

بررسی اثر کاربرد همزمان اسید سالیسیلیک و روی بر شاخص‌های جوانه زنی و رشد رویشی

گیاه ماش (*Vigna radiata* L.)

غزاله معصومی^۱، مهرداد لاهوتی^۲ و هما محمودزاده^{۳*}

(۱) دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.

(۲) استاد گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.

(۳) دانشیار گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.

* نویسنده مسئول: homa_mahmoodzadeh@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۹/۱۰

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۶/۰۷

چکیده

اسید سالیسیلیک در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی مختلف و رشد و نمو گیاه نقش دارد. به منظور بررسی اثر سالیسیلیک اسید و عنصر روی بر صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاه ماش آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. بذره‌های ماش در گلدان‌های حاوی خاک زراعی کاشته شدند و پس از مرحله چهار برگگی غلظت‌های مختلف روی (۰، ۱۰۰، ۲۰۰) و محلول پاشی اسید سالیسیلیک (۰، ۲۰۰، ۴۰۰) قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تنش روی، موجب کاهش معنی دار طول ریشه و اندام هوایی، وزن تر و خشک اندام هوایی و رنگدانه‌های فتوسنتزی، و افزایش معنی دار محتوی پرولین و فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز گردید. همچنین برهمکنش اسید سالیسیلیک و تنش روی، بر تمامی شاخص‌های اندازه‌گیری شده، به جز فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز و گایاکول پراکسیداز از نظر آماری معنی دار بود. در این پژوهش تیمار با اسید سالیسیلیک باعث کاهش اثر کمبود روی و افزایش تحمل گیاه ماش گردید.

واژه‌های کلیدی: آنزیم آنتی اکسیدان، رنگدانه فتوسنتزی و پلی فنل اکسیداز.

مقدمه

فلزات سنگین اغلب به صورت آلاینده‌های محیطی مانند آلودگی‌های جوی، مراکز صنعتی، استفاده از فاضلاب‌های شهری و صنعتی به صورت برگشت‌ناپذیر وارد خاک می‌شوند. روی در غلظت‌های کم (< 0.5 ppm) به عنوان یک عنصر میکرو برای گیاهان عمل می‌کند، اما در غلظت‌های بالاتر سمی است. مقدار آن در خاک به طور متوسط ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم می‌باشد. روی یک فعال کننده آنزیمی برای چندین آنزیم سلول‌های گیاهی مانند انیدراز، دهیدروژناز، اکسیداز و پراکسیدازهاست و نقش مهمی در تنظیم متابولیسم نیتروژن، تقسیم سلولی و فتوسنتز ایفا می‌کند. اولین علامت ظهور سمیت در بیشتر گونه‌ها، کلروز عمومی برگ‌های جوان می‌باشد و در موارد شدید برگ‌های جوان به دلیل تولید آنتوسیانین قرمز رنگ می‌شوند (Nagajyoti *et al.*, 2010).

فلزات سنگین توسط گیاهان جذب شده و در بافت‌های آن‌ها تجمع می‌یابند و اغلب به دو صورت باعث سمیت می‌شوند: ۱- به صورت غیرمستقیم از طریق رقابت با سایر عناصر غذایی ضروری و قرارگیری به جای آن‌ها در ساختمان رنگدانه‌ها یا آنزیم‌ها و تخریب عملکرد آن‌ها. Subba و همکاران در سال (۲۰۱۴) مشاهده کردند غلظت‌های بالای Zn منجر به کاهش چشمگیر فتوسنتز و رنگدانه‌های فتوسنتزی شد (Subba *et al.*, 2014). ۲- مستقیم با تخریب ساختار سلول، حضور فلزات سنگین باعث ایجاد تنش اکسیداتیو می‌شود که به نوبه خود باعث ایجاد اثر سمی مختلف در گیاهان نظیر کاهش رشد، کاهش محتویات کلروفیل و فتوسنتز، مهار فعالیت‌های آنزیمی، آسیب به مولکول‌های زیستی نظیر لیپیدها، پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها به ویژه DNA می‌گردد (Nagajyoti *et al.*, 2010; Ahmad *et al.*, 2012). سالیسیلیک اسید (SA) یا اورتو هیدروکسی بنزوئیک اسید ($C_2H_6O_3$) به گروهی از ترکیبات فنلی تعلق دارد که به عنوان یک مولکول مهم برای تعدیل پاسخ‌های گیاه به تنش‌های محیطی شناخته شده است (Drazic and Mihailovic, 2005). سالیسیلیک اسید به وسیله سلول‌های ریشه تولید می‌شود و نقش به سزایی در فرایندهای فیزیولوژیکی مانند رشد و نمو گیاه، سرعت رشد و جذب یون‌ها، فتوسنتز (EL-Tayeb, 2005) و جوانه زنی (دولت آبادیان و همکاران، ۱۳۸۷) دارد.

اثر سالیسیلیک اسید در جلوگیری از تنش‌های زیستی (Belkhadi *et al.*, 2010) غیر زیستی مثل UV، خشکی، شوری، گرما، سرما و فلزات سنگین نیز مورد توجه قرار گرفته است (Tasgi *et al.*, 2003). این ماده با اثر روی متابولیت‌هایی مانند آسکوربیک اسید، گلوکاتینون و نیز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز آثار سمی ناشی از تنش را کاهش می‌دهد. هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی اثر کاربرد همزمان اسید سالیسیلیک و عنصر روی بر شاخص‌های جوانه زنی و رشد رویشی گیاه ماش است.

مواد و روش ها

این پژوهش به منظور بررسی اثر اسید سالیسیلیک و عنصر روی بر صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاه ماش (*Vigna radiata L.*) رقم گوهر به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در فیتوترون دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد در سال ۱۳۹۳ انجام شد. عوامل آزمایش شامل غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک در سه سطح (۰،۲۰۰، ۴۰۰ ppm) و محلول نیترات روی به عنوان منبع تامین‌کننده روی با سه سطح (۰،۲۰۰، ۴۰۰ ppm) بود. هر واحد آزمایش شامل یک گلدان یک کیلوگرمی حاوی خاک زراعی بود. گلدان‌ها ابتدا آبیاری گردیدند و پس از گذشت سه روز و اطمینان از خروج آب اضافی تعداد ۱۲ عدد بذر در هر یک از آن‌ها کشت شد. پس از حصول اطمینان از جوانه زنی و استقرار گیاهچه در مرحله دوبرگی، اقدام به تنک گیاهچه‌های اضافی شد و در هر گلدان تعداد هشت گیاهچه جهت اعمال تیمارهای آزمایش باقی گذاشته شد. برگ‌های نشاء‌های گیاهی ده روز بعد از کاشت بذور در خاک با اسید سالیسیلیک اسپری و سپس با نیترات روی محلول پاشی شدند.

اعمال تیمار هر ده روز و در سه نوبت انجام شد. سپس گیاهان برداشت شدند و با دقت با آب مقطر شستشو شدند و برخی صفات مورفولوژیکی مانند وزن تر و خشک بخش هوایی توسط ترازوی آزمایشگاهی Sartorius TE214S با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم انجام و سپس طول ریشه و ساقه توسط خط کش میلی‌متری اندازه‌گیری شد. صفات فیزیولوژیکی شامل میزان کلروفیل و کاروتنوئید کل برگ و صفات بیوشیمیایی شامل میزان پرولین برگ، فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز و گایاکول پراکسیداز برگ اندازه‌گیری شد.

سنجش کلروفیل

۰/۲ گرم از بافت برگ با استن ۸۰ درصد به تدریج ساییده تا کلروفیل وارد محلول استنی شده و در نهایت حجم محلول با استن هشت درصد توسط بالن ژوژه به ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ و سپس جذب نوری در طول موج‌های ۶۴۶، ۶۵۲، ۶۶۳، ۴۴۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر مدل UV1100 اندازه‌گیری شد. مقدار کلروفیل طبق فرمول‌های Arnon برای تخمین میزان کلروفیل a، b، a+b و کاروتنوئید به دست آمد (Arnon, 1956).

$$\text{Chla (mg/ gFW)} = (12.25A (663) - 2.55A (646)) \times V/W \times 1000 \quad \text{رابطه (۱)}$$

$$\text{Chlb (mg/ gFW)} = (22.31A (646) - 4.91A(663)) \times V/W \times 1000 \quad \text{رابطه (۲)}$$

$$\text{Chl a+ b (mg/gFW)} = (17.76A (646) + 7.34(663)) \times V/W \times 1000 \quad \text{رابطه (۳)}$$

$$\text{Car (mg/ gFW)} = (4.96 (440) - 0.267 (chl a+ b)) \times V/W \times 1000 \quad \text{رابطه (۴)}$$

سنجش پرولین

۰/۵ گرم از بافت تر در ۱۰ میلی‌لیتر محلول اسید سولفوسالیسیلیک ۳٪ ساییده و مخلوط همگنی تهیه شد و عصاره صاف شد. دو میلی‌لیتر اسید استیک و دو میلی‌لیتر ناین هیدرین به دو میلی‌لیتر عصاره صاف شده فوق، اضافه شد. محلول حاصل به مدت یک ساعت در حمام آب و در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. پس از آن برای پایان یافتن واکنش، لوله‌های آزمایش در داخل یک بستر یخی قرار گرفته و چهار میلی‌لیتر تولوئن به هر لوله اضافه گردید. غلظت پرولین نمونه‌ها در تولوئن با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل UV1100 در طول موج ۵۲۰ نانومتر و در نهایت با توجه به منحنی استاندارد حاصل از غلظت‌های مختلف پرولین، برحسب میلی‌گرم در گرم وزن تر به روش Bates (۱۹۷۳) محاسبه شد.

سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز

برای سنجش گایاکول پراکسیداز از بافت تازه برگ‌ها به مقدار ۰/۱ گرم استفاده شد و سنجش به روش Mae-Adam و Nelson و Mae-adam (۱۹۹۲) انجام شد. به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم به عصاره آنزیم سه میلی‌لیتر محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH= ۶/۸ و ۵۰ میکرولیتر گایاکول و سپس ۵۰ میکرولیتر هیدروژن پراکسید سه درصد اضافه شد و بلافاصله تغییرات جذب نوری در طول موج ۴۳۶ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل UV1100 در فواصل زمانی ۱۵ ثانیه به مدت سه دقیقه ثبت گردید.

سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز

اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم به روش ریموند Raymond و همکاران (۱۹۹۳) انجام گرفت. ابتدا تعدادی لوله آزمایش در حمام آب ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس به هر لوله ۲/۵ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات ۰/۲ مولار با pH برابر ۶/۸ افزوده شد. بعد به آن ۰/۲ میلی‌لیتر پیروگالل ۰/۲ مولار اضافه شد تا دمای لوله‌ها به ۴۰ درجه سانتی‌گراد برسد. سپس به هر لوله ۲ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی افزوده شد و تغییرات جذب در طول موج ۴۳۰ نانومتر در فاصله زمانی ۴ دقیقه ثبت شد. میزان فعالیت آنزیم براساس تغییرات جذب در ۴۳۰ نانومتر در دقیقه (Unit) در میلی‌گرم پروتئین بیان گردید (Raymond et al, 1993). برای انجام تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم افزار آماری SPSS استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت و شکل‌ها با استفاده از نرم افزار Excel رسم شد.

نتایج و بحث

اثر اسید سالیسیلیک و عنصر روی بر صفات مورفولوژیکی گیاه ماش

نتایج تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که عنصر روی اثر معنی داری بر صفات مورفولوژیکی گیاه ماش شامل طول بخش هوایی و ریشه و وزن تر و خشک بخش هوایی داشت (جدول ۱). برهمکنش اسید سالیسیلیک و تنش روی نیز بر صفات مذکور اثر معنی داری داشت.

جدول ۱: میانگین مربع‌های مربوط به صفات‌های مورفولوژیکی اندازه‌گیری شده در ماش در شرایط

اسیدسالیسیلیک و روی

منابع تغییرات	درجه آزادی	طول بخش هوایی	طول ریشه	وزن تر بخش هوایی	وزن خشک بخش هوایی
روی	۲	۱۵۰/۲۰۸*	۱۹۶۱/۷۶۷*	۰/۴۲۲*	۰/۰۰۰*
اسیدسالیسیلیک	۲	۱۲۷۵/۵۱۷*	۱۰۳۱/۲۱۷ ^{ns}	۰/۵۷۱ ^{ns}	۳/۸۸۹ ^{ns}
اسیدسالیسیلیک × روی	۴	۶۴۶/۳۱۷*	۳۳۴/۸۱۷*	۱/۱۵۸*	۰/۰۰۲*
خطای آزمایش	۱۸	۳۲۷/۴۳۰	۴۸۶/۶۱۱	۰/۲۶۹	۰/۰۰۱*
ضریب تغییرات (درصد)	-	۲۰/۰۴	۲۱/۰۴	۲۲/۳۱	۱۹/۰۹

ns، * و **: به ترتیب بیان‌گر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد و بر اساس آزمون دانکن می‌باشند.

افزودن غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک به گیاهانی که تحت ۲۰۰ ppm روی بودند، موجب افزایش معنی‌دار طول ساقه در مقایسه با گیاهانی شد که تحت روی با غلظت ۲۰۰ ppm بودند. در حالی که اضافه کردن اسید سالیسیلیک به گیاهان تحت تیمار روی با غلظت ۴۰۰ ppm افزایش معنی‌داری ایجاد نکرد. طول ریشه گیاه در تیمارهای روی (نیترا روی ۲۰۰ و ۴۰۰) نسبت به شاهد کاهش نشان داد که از نظر آماری معنی‌دار بود. افزودن اسید سالیسیلیک با غلظت های ۲۰۰ ppm و ۴۰۰ به گیاهان تحت تیمار روی موجب افزایش معنی‌دار طول ریشه در مقایسه با گیاه در شرایط تنش روی گردید. تیمارهای نیترا روی باعث افزایش معنی‌دار وزن تر بخش هوایی گیاهان ماش در مقایسه با شاهد شدند. اضافه کردن غلظت‌های اسید سالیسیلیک در تمامی تیمارها سبب افزایش معنی‌دار وزن تر در مقایسه با گیاهان تحت تیمار روی گردید. در مورد وزن خشک، غلظت‌های مختلف روی موجب کاهش معنی‌دار این فاکتور در مقایسه با شاهد شد. افزودن اسید سالیسیلیک با غلظت‌های مختلف به گیاهان تحت تیمار روی افزایش معنی‌داری در وزن خشک گیاهان ایجاد کرد (شکل ۲). فلزات سنگین از جمله روی به‌وسیله مهار تقسیم سلولی و یا کاهش گسترش سلولی در ناحیه طویل شدن و یا هر دو آن‌ها سبب کاهش طول ریشه می‌شوند (Nalilni and Chandra, 2002; Mukhopadhyay et al., 2013, 2014). نظیر چنین پدیده‌ای را در ساقه‌ها به‌خصوص در ناحیه مریستمی می‌توان مشاهده کرد که علاوه بر

کاهش قدرت تقسیم، خاصیت الاستیکی سلول‌ها و غشای آن‌ها نیز کاهش می‌یابد (Mohanty *et al.*, 1989). در رابطه با اثر اسید سالیسیلیک بر پارامترهای رشد گزارش‌های متعددی وجود دارد، از جمله گزارش شده است که اسید سالیسیلیک کاهش رشد ناشی از فلزات سنگین را بهبود می‌بخشد (Pal *et al.*, 2002; طویلی و همکاران، ۱۳۹۲). افزایش طول ریشه در تیمار اسید سالیسیلیک در مقایسه با گیاه در شرایط تنش روی به این دلیل است که اسید سالیسیلیک تقسیم سلولی را درون مریستم راسی گیاهچه افزایش می‌دهد و از این طریق رشد گیاه را بهبود می‌بخشد.

اثر اسید سالیسیلیک و عنصر روی بر صفات فیزیولوژیکی ماش

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمار روی بر میزان کلروفیل *a*، *b*، *a+b* و کاروتنوئید معنی‌دار بود ($p < 0.05$).

اثر برهمکنش اسید سالیسیلیک و عنصر روی نیز در تمام تیمارها معنی‌دار بود (جدول ۲).

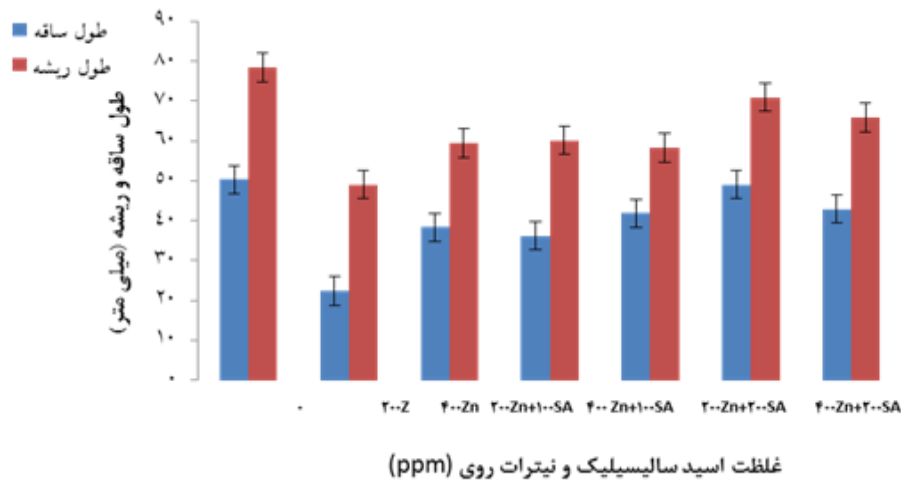
جدول ۲: میانگین مربع‌های مربوط به رنگیزه‌های فتوسنتزی اندازه‌گیری شده در ماش در شرایط اسید سالیسیلیک و روی

منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل <i>a</i> (میلی‌گرم در گرم وزن تر)	کلروفیل <i>b</i> (میلی‌گرم در گرم وزن تر)	کلروفیل <i>a+b</i> (میلی‌گرم در گرم وزن تر)	کاروتنوئید (میلی‌گرم در گرم وزن تر)
عنصر روی	۲	۰/۰۸۱*	۰/۰۰۹*	۰/۱۴۰*	۰/۰۲۶*
اسید سالیسیلیک	۲	۰/۰۷۹*	۰/۰۲۲ ^{ns}	۰/۱۵۲*	۰/۰۲۷*
اسید سالیسیلیک × عنصر روی	۴	۰/۰۱۴*	۰/۰۰۲*	۰/۰۰۶*	۰/۰۰۵*
خطای آزمایش	۱۸	۰/۰۱۲	۰/۰۰۷	۰/۰۱۲	۰/۰۰۲
ضریب تغییرات (درصد)	-	۲۲/۱۴	۲۰/۱۱	۱۸/۳۶	۲۳/۰۷

ns و * و **: به ترتیب بیان‌گر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد و بر اساس آزمون دانکن می‌باشند.

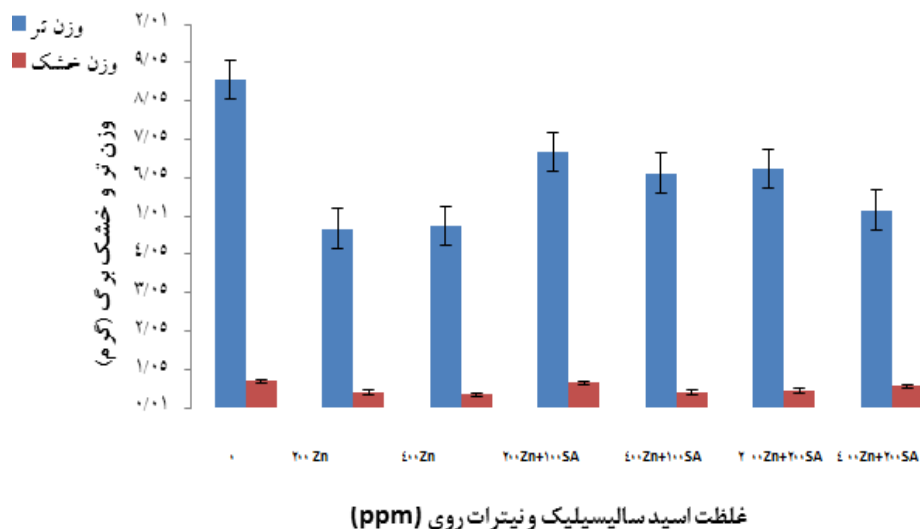
با توجه به شکل‌های ۳ و ۴ مشاهده می‌شود میزان کلروفیل *a*، *b*، *a+b* و کاروتنوئید برگ گیاه ماش در تیمارهای مختلف روی (۲۰۰ و ۴۰۰ ppm نیترات روی) کاهش یافت و این کاهش در تمامی موارد در مقایسه با شاهد معنی‌دار بود. افزودن مقادیر مختلف اسید سالیسیلیک به گیاهان در شرایط تیمار روی موجب افزایش فاکتورهای فوق‌گردید که در تمام موارد در مقایسه با گیاهان در شرایط تیمار روی تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید. کاهش میزان کلروفیل می‌تواند به واسطه کاهش سنتز کلروفیل و همچنین ناشی از تخریب آن باشد. تخریب مولکولی کلروفیل به علت جدا شدن زنجیره فیتولی از حلقه پورفیرین در اثر رادیکال‌های آزاد اکسیژن و یا آنزیم کلروفیلاز صورت می‌گیرد (Parvaiz and Satyawati, 2008). کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک در تیمار روی زیاد باعث افزایش کلروفیل *a+b* شد. گزارش شده است که کاهش میزان کلروفیل برگ در شرایط تنش به دلیل عدم تعادل یون‌ها (از قبیل آهن و روی) نیز می‌تواند باشد. آهن از جمله مهم‌ترین عناصر در مسیر بیوسنتز کلروفیل می‌باشد، بنابراین تنش به‌طور غیرمستقیم بر بیوسنتز کلروفیل

اثر می‌گذارد (Kang and Saltveit., 2002). کاروتنوئیدها ترین‌های ۴۰ کربنه‌ای هستند که در پلاست بافت‌های گیاهی حضور داشته و در تنش‌های محیطی نظیر تنش اکسیداتیو، حفاظت از بافت‌های فتوسنتزی به‌خصوص کلروفیل‌ها را به‌عهده دارند. فلزات سنگین در غلظت‌های بالا از طریق تخریب و بهم ریختگی ساختار کاروتنوئید مقدار آن‌ها را در گیاه کاهش می‌دهند (Candan *et al.*, 2003).



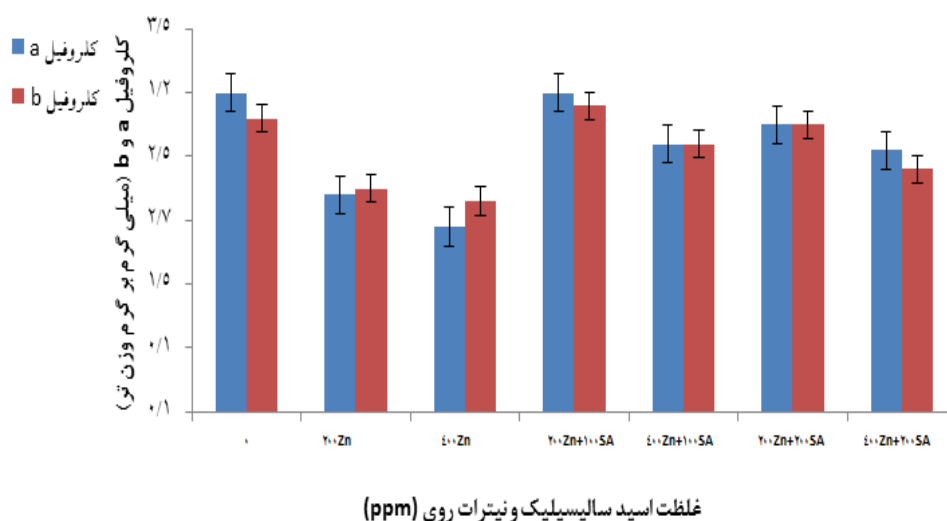
شکل ۱: برهمکنش سطوح مختلف عنصر روی و اسید سالیسیلیک بر طول ساقه و ریشه برگ گیاه ماش

Zn و SA: به ترتیب بیان‌گر روی و اسید سالیسیلیک می‌باشد.



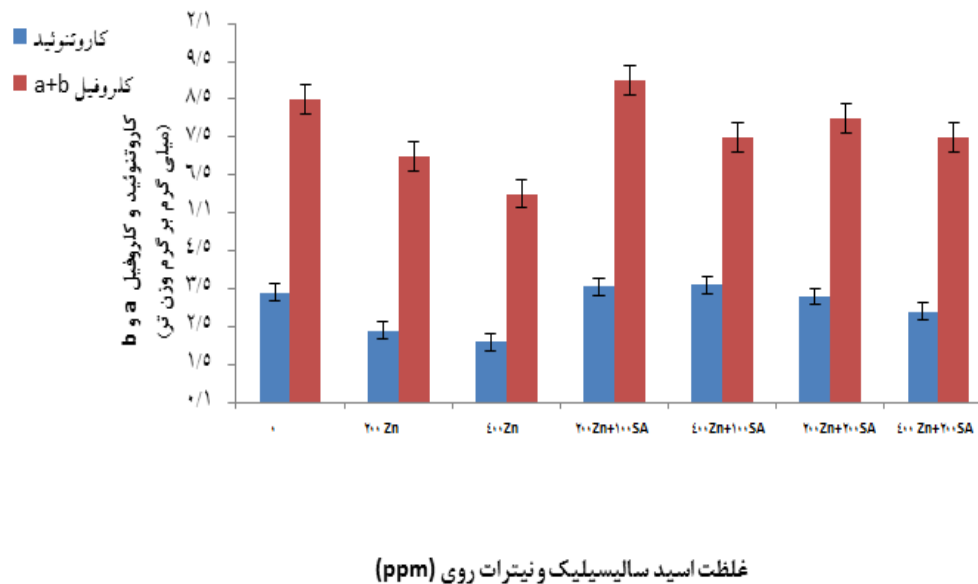
شکل ۲: برهمکنش سطوح مختلف عنصر روی و اسید سالیسیلیک بر میزان وزن تر و خشک برگ گیاه ماش

Zn و SA: به ترتیب بیان‌گر روی و اسید سالیسیلیک می‌باشد.



شکل ۳: برهمکنش سطوح مختلف عنصر روی و اسید سالیسیلیک بر میزان کلروفیل a و b برگ گیاه ماش

Zn و SA: به ترتیب بیان گر روی و اسید سالیسیلیک می باشد.



شکل ۴: برهمکنش سطوح مختلف عنصر روی و اسید سالیسیلیک بر میزان کاروتنوئید و کلروفیل a+b برگ گیاه ماش

Zn و SA: به ترتیب بیان گر روی و اسید سالیسیلیک می باشد.

اثر اسید سالیسیلیک و عنصر روی بر صفات بیوشیمیایی ماش

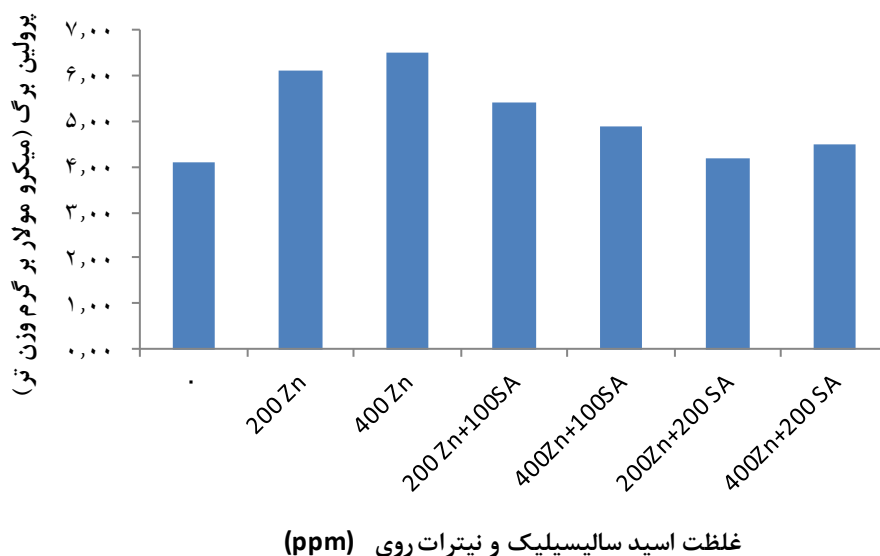
نتایج تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی ماش نشان داد که اثر عنصر روی بر تمامی صفات بیوشیمیایی به‌جز فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۳). برهمکنش اسید سالیسیلیک و عنصر روی نیز در تمام موارد به‌جز فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز، معنی‌دار بود (جدول ۳). با اضافه کردن غلظت ۲۰۰ ppm اسید سالیسیلیک در گیاهان تحت تیمار روی کاهش معنی‌داری در میزان پرولین برگ گیاه ماش در مقایسه با گیاهان در شرایط تیمار روی به وجود آمد (شکل ۵). اسیدآمینو پرولین که تحت شرایط تنش‌زا مانند تنش فلزات سنگین در سلول‌های گیاهی تجمع می‌یابد، به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی مطرح می‌گردد. در حقیقت پرولین به‌دلیل نقش‌های محافظتی که در سلول ایفا می‌کند، در شرایط تنش‌های محیطی می‌تواند گیاه را از آسیب‌های احتمالی حفظ کند. در سلول‌های تحت تنش، پرولین سبب محافظت سلول و ممانعت از ایجاد سمیت در سلول می‌شود (Boyoumi *et al.*, 2010). اسید سالیسیلیک به‌عنوان کاهش‌دهنده محتوای پرولین درون سلولی شناخته شده است (Hayat *et al.*, 2010).

جدول ۳: میانگین مربع صفات بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در ماش در شرایط اسید سالیسیلیک و روی

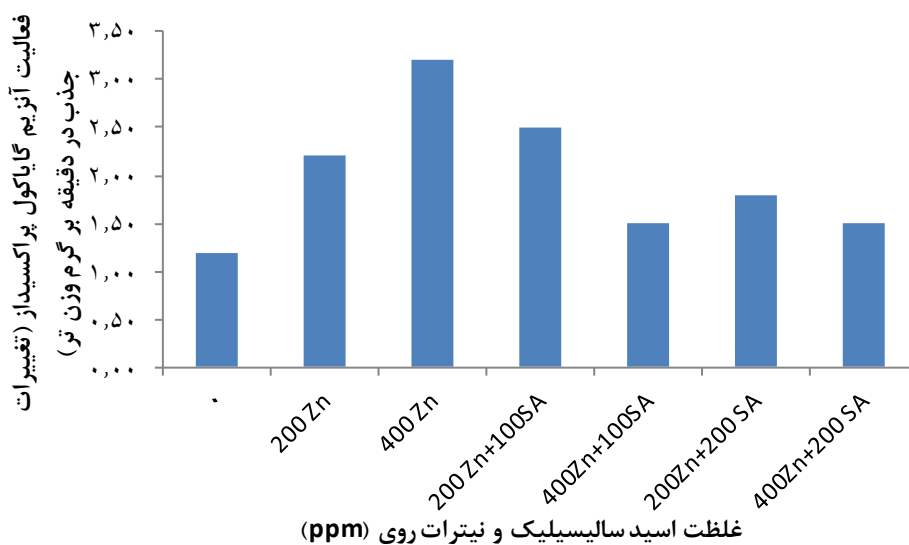
منابع تغییرات	درجه آزادی	پرولین (میکرومولار در گرم وزن تر)	فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (میکرومولار در گرم وزن تر)	فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (میکرومولار در گرم وزن تر)
تنش روی	۲	۲۵۸/۳*	۲۵۷/۱ ^{ns}	۰۴۸/۰*
اسیدسالیسیلیک	۲	۴۹۴/۱۱*	۱۷۱/۰ ^{ns}	۰۳۴/۰*
اسیدسالیسیلیک × تنش روی	۴	۱۹۳/۱۱*	۲۹۵/۰ ^{ns}	۰۰۸/۰ ^{ns}
خطای آزمایش	۱۸	۴۱۴/۱	۲۴۸/۰	۰۱۰/۰
ضریب تغییرات (درصد)	-	۲۱/۱۹	۲۱/۰۱	۲۰/۰۲

ns، * و **: به ترتیب بیان‌گر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

در تیمارهای روی (نیترات روی ۲۰۰ و ۴۰۰ ppm) میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در برگ گیاه ماش در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش یافت، ولی این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. با اضافه کردن غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک در گیاهان تحت تیمار روی فعالیت این آنزیم کاهش یافت که از نظر آماری معنی‌دار نبود. آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPOX) با فعالیت آنتی‌اکسیدانی خود باعث خنثی‌سازی و کاهش انواع اکسیژن فعال می‌شود (Ashraf and Harris, 2004; Mittle, 2002). در شرایط تنش، معمولاً فعالیت آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز، اسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز تحریک می‌شود (Mishera *et al.*, 2006).



شکل ۵: برهمکنش سطوح مختلف عنصر روی و اسید سالیسیلیک بر میزان پرولین برگ گیاه ماش
Zn و SA: به ترتیب بیان‌گر روی و اسید سالیسیلیک می باشد.



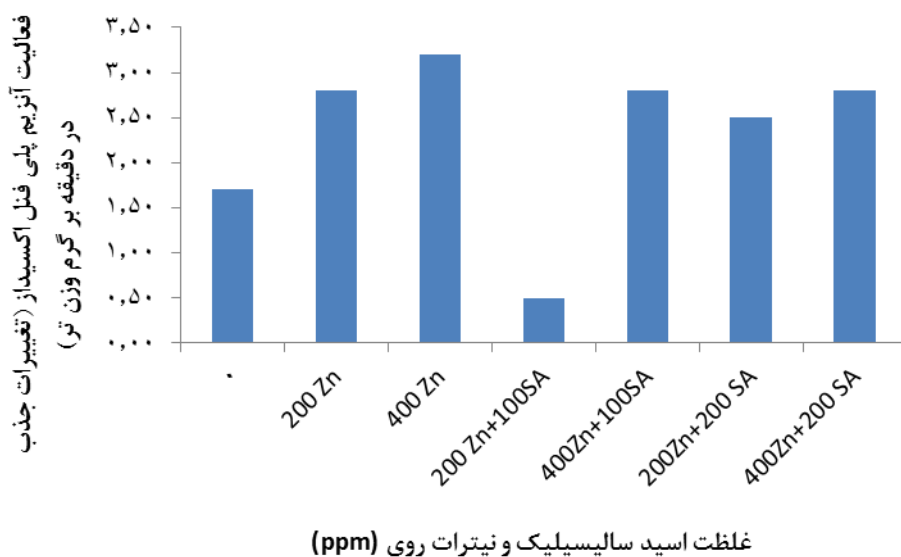
شکل ۶: برهمکنش سطوح مختلف عنصر روی و اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز برگ گیاه ماش

Zn و SA: به ترتیب بیان‌گر روی و اسید سالیسیلیک می باشد.

در تحقیق حاضر نیز افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در تنش روی مشاهده گردید. نتایج حاصل از تحقیق

حاضر نشان داد تیمار 400 ppm نیترات روی سبب افزایش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز بخش هوایی در مقایسه با

گیاهان شاهد شد که از نظر آماری معنی‌دار بود. با اضافه کردن غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک (۱۰۰ و ۲۰۰ ppm) به گیاهان تحت تیمار روی کاهش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز مشاهده شد که از نظر آماری معنی‌دار نبود.



شکل ۷: بر همکنش سطوح مختلف عنصر روی و اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز برگ

گیاه ماش

Zn و SA: به ترتیب بیان گر روی و اسید سالیسیلیک می باشد.

افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان یکی از ساز و کارهای سمیت‌زدایی فلزات سنگین در گیاهان است (Shanker *et al.*, 2004). تیمار نیترات روی موجب القاء تنش اکسیداتیو در گیاهان شده که باعث افزایش ترکیبات ROS می شود. در این شرایط فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند پراکسیداز و کاتالاز افزایش می یابد (Hayat *et al.*, 2010). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تولید شده به وسیله سلول های گیاهی شامل گاپاکول پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز سبب حفاظت سلول و مقاومت در برابر شرایط تنش در گیاه می شوند (Mittle, 2002).

نتیجه گیری

به طور کلی، نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد اسید سالیسیلیک بر رشد رویشی گیاه ماش در شرایط تیمار روی در اکثر موارد اثر مثبت داشته است. این اثر به‌ویژه در تیمارهای بالای تنش روی بیش تر قابل توجه بود، به طوری که تیمار با غلظت ۲۰۰ ppm اسید سالیسیلیک باعث کاهش اثر سوء تنش روی و افزایش تحمل گیاه ماش گردید. بنابراین توصیه می شود که از غلظت های بالاتر از ۱۰۰ ppm اسید سالیسیلیک در مرحله چهار برگی گیاه استفاده گردد.

سپاسگزاری

وظیفه خود می‌دانیم که از مسئولان محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد که ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند، کمال تشکر و قدردانی را داشته باشیم.

منابع

دولت‌آبادیان، آ.، مدرس ثانوی، ع.، اعتمادی، ف. ۱۳۸۷. اثر پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک بر جوانه‌زنی بذر گندم (*Triticum aestivum* L.) در شرایط تنش شوری، مجله زیست‌شناسی ایران، ۲۱ (۴): ۷۰۲-۶۹۲.

طوبلی، ع.، صابری، م.، شهریاری، ع. و حیدری، م. ۱۳۹۲. بررسی اثر پیش‌تیمار سالیسیلیک اسید بر *Bromus tomentellus* Bioss. در شرایط تنش کادمیوم، مجله پژوهش‌های گیاهی، ۲۶ (۲): ۲۰۸-۲۱۶.

Ahmed, A. H. H., Khalil M. K., Abd El-Rahman A. M. and Nadia A. M. H. 2012. Effect of zinc, tryptophan and indole acetic acid on growth, yield and chemical composition of valencia orange trees. *Journal of Applied Science and Research*, 8: 901-914.

Ashraf, M. and Harris, D. J. C. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science*, 166: 03-16.

Arnon, D. J. 1956. Chlorophyll absorption spectrum and quantitative determination. *Biochemical and Biophysical Acta* 20: 449-461.

Bayoumi, T., Eid, M. H., and Metwali, E. 2010. Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes. *African Journal of Biotechnology* 7: 2341-2352.

Bates, I., Waldern, R. P. and Teare, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-207.

Belkhadi, A., Hediji, H., Abbes, Z., Nouairi, I., Barhoumi, Z., Zarrouk, M., Chaibi, W. and Djebali, W. 2010. Effects of exogenous salicylic acid pre-treatment on cadmium toxicity and leaf lipid content in *Linum usitatissimum* L.. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 1-8.

Candan, N., Tarhan, L. 2003. Change in chlorophyll-carotenoid contents, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in Zn-stressed *Mentha pulegium*. *Turkish Journal of Chemistry* 27:21-30.

Drazic, G. and Mihailovic, N. 2005. Modification of cadmium toxicity in soybean seedlings by salicylic acid. *Plant Physiology* 168: 511-517.

EL-Tayeb, M.A., 2005 . Response of barley grains to the interactive effect of Salinity and Salicylic acid . *Plant Growth Regulation*. 45: 215-225.

Hayat, Q., Hayat, S., Irfan, M. and Ahmad, A. 2010. Effect of exogenous Salicylic acid under changing environment: A review. *Environmental and Experimental Botany*. 68: 14-25.

Kang, H. M., and Saltveit, M. E. 2002. Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedlings leaves and roots are differently affected by salicylic acid. *Physiol. Plantarum*. 115: 571-576.

Mae-Adam, J.W. and Nelson Sharp, C. J. 1992. Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fese ue. *Journal of Plant Physiology* 99: 872-878.

Mohanty, N., Vass, I., Demeter, S. 1980. Copper toxicity affects photosystem electron transport at QB. *Plant Physiology*. 90: 175- 179.

Mishra S., Srivastava S., Tripathi, P. D. 2006. Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Baccopa monnieri* L. *Plant Physiology and Biochemistry*. 44: 25-37.

Mittle, R. 2002. Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. *Annual Review of Plant Science* 7: 405-415.

Mukhopadhyay, M., Das, A., Subba, P., Bantawa, P., Sarkar, B., Ghosh, P. D. and Mondal, T. K. 2013. Structural, physiological and biochemical profiling of tea plants (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) under zinc stress. *Biology Plant* 57:474-480.

Mukhopadhyay, M. and Mondal, T. K. 2014. The physio-chemical responses of *Camellia* plants to abiotic stresses. *Journal of Plant Science and Research*. 1(1):105.

Nagajyoti, P. C., Lee, K. D., Sreekanth, T. V. M. 2010. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*. 8:199-216.

Nalilni, P., Chandra, P. S., 2002. Effect of heavy metals Co^{+2} , Ni^{+2} on growths and metabolism of cabbage. *Plant Science*. 163: 753- 758.

Pal, M., Szalai, Z., Horvath, E., Paldi, E., Janda, T. 2002. Effect of Salicylic acid during heavy metal stress. *Acta Biology Szegediensis*. 46(34): 119- 120.

Parvaiz, A. and Satyawati, S. 2008. Salt stress and Phyto-biochemical responses of plants. *Plant Soil Environment* 54: 89-99

Raymond, J., Rakariyatham, N. and Azanza, J. 1993. Purification and some properties of polyphenol oxidase from Sunflower seeds. *Phytochemistry*, 34(4):927-931.

Shanker, A., Djanaguiraman, M., Sudhagar, R., Jayaram, K., and Pathmanabhan, G. 2004. Expression of metallithionein 3-like protein m RNA in sorghum cultivars under chromium stress. *Current Science- Bangalore* 86,901-910.

Subba, P., Mahato, S., Bhutia, K., Mondal, T. and Ghosh, S. 2014. Zinc stress induces physiological, ultra-structural and biochemical changes in mandarin orange (*Citrus reticulata* Blanco) seedlings. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 20(4): 461-473.