مجله پژوهش‌های به زراعی
جلد۱۴ ، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۱

مجله پژوهش‌های به زراعی

تاثیر سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید بر میزان فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، قندهای محلول و پرولین در گیاه دارویی آرتیشو (*Cynara Scolymus* L.) تحت تنش شوری

سیده نازیلا سیدعلیخانی[1]، علیرضا پازکی[2] *

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه زراعت، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری، دانشگاه آزاد اسلامی ، تهران، ایران
۲- مرکز تحقیقات اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی و دارویی، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۹/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۱۸

چکیده

به منظور بررسی اثر سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، قندهای محلول و پرولین در گیاه دارویی آرتیشو در سطوح مختلف تنش شوری تحقیقی در سال ۱۳۹۳ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام (ره) شهرری انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل سه فاکتوره در قالب طرح کاملا تصادفی در چهار تکرار اجرا گردید که عامل اول تنش شوری در چهار سطح ۰, ۲۵, ۶۰, ۹۵ میلی‌مولار، عامل دوم در دو سطح عدم مصرف و مصرف ۰/۷ میلی مولار سالیسیلیک اسید و عامل سوم عدم مصرف و مصرف ۱۰۰ میکرو مولار جاسمونیک اسید در نظر گرفته شد. نتایج تحقیق نشان داد که هر سه اثر اصلی تنش شوری، کاربرد اسید سالیسیلیک و اسید جاسمونیک بر میزان فعالیت آنزیم‌های مورد بررسی، قندهای محلول و پرولین در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود به گونه ای که بر اثر اعمال تنش شوری میزان فعالیت آنزیم‌ها افزیش معنی داری نشان داد و بالاترین میزان فعالیت از تیمار اعمال تنش شوری با ۹۵ میلی مولار کلرید سدیم و کمترین میزان مربوط به تیمار عدم اعمال تنش شوری بود. همچنین در شرایط کاربرد اسید سالیسیلیک و اسید جاسمونیک میزان فعالیت آنزیم‌ها، محتوی قندهای محلول و پرولین افزایش یافت و از این طریق منجر به افزایش مقاومت گیاه دارویی آرتیشو به تنش شوری گردید.

واژه‌های کلیدی: گیاه دارویی آرتیشو، اسید سالیسیلیک و اسید جاسمویک، تنش شوری، تنش اکسیداتیو

* نگارنده مسئول (alireza.pazoki@ut.ac.ir)

مقدمه

تنش‌های محیطی زیادی بر رشد و نمو و تولید محصول در گیاهان تاثیر می‌گذارد. از این عوامل می‌توان به خشکی، سرما، گرما، عناصر سمی و شوری اشاره کرد (Sairam *et al.*, 2005). یکی ازعمده ترین تنش‌های محیطی که اغلب گیاهان با آن مواجهند، تنش شوری می‌باشد. شوری به معنی اضافه شدن نمک‌هایی مثل سدیم کلرید، سدیم سولفات و ... بـه خـاک یـا آب اسـت. (بسرا وبسرا ۱۳۷۹). تنش شوری موجب تغییرات شیمیایی، فیزیولوژیک و مورفولوژیک متعددی در گیاهان می‌شود. این تنش رشد، فتوسنتز، سنتز پروتئین، متابولیسم لیپیدها، تنفس و تولید انرژی را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Parida and Das, 2005). همچنین شوری موجب اختلال در جذب مواد معدنی می‌شود به طوری که با دخالت در فعالیت ناقل‌ها و کانال‌های یونی در ریشه مانند کانال‌های انتخابی پتاسیم (رقابت سدیم با پتاسیم)، مهار رشد ریشه توسط اثرات اسمزی سدیم یا با تاثیر سدیم بر ساختار خاک موجب کاهش جذب آب و مواد معدنی می‌شود (Tester and Venport, 2003). از سوی دیگر شوری با جایگزین کردن سدیم و کلسیم در غشا، نفوذ پزی غشا را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Sairam *et al.*, 2005). تنش شوری باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش نشت پذیری غشا سلول‌ها شده که علاوه بر آسیب اکسیداتیو وارد شده توسط گونه‌های فعال اکسیژن، باعث افزایش برخی پروتئین‌ها مانند پروتئین شوک گرمایی، چپرون‌ها و سایر پروتئین‌های سم زدا می‌شود (Sudhakar *et al.*, 2001). گیاهان مکانیسم‌های متفاوتی برای مقاومت در برابر تنش شوری دارند که شامل تنظیم میزان سدیم ورودی به اندام هوایی، ترشح و دفع نمک در سطح برگ، تغییر در هورمون گیاهی و القای سنتز برخی پروتئین‌هاست (Munns 2002; Mahajan and Tuteja, 2005). در حال حاضر از ترکیباتی استفاده می‌شود که مقاومت گیاهان را به تنش‌های محیطی افزایش داده، موجب بهبود فعالیت‌های

متابولیکی گیاه می‌شوند. یکی از این ترکیبات که در این زمینه شناسایی شده است سالیسیلیک اسید است. این ترکیب در تنش‌های محیطی اثر محافظتی داشته، موجب بهبود روند رشد در گیاه می‌شود (دلاوری پاریزی و همکاران ، ۱۳۹۱). اسید جاسمونیک و مشتقات آن یعنی متیل جاسمونات تنظیم کننده‌های رشد درونی یا بازدارنده‌های رشد گیاه هستند که نقش کلیدی در رشد، نمو و پاسخ به تنش‌های محیطی ایفا می‌کنند (Hildmann *et al.*, 1992). این مولکولها منجر به القای فعالیت آنزیم‌های ویژه ای می‌شوند که واکنش‌های بیوسنتزی مربوط به تولید ترکیبات دفاعی مانند پلی فنل‌ها، آلکالوئیدها و پروتئین‌های مربوط به میکروب‌های بیماری زا را کاتالیز می‌کنند (Martin *et al.*, 2002). جاسمونات گروهی از ترکیبات ویژه حلقوی سیکلوپنتان می‌باشد که در دهه ۱۹۶۰ به عنوان متابولیت‌های ثانویه در اسانس گیاه گل یاس شد (قناتی و همکاران، ۱۳۸۹; Martin *et al.*, 2002). اثرات فیزیولوژیکی جاسمونات‌ها در گیاهان بسته به گونه گیاهی، مرحله نموی ، نوع جاسمونات و غلظت به کار رفته متفاوت است (Martin *et al.*, 2002). گزارش شده است که سالیسیلیک اسید می‌تواند سمیت ناشی از تنش شوری در گیاه آرابیدوپسیس راکاهش دهد (Borsani *et al* 2001). همچنین گزارش شده است که سالیسیلیک اسید می تواند سمیت ناشی از تنش شوری در گیاه گوجه فرنگی رابهبود بخشد (Tari *et al* 2002). گزارشات متعددی مبنی برا نقش سالیسیلیک اسید بر کاهش اثرات ناشی از تنش‌های محیطی وجود دارد. از جمله سالیسیلیک اسید با اثر بر روی آنزیم‌های آنتی اکسیدان مانند کاتالاز (Slaymarker *et al.*, 2002)، سوپراکسید دیسموتاز (Scandalias, 1993)، پلی فنل اکسیداز (Dat *et al.*, 1998)، و پراکسیدازها (El-Tayeb *et al.*, 2005) و متابولیت‌هایی مانند آسکوربیک اسید (Borsanio *et al.*, 2001) و گلوتاتیون (Dat *et al.*, 1998) اثرات ناشی از

تنش‌های خشکی (Senaranta *et al.*, 2002)، گرما (Leubner- metzager *et al.*, 1998)، سرما (Tasgin *et al.*, 2003)، شوری (El-Tayeb *et al.*, 2005)، فلزات سنگین (Christoffersen and Laties, 1982) و بیماری‌ها را کاهش می‌دهد. بنابر گزارشات متعددی که به آن‌ها اشاره شد آزمایشی طراحی شد که هدف از آن بررسی تاثیر کاربرد اسید سالیسیلیک و اسید جاسمونیک بر اثرا سوء ناشی از تنش شوری در گیاه دارویی آرتیشو در مورد فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی بود.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تاثیر سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید بر مقاومت و القای تنش اکسیداتیو در گیاه آرتیشو (*Cynara Scolymus* L.) تحت تنش شوری آزمایشی در مهرماه ۱۳۹۲ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام (ره) شهرری انجام شد. شهرستان ری در عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۲ دقیقه و طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۲۵ دقیقه قرار گرفته است و ارتفاع آن از سطح دریا ۱۰۶۰ متر می‌باشد (باقری، ۱۳۸۲). جهت تعیین خصوصیات خاک (بافت خاک و خصوصیات شیمیایی خاک) قبل از اجرای آزمایش اقدام به نمونه برداری از خاک مورد استفاده برای گلدان‌ها گردید. یک نمونه که نماینده کاملی از خاک مورد استفاده برای گلدان‌ها بود. جهت تعیین بافت خاک و میزان ترکیبات شیمیایی موجود در خاک به آزمایشگاه ارسال گردید.

جدول ۱ - مشخصات خاک مورد استفاده

نوع آزمایش	EC ds/m	PH	TNV %	OC %	TotaIN %	K(ava) Mg/kg	P(ava) Mg/kg	Cly %	Silt %	Sand %	Texture
-	شوری کل اشباع	اسیدیته	آهک	کربن آلی	نیتروژن	پتاسیم	فسفر	رس	لای	ماسه	بافت
حدود مطلوب	<۶	۷-۶/۵	-	۵-۲/۳	۰/۲	۵۰۰	۱۵	۲۰	۲۰	۶۰	لوم شنی
۳۰-۰	۱۴/۱۰	۷/۵۹	۱۲	۲/۱۷	۰/۱۹	۲۲۰	۱۲۰	۱۵	۱۲	۴۰	شنی لوم

آزمایش به صورت فاکتوریل سه فاکتوره در قالب طرح کاملا تصادفی در چهار تکرار اجرا گردید که تیمارهای آزمایش عبارتد از عامل اول تنش شوری در چهار سطح شامل: ۰, ۲۵, ۶۰ و ۹۵ میلی مولار عامل دوم در دو سطح شامل: عدم مصرف سالیسیلیک اسید و مصرف آن به میزان ۰/۷ میلی مولار عامل سوم نیز در دو سطح که شامل: عدم مصرف جاسمونیک اسید و مصرف جامونیک اسید به میزان ۱۰۰ میکرو مولار نظر گرفته شد. کاشت گلدانی آرتیشو با استفاده از خاک کشاورزی سنجش شده از نظر عناصر ضروری خاک، قبل از استفاده و اصلاح آن و افزودن مواد لازم به آن انجام شد. تعداد ۶۴ گلدان با اندازه‌های ۲۵ سانتی متر قطر دهانه گلدان و ۳۰ سانتی متر ارتفاع گلدان انتخاب گردید. از کف گلدان تا ارتفاع ۴ سانتی متر شن درشت برای زه کشی مناسب و به میزان ۷ کیلوگرم از خاک مورد نظر پر شدند. وزن گلدان خالی (میانگین وزن ۱۰ گلدان به صورت تصادفی اندازه گیری شد) ۱۰۰ گرم تعیین شد. پس از آماده سازی خاک و گلدان‌های مناسب و پر نمودن آن‌ها، گلدان‌ها پس از کاشت در نهایت در سه ردیف چهارتایی و در حقیقت هر تیمار با ۴ تکرار قرار داده شد. بذرهای مورد نیاز از پژوهشکده گیاهان دارویی تهیه گردید و در هر گلدان بذرها با تعداد زیاد کشت شد تا در نهایت پس از تنک کردن، تعداد بوته‌ها در هر گلدان به ۱۲ عدد با فاصله ۵ سانتی متر رسید. در زیر گلدان‌ها از زیر گلدانی استفاده گردید تا در صورت هر گونه شستشوی بر اثر آبیاری، آب جمع شده در زیر گلدانی مجدداً به گلدان برگردانده شود.

اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم ها

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Cakmak and Horst (1991)انجام شد. ۰/۲ گرم برگ منجمد در ۳ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات ۲۵ میلی‌مولار با pH ۸/۶ عصاره گیری شد. همگن حاصل در دور ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۵ دقیقه در

دمای C^o ۴ سانتریفیوژ شده و سپس محلول روئی برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده گشت. تجزیه آب اکسیژنه با کاهش در جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به وسیله ی دستگاه اسپکتروفتومتر پیگیری شده و به ازای هر میلی‌گرم پروتئین در عصارهٔ آنزیمی بیان می‌گردد. واحد فعالیت به صورت تغییرات جذب به میلی‌گرم 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 ۰/۱EDTA میلی‌مولار عصاره گیری شد. همگن‌های حاصل در دور ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای C^o ۴ سانتریفیوژ شده و بخش روئی برای سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز مورد استفاده قرار گرفت (Giannopolitis & Ries, 1997) مخلوط واکنش شامل موارد زیر بود: ۵۰ میلی‌مولار بافر HEPES-KOH با pH ۷/۸ حاوی ۰/۱ EDTA میلی‌مولار، کربنات سدیم ۵۰ میلی‌مولار با pH ۱۰/۲، L-methionine ۱۲ میلی‌مولار، Nitro Blue Tetrazolium ۷۵ میکرومولار، ریبوفلاوین ۱ میکرومولار و ۲۰۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در معرض نور قرار داده شدند و پس از این مدت جذب آن‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد. همچنین از یک لوله آزمایش حاوی مخلوط واکنش به جزء عصاره آنزیمی به عنوان بلانک استفاده گشت. یک واحد فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به عنوان مقدار آنزیمی در نظر گرفته شد که منجر به مهار ۵۰٪ احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم می‌گردد.

(Giannopolitis & Ries, 1977)واحد فعالیت نسبت به میلی گرم پروتئین در دقیقه بیان شد.

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز

۰/۲ گرم از بافت برگ تازه در نیتروژن مایع سائیده در بافر پتاسیم فسفات ۰/۰۲ مولار، pH ۶/۸ در دمای C^o ۴ عصاره‌گیری

شد و سپس همگن حاصل در ۱۲۰۰۰ دور در دمای C^{o} ۴-۲ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و محلول روئی جهت اندازهگیری فعالیت پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت آنزیم پراکسیداز با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی، ۱۹۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم، ۵۰۰ میکرولیتر گایاکول با غلظت نهائی ۲۸ میلیمولار و ۵۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن با غلظت نهائی ۵ میلیمولار در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب به ازای میلی گرم پروتئین در دقیقه بیان گشت (Ghanati *et al.*, 2002).

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز میزان فعالیت این آنزیم با استفاده از روش رانیری و همکاران (*Ranieri* et al., *2001*) سنجیده شد. محیط واکنش حاوی ۶۰۰ میکرولیتر از EDTA ۰/۱ مولار و ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۰/۰۵ مولار (pH، ۷)، ۴۰۰ میکرولیتر آسکوربیک اسید ۰/۵ میلی مولار، ۴۰۰ میکرولیتر H_2O_2 ۳۰ درصد و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. سنجش مقدار فعالیت آنزیمی یک دقیقه پس از افزودن عصاره آنزیمی به محیط واکنش انجام شد و جذب در طی ۲ دقیقه از واکنش، به عنوان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در نظر گرفته شد. فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب به ازای میلی گرم پروتئین در دقیقه بیان گشت.

سنجش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز

برای اندازه گیری آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز براساس روش Paglia & valentine, (1967) عصاره استخراجی به محلول بافر حاوی فسفات ۰/۵۶ مولار (pH=۷) همراه با ۱/۲ مول EDTA و یک میلی مول نیترات سدیم و ۰/۲ میلیمول NADPH وارد شد. سپس به آن ۰/۲ میلی لیتر گلوتاتیون احیا به همراه ۰/۱ میلی مول آب اکسیژنه اضافه شد و بلافاصله میزان اکسیداسیون NADPH از طریق تعیین مقدار و جذب در ۳۴۰ نانومتر

در ۳۰ درجه سانتی گراد توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب به ازای میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بیان شد. تجزیه‌های آماری و همچنین رسم شکل‌ها به ترتیب با استفاده از نرم افزارهای SAS و Excel انجام شد. مقایسه میانگین‌ها نیز به کمک آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ صورت گرفت.

اندازه‌گیری قندهای محلول

نمونه‌های منجمد شده به میزان ۰/۲ گرم در ۳ میلی‌لیتر آب مقطر عصاره‌گیری شده و سپس محلول 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. بلافاصله بعد از افزودن اسید سولفوریک، یک واکنش گرمازا همراه با تولید رنگ نارنجی ایجاد می‌شود که تولید حرارت زیادی می‌کند. لذا ضروری است بعد از افزودن اسید، مخلوط واکنش ۱۰ دقیقه در دمای اتاق خنک شود. منحنی استاندارد با استفاده از غلظت‌های مختلف گلوکز از ۰ تا ۲۰ میکروگرم در میلی‌لیتر ترسیم گردید. جذب استانداردها به همراه جذب نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج۴۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شده و مقدار کل قندهای محلول، بر مبنای میلی گرم بر گرم وزن تر نمونه تعیین گشت (Dubois *et al.*, 1956).

سنجش غلظت پرولین

برای اندازه گیری پرولین محتوای بافت برگ از روش (Bates *et al.*, 1973) استفاده شد.

جدول ۲- میانگین مربعات میزان فعالیت های آنزیم های آنتی اکسیدانی، قندهای محلول و پرولین گیاه آرتیشو تحت تیمار های مختلف آزمایشی

منابع تغییرات	درجه آزادی	کاتالاز	سوپراکسید دیسموتاز	پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	گلوتاتیون پراکسیداز	قندهای محلول	پرولین
شوری (a)	۳	۱۱۴۹/۲۸**	۸۲۵۱/۷۱**	۱۴۶۲/۳۴**	۳۱۹/۷۵**	۳۷۰۷/۹۳**	۹۶۶/۱۱**	۱۰۱/۰۷**
سالیسیلیک اسید (b)	۱	۲۵۹/۲۵**	۱۰۴۰/۱۴**	۳۷۷/۳۸**	۳۲/۸۵**	۴۱۰/۰۱**	۱۳۵/۲۰**	۹/۲۲*
جاسمونیک اسید (c)	۱	۱۴۳/۴۳**	۴۶۴/۵۶**	۳۸۰/۹۸**	۴۲/۱۷**	۴۵/۲۱**	۱۶۱/۰۷**	۵۸/۶۲**
ab	۳	۱۱/۱۴ns	۲۴/۵۸ns	۵۵/۷۲*	۳/۱۸ns	۰/۷۷ns	۹/۵۷ns	۴/۷۴*
ac	۳	۲/۹۶ns	۱۵/۹۷ns	۲۰/۹۶ns	۷/۲۰*	۱۱/۶۵*	۱۹/۰۷ns	۲/۹۱ns
bc	۱	۲۰/۷۸*	۵۴/۳۳ns	۷/۵۷ns	۰/۰۰۲ns	۷۰/۷۵**	۰/۸۲ns	۱۷/۳۶**
abc	۳	۶/۴۴ns	۴/۴۶ns	۵/۷۵ns	۲/۵۶ns	۱۱/۴۳*	۰/۴۰ns	۲/۶۰ns
خطا	۴۸	۱۲/۶۴	۵۰/۵۹	۳۲/۸۰	۲/۱۷	۴/۴۰	۱۱/۳۵	۱/۷۲
ضریب تغییرات (درصد)	-	۱۶/۰۸	۱۷/۴۷	۱۸/۱۶	۱۱/۸۴	۶/۹۳	۱۹/۹۸	۱۸/۹۹

ns و * و ** به ترتیب غیرمعنی دار ومعنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات اصلی کلرید سدیم، سالیسیلیک اسید (SA) و جاسمونیک اسید (JA) بر صفات آنزیمی گیاه دارویی آرتیشو

صفات	کاتالاز	سوپراکسید یسموتاز	پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	گلوتاتیون پراکسیداز	قندهای محلول	پرولین
تیمارها	(تغییرات جذب بر حسب میلی گرم پروتئین در دقیقه)						
کلرید سدیم							
صفر میلی مولار	۱۲/۴۵d	۱۵/۰۷d	۲۰/۱۷d	۷/۲۲d	۱۳/۰۴d	۹/۷۶c	۴/۵۵c
۲۵ میلی مولار	۱۸/۶۷c	۲۹/۴۵c	۲۷/۷۱c	۱۰/۵۹c	۲۳/۹۶c	۱۱/۷۵c	۵/۳۴c
۶۰ میلی مولار	۲۵/۱۴b	۵۲/۷۹b	۳۶/۳۵b	۱۴/۵۵b	۳۵/۶۸b	۱۹/۰۸b	۷/۶۱b
۹۵ میلی مولار	۳۲/۱۷a	۶۵/۵۵a	۴۱/۸۹a	۱۷/۴۲a	۴۸/۴۱a	۲۶/۸۴a	۱۰/۱۴a
سالیسیلیک اسید							
صفر میلی مولار	۲۰/۰۹b	۳۶/۶۸b	۲۹/۱۰b	۱۱/۷۳b	۲۷/۷۴b	۱۸/۳۱a	۷/۲۹a
۰/۷ میلی مولار	۲۴/۱۲ a	۴۴/۷۵a	۳۳/۹۶ a	۱۳/۱۶a	۳۲/۸۰a	۱۵/۴۰b	۶/۵۳b
جاسمونیک اسید							
صفر میکرو مولار	۲۰/۶۱b	۳۸/۰۲b	۲۹/۰۹b	۱۱/۶۳b	۲۹/۴۳b	۱۸/۴۴a	۷/۸۵a
۱۰۰ میکرومولار	۲۳/۶۰a	۴۳/۴۱a	۳۳/۹۷a	۱۳/۲۶a	۳۱/۱۱a	۱۵/۲۷b	۵/۹۵b

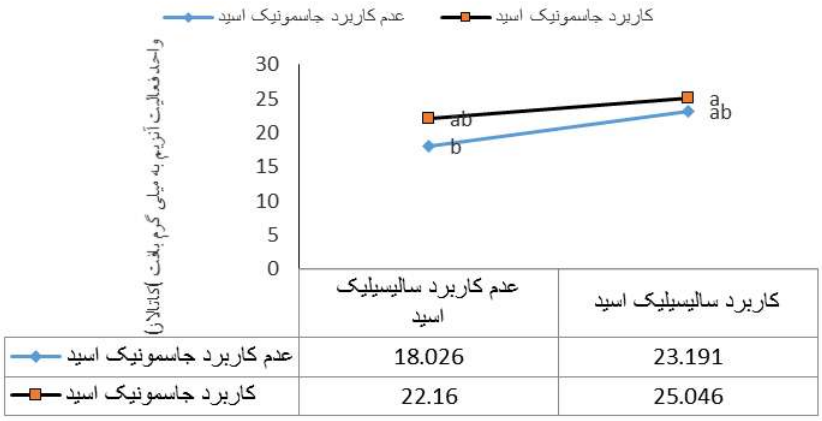
کلیه میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل یک حرف مشترک دارند از نظر آماری با آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ ندارند.

فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی

کاتالاز

با توجه به نتایج تجزیه واریانس گزارش شده در جدول۲ هر سه اثر اصلی تنش شوری، کاربرد اسید سالیسیلیک و اسید جاسمونیک بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود و از بین اثرات متقابل، تنها اثر متقابل دوگانه کاربرد اسید سالیسیلیک در کاربرد اسید جاسمونیک بر این صفت در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار شد. بر اساس مقایسات میانگین اثرات اصلی، که در جدول ۳ گزارش شده بالاترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با میانگین ۳۲/۱۷ میلی گرم پروتئین در دقیقه از تیمار اعمال تنش شوری با کلرید سدیم ۹۵ میلی مولار حاصل شد و کمترین میزان نیز با میانگین ۱۲/۴۵ ملی گرم پروتئین در دقیقه از تیمار عدم تنش شوری بدست آمد. در خصوص اثر متقابل مربوط به کاربرد اسید سالیسیلیک و کاربرد اسید جاسمونیک نیز بالاترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با میانگین ۲۵/۰۴ میلی گرم پروتئین در دقیقه از تیمار کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۷ میلی مولار و کاربرد ۱۰۰ میکرومولار اسید جاسمونیک حاصل شد کمترین میزان فعالیت نیز با میانگین ۱۸/۰۲ میلی گرم پروتئین در دقیقه از تیمار عدم کاربرد اسید سالیسیلیک و اسید جاسمونیک بدست آمد (شکل ۱). در شرایط طبیعی بین میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن و فعالیت ساز و کارهای از بین برنده آن تعادل وجود دارد. اما در تنش‌های محیطی این تعادل به هم میخورد و موجب تنش اکسیداتیو در گیاه می‌گردد (Abdul Jaleel *et al.*, 2009). گیاهان برای مقاومت در برای تنش اکسیداتیو ایجاد شده توسط تنش‌های محیطی نظیر خشکی یا شوری باید از سیستم دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی یا غیرآنزیمی استفاده نمایند . گزارش‌های بسیاری وجود دارد که بیان کننده افزایش تنش اکسیداتیو در هنگام تنش شوری و به تبع آن افزایش سیستم دفاع آنتی اکسیدان می‌باشد (Ben Hamed *et al.*, 2007). مطالعات روی گیاه اسفجاج و گیاه سنا (*Cassia angustifola*) نیز نشان داد شوری موجب

افزایش تنش اکسیداتیو و مقدار پراکسید هیدروژن و افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز گردید (Agarwal & pandey, 2004). پسندی و همکاران (۱۳۹۲) گزارش نمودند که پیش تیمار سالیسیلیک، موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در گیاه شنبلیله گردید. افزایش فعالیت این آنزیم‌ها همراه با کاهش مقدار پراکسیداسیون لیپید، پراکسید هیدروژن و نشت یونی می‌شود. بنابراین کاربرد اسید سالیسیلیک با فعال کردن سیستم آنتی اکسیدانی آنزیمی موجب افزایش مقاومت گیاهان به تنش اکسداتیو ناشی از تنش شوری و اسمزی شده است. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان تحت تاثیر تیمار اسید سالیسیلیک در گیاهان گندم (Multu *et al.*, 2009) جو (Xu *et al.*, 2008) گوجه فرنگی (He & Zhu, 2008) در تنش‌های مختلف محیطی گزارش شده است. Kim *et al.*, (200) در بررسی تاثیر کاربرد اسید جاسمونیک بر گیاه دارویی ریحان گزارش نمودند که در اثر کاربرد اسید جاسمونیک میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی نظیر کاتالاز و پراکسیداز افزایش یافت.



	عدم کاربرد سالیسیلیک اسید	کاربرد سالیسیلیک اسید
عدم کاربرد جاسمونیک اسید	18.026	23.191
کاربرد جاسمونیک اسید	22.16	25.046

شکل ۱- اثر متقابل کاربرد اسید سالیسلیک و کاربرد اسید جاسمونیک بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز

سوپراکسید دیسموتاز

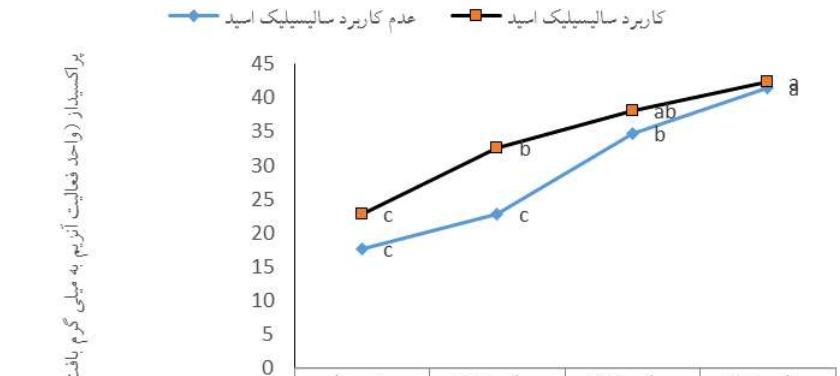
با توجه به نتایج تجزیه واریانس مورد بررسی از بین اثرات ساده و دوگانه تنها اثرات اصلی تنش شوری، کاربرد اسید سالیسیلیک و کاربرد اسید جاسمونیک بر میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین‌های اثر ساده تنش شوری نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز با میانگین ۶۵/۵۵ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه از تیمار اعمال تنش شوری با کلرید سدیم ۹۵ میلی مولار بدست آمد و کمترین میزان فعالیت آنزیم سوپرا کسید دیسموتاز با میانگین ۱۵/۰۷ میلی گرم پروتئین در دقیقه از تیمار عدم تنش شوری حاصل شد. در خصوص اثر ساده کاربرد اسید سالیسیلیک نیز بیشترین میزان فعالیت با میانگین ۴۴/۷۵ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه از تیمار کاربرد ۰/۷ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک بدست آمد و کمترین میزان فعالیت نیز با میانگین ۳۶/۶۸ میلی‌گرم پروتین در دقیقه از تیمار عدم کاربرد اسید سالیسیلیک حاصل شد. در مورد اثر کاربرد جاسمونیک اسید نیز بالاترین میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در برگ گیاه آرتیشو از تیمار مصرف ۱۰۰ میکرومولار جاسمونیک اسید با میانگین ۴۳/۴۱ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بدست آمد و کمترین میزان نیز با میانگین ۳۸/۰۲ میلی‌گرم پروتیئن در دقیقه از تیمار عدم کاربرد اسید جاسمونیک بدست آمد (جدول ۳). نورانی آزاد و حاجی باقری (۱۳۸۷) در بررسی تاثر تنش شوری بر خصوصیات فیزیولوژیکی شوید گزارش نموند که در اثر تنش شوری میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانتی افزیش یافت. سالیسیلیک اسید برای القای پروتیئن‌های دفاعی (کیتیناز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز) که در حضور پاتوژن‌ها تولید می‌شود نقش مهمی دارد (Vestena *et al.*, 2001). همچنین گزارش شده که SA به همران جاسمونیک اسید و متیل سالیسیلات سبب فعال شدن پروتئین‌هایی به نام القا کننده ژن pr می‌شود که برای حفظ گیاه در برابر آلودگی مفید

هستند و سبب می‌شود در شرایط تنش‌های ناشی از شوری و یا فلزات سنگین مانع از جذب املاح و ختی سدیم به داخل گیاه گردد از طرفی موجب افزایش فعالیت آنزیم-های آنتی اکسیدانتی نظیر سوپرا کسید دیسموتازها می‌گردد.

پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس حاکی از آن بود که هر سه اثر متقابل تنش شوری، کاربرد اسید سالیسیلیک و کاربرد اسید جاسمونیک در سطح احتمال ۱درصد بر این صفت معنی دار بود و همنین از بین اثرات متقابل تنها اثر متقابل دوگانه تنش شوری در اسید سالیسیلیک در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). در خصوص مقایسات میانگین اثرات اصلی کاربرد جاسمونیک اسید بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز بالاترین میزان فعالیت با میانگین ۳۳/۹۷ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه از تیمار کاربرد اسید جاسمونیک با غلظت ۱۰۰ میکرومولار بدست آمد و کمترین میزان نیز با میانگین ۲۹/۰۹ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه از تیمار عدم کاربرد جاسمونیک اسید بدست آمد (جدول ۳). در مورد نتایج مقایسه میانگین مربوط به اثر متقابل دوگانه تنش شوری در کاربرد اسید سالیسیلیک بالاترین میزان فعالیت پراکسیداز در برگ آرتیشو از تیمار تنش شوری اعمال شده با کلرید سدیم ۹۵ میلی‌مولار و کاربرد ۰/۷ میلی مولار اسید سالیسیلیک با میانگین ۴۲/۳۹ میلی‌گرم پروتئین دردقیقه بدست آمد و کمترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز با میانگین ۱۷/۵۷ میلی‌گرم پروتئین دردقیقه از تیمار عدم تنش شوری و عدم کاربرد اسید سالیسیلیک حاصل شد (شکل ۲). تنش شوری از طریق تاثیر بر چند مکانیسم گیاهی مانند فتوسنتز، هدایت روزنه ای، تنظیم فشار اسمزی و فعالیت آنزیم‌ها رشد گیاه را کاهش می‌دهد (Ashraf, 2001). در شرایط غیرتنش، بین میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن و ظرفیت جاروب کردن این ترکیبات توسط سیستم دفاع آنتی اکسیدانی (آنزیمی و غیرآنزیمی) تعادل وجود دارد اما در شرایط تنش، میزان تولید گونه‌های فعال

اکسیژن از ظرفیت جاروب کردن آن‌ها، توسط سیستم دفاع آنتی اکسیدانی بیشتر شده و در نتیجه تنش اکسیداتیو رخ می‌دهد . بنابراین، برای مقابله با تنش اکسیداتیو، تغییر ظرفیت سیستم دفاع آنتیاکسیدانی ضروری می‌باشد. آنزیمهایی مانند کاتالاز و پراکسیداز از آنزیم‌های مهم سیستم دفاع آنتی اکسیدانی در گیاهان می‌باشند. اگرچه سوپراکسیددیسموتاز در خط مقدم دفاع علیه گونه‌های فعال اکسیژن عمل می‌نماید ، اما برخی آنزیم‌ها نظیر کاتالاز و پراکسیداز در حذف محصول آن یعنی H2O2 که همچنان برای سلول سمی است نقش مهمی دارند (پسندی پور و همکاران، ۱۳۹۲). در این مطالعه تنش شوری موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های انتی اکسیدان در گیاه مورد مطالع گردید. مشابه نتایج این بررسی، افزایش آنزیم‌های آنتی اکسیدان در گیاهان ذرت (Azevedo Neto, 2006) جو (Xu *et al.*, 2008)، کنجد (Koca *et al.*, 2007) و برنج (Fadzilla., 1997) در شرایط تنش شوری و کاربرد اسید سالیسیلیک افزایش یافت. Ezhilmathi *et al* (2007) گزارش کردند که در اثر کاربرد اسید سالیسیلیک در گلایول میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی نظیر پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز افزایش یافت. Kim *et al* (200) در بررسی تاثیر کاربرد اسید جاسمونیک بر گیاه دارویی ریحان گزارش نمودند که در اثر کاربرد اسید جاسمونیک میزان فعالیت آنزیم‌های اآنتی اکسیدانتی نظیر کاتالاز و پراکسیداز افزایش یافت.



	صفر میلی مولار	25 میلی مولار	60 میلی مولار	95 میلی مولار
عدم کاربرد سالیسیلیک اسید	17.571	22.803	34.644	41.399
کاربرد سالیسیلیک اسید	22.775	32.621	38.06	42.386

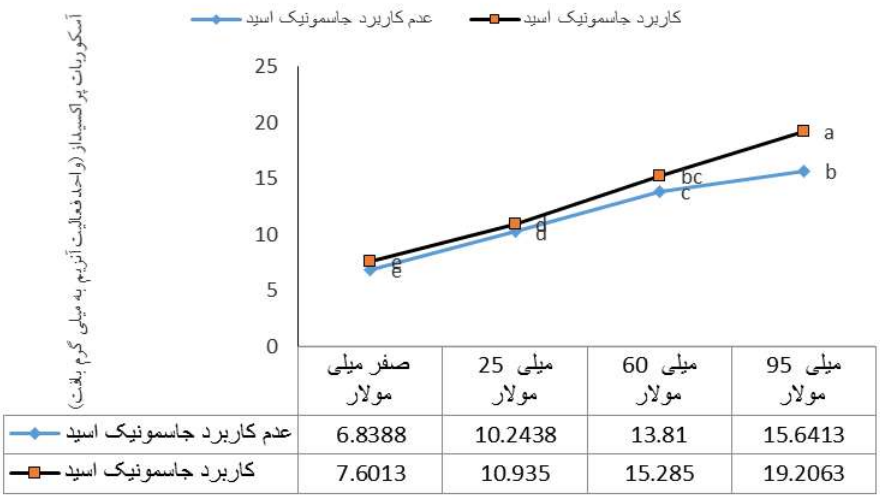
شکل ۲- اثر متقابل تنش شوری و کاربرد اسید سالیسیلیک بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ آرتیشو

آسکوربات پراکسیداز

با توجه به نتایج تجزیه واریانس ارائه شده در جدول ۲ هر سه اثر ساده تنش شوری، کاربرد اسید سالیلسیلیک و کاربرد اسید جاسمونیک بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود و از بین اثرات متقابل نیز تنها اثر متقابل دوگانه تنش شوری در کاربرد اسید جاسمونیک در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار شد. با توجه به این امر نتایج مقایسه میانگین اثر ساده کاربرد اسید سالیسیلیک نشان داد که بالاترین میزان فعالیت آنزیزم اسکوربات پراکسیداز با میانگین ۱۳/۱۶ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه از تیمار کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۷ میلی‌مولار بدست آمد و کمترین میزان نیز با میانگین ۱۱/۷۳ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه از تیمار عدم کاربرد اسید سالیسیلیک بدست آمد (جدول ۳).در خصوص نتایج مقایسه میانگین‌های اثر متقابل دوگانه نیز بالاترین میزان فعالیت آنزیم آسکوبات پراکسیداز با میانگین ۱۹/۲۰ میلی گرم پروتئین در دقیقه از تیمار اعمال تنش

شوری با کلرید سدیم ۹۵ میلی مولار و کاربرد ۱۰۰ میکرومولار اسید جاسمونیک بدست آمد و کمترین میزان نیز با میانگین ۶/۸۳ میلی گرم پروتئین در دقیقه از تیمار عدم تنش شوری و عدم کاربرد اسید جاسمونیک حاصل شد (شکل ۳). هنگامی که گیاه در معرض تنش‌های محیطی (خشکی یا شوری) قرار می‌گیرد گیاه مکانیسم‌های دفاعی خاصی برای غلبه بر آن از خود بروز میدهد که فعال شدن آنزیم‌های آنتی اکسیدانی از جمله این مکانیسم‌های دفاعی می‌باشد. در تحقیق صورت گرفته بر روی گیاه درمنه کوهی توسط رضایت مند و همکاران (۱۳۹۲) گزارش نمودند که در اثر اعمال تنش شوری در گیاه در منه کوهی میزن فعالیت آنزیم های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز افزایش یافت و همچنین در تیمارهایی که از اسید سالیسیلیک در آن‌ها استفاده شده بود میزان فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز افزایش یافت.گزارش شده است که ترکیبات فنلی در سلول با انتقال الکترون به آنزیم‌های تیپ پراکسداز و سم زدایی آب اکسیژنه تولید شده می‌توانند به عنوان آنتی اکسیدان عمل کنند (Sakihama *et al.*, 2002). همه گیاهان تنوع وسیعی از متابولیت‌های ثانویه را تولید می‌کنند که از مهم ترین آن‌ها می‌توان به گروه ترکیبات فنلی یا فنلیک‌ها اشاره کرد. سالیسیلیک اسید یا ارتوهیدروکسی بنزوئیک و اسید جاسمونیک ترکیبی فنلی هستند که به طور طبیعی در برخی از بافت‌های گیاهی به مقدار فراوان یافت می‌شوند (Zhang *et al.*, 2005). همچنین این ترکیبات به عنوان یک پیام رسان اندوژن (داخلی) گیاهی باعث افزایش تحمل گیاه به تنش شوری، خشکی، سرما و گرما می‌شود. سالیسیلیک اسید خارجی در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیک در گیاهان مانند رشد و نمو، فتوسنتز، جذب و انتقال یون و نفوذ پذیری غشا تاثیر گذار است (Raskin, 1992). بسیاری از بررسی‌های انجام شده نشان داده است که کاربرد سالیسیلیک اسید به صورت خارجی در گیاهان تحت تنش شوری می‌تواند آثار

تخریبی ناشی از تنش شوری را کاهش دهد و فرآیندهای رشد را سریعا به حالت اول برگرداند (Yusuf *et al.*, 2008).



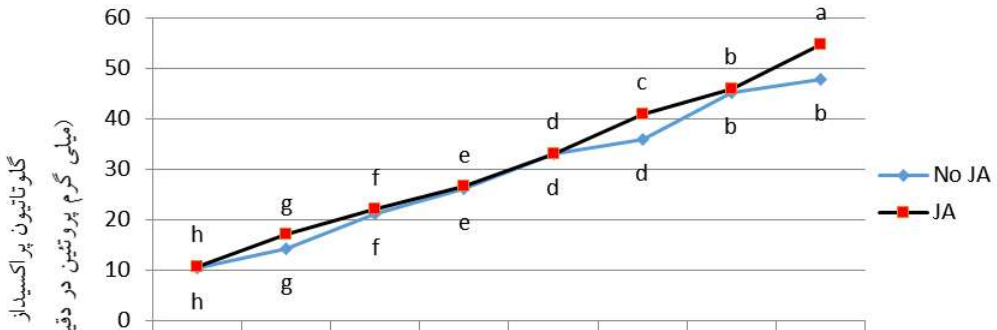
	صفر میلی مولار	25 میلی مولار	60 میلی مولار	95 میلی مولار
عدم کاربرد جاسمونیک اسید	6.8388	10.2438	13.81	15.6413
کاربرد جاسمونیک اسید	7.6013	10.935	15.285	19.2063

شکل ۳- اثر متقابل تنش شوری و کاربرد اسید جاسمونیک بر میزان فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز

گلوتاتیون پراکسیداز

با توجه به نتایج تجزیه واریانس صورت گرفته برای این صفت، تمامی اثرات ساده و متقابل تنش شوری و کاربرد اسید سالیسیلیک و اسید جاسمونیک بر میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز معنی دار بود بجز اثر متقابل تنش شور در کاربرد اسید سالیسیلیک که براین صفت معنی دار نبود (جدول ۲). با توجه به اینکه اثر متقابل سه گانه برای این صفت معنی دار بود بنابراین تنها به تفسیر همین اثر پرداخته شد. همانگونه که در شکل ۴ بیان شد بالاترین میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز با میانگین ۵۴/۷۷ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه از تیمار اعمال تنش شوری با کلرید سدیم ۹۵ میلی‌مولار و کاربرد ۰/۷ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و کاربرد ۱۰۰ میزکومولار اسید جاسمونیک بدست آمد و کمترین میزان فعالیت نیز با میانگین ۱۰/۳۶ میلی‌گرم

پروتئین در دقیقه از تیمار عدم تنش شوری و عدم کاربرد هریک اسید ترکیبات اسید سالیسیلیک و اسید جاسمونیک حاصل شد. در شرایط طبیعی بین میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن و فعالیت ساز و کارهای از بین برنده آن تعادل وجود دارد. اما در تنش‌های محیطی این تعادل به هم می‌خورد و موجب تنش اکسیداتیو در گیاه می‌گردد (Abdul Jaleel *et al.*, 2009). گیاهان برای مقاومت در برابر تنش اکسیداتیو ایجاد شده توسط تنش‌های محیطی نظیر خشکی و یا شوری باید از سیستم دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی یا غیر آنزیمی استفاده نمایند. گزارش‌های بسیاری وجود دارد که بیان کننده افزایش تنش اکسیداتیو در هنگام تنش شوری و به تبع آن افزایش سیستم دفاع آنتی اکسیدان می‌باشد (Ben Hamed *et al., 2007*). گزارشاتی درخصوص تاثیر تنش شوری در افزایش فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز در گیاه اسفنجاج وجود دارد (Eraslan *et al.*, 2008). جیریانی و فاتح (۱۳۹۰) در بررسی کاربرد اسید سالیسیلیک بر روی گیاهچه های گندم تحت تش شوری بیان موند که در گیاهچه هایی که از اسید سالیسیلیک در شرایط تنش شوری استفاده شده بود میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی نظیر کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز افزایش یافت.(2002) Agrawal *et al* گزارش نمودند که در اثر اعمال تنش شوری در اگثر گیاهان میزان هورمونهای گیاهی از جمله اسید آبسیزیک و اسید جاسمونیک افزایش می‌یابد و از طریق افزایش این تنظیم کننده‌های رشد میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نیز افزایش می‌یابد در تحقیق حاضر نیز مشاهده شد که در اثر کاربرد اسید جاسمونیک میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز افزایش یافت.



	No SA صفر میلی مولار	SA صفر میلی مولار	No SA 25میلی مولار	SA 25میلی مولار	No SA 60میلی مولار	SA 60میلی مولار	No SA 95میلی مولار	SA 95میلی مولار
No JA	10.36	14.2	21.16	26.09	33.08	35.97	45.22	47.74
JA	10.66	16.94	22.02	26.55	33.05	40.97	45.92	54.77

شکل ۴- اثرات متقابل سه گانه تنش شوری، کاربرد اسید سالیسیلیک در جاسمونیک اسید بر میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در گیاه آرتیشو (N0 AS و SA به ترتیب عدم کاربرد سالیسیلیک و کاربرد ۰/۷ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و همچنین No JA و JA به ترتیب عدم کاربرد اسید جاسمونیک و کاربرد ۱۰۰ میکرومولار جاسمونیک اسید را نشان می‌دهند)

قندهای محلول

نتایج تجزیه واریانس ارائه شده در جدول ۲ بیانگر آن بود که از بین اثرات مورد بررسی تنها اثرات ساده تنش شوری، کاربرد اسید سالیسیلیک و کاربرد اسید جاسمونیک بر میزان قندهای محلول در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود. بر اساس نتایج مقایسات میانگین‌ها برای اثر اصلی تنش شوری بالاترین میزان قندهای محلول با میانگین ۲۶/۸۴ میلی گرم بر گرم وزن تر از تیمار اعمال تنش شوری با غلظت ۹۵ میلی‌مولار کلرید سدیم حاصل شد و کمترین میزان نیز با میانگین ۹/۷۶ میلی گرم بر گرم وزن تر مربوط به تیمار عدم اعمال تنش شوری بود در مورد اثر کاربر اسید سالیسیلیک بر میزان قندهای محلول مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بالاترین میزان قند محلول با میانگین ۱۸/۳۱ میلی گرم بر گرم وزن تر از تیمار عدم کاربرد سالسیلیک اسید بدست آمد و کمترین میزان نیز با میانگین ۱۵/۴۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر از کاربرد ۰/۷ میلی مولار سالسیلیک اسید بدست آمد. در مورد

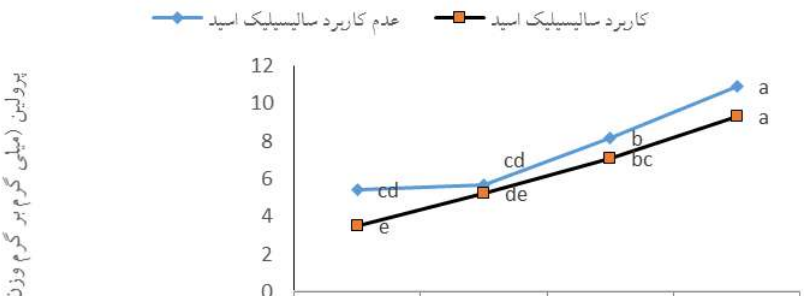
اثر کاربرد جاسمونیک اسید بر محتوی قند محلول نیز بالاترین میزان با میانگین ۱۸/۴۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر از تیمار عدم کاربرد جاسمونیک اسید بدست آمد و کمترین میزان نیز با میانگین ۱۵/۲۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر از تیمار کابرد ۱۰۰ میکرومولار بدست آمد(جدول ۳). زمانی که گیاه در معرض تنش‌هایی مانند شوری یا خشکی قرار می‌گیرد درشت مولکول‌های خود را به اجزای تشکیل دهنده خود که بصورت قابل حل باشند هیدرولیز می‌کند تا غلظت شیره لولی از این طریق افزایش یابد تا بتواند در حفظ و ذخیره آب سلول موفق باشد (کوچکی و سرمدنیا، ۱۳۸۸). در این تحقیق نیز با توجه به این نکته در شاریط تنش شوری با غلظت بالا میزان قندهای محلول افزایش یافت. در طی فتوسنتز فعال و در حضور نور، مقدار کربوهیدراتی که بصورت تریوزفسفات در یک برگ گیاه تولید می‌شود. بیش از میزان مورد نیاز آن برای تولید انرژی یا سنتز بصورت پیش سازها می‌باشد. کربوهیدرات مازاد به ساکروز تبدیل شده و به سایر قسمت‌های گیاه انتقال داده می‌شود، تا در آن محل‌ها به عنوان سوخت مصرف شود. در اکثر گیاهان، نشاسته شکل اصلی ذخیره ای است. اما اسید آمینه هم در گیاهان سنتز شده و پلی پپتیدها را می‌سازند (Iyengar & Reddy, 1996). فرض شده که تیمار سالیسیلیک اسید، آنزیم‌های هیدرولیز کننده پلی ساکاریدها را مهار کرده و تشکیل پلی ساکاریدها از قندهای محلول را سرعت می-بخشند. با این فرض سالیسیلیک اسید هزینه قندهای غیر محلول را نسبت به قندهای محلول افزایش می‌دهد. اما مقدار پروتئین محلول یعنی آمینو اسیدهای آزادمثل پرولین دربخش هوایی وریشه این گیاه تحت تیمارسالیسیلیک اسیدافزایش پیداکرد (Borsani *et al.*, 2001). در گزارش دیگری Singh (2003) تجمع اسید آمینه آزاد پرولین در شرایط نرمال در گندم گزارش کرده اند. این مطلب نشان می‌دهد که تنها سالیسیلیک اسید احتمالاً هیدرولیز قندهای غیر محلول یا پروتئین‌ها را تحریک کرده و منجربه تجمع ترکیبات اسمولیت می‌شود.

درگزارشی که درمورد اثر سالیسیلیک اسید بر روی گیاه ریحان آمده ثابت شده که اسپری برگی سالیسیلیک اسید مقدار کربوهیدرات، پروتئین، آمینواسیدهای آزاد و پرولین را به یک نسبت افزایش می‌دهد (Gharib, 2007).

پرولین

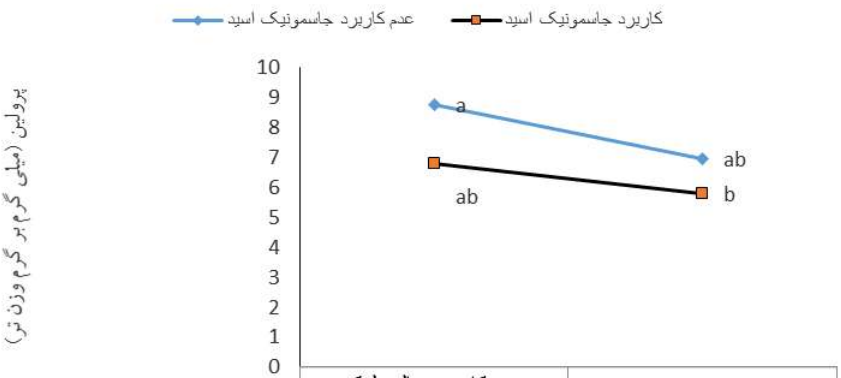
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که از بین اثرا مورد بررسی ساده، دوگانه و سه گانه تمامی اثرات بجز اثر دوگانه تنش شوری در کاربرد جاسمونیک اسیدو همچنین اثر متقابل سه گانه تنش شوری در کاربرد اسید جاسمونیک در کاربرد اسید سالیسلیک تمامی اثرات بر صفت محتوی پرولین برگ ماش معنی دار بود (جدول ۲). در خصوص نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر متقابل دوگانه تنش شوری در کاربرد سالیسیلیک اسید شکل ۵ نشان داد که بالاترین میزان پرولین با میانگین ۱۰/۹۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر از تیمار اعمال تنش شوری با ۹۵ ملی مولار کلرید سدیم و عدم کاربرد اسید سالیسیلیک بدست آمد و کمترین میزان مربوط به تیمار عدم تنش شوری و کاربرد اسید سالیسیلیک ۰/۷ میلی‌مولار بود. در مورد اثر متقابل دوگانه کاربرد اسید جاسمونیک و اسید سالیسیلیک نیز بالاترین میزان با میانگین ۸/۷۶ میلی گرم بر گرم از تیمار عدم کاربرد اسید سالیسیلیک و اسید جاسمونیک حاصل شد و در تیمار کاربرد این دو هورمون تنظیم کننده رشد کمترین میزان با میانگین ۵/۸۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بدست آمد (شکل ۶). به‌نظر می‌رسد، آمینه اسیدهایی نظیر پرولین تنها در شرایط مواجه شدن با تنش در گیاه افزایش یافته و منجر به کاهش اثرات سوء تنش شوری یا خشکی می‌گردد. همانگونه که در تحقیق حاضر مشاهده می-شود در گیاهانی که از نظر رشدی در شرایط ایده آلی بودند کمترین میزان پرولین سنتز شد. شه بخش و جامی معین (۱۳۹۳) در بررسی تاثیر کاربرد جاسمونیک اسید در شرایط تنش شوری در ذرت بیان نمودند که میزان پرولین موجود در برگ‌های ذرت در شرایط اعمال تنش شوری به شده افزایش

یافت و همچنین در تیمارهایی که از جاسمونیک اسید استفاده شده بود کمترین میزان پرولین بدست آمد. گزارش شده که کاربرد اسید سالیسیلیک روی برگ‌های گیاه کلزا محتوای پرولین آن را به شدن کاهش داد (Ghai *et al.*, 2002).



	صفر میلی مولار	25 میلی مولار	60 میلی مولار	95 میلی مولار
عدم کاربرد سالیسیلیک اسید	5.41	5.6488	8.1488	10.9463
کاربرد سالیسیلیک اسید	3.485	5.2313	7.0738	9.3275

شکل۵- اثر متقابل تنش شوری و کاربرد اسید سالیسیلیک بر میزان پرولین موجود در برگ گیاه آرتیشو



	عدم کاربرد سالیسیلیک اسید	کاربرد سالیسیلیک اسید
عدم کاربرد جاسمونیک اسید	8.7663	6.9656
کاربرد جاسمونیک اسید	6.7931	5.8106

شکل ۶- اثر متقابل کاربرد اسید جاسمونیک و کاربرد اسید سالیسیلیک بر میزان پرولین موجود در برگ گیاه آرتیشو

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق نشان داد که در اثر اعمال تنش شوری میزان فعالیت تمامی آنزیم‌های آنتی اکسیدانی افزایش یافت و در آنزیم‌های سوپرااکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز بیشترین میزان فعالیت را دارا بودند. .ضمن این که سالیسیلیک اسید توانست از طریق افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز باعث مقاومت آن‌ها به شوری شود. همچنین میزان قندهای محلول و پرولین در اثر اعمال تنش شوریافزایش معنی دار نشان داد و در تیمارهای کاربرد اسید سالیسیلیک و اسید جاسمونیک از طریق افزایش این ترکیبات مقاومت گیاه دارویی آرتیشو را به تنش شوری افزیش داد.

منابع

باقری، ا. ۱۳۸۲. توانمندی‌های کشاورزی و دامپروری شهرستان ری. پایان نامه کارشناسی ارشد جغرافیا. دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر ری.

کافی، م. و ع. مهدوی دامغانی .۱۳۸۱ مکانیسم‌های مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد . ص ۱۱۳-۱۱۲.

پسندی پور.، ا.، ح. فرح بخش، م، صفاری، و ب. کرامت. ۱۳۹۲. اثر سالیسیلیک اسید بر برخی واکنش‌های فیزیولوژیک گیاه شنبلیله () تحت تنش شوری. نشریه علمی- پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، ۷ (۲): -۲۲۸ ۲۱۵.

جیریانی، م. و ا. فاتح. ۱۳۹۰. تاثیر پیش تیمار سالیسیلیک اسید بر جوانه زنی ارقام گندم تحت سطوح مختلف شوری. یافته‌های نوین کشاورزی، ۶ (۲): ۱۱۸-۱۰۷.

دلاوری پاریزی.، م.، ا. باقی زاده، ش. انتشاری، و خ. منوچهری کلاتری. ۱۳۹۱. مطالعه تاثیر سالیسیلیک اسید بر مقاومت و القای تنش اکسیداتیو در گیاه ریحان سبز (*Ocimum basilicum* L) تحت تنش شوری .زیست شناسی گیاهی، ۴ (۱۲): -۲۵ ۳۶.

رضایت مند، ز.، ر.ع. خاوری نژاد، و غ.ر. اصغری. ۱۳۹۲. اثر سالیسیلیک اسید بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک و بیو شیمیایی گیاه درمنه کوهی (*Artemisia aucheri* Boiss) تحت تنش شوری. زیست شناسی گیاهی، ۵ (۱۶): ۷۰-۷۵.

شه بخش، و. و م. جامی معین. ۱۳۹۳. اثر جاسمونیک اسید بر واکنش رشدی ذرت در تنش شوری. پایانامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد واحد سبزوار.

قناتی، ف.، س. بختیاریان، و پ. عبدالمالکی. ۱۳۸۹. تاثیر متیل جاسمونات بر متابولیت‌های ثانویه گیاه همیشه بهار. مجله علوم و فن آوری زیستی مدرس. دوره ۱: ۲۱ تا ۳۳.

کوچکی، ع. و غ. سرمدنیا. ۱۳۸۸. " فیزیولوژی گیاهان زراعی. چاپ پانزدهم". انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.

نورانی آزاد، ح. و م.ر. حاجی باقری. ۱۳۸۷. تاثیر تنش شوری بر روی برخی از ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه شوید.مجله دانش نوین گشاورزی. سال چهارم، ص ۱۰۰-۹۳.

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

Agarwal, S. and V. Pandey. 2004. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. Biologia Plantarum. 48: 555-560.

Ashraf, M. 2001. Relationship between growth and gas exchange characteristics in some salt–tolerant amphidiploid Brassica species in relation to their diploid Parents. Environmental and Experimental Botany 45: 155 – 163.

Azevedo Neto, A.D., J.T. Prisco, J. Eneas-Filho, C.E.B. De Abreu, and E. Gomes-Filho. 2006. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt tolerant and salt sensitive maize genotypes. *Environmental and Experimental Botany*. 56: 87-94.

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

Ben Hamed, K., A. Castagna, E. Salem, A. Ranieri, and C. Abdelly. 2007. Sea fennel (*Cirthmum Maritimum* L.) under salinity conditions: A comparison of leaf and root antioxidant

Christoffersen, R.E. and G.G. Laties,. 1982. Ethylene regulation of gene expression in carrots. *Bontany.* 79: 4060-4063.

Dat, J.F., C.H. Foyer, and I.M Scott. 1998. Changes in salicylic acid and antioxidants during induced thermotolerance in Mustard seedlings. *Plant Physiol.*. 118: 1455–1461.

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

El-Tayeb, M. A. 2005. Response of barley Gains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regul, 45: 215-225.

Ezhilmathi, K., V.P. Singh, A. Arora, and R.K. Sairam. 2007. Effect of 5-sulfosalicylic acid on antioxidant activity in relation to vase life of Gladiolus cut flowers. Plant Growth Regulation, 51(2): 99-108.

Fadzilla, N.M., R.P. Finch, and R.H. Burdon. 1997. Salinity, oxidative stress and antioxidant responses shoot responses. Plant Growth Regulation. 53: 185-194.

Borsani, O., V. Valpuesta, M.A. Botella. 2001. Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in Arabidopsis seedlings. Plant physiol , 126 : 1024-1030.

Borsani, O., V. Valpuestan, and M.A. Botella. 2001. Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in Arabidopsis seedlings. Plant Physiology, 126: 1024-1030.

Borsanio, O., V. Valpuesta, and M.A. Botella. 2001. Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stess in *Arabidopsis* seedlings. Plant Physiol. 126: 1024-1030.

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

Hernandez J A, Olmos E, Corpas F J, Sevilla F, Del Rio L A, 1995 Salt-induced oxidative stress in chloroplasts of Pea plants .Plant Sci, 105 :151-167.

Hildmann, T., M. Ebneth, H. Peña-Cortés, J.J. Sánchez - Serrano, L. Willmitzer, and S. Prat. 1992. General roles of abscisic acid and jasmonic acid in gene activation as a result of mechanical damage, Plant Cell, 4: 1157-1170.

Iyengar, E.R.R. and M.P. Reddy, 1996 Photosynthesis in highly salt tolerant plants .In :Pesserkali M, (Ed) Handbook of photosynthesis . Marshal Dekar, Baten R, USA: 897-909

Kim, H.J., F. Chen, X. Wang, and N.C. Rajapakse. 2005. Effect of chitosan on the biological properties of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) *Journal of Agricucture and Food Chemistry.*, 53: 3696-3701.

Koca, H., M. Bor, F. Ozdemir, and I. Turkan. 2007. The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline cultures of rice. Journal of Experimental Botany, 48: 325-321.

Ghai, N., R.C. Setia, and N. Setia. 2002. Effect of paclobutrazol and salicylic acid on chlorophyll content, hill activity and yield components in Brassica napus L. (cv. GSL-1). Phytomorphology, 52: 83-87.

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

Gharib, F.A. 2007. Effect of salicylic acid on the growth, metabolic activities and oil content of basil and marjoram. International Journal of Agriculture and Biol, 4: 485 - 92.

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

He, Y. and Z.Y. Zhu. 2008. Exogenous salicylic acid alleviates NaCl toxicity and increases

glutathione reductase in cotton under salt stress. Environ Exp Bot. 49: 69-76

Multu, S., O. Alici, and B. Nalbantoglu. 2009.Bosch S, Penuelas J, 2003 photo-and antioxidative protection, and a role for salicylic acid during drought and recovery in field -grown Phillyrea angutifolia plants .Planta, 217: 758-766

Munns, R. 1993 Physiological processes limiting plant growth in saline soils .some dogmas and hypotheses .Plant Cell Environ 16 : 15-24

Paglia, D.E. and W.N. Valentine. 1997. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. The Journal of laboratory and clinical medicine, 70(1): 158-169.

Parida, A.K, and A.B. Das. 2005 Salt tolerance and salinity effects on plants :a review .Efcotox Environ Safe, 60: 324-349.

Parida, A.K, Das, , Mittra B, Mohanty P. 2004 Salt-stress induced alterations content of sesame cultivars. Environmental and Experimental Botany, 60: 344-351.

Leubner- metzager, G., L. Petruzzeli, R. Waldvogel, R. Vogeli-Lange, and J.F. Meins. 1998. Ethylene responsive element binding protein (EREBP) expression and transcriptional regulation of class β-1, 3-glucanase during tobacco seed germination. Plant molecular biol. 38: 785-795.

Mahajan, S. and N. Tuteja. 2005 Cold, salinity and drought stresses : An Overview .Archives of Biochemistry and Biophysics, 444: 139-158.

Martin, D., D. Tholl, J. Gershenzon, and J. Bohlmann. 2002. Methyl jasmonate induces traumatic resin ducts, terpenoid resin biosynthesis, and terpenoid accumulation in developing xylem of Norway spruce stems. Plant physiology, 129(3): 1003-1018.

Meloni, D.A, M.A. Oliva, C.A. Martinez, J. Cambraia. 2003 Photosynthesis and activity of super oxidase dismutase, peroxidase and

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

Shakirova, F.M., A.R. Sakhabutdinova, M.V. Bozrutkova, .R.A. Fatkhutdinova, and D.R Fatkhutdinova. 2003 Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. Plant Sci. 164 : 317-322

Slaymarker, D. H., Navarre, D. A., Clark, D. Pozo, O.D., Martin, G.B. and D.F. Klessig. 2002. The tobacco salicylic acid- banding protein 3 (SABP3) is the chloroplast carbonic anhydrase, which exihibition antioxidant activity and plays a role in the hypersensitive defense response. PANS, 99 (18): 11640-11645.

Sudhakar, C., A. Lakshmi, and S. Giridarakumar. 2001. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (Morus alba L.) under in protein profile and protease activity in the mangrove, Bruguiera parviflora . L .Naturforsch .59 .408-414

Ranieri, A., A.B. Castagna, B. Baldan, G.F. Soldatini. 2001. Iron deficiency differently affects peroxidase isoforms in sunflower. Journal of experimental botany, 52(354): 25-35.

Raskin, I. 1992. Role of salicylic acid in plants .Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Boil. 43: 463 – 739.

Sairam, R.K., G.C. Srivasta, S. Agarwal, and R.C. Meena. 2005. Difference in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes. Biologia Plantarum 49(1): 85-91.

Sakihama, Y., M. Cohen, S. Grace, and H. Yamasaki. 2002. plant phenolic antioxidant and proxidant activities phenolic-lnduced oxidative damage mediated by metals in plant. Toxicology, 177: 67-80.

Scandalias, J.G. 1993. Oxygene stress and superoxise dismutase. *Plant Physiol.*.101:7-12.

peroxide homeostasis in naked oat seedlings. Plant Growth Regulation, 54: 249-259.

Yusuf, M., S.A. Hasan, B. Ali, S. Hayat, O. Fariduddin, and A. Ahmad. 2008. Effect of salicylic acid on salinity induced changes in *Brassica juncea*. Journal of Integrative Plant Biology, 50(9): 1096-1102.

Zhang, Z., X. Pang, X. Duan, Z.L. Ji, and Y. Jiang. 2005 Role of peroxidase in anthocyanin degradation in litchi fruit pericarp. Food Chemistry, 90: 47-52.

NaCl salinity. Plant Science, 141: 613-619.

Tari, I., J. Csiszar, G. Szalai, F. Horvath, A. Pecsvaradi, G. Kiss, A. Szepsi, M. Szabo, and L. Erdei. 2002. Acclimation of tomato plants to salinity stress after a salicylic acid pre-treatment .Acta Biologica Szegediensis, 46 (3-4): 55-56.

Tasgin E., O. Atici, and B. Nalbantoglu. 2003. Effects of salicylic acid and cold on freezing tolerance in winter wheat leaves. Plant Growth Regul, 41: 231-236.

Tester, M. and R.D. Venport. 2003. Na+ tolerance and Na+ transport in higher plants Annal Botany, 91: 503-527.

Vestena, S., A. G.Fett-Neto, R.C.Duarte, and A.G. Ferreira. 2001. Regulation of mimosin accumulation in *Leucaena leucocephala* seedlings. Plant Science, 161: 597-604.

Xu, Q., X. Xu, Y. Zhao, K. Jiao, S.J. Herbert, and L. Hao. 2008. Salicylic acid, hydrogen peroxide and calcium induced saline tolerance associated with endogenous hydrogen

The effect of salicylic and jasmonic acid on antioxidant enzymes activity, soluble carbohydrate and proline in Artichoke (*Cynara Scolymus* L.) under salt stress conditions

S.N. Seyedalikhani[1], A.R. Pazoki[2*]

1. M. Sc Graduated, Department of Agronomy, Yadgar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre Rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Ecophysiology Research Center of Agricultural and Medicinal Plants, Yadgar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre Rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Abstract

In order to investigate The effect of salicylic and jasmonic acid on antioxidant enzymesactivity, soluble carbohydrate and proline in artichoke (*Cynara Scolymus* L.) under salt stress conditions, a research was conducted in 2014 at Islamic Azad University, Yadgar-e-Imam (RAH) Shahre Rey Branch. The experiment was done as factorial based on completely random design with four replications, the first factor salinity stress in four levels 0, 25, 60, and 95 mM, the second factor in two levels no consumption and consumption of 0.7 mM salicylic acid and the third factor no consumption and consumption of 100 µm jasmonic acid were considered. The results showed that all three main effects of salinity stress, salicylic acid and jasmonic acid consumption on antioxidant enzymes activity, soluble carbohydrate and proline content were significant at the 1% probability level, so in salinity stress conditions, the enzyme activity showed a significant increase and the highest level of activity was gained in 95 mM sodium chloride and the lowest one was related to the non applying of salt stress. Also, under the conditions of salicylic acid and jasmonic acid foliar application, the activity level of antioxidant enzymes and soluble carbohydrate and proline content increased and as the result the resistance of artichoke resistance to salt stress improved.

Keywords: Artichoke medicinal plant, Salicylic acid and Jasmoic acid, Salinity stress, Oxidative stress

* Corresponding author (alireza.pazoki@ut.ac.ir)