

درب پتری دیشها را با پارافیلیم کاملا بسته و برای جوانه زنی در ژرمیناتور در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت. ۸ روز بعد، تعداد بذره‌های جوانه زده شمارش، و طول ریشه-چه، ساقه چه و وزن خشک گیاهچه‌ها محاسبه شد. برای خشک کردن نمونه‌ها، اندامهای فوق ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد خشک شد. جهت سنجش فعالیت آنزیمها و تعیین میزان پراکسیداسیون لیپیدی، گیاهچه‌ها در نیتروژن مایع فریز و تا زمان انجام آنالیزهای بیوشیمیایی در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

سنجش آنزیمی

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز: سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز بر طبق روش قناتی و همکاران (۱۹) انجام شد. ۰/۲ گرم از بافت تازه منجمد شده در نیتروژن مایع در بافر پتاسیم فسفات ۰/۰۲ مولار، pH = ۶/۸ در دمای ۴-۰ درجه سانتی گراد سائیده و عصاره گیری شد و سپس همگن حاصل در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴-۲ درجه سانتی گراد بمدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و محلول روئی جهت اندازه گیری فعالیت پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت آنزیمی با افزودن مقادیر مناسب از عصاره آنزیمی، بافر، گایاکول با غلظت نهائی ۲۸ میلی مولار و پراکسید هیدروژن با غلظت نهائی ۵ میلی مولار در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Cintra 6 GBC) خوانده، و فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین در دقیقه بیان شد.

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: بر طبق روش گیانوپولیتیز و ریز (۲۱) ۰/۲ گرم نمونه منجمد در ۳ میلی لیتر بافر HEPES-KOH با pH ۷/۸ حاوی EDTA ۰/۱ میلی مولار عصاره گیری شد. همگنهای حاصل در دور ۱۵۰۰۰ در دقیقه بمدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ و بخش روئی برای سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز مورد استفاده قرار گرفت. مخلوط واکنش شامل، بافر HEPES-KOH ۵۰ میلی مولار با pH

معنی دار در تیمارهای مختلف می شود. تنش شوری سبب کاهش چشمگیری در درصد جوانه زنی بذره‌های تنش دیده-ای می شود که بوسیله سالیسیلیک اسید تیمار نشده باشد. با افزایش غلظت نمک درصد جوانه زنی بذر کاهش یافته در حالیکه سالیسیلیک اسید سبب افزایش جوانه زنی در تیمارهای شوری می شود. بیشترین درصد جوانه زنی در تیمار ۰/۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید و بدون تنش شوری و تنش ۵۰ میلی مولار مشاهده شد. پیش تیمار بذر با سالیسیلیک اسید ۰/۵ میلی مولار در تنش شوری ۵۰ میلی-مولار سبب کاهش اثر مضر تنش شده و جوانه زنی را افزایش داد. همچنین مشاهده شد که افزایش غلظت سالیسیلیک اسید به ۱ میلی مولار اثر بازدارنده بر جوانه زنی تمام تیمارها دارد. سالیسیلیک اسید با غلظت ۰/۵ میلی-مولار تأثیر مثبتی بر جوانه زنی و کاهش اثر مخرب تنش شوری نشان می دهد. با افزایش غلظت نمک وزن خشک گیاهچه‌ها نیز کاهش می یابد. بالاترین وزن خشک گیاهچه در تیمارهای ۰/۵ و ۱۰۰ میلی مولار سالیسیلیک اسید و بدون تنش شوری، ۰/۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید در ۵۰ میلی مولار نمک و ۰/۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید در ۱۰۰ میلی مولار نمک مشاهده شد، اما بین تیمارهای فوق از نظر آماری تفاوت معنی داری وجود نداشت. بدیهی است که افزایش وزن خشک ناشی از افزایش رشد ریشه چه و ساقچه است. در تنش ۲۰۰ میلی مولار نسبت به سطوح پائین تر تنش، پیش تیمار بذر با ۰/۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید چندان سبب افزایش وزن خشک نمی شود اما در مقایسه با عدم مصرف آن در غلظت ۲۰۰ میلی مولار نمک وزن خشک را افزایش می دهد. بذره‌های پیش تیمار شده با ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید در تنش ۲۰۰ میلی مولار نمک کمترین وزن خشک را بخود اختصاص می دهند. مصرف سالیسیلیک اسید در مقایسه با عدم مصرف آن سبب افزایش طول ریشه چه و ساقچه در تیمارهای بدون تنش می شود. اما در گیاهچه‌های تنش دیده غلظت ۰/۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید تنها در تیمار ۱۰۰ میلی مولار

فسفات با pH ۶/۱ است. افزایش در جذب در طول موج ۴۱۰ نانومتر محاسبه و فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین در دقیقه بیان شد.

پروتئین: میزان پروتئین گیاهچه‌ها نیز طبق روش برادفورد (۸) تعیین شد. بدین منظور ۱ میلی لیتر از محلول برادفورد به همراه ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی پس از مخلوط شدن کامل، در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار گرفت و جذب محلول در طول موج ۵۹۵ نانومتر ثبت شد. غلظت پروتئین بر حسب میلی گرم بر گرم بافت تازه با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد.

تعیین پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء: بر اساس روش دوس (۱۶) و با استفاده از اندازه گیری مالون‌دی‌آلدهید بعنوان فرآورده نهائی پراکسیداسیون لیپیدی غشاء انجام گرفت. نمونه‌های منجمد شده بمیزان ۰/۳ گرم در ۳ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد (وزن به حجم) عصاره گیری شد. سپس به ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون صاف شده، ۱ میلی لیتر تیوباریب توریکی اسید ۰/۵ درصد (وزنی به حجمی) به هر کدام از نمونه‌ها اضافه شد و در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه سانتی گراد بمدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه، لوله‌ها از حمام خارج و پس از سرد شدن مالون‌دی‌آلدهید با اندازه گیری جذب در طول موجهای ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی ($\epsilon=155 \mu\text{M}^{-1}\text{cm}$) محاسبه شد.

از نرم افزار SAS برای تجزیه آماری داده‌ها استفاده و با مشاهده تفاوت معنی دار در آنالیز واریانس (ANOVA) مقایسه میانگینها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ($P<0/05$) صورت گرفت.

نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد (جدول ۱) که تنش شوری بطور معنی داری بر صفات مورد ارزیابی تأثیر گذاشته و تیمار سالیسیلیک اسید نیز سبب ایجاد تفاوت

و تحت تأثیر پیش تیمار سالیسیلیک قرار نگرفته باشد. پیش تیمار بذر گندم با ۰/۵ میلی مولار سالیسیلیک سبب کاهش در میزان فعالیت پراکسیداز می شود. سنجش میزان مالون-دی آلدئید بعنوان فراورده نهائی پراکسیداسیون لیپیدی غشاء نشان می دهد که خیساندن بذر در محلول ۰/۵ و ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید، سبب بروز کاهش معنی داری در پراکسیداسیون لیپیدی غشاء در تنش شوری ۲۰۰ میلی-مولار شده، و غلظت ۰/۵ میلی مولار آن سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در تنش ۲۰۰ میلی مولار نمک می شود. تنش شوری و سالیسیلیک اسید محتوای پروتئین محلول را در تیمارهای بدون تنش و تنش شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار کاهش می دهند.

بحث

طبق نتایج بدست آمده درصد جوانه زنی بذر گندم بطور معنی داری در اثر تنش شوری کاهش یافته و پیش تیمار بذر با ۰/۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید سبب افزایش درصد جوانه زنی می شود. مصرف خارجی سالیسیلیک اسید بر محدودده و وسیعی از فرآیندها از جمله جوانه زنی بذر (۱۴) جذب و انتقال یونها (۲۴) نفوذ پذیری غشا (۲) تأثیر گذار است. همچنین تصور می شود که سالیسیلیک اسید جذب یون بوسیله ریشه ها و هدایت روزنه ای را تنظیم می کند. هورمون های مختلفی مانند سالیسیلیک اسید، آبسزیک اسید، ژاسمونیک اسید و اتیلن نقشهای تعیین کننده ای را در مورفولوژی گیاهان در پاسخ به تنش بازی می کنند. در بذر غلات تولید آنزیم آلفا آمیلاز از لایه آلورون بوسیله هورمون ژبیرلین و آبسزیک اسید کنترل می شود. این دو هورمون با یکدیگر اثر آنتاگونیستی دارند (۵۰) سالیسیلیک اسید اثری مشابه آبسزیک اسید داشته و بازدارنده جیبرلین است. پیش تیمار بذر با سالیسیلیک اسید ۱ میلی مولار سبب کاهش جوانه زنی می شود. در حالی که غلظت ۰/۵ میلی مولار آن جوانه زنی را افزایش می دهد. این داده ها با نتایج Rajasekaran و همکاران در

نمک بر طول ساقچه اثر گذاشته و آنها را افزایش می دهد. همچنین کاربرد ۰/۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید، سبب افزایش طول ریشه چه در تمام تیمارهای تنش دیده در مقایسه با تیمارهای تنش دیده و بدون مصرف سالیسیلیک اسید می شود.

فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان بشدت تحت تأثیر تنش شوری قرار می گیرد. فعالیت آنزیم کاتالاز بطور معنی داری در بالاترین غلظت نمک و بدون پیش تیمار سالیسیلیک اسید در مقایسه با شاهد افزایش می یابد. سالیسیلیک اسید با غلظت ۰/۵ میلی مولار سبب کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمارهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار نمک شد اما در تیمار ۵۰ میلی مولار تفاوت معنی دار نیست. افزایش غلظت سالیسیلیک اسید به ۱ میلی مولار خود سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز می شود. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در اثر تنش شوری افزایش یافته بطوریکه میزان فعالیت آن با افزایش غلظت نمک رابطه مستقیم دارد. بذرهای تیمار شده با ۰/۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید زمانی که در شرایط تنش قرار گیرند میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در آنها نسبت به شاهد شان کاهش می یابد. غلظت ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید فعالیت این آنزیم را تحریک نمود. نتایج نشان می دهد که آنزیم پلی فنل اکسیداز بیشترین فعالیت را در تنش شوری ۲۰۰ میلی مولار و بدون کاربرد سالیسیلیک اسید دارا می باشد. همچنین با افزایش سطح شوری میزان فعالیت این آنزیم نیز افزایش می یابد. کاهش فعالیت پلی فنول اکسیداز در اثر مصرف سالیسیلیک اسید، تنها در غلظت ۰/۵ میلی مولار و در شرایط تنش ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار نمک مشاهده می شود. همچنین پیش تیمار بذر با ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید و تنش ۲۰۰ میلی مولار سبب کاهش در فعالیت این آنزیم شده و در دیگر سطوح تنش مؤثر نمی باشد. همانند آنزیمهای فوق فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز تحت تأثیر افزایش غلظت نمک افزایش یافته، و بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در تیماری مشاهده می شود که بیشترین غلظت نمک را داشته

تغییرات متابولیسمی مانند تغییر فعالیت آنزیمها در پاسخ به تنشهای اسمزی و نامتعادل شدن یونها در اثر تنش شوری بوجود می‌آید. (۹). بعلاوه در اثر تنش‌های محیطی مانند تنش شوری، تنشهای اکسیداتیو حاصل از تولید رادیکالهای آزاد اکسیژن، بوجود می‌آیند، که به رشد گیاهان در این شرایط آسیب می‌رساند (۴۸). در این آزمایش تنش شوری سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد در حالیکه پیش تیمار بذر با ۰/۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید یک اثر بازدارنده نشان داد و فعالیت این آنزیم را کاهش داد. سالیسیلیک اسید یک ترکیب فنلی شبه هورمون می‌باشد که بعنوان یک تنظیم کننده داخلی نقش مهمی را در مکانیسمهای دفاع در برابر تنشهای زنده و غیر زنده بازی می‌کند (۵۱). سالیسیلیک اسید، بازدارنده فعالیت آنزیم کاتالاز که یک آنزیم پاکسازی کننده پراکسید هیدروژن است، بوده و در نتیجه با کاهش فعالیت این آنزیم سبب افزایش این ماده در گیاه می‌شود (۲۶). اگر چه پراکسید هیدروژن در غلظتهای بالا سمی است و بوسیله آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز چرخه آنتی اکسیدانی آسکوربات گلوکوتانیون از بین می‌رود اما در غلظتهای پائین می‌تواند نقش پیام را در فرآیندهای انتقال پیام بازی کند و ژنهای وابسته به مقاومت را در گیاه، فعال کند (۱۸). همچنین گزارشاتی مبنی بر تغییر در الگوی فعالیتی آنزیمهای آنتی اکسیدان در شرایط تنش عناصر سنگین و دیگر تنشهای غیر زنده، تحت تیمارهای سالیسیلیک اسید و بدون آن داده شده است (۳۲). که نشان می‌دهد که سالیسیلیک با باند شدن به آنزیم کاتالاز، سبب کاهش فعالیت آن در توتون (۱۲) و چندین گونه دیگر گیاهی (۴۱) می‌شود.

آنیونهای سوپر اکسید بوسیله تنش شوری در سلول تولید می‌شود زیرا مهمترین تأثیر تنش شوری اخلال در وضعیت آب سلولی است که در نتیجه آن رشد کاهش می‌یابد همچنین افزایش تنفس در این شرایط سبب تولید این یونهای مخرب در میتوکندری سلول می‌شود. در چنین

سال ۲۰۰۲ و Shakirova در سال ۱۹۹۷ (۳۹، ۴۴) مربوط به افزایش درصد جوانه‌زنی مطابقت دارد. چنین بنظر می‌رسد که سالیسیلیک اسید از طریق تأثیر در سیستم آنتی-اکسیدانی سبب کاهش اثر سمی و مخرب تنش شوری شده و جوانه‌زنی را افزایش داده است.

وزن خشک گیاهچه‌ها بشدت با افزایش غلظت نمک کاهش می‌یابد که این نتایج مطابق با نتایج Ghoulam و همکاران در سال ۲۰۰۲ می‌باشد (۲۰). آنها نیز نشان دادند که تنش شوری سبب کاهش رشد اندام هوایی و ریشه می‌شود. همچنین گزارش شده است که مصرف سالیسیلیک اسید سبب افزایش وزن خشک گیاهچه‌های گندم می‌شود (۴۷). سالیسیلیک سبب افزایش وزن تر و وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه گیاهچه‌های ذرت در شرایط تنش شوری شده است (۲۹). ساز و کاری که اسید سالیسیلیک رشد ریشه و بخش هوایی را در برخی گیاهان افزایش می‌دهد بخوبی شناخته نشده است اما احتمال داده می‌شود که اسید سالیسیلیک طولی شدن و تقسیم سلولی را به همراه مواد دیگری از قبیل اکسین تنظیم نماید (۴۴). تیمار گیاه گندم با سالیسیلیک اسید، میزان تقسیم سلولی مرستم رأسی ریشه‌های اولیه را که منجر به افزایش رشد طولی می‌شوند را زیاد می‌کند (۴۴). از طرفی سالیسیلیک اسید از اکسیداسیون اکسین جلوگیری می‌کند (۱۷) که بنظر می‌رسد افزایش وزن خشک گیاهچه در ارتباط با افزایش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه تحت تأثیر سالیسیلیک اسید باشد. زیرا تنش شوری سبب کاهش تقسیم سلولی می‌شود. عناصری مانند کادمیوم و سدیم از طریق تأثیر بر پمپهای پروتونی و اختلال در آنها سبب کاهش رشد ناشی از کاهش تقسیم سلولی و طولی شدن سلول می‌شوند (۳۱). سالیسیلیک اسید در سنتز پروتئینهای خاصی بنام پروتئین کیناز نقش دارد این پروتئینها نقش مهمی در تنظیم تقسیم، تمایز و ریختزائی سلول بازی می‌کنند.

مشاهده شده این بررسی، افزایش غلظت سالیسیلیک اسید به ۱ میلی مولار، فعالیت آنزیمها را نسبت به غلظت ۰/۵ میلی مولار آن که مسبب کاهش فعالیت، افزایش داده است. چنین بنظر می رسد که این افزایش غلظت خود بصورت یک تنش در گیاه عمل نموده و بالا رفتن فعالیت آنزیمی مشاهده شده را سبب شود. در ذرت نیز پیش تیمار بذر با سالیسیلیک اسید سبب افزایش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان شده است (۲۷). بنابراین نتایج نشان می دهد که کاربرد سالیسیلیک اسید تا حدی موجب بر طرف شدن برخی اثرات سمی و مخرب تنش ناشی از کلرور سدیم در گیاه می گردد.

تحت تیمار شوری مقدار مالون دی آلدیید حاصل از تنش اکسیداتیو در گیاهچهها افزایش یافت بطوریکه با افزایش غلظت نمک محتوای مالون دی آلدیید افزایش معنی داری یافت. غلظت ۰/۵ میلی مولار سبب کاهش محتوای مالون-دی آلدیید در بذرها تنش دیده شد. افزایش تولید مالون-دی آلدیید و کاهش آن در اثر مصرف سالیسیلیک اسید تحت تنش شوری در عدسک آبی نیز مشاهده شده است (۳۷). تیمار نمک و تنش شوری سبب کاهش یکپارچگی غشاء سلولی و آزاد شدن الکترولیتها و مواد درون سلول می شود. این نتایج با نتایج بور و همکاران (۲۰۰۳) که نشان دادند تنش شوری سبب افزایش پراکسیداسیون لیپیدی برگهای چغندر قند (*Beta vulgaris*) می شود مطابقت دارد (۶). افزایش مالون دی آلدیید در بذرهایی که تحت پیش تیماری قرار نگرفتند بیشتر و با افزایش غلظت نمک غلظت مالون دی آلدیید زیاد شد. کاهش آسیب غشاء سلولی در پاسخ به تیمار سالیسیلیک اسید که با افزایش وزن خشک گیاهچه های تنش دیده همراه است می تواند نمایانگر مسئله القاء سیستم دفاع آنتی اکسیدانی بوسیله اسید سالیسیلیک، با از بین بردن رادیکالهای آزاد بطور مستقیم و یا توسط آنزیمهای آنتی اکسیدان باشد، که خسارت ناشی از این گونه های فعال را کاهش دهد و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدی غشاء کاهش یافته است. این گونه

شرایطی فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز بعنوان یک آنزیم از بین برنده یون سوپر اکسید، مشابه نتایج بدست آمده افزایش می یابد. نتایج حاصل نشان داد که پیش تیمار بذرها با سالیسیلیک اسید ۰/۵ میلی مولار فعالیت را کاهش داد و با افزایش غلظت به ۱ میلی مولار فعالیت این آنزیم زیاد می شود. با افزایش فعالیت این آنزیم سمیت زدایی یون سوپراکسید افزایش و آسیبهای حاصله از آن در گیاه کاهش می یابد چون کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید مقاومت به تنش شوری و خشکی را در گیاهان افزایش می دهد (۵۲). بنابراین سالیسیلیک اسید با افزایش دادن مقاومت گیاهچهها به شوری از طریق افزایش فعالیت آنزیمها برای مقابله با تنش عمل می کند. تأثیر سالیسیلیک اسید در تعدیل پاسخ گیاه و کاهش فعالیت آنزیمها در محدوده وسیعی از تنشهای اکسیداتیو گزارش شده است (۴۶). بطور کلی تنش اکسیداتیو حاصل افزایش سطح رادیکالهای آزاد اکسیژن درون سلولی است. افزایش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان ممکن است راهی برای تحمل گیاه به تنشهای محیطی باشد و از آنجائیکه مصرف ۰/۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید سبب کاهش فعالیت آنزیم سوپر اکسید نسبت به عدم مصرف آن می گردد می توان نتیجه گرفت که ممکن است این ماده بطور مستقیم در از بین بردن رادیکالهای آزاد نقش داشته و با پاکسازی این گونه های فعال، از افزایش فعالیت آنزیم جلوگیری کند. طبق نتایج بدست آمده تنش شوری فعالیت آنزیمهای پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز را نیز افزایش می دهد و پیش تیمار بذرها با سالیسیلیک اسید سبب کاهش آن گردید پراکسیدازها از جمله آنزیمهایی بشمار می روند که نقش بسیار مهمی را در پاسخ به تنشهای غیر زیستی مانند شوری دارند. پراکسیدازها مسئول حذف مقادیر اضافی پراکسید هیدروژن می باشند. اسید سالیسیلیک بطور مستقیم یا غیر مستقیم آنزیمهای آنتی اکسیدان را فعال می کند. اسید سالیسیلیک می تواند بعنوان یک سوپسترای دهنده الکترون برای کاتالاز و پراکسیداز عمل نماید. در بیشتر موارد

ردوکتاز، گلوتامین سنتتاز و گلوتامین ۲ - آگزالوگلو تارات آمینو ترانسفراز در اثر تنش شوری باشد.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج بدست آمده می توان نتیجه گرفت که پیش تیمار بذر گندم با سالیسیلیک اسید ۰/۵ میلی مولار اثر مثبتی بر جوانه زنی داشته و با تأثیر بر سیستم دفاع آنتی اکسیدانی گیاه سبب افزایش مقاومت گیاهچه های گندم تحت تنش شوری می گردد.

بنظر می رسد که سالیسیلیک اسید با پاکسازی رادیکالهای آزاد، از اکسیداسیون چربیها جلوگیری نموده و مانع افزایش مالوندی آلدئید شود. همچنین این رادیکالهای آزاد می-توانند به ساختار پروتئینها آسیب زده و کاهش محتوای پروتئینها را در پی داشته باشد (۳۶). محتوای پروتئین به میزان اختلاف بین سنتز و تجزیه آن بستگی دارد. پژوهشگران متعددی کاهش مقدار پروتئین و افزایش نیترات، آمونیم و اسید های آمینه آزاد را تحت شرایط شور گزارش کرده اند (۵۳). کاهش در محتوای پروتئین همچنین می تواند دلیل کاهش فعالیت آنزیمهای نیترات

جدول ۱: تجزیه واریانس صفات مختلف جوانه زنی، فعالیت آنزیمی، محتوی مالوندی آلدئید و غلظت پروتئین گیاهچه های گندم در شرایط تنش شوری و مصرف سالیسیلیک اسید. * و * * به ترتیب وجود اختلاف معنی دار در سطح ۱ درصد، ۵ درصد است.

منابع تغییر	درجه آزادی	در صد جوانه زنی بذر	وزن خشک طول ساقه-چه	طول ریشه چه فعالیت کاتالاز	فعالیت سوپراکسید فعالیت پلی-دیسموناز	فعالیت پراکسیداز فنول اکسیداز	غلظت پروتئین	غلظت مالوندی-آلدئید	تنش
تنش	۳	۱۴۷۵/۷۳**	۰/۱۸۱**	۱۶/۴۱**	۳۹۹/۱۷**	۱۰۴۹۱/۷۱**	۱۳۷/۱۳**	۱۰۹۲۶/۴۸**	۰/۰۰۱۵۲**
سالیسیلیک	۲	۵۴۲۶/۴۳**	۰/۵۱**	۲۷/۲۵**	۳۷۶/۱۵**	۲۳۲۴۶/۱۳**	۸۳/۴۶**	۴۵۱۹۷/۲۶**	۰/۰۰۰۷۱**
تنش×سالیسیلیک	۶	۲۴۵/۲۷**	۰/۰۲۸**	۳/۱۹**	۷۳/۴۶**	۸۵۰۷/۲**	۶۳/۲۰**	۴۵۷۲/۷۹**	۰/۰۰۰۶۱۸**
خطای آزمایشی	۲۴	۲۰/۲۶	۰/۰۰۰۳	۰/۲۲	۴/۴۰	۶۱۶/۹۱	۱/۳۷	۴/۳۱	۰/۰۰۰۰۴

جدول ۲: مقایسه میانگین صفات مختلف جوانه زنی، فعالیت آنزیمی، محتوی مالوندی آلدئید و غلظت پروتئین گیاهچه های گندم به روش دانکن تحت تنش شوری و مصرف سالیسیلیک اسید.

تیمار	درصد جوانه زنی وزن خشک بذر	طول ساقه چه	طول ریشه چه	فعالیت کاتالاز	فعالیت سوپر اکسید دیسموناز	فعالیت پلی-فنول اکسیداز	فعالیت پراکسیداز	غلظت مالون-دی آلدئید	غلظت پروتئین
N ₁ S ₁	۴۸/۵۷b	۰/۳۷c	۶/۶۶cd	۴/۵۶cd	۸/۰۹e	۶۹۷/۵de	۴/۶e	۱۷۲/۹e	۰/۶۱۶a
N ₁ S ₂	۷۲/۸۶a	۰/۷۳a	۹/۰۳ab	۸/۰۶a	۷/۰۷e	۶۷۷/۱e	۵/۴۹de	۴۲/۲k	۰/۶۰۵ab
N ₁ S ₃	۱۹/۵۲de	۰/۷۴a	۹/۹۲a	۸/۰۶a	۹/۴۸de	۷۲۸/۳cd	۵/۴۸de	۱۶۴/۱g	۰/۵۴۸f
N ₂ S ₁	۲۲/۸۶d	۰/۲۷d	۷/۰۱cd	۳/۶۴ef	۸/۳۵e	۷۰۰/۱de	۶/۲۶cde	۱۸۱/۷c	۰/۶۰۲bc
N ₂ S ₂	۶۵/۲۳a	۰/۷۴a	۸/۰۳bcd	۷/۳a	۶/۳۴e	۵۷۸/۳f	۶/۸cde	۶۷/۴j	۰/۵۹۲c
N ₂ S ₃	۱۳/۳۳ef	۰/۲۷d	۸/۱۹bcd	۳/۵۳ef	۱۸/۸c	۷۰۷/۳cde	۵/۶۹cde	۱۶۹/۴f	۰/۵۶۱e
N ₃ S ₁	۱۱/۹ef	۰/۲۳e	۶/۴۶de	۳/۶ef	۱۸/۷۲c	۷۴۹bc	۹/۸۳b	۲۳۴/۶b	۰/۵۹۸bc
N ₃ S ₂	۴۵/۷۱b	۰/۷۱a	۸/۳۴bc	۶/۲۵b	۸/۹۱de	۶۷۲/۹e	۷/۸c	۱۰۳/۱i	۰/۵۷۷d
N ₃ S ₃	۱۲/۳۸ef	۰/۲۲e	۴/۹۶ef	۳/۸de	۲۳/۲۲b	۷۳۵/۸cd	۶/۸cde	۱۶۱/۴g	۰/۵۶۶de
N ₄ S ₁	۸/۵۷f	۰/۱۸f	۴/۲۴fg	۳/۲۲ef	۳۱/۵۱a	۷۸۹/۶ab	۲۴/۶۳a	۲۹۳/۵a	۰/۴۸۸g
N ₄ S ₂	۳۴/۲۸c	۰/۲۹d	۴/۶۶fg	۵/۰۸c	۱۲/۲۱d	۷۳۹/۲cd	۱۰/۱۲b	۱۷۸/۱d	۰/۴۸۵g
N ₄ S ₃	۱۰/۹۵f	۰/۰۸g	۴/۱۱g	۲/۸۶f	۲۶/۱۱b	۸۲۷/۵a	۷/۰۴cd	۱۴۴/۷h	۰/۴۸۷g

در هر صفت و گروه مقایسه شده، تیمارهای با حروف یکسان اختلاف معنی داری ندارند. N نمک و S سالیسیلیک اسید می باشد.

منابع

- 1-Aldesuquy, HS., Mankarios AT., Awad HA (1998). Effect of some antitranspirants on growth, metabolism and productivity of saline-treated wheat plants. Induction of stomatal closure, inhibition of transpiration and improvement of leaf turgidity. *Acta Bot Hungarica* 41:1-10.
- 2-Barkosky, RR., Einhellig FA (1993). Effects of salicylic acid on plant-water relationships. *J Chem Ecol* 19:237-247.
- 3-Bates, L.S., Waldern, R.P., and Teave, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*.39:205-207.
- 4-Bezrukova, M., Sakhabutdinova, V. Fatkhutdinova, R, Kyldiarova, R.A. Shakirova, I, Sakhabutdinova, F.A.R. (2001).The role of hormonal changes in protective action of salicylic acid on growth of wheat seedlings under water deficit. *Agrochemiya (Russ)*, 2, 51-54.
- 5-Bohnert, H.J., Nelson, D.E., and Jensen, R.G. (1995). Adaptation to environmental stresses. *Plant Cell* 7, 1099-1111.
- 6-Bor, M., Ozdemir F. and Turkkan I. (2003). The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. *Plant Sci*. 164: 77-84.
- 7-Borsani, O., Valpuesta, V. and Botella, M.A. (2001). Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Physiol*. 126:1024-1030.
- 8-Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annu. Rev. Biochem.*72:248-254.
- 9-Bray, E.A. (1997). Plant responses to water deficit. *Trends Plant Sci*. 2, 48-54.
- 10-rkhanova, E. A., Fedina A. B., Kulaeva O. N., (1999). Effect of salicylic acid and (2'-5')-oligoadenylates on protein synthesis in tobacco leaves under heat shock conditions: A comparative study. *Russ. J. of Plant Physiol.*, 46, 16-22.
- 11-Cakmak, I. and Horst, W. (1991). Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glysin max*). *Plant Physiol*.83:463-468.
- 12-Chen, Z, Ricigliano JR, Klessig DF. (1993a). Purification and characterization of a soluble salicylic acid binding protein from tobacco. *Proc Natl. Acad. Sci. USA* 90: 9533-9537.
- 13-Chen, Z, Iyer S, Caplan A, Klessig DF, Fan B. (1997). Differential accumulation of salicylic acid and salicylic acid-sensitive catalase in different rice tissues. *Plant Physiol* 114: 193-201.
- 14-Cutt, J.R. and Klessig D.F. (1992). Salicylic acid in plants: A changing perspective. *Pharmaceu. Technol*. 16: 25-34.
- 15-Dat, J.F., Lopez-Delgado, H., Foyer, C.H and Scott, I.M (1998). Parallel changes in H₂O₂ and catalase during thermotolerance induced by salicylic acid or heat acclimation in mustard seedlings. *Plant Physiol*. 116:1351-1357.
- 16-De Vos, C. Schat, H. De Waal, M. Vooijs, R and Ernst, W. (1991). Increased to copper-induced damage of the root plasma membrane in copper tolerant silene cucubalus, *Plant Physiol*.82:523-528.
- 17-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.
- 18-Foyer, CH, Lopez-Delgado H, Dat JF, Scott IM. (1997). Hydrogen peroxide- and glutathione-associated mechanisms of acclamatory stress tolerance and signalling. *Plant Physiol* 100: 241-254.
- 19-Ghanati, F. Morita, A and Yokota, H. (2002). Induction of suberin and increase of lignin content by excess Boron in Tobacco cell. *Soil Science. Plant Nutrition*.48:3:357-364.
- 20-Ghoulam, C.F., Ahmed F and Khalid F. (2001). Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. *Environ. Exp. Bot*. 47: 139-150.
- 21-Giannopolitis, C and Ries, S. (1997). Superoxid desmutase. I.Occurence in higher plant. *Plant Physiol*.59:309-314.
- 22-Glass, ADM, Dunlop J. (1974). Influence of phenolic acids on ion uptake. IV Depolarization of membrane potentials. *Plant Physiol* 54:855-858.

- 23-Glass, ADM. (1975). Inhibition of phosphate uptake in barley roots by hydroxy-benzoic acids. *Phytochem.* 14:2127–2130.
- 24-Harper, J.P. and Balke N.E. (1981). Characterization of the inhibition of K⁺ absorption in oat roots by salicylic acid. *Plant Physiol.* 68: 1349–1353.
- 25-Hausladen, A and Alscher R.G. (1993). Glutathione-active oxygen in plants. In: Alscher R.G. and Hess J.L. (eds), *Antioxidants in Higher Plants*. CRC Press, Boca Raton, pp. 12–15.
- 26-Horváth, E, Janda T, Szalai G, Páldi E (2002). *In vitro* salicylic acid inhibition of catalase activity in maize: differences between the isoenzymes and a possible role in the induction of chilling tolerance. *Plant Sci* 163:1129-1135.
- 27-Janda, T., Szalai, G. Tari, I and Paldi, E. (1999). Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants. *Planta* 208:175-180.
- 28-Kawano, T., Muto, S. (2000). Mechanism of peroxidase actions for salicylic acid-induced generation of active oxygen species and an increase in cytosolic calcium in tobacco cell suspension culture. – *J. exp. Bot.* 51: 685-693.
- 29-Khodary, S.E.A. (2004). Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt-stressed maize plants. *Int. J. Agri. Biol.* 6: 5–8.
- 30-Leung, J, Bouvier-Durand M, Morris PC, Guerrier D, Chedfor F, Giraudat J (1994) *Arabidopsis* ABA-response gene *ABI1*: features of a calcium-modulated protein phosphatase. *Plant Sci.* 264: 1448–1452.
- 31-Liu, D., Jiang W, and Gao, X. (2003/4). Effect of cadmium on root growth, cell division and nucleoli in root tip cells of garlic. *Biol. Plant.*, 47(1), 79-83.
- 32-Matewally, A., I. Finkemeir, M. Georgi, K –j. Dietz, (2003). Salicylic acid alleviates cadmium toxicity in barley seedlings, *Plant Physiol.* 132, 272-281.
- 33-Mishra, N.P., Mishra R.K. and Singhal G.S. (1995). Changes in the activities of anti-oxidant enzymes during exposure of intact wheat leaves to strong visual light at different temperatures in the presence of protein synthesis inhibitors. *Plant Physiol.* 102: 903–910.
- 34-Mishra, A., Choudhuri M. A., (1999). Effect of salicylic acid on heavy metal-induced membrane deterioration mediated by lipoxygenase in rice. *Biol. Plant*, 42, 409–415.
- 35-Morris, K., S. A.-H. Mackerness, T. Page et al., (2000). Salicylic acid has a role in regulating gene expression during leaf senescence. *Plant J.*, 23, 677–685.
- 36-Noctor, and Foyer CH. (1998). Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 49, 249-279.
- 37-Panda, S.K., Upadhyay, R.K (2004). Salt stress induces oxidative alterations and antioxidative defense in the roots of *Lemna minor*. *Biol. Plant.*, 48(2), 249-253.
- 38-Rajasekaran, LR, Blake TJ (1999). New plant growth regulators protect photosynthesis and enhance growth under drought of jack pine seedlings. *J Plant Growth Regul* 18:175–181.
- 39-Rajasekaran, L.R., Stiles A and Caldwell C.D. (2002). Stand establishment in processing carrots: Effects of various temperature regimes on germination and the role of salicylates in promoting germination at low temperatures. *Can. J. Plant Sci.* 82: 443–450.
- 40-Raskin, I, (1992). Role of salicylic acid in plants. *Annu. Rev. Plant Physiology Plant Mol. Biol.*, 43, 439–463.
- 41-Sanchez-Casas, P, Klessig DF (1994). A salicylic acid-binding activity and a salicylic acid-inhibitable catalase activity is present in a variety of plant species. *Plant Physiol* 106: 1675-1679.
- 42-Senaratna, T., Touchell, D., Bunn E., Dixon K., (2000). Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plant. *Plant Growth Regul*, 30, 157–161.
- 43-Shakirova, F.M., Bezrukova M.V., (1997). Induction of wheat resistance against environmental salinization by salicylic acid. *Biology Bulletin*, 24, 109–112.
- 44-Shakirova, F.M., Sahabudinova D.R (2003). Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Plant Sci.* 164: 317-322.
- 45-Shim, I.S., Naruse Y., Kim Y.H., Kobayashi K. and Usui K. 1999. Scavenging activity of NaCl-induced activated oxygen in two rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salt tolerance. *Jpa. J. Trop. Agr.* 43: 32–41.
- 46-Shirasu, K, Nakajima H, Rajashekar K, Dixon RA, Lamb C (1997). Salicylic acid potentiates an agonist-dependent gain control that amplifies pathogen signal in the activation of defense mechanisms. *Plant Cell* 9: 261–270.

- 47-Singh, B and Usha K. (2003). Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. *Plant Growth Regul.* 39: 137-141.
- 48-Smirnoff, N (1993). The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytol* 125: 27-58.
- 49-Srivastava, M.K., Dwivedi U.N., (2000). Delayed ripening of banana fruit by salicylic acid. *Plant Sci*, 158, 87-96.
- 50-Sun, TP, Gubler F (2004). Molecular mechanism of gibberellin signaling in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 55:197-223.
- 51-Szalai, G, Tari I, Janda T, Pestenác A, Páldi E (2000). Effects of cold acclimation and salicylic acid on changes in ACC and MACC contents in maize during chilling. *Biol Plant* 43:637-640.
- 52-Tari, I, Csiszár J, Szalai G, Horváth F, Pécsváradi A, Kiss G, Szepesi Á, Szabó M, Erdei L (2002). Acclimation of tomato plants to salinity stress after a salicylic acid pre-treatment. *Acta Biol Szeged* 46(3-4):55-56.
- 53-Yonis, M.E., Abbas M.A., Shukry W.M. (1993). Effect of salinity of growth and metabolism of *Phaseolus vulgaris*. *Biologia Plantarum*. 35(3): 417-424.
- 54-Zhang, J., and Kirkham M.B. (1996). Lipid peroxidation in sorghum and sunflower seedlings as affected by ascorbic acid, benzoic acid, acid and propyl gallate. *J. Plant Physiol.* 149:489-493.

Effect of Pretreatment of Salicylic acid on Wheat (*Triticum aestivum* L.) Seed Germination under Salt Stress

Doulatabadian A., Modarres Sanavy S.A.M. and Etemadi F.

Agronomy Dept., Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, I.R. of IRAN

Abstract

The effects of pretreatment of Salicylic acid on wheat seed germination (*Triticum aestivum* L. cvs. Roshan), lipids peroxidation, superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), polyphenol oxidase (PPO) peroxidase (POX) activity in salt stress condition was investigated. Treatments of wheat seedlings with different concentrations of salicylic acid (SA) for seedling growth (0, 0.5, 1mM) have been used. Salt stress was induced by NaCl solution (0, 50 100, 200 mM). For this purpose after surface sterilization of seeds, they were soaked in SA solutions for 24 h and then dried by sterile paper then transferred in to sterile petri dishes and added 10 ml NaCl solution with different concentrations. After one week number of germinated seed, radical length, seedling length and dry weight were recorded. Antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation were assayed too. The results showed salinity decreased seed germination. Thus, high concentration of NaCl (200mM) decreased germination 17/6% than control treatment. Influence of SA was significant and increased percent of germination in stressed and control treatments. SA increased the level of cell division of seedlings and roots which caused an increase in plant growth. Enzymes assay showed, enzyme activity was increased in salt stress conditions and SA reduced activity of antioxidant enzyme. In brief, the SA treatment reduced the damaging action of salinity on seedling growth and accelerated a restoration of growth processes.

Keywords: Salicylic acid, Germination, Antioxidant enzymes, Salt stress, Wheat