Archive of SID

فصل‌نامه‌ی داروهای گیاهی

journal homepage: www.journal.iaushk.ac.ir

اثر بر هم‌کنش سالیسیلیک اسید و تنش سرما بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.)

نرگس سلطانی دلربا[۱]*، رویا کرمیان[۲]، مسعود رنجبر[۳]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران؛

*مسئول مکاتبات (Email: nargessoltani65@yahoo.com)

۲. دانشیار فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران؛

۳. دانشیار سیستماتیک گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران؛

شناسه مقاله

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۳/۱۲

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۶/۲۰

نوع مقاله: پژوهشی

موضوع: به زراعی- به نژادی

کلید واژگان :

- پلی‌فنل اکسیداز
- پراکسیداز
- تنش سرما
- سالیسیلیک اسید
- شیرین‌بیان

چکیده

مقدمه و هدف: جنس شیرین‌بیان (Glycyrrhiza) متعلق به تیره Fabaceae، دارای گیاهان علفی چند ساله با سه گونه در ایران است که در بین آن‌ها *G. glabra* L. بیشترین پراکنش را در سطح ایران دارد. عصاره ریشه آن در سراسر دنیا کاربرد وسیعی در پزشکی، صنایع غذایی، دخانیات و صنایع دیگر دارد. ترکیب اصلی این گونه شامل فلاونوئیدها و گلیسیریزین است. Glabridin و Liquiritin بخش عمده فلاونوئیدهای این عصاره را تشکیل می‌دهند که واجد فعالیت شبه استروژنی، آنتی‌اکسیدانی، آنتی هلیکوباکتر، آنتی‌نفریتیک و مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد می‌باشند. در این تحقیق اثر برهم کنش سالیسیلیک اسید با تنش سرما بر فعالیت برخی آنزیم های آنتی اکسیدانی مانند پراکسیداز (PRX) و پلی فنل اکسیداز (PPO) به روش اسپکتروفتومتری و بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد مطالعه قرار گرفت.

روش تحقیق: جهت انجام آزمایش اعمال تیمارهای سرما و سالیسیلیک اسید (SA)، بذرها به مدت ۲۴ ساعت در غلظت-های ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید نگهداری شدند. سپس بذرها به محیط کشت MS پایه انتقال یافتند. نمونه‌های شاهد تحت تأثیر SA قرار نگرفتند. پس از ۲ هفته دانه‌رست‌های حاصل جهت اعمال تنش سرما به مدت ۵، ۱۰ و ۲۰ ساعت در دمای ۴ °C قرار داده شدند. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۸ انجام شد و مقایسه میانگین ویژگی‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث: نتایج نشان داد که تنش سرما اثری بر فعالیت آنزیم PPO ندارد و SA فعالیت آن را کاهش می‌دهد. هم‌چنین با افزایش سطح تنش سرما فعالیت آنزیم PRX کاهش یافت و SA در این شرایط موجب کاهش فعالیت آنزیم شد. لذا ممکن است SA به طور مستقیم در حذف رادیکال‌های آزاد نقش داشته باشد و با پاکسازی آن‌ها، از افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی جلوگیری کند. بررسی اثرات تنش‌های محیطی بر فعالیت آنزیم‌های مهم در مسیرهای متابولیکی گیاه شیرین‌بیان، می‌تواند در راستای آگاهی از تغییرات کمی و کیفی ترکیبات دارویی این گیاه ارزشمند باشد.

توصیه کاربردی/صنعتی: با توجه به اهمیت دارویی گیاه شیرین‌بیان مطالعه اثر دیگر تنش‌های اکسیدتیو و القاء کننده-هایی مانند سالیسیلیک اسید در دستیابی به منبعی برای تولید سریع و افزایش ترکیبات ثانویه توصیه می‌گردد.

۱. مقدمه

گیاه جنس *Glycyrrhiza* L. یکی از جنس‌های مهم تیره باقلا (Fabaceae) است که دارای ۳۰ گونه در دنیا و ۳ گونه در ایران است. این جنس دارای گیاهان چندساله است که در بین آن‌ها *G. glabra* L. بیشترین پراکنش را در سطح ایران دارد. عصاره ریشه این گونه در سرتاسر دنیا کاربرد وسیعی در پزشکی، صنایع غذایی،

www.SID.ir

Archive of SID

دخانیات و صنایع دیگر دارد. گلیسیریزین[1] که جزء اصلی و شیرین-کننده این عصاره است، یک ساپونین گلیکوزید ترپنوئید می‌باشد که با اثر بر حفظ سدیم و دفع پتاسیم موجب هایپرمینرالوکورتیکوئیدیسم، ادم و نیز افزایش فشار خون می‌گردد. هم‌چنین این جزء واجد فعالیت ضد ویروسی و ضد التهابی است. عوامل محیطی باعث تغییراتی در رشد گیاهان دارویی و نیز در مقدار و کیفیت مواد مؤثره آن‌ها نظیر آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها، روغن‌های فرار (اسانس‌ها) و امثال آن می‌گردند (امیدبیگی، ۱۳۸۴). تنش‌های زیستی (پاتوژن و رقابت با دیگر ارگانیسم‌ها) و غیرزیستی (خشکی، شوری، پرتوها، درجه حرارت بالا، یا یخبندان) باعث ایجاد تغییر در فعالیت‌های فیزیولوژیکی طبیعی همه گیاهان می‌شوند. همه این تنش‌ها ظرفیت بیوسنتزی گیاهان را کاهش می‌دهند و ممکن است موجب ایجاد خساراتی شوند که گیاهان را نابود می‌کند (Lichtenhaler, 1996). آنزیم‌ها کاتالیزور واکنش‌های فیزیولوژیک گیاهان محسوب می‌شوند. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که آنزیم‌ها حساس‌ترین عامل تغییرات فیزیولوژیک در گیاهان تحت تنش‌های محیطی‌اند. بررسی آنزیم‌ها از نظر کمی و کیفی تحت تأثیر تنش‌های مختلف از جمله بررسی‌های مهم اکوفیزیولوژیکی است. یکی از اثرات تنش‌های محیطی آسیب اکسیداتیو و تولید رادیکال‌های آزاد می‌باشد(شجاعی رنجبر، ۱۳۸۰). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با هم‌کاری یک‌دیگر موجب فرونشانی سمیت رادیکال‌های آزاد می‌شوند. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که پراکسیداز به تنش‌های مختلف محیطی حساس بوده و قادر است H_2O_2 موجود در گیاه را که اغلب در زمان تنش افزایش می‌یابد و به گیاه آسیب می‌رساند تجزیه کند و با تولید آب و فنل‌های بی‌ضرر در بافت‌های گیاهی، ماده سمی H_2O_2 را از محیط دور می‌کند. پلی‌فنل‌اکسیدازها از جمله اکسیدازهایی هستند که در بیوسنتز دیواره سلولی، مقابله با بیماری‌ها و شرایط تنشی فعال هستند (شجاعی رنجبر، ۱۳۸۰).

برخی محرک‌ها از جمله سالیسیلیک اسید (SA) موجب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها می‌شوند. SA با اثر بر روی آنزیم‌های آنتی اکسیدان مانند کاتالاز (Slaymarker *et al.*, 2002)، سوپراکسیددیسموتاز، پلی‌فنل‌اکسیداز و پراکسیدازها (Elstner *et al.*, 1976) و متابولیت‌هایی مانند اسید آسکوربیک (Slaymarker *et al.*, 2002) و گلوتاتیون (Borsanio *et al.*, 2001) و هم‌چنین تنظیم-کننده‌های اسمزی مثل پرولین (Elstner *et al.*, 1976)، گلیسین و بتائین اثرات ناشی از تنش‌های خشکی (Senaranta *et al.*, 2002)، گرما (Leubner-Metzager *et al.*, 1998)، سرما (Tasgin *et al.*, 2006)، شوری (Elstner *et al.*, 1976)، فلزات سنگین (Pal *et al.*, 2002) و بیماری‌های گیاهی (Davis, 2005) را کاهش می‌دهد.

در این تحقیق اثر برهم‌کنش سالیسیلیک اسید و تنش سرما بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به روش اسپکتروفتومتری، مورد مطالعه قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

در این مطالعه از بذرهای *G. glabra* که از زیستگاه طبیعی آن (مناطق مختلف استان همدان) جمع آوری شده بود استفاده گردید. بذرها پس از خراش دادن و تیمار ۴ دقیقه‌ای در اسید سولفوریک غلیظ و سپس ۳ بار شستشو با آب مقطر استریل به مدت ۲۴ ساعت در غلظت‌های مختلف SA نگهداری شدند (غلظت‌های SA مورد استفاده شامل ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار بود) پس از این مدت بذرها از محلول خارج شده و در محیط کشت MS بدون هورمون (Murashige and Skoog, 1962) حاوی ۳۰٪ سوکروز و ۷٪ آگار کشت داده شدند. کشت‌ها پس از انکوباسیون ۱ روزه در ۴ °C و در دمای ۲۵ °C و تناوب نوری ۱۶/۸ تاریکی/ روشنایی نگهداری شدند. نمونه‌های شاهد تحت تاثیر SA قرار نگرفتند. تمام مراحل کار در زیر هود لامینار و در شرایط استریل انجام شد. پس از دو هفته دانه‌رست‌های حاصل در محیط‌کشت MS پایه به ترتیب به مدت ۵، ۱۰ و ۲۰ ساعت، در دمای ۴ °C قرار داده شدند. سپس عصاره‌گیری نمونه‌ها بلافاصله در دمای ۴ °C انجام شد و فعالیت کمی پراکسیداز با دستگاه اسپکتروفتومتر Perikin Elmer UV/Visible مدل Lambda 45 و بر اساس روش لیو و هم‌کاران (Liu *et al.*, 1999) و فعالیت کمی پلی‌فنل‌اکسیداز بر اساس روش ریموند و هم‌کاران (Raymond *et al.*, 1993) بررسی شد. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS Version 8 انجام شد و مقایسه میانگین ویژگی‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد (بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی) انجام شد.

[1]- Glycyrrhizin

www.SID.ir

Archive of SID

۳. نتایج و بحث

۳-۱. مطالعه فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز

براساس نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس، تنش سرما بر فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز تأثیری نداشت ولی اثر سالیسیلیک اسید و برهم‌کنش SA و سرما بر فعالیت این آنزیم در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین‌های فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز تحت تأثیر SA مشخص کرد که SA فعالیت آنزیم را کاهش داد به طوری که آنزیم در تیمار شاهد دارای بیشترین میزان فعالیت بود و کمترین میزان فعالیت را در غلظت ۱۰ میکرومولار SA نشان داد (جدول ۲). مقایسه فعالیت این آنزیم در برهم‌کنش سالیسیلیک اسید و سرما نشان داد که بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در تیمار ۵ ساعت سرما و در غلظت صفر میکرومولار SA بود و کمترین میزان فعالیت آن در تیمار ۵ ساعت سرما و در غلظت ۱۰ میکرومولار SA مشاهده شد (جدول ۳). در مجموع نتایج حاصل نشان داد که سالیسیلیک اسید موجب کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز شد و سطوح مختلف سرما تأثیری بر فعالیت آنزیم نداشت. تأثیر SA در تعدیل پاسخ گیاه و کاهش فعالیت آنزیم‌ها در محدوده وسیعی از تنش‌های اکسیداتیو گزارش شده است (Shirasu *et al*., 1997) که با نتایج حاصل از این بررسی مطابقت دارد. به طور کلی تنش اکسیداتیو حاصل افزایش سطح رادیکال‌های آزاد اکسیژن درون سلولی است. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ممکن است راهی برای تحمل گیاه به تنش‌های محیطی باشد. در گزارشی از دولت آبادیان و هم‌کاران (۱۳۸۶) فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید-دیسموتاز و پلی‌فنل‌اکسیداز در گندم (*Triticum aestivum* L.) تحت تأثیر SA کاهش یافت. با توجه به کاهش فعالیت این آنزیم‌ها آن‌ها نتیجه گرفتند که ممکن است SA به طور مستقیم در از بین بردن رادیکال‌های آزاد نقش داشته باشد و با پاک‌سازی این گونه‌های فعال، از افزایش فعالیت آنزیم جلوگیری کند.

۳-۲. مطالعه فعالیت آنزیم پراکسیداز

نتایج نشان داد که تأثیر SA، تنش سرما و اثر متقابل تنش سرما و SA بر فعالیت آنزیم پراکسیداز معنی‌دار بوده است (جدول ۱). مقایسه میانگین‌های فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تأثیر SA نشان داد که به کارگیری SA فعالیت آنزیم را کاهش داد به طوری که بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در نمونه شاهد و کمترین میزان فعالیت این آنزیم در غلظت ۱۰۰ میکرومولار SA حاصل شد (جدول ۲). با مقایسه میانگین‌های فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تنش سرما مشخص شد که با افزایش سطح تنش فعالیت آنزیم کاهش یافت و در ۵ ساعت سرما فعالیت این آنزیم دارای بیشترین مقدار و در ۲۰ ساعت سرما دارای کمترین میزان بود (جدول ۴). مقایسه فعالیت این آنزیم در برهم‌کنش سالیسیلیک اسید و سرما نشان داد که بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در تیمار ۵ ساعت سرما و در غلظت صفر میکرومولار SA و کمترین میزان فعالیت آن در تیمار ۲۰ ساعت سرما و در غلظت ۱۰۰ میکرومولار SA مشاهده شد که با تیمارهای $S_{100}C_2$، $S_{100}C_1$ و $S_{50}C_3$ در یک گروه آماری قرار گرفت (جدول ۳). در مجموع نتایج حاصل حاکی از آن بود که SA تأثیر منفی بر فعالیت پراکسیداز گذاشت و در بالاترین سطح تنش اعمال شده پراکسیداز کمترین میزان فعالیت را داشت. تولید ROS ها طی تنش سرما می‌تواند در درک تنش و محافظت از گیاه نقش داشته باشد (Suzuki and Mittler, 2006). در فرآیندهای دفاعی گیاه ROS ها در مسیرهای انتقال علامت مختلفی از جمله شروع پاسخ‌های فوق حساس (HR)، تجمع فیتوآلکسین‌ها و فعال‌سازی ژن‌های مربوط به پاسخ‌های دفاعی شرکت دارند. گیاهان باید سطوح این ترکیبات را در فرایند انتقال علامت تعدیل کنند (Mittler, 2002). سطوح ROS ها در شرایط تنش به وسیله شبکه‌ای از آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتی از جمله پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و مولکول‌های کوچک که در بخش‌های مختلف سلولی وجود دارند کنترل می‌شود. گاهی در شرایط تنش ممکن است قدرت آنتی‌اکسیداتی به منظور کاهش اثر آسیب‌های اکسیداتیو کافی نباشد لذا تولید مولکول‌های سیگنال در گیاهان یک گام مهم در پاسخ آن‌ها به تنش‌های محیطی محسوب می‌شود. چندین مولکول سیگنالی که در گیاهان شناسایی شده است می توان جاسمونیک اسید، SA و اتیلن را نام برد که ترکیبات شبه هورمونی هستند که نقش مهمی در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه از جمله فتوسنتز دارند (Arfan *et al*., 2007).

سالیسیلیک اسید به طور مستقیم یا غیرمستقیم آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی را فعال کرده و با افزایش فعالیت آن‌ها موجب پاک‌سازی ROS های ایجاد شده در اثر تنش می‌شود. پراکسیدازها از جمله

www.SID.ir

Archive of SID

آنزیم‌هایی به شمار می‌روند که نقش بسیار مهمی را در پاسخ به تنش-های غیرزیستی مانند خشکی و سرما دارند. پراکسیدازها مسئول حذف مقادیر اضافی پراکسیدهیدروژن می‌باشند. SA می‌تواند به عنوان یک سوبسترای دهنده الکترون برای پراکسیداز عمل نماید. گزارش‌های متعددی وجود دارد که نشان می‌دهد SA موجب افزایش فعالیت پراکسیداز می‌شود ازجمله در گیاه آفتابگردان، استفاده از SA برون‌زا سبب افزایش فعالیت پراکسیداز شده است (Cag *et al.*, 2009). افزایش فعالیت آسکوربات‌پراکسیداز نیز در گیاه برنج تحت تاثیر سرما گزارش شده است (حسیبی و هم‌کاران، ۱۳۸۷).

جدول ۱. تجزیه واریانس فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز و پراکسیداز تحت تنش سرما پس از پیش‌تیمار با سالیسیلیک اسید

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات (MS)	
		فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز	فعالیت آنزیم پراکسیداز
SA	۴	۰/۲۶۴ **	۱۱/۹۸ **
COLD	۲	۰/۰۰۰۸۴ ns	۲/۸۱۴ **
SA×COLD	۸	۰/۰۹۷۶ **	۱/۹۹ **
اشتباه	۳۰	۰/۰۰۱۱۶	۰/۰۳۱۷
کل	۴۴	-	-

** و * به ترتیب در سطح ۱ درصد و ۵ درصد معنی‌دار می‌باشد و ns غیر معنی‌دار است.

جدول ۲. مقایسه میانگین‌های فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز و پراکسیداز تحت تاثیر سالیسیلیک اسید

SA (µM)	فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز (واحد جذب در دقیقه به ازای میلی‌گرم پروتئین)	فعالیت آنزیم پراکسیداز (واحد جذب در دقیقه به ازای میلی‌گرم پروتئین)
0	۰/۷۰۹ a	۳/۳۹ a
10	۰/۲۹۹ e	۰/ ۹۹ c
50	۰/۵۹۱ b	۰/۸۱ d
100	۰/۳۳۹ d	۰/۴۹ e
500	۰/۴۵۹ c	۱/۲۷ b

* اختلاف میان حروف مشابه در هر ستون و یا هر ویژگی بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵٪ معنی‌دار نیست.

جدول ۳. مقایسه میانگین فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنل‌اکسیداز و پراکسیداز در تنش سرما و پیش‌تیمار با سالیسیلیک اسید

تیمار	پلی‌فنل‌اکسیداز	پراکسیداز
S_0C_1	۰/۹۳۲ ±۰/۰۴ a	۵/۰۳۹±۰/۵ a
$S_{10}C_1$	۰/۱۸۲ ±۰/۰۳ h	۰/۶۹۸±۰/۰۵ ef
$S_{50}C_1$	۰/۳۸۸ ±۰/۰۳ def	۰/۹۲±۰/۰۵ e
$S_{100}C_1$	۰/۲۹۸ ±۰/۰۰۷ g	۰/۵۷۴±۰/۰۲ fg
$S_{500}C_1$	۰/۵۸۳ ±۰/۰۱ c	۱/۶۹۷±۰/۰۷ c
S_0C_2	۰/۷۵۸ ±۰/۰۰۸ b	۳/۶۵۲±۰/۳ b
$S_{10}C_2$	۰/۳۳۶ ±۰/۰۳ fg	۰/۸۳۸±۰/۰۴ ef

www.SID.ir

Archive of SID

ادامه جدول ۳. مقایسه میانگین فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنل‌اکسیداز و پراکسیداز در تنش سرما و پیش‌تیمار با سالیسیلیک اسید

تیمار	پلی‌فنل‌اکسیداز	پراکسیداز
$S_{50}C_2$	۰/۵۸۱ ±۰/۰۴ ^{c}	۰/۹۵±۰/۰۵ ^{e}
$S_{100}C_2$	۰/۳۵۲ ±۰/۰۳ ^{fg}	۰/۶۱۸±۰/۰۸ ^{efg}
$S_{500}C_2$	۰/۴۱۶ ±۰/۰۳ ^{de}	۱/۲۶۶±۰/۰۹ ^{d}
S_0C_3	۰/۴۳۹ ±۰/۰۲ ^{d}	۱/۴۹۴±۰/۲۵ ^{cd}
$S_{10}C_3$	۰/۳۸۲ ±۰/۰۲ ^{def}	۱/۴۴±۰/۱۳ ^{cd}
$S_{50}C_3$	۰/۸۰۶ ±۰/۰۶ ^{b}	۰/۵۶۱±۰/۰۲ ^{fg}
$S_{100}C_3$	۰/۳۶۹ ±۰/۰۳ ^{ef}	۰/۳±۰/۰۲ ^{g}
$S_{500}C_3$	۰/۳۷۸ ±۰/۰۰۵ ^{ef}	۰/۸۴۶ ±۰/۰۴ ^{ef}

S: غلظت‌های مختلف ۰، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلک. C_1: ۵، C_2: ۱۰ و C_3: ۲۰ ساعت سرما.
* اختلاف میان حروف مشابه در هر ستون و یا هر ویژگی بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵٪ معنی‌دار نیست.

جدول ۴. مقایسه میانگین‌های فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز و پراکسیداز تحت تأثیر سطوح مختلف تنش سرما

سطوح مختلف تنش سرما (۴°C)	فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز (واحد جذب در دقیقه به ازاء میلی‌گرم پروتئین)	فعالیت آنزیم پراکسیداز (واحد جذب در دقیقه به ازاء میلی‌گرم پروتئین)
ساعت ۵	۰/۴۷۶ ^{a}	۱/۷۸ ^{a}
ساعت ۱۰	۰/۴۸۸ ^{a}	۱/۴۶ ^{b}
ساعت ۲۰	۰/۴۷۴ ^{a}	۰/۹۲۸ ^{c}

* اختلاف میان حروف مشابه در هر ستون و یا هر ویژگی بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵٪ معنی‌دار نیست.

پوراکبر و هم‌کاران (۱۳۸۳) در مطالعه اثر پیش‌تیمار SA بر مقاومت دانه‌رست‌های گیاه تربچه تحت تنش سرما گزارش کردند که SA در ریشه گیاه سبب افزایش فعالیت پراکسیداز شد و با افزایش غلظت SA میزان فعالیت آنزیم افزایش یافت. البته شواهدی وجود دارد که SA موجب افزایش ROSهایی مانند O_2 و H_2O_2 می‌شود (Minibaeva *et al.*, 2001) که افزایش H_2O_2 ممکن است خود به عنوان مولکول سیگنال سبب فعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شود (Klessing *et al.*, 2000). هم‌چنین برخی محققین شرح داده‌اند که تجمع H_2O_2 به وسیله SA ناشی از بازدارندگی فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز و کاتالاز می‌باشد (Landberg and Greger, 2002).

۴. نتیجه گیری

گیاهان در طول حیات خود با عوامل تنشی متعددی روبرو هستند. تنش های محیطی باعث تغییراتی در رشد گیاهان دارویی و نیز در مقدار و کیفیت مواد مؤثره آن ها نظیر آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها، روغن های فرار (اسانس ها) و امثال آن می‌گردند. نتایج حاصل از این پژوهش نشان می دهد تنش سرما باعث تغییر در فعالیت آنزیم پراکسیداز می شود و سالیسیلیک اسید در برهم‌کنش با این تنش ها سبب افزایش مقاومت گیاه می-گردد. با توجه به اهمیت دارویی گیاه شیرین بیان نتایج حاصل به منظور آگاهی از تغییرات ناشی از تنش در این گیاه، ارزشمند است بدین منظور برخی موارد جهت تحقیقات آتی پیشنهاد می گردد:
- بررسی تغییرات آنتی اکسیدان های غیرآنزیمی مانند گلوتاتیون و

www.SID.ir

Archive of SID

ترکیبات فنولی و سایر آنزیم های آنتی اکسیدانی درگیر در تحمل تنش سرما، و مطالعه برهمکنش SA با آن ها؛

- بررسی چگونگی تغییر متابولیت های ثانویه به‌ویژه ترکیب گلیسیریزیک اسید در شرایط تنش، و مطالعه اثر SA بر روی این ترکیبات.

۵. منابع

امیدبیگی، ر. ۱۳۸۴. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد اول. مشهد: انتشارات آستان قدس رضوی.

پوراکبر، ل. و نوجوان اصغری، م. ۱۳۸۳. بررسی اثر سالیسیلیک اسید در ایجاد مقاومت به سرما در دانه‌رست‌های تربچه. *نشریه علوم دانشگاه تربیت معلم*، جلد۴، شماره۳، صفحات ۴۲۰-۴۰۹.

حسینی، پ.، مرادی، ف. و نبی‌پور، م. ۱۳۸۷. اثر دمای پایین بر سازوکار آنتی‌اکسیدان‌های ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم برنج در مرحله گیاهچه‌ای. *مجله علوم زراعی ایران*، جلد دهم، شماره ۳، صفحات ۲۸۰-۲۶۲.

دولت آبادیان، آ.، مدرس ثانوی، ع. م. و اعتمادی، ف. ۱۳۸۷. اثر پیش-تیمار سالیسیلیک اسید بر جوانه‌زنی بذر گندم (*Triticum aestivum* L.) در شرایط تنش شوری. *مجله زیست‌شناسی ایران*، جلد ۲۱، شماره ۴، صفحات ۷۰۲-۶۹۲.

شجاعی رنجبر، سرور. ۱۳۸۰. بررسی تغییرات لیپیدها و پروتئین‌های کالوس آفتاب‌گردان در شرایط شوری. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تهران.

Arfan, M., Athar, H. R. and Ashraf, M. 2007. Does exogenous application of salicylic acid through the rooting medium modulate growth and photosynthetic capacity in two differently adapted spring wheat cultivars under salt stress? *Plant Physiology*, 6(4): 685-694.

Borsanio, F., Balpuestsa, 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 seedling. *Plant Physiology*, 126: 1024-1030.

Cag, S., Cevahir-Oz, G., Sarsag, M. and Goren-Saglam, N. 2009. Effect of salicylic acid on pigment, protein content and peroxidase activity in excised sunflower cotyledons. *Pak. Journal of Botany*, 41(5): 2297-2303.

Davis, P. J. 2005. Plant hormones biosynthesis, signal transduction and action. Springer, pp. 22.

Elstner, E. F., Konse, J. R., Selman, B. R. and Stoffer, C. 1976. Ethylene formation in sugar Beet Leaves. *Plant Physiology*, 58: 215-225.

Klessig, D. F., Durner, J., Noad, R., Navarre, A., Wendehenne, D., Kumar, D., Zhou, J. M., Shah, J., Zhang, S., Kachroo, P., Trifa, Y., Pontier, D., Lam, E. and Silva, H. 2000. Nitric oxide and salicylic acid signaling in plant defense. *National Academy of Sciences colloquium*, 97: 8849-8855.

Landberg, T. and Greger, M. 2002. Differences in oxidative stress in heavy metal resistant and sensitive clones of Salix viminalis. *Journal of Plant Physiology*, 159: 69-75.

Leubner-Metzager, G., Petruzzeli, L., Waldvogel, R., Vogeli-Lange, R. and Meins J. F. 1998. Ethylene responsive element binding protein (EREBP) expression and transcription regulation of class B-I, 3-glucanase during tobacco seed germination. *Plant Molecular Biology*, 38: 785-795.

Lichtenhaler, H. K. 1996. Vegetation stress: An introduction to the stress concept in plant. *Journal of Plant Physiology*, 148: 4-14.

Liu, W., Fang, J., Zhu, W. M. and Gao, P. J. 1999. Isolation, purification and properties of the peroxidase from the hull of *Glycine max*. *Science of Food and Agriculture*, 79 (5): 779-785.

Minibaeva, F. V., Gordon, L. K. and Kolesnikov, O. P. 2001. Role of extra cellular peroxidase in the superoxide production by wheat root cells. *Protoplasma*, 217: 125-128.

www.SID.ir

Archive of SID

Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Science*, 7(9): 405-410.

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiology*, 15: 473.

Pal, M., Szalai, Z., Horvath, E., Janda, T. and Paldi, E. 2002. Effect of salicylic acid during heavy metal stress. *Acta Biologica Szegediensis*, 46(3-4): 119-120.

Raymond, J., Pakariyathan, N. and Azanza, J. L. 1993. Purification and some properties of polyphenol oxiases from sunflowers seeds. *Phytochemistry*, 34: 927-931.

Senaranta, T., Touchell, D., Bumm, E. and Dixon, K. 2002. Acetylsalicylic (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Plant Growth Regulation*, 30: 157-161.

Shirasu, K., Nakajima, H., Rajashekar, K., Dixon, R. A. and 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.

Slaymarker, D. H., Navarre, D. A., Clark, D., Pozo, O. D., Martin, G. B and Klessing, D. F. 2002. The tobacco salicylic plays a role in the hypersensitive defense response. *National Academy of Sciences colloquium*, 99 (18): 11640-11645.

Suzuki, N. and Mittler, R. 2006. Reactive oxygen species and temperature stresses: a delicate balance between signaling and destruction. *Plant Physiology*, 126: 45-51.

Tasgin, E., Atici, O. and Nalbantoglu, B. 2006. Effects of salicylic acid and cold on freezing tolerance in winter wheat leaves. *Plant Growth Regulation*, 41: 231-236.

www.SID.ir