Archive of SID

دوماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijmapr.2018.116166.2183
جلد ۳۴، شماره ۲، صفحه ۲۳۴-۲۱۸ (۱۳۹۷)

تأثیر سالیسیلیک اسید و متیل‌جاسمونات بر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و صفات فیزیولوژیکی مامیران کبیر (*Chelidonium majus* L.) تحت تنش شوری

صدیقه فابریکی اورنگ[1*] و هانیه سادات شهاب‌زاده[2]

۱*- نویسنده مسئول، استادیار، گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران
پست الکترونیک: s.ourang910@gmail.com

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۶ تاریخ اصلاح نهایی: دی ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۶

چکیده

در این پژوهش اثرات سالیسیلیک اسید و متیل‌جاسمونات به‌عنوان دو القاءکننده بر فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، رنگریزه‌های فتوسنتزی و فلاونوئید تحت تنش شوری در گیاه مامیران کبیر (*Chelidonium majus* L.) مطالعه شد. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره) در سال ۱۳۹۵ اجرا گردید. سه فاکتور مورد مطالعه شامل هورمون در سه سطح بدون هورمون (آب مقطر)، متیل‌جاسمونات ۱۰۰ میکرومولار و اسید سالیسیلیک ۲ میلی‌مولار، شوری در دو سطح عدم شوری (آب شهری با هدایت الکتریکی ۰/۶۲ دسی‌زیمنس بر متر) و شوری با استفاده از ۳۰ میلی‌مولار NaCl (۳/۳۶ دسی‌زیمنس بر متر) و فاکتور اندام گیاهی در سه سطح برگ، ساقه و ریشه بودند. الیسیتورها به‌صورت محلول‌پاشی و مخلوط با آبیاری به گیاهان اعمال شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی شوری، الیسیتور، بافت و اثرات متقابل بین آنها برای بیشتر صفات معنی‌دار بود. نتایج حاصل از مقایسه میانگین الیسیتورها نشان داد که متیل‌جاسمونات سبب افزایش کاروتنوئید، فلاونوئید و آنتوسیانین گردید. هر دو تیمار سالیسیلیک اسید و متیل‌جاسمونات باعث کاهش میزان و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گایاکول پراکسیداز تحت تنش شوری شدند. در مقایسه میانگین اثرات متقابل سه جانبه، شوری+ سالیسیلیک اسید+ برگ بهترین ترکیب فاکتورها برای محتوای کلروفیل و کاروتنوئید (به‌ترتیب ۱/۶۸ و ۰/۵۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود. همچنین بیشترین میزان آنتوسیانین (۵/۷ $OD.gr^{-1}$ FW) در ترکیب عدم شوری+ متیل‌جاسمونات+ برگ و بیشترین میزان فلاونوئید در ترکیب‌های فاکتوری شوری+ عدم هورمون (۳/۴۲$OD.gr^{-1}$ FW)، عدم شوری+ سالیسیلیک اسید (۳/۲۷$OD.gr^{-1}$ FW) و شوری+ متیل‌جاسمونات (۳/۲$OD.gr^{-1}$ FW) در بافت برگ مشاهده شد. میزان پروتئین کل بر خلاف کاهش در تنش شوری+ بدون هورمون (۴۳/۳۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، در تیمارهای تنش شوری+ سالیسیلیک اسید و تنش شوری+ متیل‌جاسمونات (به‌ترتیب ۵۶/۷۲ و ۵۳/۲۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) افزایش یافت. در جمع‌بندی کلی مشخص شد که با اعمال دو تیمار هورمونی مذکور تحت تنش شوری، مامیران نیاز کمتری به افزایش سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان داشته و قابلیت لازم را برای بهبود عملکرد زیست‌توده و نیز برخی از متابولیت‌های ثانویه خواهد داشت.

واژه‌های کلیدی: الیسیتور، رنگریزه‌های فتوسنتزی، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گایاکول پراکسیداز.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

اثرات مخرب ناشی از انواع تنش‌های محیطی مانند شوری، کم‌آبی و سرما توسط برخی از هورمون‌های گیاهی مانند متیل‌جاسمونات‌ها کاهش می‌یابد (Li *et al*., 1998). جاسمونیک اسید و متیل‌استرهای آن (متیل‌جاسمونات) که در حالت کلی به جاسمونات‌ها معروف هستند گروهی از هورمون‌های گیاهی هستند که ترکیب‌های ویژه‌ای از سیکلوپنتان حلقوی و مشتقات لینولئیک اسید هستند و از مسیر بیوسنتزی اکتادکانوئید تولید می‌شوند که با تغییر در میزان بیان ژن‌ها اثر تنش‌های محیطی را کم می‌کنند (Creelman *et al*., 1992). همچنین در مطالعاتی تأثیر متیل‌جاسمونات‌ها بر تنش‌های خشکی، سرما، شوری و همچنین مکانیسم‌های مقابله با پاتوژن‌ها و حشرات مشخص شده‌است (Yu *et al*., 2001). سالیسیلیک اسید از ترکیب‌های تنظیم‌کننده رشد و ترکیب‌های فنلی در گیاهان محسوب می‌شود که نقش بسیار مهمی در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه به‌عهده دارد، این هورمون گیاهی در تنش‌های محیطی اثر محافظتی داشته و موجب بهبود روند رشد در گیاه می‌گردد (Fathi & Esmailpour, 2000). سالیسیلیک اسید همچنین با سنتز اتیلن باعث تعدیل اثرات منفی تنش شوری می‌گردد (Heydari *et al*., 2009).

ماميران با نام علمی *Chelidonium majus* L. متعلق به خانواده پاپاوراسه می‌باشد که به‌دلیل داشتن آلکالوئیدهایی با خواص فارماکولوژیکی مهم، جایگاه ویژه‌ای را در میان گیاهان دارویی دارد (Tome & Colomb, 1995). پراکندگی این گیاه در جهان در نواحی معتدله اروپا و آسیا، شمال‌غرب آفریقا، تالش و شمال ایران می‌باشد. این گیاه اغلب در نواحی جنگلی و گاهی در کنار جاده‌ها و نواحی روشن استان‌های گرگان، مازندران و گیلان می‌روید (Mozaffarian, 2012). ماميران کبیر به‌صورت گسترده در درمان سنتی و مدرن برای درمان بیماری‌های دستگاه گوارش و کبد و حتی برای پیشگیری و درمان تومورها و سرطان استفاده می‌شود (Venkatesh *et al*., 2011؛ Demelo *et al*., 2011). تمام قطعات گیاه حاوی شیره نارنجی رنگ سرشار از آلکالوئیدهای chelerythrine، chelidonine، sangunarin، berberin و غیره می‌باشد (Colombo & Bosisio, 1996).

در آزمایشی تأثیر محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید بر روی گیاه درمنه خزری (*Artemisia annua*) تحت تنش شوری مورد مطالعه قرار گرفت و اثر متقابل سالیسیلیک اسید و شوری نشان داد که سالیسیلیک اسید در هر دو شرایط بدون تنش و تنش شوری موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز گردید (Eskandari Zanjani *et al*., 2012). در تحقیقی دیگر بر روی گیاه جینسینگ (*Panax ginseng*) تیمارهای سالیسیلیک اسید و متیل‌جاسمونات باعث افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در روزهای سوم، پنجم و هفتم پس از اعمال، شدند (Babar *et al*., 2006). اما در تحقیق مشابه دیگری بر روی ریحان (*Ocimum basilicum*) تیمار متیل‌جاسمونات در غلظت و ساعات مختلف باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آسکوربات پراکسیداز نشد (Brocki Milan *et al*., 2016). در گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla*) نیز سالیسیلیک اسید باعث افزایش توان آنتی‌اکسیدانی گیاه ازجمله کاروتنوئیدها شد (Costa *et al*., 2005). در تحقیقی دیگر تأثیر تنش‌های شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار بر گیاه خشخاش (*Papaver somniferum*) در مرحله گیاهچه‌ای مورد مطالعه قرار گرفت و نتایج نشان داد که سطوح شوری اعمال شده باعث کاهش سنگوئینارین به میزان ۲۰ تا ۵۰ درصد شده و به‌همین دلیل نتیجه‌گیری شد که سطوح شوری اعمال شده باعث کاهش مورفین و سایر آلکالوئیدهای خشخاش می‌گردد (Balazova *et al*., 2008).

با توجه به گسترش روزافزون شوری خاک و از طرفی اهمیت و کاربرد گیاه دارویی ماميران کبیر، سنجش توان تحمل و افزایش آن برای توصیه کشت در مناطق شور حائز اهمیت می‌باشد. از سوی دیگر الیسیتورهایی مانند متیل‌جاسمونات و

www.SID.ir

Archive of SID

سالیسیلیک اسید می‌توانند به‌عنوان عوامل افزایش‌دهنده تحمل تنش و راهکاری در جهت بهبود تولید و عملکرد باشند. از این‌رو، این پژوهش با هدف بررسی اثر محلول‌پاشی متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک اسید بر کاهش اثرات شوری از طریق مطالعه روند تغییرات برخی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانتی و صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در مامیران کبیر انجام شد.

مواد و روش‌ها

برای مطالعه اثرات اسید سالیسیلیک و متیل‌جاسمونات بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه مامیران کبیر تحت شرایط شوری، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با چهار تکرار در گلخانه تحقیقاتی و آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره) طی سال ۱۳۹۵ انجام شد. سه فاکتور مورد مطالعه شامل شوری در دو سطح عدم شوری (آب شهری با هدایت الکتریکی ۰/۶۲ دسی‌زیمنس بر متر) و شوری با استفاده از ۳۰ میلی‌مولار NaCl (۳/۳۶ دسی‌زیمنس بر متر)، فاکتور هورمون در سه سطح بدون هورمون (آب مقطر)، متیل‌جاسمونات ۱۰۰ میکرومولار و اسید سالیسیلیک ۲ میلی‌مولار و فاکتور اندام گیاهی در سه سطح برگ، ساقه و ریشه بودند. بذر مامیران کبیر از مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور تهیه شده و در گلدان‌ها کشت شدند. هر واحد آزمایشی شامل یک گلدان پلاستیکی به ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر و قطر دهانه ۲۰ سانتی‌متر بود. محتوای هر گلدان نیز شامل مخلوطی از خاک زراعی و ماسه با نسبت ۳:۱ (ماسه:خاک) بود. شرایط رشدی گلخانه و شرایط دمایی در حد مطلوب برای گیاهان بهینه گردید. پس از رشد و استقرار گیاهان اعمال تیمارها در مرحله رویشی گیاه (گیاهان ۵۰ روزه) انجام شد. طول دوره اعمال تنش شوری به مدت ۱۴ روز بود و هورمون‌های متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک اسید هم به‌صورت محلول‌پاشی و هم به‌صورت مخلوط با آب آبیاری در دو مجموعه متوالی به فاصله چهار روزه در هفت روز دوم تنش به گیاهان داده شد و پس از اعمال تیمارهای مذکور با پایان روز چهاردهم نمونه‌گیری از اندام‌های ریشه، ساقه و برگ انجام و صفات زیر اندازه‌گیری شدند.

تهیه عصاره آنزیمی

۰/۵ گرم بافت تازه از سه اندام ریشه، ساقه و برگ با استفاده از ازت کوبیده شد. سپس به بافت کوبیده شده مقدار ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر استخراج (0.05 M Tris-HCl buffer (pH=7.5), 3 mM MgCl2,1mM EDTA, 1.5% w/v PVPP) افزوده و به‌مدت ۴ دقیقه ورتکس شد. در مرحله بعد نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند و فاز شفاف رویی به‌عنوان عصاره آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت (Kang & Saltveit, 2002).

سنجش کاتالاز (CAT)

فعالیت کاتالاز به‌وسیله اندازه‌گیری میزان از بین رفتن هیدروژن پراکسید با استفاده از روش Maehly و Chance (۱۹۵۹) مورد سنجش قرار گرفت و فعالیت کاتالاز از طریق میزان کاهش جذب در ۲۴۰ نانومتر قرائت و ثبت گردید.

سنجش آسکوربات پراکسیداز (APX)

فعالیت آسکوربات پراکسیداز با روش Chen و Asada (۱۹۸۹) اندازه‌گیری شد. پس از تهیه مخلوط واکنش تخریب آسکوربات با کاهش جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر سنجیده شد.

سنجش سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به‌وسیله اندازه‌گیری توانایی آن در ممانعت از کاهش فیتوشیمیایی NBT با استفاده

www.SID.ir

Archive of SID

از روش Dhindsa و همکاران (۱۹۸۱) مورد سنجش قرار گرفت.

سنجش گایاکول پراکسیداز (GPX)

فعالیت گایاکول پراکسیداز به روش Upadhyaya و همکاران (۱۹۸۵) اندازه‌گیری شد و پس از تهیه مخلوط واکنش افزایش جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر ثبت گردید.

سنجش محتوای پروتئین کل

محتوای پروتئین کل با استفاده از روش Bradford (۱۹۷۶) در طول موج ۵۹۵ نانومتر، با استفاده از آلبومین سرم گاوی (BSA) به‌عنوان یک استاندارد تعیین شد.

سنجش کلروفیل و کاروتنوئید

میزان کلروفیل و کاروتنوئید به روش Arnon (۱۹۴۹) تعیین شدند.

سنجش فلاونوئید و آنتوسیانین

یک گرم بافت تر هر نمونه در ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (شامل الکل متیلیک ۹۹/۵٪ و هیدروکلریک اسید خالص به نسبت ۹۹ به ۱) همگن و سانتریفیوژ شد. سپس جذب عصاره رویی در ۳۰۰ و ۵۳۰ نانومتر به‌ترتیب برای فلاونوئید و آنتوسیانین با دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد و نتایج به‌صورت جذب در گرم وزن تر ($OD.g^{-1}FW$) محاسبه گردید (Nogues & Baker, 2000).

تجزیه‌و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه واریانس برای صفات مورفولوژیک به‌صورت فاکتوریل (بافت+تنش+الیسیتور) در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی (CRD) در چهار تکرار انجام و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن بررسی شد. برای تجزیه داده‌های آماری از نرم‌افزارهای MSTATC و SPSS و برای ترسیم شکل‌ها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج

تأثیر متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک اسید بر روی صفات آنتی‌اکسیدانی تحت تنش شوری در بافت‌های مختلف

براساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) اثرات اصلی شوری، الیسیتور و بافت و اثرات متقابل دو جانبه و سه جانبه آنها از نظر تمام آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (بجز اثر اصلی شوری برای گایاکول پراکسیداز) در سطح احتمال ۱٪ ($P\leq0.01$) معنی‌دار شدند. مقایسه میانگین اثر متقابل تنش× الیسیتور (شکل ۱) نشان داد که تیمار سالیسیلیک اسید باعث بهبود و افزایش میزان آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در هنگام تنش شوری نسبت به عدم تنش شد، اما همین تیمار هنگام شوری فعالیت کاتالاز را کاهش داد. در اثر تیمارهای سالیسیلیک اسید و متیل‌جاسمونات میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تنش شوری نسبت به عدم تنش افزایش نشان نداد، در حالی‌که در تیمار بدون هورمون شوری باعث افزایش این آنزیم شده است. از این‌رو به نظر می‌رسد هر دو تیمار هورمونی به‌عنوان تعدیل‌کننده اثرات تنش باعث شده‌اند که گیاه نیاز به افزایش آنزیم SOD برای مقابله با اثرات سوء تنش نداشته باشد (شکل ۱). اثر تیمار متیل‌جاسمونات هنگام تنش شوری بر روی فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز متفاوت بود که به‌ترتیب باعث افزایش و کاهش فعالیت این دو آنزیم گردید. میزان پروتئین کل برخلاف کاهش در تنش شوری تحت تیمار بدون هورمون، در اثر تیمار با سالیسیلیک اسید و متیل‌جاسمونات نسبت به زمان عدم استفاده از این دو هورمون باعث افزایش میزان پروتئین در گیاهان تنش دیده نسبت به عدم تنش گردید. البته میزان پروتئین در تیمار سالیسیلیک اسید نسبت به متیل‌جاسمونات زیادتر بود (شکل ۴).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- تجزیه واریانس اثرات شوری، الیسیتور و بافت بر فاکتورهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در مامیران کبیر

منابع تغییر (S.o.V)	درجه آزادی (d.f)	میانگین مربعات (Mean of Squares)									
		کاتالاز	سوپراکسید دیسموتاز	گایاکول پروکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	پروتئین کل	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید	فلاونوئید	آنتوسیانین
تنش شوری	۱	۰/۰۰۰**	۲۳۸/۵**	۰/۰۰۰ns	۱۲/۱**	۲۴۸/۲**	۰/۰۱**	۰/۰۶۸**	۰/۱۳**	۰/۰۰۳**	۰/۰۴۴ns	۰/۰۳۴ns
الیسیتور	۲	۰/۰۰۶**	۳۸۵/۹**	۰/۰۱۶**	۲۶/۹**	۳۶۸/۸**	۰/۰۴۳**	۰/۱۴۶**	۰/۳۴**	۰/۰۵۵**	۰/۱۳ns	۰/۴۴۸**
بافت	۲	۰/۰۱۵**	۱۵۴۹۳/۷**	۰/۰۸۵**	۴۵۳/۶**	۳۶۱۸۳/۴**	۰/۰۳۲**	۰/۱۱۲**	۰/۲۶**	۰/۰۱۵**	۰/۳۳۵**	۰/۴۴۸**
تنش×الیسیتور	۲	۰/۰۰۰**	۴۶۸/۴**	۰/۰۵۹**	۹۵/۴**	۱۸۰۷/۸**	۱/۶۹**	۰/۱۱۳**	۱۴/۱۳**	۱/۰۴**	۳/۶۴**	۴۷/۴۸۳**
تنش×بافت	۲	۰/۰۰۴**	۷۴۱/۶**	۰/۰۳۲**	۳۹/۲**	۳۱۶/۴**	۰/۰۳۵**	۰/۰۹۷**	۰/۲۴**	۰/۰۰۷**	۰/۲۳۳*	۰/۰۵ns
الیسیتور×بافت	۴	۰/۰۰۲**	۱۶۱۱/۵**	۰/۰۲۲**	۶۲/۷۷**	۱۵۰۶/۲**	۰/۰۲۵**	.۰/۱۲۳**	۰/۲۵**	۰/۰۲۲**	۰/۱۴۳*	۰/۰۱۴۵ns
تنش×الیسیتور×بافت	۴	۰/۰۰۲**	۳۱۴۶/۹**	۰/۰۱۵**	۱۳۷/۱**	۲۱۱۱/۲**	۰/۰۲۸**	۰/۱۰۴**	۰/۲۳**	۰/۰۰۶**	۰/۰۶۲ns	۰/۹۷۲**
خطا	۵۴	۰/۰۰۰	۷/۶۱	۰/۰۰۰	۰/۵	۸/۱	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۵۶	۰/۰۷۸
ضریب تغییرات		۱۷/۳	۷/۱۶	۱۹/۱	۲۰/۴	۵/۴	۳/۶۷	۳/۹۵	۳/۳۴	۸/۹۷	۴/۶۷	۲۲/۱

ns، ** و *: به‌ترتیب اختلاف غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪

www.SID.ir

Archive of SID

مقایسه میانگین اثر متقابل بافت× تنش (شکل ۲) نشان داد که تنش شوری در بافت برگ میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز را نسبت به عدم تنش افزایش و میزان آنزیم کاتالاز را کاهش داد. در بافت ساقه در تنش شوری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز افزایش و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز کاهش یافت. در بافت ریشه فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در تنش شوری کاهش و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز افزایش نشان داد. میزان پروتئین کل تحت تنش شوری نسبت به عدم تنش در ریشه کاهش نشان داد ولی در برگ و ساقه اختلافی نسبت به زمان عدم تنش دیده نشد (شکل ۴).

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات اصلی شوری، الیسیتور و بافت برای میزان فلاونوئید و آنتوسیانین در مامیران کبیر

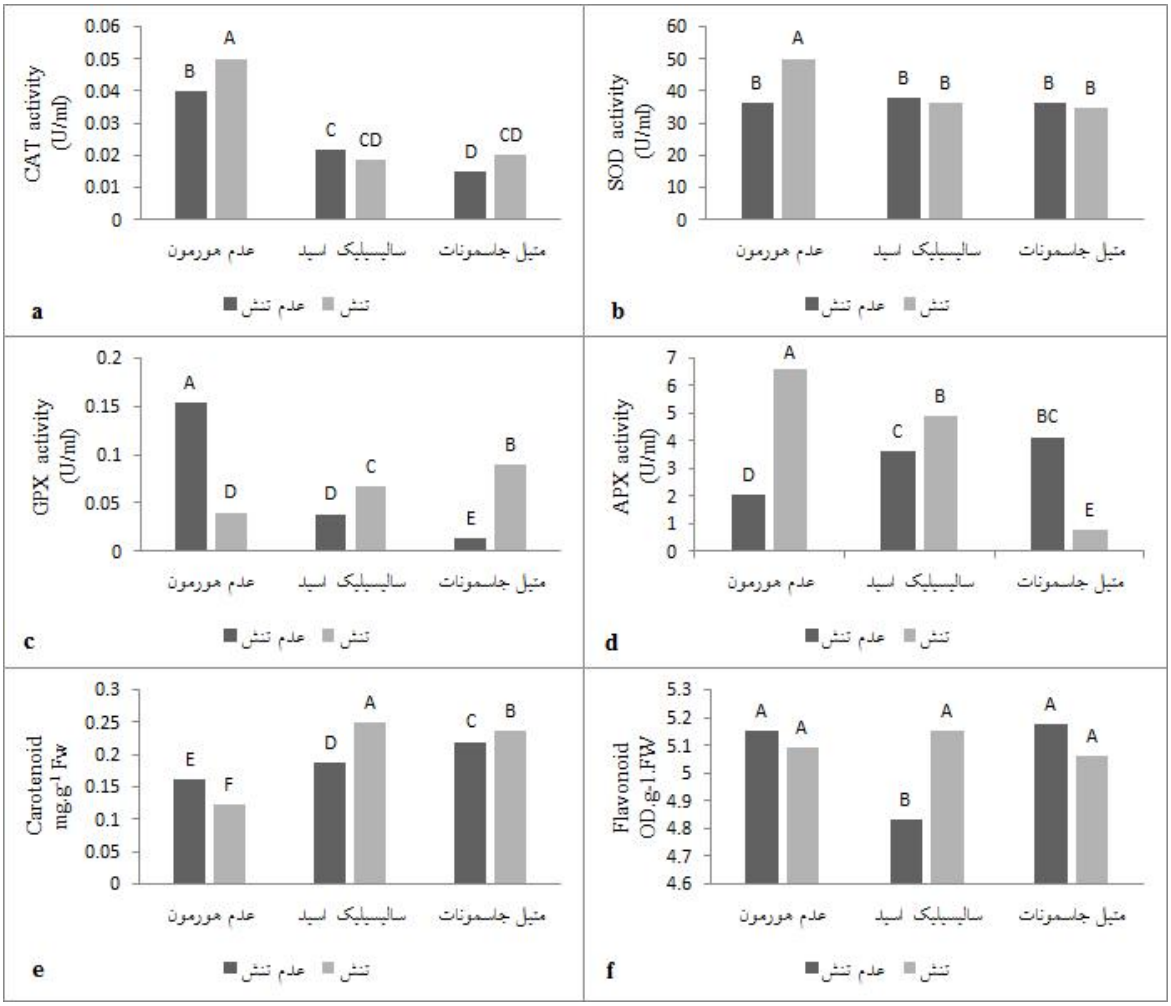
صفت	الیسیتور			بافت			تنش	
	عدم هورمون	سالیسیلیک اسید	متیل‌جاسمونات	ریشه	ساقه	برگ	عدم تنش	شوری
فلاونوئید ($OD.g^{-1}FW$)	۵/۱۲A	۴/۹۹A	۵/۱۲A	۴/۷۲C	۵/۰۲B	۵/۴۹A	۵/۰۵A	۵/۱A
آنتوسیانین ($OD.g^{-1}FW$)	۱/۳۳A	۱/۱۰B	۱/۳۵A	۰/۵۱B	۰/۳۹B	۲/۸۸A	۱/۲۸A	۱/۲۳A

حروف مشابه در هر ردیف برای هریک از صفات و اثرات اصلی در هر تیمار اختلاف آماری معنی‌دار ندارند.

مقایسه میانگین اثر متقابل بافت× الیسیتور (شکل ۳) نشان داد که تیمارهای سالیسیلیک اسید و متیل‌جاسمونات نسبت به عدم مصرف هورمون باعث کاهش میزان آنزیم کاتالاز در بافت‌های برگ و ساقه شدند، همین نتیجه نیز در میزان آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز در ریشه، سوپراکسیددیسموتاز در برگ و آسکوربات پراکسیداز در ساقه مشاهده شد. اما تأثیر این دو تیمار هورمونی در فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در ساقه و ریشه متفاوت از برگ بود و هر دو تیمار باعث افزایش فعالیت این آنزیم شدند. اثر تیمار متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک اسید در فعالیت گایاکول پراکسیداز در برگ افزایشی بود که این افزایش در تیمار متیل‌جاسمونات بیشتر مشاهده شد. در مورد آسکوربات پراکسیداز نیز تیمار سالیسیلیک اسید در برگ افزایش چشمگیری نسبت به متیل‌جاسمونات و عدم استفاده از هورمون نشان داد. میزان پروتئین کل تحت تأثیر هر دو تیمار متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک اسید در ریشه کاهش ولی در ساقه و برگ افزایش یافت (شکل ۴).

www.SID.ir

Archive of SID

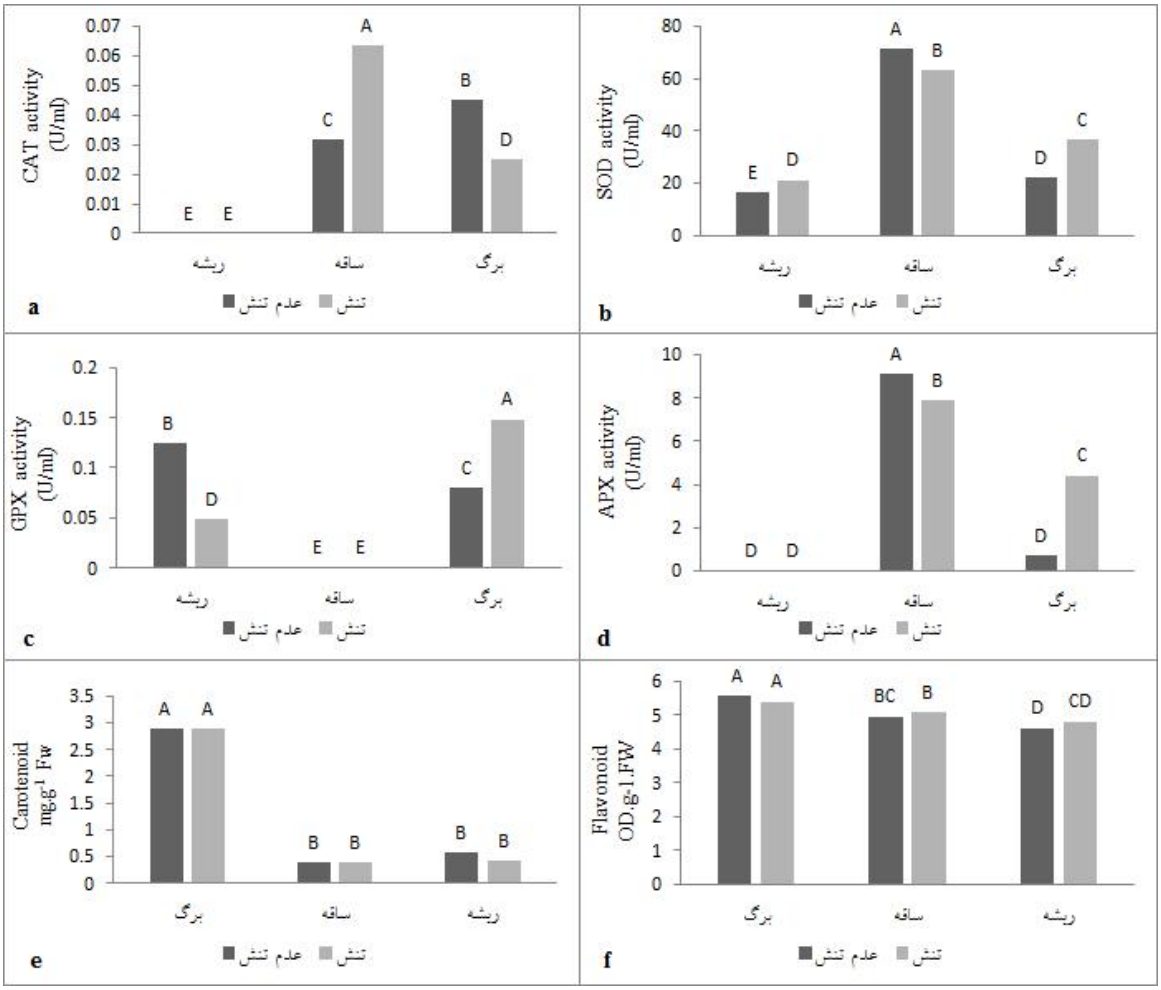


شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش× الیسیتور در تغییرات میزان a) کاتالاز، b) سوپراکسید دیسموتاز، c) گایاکول پروکسیداز، d) آسکوربات پراکسیداز، e) کاروتنوئید و f) فلاونوئید در گیاه مامیران کبیر تحت تیمار با الیسیتورهای سالیسیلیک اسید و متیل‌جاسمونات در تنش شوری

حروف غیر مشابه روی هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

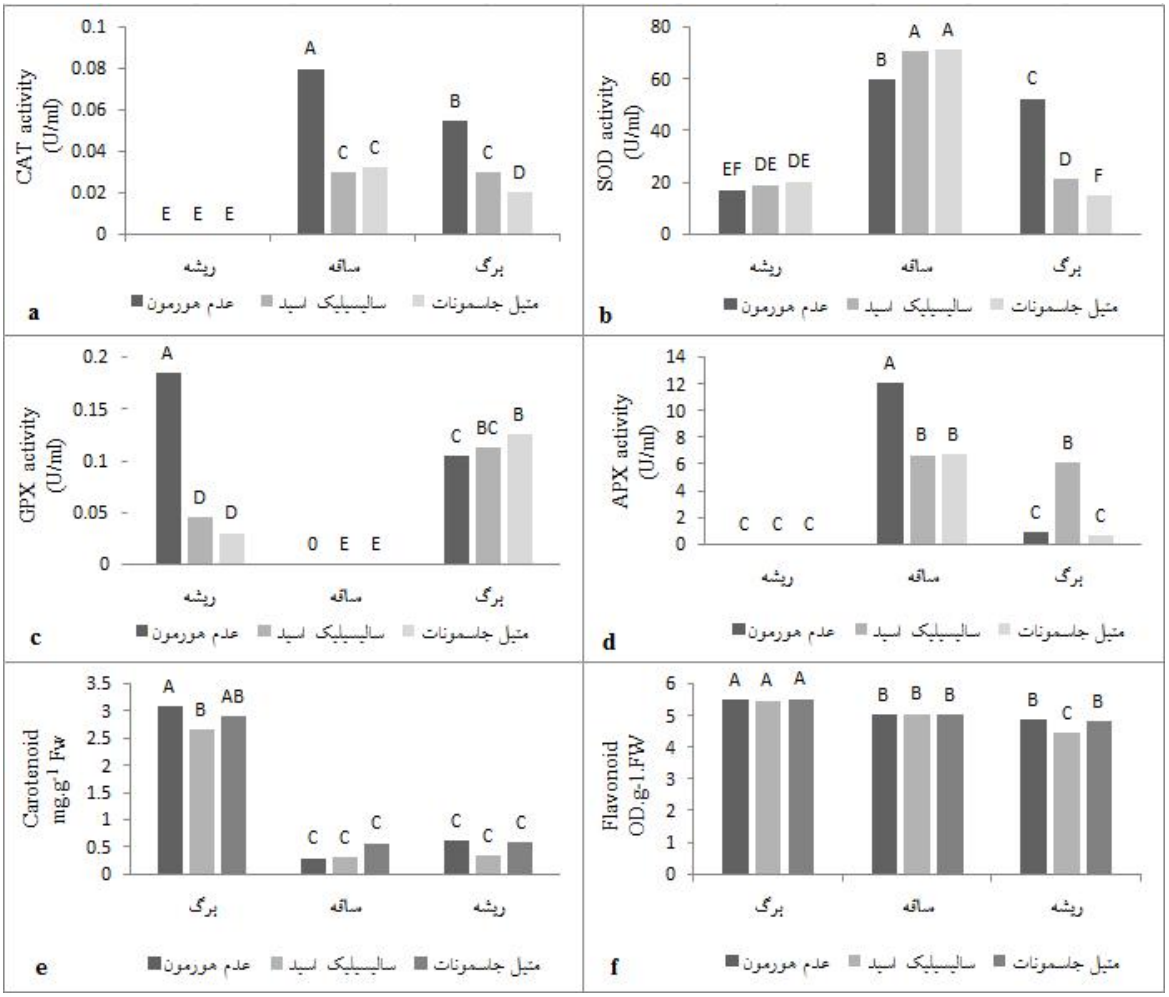


شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش×بافت در تغییرات میزان a) کاتالاز، b) سوپراکسید دیسموتاز، c) گایاکول پروکسیداز، d) آسکوربات پراکسیداز، e) کاروتنوئید و f) فلاونوئید در گیاه مامیران کبیر تحت تیمار با الیسیتورهای سالیسیلیک اسید و متیل‌جاسمونات در تنش شوری

حروف غیر مشابه روی هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل الیسیتور×بافت در تغییرات میزان a) کاتالاز، b) سوپراکسید دیسموتاز، c) گایاکول پروکسیداز، d) آسکوربات پراکسیداز، e) کاروتنوئید و f) فلاونوئید در گیاه مامیران کبیر تحت تیمار با الیسیتورهای سالیسیلیک اسید و متیل‌جاسمونات در تنش شوری

حروف غیر مشابه روی هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن می‌باشد.

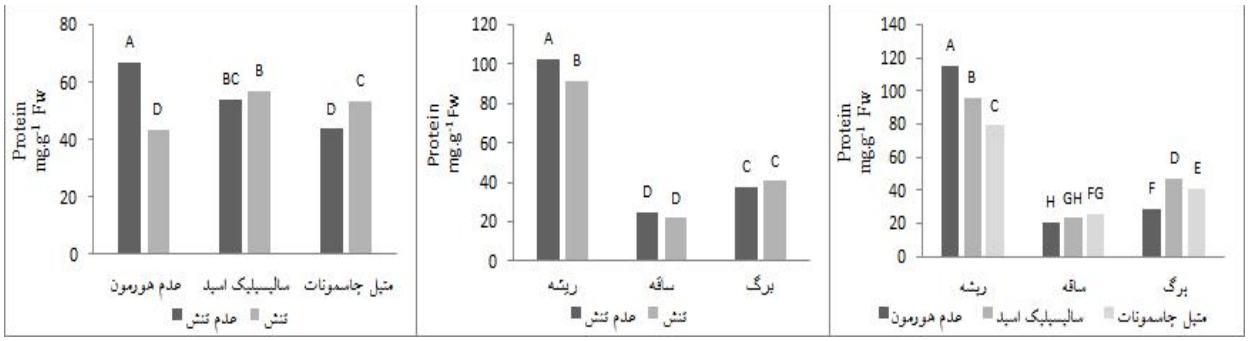
تأثیر متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک اسید بر روی رنگریزه‌های فتوسنتزی و غیرفتوسنتزی تحت تنش شوری

با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر ساده شوری، الیسیتور و بافت و همچنین اثرات دوگانه و سه‌گانه آنها تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ ($P\leq0.01$) بر محتوای کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید داشتند. در مقایسه میانگین اثر متقابل بافت× تنش (شکل ۵) مشخص شد که تنش شوری فقط میزان رنگریزه‌های فتوسنتزی را در برگ کاهش داد اما در ساقه و ریشه تغییر زیادی ایجاد نشد. در مقایسه میانگین اثر متقابل بافت× الیسیتور (شکل ۵) تیمار با متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک اسید باعث افزایش مقدار رنگیزه‌ها در برگ و ساقه گردید که این افزایش در

www.SID.ir

Archive of SID

تیمار با سالیسیلیک اسید بیشتر از متیل‌جاسمونات بود. در این تحقیق اثر اصلی تنش شوری اثر معنی داری بر میزان فلاونوئید و آنتوسیانین نداشت (جدول ۱). همچنین تیمارهای سالیسیلیک اسید و متیل‌جاسمونات اثر معنی‌داری بر میزان فلاونوئید نشان ندادند، اما میزان آن در سه بافت مورد مطالعه تفاوت معنی دار داشته و بیشترین میزان فلاونوئید به ترتیب در برگ، ساقه و ریشه مشاهده گردید. در مورد آنتوسیانین اثرات اصلی بافت و الیسیتور در سطح ۱٪ معنی دار بودند (جدول ۱) و بر اساس مقایسه میانگین اثر اصلی بافت (جدول ۲)، بیشترین میزان آنتوسیانین در بافت برگ مشاهده شد. همچنین با مقایسه میانگین اثر اصلی الیسیتور، مشخص شد که سالیسیلیک اسید نسبت به تیمار عدم هورمون (شاهد) باعث کاهش آنتوسیانین گردید، در حالی‌که متیل جاسمونات تغییری در میزان آنتوسیانین نسبت به شاهد ایجاد نکرد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل سه‌جانبه بافت× الیسیتور× تنش (جدول ۳) نشان داد که بیشترین میزان آنتوسیانین در ترکیب تیماری عدم تنش+ سالیسیلیک اسید و شوری+ متیل جاسمونات در بافت برگ بدست آمد. همچنین بیشترین مقدار فلاونوئید در ترکیب‌های تیماری عدم تنش+ متیل جاسمونات، عدم تنش+ سالیسیلیک اسید و شوری+ سالیسیلیک اسید در بافت برگ مشاهده شد.



شکل ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش×الیسیتور، تنش×بافت، الیسیتور×بافت، در تغییرات محتوای پروتئین کل در گیاه مامیران کبیر تحت تیمار با الیسیتورهای سالیسیلیک اسید و متیل‌جاسمونات در تنش شوری

حروف غیر مشابه روی هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

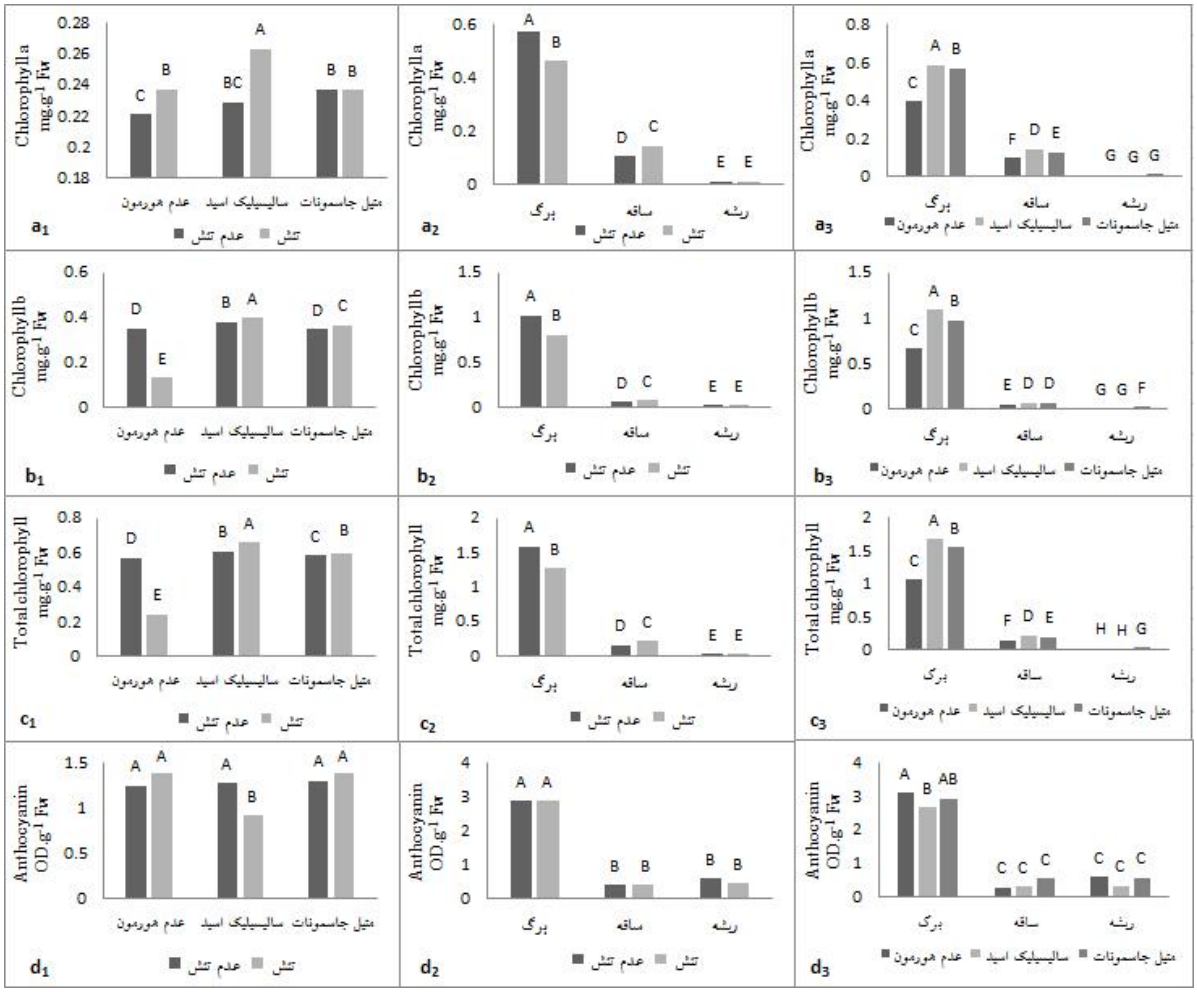
جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش×الیسیتور× بافت از نظر فاکتورهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در مامیران کبیر

تنش	الیسیتور	بافت	کاتالاز ($u.ml^{-1}$)	سوپراکسید دیسموتاز ($u.ml^{-1}$)	گایاکول پروکسیداز ($u.ml^{-1}$)	آسکوربات پراکسیداز ($u.ml^{-1}$)	پروتئین کل ($mg.g^{-1}FW$)	کلروفیل a ($mg.g^{-1}FW$)	کلروفیل b ($mg.g^{-1}FW$)	کلروفیل کل ($mg.g^{-1}FW$)	کاروتنوئید ($mg.g^{-1}FW$)	فلاونوئید ($OD.g^{-1}FW$)	آنتوسیانین ($OD.g^{-1}FW$)
عدم تنش		ریشه	۰/۰۰^{G}	۱۳/۹^{HI}	۰/۳^{A}	۰/۰۰^{F}	۱۳۶/۶^{A}	۰/۰۱۱^{I}	۰/۰۰۹^{I}	۰/۰۲^{LM}	۰/۰۵۸^{J}	۰/۷۴^{D}	۴/۹^{DE}
	عدم هورمون	ساقه	۰/۰۴^{C}	۷۵/۹^{C}	۰/۰۰^{H}	۵/۵۴^{D}	۲۵/۴^{IJK}	۰/۰۸۴^{H}	۰/۰۴^{GH}	۰/۱۲۳^{J}	۰/۰۵۲^{J}	۰/۲۶^{E}	۴/۹۹^{CDE}
		برگ	۰/۰۸^{B}	۱۸/۷^{GH}	۰/۱۶^{C}	۰/۵۷^{F}	۳۸/۲^{H}	۰/۵۷^{B}	۰/۹۹^{B}	۱/۵۶^{C}	۰/۳۷^{D}	۲/۷۶^{B}	۵/۵۵^{AB}
	سالیسیلیک اسید	ریشه	۰۰/۰۰^{G}	۱۷/۱^{GH}	۰/۰۶^{D}	۰/۰۰^{F}	۱۱۰/۸^{B}	۰/۰۰۵^{I}	۰/۰۰۳^{I}	۰/۰۱^{M}	۰/۰۲۲^{K}	۰/۳۳^{DE}	۴/۱۳^{F}
		ساقه	۰/۰۳^{DE}	۵۸/۵^{D}	۰/۰۰^{H}	۹/۶^{C}	۲۴/۵^{IJK}	۰/۱۰۱^{G}	۰/۰۵^{G}	۰/۱۵^{I}	۰/۰۵۷^{J}	۰/۲۵^{E}	۴/۸۸^{DE}
		برگ	۰/۰۳۵^{CD}	۳۷/۵^{F}	۰/۰۵۵^{DH}	۱/۲۷^{F}	۲۶/۲^{IJ}	۰/۵۸^{AB}	۱/۰۸^{A}	۱/۶۶^{B}	۰/۴۸^{B}	۳/۲۷^{A}	۵/۴۹^{AB}
	متیل‌جاسمونات	ریشه	۰/۰۰^{G}	۱۸/۸^{GH}	۰/۰۱۵^{GH}	۰/۰۰^{F}	۶۰/۳^{F}	۰/۰۱۲^{I}	۰/۰۱۴^{I}	۰/۰۳^{L}	۰/۰۶۶^{J}	۰/۶۸^{DE}	۴/۸۴^{DE}
		ساقه	۰/۰۲۵^{EF}	۷۹/۱^{BC}	۰/۰۰^{H}	۱۲/۱^{B}	۲۲/۷^{IJK}	۰/۱۳^{E}	۰/۰۶۶^{F}	۰/۲^{G}	۰/۱۲^{G}	۰/۶۴^{DE}	۴/۹۹^{CDE}
		برگ	۰/۰۲^{F}	۱۰/۹^{I}	۰/۰۲۵^{FG}	۰/۲۹^{F}	۴۷/۹^{G}	۰/۵۶^{B}	۰/۹۶۵^{C}	۱/۵۲^{D}	۰/۴۸^{B}	۲/۶۱^{B}	۵/۷^{A}
شوری	عدم هورمون	ریشه	۰/۰۰^{G}	۲۰/۵^{G}	۰/۰۷^{D}	۰/۰۰^{F}	۹۴/۴^{C}	۰/۰۱^{I}	۰/۰۰۷^{I}	۰/۰۲^{LM}	۰/۰۲^{K}	۰/۴۶^{DE}	۴/۸۲^{DE}
		ساقه	۰/۱۲^{A}	۴۳/۳^{E}	۰/۰۰^{H}	۱۸/۶^{A}	۱۵/۹^{L}	۰/۱۱۳^{FG}	۰/۰۵۳^{FG}	۰/۱۷^{H}	۰/۰۸^{I}	۰/۳۲^{DE}	۵/۰۴^{CDE}
		برگ	۰/۰۳^{DE}	۸۶/۲^{A}	۰/۰۵^{DEF}	۱/۲۸^{F}	۱۹/۷^{KL}	۰/۲۲۴^{C}	۰/۳۳^{D}	۰/۵۵^{E}	۰/۲۷^{E}	۳/۴۲^{A}	۵/۴۲^{AB}
	سالیسیلیک اسید	ریشه	۰/۰۰^{G}	۲۱^{G}	۰/۰۳^{EFG}	۰/۰۰^{F}	۸۱/۴^{D}	۰/۰۰۶^{I}	۰/۰۰۷^{I}	۰/۰۱۲^{LM}	۰/۱۰۳^{H}	۰/۳۶^{DE}	۴/۷۹^{E}
		ساقه	۰/۰۳^{DE}	۸۲/۸^{AB}	۰/۰۰^{H}	۳/۷^{E}	۲۰/۹^{JKL}	۰/۱۹^{D}	۰/۰۸۹^{E}	۰/۲۸^{F}	۰/۱۰۱^{H}	۰/۳۸^{DE}	۵/۲۱^{BCD}
		برگ	۰/۰۲۵^{EF}	۵/۱J	۰/۱۷^{C}	۱۰/۹۴^{BC}	۶۷/۹^{E}	۰/۵۹^{A}	۱/۰۹^{A}	۱/۶۸^{A}	۰/۵۴^{A}	۲/۰۴^{C}	۵/۴۶^{AB}
	متیل‌جاسمونات	ریشه	۰/۰۰^{G}	۲۱/۹^{G}	۰/۰۴۵^{DEF}	۰/۰۰^{F}	۹۷/۸^{C}	۰/۰۱۵^{I}	۰/۰۲۹^{H}	۰/۰۵^{K}	۰/۱۶^{F}	۰/۴۸^{DE}	۴/۸۴^{DE}
		ساقه	۰/۰۴^{C}	۶۳/۷^{D}	۰/۰۰^{H}	۱/۳۴^{F}	۲۸/۲^{I}	۰/۱۲^{EF}	۰/۰۶۵^{F}	۰/۱۹^{G}	۰/۰۹۸^{H}	۰/۴۹^{DE}	۵/۰۲^{CDE}
		برگ	۰/۰۲^{F}	۱۸/۶^{GH}	۰/۲۲۵^{B}	۰/۹۸^{F}	۳۳/۸^{H}	۰/۵۷^{B}	۰/۹۹^{B}	۱/۵۷^{C}	۰/۴۵^{C}	۳/۲^{A}	۵/۳۴^{ABC}

حروف مشابه در هر ستون برای هریک از صفات اختلاف آماری معنی‌دار ندارند.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۵- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش×الیسیتور، تنش×بافت، الیسیتور×بافت، در تغییرات میزان a) کلروفیل A، b) کلروفیل B، c) کلروفیل کل و d) آنتوسیانین در گیاه مامیران کبیر تحت تیمار با الیسیتورهای سالیسیلیک اسید و متیل‌جاسمونات در تنش شوری

حروف غیر مشابه روی هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن می‌باشد.

بحث

در تنش‌های محیطی ازجمله تنش شوری تغییرات شیمیایی زیادی رخ می‌دهد، که یکی از این تغییرات تولید انواع اکسیژن‌های فعال می‌باشد که از اثرات مخرب آنها، تخریب عمده غشاء، چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌باشد (Garratt *et al*., 2002). گیاهان در مقابله با این خسارت‌های سلولی، از سیستم آنتی‌اکسیدانی و آنزیم‌های دخیل در چرخه آسکوربات گلوتاتیون همانند گلوتاتیون ردکتاز استفاده می‌کنند (Baby & Jini, 2011). تغییرات میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان تحت تنش یک مکانیسم تحمل به شوری است، که این مکانیسم در کنار سایر ترکیب‌های سازگار کننده همانند پرولین و کربوهیدرات‌ها میزان تحمل گیاه را بالا می‌برد (Abo-Kassem, 2007).

www.SID.ir

Archive of SID

در این مورد در مطالعه‌ای که روی تیپ وحشی و جهش یافته گیاه آرابیدوپسیس (*Arabidopsis taliana*) انجام شد، سالیسیلیک اسید به‌عنوان برطرف‌کننده آسیب‌های اکسیداتیو معرفی شد (Metwally *et al*., 2003). تنش شوری سبب تبدیل رادیکال سوپراکسید به پراکسید هیدروژن در درون سلول می‌شود که بالا رفتن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان همانند کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز از اثرات سوء تشکیل پراکسید هیدروژن جلوگیری می‌کند (Shen *et al*., 1997). در واقع افزایش این آنزیم‌ها یک مکانیسم تحمل گیاه نسبت به تنش شوری می‌باشد. در آزمایش ما نیز میزان فعالیت کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز هنگام شوری افزایش یافت. در تحقیق Eskandari Zanjani و همکاران (۲۰۱۲)، سالیسیلیک اسید در گیاه درمنه خزری (*Artemisia annua*) سبب کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز نسبت به عدم آن مصرف شد که مشابه با نتایج این آزمایش می‌باشد، که این امر می‌تواند به این دلیل باشد که سالیسیلیک اسید از طریق تولید ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان فنولیک، به‌طور مستقیم در از بین بردن رادیکال‌های آزاد نقش داشته و با پاکسازی این گونه‌های فعال و کاهش اثرات تنش، از افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز جلوگیری می‌کند (Doulatabadian *et al*., 2008).

در تحقیق Eskandari Zanjani و همکاران (۲۰۱۲)، اثر متقابل سالیسیلیک اسید و شوری نشان داد که سالیسیلیک اسید در گیاه درمنه خزری در هر دو شرایط بدون تنش و تنش شوری موجب کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز شده که این نتیجه هم‌راستا با نتایج ما درباره فعالیت آنزیم کاتالاز می‌باشد. همچنین گزارش شده که سالیسیلیک اسید از طریق متصل شدن به آنزیم کاتالاز، سبب کاهش فعالیت آن در توتون (*Nicotiana rustica*) گردید (Chen *et al*., 1989). در توافق با نتایج این تحقیق در مورد فعالیت کاتالاز در برگ تحت تیمار سالیسیلیک اسید، در گزارشی دیگر بیان شده است که سالیسیلیک اسید باعث کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ و کشت سوسپانسیون تنباکو (*Nicotiana tabacum*) می‌شود (Conrath *et al*., 2002). در گیاه درمنه خزری نیز تحت تیمار سالیسیلیک اسید بیشترین فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در زمان عدم مصرف سالیسیلیک اسید مشاهده شده‌است (Eskandari Zanjani *et al*., 2012)، که مطابق با نتایج ما در استفاده از تیمار سالیسیلیک اسید بر فعالیت این آنزیم می‌باشد.

در این آزمایش آنزیم گایاکول پراکسیداز هنگام تنش شوری افزایش فعالیت نشان نداد. در گیاه تاتوره (*Datura stramonium*) نیز اثر متیل‌جاسمونات بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز مورد بررسی قرار گرفته و مشخص شد که متیل‌جاسمونات اثری بر فعالیت گایاکول پراکسیداز نداشته است (Hare & Walling, 2006)، در صورتی که در این تحقیق متیل‌جاسمونات باعث کاهش فعالیت این آنزیم در ماميران شد. تحقیقی بر روی گیاه جینسینگ (*Panax ginseng*) تحت تیمار سالیسیلیک اسید و متیل‌جاسمونات نشان داد که این تیمارها باعث افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز در روزهای سوم، پنجم و هفتم پس از اعمال، شدند (Babar *et al*., 2006). اما در تحقیق مشابه دیگری بر روی ریحان (*Ocimum basilicum*) تیمار متیل‌جاسمونات در غلظت و ساعات مختلف باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آسکوربات پراکسیداز نشد (Brocki Milan *et al*., 2016). مطابق با گزارشی که متیل‌جاسمونات باعث افزایش محتوای پروتئین در ریشه و ساقه کلزا (*Brassica napus*) شده است (Comparot *et al*., 2002)، در تحقیق ما نیز محتوای پروتئین تحت تیمار متیل‌جاسمونات در ساقه و برگ افزایش یافت.

البته رابطه مثبتی بین محتوای نسبی آب برگ و غلظت کلروفیل وجود دارد. به‌طوری که تحت شرایط شوری، به علت پایین آمدن پتانسیل اسمزی محیط ریشه، جذب آب با مشکل مواجه می‌شود. میزان آب بافت‌ها و سلول‌های برگ کاهش پیدا می‌کند و محتوای نسبی آب نیز کاهش می‌یابد. با کاهش محتوای نسبی آب، آنزیم کلروفیلاز، کلروفیل را تجزیه می‌کند، بنابراین

www.SID.ir

Archive of SID

رابطه مثبتی بین میزان کلروفیل و محتوای نسبی آب وجود دارد (Castrillo & Turujillo, 1994). این موضوع مطابق با نتیجه این آزمایش بود که تنش شوری موجب کاهش میزان کلروفیل a، b و کل گردید.

در مورد نقش متیل‌جاسمونات بر مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی نتایج متفاوتی توسط محققان گزارش شده‌است. متیل‌جاسمونات با فعال کردن یکسری از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در کلروپلاست مانع از تخریب کلروفیل شده و از این طریق از کاهش فتوسنتز جلوگیری می‌کند که این به‌صورت غیرمستقیم سبب تولید کربوهیدرات و دیگر مواد متابولیسمی مورد استفاده گیاه شده و باعث مقاومت گیاه به شرایط تنش می‌شود (Popova *et al*., 2003). در این تحقیق نیز تیمارهای متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک اسید در هنگام تنش شوری باعث افزایش عملکرد تمام رنگیزه‌های فتوسنتزی شدند. همچنین گزارش شده است که کاربرد متیل‌جاسمونات در شرایط تنش شوری سرعت فتوسنتزی را در نخودفرنگی (*Pisum sativum*) افزایش داده‌است (Fedina & Dimova, 2000). سالیسیلیک اسید هنگام تنش با افزایش آسیمیلاسیون، درصد فتوسنتز و افزایش جذب مواد معدنی توسط گیاهان تنش‌دیده باعث کاهش اثرات تنش ازجمله تنش شوری می‌گردد (Szepesi *et al*., 2005). در گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla*) تیمار سالیسیلیک اسید باعث افزایش توان آنتی‌اکسیدانی ازجمله کاروتنوئیدها شده که این موجب کاهش مقدار پراکسیداسیون لیپیدها و مقدار H_2O_2 و حفاظت بیشتر از غشاهای سلولی و رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌شود و از کاتابولیسم کلروفیل جلوگیری می‌کند (Costa *et al*., 2005). در توافق با دیگر یافته‌ها، در این تحقیق نیز تیمار با متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک اسید باعث افزایش مقدار رنگیزه‌ها در برگ و ساقه گردید که این افزایش در تیمار با سالیسیلیک اسید بیشتر از متیل‌جاسمونات بود. در این راستا در سیب‌زمینی شیرین (*Ipomoea batatas*)، تیمار با تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی باعث افزایش سرعت فتوسنتز در برگ شده‌است (Spence & Humphries, 1972).

آنتوسیانین از قدرت بالای جاروب‌کنندگی مولکول‌های اکسیدکننده به‌ویژه رادیکال‌های آزاد برخوردار است (Kong *et al*., 2003). قدرت آنتی‌اکسیدانی بالای آنتوسیانین به دلیل وجود اتم اکسونیوم در حلقه C است (Michalak, 2006). رادیکال‌های پراکسید برای تبدیل شدن به رادیکال‌های هیدروپراکسیل در سیتوزول به سرعت پروتونه می‌شوند یا توسط سوپراکسید دیسموتاز به H_2O_2 تبدیل و بعد به درون واکوئل آزاد شده و توسط آنتوسیانین جاروب می‌شوند (Yamamura *et al*., 1998). از سوی دیگر فلاونوئیدها ترکیب‌های طبیعی با ارزشی هستند که در مسیر فنل پروپانوئید بیوسنتز می‌شوند و توانایی جذب رادیکال‌های آزاد را دارند. در این تحقیق بیشترین میزان آنتوسیانین در ترکیب تیماری عدم تنش+ سالیسیلیک اسید و شوری+ متیل‌جاسمونات در بافت برگ بدست آمد. همچنین بیشترین مقدار فلاونوئید در ترکیب‌های تیماری عدم تنش+ متیل‌جاسمونات، عدم تنش+ سالیسیلیک اسید و شوری+ سالیسیلیک اسید در بافت برگ مشاهده شد. در این راستا در گیاه جینسینگ تیمار ۲۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید باعث افزایش میزان فلاونوئید در گیاه شده‌است (Ali *et al*., 2007). همچنین در هویج (*Daucus carota*) طی ۹ روز تیمار با غلظت ۲۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید، میزان آنتوسیانین کاهش یافت اما با گذشت ۲۱ روز مقدار آن افزایش یافت (Sudha & Ravishankar, 2003). در برگ‌های ذرت (*Zea mays*) نیز سالیسیلیک اسید اثر معنی‌داری بر میزان آنتوسیانین نداشته است (Kim *et al*., 2006).

در جمع‌بندی کلی، نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که متیل‌جاسمونات سبب افزایش کاروتنوئید، فلاونوئید و آنتوسیانین گردید. هر دو تیمار سالیسیلیک اسید و متیل‌جاسمونات باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گایاکول پراکسیداز تحت تنش شوری شدند. در ترکیب تیماری

www.SID.ir

Archive of SID

شوری+سالیسیلیک اسید+برگ بیشترین محتوای کلروفیل و کاروتنوئید مشاهده شد. همچنین بیشترین میزان آنتوسیانین و فلاونوئید به‌ترتیب در شوری+متیل‌جاسمونات+برگ و شوری+عدم هورمون+برگ مشاهده شد. میزان پروتئین کل نیز در شوری+سالیسیلیک اسید و شوری+متیل‌جاسمونات افزایش یافت.

منابع مورد استفاده

- Abo-Kassem, E.D.M., 2007. Effects of salinity: calcium interaction in growth and nucleic acid metabolism in five species of Chenopodiaceae. Turkish Journal of Botany, 31: 125-134.
- Ali, M.B., Hahn, E.J. and Paek, K.Y., 2007. Methyl jasmonate and salicylic acid induced oxidative stress and accumulation of phenolics in *Panax ginseng* bioreactor root suspension cultures. Molecules, 12: 607-621.
- Arnon, D., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplast: Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology, 24(1): 1-15.
- Babar, A.M., Yu, K.W., Hahn, E.J. and Paek, K.Y., 2006. Methyl jasmonate and salicylic acid elicitation induces ginsenosides accumulation, enzymatic and non-enzymatic antioxidant in suspension culture *Panax ginseng* roots in bioreactors. Biotic and Abiotic Stress, 25: 613-620.
- Baby, J. and Jini, D., 2011. Development of salt stress tolerance plants by gene manipulation of antioxidant enzymes. Asian Journal of Agricultural Research, 5: 17-27.
- Balazova, A., Bilka, F., Blanarikova, V. and Bilkova, A., 2008. Effect of salt stress on content of prolin, sanguinarine formation and polyphenol oxidase activity in poppy seedlings. Acta Facultatis Pharmaceuticae Universitatis Comenianae, 55: 51-57.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248-254.
- Brocki Milan, A., Hasani, L., Abdollahi-Mandolkani, B., Darvishzadeh, R., Kheradamand, F. and Hasani, A., 2016. The effect of different methyl-jasmonate concentrations on antioxidant activity and total protein content in basil. Agricultural Crop, 18(1): 103-115.
- Castrillo, M. and Turujillo, I., 1994. Ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase activity and chlorophyll and protein contents in two cultivars of French bean plants under water stress and rewatering. Photosynthtica Journal, 30: 175-181.
- Chen, G.X. and Asada, K., 1989. Ascorbate peroxidase in tea leaves: occurrence of two isozymes and the differences in their enzymatic and molecular properties. Plant Cell Physiology, 30: 987-998.
- Creelman, R.A., Tierney, M.L. and Mullet, J.E., 1992. Jasmonic acid/methyl jasmonate accumulate in wounded soybean hypocotyls and modulate wound gene expression. Proceedings of the National Academy of Sciences, 89: 4938-4941.
- Costa, M., Civell, P.M., Chaves, A.R. and Martinez, G.A., 2005. Effects of ethephon and 6-benzylaminopurine on chlorophyll degrading enzymes and a peroxidase- linked chlorophyll bleaching during post- harvest senescence of modulated protein phosphatase. Plant Science, 264: 1448-1452.
- Comparot, S.M., Graham, C.M. and Reid, D.M., 2002. Methyl jasmonate elicits a differential antioxidant response in light and dark grown canola (*Brassica napus*) roots and shoots. Journal of Plant Growth Regulation, 38: 21-30.
- Conrath, U., Pieterse, C.M.J. and Mauch-Mani, B., 2002. Priming in plant–pathogen interactions. Trends in Plant Science, 7: 210-216.
- Colombo, M. and Bosisio, E., 1996. Pharmacological activities of *Chelidonium majus* L. (Papaveraceae). Pharmaceutical Research, 127: 33-34.
- Demelo, J.G., Santos, A.G., De Amorim, E.L.C., Do Nascimento, S.C. and De Albuquerque, U.P., 2011. Medicinal plant used as antitumor agents in Brazil: an ethnobotanical approach. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 1-14.
- Dhindsa, R.S., Plump-Dhindsa, P. and Thorpe, T.A., 1981. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. Journal of Experimental Botany, 32: 93-101.
- Doulatabadian, A., Modarres Sanavi, S.A.M. and Etemadi, F., 2008. Effect of pretreatment of salicylic acid on wheat (*Trittcum aestivum* L.) seed germination under salt stress. Iranian Journal of Plant Biology, 692-702.
- Eskandari Zanjani, K., Shirani-Rad, A.M., Moradi-Aghdam, A. and Taherkhani, T., 2012. Effect of salicylic acid application in salt stress conditions on physiological and morphological characteristics of *Artemisia annua* L. Ecophysiology of Crops, 4(24): 415-427.

www.SID.ir

Archive of SID

- Fathi, G.A. and Esmailpour, B., 2000. Plant growth regulator (principles and application). Translation, Mashhad University Press, 130p.
- Fedina, I.S. and Dimova, L.M., 2000. Methyl jasmonate-induced polypeptides in *Pisum sativum* roots soluble proteins. Journal of Physiology Desert Plants, 53(10): 59-65.
- Garratt, L.C., Janagoudr, B.S., Lowe, K.C., Anthony, P., Power, J.B. and Davey M.R., 2002. Salinity tolerance and antioxidant status in cotton cultures. Free Radical Biology and Medicine, 33(4): 502-511.
- Hare, J.D. and Walling, L.L., 2006. Constitutive and jasmonate-inducible traits of datura wrightii. Journal of Chemical Ecology, 32: 29-45.
- Heydari, M., Egyptian, F. and Kikha, Z., 2009. Investigation on the effect of salinity stress on nucleic acid metabolism, antioxidant enzyme activity, chlorophyll fluorescence and osmotic regulation of five canola cultivars. Iranian Journal of Crop Sciences, 41(3): 199-212.
- Kang, H.M. and Saltveit, M.E., 2002. Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling leaves and roots are differentially affected by salicylic acid. Physiologia Plantarum, 115: 571-578.
- Kim, J.S., Lee, B.H., Kim, S.H., Ok, K.H. and Cho, K.Y., 2006. Response to environmental and chemical signals for anthocyanin biosynthesis in nonchlorophyllous corn (*Zea mays* L.) leaf. Journal of Plant Biology, 49: 16-25.
- Kong, J.M., Chia, L.S., Goh, N.K., Chia, T.F. and Brouillard, R., 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. Phytochemistry, 64: 923-933.
- Li, L., van Staden, J. and Jager, A.K., 1998. Effect of plant growth regulators on the antioxidant system in seedling of two maize cultivars subjected to water stress. Plant Growth Regulation 25: 81-87.
- Maehly, A.C. and Chance, B., 1959. The assay of catalase and peroxidase: 357-425. In: Glick, D., (Ed.). Methods of Biochemical Analysis (Vol. 1). Inter-science Publishers, New York, 502p.
- Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M. and Dietz, K.J., 2003. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in *Hordeum vulgare*. Biological Research, 1: 40-48.
- Michalak, A., 2006. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal Stress. Polish Journal of Environmental Studies, 15: 523-530.
- Mozaffarian, V.A., 2012. Identification of Medicinal and Aromatic Plants of Iran. Farhang Moaser Publishing, 1444p.
- Nogues, S. and Baker, N.R., 2000. Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean plants growth under enhanced UV-B radiation. Journal of Experimental Botany, 51: 1309-1317.
- Popova, L., Ananieva, E., Hristova, V., Christov, K., Georgieva, K., Alexieva, V. and Stoinova, Z.H., 2003. Salicylic acid and methyl jasmonate induced protection on photosynthesis to paraquat oxidative stress. Bulgarian Journal of Plant Physiology, 18: 133-152.
- Shen, B., Jensen, R.G. and Bohnert, H.J., 1997. Mannitol protects against oxidation by hydroxyl radicals. Plant Physiology, 115: 527-532.
- Spence, J.A. and Humphries, E.C., 1972. Effect of moisture supply, root temperature and growth regulators on photosynthesis of isolated root and leaves of sweet potato (*Ipomoea batata*). Journal of Annals of Botany, 36: 115-121.
- Sudha, G. and Ravishankar, G.A., 2003. Influence of methyl jasmonate and salicylic acid in the enhancement of capsaicin production in cell suspension cultures of *Capsicum frutescens* Mill. Current Science, 85: 1212-1217.
- Szepesi, A., Csiszar, J., Bajkan, S. Gemes, K., Horvath, F., Erdei, L., Deer, A.K., Simon, M.L. and Tari, I., 2005. Role of salicylic acid pre-treatment on the acclimation of tomato plants to salt and osmotic stress, Acta Biologica Szegediensis, 49: 123-125.
- Tome, F. and Colombo, M.L., 1995. Distribution of alkaloids in *chelidonium majus* and factors affecting their accumulation. Phytochemistry, 40: 37-39.
- Upadhyaya, A., Sankhla, D., Davis, T.D., Sankhla, N. and Smith, B.N., 1985. Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. Jouranal of Plant Physiology, 121: 453-461.
- Venkatesh, K., Govindaraj, S., Ramachandran, A., Kalimuthu, S. and Perumal, E.V., 2011. Effect of ukrain on cell survival and apoptosis in the androgen-independent prostate cancer cell line PC-3. Environ Pathol Toxicol Oncol, 30: 11-19.
- Yamamura, S., Ozawa, K., Ohtani, K., Kasai, R. and Yamasaki, K., 1998. Antihistaminic flavones and aliphatic glycosides from *Mentha spicata*. Phytochemistry, 48: 131-136.
- Yu, L.J., Lan, W.Z., Qin, W.M. and Xu, H.B., 2001. Effects of salicylic acid on fungal elicitor induced membrane-lipid peroxidation and Taxol production in cell suspension cultures of *Taxus chinensis*. Process Biochemistry, 37: 477-482.

www.SID.ir

Archive of SID

The effect of salicylic acid and methyl-jasmonate on antioxidant properties and physiological traits of greater celandine (*Chelidonium majus* L.) under salinity stress

S. Fabriki-Ourang[1*] and H. Sadat Shahabzadeh[2]

1*- Corresponding author, Department of Production and Plant Breeding, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran, E-mail: s.ourang910@gmail.com
2- M.Sc. student, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran

Received: November 2017 Revised: January 2018 Accepted: February 2018

Abstract

In this study, the effects of salicylic acid and methyl jasmonate as two inducers were studied on antioxidant activity, photosynthetic pigments and flavonoids under salinity stress in *Chelidonium majus* L. This experiment was conducted as a factorial in a completely randomized design with four replications at Imam Khomeini International University during 2017. The elicitors were treated as foliar and mixed with irrigation. The factors studied included elicitors at three levels (distilled water as control, 2 mM salicylic acid, and 100 µM methyl jasmonate), salinity stress at two levels, urban water as control (EC=0.62 ds/m), salinity at 30 mM NaCl (EC=3.36 ds/m), and plant organs at three levels (leaf, root, stem). The analysis of variance showed that the main effects of salinity, elicitors, organs and their interactions were significant for most of the traits. The results of mean comparison for elicitors showed that methyl jasmonate increased carotenoid, flavonoids and anthocyanin. Both salicylic acid and methyl-jasmonate treatments reduced the amount and activity of catalase, superoxide dismutase and guaiacol peroxidase enzymes under salinity stress. In mean comparison of the triple interaction effects, salinity+salicylic acid+leaf was the best combination of factors for chlorophyll (1.68 $mg.g^{-1}$ FW) and carotenoid (0.54 $mg.g^{-1}$ FW) contents. Also, the maximum content for anthocyanin (5.7 $OD.gr^{-1}$ FW) was observed in non-salinity+methyl jasmonate+leaf and for flavonoids in salinity+non-hormone (3.42 $OD.gr^{-1}$ FW), non-salinity+salicylic acid (3.27 $OD.gr^{-1}$ FW) and salinity+methyl jasmonate (3.2 $OD.gr^{-1}$ FW) in leaf, respectively. The amount of total protein increased in salinity+salicylic acid (56.72 $mg.g^{-1}$ FW) and salinity+methyl jasmonate (53.27 $mg.g^{-1}$ FW) in contrast to reduction in salinity+non-hormone (43.35 $mg.g^{-1}$ FW). In conclusion, by applying the two mentioned elicitors, greater celandine does not need to increase the antioxidant defense system and will potentially improve the yield of biomass and some secondary metabolites under salinity stress.

Keywords: Elicitor, photosynthetic pigments, superoxide dismutase, catalase, guaiacol peroxidase.

www.SID.ir