

## بررسی اثر نمک، ژیرلین و آسکوبات بر جوانه زنی، رشد و اثر آنتی اکسیدانی دانه رست جو (*Hordeum vulgare* L.)

\*مریم نیاکان<sup>۱</sup>، وحیده رشیدزاده<sup>۱</sup>، عباسعلی نوری‌نیا<sup>۲</sup>

۱. دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

۲. مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

### چکیده

در استرس‌های مختلف از جمله استرس شوری، اکسیدان‌هایی نظیر انواع اکسیژن واکشگر تولید می‌شود که به ساختار غشای در گیاه آسیب می‌رساند. در بین آنتی اکسیدان‌ها، آسکوبات دارای نقش حیاتی در سلول‌های زنده است و سبب از بین رفتن اکسیژن واکشگر می‌شود. در بین هورمون‌ها نیز هورمون ژیرلین دارای نقش‌های متعددی می‌باشد که بستگی به نوع ژیرلین، غلظت و نوع گونه گیاهی دارد. در این تحقیق دانه جو (رقم ۴۲۲) با غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم (۳۵۰mM و ۱۵۰)، آسکوبات ۱mM و ژیرلین (۴۰۰ و ۲۰۰ ppm) تیمار شدند و اثر آن بر روی درصد جوانه زنی، طول وزن تر، خشک، طول ریشه‌چه و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نظیر کاتالاز، پلی فنل اکسیداز، آسکوبات پراکسیداز، پراکسیداز و میزان ترکیبات فنلی ارزیابی شد. نتایج حاصل نشان داد درصد جوانه زنی در حضور نمک کلرید سدیم، به خصوص در غلظت ۳۵۰mM کاهش یافت ولیکن در حضور آسکوبات، ژیرلین و نمک، درصد جوانه زنی و طول ریشه‌چه افزایش معنی‌داری حاصل کرد. در فقدان آسکوبات، ژیرلین و در حضور نمک کلرید سدیم، میزان فعالیت کاتالاز، پراکسیداز کاهش و پلی فنل اکسیداز و آسکوبات پراکسیداز افزایش یافت. همچنین نمک کلرید سدیم موجب کاهش ترکیبات فنلی در دانه رست جو شد، اما با افزایش آسکوبات و ژیرلین میزان آنها افزایش یافت.

**کلمات کلیدی:** آسکوبات، آنزیم‌های آنتی اکسیدان، ترکیبات فنلی جو، رشد، تنش شوری

### مقدمه

دارای نقش‌های متعددی می‌باشند. ژیرلین سبب تحریک جوانه زنی دانه‌ها شده (Frantz et al., 2002) و سبب انتقال از مرحله جوانی به بلوغ، تحریک تشکیل میوه، تحریک گل‌دهی، تحریک رشد ساقه، تظاهر جنسیت، شکستن خفتگی دانه و به تأخیر انداختن پیری می‌شود (Handa et al., 1996). آسکوبات یکی از آنتی اکسیدان‌های قوی می‌باشد که در اکثر سلول‌های گیاهی و اندامک‌هایی نظیر کلروپلاست

هورمون‌های گیاهی، ترکیباتی هستند که به مقدار کم در یک اندام گیاه ساخته می‌شوند و در جای دیگر تأثیر می‌گذارند. جایگاه بیوستز ژیرلین، مریستم انتهایی ساقه، ریشه، برگ‌های جوان، رویان، ریشه، دانه و میوه‌های در حال نمو می‌باشد. ژیرلین‌ها در قارچ‌ها، سرخس‌ها، نهاندانگان، بازدانگان و برخی از باکتری‌ها یافت می‌شوند. ژیرلین‌ها

شوری افزایش معنی داری می یابد و آسکوربات از طریق کاهش ROS سبب کاهش فعالیت آنزیم های نامبرده می شود (Parrida et al., 2004).

کاربرد اسید ژیرلیک اگزوزن، فعالیت کاتالاز و پراکسیداز را کاهش می دهد (Singh and Ram, 1997). همچنین ژیرلین توانایی سلول برای حذف انواع اکسیژن واکنشگرا کاهش می دهد که این کاهش منجر به آسیب اکسیداتیو و مرگ سلولی می شود (Goldthwaite & Letsch, 1968).

استرس شوری در دانه رسته های جو سبب افزایش ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها و کاهش رشد می شود. ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها نقش های فیزیولوژیکی و اکولوژیکی مهمی را ایفا می کنند. یکی از این نقش ها مقاومت در برابر انواع استرس ها می باشد و برخی از مطالعات نشان داده است آنزیم پلی فنل اکسیداز در پاسخ به تنش های زیستی و غیرزیستی افزایش می یابد. در گیاهانی که با کلرید سدیم ۱۰۰ میلی مول و سپس با فینل اوره تیمار شدند ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها در اندام هوایی کاهش، ولی مقدار پلی فنل اکسیداز افزایش یافت. اما در مورد ریشه محتوای ترکیبات فنلی کاهش و مقدار فلاونوئیدها و پلی فنل اکسیداز افزایش یافت (Abbas & Ali, 2003).

تحقیقات متعددی راجع به اثر ژیرلین بر ترکیبات فنلی انجام شده است. به عنوان مثال گزارش شده است که اسید ژیرلیک بر کاهش مقدار فنل ایجاد شده بوسیله تنش شوری و آبی تاثیر می گذارد. همچنین این هورمون مقدار آگلیکون فنل را افزایش داده، اما این افزایش کم و بیش، توسط کاهش محتوای گلیکوزیدها جبران می شود. اسید ژیرلیک می تواند هیدرولیز گلیکوزیدهای فنلی را به آگلیکون فنل و قند آزاد تحریک کند (Allakhverdiev et al., 1994).

هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر غلظت های مختلف نمک ژیرلین و آسکوربات بر درصد جوانه زنی، طول ریشه چه، میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی دانه جو رقم ۴۲۲۲ تحت تنش شوری می باشد.

وجود دارد (Detullio, 2000). آسکوربات به عنوان یک ترکیب مهم در رفع سمیت ناشی از انواع اکسیژن واکنشگر (ROS) نقش دارد (Smirnoff et al., 2001) و به طور مستقیم رادیکال های سوپر اکسید و هیدروکسیل را حذف و  $H_2O_2$  را با کمک آسکوربات پراکسیداز به آب احیا می کند (Potters et al., 2002). تحقیقات نشان داده است که این اسید آلی به عنوان یک سوپسترا در سنتز اسیدهای تارتاریک و اگزالیک بکار گرفته می شود (Thomas et al., 1992). علاوه بر این اسید آسکوربیک بسیاری از فعالیت های غیر آنتی اکسیدانی را نیز به عهده دارد. به عنوان مثال در تنظیم چرخه سلولی از فاز  $G_1$  به  $S$  و نیز تقسیم سلولی موثر است و رشد طولی سلولها را کنترل می کند (Detullio et al., 1999). تحقیقات نشان داده که تنش شوری فرایند پیچیده ای می باشد که منجر به تشکیل گونه های اکسیژن فعال (ROS) می گردد، اغلب سمی بوده و متابولیسم طبیعی سلولها را از طریق خسارت های اکسیداتیو به لیبیدها، غیرفعال شدن آنزیم ها و اسیدهای نوکلئیک بر هم می زند (Bar et al., 2003).

در تنش شوری فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی، به عنوان بخشی از مکانیسم حفاظتی فعال می شود (Khan et al., 2004). تحقیقات نشان داده است که بسیاری از گونه های گیاهان در شرایط غیر شور، بهترین درصد جوانه زنی را داشته و با افزایش شوری جوانه زنی آنها کاهش می یابد (Gulzar, 2002). میزان جوانه زنی به شکل خطی با افزایش شوری در برخی گیاهان کاهش می یابد (Zia and Khan, 2002).

آسکوربات با حذف اکسیژن فعال باعث افزایش جوانه زنی می شود (Ogawa et al., 2001). ژیرلین سبب تشکیل سیستم درون غشایی و سنتز نوع جدیدی از mRNA که در تنظیم سنتز پروتئین مورد نیاز جوانه زنی بکار می رود، می گردد و بدین وسیله بر جوانه زنی اثر می گذارد (Tripathi & Gomurgen, 2000). عنوان شده است که فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان نظیر کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز طی تنش

## مواد و روش‌ها

در ابتدا بذر جو رقم ۴۲۲۲ با آب ژاول ۳ درصد به مدت ۳ دقیقه ضد عفونی و سپس در پلیت‌های استریل در ژرمیناتور در دمای ۲۳ درجه سانتی گراد قرار داده شد. در این آزمایش دو غلظت از ژیرلین (۴۰۰ و ۲۰۰ ppm) و یک غلظت از آسکوربات ۱ (میلی مول) و دو غلظت از نمک کلرید سدیم (۳۵۰ و ۱۵۰ mM) به همراه آب مقطر به عنوان شاهد جهت تیمار دانه‌های جو با توجه به نتایج پیش آزمایش در نظر گرفته شد. دانه‌های جو یک روز در میان با غلظت‌های مختلفی از نمک کلرید سدیم (۱۵۰ و ۳۵۰ میلی مول) و آسکوربات ۱ میلی مول و ژیرلین (۴۰۰ ppm و ۲۰۰) به میزان ۴/۵ میلی لیتر (۱/۵ میلی لیتر نمک و ۱/۵ میلی لیتر آسکوربات و ۱/۵ میلی لیتر ژیرلین) تیمار شدند. برای تعیین درصد جوانه‌زنی تا ۴ روز وضعیت جوانه‌زنی دانه‌ها بررسی و درصد جوانه‌زنی محاسبه شد. دانه‌هایی که طول ریشه چه آنها کمتر از ۱ سانتی متر بود به عنوان بذرهای جوانه زده در نظر گرفته شدند. از بذرهای ۴ روزه برای سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پلی فنل اکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز استفاده شد. به این ترتیب که از هر پلیت یک گرم بذرانتخاب و با ۴ میلی لیتر محلول عصاره‌گیری شامل ۱/۲ گرم تریس، ۲ گرم اسید آسکوربیک و ۳/۸ گرم بوراکس، ۲ گرم EDTANa و ۵۰ گرم پلی اتیلن گلیکول ۲۰۰۰ و در حجم ۱۰۰ میلی لیتر همگن شدند. سپس محلول‌های تهیه شده به مدت ۲۴ ساعت در یخچال و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از ۲۴ ساعت هر کدام از محلول‌های تهیه شده در دور ۴۰۰۰g به مدت نیم ساعت سانتریفوژ گردید. محلول بالایی که بسیار شفاف بود برای سنجش فعالیت آنزیم‌های مورد استفاده قرار گرفت. سپس

میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های نامبرده خوانده شد. فعالیت آنزیم کاتالاز بر حسب واحد  $\text{ODmin}^{-1}\text{g}^{-1}\text{Fw}$  به روش Chance & Maehly (۱۹۹۵)، فعالیت پراکسیداز به روش Koroï (۱۹۸۹)، فعالیت پلی فنل اکسیداز به روش Manoranjan & Dinabandhu (۱۹۷۵) و فعالیت آسکوربات پراکسیداز به روش Arrigoni (۱۹۹۲) و همکاران و واحد  $\text{ODmin}^{-1}\text{g}^{-1}\text{Fw}$  مورد سنجش قرار گرفت. جهت سنجش ترکیبات فنلی نیز از روش Matta و همکاران (۱۹۶۳) استفاده شد.

## محاسبات آماری

در این آزمایش محاسبات آماری در طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار برای هر تیمار توسط نرم افزار SAS انجام شد. مقایسه بین تیمارها و شاهد بر اساس آزمون دانکن در سطح  $p < 0.05$  انجام گرفت و شکل‌ها نیز با نرم افزار Excel رسم گردید.

## نتایج

## اثر تیمارهای مختلف نمک، آسکوربات و ژیرلین

## بر درصد جوانه‌زنی

پس از گذشت ۲۴ ساعت کمترین میزان جوانه‌زنی مربوط به نمک کلرید سدیم ۳۵۰mM، بیشترین جوانه‌زنی مربوط به نمک ۱۵۰mM، آسکوربات ۱mM و ژیرلین ۴۰۰ ppm بود. در روز دوم هم بیشترین جوانه‌زنی در حضور نمک ۳۵۰mM، آسکوربات ۱mM، ژیرلین ۴۰۰ppm و کمترین جوانه‌زنی در حضور نمک ۳۵۰mM رخ داد. در روز سوم کمترین درصد جوانه‌زنی مربوط به تیمار ۳۵۰mM بود و درمان تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱).

جدول ۱: اثر مقادیر مختلف نمک کلرید سدیم (۱۵۰ و ۳۵۰ میلی مولار)، آسکوربات ۱ میلی مولار و ژیریلین ۲۰۰ و ۴۰۰ پی پی ام بر درصد جوانه زنی دانه جو  
خطای استاندارد=SE. حروف مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار و حروف نا مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح  $p<0.05$

روز اول			روز دوم			روز سوم			تیمار		
حروف	SE	±	میانگین	حروف	SE	±	میانگین	حروف			
a	۰,۰۹۱	±	۹,۰۶۴	a	۰,۱۷۱	±	۹,۸۵۴	a	۰,۱۷۱	±	۹,۸۵۴
d	۰,۳۷۱	±	۴,۶۷۹	c	۰,۲۵۸	±	۸,۴۸۷	b	۰,۴۳۲	±	۸,۶۶۸
e	۰,۰۰۰	±	۰,۷۰۷	e	۰,۰۰۰	±	۰,۷۰۷	d	۰,۵۴۶	±	۱,۷۹۹
b	۰,۴۸۹	±	۸,۷۵۷	a	۰,۴۱۰	±	۹,۴۹۶	a	۰,۳۵۱	±	۹,۶۷۴
ab	۰,۲۷۵	±	۸,۹۶۴	a	۰,۳۱۵	±	۹,۴۱۵	a	۰,۰۸۴	±	۹,۹۴۱
a	۰,۲۴۳	±	۹,۱۵۰	a	۰,۱۴۸	±	۹,۷۷۰	a	۰,۰۸۴	±	۹,۹۴۱
d	۰,۳۲۱	±	۴,۵۰۵	d	۰,۴۳۱	±	۶,۷۱۸	c	۰,۳۸۶	±	۷,۶۵۱
c	۰,۶۵۲	±	۶,۶۸۲	b	۰,۳۳۷	±	۹,۰۵۲	ab	۰,۴۲۲	±	۹,۲۲۷
c	۰,۲۴۷	±	۶,۸۵۹	a	۰,۰۸۹	±	۹,۳۳۵	a	۰,۰۸۶	±	۹,۶۸۶

اثر تیمارهای مختلف نمک، آسکوربات و ژیریلین بر

طول وزن تر و خشک ریشه چه

کمترین طول ریشه چه مربوط به نمک ۳۵۰mM بود.

بیشترین طول ریشه چه در شاهد مشاهده شد. بین تیمارهای

نمک (۱۵۰mM و ۳۵۰) و ترکیبی از نمک (۱۵۰mM و ۳۵۰)

و آسکوربات ۱mM و ژیریلین (۴۰۰ و ۲۰۰) اختلاف

معنی داری دیده شد. بین تیمارهای نمک ۱۵۰mM و ۳۵۰mM

تفاوت معنی داری مشاهده نشد کمترین وزن تر نیز در نمک

۳۵۰mM و بیشترین آن در آب مقطر دیده شد. در مورد وزن

خشک نیز بیشترین مقدار مربوط به ۳۵۰ mM و کمترین آن در

نمک ۱۵۰mM، آسکوربات و ژیریلین ۲۰۰ ppm دیده شد

(جدول ۲).

جدول ۲: اثر مقادیر مختلف نمک کلرید سدیم (۱۵۰ و ۳۵۰ میلی مولار)، آسکوربات ۱ میلی مولار و ژیریلین ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm

بر طول ریشه چه (سانتی متر) وزن تر و خشک ریشه چه (گرم) دانه رست جو

(SE=خطای استاندارد، حروف مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار و حروف نا مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح  $p<0.05$ )

تیمار	طول ریشه چه			وزن تر			وزن خشک					
	حروف	SE	±	میانگین	حروف	SE	±	میانگین	حروف	SE	±	میانگین
آب مقطر	a	۰,۱۷۵	±	۳,۰۷۰	a	۰,۰۱۴	±	۰,۱۷۶	b	۰,۰۰۱	±	۰,۰۳۴
نمک ۱۵۰	f	۰,۰۲۰	±	۰,۵۳۰	d	۰,۰۰۴	±	۰,۱۰۵	b	۰,۰۰۰	±	۰,۰۳۴
نمک ۳۵۰	g	۰,۰۰۰	±	۰,۰۱۰	e	۰,۰۰۳	±	۰,۰۶۸	a	۰,۰۰۲	±	۰,۰۳۸
نمک ۱۵۰ و آسکوربات	d	۰,۱۰۴	±	۱,۲۱۰	c	۰,۰۰۱	±	۰,۱۴۴	a	۰,۰۰۳	±	۰,۰۳۶
نمک ۱۵۰، آسکوربات و ژیرلین ۲۰۰	d	۰,۲۱۶	±	۱,۵۳۰	b	۰,۰۰۳	±	۰,۱۵۰	c	۰,۰۰۰	±	۰,۰۳۱
نمک ۱۵۰، آسکوربات و ژیرلین ۴۰۰	b	۰,۰۱۸	±	۲,۵۸۳	c	۰,۰۱۲	±	۰,۱۳۴	d	۰,۰۰۳	±	۰,۰۲۸
نمک ۳۵۰ و آسکوربات	e	۰,۱۱۰	±	۰,۳۳۰	d	۰,۰۱۳	±	۰,۰۹۴	c	۰,۰۰۳	±	۰,۰۳۰
نمک ۳۵۰، آسکوربات و ژیرلین ۲۰۰	c	۰,۲۴۸	±	۱,۸۲۳	c	۰,۰۱۴	±	۰,۱۳۲	ab	۰,۰۰۴	±	۰,۰۳۵
نمک ۳۵۰، آسکوربات و ژیرلین ۴۰۰	c	۰,۲۷۲	±	۱,۸۵۰	d	۰,۰۰۵	±	۰,۱۲۵	a	۰,۰۰۱	±	۰,۰۳۷

## اثر تیمارهای مختلف نمک و آسکوربات و ژیرلین بر

## فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی

کاتالاز: نتایج حاصل از این تحقیق با تیمارهای مختلف

نمک و آسکوربات و ژیرلین نشان داد که در حضور نمک ۳۵۰mM میزان فعالیت کاتالاز کاهش یافته و تفاوت معنی‌داری با نمک ۱۵۰mM ندارد. در حضور غلظت ترکیبی از نمک ۱۵۰mM، آسکوربات ۱mM و ژیرلین ۴۰۰ ppm میزان فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافته و تفاوت معنی‌داری با غلظت ترکیبی نمک ۱۵۰mM، آسکوربات ۱mM و ژیرلین ۳۵۰ ppm دارد. بین نمک ۳۵۰mM با غلظت ترکیبی از نمک ۳۵۰mM، آسکوربات ۱mM و ژیرلین (۴۰۰ و ۲۰۰) تفاوت معنی‌داری دیده شد (جدول ۳).

پراکسیداز: در این تحقیق بیشترین فعالیت آنزیم در غلظت ترکیبی از نمک ۱۵۰mM، آسکوربات ۱mM و ژیرلین ۲۰۰ ppm مشاهده گردید. فعالیت آنزیم در نمک (۱۵۰mM و ۳۵۰) با غلظت ترکیبی از نمک (۲۰۰ و ۴۰۰ ppm) تفاوت معنی‌داری نشان داد به طوریکه به میزان قابل توجهی فعالیت آنزیم افزایش یافت (جدول ۳).

آسکوربات پراکسیداز: در این تحقیق بیشترین فعالیت آنزیم در نمک ۱۵۰mM مشاهده گردید. فعالیت آنزیم در غلظت‌های ترکیبی از نمک ۱۵۰mM، آسکوربات ۱mM و ژیرلین (۴۰۰ و ۲۰۰) با نمک ۳۵۰mM به میزان قابل توجهی کاهش یافت (جدول ۳).

جدول ۳: اثر مقادیر مختلف نمک کلرید سدیم (۱۵۰ و ۳۵۰ میلی مولار)، آسکوربات ۱ میلی مولار و ژیرلین ۲۰۰ و ۴۰۰

بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز آسکوربات پراکسیداز پراکسیداز بر حسب  $OD_{min}^{-1}g^{-1}FW$

(SE=خطای استاندارد، حروف مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار و حروف نا مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح  $p<0.05$ )

تیمار	کاتالاز			آسکوربات پراکسیداز			پراکسیداز		
	حروف	SE	±	میانگین	حروف	SE	±	میانگین	حروف
آب مقطر	bc	۰,۰۰۱	±	۰,۰۲۷	c	۰,۰۰۰۳	±	۰,۰۱۴	e
نمک ۱۵۰	f	۰,۰۰۱	±	۰,۰۰۷	a	۰,۰۰۳	±	۰,۰۲۴	ef
نمک ۳۵۰	g	۰,۰۰۲	±	۰,۰۰۳	b	۰,۰۰۱	±	۰,۰۲۰	f
نمک ۱۵۰ و آسکوربات	d	۰,۰۰۲	±	۰,۰۱۳	c	۰,۰۰۱	±	۰,۰۱۵	d
نمک ۱۵۰، آسکوربات و ژیرلین ۲۰۰	c	۰,۰۰۰	±	۰,۰۲۲	c	۰,۰۰۲	±	۰,۰۱۵	a
نمک ۱۵۰، آسکوربات و ژیرلین ۴۰۰	a	۰,۰۰۲	±	۰,۰۳۵	c	۰,۰۰۰	±	۰,۰۱۴	b
نمک ۳۵۰ و آسکوربات	e	۰,۰۰۱	±	۰,۰۱۰	d	۰,۰۰۱	±	۰,۰۰۸	f
نمک ۳۵۰، آسکوربات و ژیرلین ۲۰۰	b	۰,۰۰۱	±	۰,۰۲۸	ed	۰,۰۰۲	±	۰,۰۰۵	c
نمک ۳۵۰، آسکوربات و ژیرلین ۴۰۰	a	۰,۰۰۲	±	۰,۰۳۴	e	۰,۰۰۱	±	۰,۰۰۳	b

## اثر تیمارهای مختلف نمک، آسکوربات و ژیرلین بر

## میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز و ترکیبات فنلی

پلی فنل اکسیداز: تغییرات میزان فعالیت آنزیم پلی فنل

اکسیداز در تیمارهای مختلف نمک و آسکوربات و ژیرلین و نیز آب مقطر (شاهد) در جدول ۴ نشان داده شده است. کمترین فعالیت آنزیم در آب مقطر (شاهد) مشاهده شد. بین تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌داری دیده نشد (جدول ۴).

ترکیبات فنلی: میزان ترکیبات فنل دانه رست جو تحت

تیمارهای مختلف نمک و آسکوربات و ژیرلین قرار گرفت.

بیشترین میزان ترکیبات فنلی در شاهد (آب مقطر) و کمترین مقدار در تیمار نمک ۳۵۰mM دیده شد. در غلظت‌های ترکیبی نمک ۱۵۰mM و آسکوربات با غلظت‌های مختلف ژیرلین (۴۰۰ و ۲۰۰ ppm) در مقایسه با نمک ۱۵۰mM تفاوت معنی‌داری دیده نمی‌شود، ولی در غلظت ترکیبی نمک ۳۵۰mM و آسکوربات و ژیرلین ۴۰۰ ppm محتوای ترکیبات فنلی نسبت به نمک ۳۵۰mM افزایش معنی‌داری دارد (جدول ۴).

جدول ۴: اثر مقادیر مختلف نمک کلرید سدیم (۱۵۰ و ۳۵۰ میلی مولار)، آسکوربات ۱ میلی مولار و ژیرلین ۲۰۰ و ۴۰۰

برفعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی پلی فنل اکسیداز (ODmin<sup>-1</sup>g<sup>-1</sup>FW) و ترکیبات فنلی (mg g<sup>-1</sup> FW)

(SE=خطای استاندارد، حروف مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار و حروف نا مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح p<0.05)

تیمار	پلی فنل اکسیداز			ترکیبات فنلی		
	حروف	SE	±	میانگین	حروف	SE
آب مقطر	c	۰,۰۰۶	±	۰,۰۳۶	a	۰,۰۲۰
نمک ۱۵۰	ab	۰,۰۰۱	±	۰,۱۲۳	d	۰,۱۱۱
نمک ۳۵۰	ab	۰,۰۰۳	±	۰,۱۲۵	d	۰,۰۷۳
نمک ۱۵۰ و آسکوربات	a	۰,۰۰۳	±	۰,۱۳۵	c	۰,۱۵۷
نمک ۱۵۰، آسکوربات و ژیرلین ۲۰۰	ab	۰,۰۰۷	±	۰,۱۲۷	b	۰,۰۱۵
نمک ۱۵۰، آسکوربات و ژیرلین ۴۰۰	a	۰,۰۰۴	±	۰,۱۳۴	c	۰,۰۹۲
نمک ۳۵۰ و آسکوربات	a	۰,۰۰۹	±	۰,۱۳۲	c	۰,۱۳۹
نمک ۳۵۰، آسکوربات و ژیرلین ۲۰۰	b	۰,۰۰۵	±	۰,۱۱۵	c	۰,۰۴۰
نمک ۳۵۰، آسکوربات و ژیرلین ۴۰۰	ab	۰,۰۰۱	±	۰,۱۲۷	b	۰,۳۲۹

## بحث

تنش شوری یک عامل مهم محیطی می باشد که رشد و تولید گیاه را محدود می کند. اثرات زیانبار شوری بر گیاهان یا به صورت مرگ گیاه یا به صورت کاهش رشد مشخص شده است (Allakhverdi et al., 2000). گیاهانی که در معرض تنش شوری قرار می گیرند دستخوش تغییرات متابولیسمی و فیزیولوژیکی می گردند. توانایی گیاهان در مقاومت به تنش شوری شامل تجمع انتخابی یون ها و خروج و دفع آنها، کنترل جذب توسط ریشه و انتقال آن به برگ ها می باشد؛ کده بندی یون ها در سطح سلولی و گیاه، سنتز متابولیت های سازگار (اسمولیت ها)، تغییر در مسیر فتوسنتزی و القاء هورمون های گیاهی می باشد (Chavan and Karadge, 1986).

تحقیقات نشان داده است که تنش شوری منجر به کاهش جوانه زنی می گردد. مشخص شده است که در تنش های محیطی نظیر شوری ثبات سلولی مختل شده و انواع اکسیژن فعال (ROS) تولید می گردد. در فیزیولوژی دانه، ROS اصولاً به عنوان مولکول سمی تلقی شده که تجمع آن منجر به آسیب سلولی و اختلال در نمو دانه و یا فرایند جوانه زنی می شود (Bais et al., 2003). دیده شده است که تحت تنش شوری،

سیستم های آنتی اکسیدانی کارایی کافی نداشته و منجر به کاهش جوانه زنی و حتی مرگ دانه می شود (Asada, 1997). اسید آسکوربیک با از بین بردن انواع اکسیژن فعال به جوانه زنی و در نتیجه گیاه کمک می کند (Ogawa & Iwabuchi, 2001). آسکوربات باعث تولید مجدد توکوفرول از طریق رادیکال های توکوفرولکسیل می شود و به این ترتیب از غشاء حمایت کرده و این امر موجب بهبود جوانه زنی می شود (Thomas et al., 1992).

Paleg در ۱۹۶۱ گزارش کرد که تیمار با ژیرلین، جوانه زنی دانه جو را افزایش می دهد. همچنین ژیرلین، مانع مکانیکی ایجاد شده به وسیله آلورون و پوسته را برطرف می کند و پتانسیل رشد رویان را افزایش می دهد (Ogawa & Iwabuchi, 2001). اسید ژیرلیک در سست شدن دیواره سلولی مورد نیاز برای طویل شدن سلول و گسترش ریشه چه دخالت دارد (Gallardo, 2002).

جوانه زنی با جذب آب توسط دانه خشک آغاز می شود. این مسئله بخصوص به هنگام تخریب لایه های پوششی و ظهور ریشه چه به حداکثر میزان خود می رسد. ایجاد ریشه چه و برآمده شدن آن در تکمیل جوانه زنی دانه بستگی به رشد جنین که توسط جذب آب صورت گرفته دارد. جذب آب، کاتابولیسم و سرانجام مرحله آنابولیسم منجر به بیرون زدگی

فیزیولوژیکی و اکولوژیکی مهمی را ایفا می‌کنند. یکی از این نقش‌ها، مقاومت در برابر استرس‌ها است. ترکیبات فنلی متابولیت‌های ثانویه گوناگونی هستند (فلاونوئیدها، تانن‌ها، استری‌های هیدروکسی نامات و لیگنین) که در بافت‌های گیاهی فراوان هستند پلی فنل‌ها دارای ساختار شیمیایی مناسب جهت فعالیت حذف رادیکال‌های آزاد هستند و مشخص شده است که اکسیدان‌های موثرتری در *in vitro* نسبت به توکوفرول‌ها و اسید آسکوربیک می‌باشد (Thomas, 1992).

Ali and Abbas در ۲۰۰۳ گزارش کردند که تنش شوری در دانه‌رست‌های جو سبب کاهش ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها و کاهش رشد می‌شود.

اخیراً ری دوکس‌هایی که در آن ترکیبات فنلی با اسید آسکوربیک در سیستم پراکسید-پراکسید هیدروژن جفت شده و همراه هستند شناسایی شده است. هم اسید آسکوربیک و هم اسید مونیو دهیدرواسید آسکوربیک می‌توانند رادیکال‌های فنوکسی را که توسط اکسیداسیون ایجاد شده احیاء کنند. اگر اسید آسکوربیک در سیتوزول تولید شود و به واکوئل برگردد سیستم اسید آسکوربیک / فنولیک / پراکسیداز می‌تواند در واکوئل عمل کرده و پراکسید هیدروژن را از بین ببرد (Thomas, 1992).

#### نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این تحقیق نشان داد که تعامل آسکوربات و ژیرلین به شکل اگزوزن سمیت ناشی از نمک کلرید سدیم را بر جوانه‌زنی دانه و رشد دانه رست جو را به طور چشمگیری کاهش می‌دهد. به نظر می‌رسد یکی از علل بهبود رشد در حضور آسکوربات تحت شرایط تنش شوری، کاهش انواع اکسیژن فعال می‌باشد و در حضور ژیرلین سست شدن دیواره سلولی مورد نیاز برای طویل شدن سلول و گسترش ریشه‌چه فراهم می‌گردد. همچنین در اثر میان‌کنش اسید آسکوربیک و ژیرلین فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و نیز ترکیبات فنلی به عنوان یک ترکیب آنتی اکسیدانی جهت حذف رادیکال‌های سمی مهیا می‌گردد.

ریشه‌چه می‌شود. پیدایش ریشه‌چه، پایان جوانه‌زنی و نقطه شروع دانه رست به حساب می‌آید. اختلال در هر یک از این مراحل منجر به عدم جوانه‌زنی می‌شود (Bogatek et al, 2003).

تحقیقات نشان داده است که طی استرس شوری انواع فعال اکسیژن تولید گشته که خسارت‌های فراوانی به گیاه وارد می‌کند. در نتیجه تولید گونه‌های فعال اکسیژن مسیرهای مختلفی در گیاهان وجود دارد که منجر به سنتز متابولیت‌های فعال اسمزی، پروتئین‌های مخصوص و آنزیم‌های حذف رادیکال‌های آزاد می‌شود. (Amor et al, 2005)

گیاه برای اینکه بتواند با استرس شوری مقابله کند، سیستم‌های آنتی اکسیدانی مختلفی را بکار می‌گیرد. آسکوربات یکی از آنتی اکسیدان‌های قوی می‌باشد که در اکثر سلول‌های گیاهی و اندامک‌هایی نظیر کلروپلاست و آپوپلاست وجود دارد (Detullio, 2000). همانطور که در این تحقیق مشخص شد فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز در حضور نمک افزایش یافت و با کمک آسکوربات و ژیرلین کاهش یافت. تحقیقات نشان داده است که آسکوربات به طور مستقیم رادیکال‌های سوپراکسید، هیدروکسیل و اکسیژن فعال را از بین برده و پراکسید هیدروژن را از طریق فعل و انفعال با آسکوربات پراکسیداز به آب احیا می‌کند (Noctor and Foyer, 1998). مشخص شده است که آسکوربات با از بین بردن انواع فعال اکسیژن، مقاومت گیاه را به شوری افزایش می‌دهد و باعث تعدیل فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی می‌گردد (Smirnoff, 2000) در این تحقیق مشخص شد که فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز در حضور نمک کاهش یافت و با کمک آسکوربات فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی تعدیل شد.

نتایج این تحقیق نشان داد که که محتوای ترکیبات فنلی در تیمارهایی که تحت استرس شوری کلرید سدیم (۳۵۰ و ۱۵۰ mM) بودند کاهش یافت همچنین مشخص شد که در حضور آسکوربات و ژیرلین میزان ترکیبات فنلی روند صعودی را طی نمود. ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها نقش‌های

## References

- Ali, R.M and Abass, H.M. (2003). Response of salt stressed barley seedling to phenylurea. *Plant Soil Environment*, 49(4):158-162
- Allakhverdiev, S.I., Sakamoto, A., Nishiyama, Y., Inaba, Murata, N. (1994) Ionic and osmotic effects of NaCl-Induced inactivation of photosystems I and II in *Synechococcus* sp. *Plant Physiology*. 123, 1047-1056.
- Amor, N.B., Hamed, K.B., Debez, A., Grignon, C., Abdelly, C., (2005). Physiological and antioxidant responses of the perennial halophyte *Crithmum maritimum* to salinity. *Plant Science* 168, 889-899
- Arrigoni, O. (1994) Ascorbate system in plant development. *Journal of Bioenergy. Biomember*. 26, 407-419.
- Asada, K., (1997) The role of ascorbate peroxidase and monodehydroascorbate reductase in  $H_2O_2$  scavenging in plants. In Scandalios, J.G. (Ed.), *Oxidative Stress and the Molecular Biology of Antioxidant Defense*, Monograph Series, vol. 34. Cold spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, pp. 27, 273-278.
- Bais, H.P., Vepechodu, R., Gilroy, S. callaway. R. M. and Vivanco. J. M. (2003) Allelopathy and exotic plant invasion: from molecules and genes to species interaction. *Science*. 301: 1377-1380.
- Bar, G. (2003) Ascorbic acid and aging. In J. R. Harris, *Ascorbic acid Biochemistry and Biomedical cell biology*, Plenum Press, New York, pp. 157-188.
- Bogatek, R., Come, D., Corbineau, F., Ranjan, R. and lewak, S. (2003). Jasmonic acid effects dormancy and sugar catabolism in germinating apple embryos. *Plant physiology and Biochemistry* 40, 167-173
- Chance, B., and Maehly, C. (1995). Assay of catalase and peroxidase. *Methods enzymology*. 11, 764-775.
- Detullio, MC., Paciolla, C., Dalla Vecchia, F., Rascio, N, D'Emenco, S., De Gara, L., Liso, R., Arrigoni, O. (1999) Changes in onion root development induced by the inhibition of the ascorbate system on cell division and elongation. *Planta*. 209, 424-434.
- Frantz, J.M., and Bugbee, B. (2002) Anaerobic conditions improve germination of a gibberellic acid deficient rice. *Crop Science*. 42: 651-654.
- Goldthwaite, J.J., and Laetsch, W.M. (1968) Control of senescence in *Rumex* leaf discs by gibberellic acid. *Plant physiology*, 43: 1855-1858.
- Gulzar, S. (2002) Effect of salinity on germination, dormancy, growth, and smoregulation of perennial halophytes. Ph.D dissertation University of Karachi, Pakistan.
- Honda, I., Sudo, K., Iwasahi, S., Yanagisawa, T., Yamaguchi, I., Kato, H., Ikeda, H., and Takhashi, N. (1996) Characterization of endogenous gibberellins in dwarf rice mutants. *Bioscience. Biotechnology. Biochemistry*. 60: 2073-2075.
- Koroi, S.A. (1989) Gel electrophoresis and spectrophotometric changes under unchallenged conditions
- fluss der temperature auf struktural und peroxidase isoenzyme, *Physiology Veg* 20, 15-23.
- Khan, M.A., Gul, B., (2005) Halophyte seed germination In: Khan, M.A., Manoranjan Kar and Dina Bandhu.
- Manoranjan Kar and Dina Bandhu Mishra. (1976). Catalase, peroxidase and polyphenol oxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Biochemistry and Enzymology*, 57, pp.315-319
- Mishra, (1976) Catalase, peroxidase and polyphenol oxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Biochemistry and Enzymology*. 57, 315-319.
- Noctor, G., and Foyer, CH. (1998) Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant*
- Ogawa, K., Iwabuchi, M., (2001) A mechanism of promoting the germination of zinnia elegans seeds by hydrogen peroxide. *Plant, Cell and Physiology*. 2, 286-291.
- Parida, A.K., Das, A.B., Mishra, B., (2004) Effects of salt on growth, ion accumulation, photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove, *Bruguiera parviflora*. *Trees-struct. Funct.* 18, 167-174.
- Paleg, L.G. (1961) Physiological effects of gibberellic acid. III. Observations on its mode of action on barley endosperm. *Plant Physiology*. 829-837.
- Potters, G., De Gara, L., Asard, H., Horemans, N. (2002) Ascorbate and glutathione: guardians of the cell cycle, partners in crime. *Plant physiology and Biochemistry*. 40: 537-548.
- Singh, S. and Ram, T. (1997) Growth response of diverse rice genotypes to exogenous application of GA3. *Int. Rice Res. Notes*. 22-31.
- Smirnoff, N., Conklin PL., Loewus, FA. (2001) Biosynthesis of ascorbic acid in plants: a renaissance. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 52, 437-467.
- Smirnoff N. (2000). Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-faceted molecule. *Current Opinion in Plant Biology*. 3, 229-235.
- Shirazi, M.V., Khanzade, B., Khan, M.A., and Ali, M. (2001) Growth and ion accumulation in some wheat genotype under NaCl stress. *Biological science*. 4(4) 388-391.
- Tipir damaz, R. and Gomurgen, A.N. (2000) The effect of temperature and gibberellic acid on germination of *Eranthis hyemalis* (L.) Salisb. Seeds. *Turk Journal Botany*. 24, 143-145.
- Thomas, C.E., Mclean, L.R., Parker, R.A., Ohlweiler, D.F. (1992). Ascorbate and phenolic antioxidant interactions in prevention of liposomal oxidation. *Lipids*. 27, 543-550.
- Vandekerckhove, J.N.D., and Job, D. (2002) Proteomics of Arabidopsis seed germination, a comparative study of wild type and gibberellin-deficient seeds. *Plant Physiology*. 129, 823-837.



## Effect of salt, gibberellin and ascorbate on germination growth and anti oxidant system in Barely (*Hordeum vulgare* L.) seedling

Niakan, M<sup>1</sup>., Rashidzadeh, V<sup>1</sup>., Norinia, A.A<sup>2</sup>.

1. Islamic Azad University, Gorgan Branch, Iran

2. Agricultural and Natural Research Center of Golestan Province, Gorgan-Iran

### Abstract

In different stress such as salinity, strong oxidant as reactive oxygen species is produced that damages to membrane structure in plant. Different antioxidant as ascorbate scavenger them. Between hormone, gibberellic acid has different roles that depend to kind of gibberellin, density and plant space. In this research *Hordeum* (4222) treated to ascorbate (1mM), gibberellin (200 and 400ppm) and NaCl (150, 350mM) and the effect of them on germination percentage, radicle length and antioxidant enzymes such as catalase, peroxidase, poly phenol oxidase, ascorbate peroxidase and phenolic compounds was evaluated. The result of this research showed that in presence of NaCl germination decreased but in NaCl and Ascorbate and Gibberellin germination and radicle length increased significantly. Also in absence of ascorbate and gibberellin and presence of NaCl activity of catalase, peroxidase decreased but activity of poly phenoloxidase and ascorbate peroxidase increased. Also NaCl cause decreased phenolic compounds in barley seedling but by increasing ascorbate and gibberellin the content of them increased.

**Keyword:** Ascorbate, Gibberellin, Antioxidant Enzyme, Phenolic, Growth, Compounds, salt, *Hordeum vulgare* L.