یافته های نوین کشاورزی
سال دهم- شماره۱- پاییز ۱۳۹٤

تاثیر کاربرد آسکوربات و جیبرلین بر میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان، پرولین و قندهای محلول در گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) در شرایط تنش شوری

راحله همتی*، کارشناس ارشد زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد یادگار امام (ره)، شهر ری، ایران
علیرضا پازکی، عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

به منظور بررسی اثر آسکوربات و جیبرلین بر روی برخی صفات فیزیولوژیکی گیاه دارویی مریم گلی در شرایط تنش شوری، آزمایشی در اسفند ماه ۱۳۹۲ در گلخانه شهرداری منطقه ۱۵ به مرحله اجرا در آمد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در چهار تکرار اجرا گردید. عامل های آزمایشی شامل چهار سطح شوری صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی مولار از منبع نمک طعام، آسکوربات در دو سطح صفر و ٤ میلی مولار و جیبرلین در دو سطح صفر و ۲ میلی مولار در نظر گرفته شدند. مقایسه میانگین اثرات اصلی تنش شوری نشان داد شوری سبب نزول فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و افزایش میزان قندهای محلول و پرولین گردید. بجز هر سه اثر متقابل دوگانه عوامل آزمایشی بر پرولین و قندهای محلول در سایر موارد اختلاف معنی دار گردید. همچنین بجز اثر متقابل سه گانه بر پرولین، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در سایر موارد اختلاف معنی داری مشاهده نگردید. در این شرایط بیشترین میزان تولید پرولین (۱۲/٦۷ میلی گرم بر گرم وزن تر)، فعالیت کاتالاز (۱۹/٦۸ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) و آسکوربات پراکسیداز (٦۱/۲۵ میلی گرم پروتئین در دقیقه) در تیمار شوری ۷۵ میلی مولار و کاربرد آسکوربات و جیبرلین حاصل شد. در نتیجه با کاربرد آسکوربات به عنوان یک آنتی اکسیدان قو ی و جیبرلین به عنوان تنظیم کننده رشد، اثر مخرب تنش به واسطه محلول پاشی این دو ترکیب جبران گردید و در شرایطی که آسکوربات و جیبرلین به گیاه داده شد، میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان کاهش نشان داد.

واژه های کلیدی: مریم گلی، شوری، آسکوربات، جیبرلین

---

* نویسنده مسئول: E-mail : hemati.raheleh@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۹٤/۹/۱۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۹۵/۱/۲۵

مقدمه

مشکلات شوری یا سدیمی بودن خاک در مناطق خشک و نیمه خشک که برای شستشوی یون های نمکی به خارج ریزوسفر وجود ندارد، معمول می باشد (۱۹). عمده‌ترین اثر شوری کاهش رشد گیاهان است. اثر نامطلوب شوری بر روی رشد و عملکرد گیاه مربوط به اثر اسمزی، سمیت یونی، عدم تعادل مواد غذایی و یا ترکیبی از این فاکتورها است (۲۰).

تنش شوری یکی از تنش های غیر زنده است که پتانسیل تولید زمین های کشاورزی را کاهش می دهد. این تنش و کنترل آن یکی از موضوعات عمده ای بوده، که انسان از هزاران سال تاکنون با آن رو به رو است. شوری یکی از عامل های مهم درکاهش حاصلخیزی زمین در تولید محصولات کشاورزی است (۱۷). هانی و جانسون (۱۹۹۵) عقیده دارند که تجمع قندهای احیاء کننده در شرایط تنش احتمالاً در تنظیم اسمولاریته درون سلولی و حفاظت مولکول‌های زیستی و غشاها اهمیت دارد. فعالیت آنزیمهای اینورتاز و ساکاروز سنتاز که دو آنزیم شکست ساکاروز به قندهای غیر احیاء کننده درسیتوسل و واکوئل می باشند ، باعث کاهش محتوای قندهای احیاء کننده در گیاه شده و میزان ساکاروز را در دیواره سلولی واکوئل کاتالیز میکند.

اسید آسکوربیک یک متابولیت فراوان در سلول‌های گیاهی است و برخی مواقع مقدار آن به بیش از ده درصد کربوهیدرات‌های سلول می‌رسد. اسید آسکوربیک نقش مهمی در فیزیولوژی تنش و نیز رشد و نمو گیاه دارا می‌باشد (۱۹). اسید جیبرلیک نیز می تواند از میزان پرولین آزاد در گیاه به هنگام تنش بکاهد. احتمالاً این کاهش ناشی از نقش اسید جیبرلیک در اتصال این آمینو اسیدهای آزاد به یکدیگر و تبدیل آنها به پروتئین و یا آنزیم ها در راستای افزایش تحمل به نمک در دانه رست های کلزا می باشد (۲). عبداللهی و همکاران (۲۰۱۳) گزارش دادند که غلظت جیبرلین موجب افزایش تجمع پرولین برگ گیاه کنار (*Ziziphus spina – Christi*) می شود و با محلول پاشی جیبرلین تحمل گیاه کنار در شرایط تنش شوری افزایش می یابد. مریم گلی گیاهی خشکی دوست است و در طول رویش به نور کافی، هوای گرم و آب کم نیاز دارد. آب فراوان و هوای خنک، رشد رویشی این گیاه را افزایش می دهد . این گیاه تقریبا در هر نوع خاکی قادر به رویش است و می توان از بافت‌های مختلف خاک برای کشت آن استفاده نمود و در مناطق خشک و خاکهای شنی به خوبی رشد می کند. pH مناسب خاک برای کشت مریم گلی بین ٤/۹ تا ۸/۲ است (۱۰). هنداوی و خالد (۲۰۰۵) گزارش کردند که تنش شوری درگیاه دارویی مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) باعث افزایش درصد کربوهیدرات های کل می شود.

با توجه به موارد ذکر شده این تحقیق به منظور بررسی تأثیر تنش شوری، کاربرد هورمون جیبرلین و آسکوربات برصفات آنزیمی و غیر آنزیمی مرتبط با تنش شوری در گیاه دارویی مریم گلی انجام گردید.

مواد و روش ها

این آزمایش در گلخانه شهرداری منطقه ۱۵ تهران در اسفند ماه ۱۳۹۲ انجام گردید. به منظور بررسی اثر آسکوربات و جیبرلین بر روی برخی صفات فیزیولوژیکی گیاه دارویی مریم گلی در سطوح مختلف تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در چهار تکرار اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل سطوح مختلف شوری در چهار سطح (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی مولار از منبع نمک طعام)، آسکوربات در دو سطح (صفر و ٤ میلی مولار) و جیبرلین در دو سطح (صفر و ۲ میلی مولار) در نظر گرفته شد. به فاصله ده روز قبل از اعمال تنش شوری و به منظور مقاوم سازی گیاهان به تنش، محلول پاشی با دو عامل آسکوربات و جیبرلین با غلظت های ذکرشده انجام گردید.

محلول پاشی با دو عامل ذکرشده به‌طور متوسط یک روز پس از اعمال هر بار تنش انجام پذیرفت. گیاهان بعد از گذشت هشت هفته از اعمال تیمار ها جهت اندازه گیری صفات، نمونه برداری گردیدند.

کاشت گلدانی مریم گلی با استفاده از خاک کشاورزی سنجش شده از نظر عناصر ضروری انجام پذیرفت. خاک مورد استفاده برای کاشت به طور دستی وبه نسبت ۲: ۱: ۱ از خاک رس، ماسه بادی و کود دامی تهیه گردید. بعد از جوانه زنی بذور و در مرحله چهار برگی در هر گلدان به‌طور متوسط با تنک کردن بوته ها ده بوته باقی گذاشته شد. آبیاری بوته ها از زمان کاشت تا اعمال تنش شوری به میزان مساوی در هر گلدان و بصورت روزانه (با توجه به شرایط محیطی میزان آب تعیین می گردید) یکبار در صبح زود انجام پذیرفت. در زمان برداشت برای اندازه گیری صفات فیزیولوژیکی ۵ بوته انتخاب و به آزمایشگاه انتقال داده شد.

جدول ۱: نتایج آزمایش خاک مورد استفاده در گلدان

عمق (cm)	Ec (ds/m)	PH	TNV (٪)	OC (٪)	N (٪)	P (ppm)	K (٪)	MN (ppm)	Clay (٪)	Silt (٪)	Sand (٪)	بافت	نسبت C/N	Na	CU (ppm)
۰ -۳۰	۱۰/۳۲	۷/٦	۸/۷	۱/۱۹	۰/۱۱	۸۸	۷۲۵	۳/۳۵	۱۷	۲٦	٥٤	لوم ماسه	۱۰/۸	۳۰/۷۵	۰/٦۳

برای اندازه گیری پرولین محتوای بافت برگ از روش بتس و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. برای اندازه گیری پرولین، ابتدا مقدار ۰/۲ گرم گیاهچه توزین شد و در هاون چینی در ۳ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳درصد به خوبی سائیده شد و همگن حاصل در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. غلظت پرولین بر حسب میلی گرم بر گرم بافت تازه برگ با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد. واحد به صورت میلی گرم بر گرم وزن تر بیان می شود. به منظور اندازه گیری قندهای محلول نمونه‌های منجمد شده به میزان ۰/۲ گرم در ۳ میلی‌لیتر آب مقطر عصاره‌گیری شده

و سپس همگن حاصل به کمک کاغذ صافی صاف گردید. برای اندازه‌گیری قند نمونه، به ۵۰ میکرولیتر از همگن صاف شده ۰/۵ میلی‌لیتر فنل ۵٪ و ۲/۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸٪ اضافه شد (۸).

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز به روش کاکمک و هورست (۱۹۹۱) انجام شد. ۰/۲ گرم برگ منجمد در ۳ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات ۲۵ میلی‌مولار با pH ۸/٦ عصاره گیری شد. همگن حاصل در دور ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده و سپس محلول روئی برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده گشت. واحد فعالیت به صورت تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین در دقیقه در وزن تر بیان گردید.

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

۰/۲ گرم نمونهٔ برگ منجمد در ۳ میلی‌لیتر بافر HEPES-KOH با pH ۷/۸ حاوی EDTA ۰/۱میلی‌مولار عصاره گیری شد. همگن های حاصل در دور ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای٤ درجه ساتی گراد سانتریفیوژ شده و بخش روئی برای سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز مورد استفاده قرار گرفت. یک واحد فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به عنوان مقدار آنزیمی در نظر گرفته شد که منجر به مهار۵۰٪ احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم می گردد، واحد فعالیت نسبت به میلی گرم پروتئین در دقیقه بیان شد (۱۱).

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز

۰/۲ گرم از بافت برگ تازه در نیتروژن مایع سائیده در بافر پتاسیم فسفات ۰/۰۲ مولار و pH = ٦/۸ در دمای ٤ درجه ساتی گراد عصاره گیری شد و سپس همگن حاصل در ۱۲۰۰۰ دور در دمای ٤-۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و محلول روئی جهت اندازه گیری فعالیت پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت (۹).

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

میزان فعالیت این آنزیم با استفاده از روش رانیری و همکاران (۲۰۰۱) سنجیده شد. محیط واکنش حاوی ٦۰۰ میکرولیتر از EDTA ۰/۱ مولار و ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۰/۰۵ مولار، ٤۰۰میکرولیتر آسکوربیک اسید ۰/۵ میلی مولار، ٤۰۰ میکرولیتر **آب** اکسیژنه۳۰٪ و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب به ازای میلی گرم پروتئین در دقیقه بیان گشت.

تجزیه و تحلیل داده های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون LSD انجام شد. برای رسم نمودارها نرم افزار Excel مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس حاصل از داده ها نشان داد که به جز اثر اصلی جیبرلین بر فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز که در سطح ۵٪ معنی دار شد، اثرات اصلی هر سه عامل آزمایشی بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و میزان پرولین و قندهای محلول در سطح ۱٪ معنی دار گردید (جدول۲).

نتایج مقایسه میانگین اثر اصلی شوری بیانگر این مطلب بود که بااعمال تنش شوری و افزایش سطح شوری درگیاه مریم گلی میزان قندهای محلول، میزان پرولین و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی به عنوان راهکاری برای مقابله با تنش افزایش یافت (جدول ٤).

جدول ۲: تجزیه واریانس و میانگین مربعات اثر تنش شوری، آسکوربات و جیبرلین برصفات گیاهی مریم گلی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		قندهای محلول	پرولین	کاتالاز	پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	آسکوربات پراکسیداز
شوری (a)	۳	۷۳۵/۸۱**	۹۰/۰۷**	۲۷۱/۷٤**	۱۸۵۹/۳۸**	۵۷۱۸/٤۹**	۳۷۷۲/۳۲**
آسکوربات(b)	۱	۷۹/٤٦**	۱۸/۳٦**	۲۷/۹۰**	٤۱٦/۸۲**	٤۷٦/۲۸**	٤٤۵/۸٤**
جیبرلین (c)	۱	٦۷/۳۰**	۲٤/۵۵**	۳۵/۷۹**	۱۳۲۰/٦۸**	۱٤۲/۰٦*	۵۷/٦۱**
ab	۳	٤/۳۸^{ns}	۰/٦۹^{ns}	۲/۷۰^{ns}	٤۰/۲۵*	۲۱/٤۷*	۱/۵۲^{ns}
ac	۳	۲/٤۸^{ns}	۰/۷۹^{ns}	٦/۱۲*	۱/۲۰^{ns}	۱۵/٤۹**	۱۲/۳۷*
bc	۱	۰/۰۰۰۰۲^{ns}	۰/۸۹^{ns}	۰/۰۰۲^{ns}	۰/۳۹^{ns}	۹/۰۷^{ns}	۵٦/٤۷**
abc	۳	۱/۳۸^{ns}	۱/۲۰*	۲/۱۷*	٤/۸۰^{ns}	۱/۹۵^{ns}	۱۳/٤۸*
خطا	٤۸	۳/۲۰	۰/٤۱	۱/۸٤	۱٦/٤۹	۱۲/۵۰	٤/۷٦
ضریب تغییرات (٪)		۹/۸۲	۷/۲۸	۱۰/۳۷	۱۰/۰۹	٦/۵٤	۵/۷۵

**، * و ns: به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ ، ۵٪ و غیر معنی‌دار

تحقیقات بسیاری تجمع پرولین را در نتیجه تنش های شوری و خشکی نشان می دهند. اگر چه آمینو اسیدهای مهم دیگری نیز مانند آلانین، گلایسین، سرین و آسپارژین نیز در این شرایط تجمع پیدا می‌کنند. مثلا دیده شده که در جو تنها پرولین و در گندم پرولین به تنهایی یا به همراه آسپارژین تحت تنش شوری و خشکی تجمع می یابند. اما بطور کلی پرولین نسبت به سایر آمینو اسیدها در گیاهان تحت تنش به مقدار بیشتری جمع می‌شود (۲). میزان پرولین با افزایش شوری افزایش یافت. این امر نشان می دهد که شوری باعث بر هم زدن نسبت های یونی و کاهش شدید یون پتاسیم شده که در این مرحله حفظ سلول و تعدیل اسمزی برای حفظ بقای گیاه در شرایط شور اهمیت پیدا میکند و افزایش پرولین به عنوان نوعی مکانیسم مقاومت به شوری وارد عمل می شود (۳).

اثر اصلی مصرف آسکوربات و جیبرلین بیانگر آن بود که کاربرد این دو ترکیب باعث کاهش قندهای محلول، میزان پرولین و کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در گیاه مریم گلی شد.

درنتایج حاصل از آزمایشی که برروی گیاه دارویی انیسون انجام شد، نشان داد که در شرایط تنش خشکی به موازات کاهش پتانسیل آبی، قندها در اندام گیاهی زیاد گشته که با عامل آسکوربات بصورت خارجی از میزان آن کاسته شد (١٦).

بررسی مقایسه میانگین اثر متقابل سه گانه حاصل از عاملهای آزمایشی نشان داد که بجز اثر متقابل سه گانه بر پرولین، کاتالاز وآسکوربات پر اکسیداز در سایر موارد اختلاف معنی داری مشاهده نگردید. در این شرایط بیشترین میزان تولید پرولین (١٢/٦٧ میلی گرم بر گرم وزن تر)، فعالیت کاتالاز (٦٨/ ١٩ میلی گرم پروتئین در دقیقه) و آسکوربات پراکسیداز (٦١/٢٥ میلی گرم پروتئین در دقیقه) در تیمار شوری ٧٥ میلی مولار و کاربرد آسکوربات و جیبرلین حاصل شد(جدول ٤).

تحت شرایط تنش های محیطی گیاهان برای جمع آوری انواع اکسیژن واکنشگر (ROS) تولید شده در کلروپلاست و میتوکندری، از طریق مکانیسم آنزیمی، سنتز آنزیم هایی مانند سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) را افزایش می دهند (٢٤) و این آنزیم ها نیز رادیکال های آزاد اکسیژن را جمع آوری و به H_2O_2 تبدیل میکنند، سپس H_2O_2 توسط آنزیم هایی مانند آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز جمع آوری می گردد (٢٣).

در آزمایشی که بر روی بعضی واریته های خربزه انجام شد (٢٥) نتایج نشان داد که عامل شوری باعث افزایش فعالیت APX شد.

جدول ٣: مقایسه میانگین صفات مورد آزمون در گیاه مریم گلی تحت اثرات اصلی عوامل آزمایشی

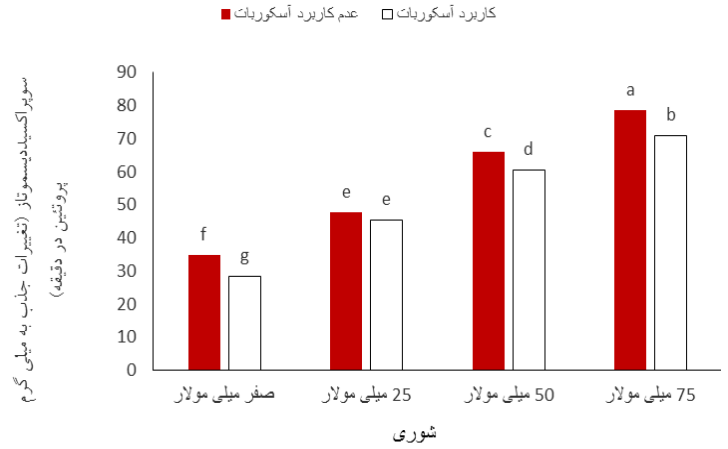
تیمارها	قند محلول (میلی گرم بر گرم وزن تر)	پرولین (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کاتالاز	پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	آسکوربات پر اکسیداز
			(تغیرات جذب بر حسب میلی گرم پروتئین در دقیقه)			
کلرید سدیم (NaCl)						
صفر میلی مولار	١١/٦٥d	٥/٩٨d	٨/٢٨d	٢٦/٣١c	٣١/٦٣d	٢٠/٣٩d
٢٥ میلی مولار	١٤/١٨c	٧/٩٩c	١١/٣٩c	٣٧/٢٠b	٤٦/٦٤c	٣١/٧٠c
٥٠ میلی مولار	٢٠/١٧b	١٠/٠٨b	١٥/٠٤b	٤٧/٨٩a	٦٣/٢٢b	٤٣/٤٣b
٧٥ میلی مولار	٢٦/٨٦a	١١/٣٩a	١٧/٦٩a	٤٩/٥٧a	٧٤/٧٨a	٥٦/١٢a
آسکوربات (ASC)						
صفر میلی مولار	١٩/٣٣a	٩/٤٠ a	١٣/٧٦ a	٤٢/٨٠a	٥٦/٧٩ a	٤٠/٥٥a
٤ میلی مولار	١٧/١٠b	٨/٣٢ b	١٢/٤٤ b	٣٧/٦٩b	٥١/٣٣b	٣٥/٢٧b
جیبرلین (GA)						
صفر میلی مولار	١٩/٢٤a	٩/٤٨a	١٣/٨٤a	٤١/٦٩a	٥٥/٥٥a	٣٨/٨٦a
٢ میلی مولار	١٧/١٩b	٨/٢٤ b	١٢/٣٥b	٣٨/٨١b	٥٢/٥٧b	٣٦/٩٦b

عامل‌هایی که با حروف مختلف نشان داده شده اند، دارای اختلاف معنی داری در سطح ٥ ٪ هستند

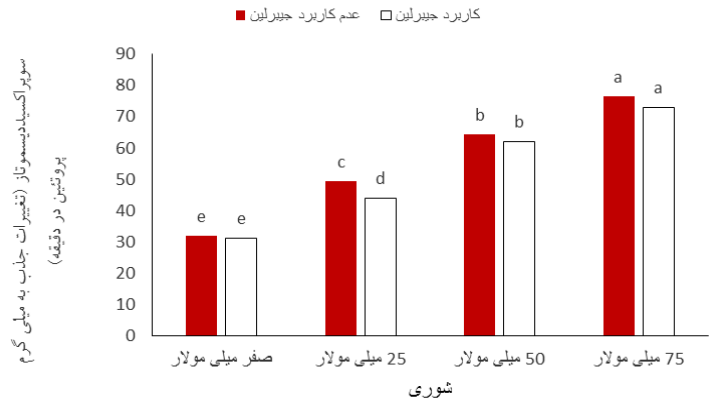
نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل دوگانه حاصل از عامل‌های آزمایشی نشان داد به‌جز پرولین و قندهای محلول که درهیچکدام از حالت ها اختلاف معنی داری را نشان ندادند، اثر این عوامل بر آنزیم های آنتی اکسیدان در برخی از حالت ها معنی دار گردید.

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل دوگانه شوری و آسکوربات نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در عامل ۷۵ میلی مولار نمک وبدون کاربرد آسکوربات به‌دست آمد که معادل ۷۸/٦۳ (تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین دردقیقه) بود (شکل۱).

همچنین بررسی مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و جیبرلین نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم SOD در عامل ۷۵ میلی مولار نمک بدست آمد که مقدار بدست آمده درهردو شرایط کاربرد و عدم کاربرد جیبرلین در یک گروه آماری قرار گرفتند که این مقدار برای عدم کاربرد جیبرلین و کاربرد شوری معادل ۷٦/۵۳ و برای کاربرد جیبرلین با تنش شوری معادل ۷۳/۰۲ (تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین در دقیقه) حاصل شد (شکل۲). قابل ذکر است که در گیاه مریم گلی با اعمال تنش شوری، به منظور مقاومت در برابر تنش فعالیت آنزیم SOD بیشتر از بقیه آنزیم‌های آنتی اکسیدانی افزایش یافت.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل دوگانه شوری در آسکوربات بر سوپراکسیددیسموتاز



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل دوگانه شوری در جیبرلین بر سوپر اکسید دیسموتاز

جدول ٤: مقایسه میانگین اثرات متقابل سه جانبه شوری، آسکوربات و جیبرلین بر صفات مورد آزمون در گیاه مریم گلی

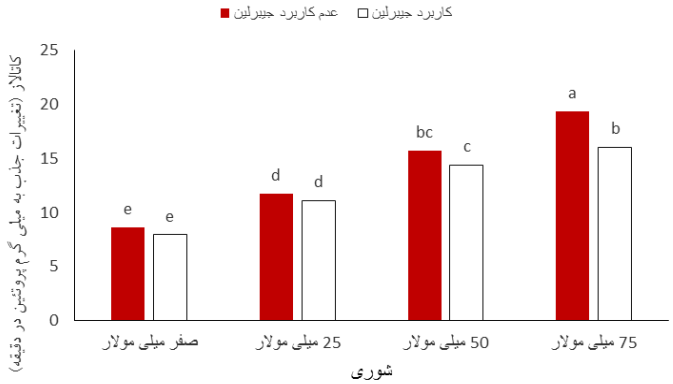
صفات / عاملها			پرولین	قندهای محلول	کاتالاز	پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	آسکوربات پراکسیداز
			(میلی‌گرم بر گرم وزن تر)		(تغییرات جذب بر حسب میلی‌گرم پروتئین در دقیقه)			
صفر NaCl	No Asc	No GA	۷/۰٤hi	۱۳/۸۲hij	۹/۵۰hi	۲۸/۵۰ij	۳۵/۰۷h	۲٤/٦۹g
		GA	٦/۵٦ij	۱۱/۵٤ijk	۸/۸٦hij	۲۷/۳٦ij	۳٤/۵۹h	۲۱/۹۵g
	Asc	No GA	٤/۳٦k	۱۰/۹۹jk	۷/۷٦ij	۲٦/٤۱j	۲۸/۹٤i	۱۸/٤۱h
		GA	۵/۹۸j	۱۰/۲۳k	۷/۰۰j	۲۳/۰۰j	۲۷/۸۳i	۱٦/۵۳h
NaCl ۲۵	No Asc	No GA	۷/۵۷gh	۱۵/۵۲fg	۱۲/۸۳ef	٤۰/۹۲efg	۵۰/۲٤f	۳۳/۸۱e
		GA	۹/۰٤ef	۱٤/۱٤fgh	۱۱/٦۱fg	۳۸/۹٦fg	٤۵/۳۲fg	۳٤/۳۰e
	Asc	No GA	٦/۹۱hi	۱٤/۱۷fgh	۱۰/۵۹gh	۳٦/۱۳gh	٤۸/٤۵f	۲۸/۹۱f
		GA	۸/٤٤fg	۱۲/۸۹hij	۱۰/۵۳gh	۳۲/۸۰hi	٤۲/۵۳g	۲۹/۷۷f
NaCl ۵۰	No Asc	No GA	۹/۷۹de	۲۳/۲۳cd	۱٦/۰۰cd	۵۰/٤۷bc	٦٦/۸۰cd	٤۸/۷۲c
		GA	۱۱/۳۲b	۲۰/۸۳de	۱٤/۱۷de	٤۷/٦۲bcd	٦۵/۰۱cd	٤۲/۹۰d
	Asc	No GA	۸/۹۰ef	۲۰/۱۵e	۱۵/٤٤d	٤۸/۳٦bcd	٦۱/۸۳de	٤۰/۸۳d
		GA	۱۰/۲۹cd	۱٦/٤٦f	۱٤/۵۵de	٤۵/۱۳cde	۵۹/۲۳e	٤۱/۲۵d
NaCl ۷۵	No Asc	No GA	۱۱/۱۷bc	۲۸/۸٤a	۱۹/٦۸a	۵٦/۷٤a	۷۹/٤۹a	٦۲/۵۲a
		GA	۱۲/٦۷a	۲٦/۷۰ab	۱۷/٤۳bc	۵۱/۸۱ab	۷۷/۷۸ab	۵۵/٤۹b
	Asc	No GA	۱۰/۱۷d	۲۷/۱۹ab	۱۸/۹۸ab	٤۵/۹٤cde	۷۳/۵۸b	۵۲/۹۷b
		GA	۱۱/۵۳b	۲٤/۷۰bc	۱٤/٦٦de	٤۳/۷۷def	٦۸/۲۷c	۵۳/٤۹b

عامل‌هایی که با حروف مختلف نشان داده شده اند، دارای اختلاف معنی داری در سطح ۵ ٪ هستند

اولین آنزیم پاکسازی کننده سوپراکسید دیسموتاز است که تبدیل رادیکال سوپر اکسید هیدروژن که یک مولکول با خاصیت غیر رادیکالی است را بر عهده دارد. پراکسید هیدروژن تولید شده توسط آنزیم کاتالاز و یا آسکوربات پراکسیداز تبدیل به آب و اکسیژن می شود (۷).

در آزمایشی که بر روی رقم های آفتابگردان در شرایط شوری انجام گرفت، نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم SOD بطور معنی داری با افزایش نمک، افزایش یافت (٦). عباسی و همکاران (۲۰۱۲) گزارش دادند در گیاه کرچک در شرایط شوری ملایم میزان فعالیت APX در ریشه و ساقه افزایش می یابد، اما با افزایش غلظت Nacl میزان آن کاهش می یابد. در حالی که حامد و همکاران (۲۰۱۲) اعلام کردند که در سطوح بالای نمک میزان فعالیت CAT و APX در گیاه نمک دوست اشنان بدون تغییر می ماند. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل دوگانه شوری و جیبرلین نشان داد بیشترین میزان فعالیت (۱۹/۳۳ تغییرات جذب برحسب میلی گرم پروتئین در دقیقه) آنزیم کاتالاز در عامل ۷۵ میلی مولار نمک طعام و بدون

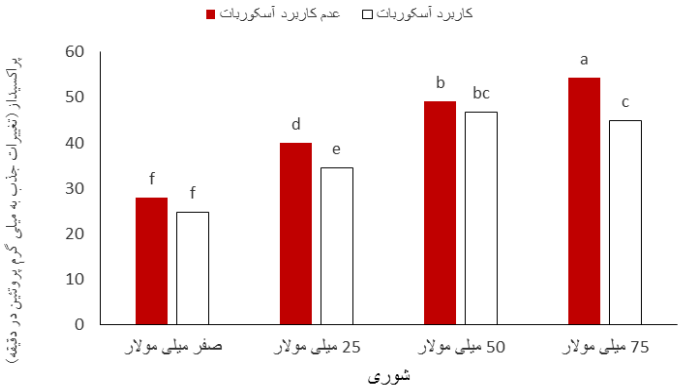
مصرف هورمون جیبرلین به‌دست آمد، همچنین قابل ذکر است که در هر کدام از غلظتهای نمک کمترین میزان فعالیت این آنزیم در شرایط کاربرد هورمون جیبرلین به‌دست آمد (شکل ۳).



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل دوگانه شوری در جیبرلین بر کاتالاز

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و آسکوربات نشان داد که در هرکدام از سطوح شوری، نمک باعث افزایش فعالیت پراکسیداز شده و کاربرد عامل آسکوربات میزان فعالیت این آنزیم را کاهش داد، به‌طوری که بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در عامل ۷۵ میلی مولارنمک بود که استفاده از آسکوربات توانست اثرات منفی نمک را کاهش دهد و باعث کاهش فعالیت این آنزیم شد.

میزان فعالیت این آنزیم در عامل ۷۵ میلی‌مولار معادل ٥٤/۲۷ بود که با مصرف آسکوربات به ٤٤/۸٥ رسید (شکل٤).



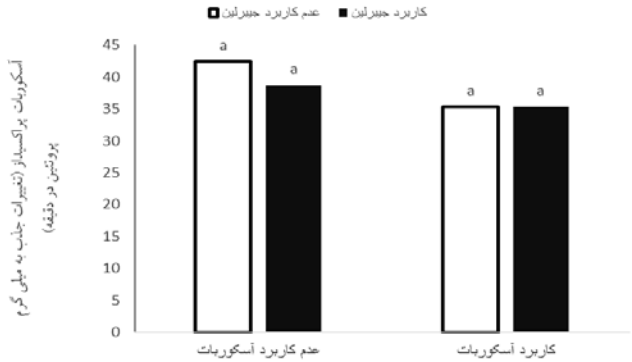
شکل ٤- مقایسه میانگین اثر متقابل دوگانه شوری در آسکوربات بر پراکسیداز

نتایج اثر متقابل دوگانه جیبرلین و شوری بیانگر آن مطلب بود که بیشترین میزان فعالیت آنزیم APX در غلظت ۷۵ میلی مولار نمک به‌دست آمد، که کاربرد هورمون جیبرلین همزمان با اعمال تنش شوری در غلظت ذکر شده باعث کاهش آنزیم ذکر شده گردید.

البته از لحاظ آماری بین کاربرد و عدم کاربرد جیبرلین در عامل ۷۵ میلی مولار شوری بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز اختلافی مشاهده نشد و هر دو حالت در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل ۵).

نتایج اثر متقابل دوگانه جیبرلین و آسکوربات نشان داد که میزان فعالیت آنزیم APX در کلیه حالت‌های کاربرد و عدم کاربرد این دو عامل با یکدیگر در یک گروه آماری قرار گرفتند، اگر چه از لحاظ آماری بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در حالت عدم کاربرد آسکوربات و عدم کاربرد جیبرلین به‌دست آمد که معادل ٤۲/٤۳ (تغییرات جذب بر حسب میلی گرم پروتئین در دقیقه) بود (شکل٦). در آزمایشی که برروی دو رقم سویا در زمان کاربرد آسکوربات و تنش شوری انجام گرفت، نتایج نشان داد که کاربرد اسید آسکوربیک باعث کاهش فعالیت آنزیم SOD در گیاهان کامل هر دو رقم شد (۲۲).

شکل۵- مقایسه میانگین اثر متقابل دوگانه شوری در جیبرلین بر آسکوربات پر اکسیداز



شکل٦- مقایسه میانگین اثر متقابل دوگانه آسکوربات در جیبرلین بر آسکوربات پر اکسیداز

در این پژوهش با هدف بالا بردن تحمل گیاه دارویی مریم گلی به تنش شوری به طور مجزا و همزمان از عامل‌های آسکوربات و جیبرلین استفاده شد، که با توجه به نتایج آزمایش‌ها در بالاترین سطح شوری بیشترین آسیب به گیاه وارد گردید و با کاربرد آسکوربات و جیبرلین از اثرات مخرب تنش کاسته شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که با اعمال تنش شوری میزان قندهای محلول، پرولین و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی افزایش یافت که این امر به سبب انتخاب این مکانیزم مقاومت گیاه در برابر تنش شوری می باشد. با کاربرد آسکوربات به عنوان یک آنتی اکسیدان قو ی و جیبرلین به عنوان

تنظیم کننده رشد، اثر مخرب تنش به واسطه محلول پاشی این دو ترکیب جبران گردید و در شرایطی که آسکوربات و جیبرلین به گیاه داده شد، میزان قندهای محلول، پرولین و میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان کاهش نشان داد.

منابع

1- Abdollahi, F., Jafari, L. and Gordi Takhti, S. 2013. Effect of GA_3 on growth and chemical composition of jujube leaf (*Ziziphus spina*-christi) under salinity condition. Journal of plant process and Function; 2 (4) :53-64

2- Asada, K. and Nakano, Y. 1981. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts: Its in activation in acerbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radiacal. Plant Cell Physiol, 28: 131-140.

3- Baghalian, K., Haghiry, A., Naghavi, M. R. and Mohammadi, A. 2008. Effect of saline irrigation on agronomical and phytochemical characters of chamomile (*Matricaria recutita* L.). *Scientia Horticulturae* 116 (2008). 437-441.

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

5- Cakmak, I. and Horst, W. 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glysin max*). Plant Phisiology.83:463-468.

6- Culha erdal, S. and Cakirlar, H. 2014. Impact of salt stress on photosystem (II) efficiency and antioxidant enzyme activities of safflower (*Carthamus tinctorius*. L) cultivars. Turkish journal of biology 38:549-560.

7- Dolatabadian, A, Modarres Sanavy, S. A. M. and Sharifi, M. 2008. Effect of Water Deficit Stress and Foliar Application of Ascorbic acid on Antioxidants Enzymes Activity and Some Biochemical's Changes in Leaves of Grain Corn (*Zea maize* L.). Iranian Journal of Biology. 22(3). 407-421.[In Persian with English Summary].

8- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal Chem. 28:350-356.

9- Ghanati, F., Morita, A. and Yokota, H. 2002. Induction of suberin and increase of liginin content by exess Boron in Tabacco cell. Soil Science. Plant Nutrition.48: 3: 357-364.

10- Ghani, A., Ebrahimpoor, A., Tehranifar, A. and Hassanzadeh khayaat, M. 2010. Evaluation of growth and development adaptability and medicinal-ornamental potential of Clary sage (Salvia sclarea L.) cultivated in Mashhad climatic conditions. . Journal of Plant Production Research.17(1). [In Persian with English Summary].

11- Giannopolitis, C. and Ries, S. 1997. Superoxid desmutase. I.Occurence in higher plant. Plant Physiology. 59: 309-314.

12- Hammed, A., Hussain, T. and Gulzar, S. 2012. Salt tolerance of a cash crop halophyte suaeda fruticosa: biochemical responses to salt and exogenous chemical treatments . acta physiol plant.

13- Hendawy, S. F. and Khalid, KH. A. 2005. Response of sage (saliva officinalis L) plant to zinc application under different salinity levels . Journal of applied sciences research , 1(z) : 147-155.

14- Huany, B. and Johnson, J. W. 1995. Root respiration and carbohydrate status of two wheat genotypes in response to hypoxia. Ann. Bot. 75: 427-432.

15- Jan mohamadi, M., Abbasi, A. and Sabaghnia, N. 2012 . Influence of nacl treatments on growth and biochemical parameters of castor bean (ricinus communis L) . Acta agriculturae slovenica , 99-1 : 31-40.

16- Kavan, Z. A., Ghorbanli, M. and Sateei, A. 2010. The effect of drought stress and exogenous ascorbate on photosynthetic pigments, flavonoids, phenol compounds and lipid peroxidation in *Pimpinella anisum* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 25(4) 456-469. [In Persian with English Summary]

17- Khoshkholghsima, N. and Asghari, H. 2001. Different mechanisms resistance against salinity stress. Agricultural college Mashad Ferdosi University.

18- Lak, R. 2011. Study Effects of Exogenous Gibberellin and Ascorbat on Antioxidant Enzymes Activities and Proline Content in Root and Shoot of Brassica Napus Seedlings under Salinity. First National Conference on new issues in agriculture.Islamic Azad University, Saveh Branch. [In Persian with English Summary]

19- Miri, H. 2009. Plant stress physiology. Islamic Azad University of Kermanshah. P479 [In Persian]

20- Mozafari, M., Hassani, A,. Sefidkon, F. and Rasooli Sadaghiaani, H. 2011. The effect of irrigation with saline water and treated with salicylic acid on the growth and physiological traits of peppermint (Mentha piperita .L). Department of Horticulture, College of Agriculture, University of Urmia. [In Persian]

21- Ranieri, A., Castagna, A., Baldan, B. and Soldatini, G. F. 2001. Iron deficiency differently affects peroxidase isoforms in sunflower. Journal of experimental botany, 52(354), 25-35.
22- Rezazadeh Hamidieh, l. 2008. Salt tolerance in soybean (Soybean) in the presence of some antioxidant compounds. MSc dissertation, Department of Plant Sciences, College of Natural Sciences, University of Tabriz.[In Persian]
23- Sairam, R. and Tyagi, A. 2004. Physiology and molecoular biology of salinity stress tolerance in plants, Current science, 86(3).
24- Tuna, A., Kaya, C., Dikilitas, M. and Higgas, D. 2008. The combined effects of gibberellic acid and salinity on some antioxidant enzyme activities, plant growth parameters and nutritional status in maize plants, Environmental and experimental botany, 62: 1-9.
25- Yasar, F., Kusvuran, S. and Elliatioglu, S. 2006. Determination of anti oxidant activities in some melon (*Ucumis melo* L.) varieties and cultivars under salt stress. Journal of horticultural science and biotechnology, 81(4) : 627-630.