

## نقش سالیسیلیک اسید در کاهش اثرات اکسیداتیو ناشی از سمیت نیکل در مرحله جوانه‌زنی گیاه گندم (*Triticum aestivum* L.)

\* عبدالرضا جعفری<sup>۱</sup>، رمضانعلی خاوری نژاد<sup>۲</sup>، حمید فهیمی<sup>۲</sup>

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

۲. استاد دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران-گروه تخصصی علوم گیاهی

### چکیده

در این تحقیق اثرات سالیسیلیک اسید (SA) بر رشد ریشه‌چه، ساقه‌چه گیاه گندم (*Triticum aestivum* L.)، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز (CAT) و گایاکول پراکسیداز (POD) ساقه‌چه در تنش نیکل بررسی شد. تیمار دانه‌ها با ۸۰۰ میکرومولار نیکل به طور معنی داری رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه و نیز فعالیت آنزیم‌های CAT و POD را در ساقه‌چه کاهش داد، اما باعث افزایش میزان مالون دی‌آلدید (MDA) در این اندام شد. تیمار دانه‌ها با ۱۰۰ میکرومولار SA باعث افزایش معنی دار رشد ریشه‌چه، ساقه‌چه، فعالیت آنزیم‌های CAT و POD در ساقه‌چه گیاهان تحت تنش نیکل گردید در حالیکه غلظت MDA را در این بافت‌ها در مقایسه با گیاهانی که تنها تحت تنش نیکل بودند، کاهش داد. نتایج نشان داد که SA با افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاهان گندم تحت تنش نیکل، باعث کاهش آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از این تنش شده و مقاومت گیاه به Ni را افزایش می‌دهد.

**کلمات کلیدی:** پراکسیداز، تنش اکسیداتیو، سالیسیلیک اسید، سمیت نیکل، کاتالاز، گندم

### مقدمه

کلروزه و نکروزه شدن و همچنین پژمردگی برگ‌ها تشخیص داده می‌شود (Pandey and Sharma, 2002). در مورد تاثیرات فلزات سنگین بر رشد گیاهان مطالعات گسترده ای صورت گرفته است اما اطلاعات کمی در مورد مکانیسم‌های ایجاد سمیت توسط Ni در گیاهان در دست است. با این حال اطلاعات به دست آمده حاکی از آن است که لاقبل بخشی از اثرات سمیت نیکل به واسطه تنش اکسیداتیو القا شونده به وسیله این فلز بر گیاهان اعمال می‌شود (Baccouch et al., 2001; Gonnelli et al., 2001).

غلظت‌های بالای نیکل باعث کاهش رشد و ظهور علائم سمیت در گیاهان می‌شود. گزارشات زیادی در مورد اثرات منفی نیکل بر چندین فرایند فیزیولوژیکی گیاه مانند فتوسنتز، انتقال مواد آلی، تغذیه معدنی و توازن آب یافت‌ها موجود است (Samarakoon and Rauser, 1979; Pandey and Sharma, 2002; Parida et al., 2003). اثرات سمی نیکل با مشاهده بروز علائم آسیب مانند

(Sklodowska, 2007). سالیسیلیک اسید (SA) نوعی مولکول سیگنالی مهم در گیاهان بوده، در فرایندهای پاسخ گیاهان به تنش‌های زیستی و غیر زیستی دخالت دارد. نشان داده شده است که SA باعث محافظت گیاه ذرت (Janda et al., 1999) و گندم (Tasgin et al., 2003) در برابر تنش سرما می‌شود. همچنین مشخص گردیده است که SA پاسخ گیاهان را در تنش‌های شوری و اسمزی (Borsani et al., 2001)، اوزون یا نور ماوراءبنفش (Sharma et al., 1996)، تنش خشکی (Senaratna et al., 2000) و نیز در حملات پاتوژن‌ها (Durner et al., 1997) و علف کش‌ها (Ananieva et al., 2004) تغییر می‌دهد. علاوه بر این‌ها مشخص گردیده است که SA در محافظت از گیاهان در برابر تنش فلزات سنگین نیز دخالت دارد. گزارش شده است که پیش تیمار SA صدمات غشایی ناشی از غلظت‌های بالای سرب و جیوه را در گیاه برنج بهبود می‌بخشد (Mishra and Chudhuri, 1999). همچنین اثرات سمیت کادمیم را در گیاهان جو (Pal et al., 2005) و ذرت (Metwally et al., 2003) کاهش می‌دهد. شواهد نشان می‌دهد که تراکم SA در گیاه در مواجهه با تنش‌های اکسیداتیو مانند افزایش غلظت  $H_2O_2$  افزایش می‌یابد (Leon et al., 1995). بنابراین پیشنهاد شده است که احتمالاً SA به طور مستقیم در مسیرهای سیگنالی پاسخ‌های آنتی اکسیدانی گیاه شرکت دارد (Larkindale and Knight, 2002).

نیکل به فراوانی در پوسته زمین یافت می‌شود با این حال، غلظت نیکل در مناطق خاصی و در نتیجه فعالیت‌های انسانی از قبیل مین کاری، استفاده از زغال سنگ و نفت به عنوان سوخت، ایجاد فاضلاب‌ها و استفاده از کودهای فسفاته و حشره کش‌ها افزایش قابل ملاحظه ای می‌یابد (Gimeno et al., 1996). بنابراین، این احتمال وجود دارد که گیاهان زراعی در مناطق مختلفی از جهان و همین طور در کشور ما در معرض سمیت نیکل قرار گرفته، رشد و عملکردشان کاهش یابد.

اشکال فعال اکسیژن یا ROS<sup>1</sup> از قبیل  $O_2^-$  و  $H_2O_2$  به عنوان محصولات جانبی چندین فرایند متابولیکی به طور دایم در بافت‌های گیاهی تولید می‌شوند. این رادیکال‌های آزاد با تاثیر بر لیپیدهای غشاها، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و اسیدهای نوکلئیک باعث آسیب‌های سلولی می‌شوند (Blokhina et al., 2003).

سلول‌های گیاهی برای از بین بردن ROS دارای سیستم‌های آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی هستند. آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز ( $SOD, EC 1.15.1.1$ ) تبدیل  $O_2^-$  به  $H_2O_2$  و  $O_2$  را کاتالیز می‌کند. آنزیم‌های کاتالاز ( $CAT, EC 1.11.1.6$ ) و آسکوربات پراکسیداز ( $APX, EC 1.11.1.11$ ) مسئول تجزیه  $H_2O_2$  هستند. کاتالاز،  $H_2O_2$  را به  $H_2O$  و  $O_2$  تبدیل می‌نماید و APX با استفاده از آسکوربات به عنوان دهنده الکترون باعث احیا  $H_2O_2$  می‌شود. سایر پراکسیدازها مانند گایاکول پراکسیداز ( $POD, EC 1.11.1.7$ ) نیز در فرایند تجزیه  $H_2O_2$  دخالت دارند. POD کاتالیز واکنش اکسیداسیون برخی از ترکیبات فنلی به هزینه  $H_2O_2$  را برعهده دارد (Gaspar et al., 1999). از بین آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی نیز می‌توان به گلوتاتیون (GSH)، آسکوربیک اسید (AsA)، توکوفرول‌ها و ترکیبات فنلی اشاره کرد (Blokhina et al., 2003). در شرایط نامساعد تنشی مانند غلظت‌های بالای فلزات سنگین نوعی عدم توازن در تولید و حذف ROS در بافت‌های گیاهی ایجاد می‌شود (Gratao et al., 2005) که متعاقباً باعث ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو در برخی ماکرومولکول‌های مهم سلولی می‌گردد (Kehrer, 2000). معمول‌ترین شاخص تنش اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدها است که با اندازه گیری افزایش میزان تولید مالون دی آلدیید (MDA) تشخیص داده می‌شود (Baccouch et al., 2001). اندازه گیری تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان می‌تواند به عنوان یک شیوه غیرمستقیم در برآورد میزان تولید ROS در نظر گرفته شود (Cajewska and

<sup>1</sup>. Reactive Oxygen Species

۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. میزان جذب مایع رویی در طول موج ۵۳۲ nm تعیین و جذب ناویژه در ۶۰۰ nm از آن کسر گردید. غلظت MDA با استفاده از ضریب تصحیح  $155 \text{ mM}^{-1}$  محاسبه و بر اساس واحد  $\text{mmol/g}$  FW بیان شد.

#### سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT, EC 1.11.1.6) با استفاده از روش (Perreira et al., 2002) با بررسی میزان کاهش مقدار  $\text{H}_2\text{O}_2$  در ۲۴۰ نانومتر به مدت یک دقیقه انجام شد. مخلوط فرایند این آنزیم شامل بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار با pH برابر با ۷/۵ و محلول ۲۵ میلی مولار  $\text{H}_2\text{O}_2$  بود. فرایند با اضافه نمودن ۰/۱ میلی لیتر عصاره آنزیمی بافت ساقه چه (استخراج شده توسط روش Kang و همکاران (۲۰۰۳) در حجم نهایی ۳ میلی لیتر آغاز شده، به مدت یک دقیقه کاهش جذب در ۲۴۰ نانومتر ثبت گردید. میزان فعالیت آنزیم بر اساس تغییرات جذب در ۲۴۰ نانومتر در دقیقه (Unit) در میلی گرم پروتئین بیان گردید.

#### سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز

در این مورد از روش (Fielding and Hall, 1978) استفاده شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار با pH برابر با هفت، ۰/۱ میلی مولار  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ،  $\text{H}_2\text{O}_2$  با غلظت ۵ میلی مولار و گایاکول با غلظت ۳۰ میلی مولار بود. واکنش با افزودن ۰/۰۵ میلی لیتر عصاره آنزیمی در حجم نهایی ۳ میلی لیتر مخلوط واکنش آغاز گردید. افزایش جذب به واسطه تشکیل تترا گایاکول در طول موج ۴۷۰ nm به مدت ۳ دقیقه ثبت گردید و فعالیت آنزیم بر اساس unit در میلی گرم پروتئین بیان شد.

#### طرح آماری و روش تحلیل داده‌ها

آزمایش‌ها بر اساس طرح کاملاً تصادفی به روش فاکتوریل با ۳ تکرار انجام شد. برای تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار MSTAT و SPSS استفاده گردید.

در این تحقیق تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی دانه‌های گندم تحت تنش نیکل در حضور یا عدم حضور SA مورد بررسی قرار گرفته تا نقش احتمالی این تنظیم کننده رشد گیاهی در القای پاسخ‌های سازشی از طریق تاثیر آن بر سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی هر چه بیشتر معلوم گردد.

#### مواد و روش‌ها

دانه‌های گندم از آزمایشگاه علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان تهیه گردید. ابتدا دانه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد ضدعفونی شدند. سپس برای اعمال هر تیمار ۳ عدد پتری دیش ضدعفونی شده همراه با کاغذ فیلتر برای نگهداری رطوبت (به منزله ۳ تکرار) انتخاب شد. پس از ضد عفونی شدن دانه‌ها تعداد ۲۰ دانه گندم به هر پتری دیش انتقال داده شد. جهت اعمال تنش نیکل از ۱۰ میلی لیتر محلول ۸۰۰ میکرومولار نیترات نیکل استفاده شد. در مورد تیمار شاهد از ۱۰ میلی لیتر آب مقطر استفاده شد. برای بررسی نقش سالیسیلیک اسید، محلول ۱۰۰ میکرومولار این اسید مورد استفاده قرار گرفت. در آخر پتری دیش‌ها به دستگاه ژرمیناتور با درجه حرارت  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ، رطوبت ۵۰ درصد و دوره نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی منتقل شدند. پس از یک هفته میزان جوانه‌زنی، طول ریشه چه و ساقه چه، وزن تر و خشک آنها و نیز میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و همینطور میزان مالون دی آلدیید ساقه چه مورد اندازه گیری قرار گرفت.

#### سنجش میزان مالون دی آلدیید

برای سنجش میزان مالون دی آلدیید از روش (Healt and Packer, 1968) استفاده شد. ۰/۳ گرم بافت ساقه چه در تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد دارای ۰/۵ درصد تیوباربتوریک اسید همگن شده و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم ( $95^\circ\text{C}$ ) در بالن مبرد قرار داده شد. مخلوط حاصله پس از سرد شدن در ۱۰۰۰۰ دور به مدت

## نتایج

## بحث

اثرات سمیت Ni بر رشد ریشه چه و ساقه چه و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان

نتایج این پژوهش نشان داد که حضور غلظت بالای نیکل در محیط، باعث کاهش معنی دار رشد ریشه چه و ساقه چه نسبت به گیاهان شاهد می‌گردد. گزارش شده است که تنش فلزات سنگین میزان لیگنیفیکاسیون دیواره سلولی را افزایش داده، باعث استحکام و عدم انعطاف دیواره می‌شود (Diaz et al., 2001). این پدیده می‌تواند دلیل احتمالی کاهش رشد طولی ریشه چه و ساقه چه در حضور Ni باشد (Gajewska and Sklodowska, 2007). یکی از دلایل کاهش وزن تر ریشه چه و ساقه چه که در تیمار ۸۰۰ میکرومولار نیکل دیده می‌شود می‌تواند کاهش محتوای آب بافت‌های ریشه چه و ساقه چه باشد که توسط تنش نیکل القا می‌شود (Gajewska and Sklodowska, 2005). گزارش شده است که فلزات سنگین همانند دیگر شرایط تنشی باعث افزایش تولید ROS در بافت‌های گیاهی می‌شود (Gratao et al., 2005). البته در مورد نقش نیکل در القای تولید ROS در بافت‌های گیاهی گزارشات کمی در دست است (Hao et al., 2006; Gajewska and Sklodowska, 2007). در این بررسی‌ها مشخص شده است که نیکل به طور غیرمستقیم و با تاثیر بر سیستم آنتی اکسیدانی بافت‌های گیاهی باعث افزایش تولید اشکال فعال اکسیژن (مانند  $O_2^-$  و  $H_2O_2$ ) و ایجاد تنش اکسیداتیو می‌گردد. میزان این رادیکال‌های آزاد در بافت‌های گیاهی توسط آنزیم‌های جاروب کننده آنها و نیز به وسیله آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی کنترل می‌شود. همانگونه که در شکل ۱ دیده می‌شود در بافت‌های ساقه چه گیاه گندم در تنش نیکل کاهش چشمگیری در فعالیت آنزیم کاتالاز دیده می‌شود. در موافقت با این یافته Gajewska and Sklodowska (۲۰۰۷) گزارش کردند که میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ‌های گیاه گندم در تیمار  $100\mu M Ni$

همانگونه که در جدول ۱ نشان داده شده است حضور غلظت بالای نیکل در محیط، باعث کاهش رشد ریشه چه و ساقه چه به طور کاملاً معنی داری گردیده، به گونه ای که در این شرایط وزن تر ریشه چه و ساقه چه به ترتیب ۹۴ و ۷۰ درصد نسبت به شاهد کاهش نشان داد. رشد طولی ریشه چه و ساقه چه نیز نسبت به شاهد به ترتیب ۹۲ و ۷۵ درصد کاهش یافت. در تیمار ۸۰۰ میکرومولار نیکل، کاهش معنی داری در وزن خشک ریشه چه و ساقه چه این اندام‌ها در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده گردید. همانگونه که در شکل ۱ دیده می‌شود در بافت‌های ساقه چه گیاه گندم در تنش نیکل کاهش چشمگیری در فعالیت آنزیم کاتالاز دیده می‌شود. بر خلاف آنزیم کاتالاز، فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (POD) در بافت‌های ساقه چه گندم در حضور ۸۰۰ میکرومولار نیکل نسبت به شاهد کاهش کمتری نشان می‌دهد (شکل ۲).

تیمار دانه‌های گندم با  $100\mu M SA$  باعث افزایش میزان رشد ریشه چه و ساقه چه در تنش Ni گردید. به گونه ای که وزن تر ریشه چه و ساقه چه در این شرایط ( $800\mu M Ni + SA$ ) نسبت به شرایط عدم حضور SA (تیمار ۸۰۰ میکرومولار نیکل) به ترتیب بیش از ۱۰ و ۲/۵ برابر افزایش یافت. به طور مشابه وزن خشک ریشه چه و ساقه چه و همچنین طول این اندام‌ها نیز در حضور SA به طور معنی داری نسبت به شرایط عدم حضور این تنظیم کننده رشد گیاهی افزایش نشان داد (جدول ۱). در این تحقیق مشخص شد که SA فعالیت هر دو آنزیم CAT و POD را در ساقه چه گیاهان رشد یافته در تنش نیکل افزایش می‌دهد (شکل ۱ و ۲). در مقابل، میزان MDA (لیپیدهای پراکسیده) بافت ساقه چه در حضور SA به طور معنی داری کاهش نشان داد (شکل ۳).

ریشه چه و ساقه چه گیاهان گندم در تنش Ni می‌گردد. ظاهراً SA با افزایش محتوای آب بافت‌های ریشه چه و ساقه چه، وزن تر این اندام‌ها را در حضور ۸۰۰ میکرومولار نیکل افزایش می‌دهد (نتایج نشان داده نشده است). در مورد تاثیر SA بر فاکتورهای رشد گیاهان در تنش فلزات سنگین گزارشات متناقضی در دست است. به عنوان نمونه Guo و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که وزن تر برگ‌های برنج در تیمار ۵۰ میکرومولار Cd در حضور ۱۰ میکرومولار SA، بیشتر کاهش می‌یابد. در مقابل Krantev و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که تیمار گیاهان ذرت تحت تنش کادمیم با ۲۵ میکرومولار SA باعث افزایش وزن تر اندام هوایی می‌شود. این احتمال نیز وجود دارد که تشکیل کمپلکس بین SA و Ni و ایجاد فرم کلاته در محیط و یا درون بافت‌های ریشه چه و ساقه چه، باعث کاهش اثرات سمیت نیکل شده باشد. تشکیل کمپلکس‌های SA-Cd، یکی از دلایل احتمالی اثرات مفید SA در رشد گیاهان برنج در حضور کادمیم بیان شده است (Guo et al., 2007). علاوه بر این موارد، SA فعالیت هردو آنزیم CAT و POD را در ساقه چه گیاهان گندم رشد یافته در تنش نیکل افزایش می‌دهد (شکل ۲). Guo و همکاران (۲۰۰۸) نیز گزارش کردند که پیش تیمار دانه‌های برنج با ۱۰ میکرومولار SA، فعالیت آنزیم‌های CAT و POD را در ریشه‌های این گیاه تحت تنش کادمیم افزایش می‌دهد. به نظر می‌رسد افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در حضور SA باعث تجزیه بیشتر  $H_2O_2$  در بافت‌های ساقه چه گیاه گندم تحت تنش نیکل شده، و بدین ترتیب اثرات سمیت  $H_2O_2$  و تنش اکسیداتیو حاصله از آن کاهش یافته است. کاهش معنی‌دار میزان MDA بافت ساقه چه در حضور SA (شکل ۳)، تایید کننده این نظریه است. مشخص گردیده است که SA به عنوات یک مولکول سیگنالی مهم در تنظیم میزان  $H_2O_2$  همراه با آنزیم‌های جاروب کننده آن دخالت دارد (Chen et al., 1993). از طرف دیگر SA میزان مولکول‌های

به طور معنی داری کاهش نشان می‌دهد. کاهش فعالیت کاتالاز در برگ‌های گیاه کلم (Pandey and Sharma, 2002) و لوبیا (Madhava Rao and Sresty, 2000) نیز تحت تنش نیکل گزارش شده است.

بر خلاف آنزیم کاتالاز، فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (POD) در بافت‌های ساقه چه گندم در حضور ۸۰۰ میکرومولار نیکل نسبت به شاهد کاهش کمتری نشان می‌دهد (شکل ۲). مشخص گردیده است که نقش اصلی POD در شرایط تنش شرکت در بیوستنز لیگنین و متعاقباً کاهش میزان انعطاف پذیری دیواره سلولی است (Gasper et al., 1991). این احتمال وجود دارد که فعالیت POD در شرایط تنش مسئول کاهش در میزان رشد ساقه چه باشد. با این حال، شرکت این آنزیم در فرایند لیگنیفیکاسیون مانع از عملکرد آن به عنوان جاروب کننده  $H_2O_2$  (scavenger) نمی‌شود. به نظر می‌رسد کاهش شدید فعالیت CAT و به میزان کمتر کاهش فعالیت POD باعث می‌شود که میزان تجزیه  $H_2O_2$  در بافت‌های ساقه چه گندم در تنش نیکل شدیداً کاهش یافته، تراکم این شکل فعال اکسیژن در این بافت‌ها افزایش یابد. تراکم  $H_2O_2$  و سایر اشکال فعال اکسیژن می‌تواند باعث ایجاد صدمات اکسیداتیو در سلول‌ها شود. افزایش میزان MDA به عنوان شاخصی از میزان پراکسیداسیون چربی‌ها در بافت‌های ساقه چه گندم در تیمار نیکل، نشان دهنده افزایش میزان تولید ROS توسط این فلز و تنش اکسیداتیو ناشی از آن است (شکل ۳). گزارشات مشابهی از افزایش میزان پراکسیداسیون چربی‌ها در تیمار نیکل در برگ‌های گندم (Gajewska and Sklodowska, 2007) و در برگ‌های برنج تحت تنش کادمیم (Guo et al., 2007) در دست است.

نقش SA در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و کاهش اثرات سمیت Ni در بافت‌های ساقه چه گیاه گندم نتایج این تحقیق نشان داد که تیمار دانه‌های گندم با ۱۰۰ میکرومولار SA باعث افزایش معنی دار میزان رشد

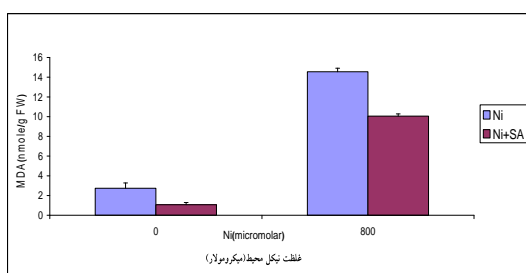
## نتیجه‌گیری نهایی

به طور کلی از یافته‌های این تحقیق چنین بر می‌آید که احتمالاً یکی از مکانیسم‌های ایجاد آسیب توسط Ni در بافت‌های ساقه چه گندم، کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و بنا بر این تراکم زیاد  $H_2O_2$  و تنش اکسیداتیو حاصل از آن است. تیمار دانه‌های گندم با SA باعث افزایش فعالیت این آنزیم‌ها و نتیجتاً بهبود اثرات سمیت نیکل در ساقه چه می‌گردد. سالیسیلیک اسید احتمالاً با تاثیر بر مسیرهای سیگنالی  $H_2O_2$  در گیاهان و ایجاد تغییر در بیان ژن‌های مسئول پاسخ به تنش‌های محیطی و زیستی عملکرد خود را نشان می‌دهد. بررسی‌های بیشتری لازم است تا نقش SA در سطح مولکولی و در شبکه پیچیده پاسخ‌های دفاعی سلول گیاهی مشخص شود.

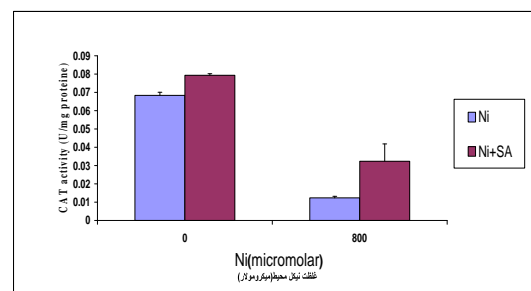
آنتی‌اکسیدانی دیگر مانند گلوتاتیون (GSH) را نیز در سلول‌های گیاهان رشد یافته در تنش فلزات سنگین تحت تاثیر قرار می‌دهد. پیشنهاد شده است که افزایش میزان GSH در ریشه گیاه برنج تحت تنش کادمیم در حضور SA یکی از مکانیسم‌های اثر این تنظیم کننده رشد گیاهی بر بهبود اثرات سمیت Cd در این گیاه است (Guo et al., 2008). علاوه بر این نشان داده شده است که SA باعث افزایش مقاومت گیاهان ذرت (Janda et al., 1999) و گندم (Tasgin et al., 2003) نسبت به سرما و تغییر در پاسخ گیاهان به تنش‌های شوری و اسمزی (Borsani et al., 2001)، وزون یا اشعه ماوراءبنفش (Sharma et al., 1996)، خشکی (Senaratna et al., 2000) و حملات پاتوژنها (Durner et al., 1997) می‌شود.

جدول ۱: اثرات تنش نیکل بر اجزاء رشد گندم در مرحله جوانه‌زنی در حضور یا عدم حضور SA، ( $X \pm SE$ , n=3)

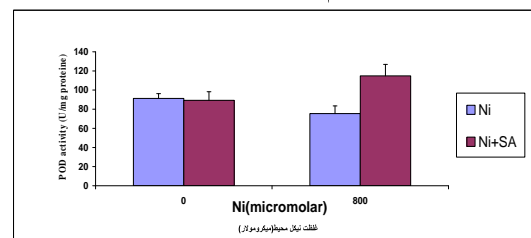
شاخص	وزن خشک ریشه چه (g plant <sup>-1</sup> )	وزن خشک ساقه چه (g plant <sup>-1</sup> )	وزن تر ریشه چه (g plant <sup>-1</sup> )	وزن تر ساقه چه (g plant <sup>-1</sup> )	طول ریشه چه (cm)	طول ساقه چه (cm)
شاهد	0.043±0.007	0.06030±0.0145	0.115±0.018	0.358±0.018	5.72±0.69	5.46±0.3
800µM Ni	0.006±0.0008	0.018±0.003	0.007±0.001	0.109±0.028	0.466±0.105	1.39±0.29
100µM SA	0.0237±0.005	0.044±0.011	0.122±0.012	0.362±0.038	4.01±0.04	4.215±0.307
Ni+SA	0.022±0.001	0.046±0.003	0.079±0.019	0.309±0.017	1.203±0.087	3.58±0.437



شکل ۳: اثر تنش نیکل بر میزان MDA بافت‌های ساقه چه گندم در حضور یا عدم حضور SA، ( $X \pm SE$ , n=3)



شکل ۱: اثر تنش نیکل بر فعالیت آنزیم کاتالاز ساقه چه گندم در حضور یا عدم حضور SA، ( $X \pm SE$ , n=3)



شکل ۲: اثر تنش نیکل بر فعالیت آنزیم پراکسیداز ساقه چه گندم در حضور یا عدم حضور SA، ( $X \pm SE$ , n=3)

## References

- Ananieva, E.A., Christov, K.N., Popova, L.P., (2004). Exogenous treatment with salicylic acid leads to increased antioxidant capacity in leaves of barley plants exposed to paraquat. J Plant Physiol 161,319-328

- Gratao, P.L., Pole, A., Lea, P.J., Azevedo, A., (2005).** Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. *Funct Plant Biol* 32, 481-494
- Guo, B., Liang, Y.C., Zhu, Y.G., Zhao, F.G., (2007).** Role of salicylic acid in alleviating oxidative damage in rice roots (*Oryza sativa*) subjected to cadmium stress. *Environ. Pollut.* 147,743-749
- Hao, F., Wang, X., Chen, J., (2006).** Involvement of plasma-membrane NADPH oxidase in nickel induced oxidative stress in roots of wheat seedling. *Plant Sci* 170,151-158
- Janda, T., Szalai, G., Tari, I., Paldi, E., (1999).** Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L) plants. *Planta* 208,175-180
- Kehrer, J.P., (2000).** The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology* 149, 43-50
- Larkindale, J., Knight, M., (2002).** Protection against heat stress induced oxidative damage in *Arabidopsis* involves calcium, abscisic acid, ethylene, and salicylic acid. *Plant Physiol* 128,682-695
- Leon, J., Lawton, M., Raskin, I., (1995).** Hydrogen peroxide stimulates salicylic acid biosynthesis in tobacco. *Plant Physiol* 108, 1673-1678
- Madhava Rao, K.V., Sresty, T.V.S., (2000).** Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea (*Cajanus cajan*) in response to Zn and Ni stresses. *Plant Sci* 157,113-128
- Metwally, A., Finkermeier, I., Georgi, M., Dietz, K.J., (2003).** salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. *Plant Physiol* 132,272-281
- Mishra, A., Chudhuri, M.A., (1999).** Effect of salicylic acid on heavy metal-induced membrane deterioration in rice. *Biol Plant* 42,409-415
- Pal, M., Horvath, E., Janda, T., Paldi, E., Szalai, G., (2005).** Cadmium stimulates the accumulation of salicylic acid and its putative precursors in maize (*Zea mays*) plants. *Physiol Plantarum* 125,356-364
- Pandey, N., Sharma, C.P., (2002)** Effect of heavy metals Co, Ni, and Cd on growth and metabolism of cabbage. *Plant Sci* 163,753-758
- Parida, B.K., Chhibha, I.M., Nayyar, V.K., (2003)** Influence of nickel contaminated soils on fenugreek
- Baccouch, S., Chaoui, A., El Ferjani, E., (2001).** Nickel toxicity induces oxidative damage in *Zea mays* roots. *J Plant Nutr* 24, 1085-1097
- Blokhina, O., Virolainen, E., Fagerstedt, K.V., (2003).** Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany* 91,179-194
- Borsani, O., Valpuesta, V., 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
- Chen, Z.X., Silva, H., Klessig, D.F., (1993).** Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. *Science* 262, 1883-1886
- Diaz, J., Bernal, A., Pomar, F., Merino, F., (2001).** Induction of shikimate dehydrogenase and peroxidase in pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings in response to copper stress and its relation to lignification. *Plant Sci* 161, 179-188
- Durner, J., Shah, J., Klessig, D.F., (1997).** salicylic acid and disease resistance in plants. *Trends Plant Sci* 7,266-274
- Gajewska, E., Sklodowska, M., (2005).** Antioxidative responses and praline level in leaves and roots of pea plants subjected to nickel stress. *Acta Physiol Plant* 27,329-339
- Gajewska, E., Sklodowska, M., (2007).** Effect of nickel on ROS content and oxidative enzyme activities in wheat leaves. *BioMetals* 20,27-36
- Gasper, T., Penel, C., Hagege, D., Greppin, H., (1991).** Peroxidase in plant growth, differentiation and development processes. In: *Biochemical, molecular and physiological aspects of plant peroxidase.* Poland: University M. Curie-Sklodowska, pp 249-280
- Gimeno-García, E., Andreu, V., Boluda, R. 1996.** Heavy metals incidence in the application of inorganic fertilizers and pesticides to rice farming soils. *Environ. Pollut.* 92:19-25
- Gonnelli, C., Galardi, F., Gabbrielli, R., (2001).** Nickel and copper tolerance and toxicity in three Tuscan populations of *Silene paradoxa*. *Physio Plant* 113, 507-514

**Sharma, Y.K., Leon, J., Raskin, I., Davis, K.R., (1996).** Ozone-induced responses in *Arabidopsis thaliana*- the role of salicylic acid in the accumulation of defense-related transcripts and induced resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 93,5099-5104

**Tasgin, E., Attici, O., Nalbantogly, B., (2003).** Effect of salicylic acid and cold on freezing tolerance in winter wheat leaves. *Plant Growth Regul* 41,231-236

(*Trigonella corniculata* L.) bgrowth and mineral composiyion. *Sci Hor* 98, 113-119

**Samarakon, A.B., Rauser, W.E., (1979).** Carbohydrate levels and photoassimilate export from leaves of *Phaseolus vulgaris* exposed to excess cobalt, nickek, and zink. *Plant Physiol* 63, 1165-1169

**Senaratna, T., Touchell, D., Bunns, E., Dixon, K., (2000).** Acetyl salicylic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Plant Growth Regul* 30,157-161



## Effect of salicylic acid in alleviating Ni-induced oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) at germination stage

Jafari, A.R., Khavarinejad, R.A., Fahimi, H.

Islamic Azad University, Research and Science, Tehran Branch

### Abstract

The effects of salicylic acid (SA) in alleviating Ni-induced oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) at germination stage were studied and the changes in radicle and plumule growth (fresh and dry weight and their lengths) were investigated. Exposure to 800 $\mu$ M Ni significantly decreased radicle and plumule growth, and activities of catalase (CAT) and peroxidase (POD) enzymes but increased the concentration of malondialdehyde (MDA). However, treatment with 100 $\mu$ M SA enhanced the activities of these enzymes in plumule tissues but lowered the concentration of MDA in the Ni-stressed wheat compared with the Ni treatment alone. Treatment with SA alleviated the Ni-induced inhibition of radicle and plumule growth. The results showed that treatment with SA enhanced the antioxidant defense activities in Ni-stressed wheat, thus alleviating Ni-induced oxidative damage and enhancing Ni tolerance.

**Key Words:** Catalase, Ni Stress, Oxidative Stress, Peroxidase, Salicylic Acid, Wheat