Arshive of SID

نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال سیزدهم، شماره ۵۰، تابستان ۱۳۹۷ / صفحات: ۱۲-۱

مطالعه درون شیشه‌ای اثر اسید سالیسیلیک بر برخی ویژگی‌های رشدی و بیوشیمیایی سیب‌زمینی رقم آگریا (*Solanum tuberosum* cv. Agria) تحت تنش شوری

فرزانه فخیمی[۱]، علیرضا مطلبی آذر[۱]، فریبرز زارع نهندی[۱]، نعمت سخندان بشیر[۲] و غلامرضا گوهری[۳]*

[۱] گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

[۲] گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

[۳] گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۷/۳/۶ تاریخ پذیرش:۹۷/۶/۱۶

چکیده

تنش شوری، یک تنش محیطی است که رشد و نمو گیاهان و تولید محصولات کشاورزی از جمله سیب زمینی را در بیشتر نقاط جهان متاثر می‌سازد. این پژوهش با هدف بررسی اثر سالیسیلیک اسید بر صفات رشدی و بیوشیمیایی سیب زمینی رقم آگریا تحت تنش شوری در شرایط درون شیشه‌ای انجام شد. برای این منظور، آزمایشی در قالب طرح‌های کاملاً تصادفی با ۸ تکرار در گروه باغبانی دانشگاه تبریز به اجرا درآمد. عامل‌های آزمایش، شامل شوری در دو سطح (صفر و ۷۰ میلی‌مول بر لیتر کلرید سدیم)، اسید سالیسیلیک در چهار سطح (صفر، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌مول بر لیتر) بود. نتایج نشان داد که استفاده از اسید سالیسیلیک توانسته است به‌طور معنی‌داری اثرات شوری را کاهش دهد، با این وجود بالاترین طول گیاهچه در تیمار شوری در ۱۰ میلی‌مول بر لیتر اسید سالیسیلیک مشاهده شد که حاکی از اثرات مثبت تیمار در کاهش اثرات منفی تنش شوری است، با این‌حال غلظت‌های بالاتر از ۱۰ میلی‌مول بر لیتر نه تنها تاثیری در گیاهچه‌ها نداشته، حتی باعث اثرات منفی شدیدی نیز گردید. همچنین فعالیت ترکیبات و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در تمام غلظت‌های بررسی شده اسید سالیسیلیک و تنش شوری نسبت به گیاه شاهد افزایش قابل توجهی نشان داد. بررسی نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که سیب‌زمینی رقم آگریا نسبتاً به شوری حساس بوده، به گونه‌ای که کلیه صفات مورد بررسی در آزمایش تحت تأثیر اولین سطح شوری اعمال شده قرار گرفتند. همچنین کاربرد اسید سالیسیلیک با کمک به بهبود ویژگی‌های رشدی و بیوشیمیایی موجب افزایش تحمل این رقم در برابر تنش شوری گردید.

واژه‌های کلیدی: اسید سالیسیلیک، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، سیب‌زمینی، شوری، کشت بافت، ویژگی‌های رشدی.

مقدمه

شوری، اساسا به‌عنوان یک مشکل جهانی مطرح می‌باشد. این مسأله بسیار جدی است چرا که مطابق برآورد برنامه محیط زیست سازمان ملل ۲۰ درصد از زمین‌های کشاورزی و ۵۰ درصد از خاک‌های حاصلخیز جهان تحت تاثیر شوری می‌باشند. آب وهوای خشک و نیمه‌خشک ایران در تشکیل خاک‌های شور مناطق مختلف سهیم است. بر اساس همین گزارش، ٤٠ درصد از اراضی تحت آبیاری ایران در معرض شوری ثانویه قرار دارند (FAO, 2016). تجمع یون‌های سدیم یا کلر تا سطوحی که سمیت ایجاد کند سبب برهم زدن تعادل یونی و تحریک تنش‌های

*نویسنده مسئول: gholamreza.gohari@gmail.com

www.SID.ir

Arshive of SID

ثانویه‌ای چون تنش اکسیداتیو می‌گردد. عدم توازن متابولیکی ایجاد شده به وسیله سمیت یونی، تنش اسمزی و کمبود عناصر غذایی تحت شرایط شور منجر به تنش اکسیداتیو می گردد (Bai et al., 2018). از این رو سطوح بالای سدیم کلرید به دلیل ایجاد پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه متاثر از روابط آبی ایجاد شده سبب کاهش رشد و نمو مورفولوژیکی در مراحل اولیه‌ی تنش و در طولانی مدت پیری زودرس بافت و نهایتا منجر به مرگ گیاه به ویژه در مناطق ساحلی، خشک و نیمه خشک جهان می‌گردد و توجیهی بر کاهش سطح تولید اقتصادی در بسیاری از محصولات کشاورزی است. امروزه یکی از مهم‌ترین راهکارهای بهبود عملکرد گیاه تحت شرایط نامساعد، از جمله تنش شوری، منابع اصلی زیست فناوری و کشت بافت همچون عوامل ژنتیکی مقاومت به تنش-های شوری و ثبات عملکرد گیاه می‌باشد. دستیابی به این هدف مستلزم آن است که تحقیقات گسترده‌ای جهت شناسایی عوامل ایجاد کننده و کنترل اجزای تنظیم کننده‌ی آنها طول دوره تنش صورت گیرد (Jayakannan et al., 2015). اختلال اصلی تنش شوری، افت آب درونی است که برای جلوگیری از هدر رفتن آب سلول و حفاظت پروتئین‌های سلولی، گیاهان متابولیت‌های زیادی از جمله اسمولیت‌ها را انباشت می‌کنند. از آنجایی‌که آب از پتانسیل بالا به پتانسیل پایین حرکت می‌کند، انباشت این اسمولیت‌ها باعث پایین آمدن پتانسیل آب درون سلولی می‌شود و از هدر رفتن آب درون سلولی ممانعت می‌کند (Sunker et al., 2007). اسید سالیسیلیک و متیل سالیسیلات (MeSA[1]) که به سالیسیلات‌ها معروف می‌باشند متعلق به گروه بزرگی از ترکیبات فنولی بوده و به‌طور گسترده در گیاهان وجود دارد (Yang et al., 2006). مطالعات زیادی در مورد چگونگی دخالت سالیسیلات‌ها در واکنش گیاهان به تنش‌های غیر زنده محیطی از قبیل تابش ماورای بنفش، خشکی، شوری و سرمازدگی انجام یافته است . کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک به عنوان یک محرک، باعث افزایش بیان ژن‌های مسیر بیوسنتزی متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Zarinkamar et al., 2013). اسید سالیسیلیک بر سایر تنش‌ها به عنوان مثال در تنش سرما در ذرت (Faroog et al., 2008)، در تنش گرما در خردل (Hayat and Ahmad., 2006) موجب کاهش تنش و بهبود پارامترهای رشد گردید. سیب‌زمینی به عنوان یک محصول بسیار مهم غذایی، نقش مهمی در حل بحران غذا و رفع سوء تغذیه ایفا می‌کند که در حال حاضر کاهش کمَی و کیفی عملکرد سیب‌زمینی در شرایط تنش شوری به اثبات رسیده است (Zaman et al., 2015; Bunding et al., 2017). با توجه به اثرات مثبت اسید سالیسیلیک در تعدیل اثرات شوری این آزمایش با هدف بررسی درون شیشه‌ای اثرات اسید سالیسیلیک بر برخی ویژگی‌های رشدی و بیوشیمیایی سیب‌زمینی رقم آگریا تحت تنش شوری مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی، تهیه محیط کشت و اعمال تیمارها: در این آزمایش از شاخساره‌های درون شیشه‌ای رقم آگریا عاری از ویروس که از مرکز تحقیقات کشاورزی اردبیل تهیه شده بود، استفاده گردید.این آزمایش درقالب طرح کامل تصادفی در ۸ تکرار در آزمایشگاه کشت بافت گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز در سال ۱۳۹۵ انجام گردید. برای تهیه محیط کشت از نصف غلظت نمک‌های محیط کشت پایه MS، پس از آماده‌سازی محیط کشت، مقادیر مختلف اسید سالیسیلیک (صفر، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌مول بر لیتر) به همراه صفر و ۷۰ میلی‌مول بر لیتر

1- Methyl salicylate

www.SID.ir

Arshive of SID

کلرید سدیم استفاده شد. علاوه بر این به محیط کشت از هورمون جیبرلین (GA_3) ۰/۱ گرم بر لیتر و ایندول بوتیریک اسید (IBA) ۰/۱ گرم بر لیتر، به همراه نمک‌های تیامین و پیرودکسین HCl و نیکوتئینک اسید استفاده گردید.

پس از کشت ریز نمونه‌ها تک گره، نمونه‌ها در شرایط فتوپریود ۱۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت روشنایی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، در ژرمیناتور نگه‌داری شد و پس از گذشت یک ماه از اعمال تیمارها ریز نمونه‌های گیاهی از ظروف کشت برداشته شد و سریعاً در فریزر ۸۰- منجمد گردید تا در سنجش‌ها و بررسی‌های بیوشیمیایی مورداستفاده قرار گیرد.

صفات اندازه‌گیری شده

صفات رشدی: پس از یک ماه پارامترهای رشدی نظیر طول گیاهچه و تعداد برگچه‌های نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

صفات بیوشیمیایی

سنجش فنل کل: محتوای ترکیبات فنلی با استفاده از روش Sonald و Laima (1999) مورد سنجش قرار گرفت. به طوری که ۰/۱ گرم از برگ گیاه در ۵ میلی‌لیتر متانول ۹۵ درصد ساییده و به‌مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت در تاریکی نگهداری شد. سپس به یک میلی-لیتر محلول رویی یک میلی‌لیتر متانول اضافه گردید و با آب دو بار تقطیر حجم محلول به ۵ میلی‌لیتر رسانده شد پس از آن ۰/۲ میلی‌لیتر معرف فولین ۲۰ درصد اضافه و یک میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲ درصد افزوده شد و بعد جذب نمونه در طول موج ۷۲۵ نانومتر قرائت گردید. سپس با استفاده از گالیک اسید منحنی استاندارد رسم و غلظت فنل کل بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

استخراج آنزیم‌ها: برای استخراج و سنجش پروتئین‌ها از بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH برابر۷ حاوی ۰/۲ درصد PVP استفاده شد، به‌طوری‌که به ازای یک گرم ماده‌ی تر گیاهی، ۳ میلی‌لیتر از بافر استخراج استفاده شد و سپس مخلوط همگن حاصل در لوله سانتریفیوژ ریخته و به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور عمل سانتریفیوژ انجام شد و پس از اتمام سانتریفیوژ محلول رویی را برداشته و عصاره پروتئینی حاصل برای بررسی فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز مورد استفاده قرار گرفت.

روش سنجش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD): سنجش این آنزیم به روش فتولیز ریبوفلاوین تعیین گردید. اساس این روش بر توانایی SOD در ممانعت از احیای نیترو بلو تترازولیوم (NBT) توسط رادیکال سوپر اکسید است. ابتدا ۵۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی و ۱۰۰ میکرولیتر NBT ۱/۵ میلی مول بر لیتر و ۲۰۰ میکرولیتر EDTA ۰/۱ مول بر لیتر حاوی سدیم سیانید ۰/۳ میلی‌مولار و ۱۶۵۰ میکرولیتر بافر فسفات ۰/۶۷ مولار بود سپس این محلول به مدت ۵-۸ دقیقه در شدت نور یکسان و دمای مناسب قرار داده شد، پس از این زمان ۵ میکرولیتر ریبوفلاوین به محلول اضافه و ۱۲ دقیقه صبر کرده و جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۵۶۰ نانومتری اندازه‌گیری گردید (Beyer and Fridovich,1987).

روش سنجش آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX): فعالیت این آنزیم توسط روش ناکانو و آسادا تعیین گردید طوری که ۹۳۵ میکرولیتر بافر ۱۰۰ میلی‌مول بر لیتر پتاسیم فسفات، ۲۵ میکرو لیتر عصاره آنزیمی و ۵۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن مخلوط و سپس جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر قرائت گردید (Nakano and Asada, 1981).

www.SID.ir

Arshive of SID

سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل: برای تعیین ضریب فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش DPPH، ابتدا ۲٤ میلی‌گرم از ترکیب DPPH را در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول خالص حل نموده و محلول حاصل در یخچال و در دمای ۲۰- درجه نگهداری و سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره متانولی به ۳/۹ میلی‌لیتر از محلول DPPH اضافه و میزان جذب در طول موج ۵۱۵ نانومتر قرائت گردید (Brand Wliliams et al., 1995).

نتایج

صفات رشدی: سطوح مختلف اسید سالیسیلیک، شوری و اثر متقابل آن‌ها روی طول گیاهچه تأثیر معنی‌داری داشتند (جدول ۱) در تیمارهایی که فاقد شوری بودند استفاده از اسید سالیسیلیک تا غلظت ۱۰ میلی‌مول بر لیتر باعث افزایش طول گیاهچه‌ها گردید، ولی در بالاتر از این غلظت کاهش معنی‌داری در طول گیاهچه مشاهده شد. نتایج نشان داد که استفاده از اسید سالیسیلیک توانسته است به‌طور معنی‌داری اثرات شوری را کاهش دهد همچنین در تیمارهای دارای شوری با افزایش اسید سالیسیلیک تا غلظت ۱۰ میلی‌مول بر لیتر افزایش معنی‌داری در طول گیاهچه مشاهده و بالاترین طول گیاهچه در تیمار شوری در ۱۰ میلی‌مول بر لیتر اسید سالیسیلیک مشاهده شد، با این‌حال غلظت‌های بالاتر از ۱۰ میلی‌مول بر لیتر نه تنها تاثیری در گیاهچه‌ها نداشته، حتی باعث اثرات منفی شدیدی نیز گردیده است. تیمار ۱۰ میلی مول بر لیتر در تمامی تیمارها از عملکرد رضایت بخشی برخوردار بوده است به طوری‌که طول گیاهچه در شرایط شوری و اعمال ۱۰ میلی مول بر لیتر اسید سالیسیلیک اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نشان داده و رشد در آن‌ها طبیعی بود (جدول ۱). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین سطوح مختلف اسید سالیسیلیک ازنظر تعداد برگچه‌ها وجود داشت این در حالی است که اختلاف معنی‌داری بین سطوح مختلف شوری مشاهده نشد. با این‌حال اثرات متقابل دو فاکتور، تأثیر معنی‌داری بر تعداد برگچه‌ها داشت. بالاترین تعداد برگچه‌ها در تیمار شوری در غلظت یک میلی‌مول بر لیتر اسید سالیسیلیک مشاهده گردید با این‌حال غلظت‌های بالاتر از یک میلی‌مول بر لیتر نه تنها نتوانسته باعث بهبود اثرات تنش شوری گردد، بلکه باعث اثرات منفی شدیدتری نیز گردیده است.

جدول ۱: مقایسه میانگین صفات رشدی گیاهچه‌های سیب زمینی رقم آگریا تحت شرایط تنش شوری و کاربرد سالیسیلیک اسید

تیمار شوری	تیمار اسید سالیسیلیک	طول گیاهچه	تعداد برگچه
۰	۰	۳٤±٤/۵^{b}	۷±۰/۸۱^{a}
۰	۱	۳۰/۷۵±۵^{b}	۵/۵±۰/۵ ^{abc}
۰	۱۰	۵۳/۷۵±۱^{a}	٦/۲۵±۰/۹۵^{ab}
۰	۱۰۰	۸/۳۱±۳/۵^{de}	۳/۷±۰/۹۵^{c}
۷۰	۰	۲۰/۵±۵/۸^{cd}	٤/۵±۰/۵^{ab}
۷۰	۱	۲۷±۲/۸^{bc}	٦/۵±۰/۷^{c}
۷۰	۱۰	۳٤/۵±۰/۷^{b}	٤±۰/۷
۷۰	۱۰۰	۸±۲/۹^{e}	٤/۲±۰/۵۱^{c}

*در هر صفت و گروه مقایسه شده، تیمارهای با حروف یکسان اختلاف معنی‌داری ندارند.

www.SID.ir

Arshive of SID

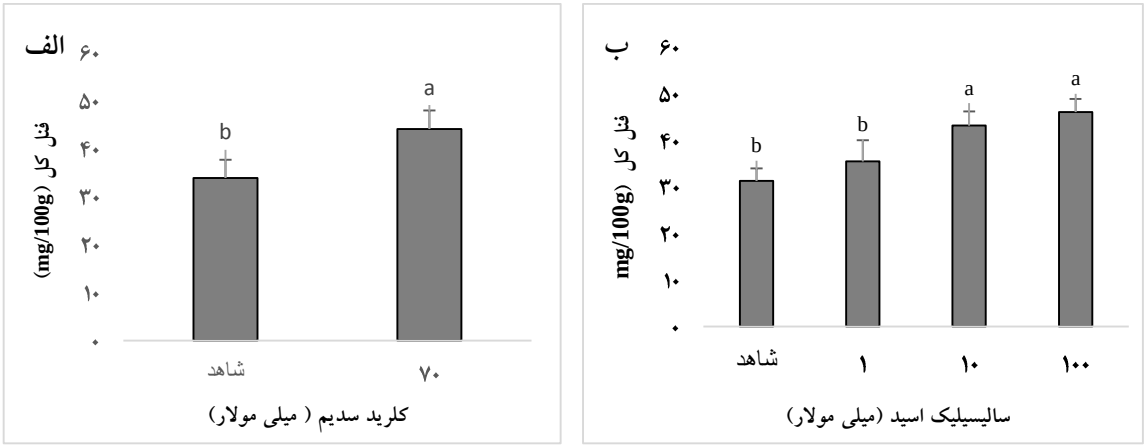
صفات بیوشیمیایی: بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس تیمار اسید سالیسیلیک موجب تغییرات معنی‌داری در تمامی صفات مورد سنجش گردید اما در تیمار سالیسیلیک اسید به جز آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز مابقی صفات بیوشمیایی اندازه‌گیری شده در این پژوهش با تغییر معنی‌دار مواجه گردیدند. همچنین بر اساس جدول (۲) اثرات متقابل تیمار شوری و اسید سالسیلیک معنی‌دار نبود.

جدول ۲: تجزیه واریانس ارزیابی ویژگی‌های بیوشیمایی گیاهچه‌های سیب زمینی رقم آگریا تحت شرایط تنش شوری و کاربرد سالیسیلیک اسید

		میانگین مربعات			
منابع تغییرات	درجه آزادی	فنل کل	درصد آنتی اکسیدان	سوپر اکسید دیسموتاز	آسکوربات پراکسیداز
سالسیلیک اسید	۳	۲۷۰/۱۱**	۳۹/٦٦ **	۲٥٥۱/۹۹ ns	۲٥۳/۱ **
سدیم کلرید	۱	۸۳۳/۳٤**	۷٤۹/۰۸ **	۲۸۸۲٦/۲٤**	۱٦٥۳/۱ **
اثر متقابل	۳	٦/۳۲٥ns	۷/٤۸ ns	۲۱٥/۹۹ ns	۳/۱ ns
اشتباه آزمایشی	۲٤	۱۷/۱٤	۳/۷۹	٥٦۰٦/۳۱	٤٤/۷۹

** و ns به‌ترتیب معنی داری در سطح احتمال یک درصد و عدم معنی‌داری

بر اساس نتایج بدست آمده در این پژوهش اختلاف معنی‌داری بین غلظت ۱ میلی‌مول بر لیتر اسید سالیسیلیک با تیمار شاهد ازنظر فنل کل مشاهده نشد، این در حالی بود که غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌مول بر لیتر اسید سالیسیلیک اختلاف معنی‌داری را با شاهد نشان داد، و به‌طور معنی‌داری مقدار فنل کل در دو غلظت ۱ و صفر میلی‌مول بر لیتر بیشتر از تیمار شاهد بود، لذا به نظر می‌رسد که غلظت مؤثر برای افزایش فنل کل ۱۰ غلظت میلی مول بر لیتر باشد (شکل ۱).

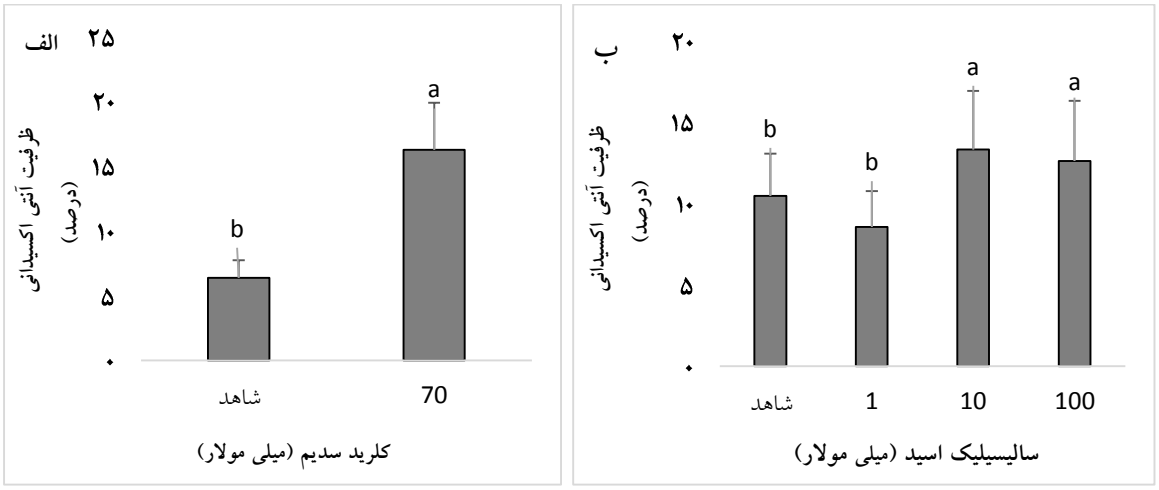


شکل ۱: اثر تیمار شوری (الف) و سالیسیلیک اسید (ب) بر میزان فنل کل درگیاهچه‌های سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه‌ای. حروف متفاوت در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

www.SID.ir

Arshive of SID

درصد آنتی‌اکسیدانی: نتیجه تجزیه واریانس مشخص کرد که محتوای آنتی‌اکسیدان فقط تحت تأثیر شوری و غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک قرار گرفت به‌طوری‌که اختلاف معنی‌داری، بین غلظت یک میلی‌مول اسید سالیسیلیک با تیمار شاهد مشاهده نگردید، این در حالی بود که غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌مول بر لیتر اختلاف معنی‌داری را با شاهد نشان داد و به‌طور معنی‌داری درصد آنتی‌اکسیدان در این دو غلظت بیشتر از شاهد بود. لذا چنین به نظر می‌رسد که غلظت مؤثر برای افزایش درصد آنتی‌اکسیدان همان غلظت ۱۰ میلی‌مول بر لیتر اسید سالیسیلیک است. نتایج نشان داد که بیشترین میزان آنتی‌اکسیدان در غلظت ۱۰ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک بود ولی در ابتدا با افزایش اسید سالیسیلیک میزان آنتی‌اکسیدان کاهش و سپس در غلظت ۱۰ میلی‌مولار بیشترین میزان آنتی‌اکسیدان وجود داشت. به‌عبارت‌دیگر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک نسبت به شاهد روند افزایشی و معنی‌دار نشان می‌دهد اما تحت غلظت ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک محیط نسبت به شاهد ٤/٢ درصد کاهش معنی‌دار در درصد آنتی‌اکسیدان نشان داد (شکل ۲).

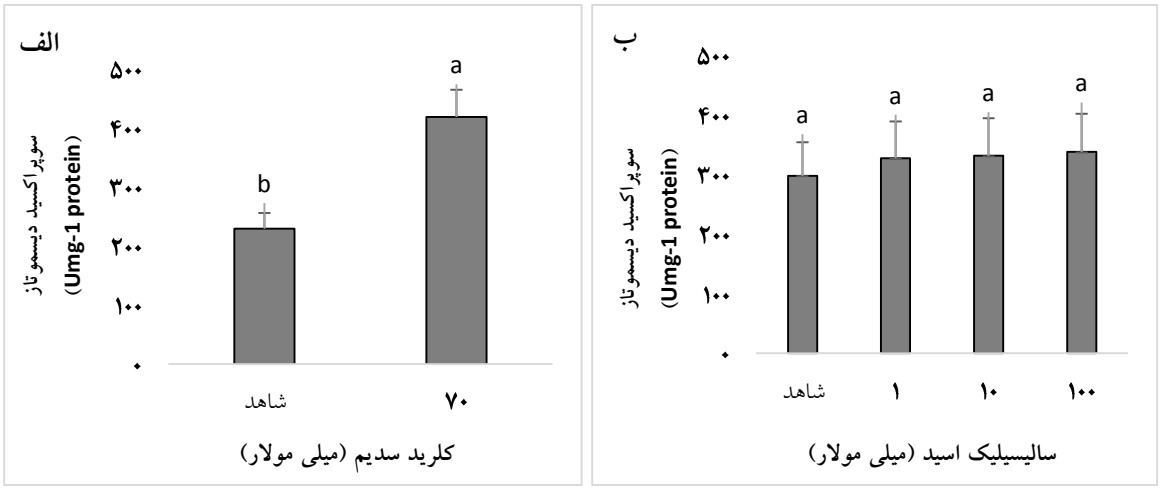


شکل ۲: اثر تیمار شوری (الف) و سالیسیلیک اسید (ب) بر ظرفیت آنتی اکسیدانی درگیاهچه‌های سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه‌ای. حروف متفاوت در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن می باشد.

ارزیابی آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD): نتایج نشان داد که مقایسه میانگین‌های این آنزیم مشابه درصد آنتی‌اکسیدان نبوده و اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف اسیدسالیسیلیک با شاهد ازنظر میزان آنزیم SOD مشاهده نشد، به‌عبارت‌دیگر غلظت ۱ میلی‌مول بر لیتر بهترین غلظتی بود که می‌توانست میزان این آنزیم را افزایش دهد.

www.SID.ir

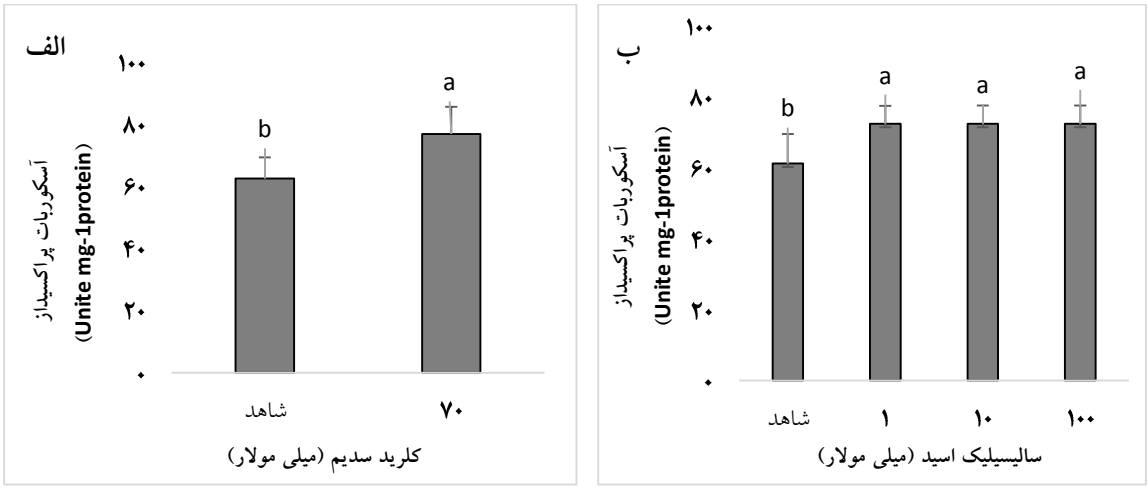
Arshive of SID



شکل ۳: اثر تیمار شوری (الف) و سالیسیلیک اسید (ب) بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز درگیاهچه‌های سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه‌ای. حروف متفاوت در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

با توجه به شکل (۳) مشخص گردید، که با افزایش سدیم کلراید میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز هم افزایش یافت چرا که فعالیت این آنزیم در شرایط تنش شوری نسبت به عدم اعمال تنش بیشتر می شود.

ارزیابی آنزیم اسکوربات پراکسیداز (APX): نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش شوری میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز افزایش یافت همچنین اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با تیمار شاهد ازنظر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز مشاهده شد این در حالی است که مقدار این آنزیم در این سه غلظت بیشتر از شاهد بود اما بین غلظت‌های ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌مول بر لیتر اسید سالیسیلیک اختلاف معنی‌داری وجود نداشت به عبارت‌دیگر غلظت ۱ میلی مول بر لیتر نسبت به شاهد نزدیک به ۱۰ درصد افزایش فعالیت نشان داد (شکل ٤).



شکل ٤: اثر تیمار شوری (الف) و سالیسیلیک اسید (ب) بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز درگیاهچه‌های سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه‌ای. حروف متفاوت در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

www.SID.ir

Arshive of SID

بحث

در تمامی تیمارها، شوری باعث کاهش صفات اندازه گیری شده گردید اما غلظت ۱ میلی‌مول بر لیتر اسید سالیسیلیک از عملکرد رضایت بخشی برخوردار بود. مطالعات کاهش رشد گیاهچه‌ها در تنش شوری در گیاه گوجه‌فرنگی در شرایط درون شیشه‌ای (Shibli et al., 2007) و عدس (Bandeogle et al., 2004) نیز گزارش شده است. در این مطالعه افزایش غلظت اسید سالیسیلیک نه تنها اثرات تنش شوری را کاهش نداد، بلکه با افزایش شدت تنفس به‌خصوص تنش اکسیداتیو و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و نشت یونی موجب کاهش بیشتر رشد گیاهچه‌های گردید (Shibli et al., 2007). به نظر می‌رسد که غلظت بهینه برای بهره‌گیری از اثرات مفید اسید سالسلیک در کاهش اثرات منفی تنش شوری بسیار حایز اهمیت می‌باشد. به‌طوری‌که در این آزمایش در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار نه تنها رشد گیاهچه‌ها بهبود پیدا نکرد بلکه باعث بروز اثرات منفی در شاخص‌های رشدی گیاهچه‌ها گردید. احتمالاً در غلظت‌های بالای اسید سالیسیلیک مسیرهای غیر آنزیمی برای تبدیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن به پر اکسید هیدروژن به کار گرفته می‌شود. مثلا از آنتی‌اکسیدان‌های مانند گلوتاتیون و آسکوربات استفاده می‌شود (Mittler, 2002). در این پژوهش اسید سالیسیلیک در غلظت ۱میلی‌مولار، احتمالا توانسته با دارا بودن خواص آنتی اکسیدانی و با دخالت در پاکسازی یون سوپر اکسید دیسموتاز، تولید پراکسید هیدروژن درون سلولی را در شرایط تنش کاهش دهد و سبب افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز شود. در واقع نقش اسید سالیسیلیک در کاهش تنش اکسیداتیو را مربوط به توانایی اسید سالیسیلیک در القای آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز و تبدیل یون سوپراکسید به پراکسیدهیدروژن و اکسیژن مولکولی می دانند و بیان می کنند که اگر پراکسید هیدروژن تولید شده به موقع از سلول دفع نشود با آنیون‌های سوپراکسید واکنش داده و تولید رادیکال‌های هیدروکسیلی می کند که بسیار سمی و واکنش پذیر است. از طرفی اسید سالیسیلیک با تبدیل آنیون سوپر اکسید به پراکسید هیدروژن، این آنیون را از سلول حذف می‌کند و از طرفی دیگر با القای آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مانند آسکوربات پراکسیداز، سمیت آب اکسیژنه را نیز کاهش می‌دهد (Nasibi et al., 2010). در تایید این نتایج، بسیاری از پژوهش‌ها کارکرد اسید سالیسیلیک را در کاهش تنش اکسیداتیو به القای فعالیت آنزیم‌های حذف کننده رادیکالهای آزاد نسبت داده‌اند (Li et al., 2008).

اسیدسالیسیلیک به عنوان یک گروه از ترکیبات فنلی محسوب شده که با دارا بودن گروه هیدروکسیلی و داشتن خاصیت دهندگی یک پروتون و الکترون، به‌عنوان جاروبگر و تجزیه گونه‌های فعال اکسیژن نقش داشته است (Munns et al., 2008). در این تحقیق با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک و شوری، مقدار فنل کل هم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به نظر می‌رسد که اسید سالیسیلیک در گیاهان به عنوان یک پیام‌رسان ثانویه، باعث افزایش القای بیان برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) می‌شود. این آنزیم با افزایش سنتز ترکیبات فنلی باعث افزایش تحمل گیاه در برابر شرایط تنش‌زا گردید (Mittler, 2002). همچنین تجمع ترکیبات فنلی در گیاهان، راهکاری برای مهار فعالیت رادیکال‌های اکسیژن فعال و محافظت غشای سلول از صدمات تنش شوری محسوب می‌شود، به‌طوری‌که نتایج این مطالعه با یافته‌های (Navarro et al., 2006) که افزایش غلظت فنل کل را در توده‌های مختلف کوشیا (*Kochia scoparia*) تحت تنش شوری گزارش کرده بودند مطابقت دارد.

www.SID.ir

Arshive of SID

بررسی تأثیر تیمار شوری بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهچه‌ها نشان داد، که با افزایش غلظت سدیم کلرید، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه نسبت به شاهد افزایش یافت چرا که با افزایش سدیم کلرید فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه افزایش می‌یابد چنانچه که نتایج نشان می‌دهد اسید سالیسیلیک فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی را افزایش می‌دهد، پیشنهاد شده که تحریک افزایش فعالیت آنتی اکسیدان‌ها به خاطر تحریک سنتز پروتئین‌ها توسط اسید سالیسیلیک حاصل می‌شود (Mazen, 2004). Noreen و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که کاربرد اسید سالیسیلیک ظرفیت آنتی اکسیدانی را در آفتاب گردان تحت تنش شوری را افزایش داد که با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد.

سطح گونه‌های فعال اکسیژن می‌تواند توسط آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی کنترل شود. آسکوربات، متابولیتی است که علاوه بر اعمال نقش در چرخه آسکوربات گلوتاتیون، برای حذف رادیکال‌های آزاد به‌طور مستقیم نقش ایفا کند (Kang., 2003). در یک مطالعه شدت تنش شوری به‌طور معنی‌داری فعالیت آنزیمی، آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ کاهو در مقایسه با تیمار شاهد افزایش داد (Han and Lee, 2005) که بر این اساس می‌توان فرض کرد، افزایش انباشت آسکوربات پراکسیداز در طی اعمال تیمارها به خاطر افزایش فعالیت آنزیم‌های دیگر درگیر در چرخه آسکوربات گلوتاتیون است. از سویی افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز در یونجه، طی تنش اکسیداتیو ایجاد شده توسط جیوه می باشد (Zhou et al., 2007). در این آزمایش تیمار یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک فعالیت این آنزیم را به‌طور معنی‌داری القاء کرد و به بالاترین مقدار خود یعنی نزدیک به ده درصد نسبت به شاهد رساند. احتمالاً در این غلظت اسید سالیسیلیک توانسته بیشتر بر فعالیت این آنزیم در چرخه آسکوربات- گلوتاتیون در همکاری با آلفا توکوفرول (آنتی اکسیدان باند شده در غشا) رادیکال پراکسیل لیپید را از بین برده، مانع از گسترش پراکسید هیدروژن در غشا گردد (Abdul jalele et al., 2008). اما عدم تاثیر غلظت‌های بالاتر اسید سالیسیلیک بر این آنزیم می تواند با تخریب مستقیم آسکوربات به وسیله رادیکال سوپر اکسید یا سایر رادیکال‌های آزاد اکسیژن و همچنین مصرف آسکوربات برای سنتز مجدد آلفا توکوفرول باشد.

نتیجه‌گیری کلی

بررسی نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که سیب‌زمینی رقم آگریا نسبتاً به شوری حساس بوده، به گونه‌ای که کلیه صفات مورد بررسی در آزمایش تحت تأثیر اولین سطح شوری اعمال شده قرار گرفتند کاربرد اسید سالیسیلیک منجر به بهبود پارامترهای بیوشیمیایی و مولکولی و افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش شوری گردید، اما در شرایط بدون تنش تأثیری بر پارامترهای ذکرشده نداشت، اسید سالیسیلیک باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه و کاهش پراکسیداسیون لیپیدها غشا شد. از بررسی کلیه صفات چنین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که در بین غلظت‌های اسید سالیسیلیک غلظت ۱۰۰ میلی مول بیشترین تأثیر مثبت را در کاهش اثرات تنش شوری بر گیاه داشت. تیمار اسیدسالیسیلیک هم بر فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز تاثیرمعنی داری داشت این افزایش فعالیت می‌تواند سمیت زدایی گونه‌های فعال اکسیژن را افزایش دهد و سبب کاهش آسیب‌های اکسیداتیو بدست آمده از آن شود. اکثرا در این آنزیم‌ها با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک تا ۱ میلی‌مولار فعالیت این آنزیم‌ها به‌صورت معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت.

www.SID.ir

Arshive of SID

References

Abdul Jaleel, C., Riadh, K., Gopi, R., Manivannan, P., Ines, J., Al-Juburi, H.J., Chang-Xing, Z., Hong-Bo, S. and Panneerselvam, R. (2009) Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constrains. Acta Physiologia Plantarum. 31: 427-436.

Aharon, G.S., Apse, M.P., Duan, S.H., Hua, X. and Blumwald, E. (2003). Characterization of a family of vacuolar Na+/H+antiporters in *Arabidopsis thaliana*. Plant and Soil. 10: 245–256.

Ashraf, M. and Foolad, M.R. (2007) Roles of glycine betaine and proline in improve plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany. 59:206-216.

Bai, Y., Kissoudis, C., Yan, Z., Visser, R. and Van der Linden, G. (2017). Plant behaviour under combined stress: tomato responses to combined salinity and pathogen stress. The Plant Journal. 93(4): 781-793.

Bandeoglu, E., Egidogan, F., Yucel, M. and Avni Oktem, H. (2004). Antioxidant responses of shoots and roots of lentil to NaCl- salinity stress. Plant Growth Regulation. 42:69-77.

Beyer Wayne, F. and Fridovich, I. (1987). Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. Analytical Biochemistry. 161: 559-566.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT- Food Science and Technology. 28(1):25-30.

Brauner, F., Sebela, M., Snegaroff, J., Pec, P. and Meunier, J.C. (2004). Pea seedling amino aldehyde dehydrogenase: primary structure and active site residues. Plant Physiology and Biochemistry. 41:1-10.

Duman, F., Aksoy, A., Aydin, Z. and Temizgul, R. (2011) Effects of Exogenous Glycine betaine and Trehalose on Cadmium Accumulation and Biological Response of an Aquatic Plant. Water Air and Siol Pollution. 217:545-556.

FAOSTAT. (2016). FAOSTAT - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Retrieved from http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/ download/Q/QC/E

Farooq, M., Aziz, T., Barsa, S.M.A., Cheema, M.A. and Rahman, H. (2008) . Chiling tolerance in hybrid maze induced by priming whit salicylic acid. Crop Science. 194:161-168.

Grieve, C.M. and Grattan, S.R. (1983). "Rapid assay for determination of water Soluble quaternary ammonium communion". Plant and Soil. 70:303-307.

Hayat, Q., Hayat, Sh., Irfan, M. and Ahmad, A. (2010). Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. Environmental and Experimental Botany. 68:14-25.

Han, H.S. and Lee, K.D. (2005). Plant growth promoting rhizobacteria effect antioxidant status. Research Journal of Agriculture and Biological. 1(3):210-215.

Kang, G. (2003). Salicylic acid Change activities of H_2O_2 Metabolizing enzymes and increase the chilling tolerance of banana seedling. Environmental and Experimental Journal of plant physiology. 540:101-105.

Jayakannan, M., Bose, J., Babourina, O., Rengel, Z. and Shabala, S. (2015). Salicylic acid in plant salinity stress signalling and tolerance. Plant Growth Regulation. 76(1):25-40.

Mahajan, S. and Tuteja, N. (2005). Cold salinity and drought stresses: an overview. Arch. Biochem Biophs . 444:139 -158.

Manchanda, G. and Garg, N. (2008). Salinity and its effects on the functional biology of legumes. Acta Physiology Plantarum. 30:595-618.

Mazen, A. (2004). Accumulation of four metals in tissues of *Corchorus olitorius* and possible mechanisms of their tolerance. Biologia Plantarum. 48(2): 267-272.

www.SID.ir

Arshive of SID

Munoz-Clare's, R.A., Diaz Sanchez, A.G., Gonzalez- Seguura, L. and Montiel, C. (2010). Kinetic and structure features of betaine aldehyde dehydrogenase: Mechanistic and regulatory implication. Archives of Biochemistry and Biophysics. 49(3):71-81.

Munns, R. and Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology. 59: 651-681.

Mittova, V., Guy, M., Tal, M. and Volokita, M. (2004). Salinity up-regulates theanti oxidative system in root mitochondria and peroxisomes of the wild salt tolerant tomato species *Lycopersicon pennellii*. Journal Experimental Botany. 55: 1105-1113.

Mitter, R. (2003). Oxidative stress antioxidants and stress tolerance. Journal of Plant Physiology. 7(9):405-410.

Nasibi, F., Manochehri Kalantari, Kh. and Khodashenas, M. (2010). Effect ofsodium nitroprusside (SNP) on some biochemical characteristics of tomatoseedlings (*Lycopersicum esculentum*) under drought stress. Journal of Agricultural Science and Nature Resource. 16: 2. 16.

Nakaono, Y. and Asada, K. (1981). Purification of ascorbat peroxidase in Spinach Chloroplast: in inactivation in ascorbat- depleted medium and reactionation monode ascorbat radical. Plant cell Physiology. 28:131-140.

Navarro, J.M., Flores, P., Garrido, C. and Martinez, V. (2006). Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stage, as affected salinity. Food Chemistry. 96: 66-73.

Noreen, S., Ashraf, M., Hussain, M. and Jamil., A. (2009). Exogenous application of salicylic acid enhances antioxidative capacity in salt stressed sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. Pakistan Journal of Botanical Sciences. 41(1): 473-479.

Niu, X., Bressan. R.A., Hasegawa, P.M. and Pardo, J.M. (1995). Ion Homeostasis in NaCl stress environments. Physiologia Plantarum. 109: 735–742.

Rasouli, D. (2015). The effects of manganese and salicylic acid on gene expression menthol piperita by Real time PCR. University of Zabol, Iran.

Sairam, R.K. and Tyagi, A. (2004). Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. Current Science. 86:407-421

Seckin, A., Turkan, I, Seckmen, A.H. and Ozfidan, C. (2010). The role of antioxidant defense systems at differential salt tolerance of *Hordeum marimum* Huds And *Hordeum vulgar* L. Environmental and Experimental Botany. 69:76-85.

Soland, S.F. and Laima. S.K. (1999). Phenolics and cold tolerance of *Brassica napus*. Plant Agriculture. 1: 1-5.

Sunker, R., Chinnusamy, V., Zhu, J. and Zhu, J.K. (2007). Small RNAs as big players in plant abiotic stress responses and nutrient deprivation. Trends in Plant Science. 12: 301-309.

Shakirova, F.M. and sahabutdinov, D.R. (2003). Changes in the hormontel status of wheat seedling induced by salicylic acid and salinity. Plant Science. 164: 317-322.

Taguchi, G., Yazawa, T., Hayashida, N. and Okazaki, M. (2001). Molecular cloning and heterologous expression of novel glucosyltransfrases from tabacco cultured cells that have broad substrate specifieity and are induced by salicylic acid and auxin European. Journal of Biochemistry. 268: 4086-4094.

Upadhyaya, H.C.P, Akula, N., Young, K.E., Chun, S.C., Kim, D.H. and Park, S.W. (2010). Enhanced ascorbic acid accumulation in transgenic potato confers tolerance to various abiotic stresses. Biotechnology Letter. 32: 321-330.

Yang, T., Zong, L., Hongbo, S.H. and Feng, D. (2006). Effect of water deficits on the activity of antioxidative enzyme and osmoregulation among three different geno type of Radix at seedling stage. Physiology and Biochemistry. 60:9-65.

www.SID.ir

Arshive of SID

Zarinkamar, F., Abdollazadeh Zaviehjak, A., Sharifi, M. and Behmanesh, M. (2013). Effect of salicylic acid in flavonoids, apigenin, anthocyanin and carbohydrate in *Mutricaria*. Journal of Plant Biology. 17: 66-72.

Zhou, Y.D., Aspinall, D. and Yang, Z.M. (2007). Metabolism adaptation to mercury- induced oxidative stress in roots of Medicago sativa L. Journal of Inorganic Biochemistry. 101: 1-9.

www.SID.ir