ISSN: 2476-6917; Modares Journal of Biotechnology. 2019;10(1):37-44

The effect of salicylic acid treatment on the antioxidant enzyme activities in *Thymus vulgaris* seedlings

ARTICLE INFO

Article Type
Original Research

Authors
Mahmoodi Tarkhorani S.[1] *MSc*,
Sanjarian Dehaghani F.*[2] *PhD*,
Monsef Shokri M.[3] *PhD*

How to cite this article
Mahmoodi Tarkhorani S, Sanjarian Dehaghani F, Monsef Shokri M. The effect of salicylic acid treatment on the antioxidant enzyme activities in *Thymus vulgaris* seedlings. Modares Journal of Biotechnology. 2019;10(1):37-44.

ABSTRACT

Aims Thymus Garden (*Thymus vulgaris* L.) is one of the economically important plants which is extremely sensitive to oxidative stress and drought stress during germination time. Salicylic acid, as an herbal hormone, plays an important role in increasing plant tolerance to biotic and abiotic stresses. The current study was conducted aiming to increase the plant resistance to environmental stress by increasing its enzymatic and non-enzymatic antioxidant capacity by salicylic acid treatment.

Materials & Methods In this experimental study, the plant seeds were soaked in 2mM salicylic acid solution a randomized complete block design with three replicates for 16 hours, and they were then planted in pots. Pots were transferred to growth chamber with constant and controlled conditions for 16 hours of light: 8 hours of dark at a temperature of 25°C for 14 days. At the end of the experiment, the growth parameters of plants, germination percentage, phenol content, and the activity of the important antioxidant enzymes, such as superoxide dismutase, catalase, polyphenol oxidase and peroxidase, were measured and compared with the control group.

Findings Although salicylic acid did not have a significant impact on plant growth, it has led to an effective of antioxidant enzymes in the plant. Moreover, this treatment has increased the antioxidant content of the plant.

Conclusion Treatment with salicylic acid could result in an increase in Garden Thyme tolerance to stress conditions.

Keywords Antioxidants; Salicylic Acid; Thymus vulgaris L.

CITATION LINKS

[1] Flavonoids as ... [2] Antioxidant and antimutagenic activity of phenolic compounds ... [3] Effect of water deficit stress and foliar application of salicylic ... [4] A review of the antioxidant potential of medicinal ... [5] Antioxidant and anticholinesterase potential ... [6] SDS polyacrylamide gel electrophoresis of ... [7] Seasonal variation in essential oil yield and composition ... [8] Thymus and Satureja species ... [9] Identification of medicinal and aromatic plants ... [10] Major medicinal plants: Botany, culture and ... [11] Germination behaviour of cultivated ... [12] Investigation of seed germination, establishment and identification of different Thymus species ... [13] Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic ... [14] Studying the resistance of wheat seedlings grown from treated seeds with ... [15] Phenolics and cold tolerance of Brassica ... [16] Effect of methyl jasmonate on antioxidant enzyme ... [17] Assay of catalases and ... [18] Drought tolerance in two mosses: Correlated ... [19] Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into ... [20] Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable ... [21] Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high ... [22] Purification and some properties of polyphenoloxidase ... [23] Photosynthetic responses of corn and ... [24] Developmentally related responses of maize catalase ... [25] Proteomic investigation of the effect of salicylic acid on ... [26] Salicylic acid influences net photosynthetic ... [27] Effect of salicylic acid on growth and enzyme ... [28] Salicylic acid beyond defence: Its role in ... [29] Effects of salicylic acid on the growth of roots and shoots ... [30] Changes in the hormonal status of ... [31] Salicylic acid induced changes on some ... [32] Salicylic acid-induced changes to growth and phenolic ... [33] Role of phenylpropanoid compounds in ... [34] Flavonoid content of several vegetables and their ... [35] Exogenous salicylic acid alleviates ... [36] Long-term exposure treatments revert ... [37] Effect of hormones, salicylic acid ... [38] Effect of salicylic acid on phenylpropanoids ... [39] Changes in phenolic metabolism in salicylic acid-treated ... [40] Salt tolerance and salinity effects on ... [41] Treatment with salicylic acid decreases ... [42] Effect of salicylic acid potentiates ... [43] Role of salicylic acid in regulating cadmium ... [44] Induction of resistance in tomato plants ... [45] Salicylic acid: Biosynthesis, metabolism ... [46] Induction of abiotic stress tolerance ...

[1]Biology Department, Science & Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2]Plant Bioproducts Group, Institute Agriculture Biotechnology, National Institute of Genetic Engineering & Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran
[3]International Sturgeon Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

Correspondence
Address: Shahrak-e Pajoohesh, 15 Kilometer of Tehran-Karaj Highway, Tehran, Iran. Postal Code: 1497716316
Phone: +98 (21) 44787453
Fax: +98 (21) 44787399
fsanjarian@nigeb.ac.ir

Article History
Received: March 10, 2017
Accepted: October 18, 2017
ePublished: March 16, 2019

Copyright© 2019, TMU Press. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms.

www.SID.ir

تاثیر تیمار سالیسیلیک‌اسید بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در دانه‌رست‌های آویشن باغی

سمیه محمودی‌طرخورانی MSc
گروه زیست‌شناسی، واحدعلوم وتحقیقات تهران، دانشگاه آزاداسلامی، تهران، ایران
فروغ سنجریان‌دهاقانی* PhD
گروه زیست‌فرآورده‌های گیاهی، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری، تهران، ایران
مریم منصف‌شکری PhD
موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت،ایران

چکیده
اهداف: گیاه آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) از جمله گیاهان مهم از نظر اقتصادی است که هنگام جوانه‌زدن به تنش‌های اکسایشی و خشکی بسیار حساس است. سالیسیلیک‌اسید به‌عنوان یک هورمون گیاهی نقش مهمی در افزایش تحمل گیاه در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی دارد. این پژوهش با هدف افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش‌های محیطی به‌واسطه افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی با تیمار سالیسیلیک‌اسید انجام شد.
مواد و روش‌ها: در پژوهش تجربی حاضر بذرهای گیاه آویشن باغی در قالب طرح بلوک‌های تصادفی با سه تکرار به‌مدت ۱۶ساعت، در محلول ۲میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید خیسانده و سپس در گلدان کاشته شدند. گلدان‌ها به اتاقک رشد با شرایط ثابت و کنترل‌شده ۱۶ساعت نور و ۸ساعت تاریکی در دمای ۲۵°C به‌مدت ۱۴روز منتقل شدند. پس از اتمام زمان آزمایش پارامترهای رشدی گیاه، درصد جوانه‌زنی، محتوای فنلی و نیز فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مهمی مانند سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، پلی‌فنل‌اکسیداز و پراکسیداز اندازه‌گیری و با گروه شاهد مقایسه شدند.
یافته‌ها: اگرچه سالیسیلیک‌اسید تاثیر مثبت چشمگیری روی رشد رویشی گیاه نداشت، اما سبب القای موثر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شد. همچنین با این تیمار محتوای مولکول‌های آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش یافت.
نتیجه‌گیری: تیمار با سالیسیلیک‌اسید می‌تواند منجر به افزایش مقاومت آویشن باغی در مقابل تنش‌های استرس‌زا شود.
کلیدواژه‌ها: آنتی‌اکسیدان‌ها، سالیسیلیک‌اسید، آویشن

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۷/۲۶
*نویسنده مسئول: fsanjarian@nigeb.ac.ir

مقدمه

آسیب‌های اکسایشی در اثر تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن در سیستم‌های زیستی ایجاد می‌شود، چون این مولکول‌ها از جمله پراکسید و سوپراکسید به‌علت وجود تک‌الکترون بسیار فعال بوده و به اجزای سلولی حمله می‌کنند. گونه‌های اکسیژن فعال آسیب‌هایی نظیر پراکسیداسیون لیپید، شکست پروتئین و شکست اتصال عرضی DNA را تحمیل می‌کنند[1, 2]. آسیب به بخش‌های مختلف سلول منجر به عدم کارکرد صحیح سیستم زیستی و سبب مرگ سلولی می‌شود که در بسیاری از بیماری‌ها نیز مشاهده شده است. این مولکول‌های بسیار فعال طی متابولیزم طبیعی سلول نیز تولید می‌شود که توسط سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن خنثی می‌شوند. بنابراین در صورتی که تولید رادیکال‌های آزاد بالا باشد یا سیستم آنتی‌اکسیدانی موجود در سیستم به حد کافی عمل نکند آسیب اکسایشی پدید می‌آید. گیاهان برای حذف یا کاهش گونه‌های فعال اکسیژن از سیستم‌های آنتی‌اکسیدان تکامل‌یافته برخوردار هستند. سیستم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان به دو دسته سیستم‌های آنزیمی و سیستم‌های غیرآنزیمی، تقسیم‌بندی می‌شوند. عملکرد این سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی، جاروب‌کردن رادیکال‌های سمی تولیدشده طی استرس‌اکسیداتیو و در نتیجه حذف آنها از سلول است[3] و به همین ترتیب می‌توانند در مهار آسیب‌های اکسایشی در بدن استفاده شوند[4]. در سال‌های اخیر، آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مستخرج از گیاهان دارویی، به‌واسطه داشتن ترکیبات مفید برای استفاده دارویی در بیماری‌های مرتبط با استرس اکسایشی مورد توجه قرار گرفته‌اند[5].

برحسب گونه گیاهی، آنزیم‌های متفاوتی در پاسخ گیاه به تنش‌های اکسایشی شرکت می‌کنند که مهم‌ترین آنها شامل آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) پراکسیداز (PO)، آسکوربات‌پراکسیداز (APX)، گلوتاتیون‌ردوکتاز (GR) و پلی‌فنول‌اکسیداز (PPO) هستند[6]. سیستم غیرآنزیمی شامل آسکوربیک‌اسید (ویتامین C)، آلفا-توکوفرول، کاروتن‌ها، سالیسیلیک‌اسید (SA) و غیره است[3]. از جمله گیاهانی که وجود مواد آنتی‌اکسیدان در آنها بررسی شده است و در طب سنتی کاربرد فراوان دارد، گیاهان جنس آویشن (*Thymus*) است که پراکنش وسیعی در سطح جهان دارد و بومی نواحی معتدل اروپا، شمال افریقا و آسیا است[7]. از کل گونه‌های آویشن دنیا حدود ۱۳% آنها منحصر به ایران هستند و در کل وجود ۱۸ گونه آویشن در ایران گزارش شده است[8, 9]. عصاره آویشن حاوی ۱۷ ترکیب از جمله تانن‌ها، پلی‌متوکسی‌فلاوون‌ها، تری‌ترپن‌ها و پلی‌ساکاریدها است. مهم‌ترین ترکیبات موجود در اسانس آویشن‌ها ترپنوئیدهای تیمول و کارواکرول هستند که تنها در تعداد محدودی از گونه‌های گیاهی وجود دارند[9, 11]. این ترکیب‌ها در طب سنتی به‌عنوان ضداسپاسم، درمان سیاه‌سرفه، آمفیزم، برونشیت، عفونت ریه، سرماخوردگی، آنفلوآنزا، درمان نفخ و گرفتگی‌های عضلانی استفاده شده و همچنین یک عامل قوی ضدمیکروبی، ضدقارچ و ضدکرم روده بوده و به‌عنوان حشره‌کش نیز مورد استفاده قرار گرفته است[10, 11]. امروزه از آویشن در صنایع غذایی، دارویی، بهداشتی و آرایشی استفاده‌های متنوعی می‌شود که نشان‌دهنده اهمیت اقتصادی این گیاه است. گونه آویشن در مرحله جوانه‌زنی بذر نسبت به تنش‌های محیطی به‌ویژه خشکی و شوری حساس هستند که در کاهش تولید اسانس روغنی در گیاه تاثیر بسزایی دارد[12]. لذا در این پژوهش درصدد هستیم تا با به‌کارگیری سالیسیلیک‌اسید به‌عنوان یک فیتوهورمون موثر در تعدیل تنش‌های محیطی[13] این اثر را کاهش دهیم تا کیفیت گیاه آویشن تولیدشده در اثر تنش کاهش پیدا نکند. به این منظور بذرها را با سالیسیلیک‌اسید تیمار می‌کنیم و پس از رویش ویژگی‌های رشدی و فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی را در آن می‌سنجیم.

مواد و روش‌ها

مواد: در پژوهش تجربی حاضر بذرهای گیاه آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. گایاکل، نیتروبلوتترازولیوم، ریبوفلاوین، کوماسی‌بریلیانت‌بلو G250، EDTA (سیگما؛ ایالات متحده) و سایر مواد شیمیایی (مرک؛ المان) خریداری شدند.

تهیه بذرگیاهی و طراحی آزمایش: بذرهای گیاه آویشن باغی با دقت پاک شدند. ضایعات و همچنین بذرهای ناقص و شکسته جدا شد. برای جداسازی بذرهای پوک از بذرهای سالم بذرهای محلول در آب مقطر به‌مدت ۵دقیقه در ۱۰۰۰rpm سانتریفیوژ شدند. بذرها قبل از مرحله کاشت با دقت شسته و سپس استریل شدند. بذرها

Archive of SID
www.SID.ir

به‌مدت ۵دقیقه به محلول هیپوکلریدسدیم ۵% منتقل، سپس مجدداً با آب مقطر استریل به دقت آبکشی شده و درنهایت به‌مدت ۳۰ثانیه در الکل ۷۰% قرار گرفتند. آبکشی نهایی با آب مقطر استریل انجام شد، سپس بذرها به دو دسته مساوی؛ دسته اول به‌عنوان گروه شاهد و دسته دوم به‌عنوان گروه تیمار تقسیم شدند. برای اعمال تیمار، بذرهای گروه تیمار به‌مدت ۱۶ساعت در ۱۵میلی‌لیتر محلول ۲میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید قرار داده شد[14]. گروه شاهد نیز به‌مدت ۱۶ساعت در آب قرار گرفتند. محلول پایه، سالیسیلیک‌اسید یک‌مولار بود که با حل‌کردن پودر سالیسیلیک‌اسید در ۷۰% متانول (حجمی/حجمی) تهیه شد. از غلظت پایه یک‌مولار با رقیق‌کردن توسط آب مقطر محلول ۲میلی‌مولار مورد استفاده تهیه شد. سپس برای کاشت به بستر مناسب کشت منتقل شدند. بستر کاشت بذرها مخلوطی از خاک، پیت و پرلیت با نسبت مساوی ۱:۱:۱ بود. مخلوط خاک پس از آماده‌شدن اتوکلاو شد. خاک اتوکلاوشده با مقدار مساوی در گلدان‌ها ریخته شد. بذرها در محیط استریل در خاک گلدان کاشته شدند. در هر گلدان ۲۰ تا ۲۵ بذر کاشته و روی بذرها با خاک برگ سبک پوشیده شد. گلدان‌ها بعد از دریافت برچسب مشخصات، به اتاقک کشت (فیتوترون) با شرایط ثابت و کنترل‌شده ۱۶ساعت نور و ۸ساعت تاریکی در دمای ۲۵°C منتقل شدند. گلدان‌ها به‌طور منظم یک روز در میان با استفاده از آبفشان محتوی آب استریل آبیاری شدند. پس از جوانه‌زنی گیاهان در مرحله دوبرگی (۱۰ روز پس از کشت) و قبل از ظهور سایر برگ‌ها برداشت شدند. اندام هوایی تعدادی از گیاهان بعد از برداشت، در نیتروژن مایع فریز و برای اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی در فریزر ۸۰°C- قرار گرفته و سپس پارامترهای رشد، درصد جوانه‌زنی، پراکسیداسیون مقدار ترکیبات فنولی و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز و پلی‌فنل‌اکسیداز اندازه‌گیری شد.

بررسی پارامترهای رشد: درصد جوانه‌زنی،وزن تر، خشک همچنین میزان طول اندام هوایی و ریشه گیاهان در گروه‌های تیمار و کنترل اندازه‌گیری شد.

سنجش فنول کل: اندازه‌گیری محتوای ترکیبات فنلی کل با استفاده از روش *سونالد* و *لیاما* صورت گرفت. ۰/۵گرم از اندام هوایی گیاه در ۵میلی‌لیتر اتانول ۹۵% ساییده و به‌مدت ۷۲-۲۴ساعت در تاریکی نگهداری شد. سپس به یک‌میلی‌لیتر محلول رویی یک‌میلی‌لیتر اتانول ۹۵% اضافه شد و با آب مقطر دوبار تقطیر حجم محلول به ۵میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۰/۵میلی‌لیتر معرف فولین ۵۰% و یک‌میلی‌لیتر کربنات‌سدیم ۵% به آن اضافه شد. مخلوط حاصل به‌مدت یک‌ساعت در تاریکی نگهداری شد و سپس جذب هر نمونه در طول موج ۷۲۵نانومتر خوانده شد. منحنی استاندارد با استفاده از اسیدگالیک رسم و غلظت ترکیبات فنولی کل بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر گیاه براساس منحنی استاندارد محاسبه شد[15].

تهیه عصاره آنزیمی: برای تهیه عصاره آنزیمی ۰/۱گرم بافت تر گیاه در یک هاون چینی سرد حاوی سه‌میلی‌لیتر بافر فسفات ۲۵میلی‌مولار با pH برابر ۶/۸ حاوی اتیلن‌دی‌آمین‌تتراستیک‌اسید (EDTA) یک‌میلی‌مولار و پلی‌وینیل‌پیرولیدون (PVP) ۱%، ساییده شد. عصاره با سرعت ۱۰۰۰۰دور در دقیقه در دمای ۴°C به‌مدت ۲۰دقیقه سانتریفیوژ و محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان استفاده شد[16].

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز: سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از محاسبه کاهش جذب H_2O_2 در ۲۴۰نانومتر و با روش *دهیندسا* و همکاران و روش تغییر یافته *چانس و میهلی* انجام شد[17]. ۳میلی‌لیتر مخلوط واکنش، شامل ۵۰میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۲۴۵۰میکرولیتر بافر پتاسیم‌فسفات با pH برابر ۶/۸ و ۵۰۰میکرولیتر H_2O_2 ۱۰میلی‌مولار بود. میزان H_2O_2 موجود در مخلوط واکنش پس از یک‌دقیقه با استفاده از کاهش جذب ۲۴۰نانومتر به‌ازای هر میلی‌گرم پروتئین گزارش شد[18].

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز: سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از گایاکل و اندازه‌گیری میزان جذب تتراگایاکل تشکیل‌شده از گایاکل در نتیجه فعالیت پراکسیداز در ۴۷۰نانومتر صورت گرفت. میزان جذب تتراگایاکول (حاصل از اکسیدشدن گایاکول) در ۴۷۰نانومتر در لحظه شروع واکنش پس از اضافه‌نمودن عصاره آنزیمی و پس از یک‌دقیقه خوانده شد. با استفاده از تغییرات جذب در یک‌دقیقه در ۴۷۰نانومتر، ضریب خاموشی تتراگایاکل (ε=۲۵/۵$mMol^{-1}cm^{-1}$) و فرمول $A=\varepsilon bc$، مقدار تتراگایاکول تشکیل‌شده محاسبه و فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌صورت میکرومول تتراگایاکول تشکیل‌شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین عصاره گزارش شد[19].

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز: فعالیت سوپراکسیددیسموتاز با اندازه‌گیری توانایی مهار احیای فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیوم (NBT) به روش *بی‌چامپ* و *فریدویچ* مورد سنجش قرار گرفت. مخلوط واکنش در حجم نهایی ۳میلی‌لیتر شامل ۱۹۰۰میکرولیتر بافر فسفات ۵۰میلی‌مولار با pH برابر ۷/۸ حاوی EDTA ۰/۱میلی‌مولار، ۲۵۰میکرولیتر کربنات‌سدیم ۵۰میلی‌مولار (pH برابر ۱۰/۲)، ۲۵۰میکرولیتر ال-متیونین ۱۳میلی‌مولار، ۲۵۰میکرولیتر NBT ۷۵میکرومولار، ۲۵۰میکرولیتر ریبوفلاوین ۲میکرومولار و ۴۰میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. سپس نمونه‌ها با فاصله ۳۰سانتی‌متر زیر یک منبع نور در معرض نور لامپ فلورسنت ۳۰وات قرار گرفتند. واکنش با روشن‌کردن لامپ آغاز و پس از ۳۰دقیقه واکنش با خاموش‌کردن لامپ متوقف شد. سپس جذب آنها در طول موج ۵۶۰نانومتر خوانده و تفاوت جذب بین هر نمونه و شاهد محاسبه شد. واحد فعالیت سوپراکسیددیسموتاز به‌عنوان مقدار آنزیمی که منجر به مهار ۵۰% احیای NBT در حضور نور می‌شود برحسب گرم وزن تر در ساعت محاسبه شد[16, 20, 21].

سنجش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز: اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز از روش *ریموند* استفاده شد. ابتدا تعدادی لوله آزمایش در حمامی با دمای ۴۰°C گذاشته شد. سپس ۱۶۰۰میکرولیتر بافر فسفات ۰/۲مولار با pH برابر ۶ و ۳۰۰میکرولیتر پیروگالل ۰/۰۲مولار به هر یک از لوله‌ها افزوده شد. پس از رسیدن دمای لوله‌ها دقیقا به ۴۰°C به هر لوله ۱۰۰میکرولیتر عصاره افزوده و تغییرات جذب در ۴۳۰نانومتر خوانده شد[22].

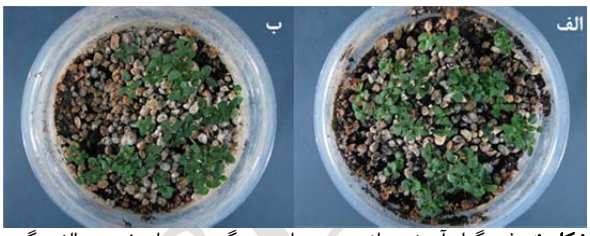
تجزیه و تحلیل آماری: کلیه آزمایش‌ها در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار حداقل از سه نمونه مستقل انجام شد. آنالیز آماری توسط نرم‌افزار SPSS 16 و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن انجام شد. نمودارها توسط نرم‌افزار Excel 2007 رسم شدند.

یافته‌ها

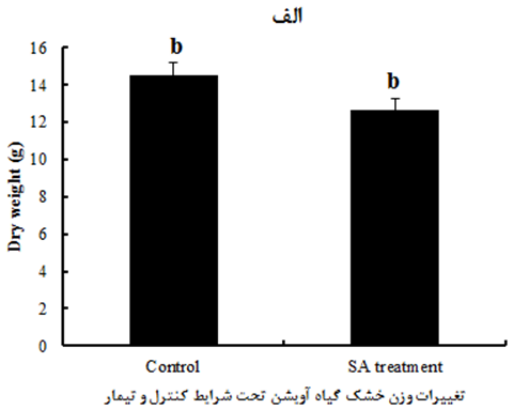
در پژوهش حاضر به‌منظور تقویت سد آنزیمی و غیرآنزیمی آنتی‌اکسیدان در گیاه حساس به تنش اکسایشی آویشن در مرحله جوانه‌زنی از یک هورمون گیاهی تحت عنوان سالیسیلیک‌اسید استفاده شد. بذور تیمارشده با بذور کنترل از لحاظ جوانه‌زنی تفاوتی نداشتند (درصد جوانه‌زنی در تکرارهای هر دو گروه بین ۸۶

Archive of SID
www.SID.ir

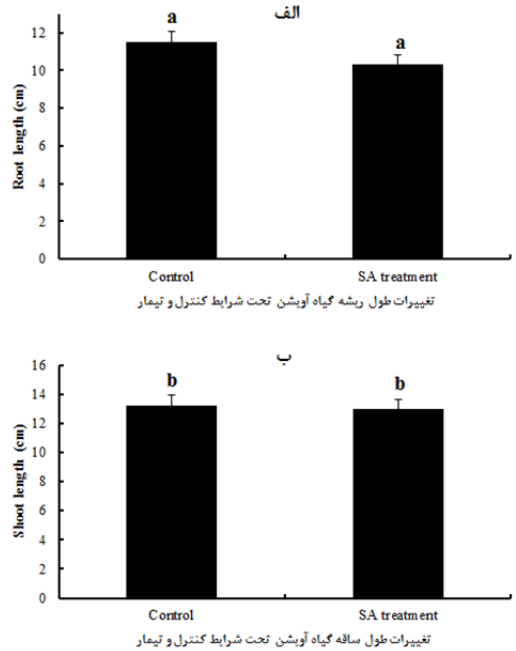
تا ۸۸% بود؛ شکل ۱). نتایج نشان‌دهنده تغییرات معنی‌دار رشد بذرهای تیمارشده با سالسیلیک‌اسید بود. همان‌طور که نمودار ۱- الف نشان می‌دهد وزن خشک در گیاهان حاصل از بذرهای تیمارشده با سالسیلیک‌اسید نسبت به کنترل تغییر معنی‌داری پیدا نکرده است. در حالی که وزن تر گیاهان تیمارشده کاهش معنی‌داری در مقایسه با وزن تر گیاهان شاهد نشان داد (نمودار ۱- ب). پارامترهای رشدی گیاه مانند میزان طول ریشه و میزان طول ساقه در اثر تیمار با سالسیلیک‌اسید تغییر معنی‌داری نشان نداد (نمودار ۲- الف و ب). در مقابل ترکیبات فنولی به‌عنوان ماده ضداکسایشی غیرآنزیمی (نمودار ۳) با تیمار سالسیلیک‌اسید افزایش معنی‌داری نشان داد که نشان‌دهنده تاثیر مثبت تیمار در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آویشن است.



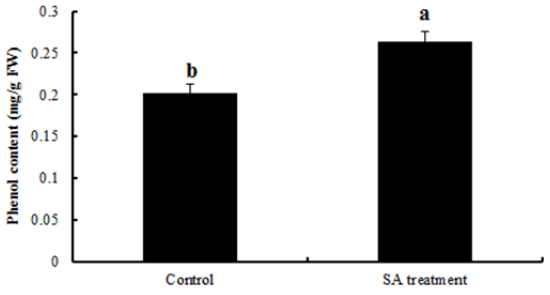
شکل ۱) بذور گیاه آویشن باغی در مرحله دو برگی (پس از ۱۰ روز)؛ الف) گروه کنترل، ب) گروه تحت تیمار با سالیسیلیک‌اسید



نمودار ۱) الف) میانگین تغییرات میزان وزن خشک تحت شرایط کنترل و تیمار در گیاه آویشن؛ داده‌ها میانگین سه تکرار±خطای معیار هستند؛ حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار میان تیمارها براساس مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال ۰/۰۵ است، ب) میانگین تغییرات وزن تر تحت شرایط کنترل و تیمار در گیاه آویشن؛ داده‌ها میانگین سه تکرار±خطای معیار هستند؛ حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار میان تیمارها براساس مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال مقدار p کوچکتر از ۰/۰۱ است.



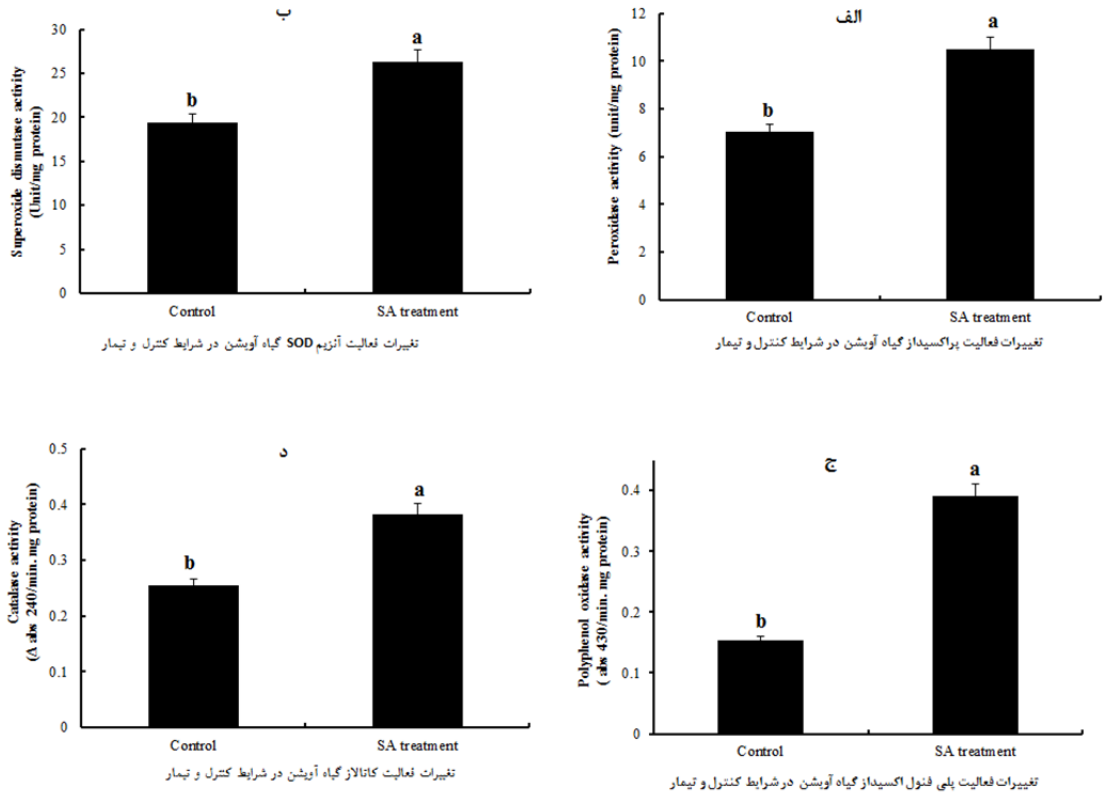
نمودار ۲) الف) میانگین تغییرات میزان طول ریشه تحت شرایط کنترل و تیمار در گیاه آویشن؛ داده‌هامیانگین سه تکرار±خطای معیار هستند؛ حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار میان تیمارها براساس مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ است، ب) میانگین تغییرات میزان طول ساقه تحت شرایط کنترل و تیمار در گیاه آویشن؛ داده‌ها میانگین سه تکرار±خطای معیار هستند؛ حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار میان تیمار و کنترل براساس مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ است.



نمودار ۳) میانگین تغییرات محتوای فنل کل تحت شرایط کنترل و تیمار در گیاه آویشن؛ داده‌ها میانگین سه تکرار±خطای معیار هستند؛ حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار میان تیمارها براساس مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال مقدار p کوچکتر از ۰/۰۱ است.

به‌منظور بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنزیمی برخی از آنزیم‌های مهم در مهار مولکول‌های اکسایشی سنجیده و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در عصاره گیاهی تیمار و شاهد براساس روش‌های استاندارد اندازه‌گیری و مقایسه شد. همان‌طور که نمودار ٤- الف نشان می‌دهد فعالیت آنزیم پراکسیداز در گروه تیمار افزایش معنی‌داری نسبت به کنترل داشت. نتایج نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در تیمار است (نمودار ٤- ب). این آنزیم در خنثی‌کردن رادیکال آزاد سوپراکسید نقش مهمی ایفا می‌کند. آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز نیز افزایش قابل ملاحظه‌ای را در گروه تیمار نشان داد که در نمودار ٤- ج به وضوح نمایان است. براساس نتایج فعالیت آنزیم کاتالاز که تبدیل H_2O_2 به آب را کاتالیز می‌کند، نیز با تیمار سالیسیلیک‌اسید افزایش معنی‌داری نشان می‌دهد (نمودار ٤- د).

www.SID.ir



نمودار ۴) سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه آویشن کنترل و تیمارشده؛ الف) میانگین تغییرات میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت شرایط کنترل و تیمار در گیاه آویشن، ب) میانگین تغییرات میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز تحت شرایط کنترل و تیمار در گیاه آویشن، ج) میانگین تغییرات میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز تحت شرایط کنترل و تیمار در گیاه آویشن، د) میانگین تغییرات میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تحت شرایط کنترل و تیمار در گیاه آویشن؛ داده‌ها در هر چهار آزمایش میانگین سه تکرار±خطای معیار هستند؛ حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار میان تیمارها براساس مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال مقدار p کوچکتر از ۰/۰۱ است.

بحث

سالیسیلیک‌اسید یا اسیداورتوهیدروکسی‌بنزوئیک و مشتقات آن از جمله ترکیبات جدیدی هستند که به‌عنوان فیتوهورمون در برخی گیاهان برای تعدیل پاسخ‌های گیاه به تنش‌های محیطی عمل می‌کنند[13]. سالیسیلیک‌اسید در جوانه‌زنی، نفوذپذیری غشا، تنفس میتوکندری، بسته‌شدن روزنه‌ها، انتقال مواد، فتوسنتز، سرعت رشد و جذب یون‌ها تاثیرگذار است[23, 24]. سالیسیلیک‌اسید یک ترکیب فنولی است که همراه با مشتقات مختلف آن از جمله استیل‌سالیسیلیک‌اسید (ASA) و مشتقات متیله آن در داروسازی و درمان بیماری‌ها کاربرد فراوانی دارد. همچنین سالیسیلیک‌اسید یک هورمون گیاهی قوی است که در جنس‌های مختلف گیاهان به‌خاطر نقش تنظیم‌کنندگی در متابولیزم گیاهی بسیار مورد توجه است. سالیسیلیک‌اسید می‌تواند به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد عمل نموده و نقش فعالی را در پاسخ‌های دفاعی گیاه ایفا نماید. بر همین اساس در این مطالعه تلاش شده است به‌دلیل اهمیت اقتصادی گیاه آویشن شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی این گیاه با تیمار سالسیلیک‌اسید بهبود یابد. بنابراین شاخص‌های رشدی و آنتی‌اکسیدانی گیاهان تیمارشده با این هورمون گیاهی و گروه شاهد سنجیده و با هم مقایسه شد. نتایج حاکی از آن است که تیمار سالیسیلیک‌اسید تاثیر معنی‌داری در پارامترهای رشد گیاه آویشن نداشت. در تحقیقات مشابه درباره اثر سالیسیلیک‌اسید بر تغییرات پارامترهای رشد بین پژوهشگران توافق نظر وجود ندارد و تاثیر سالیسیلیک‌اسید بر پارامترهای رشد براساس میزان غلظت و همچنین مدت‌زمان تاثیر آن متغیر است. در ذرت و سویا با تیمار سالیسیلیک‌اسید و آنالوگ‌های نزدیک آن سطح برگ و وزن خشک افزایش یافت[25]. در یک مطالعه دیگر *فریدودین* و همکاران در سال ۲۰۰۳ گزارش دادند که تجمع ماده خشک به‌طور قابل توجهی در کلزا با اسپری سالیسیلیک‌اسید افزایش یافته، با این حال، غلظت‌های بالاتر از سالیسیلیک‌اسید اثر مهاری داشته است[26]. در مطالعه دیگری *حیاط* و همکاران بیان کردند که تعداد برگ، وزن تر و خشک گیاهچه گندم تیمار که دانه‌های آن آغشته به غلظت ۰/۰۱۰میلی‌مولار از سالیسیلیک‌اسید بودند، به‌طور قابل توجهی افزایش یافته است[27]. از طرفی مطالعات نشان داده‌اند که اثر سالیسیلیک‌اسید برونی روی رشد رویشی به گونه گیاهی، مرحله رشد و غلظت سالیسیلیک‌اسید تست‌شده بستگی دارد[28]. به‌طور کلی اثر مثبت سالیسیلیک‌اسید به‌عنوان محرک رشد در سویا[29]، گندم[30]، ذرت[31] و بابونه[32] گزارش شده است. ترکیبات فنولی از مشتقات مسیر فنیل‌پروپانوئید بوده و از اجزای سیستم دفاع غیرآنزیمی و آنتی‌اکسیدانی سلول محسوب می‌شوند. این ترکیبات می‌توانند به‌عنوان خاموش‌کننده یا جاروب‌کننده رادیکال‌های آزاد اکسیژن یا سایر گونه‌های فعال اکسیژن عمل نمایند و سایر اجزای سلولی از جمله لیپیدها را از حمله آنها حفظ کنند[33]. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که پیش‌تیمار با سالیسیلیک‌اسید موجب افزایش مقدار ترکیبات فنولی شد، این ترکیبات آنتی‌اکسیدان احیاکننده بوده و با مکانیزم‌های متعددی مثل جاروب‌کردن رادیکال‌های آزاد، دادن هیدروژن، خاموش‌کردن اکسیژن یکتایی یا قرارگرفتن به‌عنوان سوبسترای آنزیم‌های پراکسیداز نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا می‌کنند[34, 35]. براساس گزارش‌های

Archive of SID
www.SID.ir

موجود در غلظت‌های بالای سالیسیلیک‌اسید، افزایش قابل توجهی در میزان ترکیبات فنولی مشاهده می‌شود در حالی که با کاهش غلظت سالیسیلیک‌اسید میزان این ترکیبات کاهش می‌یابد[36]. همچنین تیمار سالیسیلیک‌اسید باعث افزایش فلاونوئیدها در گیاه درمنه شده است[37]. در پژوهش حاضر تیمار سالیسیلیک‌اسید منجر به افزایش ترکیبات فنولی شده که با سایر نتایج همخوانی دارد. گزارش شده است که سالیسیلیک‌اسید بیان ژن و فعالیت آنزیمی فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز (PAL) را القا می‌کند که به نوبه خود، باعث تجمع ترکیبات فنولیک می‌شود[32, 38, 39]. با این حال، شکل شیمیایی ترکیبات فنولیک که در سلول ظاهر خواهد شد نه‌تنها به فعالیت آنزیم‌های بیوسنتزی بلکه به فعالیت آنزیم‌های متابولیزمی فنولی و حتی به وضعیت اکسیداتیو سلول بستگی دارد. سالیسیلیک‌اسید همچنین می‌تواند ایجاد انواع گونه‌های ترکیبات فنولی در بافت‌های گیاهی را تغییر دهد و منجر به تجمع انواع مناسب‌تر این ترکیبات بسته به شرایط حاکم شود[39].

گیاهان برای مقابله با شرایط تنش‌زا دارای مکانیزم‌های حفاظتی خاصی هستند که شامل مولکول‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان است. آنتی‌اکسیدان‌ها به سه گروه کلی تقسیم می‌شوند که شامل ترکیبات غشایی و محلول در چربی مثل آلفاتوکوفرول و کاروتنوئیدها، ترکیبات قابل حل در آب مثل آسکوربات، گلوتاتیون، ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها و آنزیم‌هایی نظیر سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات‌پراکسیداز و گلوتاتیون‌ردوکتاز است. آنزیم سوپراکسیددیسموتاز، یکی از جاروب‌کننده‌های اصلی O_2^- است و عمل آنزیمی آن منجر به تولید H_2O_2 و O_2 می‌شود. H_2O_2 تولیدشده توسط SOD که ترکیبی سمی و خطرناک برای سلول است، طی واکنشی که توسط کاتالاز انجام می‌شود به H_2O تبدیل می‌شود. کاتالاز یکی از انواع پراکسیدازها است که شکستن H_2O_2 را کاتالیز می‌نماید. در حالی که دیگر پراکسیدازها H_2O_2 را با اکسیدنمودن یک سوبسترای همراه نظیر ترکیبات فنولی یا سایر آنتی‌اکسیدان‌ها نظیر آسکوربات تجزیه می‌کنند[21, 40]. بنابراین افزایش همزمان ترکیبات فنولی و فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز منطقی به نظر می‌رسد. افزایش فعالیت کاتالاز یک پاسخ سازشی برای غلبه بر آسیب‌های ناشی از سطوح سمی و احیاکننده H_2O_2 است که طی متابولیزم طبیعی سلول نیز تولید می‌شود.

در اغلب موارد تحت تنش‌های زیستی و غیرزیستی میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از قبیل سوپراکسیددیسموتاز، آسکوربات‌پراکسیداز، پلی‌فنلاکسیداز، پراکسیداز و کاتالاز افزایش می‌یابد. در سلول‌های کالوس تیمارشده با سالیسیلیک‌اسید، فعالیت پراکسیداز به‌طور قابل توجهی نسبت به سلول‌های تیمارنشده افزایش یافته است[36]. در مطالعه‌ای گزارش شد که کاربرد سالیسیلیک‌اسید برونی سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند SOD در ذرت می‌شود[41]. همچنین *پاندا* و *پاترا* بیان کردند که آغشته‌کردن دانه با غلظت پایین‌تر سالیسیلیک‌اسید قبل از کاشت، سطوح بالای ROS ناشی از قرارگرفتن در معرض کادمیوم را با افزایش سطح آنزیم‌های مختلف آنتی‌اکسیدان از جمله SOD کاهش می‌دهد، در نتیجه از گیاهان در برابر آسیب‌های اکسیداتیو محافظت می‌کند[42]. با این حال، برخلاف این مشاهده، *چودهوری* و *پاندا* گزارش کردند پیش‌تیمار بذر برنج با خیساندن در سالیسیلیک‌اسید قبل از کاشت باعث کاهش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله SOD و گلوتاتیون‌ردوکتاز می‌شود[43] که احتمالاً غلظت و مدت‌زمان تیمار و نوع گونه گیاهی در این پاسخ تاثیر داشته است. *اوجها* و *چترجیی* گزارش کردند که تیمار با سالیسیلیک‌اسید مقاومت گیاه گوجه را در برابر آلودگی قارچی *تریکودرما هارزیانوم* (*Trichoderma harzianum*) با افزایش میزان فعالیت پلی‌فنل‌اکسیداز افزایش می‌دهد[44]. در این پژوهش نیز پیش‌تیمار با سالیسیلیک‌اسید موجب افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان آنزیمی مثل آنزیم‌های CAT، SOD، PPO و PO شد. فعالیت این آنزیم‌ها در ارتباط با یکدیگر است بنابراین افزایش فعالیت همزمان آنها در اثر تیمار منطقی به نظر می‌رسد. حضور تنش اکسایشی و آسیب غشایی گرچه با کاهش پارامترهای رشد در گروه تیمار همراه است ولی ممکن است منجر به القای پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی شود که سلول‌ها را از آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تنش محافظت می‌نماید. هنگامی که سالیسیلیک‌اسید در غلظت و زمان مناسب به کار برده می‌شود با تغییر فعالیت آنزیم‌هایی نظیر سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیداز یا NAD(P)H اکسیداز متصل به غشای سیتوپلاسمی (آنزیم‌های دخیل در تولید یا تجزیه H_2O_2) موجب افزایش موقت و جزیی در مقدار H_2O_2 (به‌عنوان پیامبر ثانویه) شده که منجر به القای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول می‌شود[45, 46]. به این ترتیب برای القای فعالیت آنتی‌اکسیدانی توسط سالیسیلیک‌اسید، غلظت‌های بسیار کمی از H_2O_2 مورد نیاز است و H_2O_2 در غلظت‌های بالا، خود به‌عنوان عامل ایجادکننده تنش اکسیداتیو محسوب می‌شود. بنابراین غلظت سالیسیلیک‌اسید استفاده‌شده بسیار مهم است. بنابراین نتایج این بررسی نشان داد که کاربرد سالیسیلیک‌اسید با اعمال یک تنش اکسایشی ضعیف منجر به فعال‌کردن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان در گیاه شده است. بنابراین استفاده از آن می‌تواند مقاومت گیاه در برابر استرس‌اکسیداتیو ناشی از تنش‌های محیطی را بهبود بخشد، ضمن اینکه با افزایش محتوی مولکول‌های آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیرآنزیمی ارزش دارویی این گیاه افزایش می‌یابد.

از محدودیت‌های پژوهش حاضر عدم بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف سالیسیلیک‌اسید روی القای پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه آویشن است. بنابراین پیشنهاد می‌شود غلظت‌های بالاتر و پایین‌تر از غلظت سالیسیلیک‌اسید مورد استفاده در پژوهش حاضر مورد بررسی قرار گیرند. علاوه بر این پاسخ گیاه در مراحل مختلف رشدی گیاه آویشن مطالعه شود.

نتیجه‌گیری

تیمار با سالیسیلیک‌اسید می‌تواند منجر به افزایش مقاومت آویشن باغی در مقابل تنش‌های استرس‌زا شود.

تشکر و قدردانی: بدین‌وسیله از اساتید و پژوهشگران دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران و پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری برای همکاری علمی سپاسگزاری می‌شود.

تاییدیه‌اخلاقی: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشده است.

تعارض منافع: نویسندگان اعلام می‌دارند هیچ‌گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

سهم نویسندگان: سمیه محمودی‌طرخورانی (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری (۴۰%)؛ فروغ سنجریان‌دهاقانی (نویسنده دوم)، روش‌شناس/پژوهشگر اصلی/نگارنده بحث (۳۰%)؛ مریم منصف‌شکری (نویسنده سوم)، پژوهشگر اصلی/نگارنده بحث (۳۰%)

Archive of SID

www.SID.ir

منابع مالی: منابع مالی طرح از طریق پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری (طرح شماره ۶۴۰) تامین شده است.

منابع

1- Pietta PG. Flavonoids as antioxidants. J Nat Prod. 2000;63(7):1035-42.

2- Rocha-Guzmán NE, Herzog A, González-Laredo RF, Ibarra-Pérez FJ, Zambrano-Galván G, Gallegos-Infante JA. Antioxidant and antimutagenic activity of phenolic compounds in three different colour groups of common bean cultivars (Phaseolus vulgaris). Food Chem. 2007;103(2):521-7.

3- Bahari AA, Sokhtesaraei R, Chaghazardi HR, Masoudi F, Nazarli H. Effect of water deficit stress and foliar application of salicylic acid on antioxidants enzymes activity in leaves of Thymus daenensis subsp. lancifolius. Cercet Agron Mold. 2015;48(1):57-67.

4- Krishnaiah D, Sarbatly R, Nithyanandam R. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. Food Bioprod Process. 2011;89(3):217-33.

5- Kindl M, Blažeković B, Bucar F, Vladimir-Knežević S. Antioxidant and anticholinesterase potential of six thymus species. Evid Based Complement Alternat Med. 2015;2015:403950.

6- Smith BJ. SDS polyacrylamide gel electrophoresis of proteins. In: Walker JM, editor. Proteins. 1st Edition. 1st Volume. New York: Humana Press; 1984. pp. 41-55.

7- McGimpsey JA, Douglas MH, Van Klink JW, Beauregard DA, Perry NB. Seasonal variation in essential oil yield and composition from naturalized Thymus vulgaris L. in New Zealand. Flavour Fragr J. 1994;9(6):347-52.

8- Jamzad Z. Thymus and Satureja species of Iran. 1st Edition. Tehran: Research Institute of Forests & Rangelands; 2009. [Persian]

9- Mozaffarian V. Identification of medicinal and aromatic plants of Iran. 1st Edition. Tehran: Farhang Moaser Publishers; 2015. [Persian]

10- Morton JF. Major medicinal plants: Botany, culture and uses. 1st Edition. Springfield: Charles C Thomas Publishers; 1977.

11- Tabrizi Raeini L, Koocheki A, Nassiri Mahallati M, Rezvani Moghaddam P. Germination behaviour of cultivated and natural stand seeds of Khorasan thyme (Thymus transcaspicus. Klokov) with application of regression models. Iran J Field Crops Res. 2008;5(2):249-57. [Persian]

12- Nasiri M, Seedian SE, Sharifi Ashorabadi E. Investigation of seed germination, establishment and identification of different Thymus species available in Natural Resources Gene Bank of Iran. Iran J Med Aromat Plants. 2016;32(1):115-26. [Persian]

13- Senaratna T, Touchell D, Bunn E, Dixon K. Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. Plant Growth Regul. 2000;30(2):157-61.

14- Zamani E, Sanjarian F, Mohammadi Goltapeh E, Safaie N. Studying the resistance of wheat seedlings grown from treated seeds with salicylic acid against Mycosphaerella graminicola. Plant Prot. 2016;39(1):1-14. [Persian]

15- Fletcher RS, Kott LS. Phenolics and cold tolerance of Brassica napus. Proceedings of the 10th International Rapeseed Congress, 26-29 September, 1999, Canberra, Australia. Unknown Publisher City: Unknown publisher; 1999.

16- Khanpour Ardestani N, Sharifi M, Behmanesh M. Effect of methyl jasmonate on antioxidant enzyme activities, phenolic and flavonoid compounds in Scrophularia striata cell culture. J Plant Res. 2015;27(5):840-53. [Persian]

17- Chance B, Maehly AC. Assay of catalases and peroxidases. In: Colowick SP, Kaplan NO, editors. Methods in Enzymology. 2nd Volume. Cambridge: Academic Press; 1955. pp. 764-75.

18- Dhindsa RS, Matowe W. Drought tolerance in two mosses: Correlated with enzymatic defence against lipid peroxidation. J Exp Bot. 1981;32(1):79-91.

19- Plewa MJ, Smith SR, Wagner ED. Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. Mutat Res. 1991;247(1):57-64.

20- Beauchamp Ch, Fridovich I. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Anal Biochem. 1971;44(1):276-87.

21- Sudhakar Ch, Lakshmi A, Giridarakumar S. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (Morus alba L.) under NaCl salinity. Plant Sci. 2001;161(3):613-9.

22- Raymond J, Rakariyatham N, Azanza JL. Purification and some properties of polyphenoloxidase from sunflower seeds. Phytochemistry. 1993;34(4):927-31.

23- Khan W, Prithiviraj B, Smith DL. Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. J Plant Physiol. 2003;160(5):485-92.

24- Guan L, Scandalios JG. Developmentally related responses of maize catalase genes to salicylic acid. Proc Natl Acad Sci. 1995;92(13):5930-4.

25- Rajjou L, Belghazi M, Huguet R, Robin C, Moreau A, Job C, et al. Proteomic investigation of the effect of salicylic acid on Arabidopsis seed germination and establishment of early defense mechanisms. Plant Physiol. 2006;141(3):910-23.

26- Fariduddin Q, Hayat S, Ahmad A. Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity, and seed yield in Brassica juncea. Photosynthetica. 2003;41(2):281-4.

27- Hayat S, Fariduddin Q, Ali B, Ahmad A. Effect of salicylic acid on growth and enzyme activities of wheat seedlings. Acta Agron Hung. 2005;53(4):433-7.

28- Rivas-San Vicente M, Plasencia J. Salicylic acid beyond defence: Its role in plant growth and development. J Exp Bot. 2011;62(10):3321-38.

29- Gutiérrez-Coronado MA, Trejo-López C, Larqué-Saavedra A. Effects of salicylic acid on the growth of roots and shoots in soybean. Plant Physiol Biochem. 1998;36(8):563-5.

30- Shakirova FM, Sakhabutdinova AR, Bezrukova MV, Fatkhutdinova RA, Fatkhutdinova DR. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. Plant Sci. 2003;164(3):317-22.

31- Gunes A, Inal A, Alpaslan M, Eraslan F, Bagci EG, Cicek N. Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (Zea mays L.) grown under salinity. J Plant Physiol. 2007;164(6):728-36.

32- Kováčik J, Grúz J, Bačkor M, Strnad M, Repčák M. Salicylic acid-induced changes to growth and phenolic metabolism in Matricaria chamomilla plants. Plant Cell Rep. 2009;28(1):135-43.

33- Solecka D. Role of phenylpropanoid compounds in plant responses to different stress factors. Acta Physiol

Archive of SID

www.SID.ir

Plant. 1997;19(3):257-68.
34- Chu YH, Chang CL, Hsu HF. Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. J Sci Food Agric. 2000;80(5):561-6.
35- He Y, Zhu ZJ. Exogenous salicylic acid alleviates NaCl toxicity and increases antioxidative enzyme activity in Lycopersicon esculentum. Biol Plant. 2008;52(4):792-5.
36- Lajara MM, López-Orenes A, Ferrer MA, Calderón AA. Long-term exposure treatments revert the initial SA-induced alterations of phenolic metabolism in grapevine cell cultures. Plant Cell Tissue Organ Cult. 2015;122(3):665-73.
37- Asghari GR, Ghasemi R, Yosefi M, Mehdinezhad N. Effect of hormones, salicylic acid, chitosan on phenolic compounds in Artemisia aucheri in vitro. J Plant Proc Func. 2015;3(10):93-100. [Persian]
38- Chen JY, Wen PF, Kong WF, Pan QH, Zhan JC, Li JM, et al. Effect of salicylic acid on phenylpropanoids and phenylalanine ammonia-lyase in harvested grape berries. Postharvest Biol Technol. 2006;40(1):64-72.
39- López-Orenes A, Martínez-Moreno JM, Calderón AA, Ferrer MA. Changes in phenolic metabolism in salicylic acid-treated shoots of Cistus heterophyllus. Plant Cell Tissue Organ Cult. 2013;113(3):417-27.
40- Parida AK, Das AB. Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. Ecotoxicol Environ Saf. 2005;60(3):324-49.
41- Krantev A, Yordanova R, Janda T, Szalai G, Popova L. Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. J Plant Physiol. 2008;165(9):920-31.
42- Panda SK, Patra HK. Effect of salicylic acid potentiates cadmium-induced oxidative damage in Oryza sativa L. leaves. Acta Physiol Plant. 2007;29(6):567-75.
43- Choudhury S, Panda SK. Role of salicylic acid in regulating cadmium induced oxidative stress in Oryza sativa L. roots. Bulg J Plant Physiol. 2004;30(3-4):95-110.
44- Ojha S, Chatterjee N. Induction of resistance in tomato plants against Fusarium oxysporum F. sp. Lycopersici mediated through salicylic acid and Trichoderma harzianum. J Plant Prot Res. 2012;52(2):220-5.
45- Hayat S, Ali B, Ahmad A. Salicylic acid: Biosynthesis, metabolism and physiological role in plants. In: Hayat S, Ahmad A, editors. Salicylic acid: A plant hormone. 1st Edition. Dordrecht: Springer; 2007. pp. 1-14
46- Horváth E, Szalai G, Janda T. Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. J Plant Growth Regul. 2007;26(3):290-300.

Archive of SID

www.SID.ir