بررسی اثر نمک، ژیبرلین و آسکوربات بر جوانه زنی، رشد و اثر آنتی اکسیدانی دانه رست جو (*Hordeum vulgare* L.)

*مریم نیاکان[1]، وحیده رشیدزاده[1]، عباسعلی نوری‌نیا[2]

۱. دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

۲. مرکز تحقیقات کشاوزی و منابع طبیعی گرگان

چکیده

در استرس‌های مختلف از جمله استرس شوری، اکسیدان‌هایی نظیر انواع اکسیژن واکنشگر تولید می‌شود که به ساختار غشای در گیاه آسیب می‌رساند. در بین آنتی اکسیدان‌ها، آسکوربات دارای نقش حیاتی در سلول‌های زنده است و سبب از بین رفتن اکسیژن واکنشگر می‌شود. در بین هورمون‌ها نیز هورمون ژیبرلین دارای نقش‌های متعددی می‌باشد که بستگی به نوع ژیبرلین، غلظت و نوع گونه گیاهی دارد. در این تحقیق دانه جو (رقم ٤٢٢٢) با غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم (۳۵۰mM و ۱۵۰)، آسکوربات ۱mM و ژیبرلین (ppm ٤٠٠ و ۲۰۰) تیمار شدند و اثر آن بر روی درصد جوانه‌زنی، طول وزن تر، خشک، طول ریشه‌چه و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نظیر کاتالاز، پلی فنل اکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و میزان ترکیبات فنلی ارزیابی شد. نتایج حاصل نشان داد درصد جوانه‌زنی در حضور نمک کلرید سدیم، به خصوص در غلظت ۳۵۰mM کاهش یافت ولیکن در حضور آسکوربات، ژیبرلین و نمک، درصد جوانه‌زنی و طول ریشه چه افزایش معنی‌داری حاصل کرد. در فقدان آسکوربات، ژیبرلین و در حضور نمک کلرید سدیم، میزان فعالیت کاتالاز، پراکسیداز کاهش و پلی‌فنل اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز افزایش یافت. همچنین نمک کلرید سدیم موجب کاهش ترکیبات فنلی در دانه رست جو شد، اما با افزایش آسکوربات و ژیبرلین میزان آنها افزایش یافت.

کلمات کلیدی: آسکوربات، آنزیم‌های آنتی اکسیدان، ترکیبات فنلی جو، رشد، تنش شوری

مقدمه

هورمون‌های گیاهی، ترکیباتی هستند که به مقدار کم در یک اندام گیاه ساخته می‌شوند و در جای دیگر تاثیر می‌گذارند. جایگاه بیوسنتز ژیبرلین، مریستم انتهایی ساقه، ریشه، برگهای جوان، رویان، ریشه، دانه و میوه‌های در حال نمو می‌باشد. ژیبرلین‌ها در قارچ‌ها، سرخس‌ها، نهاندانگان، بازدانگان و برخی از باکتری‌ها یافت می‌شوند. ژیبرلین‌ها دارای نقش‌های متعددی می‌باشند. ژیبرلین سبب تحریک جوانه‌زنی دانه‌ها شده (Frantz et al., 2002) و سبب انتقال از مرحله جوانی به بلوغ، تحریک تشکیل میوه، تحریک گل‌دهی، تحریک رشد ساقه، تظاهر جنسیت، شکستن خفتگی دانه و به تأخیر انداختن پیری می‌شود (Handa et al., 1996).

آسکوربات یکی از آنتی اکسیدان‌های قوی می‌باشد که در اکثر سلول‌های گیاهی و اندامک‌هایی نظیر کلروپلاست

*e.mail: mnniakan@yahoo.com

وجود دارد (Detullio, 2000). آسکوربات به عنوان یک ترکیب مهم در رفع سمیت ناشی از انواع اکسیژن واکنشگر (ROS) نقش دارد (Smirnoff et al., 2001) و به طور مستقیم رادیکال‌های سوپر اکسید و هیدروکسیل را حذف و H_2O_2 را با کمک آسکوربات پراکسیداز به آب احیا می‌کند (Potters et al., 2002). تحقیقات نشان داده است که این اسید آلی به عنوان یک سوبسترا در سنتز اسیدهای تارتاریک و اگزالیک بکار گرفته می‌شود (Thomas et al., 1992). علاوه بر این اسید آسکوربیک بسیاری از فعالیت‌های غیر آنتی اکسیدانی را نیز به عهده دارد. به عنوان مثال درتنظیم چرخه سلولی از فاز G_1 به S و نیزتقسیم سلولی موثر است و رشد طولی سلولها را کنترل می‌کند (Detullio et al., 1999).

تحقیقات نشان داده که تنش شوری فرایند پیچیده ای می‌باشد که منجر به تشکیل گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) می‌گردد، اغلب سمی بوده و متابولیسم طبیعی سلولها را از طریق خسارت‌های اکسیداتیو به لیپیدها، غیرفعال شدن آنزیم‌ها و اسیدهای نوکلئیک بر هم می‌زند (Bar et al., 2003).

در تنش شوری فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، به عنوان بخشی از مکانیسم حفاظتی فعال می‌شود (Khan et al., 2004). تحقیقات نشان داده است که بسیاری ازگونه های گیاهان در شرایط غیر شور، بهترین درصد جوانه‌زنی را داشته و با افزایش شوری جوانه‌زنی آنها کاهش می‌یابد (Gulzar, 2002). میزان جوانه‌زنی به شکل خطی با افزایش شوری در برخی گیاهان کاهش می‌یابد (Zia and Khan, 2002).

آسکوربات با حذف اکسیژن فعال باعث افزایش جوانه‌زنی می‌شود(Ogawa et al., 2001). ژیبرلین سبب تشکیل سیستم درون غشایی و سنتز نوع جدیدی از mRNA که در تنظیم سنتز پروتئین مورد نیاز جوانه‌زنی بکار می‌رود، می‌گردد و بدین وسیله برجوانه‌زنی اثر می‌گذارد (Tripidamaz & Gomurgen, 2000). عنوان شده است که فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان نظیر کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز طی تنش شوری افزایش معنی‌داری می‌یابد و آسکوربات از طریق کاهش ROS سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های نامبرده می‌شود (Parrida et al., 2004).

کاربرد اسید ژیبرلیک اگزوژن، فعالیت کاتالاز و پراکسیداز را کاهش می‌دهد (Singh and Ram, 1997). همچنین ژیبرلین توانایی سلول برای حذف انواع اکسیژن واکنشگررا کاهش می‌دهد که این کاهش منجر به آسیب اکسیداتیو و مرگ سلولی می‌شود (Goldthwaite & Letsch, 1968).

استرس شوری در دانه رستهای جو سبب افزایش ترکیبات فنلی، فلاونوییدها و کاهش رشد می‌شود. ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها نقش‌های فیزیولوژیکی واکولوژیکی مهمی را ایفا می‌کنند. یکی از این نقش‌ها مقاومت در برابر انواع استرس‌ها می‌باشد و برخی از مطالعات نشان داده است آنزیم پلی فنل اکسیداز در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی افزایش می‌یابد. در گیاهانی که با کلرید سدیم ۱۰۰ میلی مول وسپس با فنیل اوره تیمار شدند ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها در اندام هوایی کاهش، ولی مقدار پلی فنل اکسیداز افزایش یافت. اما در مورد ریشه محتوای ترکیبات فنلی کاهش و مقدار فلاونوئیدها و پلی فنل اکسیداز افزایش یافت (Abbas & Ali, 2003)

تحقیقات متعددی راجع به اثر ژیبرلین بر ترکیبات فنلی انجام شده است. به عنوان مثال گزارش شده است که اسید ژیبرلیک برکاهش مقدار فنل ایجاد شده بوسیله تنش شوری و آبی تاثیر می‌گذارد. همچنین این هورمون مقدار آگلیکون فنل را افزایش داده، اما این افزایش کم و بیش، توسط کاهش محتوای گلیکوزیدها جبران می‌شود. اسید ژیبرلیک می‌تواند هیدرولیز گلیکوزیدهای فنلی را به آگلیکون فنل و قند آزاد تحریک کند (Allakhverdiev et al., 1994).

هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر غلظت‌های مختلف نمک ژیبرلین و آسکوربات بر درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی دانه جو رقم ٤٢٢٢ تحت تنش شوری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در ابتدا بذر جو رقم ٤٢٢٢ با آب ژاول ٣ درصد به مدت ٣ دقیقه ضد عفونی و سپس در پلیت‌های استریل در ژرمیناتور در دمای ٢٣ درجه سانتی گراد قرار داده شد. در این آزمایش دو غلظت از ژیبرلین (ppm ٤٠٠ و ٢٠٠) و یک غلظت از آسکوربات ١ (میلی مول) و دو غلظت از نمک کلرید سدیم (mM ٣٥٠ و ١٥٠) به همراه آب مقطر به عنوان شاهد جهت تیمار دانه‌های جو با توجه به نتایج پیش آزمایش در نظر گرفته شد. دانه‌های جو یک روز در میان با غلظت‌های مختلفی از نمک کلرید سدیم (١٥٠ و ٣٥٠ میلی‌مول) و آسکوربات ١ میلی‌مول و ژیبرلین (ppm ٤٠٠ و ٢٠٠) به میزان ٤/٥ میلی لیتر (١/٥ میلی‌لیتر نمک و ١/٥ میلی لیتر آسکوربات و ١/٥ میلی‌لیتر ژیبرلین) تیمار شدند. برای تعیین درصد جوانه‌زنی تا ٤ روز وضعیت جوانه‌زنی دانه‌ها بررسی و درصد جوانه‌زنی محاسبه شد. دانه‌هایی که طول ریشه چه آنها کمتر از١سانتی متر بود به عنوان بذرهای جوانه زده در نظر گرفته شدند. از بذرهای ٤ روزه برای سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پلی فنل اکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز استفاده شد. به این ترتیب که از هر پلیت یک گرم بذرانتخاب و با ٤ میلی‌لیتر محلول عصاره‌گیری شامل١/٢گرم تریس، ٢ گرم اسید آسکوربیک و ٣/٨ گرم بوراکس، ٢ گرم EDTANa و ٥٠ گرم پلی اتیلن گلیکول ٢٠٠٠ و در حجم ١٠٠ میلی‌لیتر همگن شدند. سپس محلول‌های تهیه شده به مدت ٢٤ ساعت در یخچال و دمای ٤ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از ٢٤ ساعت هر کدام از محلولهای تهیه شده در دور ٤٠٠٠g به مدت نیم ساعت سانتریفوژ گردید. محلول بالایی که بسیار شفاف بود برای سنجش فعالیت آنزیم‌های مورد استفاده قرار گرفت. سپس میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های نامبرده خوانده شد. فعالیت آنزیم کاتالاز بر حسب واحد $ODmin^{-1}g^{-1}Fw$ به روش Chance & Maehly (١٩٩٥)، فعالیت پراکسیداز به روش Koroi (١٩٨٩)، فعالیت پلی فنل اکسیداز به روش Manoranjan & Dinabandhu (١٩٧٥) و فعالیت آسکوربات پراکسیداز به روش Arrigoni (١٩٩٢) و همکاران و واحد $ODmin^{-1}g^{-1}Fw$ مورد سنجش قرار گرفت. جهت سنجش ترکیبات فنلی نیز از روش Matta و همکاران (١٩٦٣) استفاده شد.

محاسبات آماری

در این آزمایش محاسبات آماری در طرح کاملاً تصادفی با ٤ تکرار برای هر تیمار توسط نرم‌افزار SAS انجام شد. مقایسه بین تیمارها و شاهد بر اساس آزمون دانکن در سطح $p<٠/٠٥$ انجام گرفت و شکل‌ها نیز با نرم افزار Excel رسم گردید.

نتایج

اثر تیمارهای مختلف نمک،آسکوربات و ژیبرلین بر درصد جوانه‌زنی

پس از گذشت ٢٤ ساعت کمترین میزان جوانه‌زنی مربوط به نمک کلرید سدیم ٣٥٠mM، بیشترین جوانه‌زنی مربوط به نمک ١٥٠mM، آسکوربات ١mM و ژیبرلین ٤٠٠ ppm بود. در روز دوم هم بیشترین جوانه‌زنی در حضور نمک ٣٥٠mM، آسکوربات ١mM، ژیبرلین ٤٠٠ppm و کمترین جوانه‌زنی در حضور نمک ٣٥٠mM رخ داد. در روز سوم کمترین درصد جوانه‌زنی مربوط به تیمار ٣٥٠mM بود و درمان تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ١).

جدول ۱: اثر مقادیر مختلف نمک کلرید سدیم (۱۵۰ و۳۵۰ میلی مولار)، آسکوربات ۱ میلی مولار و ژیبرلین۲۰۰ و ۴۰۰ پی پی ام بر درصد جوانه زنی دانه جو

خطای استاندارد=SE. حروف مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی دارو حروف نا مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح p<0.05)

تیمار	روز اول				روز دوم				روزسوم			
	حروف	SE	±	میانگین	حروف	SE	±	میانگین	حروف	SE	±	میانگین
آب مقطر	a	۰,۰۹۱	±	۹,۰٦٤	a	۰,۱۷۱	±	۹,۸٥٤	a	۰,۱۷۱	±	۹,۸٥٤
نمک ۱۵۰	d	۰,۳۷۱	±	٤,٦۷۹	c	۰,۲٥۸	±	۸,٤۸۷	b	۰,٤۳۲	±	۸,٦٦۸
نمک ۳۵۰	e	۰,۰۰۰	±	۰,۷۰۷	e	۰,۰۰۰	±	۰,۷۰۷	d	۰,٥٤٦	±	۱,۷۹۹
نمک ۱۵۰ و آسکوربات	b	۰,٤۸۹	±	۸,۷٥۷	a	۰,٤۱۰	±	۹,٤۹٦	a	۰,۳٥۱	±	۹,٦۷٤
نمک ۱۵۰ و آسکوربات وژیرلین ۲۰۰	ab	۰,۲۷٥	±	۸,۹٦٤	a	۰,۳۱٥	±	۹,٤۱٥	a	۰,۰۸٤	±	۹,۹٤۱
نمک ۱۵۰ و آسکوربات وژیرلین ٤۰۰	a	۰,۲٤۳	±	۹,۱٥۰	a	۰,۱٤۸	±	۹,۷۷۰	a	۰,۰۸٤	±	۹,۹٤۱
نمک ۳۵۰ و آسکوربات	d	۰,۳۲۱	±	٤,٥۰٥	d	۰,٤۳۱	±	٦,۷۱۸	c	۰,۳۸٦	±	۷,٦٥۱
نمک ۳۵۰ و آسکوربات وژیرلین ۲۰۰	c	۰,٦٥۲	±	٦,٦۸۲	b	۰,۳۳۷	±	۹,۰٥۲	ab	۰,٤۲۲	±	۹,۲۲۷
نمک ۳۵۰ و آسکوربات وژیرلین ٤۰۰	c	۰,۲٤۷	±	٦,۸٥۹	a	۰,۰۸۹	±	۹,۳۳٥	a	۰,۰۸٦	±	۹,٦۸٦

اثر تیمارهای مختلف نمک، آسکوربات و ژیبرلین بر طول وزن تر و خشک ریشه چه

کمترین طول ریشه چه مربوط به نمک ۳۵۰mM بود. بیشترین طول ریشه چه در شاهد مشاهده شد. بین تیمارهای نمک (۱۵۰mM و ۳۵۰) و ترکیبی از نمک (۱۵۰mM و ۳۵۰) و آسکوربات ۱mM و ژیبرلین (۴۰۰ ppm و ۲۰۰) اختلاف معنی‌داری دیده شد. بین تیمارهای نمک ۱۵۰mM و ۳۵۰mM تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد کمترین وزن تر نیز در نمک ۳۵۰mM و بیشترین آن در آب مقطر دیده شد. در مورد وزن خشک نیز بیشترین مقدار مربوط به ۳۵۰ mM و کمترین آن در نمک ۱۵۰mM، آسکوربات و ژیبرلین ۲۰۰ ppm دیده شد (جدول ۲).

جدول ۲: اثر مقادیر مختلف نمک کلرید سدیم (۱۵۰ و۳۵۰ میلی مولار)، آسکوربات ۱ میلی مولار و ژیبرلین ۲۰۰ppm و ۴۰۰ بر طول ریشه چه (سانتی متر) وزن تر وخشک ریشه چه (گرم) دانه رست جو

(SE=خطای استاندارد، حروف مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی دارو حروف نا مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح p<0.05)

تیمار	طول ریشه چه				وزن تر				وزن خشک			
	حروف	SE	±	میانگین	حروف	SE	±	میانگین	حروف	SE	±	میانگین
آب مقطر	a	۰,۱۷٥	±	۳,۰۷۰	a	۰,۰۱٤	±	۰,۱۷٦	b	۰,۰۰۱	±	۰,۰۳٤
نمک ۱۵۰	f	۰,۰۲۰	±	۰,٥۳۰	d	۰,۰۰٤	±	۰,۱۰٥	b	۰,۰۰۰	±	۰,۰۳٤
نمک ۳۵۰	g	۰,۰۰۰	±	۰,۰۱۰	e	۰,۰۰۳	±	۰,۰٦۸	a	۰,۰۰۲	±	۰,۰۳۸
نمک ۱۵۰ و آسکوربات	d	۰,۱۰٤	±	۱,۲۱۰	c	۰,۰۰۱	±	۰,۱٤٤	a	۰,۰۰۳	±	۰,۰۳٦
نمک ۱۵۰، آسکوربات و ژیرلین ۲۰۰	d	۰,۲۱٦	±	۱,٥۳۰	b	۰,۰۰۳	±	۰,۱٥۰	c	۰,۰۰۰	±	۰,۰۳۱
نمک ۱۵۰، آسکوربات و ژیرلین ٤۰۰	b	۰,۰۱۸	±	۲,٥۸۳	c	۰,۰۱۲	±	۰,۱۳٤	d	۰,۰۰۳	±	۰,۰۲۸
نمک ۳۵۰ و آسکوربات	e	۰,۱۱۰	±	۰,۳۳۰	d	۰,۰۱۳	±	۰,۰۹٤	c	۰,۰۰۳	±	۰,۰۳۰
نمک ۳۵۰، آسکوربات و ژیرلین ۲۰۰	c	۰,۲٤۸	±	۱,۸۲۳	c	۰,۰۱٤	±	۰,۱۳۲	ab	۰,۰۰٤	±	۰,۰۳٥
نمک ۳۵۰، آسکوربات و ژیرلین ٤۰۰	c	۰,۲۷۲	±	۱,۸٥۰	d	۰,۰۰٥	±	۰,۱۲٥	a	۰,۰۰۱	±	۰,۰۳۷

اثر تیمارهای مختلف نمک وآسکوربات و ژیبرلین بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی

کاتالاز: نتایج حاصل از این تحقیق با تیمارهای مختلف نمک و آسکوربات و ژیبرلین نشان داد که در حضور نمک ۳۵۰mM میزان فعالیت کاتالاز کاهش یافته و تفاوت معنی‌داری با نمک ۱۵۰mM ندارد. در حضور غلظت ترکیبی از نمک ۱۵۰mM، آسکوربات ۱mM و ژیبرلین ۴۰۰ ppm میزان فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافته و تفاوت معنی‌داری با غلظت ترکیبی نمک ۱۵۰mM،آسکوربات ۱mM و ژیبرلین ۲۰۰ ppm دارد. بین نمک ۳۵۰mM با غلظت ترکیبی از نمک ۳۵۰mM، آسکوربات ۱mM و ژیبرلین (۴۰۰ ppm و ۲۰۰) تفاوت معنی‌داری دیده شد (جدول۳).

پراکسیداز: در این تحقیق بیشترین فعالیت آنزیم در غلظت ترکیبی از نمک ۱۵۰mM، آسکوربات ۱mM و ژیبرلین ۲۰۰ ppm مشاهده گردید. فعالیت آنزیم در نمک (۱۵۰mM و ۳۵۰) با غلظت ترکیبی از نمک (۱۵۰mM و۳۵۰)، آسکوربات ۱mM و ژیبرلین (۴۰۰ ppm و ۲۰۰) تفاوت معنی‌داری نشان داد به طوریکه به میزان قابل توجهی فعالیت آنزیم افزایش یافت (جدول۳).

آسکوربات پراکسیداز: در این تحقیق بیشترین فعالیت آنزیم در نمک ۱۵۰mM مشاهده گردید. فعالیت آنزیم در غلظت‌های ترکیبی از نمک ۱۵۰mM، آسکوربات ۱mM و ژیبرلین (۴۰۰ ppm و ۲۰۰) با نمک ۳۵۰mM به میزان قابل توجهی کاهش یافت (جدول۳).

جدول ۳: اثر مقادیر مختلف نمک کلرید سدیم (۱۵۰ و۳۵۰ میلی مولار)، آسکوربات ۱ میلی مولار و ژیبرلین ۲۰۰ppm و ۴۰۰ برفعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز آسکوربات پراکسیداز پراکسیداز برحسب $ODmin^{-1}g^{-1}FW$

(SE=خطای استاندارد، حروف مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی دارو حروف نا مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح $p<0.05$)

تیمار	کاتالاز				آسکوربات پر اکسیداز				پر اکسیداز			
	حروف	SE	±	میانگین	حروف	SE	±	میانگین	حروف	SE	±	میانگین
آب مقطر	bc	۰,۰۰۱	±	۰,۰۲۷	c	۰,۰۰۰۳	±	۰,۰۱۴	e	۰,۰۴۱	±	۰,۶۴۱
نمک ۱۵۰	f	۰,۰۰۱	±	۰,۰۰۷	a	۰,۰۰۳	±	۰,۰۲۴	ef	۰,۰۰۴	±	۰,۰۳۱
نمک ۳۵۰	g	۰,۰۰۲	±	۰,۰۰۳	b	۰,۰۰۱	±	۰,۰۲۰	f	۰,۰۰۱	±	۰,۰۱۵
نمک ۱۵۰ و آسکوربات	d	۰,۰۰۲	±	۰,۰۱۳	c	۰,۰۰۱	±	۰,۰۱۵	d	۰,۰۷۰	±	۰,۷۶۶
نمک ۱۵۰، آسکوربات و ژیرلین ۲۰۰	c	۰,۰۰۰	±	۰,۰۲۲	c	۰,۰۰۲	±	۰,۰۱۵	a	۰,۰۵۱	±	۱,۷۲۱
نمک ۱۵۰، آسکوربات و ژیرلین ۴۰۰	a	۰,۰۰۲	±	۰,۰۳۵	c	۰,۰۰۰	±	۰,۰۱۴	b	۰,۰۹۱	±	۱,۴۰۲
نمک ۳۵۰ و آسکوربات	e	۰,۰۰۱	±	۰,۰۱۰	d	۰,۰۰۱	±	۰,۰۰۸	f	۰,۰۰۴	±	۰,۰۴۰
نمک ۳۵۰، آسکوربات و ژیرلین ۲۰۰	b	۰,۰۰۱	±	۰,۰۲۸	ed	۰,۰۰۲	±	۰,۰۰۵	c	۰,۱۲۱	±	۱,۱۷۸
نمک ۳۵۰، آسکوربات و ژیرلین ۴۰۰	a	۰,۰۰۲	±	۰,۰۳۴	e	۰,۰۰۱	±	۰,۰۰۳	b	۰,۰۵۴	±	۱,۴۰۶

اثر تیمارهای مختلف نمک،آسکوربات و ژیبرلین بر میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز و ترکیبات فنلی

پلی فنل اکسیداز: تغییرات میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در تیمارهای مختلف نمک و آسکوربات و ژیبرلین و نیز آب مقطر (شاهد) در جدول ٤ نشان داده شده است. کمترین فعالیت آنزیم در آب مقطر (شاهد) مشاهده شد. بین تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌داری دیده نشد (جدول ٤).

ترکیبات فنلی: میزان ترکیبات فنل دانه رست جو تحت تیمارهای مختلف نمک و آسکوربات و ژیبرلین قرار گرفت. بیشترین میزان ترکیبات فنلی در شاهد (آب مقطر) و کمترین مقدار در تیمار نمک ۳۵۰mM دیده شد). در غلظت‌های ترکیبی نمک ۱۵۰mM و آسکوربات با غلظت‌های مختلف ژیبرلین (۴۰۰ppm و ۲۰۰) در مقایسه با نمک ۱۵۰mM تفاوت معنی‌داری دیده نمی‌شود، ولی در غلظت ترکیبی نمک ۳۵۰mM و آسکوربات و ژیبرلین ۴۰۰ppm محتوای ترکیبات فنلی نسبت به نمک ۳۵۰mM افزایش معنی‌داری دارد (جدول ٤).

جدول ٤: اثر مقادیر مختلف نمک کلرید سدیم (۱۵۰ و۳۵۰ میلی مولار)، آسکوربات ۱ میلی مولار و ژیبرلین ۲۰۰ppm و ٤۰۰ برفعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی پلی فنل اکسیداز ($ODmin^{-1}g^{-1}FW$) و ترکیبات فنلی ($mg\ g^{-1}\ FW$)

(SE=خطای استاندارد، حروف مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی دارو حروف نا مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح $p<0.05$)

تیمار	پلی فنل اکسیداز				ترکیبات فنلی			
	حروف	SE	±	میانگین	حروف	SE	±	میانگین
آب مقطر	c	۰,۰۰٦	±	۰,۰۳٦	a	۰,۰۲۰	±	۲,٤۸۳
نمک ۱۵۰	ab	۰,۰۰۱	±	۰,۱۲۳	d	۰,۱۱۱	±	۰,۵۲۷
نمک ۳۵۰	ab	۰,۰۰۳	±	۰,۱۲۵	d	۰,۰۷۳	±	۰,٤۷۷
نمک ۱۵۰ و آسکوربات	a	۰,۰۰۳	±	۰,۱۳۵	c	۰,۱۵۷	±	۰,۹۳۰
نمک ۱۵۰، آسکوربات و ژیرلین ۲۰۰	ab	۰,۰۰۷	±	۰,۱۲۷	b	۰,۰۱۵	±	۱,۰۸۷
نمک ۱۵۰، آسکوربات و ژیرلین ٤۰۰	a	۰,۰۰٤	±	۰,۱۳٤	c	۰,۰۹۲	±	۱,۰٤۰
نمک ۳۵۰ و آسکوربات	a	۰,۰۰۹	±	۰,۱۳۲	c	۰,۱۳۹	±	۰,۷۹۷
نمک ۳۵۰، آسکوربات و ژیرلین ۲۰۰	b	۰,۰۰۵	±	۰,۱۱۵	c	۰,۰٤۰	±	۰,۷۱۰
نمک ۳۵۰، آسکوربات و ژیرلین ٤۰۰	ab	۰,۰۰۱	±	۰,۱۲۷	b	۰,۳۲۹	±	۱,۲۹۷

بحث

تنش شوری یک عامل مهم محیطی می‌باشد که رشد و تولید گیاه را محدود می‌کند. اثرات زیانبار شوری بر گیاهان یا به صورت مرگ گیاه یا به صورت کاهش رشد مشخص شده است (Allakhverdies et al., 2000). گیاهانی که در معرض تنش شوری قرار می‌گیرند دستخوش تغییرات متابولیسمی و فیزیولوژیکی می‌گردند. توانایی گیاهان در مقاومت به تنش شوری شامل تجمع انتخابی یون‌ها و خروج و دفع آنها، کنترل جذب توسط ریشه و انتقال آن به برگها می‌باشد؛ کده‌بندی یون‌ها در سطح سلولی و گیاه، سنتز متابولیت‌های سازگار (اسمولیت‌ها)، تغییر در مسیر فتوسنتزی و القاء هورمون‌های گیاهی می‌باشد (Chavan and Karadge, 1986).

تحقیقات نشان داده است که تنش شوری منجر به کاهش جوانه‌زنی می‌گردد. مشخص شده است که در تنش‌های محیطی نظیر شوری ثبات سلولی مختل شده و انواع اکسیژن فعال (ROS) تولید می‌گردد. در فیزیولوژی دانه، ROS اصولاً به عنوان مولکول سمی تلقی شده که تجمع آن منجر به آسیب سلولی و اختلال در نمو دانه و یا فرایند جوانه‌زنی می‌شود (Bais et al., 2003). دیده شده است که تحت تنش شوری، سیستم‌های آنتی اکسیدانی کارایی کافی نداشته و منجر به کاهش جوانه‌زنی و حتی مرگ دانه می‌شود (Asada, 1997).

اسید آسکوربیک با از بین بردن انواع اکسیژن فعال به جوانه‌زنی و در نتیجه گیاه کمک می‌کند (Ogawa &Iwabuchi 2001). آسکوربات باعث تولید مجدد توکوفرول از طریق رادیکال‌های توکوفروکسیل می‌شود و به این ترتیب از غشاء حمایت کرده و این امر موجب بهبود جوانه‌زنی می‌شود (Thomas et al., 1992).

Paleg در ۱۹٦۱ گزارش کرد که تیمار با ژیبرلین، جوانه‌زنی دانه جو را افزایش می‌دهد. همچنین ژیبرلین، مانع مکانیکی ایجاد شده به وسیله آلورون و پوسته را برطرف می‌کند و پتانسیل رشد رویان را افزایش می‌دهد (Ogawa & Iwabuchi, 2001). اسید ژیبرلیک در سست شدن دیواره سلولی مورد نیاز برای طویل شدن سلول و گسترش ریشه چه دخالت دارد (Gallardo, 2002).

جوانه‌زنی با جذب آب توسط دانه خشک آغاز می‌شود. این مسئله بخصوص به هنگام تخریب لایه‌های پوششی و ظهور ریشه چه به حداکثر میزان خود می‌رسد. ایجاد ریشه چه و برآمده شدن آن در تکمیل جوانه‌زنی دانه بستگی به رشد جنین که توسط جذب آب صورت گرفته دارد. جذب آب، کاتابولیسم و سرانجام مرحله آنابولیسم منجر به بیرون‌زدگی

ریشه‌چه می‌شود. پیدایش ریشه چه، پایان جوانه‌زنی و نقطه شروع دانه رست به حساب می‌آید. اختلال در هر یک از این مراحل منجر به عدم جوانه‌زنی می‌شود (Bogatek et al, 2003).

تحقیقات نشان داده است که طی استرس شوری انواع فعال اکسیژن تولید گشته که خسارت‌های فراوانی به گیاه وارد می‌کند. در نتیجه تولید گونه‌های فعال اکسیژن مسیرهای مختلفی در گیاهان وجود دارد که منجر به سنتز متابولیت‌های فعال اسمزی، پروتئین‌های مخصوص و آنزیم‌های حذف رادیکال‌های آزاد می‌شود. (Amor et al, 2005)

گیاه برای اینکه بتواند با استرس شوری مقابله کند، سیستم‌های آنتی اکسیدانی مختلفی را بکار می‌گیرد. آسکوربات یکی از آنتی‌اکسیدان‌های قوی می‌باشد که در اکثر سلول‌های گیاهی و اندامک‌هایی نظیر کلروپلاست و آپوپلاست وجود دارد (Detullio, 2000). همانطور که در این تحقیق مشخص شد فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز در حضور نمک افزایش یافت و با کمک آسکوربات و ژیبرلین کاهش یافت. تحقیقات نشان داده است که آسکوربات به طور مستقیم رادیکال‌های سوپراکسید، هیدروکسیل و اکسیژن فعال را از بین برده و پراکسید هیدروژن را از طریق فعل و انفعال با آسکوربات پراکسیداز به آب احیا می‌کند (Noctor and Foyer, 1998) مشخص شده است که آسکوربات با از بین بردن انواع فعال اکسیژن، مقاومت گیاه را به شوری افزایش می‌دهد و باعث تعدیل فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی می‌گردد (Smirnoff, 2000) در این تحقیق مشخص شد که فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز در حضور نمک کاهش یافت و با کمک آسکوربات فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی تعدیل شد.

نتایج این تحقیق نشان داد که که محتوای ترکیبات فنلی در تیمارهایی که تحت استرس شوری کلرید سدیم (۳۵۰mM و ۱۵۰) بودند کاهش یافت همچنین مشخص شد که در حضور آسکوربات و ژیبرلین میزان ترکیبات فنلی روند صعودی را طی نمود. ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها نقش‌های فیزیولوژیکی و اکولوژیکی مهمی را ایفا می‌کنند. یکی از این نقش‌ها، مقاومت در برابر استرس‌ها است. ترکیبات فنلی متابولیت‌های ثانویه گوناگونی هستند (فلاورنوئیدها، تانن‌ها، استری‌های هیدروکسی نامات و لیگنین) که در بافت‌های گیاهی فراوان هستند پلی فنل ها دارای ساختار شیمیایی مناسب جهت فعالیت حذف رادیکالهای آزاد هستند و مشخص شده است که اکسیدان‌های موثرتری در *in vitro* نسبت به توکوفرول ها و اسید آسکوربیک می‌باشد (Thomas, 1992).

Ali and Abbas در ۲۰۰۳ گزارش کردند که تنش شوری در دانه‌رست‌های جو سبب کاهش ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها و کاهش رشد می‌شود.

اخیراً ری دوکس هایی که در آن ترکیبات فنلی با اسید آسکوربیک در سیستم پراکسید - پراکسید هیدروژن جفت شده و همراه هستند شناسایی شده است. هم اسید آسکوربیک و هم اسید مونو دهیدرواسید آسکوربیک می‌توانند رادیکال‌های فنوکسی را که توسط اکسیداسیون ایجاد شده احیاء کنند. اگر اسید آسکوربیک در سیتوزول تولید شود و به واکوئل برگردد سیستم اسید آسکوربیک/ فنولیک/ پراکسیداز می‌تواند در واکوئل عمل کرده و پراکسید هیدروژن را از بین ببرد (Thomas, 1992).

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این تحقیق نشان داد که تعامل آسکوربات و ژیبرلین به شکل اگزوژن سمیت ناشی از نمک کلرید سدیم را بر جوانه‌زنی دانه و رشد دانه رست جو را به طور چشمگیری کاهش می‌دهد. به نظر می‌رسد یکی از علل بهبود رشد در حضور آسکوربات تحت شرایط تنش شوری، کاهش انواع اکسیژن فعال می‌باشد و در حضور ژیبرلین سست شدن دیواره سلولی مورد نیاز برای طویل شدن سلول و گسترش ریشه‌چه فراهم می‌گردد. همچنین در اثر میان‌کنش اسید آسکوربیک و ژیبرلین فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و نیز ترکیبات فنلی به عنوان یک ترکیب آنتی اکسیدانی جهت حذف رادیکال‌های سمی مهیا می‌گردد.

References

Ali, R.M andAbass, H.M. (2003). Response of salt stressed barly seedling to phenylurea.Plant Soil Enviroment, 49(4):158-162

Allakhverdiev, S.I., Sakamoto, A., Nishiyama, y., Inaba, Murata, N. (1994) Ionic and osmotic effects of NaCl-Induced inactivationof photosystems I and II in Synechociccus sp. Plant Physiology. 123, 1047-1056.

Amor, N.B., Hamed, K.B., Debez, A., Grignon, C., Abdelly, C.,(2005). Physiological and antioxidant responses of the perennial halophyte Crithmum maritimum to salinity. Plant Science 168, 889–899

Arrigoni, O. (1994) Ascorbate system in plant development. Journal of Bioenergy. Biomember. 26, 407-419.

Asada, K., (1997) The role of ascorbate peroxidase and monodehydroascorbate reductase in H_2O_2 scavenging in plants. In Scandalios, J.G. (Ed.), Oxidative Stress and the Molecular Biology of Antioxidant Defense , Monograph Series, vol. 34. Cold spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, pp. 27, 273-278.

Bais, H.P., Vepechedu. R., Gilory, S. callaway. R. M. and Vivanco. J. M. (2003) Allelopathy and exotic plant invasion: from molecules and genes to species interaction. Science. 301: 1377-1380.

Bar, G. (2003) Ascorbic acid and aging. In J. R. Harris, Ascorbic acid Biochemistry and Biomodical cell biology, Plenum Press, New York, pp. 157-188.

Bogatek, R., Come, D., Corbineau, F., Ranjan, R. and lewak, S. (2003). Jasmonic acid effects dormancy and sugar catabolism in germinating apple embryos. Plant physiology and Biochemistry 40, 167-173

Chance, B., and Maehly, C. (1995). Assay ctalase and peroxidase. Methods enzymology. 11, 764-775.

Detullio, MC., Paciolla, C., Dalla Vecchia, F., Rascio., N, D'Emerco, S., De Gara, L., Liso, R., Arrigoni, O. (1999) Changes in onion root development induced by the inhibition of the ascorbate system on cell division and elongation. Planta. 209, 424-434.

Frantz, J.M., and Bugbce, B. (2002) Anaerobic conditions imprive germination of a gibberellic acid deficient rice. Crop Science. 42: 651-654.

Goldthwaite, J.J., and Laetsch, W.M. (1968) Control of senescence in Rumex leaf discs by gibberllic acid. Plant physiology, 43: 1855-1858.

Gulzar, S. (2002) Effect of salinity on germination, dormancy, growth, and smoregulation of perennial halophytes. Ph.D dissertation University of Karachi, Pakistan.

Honda, I., Sudo, K., Iwasahi, S., Yanagisawa, T., Yamagichi, I., Kato, H., Ikeda, H., and Takhashi, N. (1996) Characterization of end ogenus gibberellins in dwarf rice mutants. Bioscience. Biotechnology. Biochemistry. 60: 2073-2075.

Koroi, S.A. (1989) Gel elektrophers tische and spectrophotometris chose unter unchngen zomein fiuss der temperature auf straktur and peroxidase isoinzyme, Physiology Veg 20, 15-23.

Khan, M.A., Gul, B., (2005) Halophyte seed germination In: Khan, M.A., Manoranjan Kar and Dina Bandhu.

Manoranjan Kar and Dina Bandhu Mishra.(1976). Ctalase ,peroxidase and poly phenol oxidase activites during rice leaf senescence.Plant Biochemistry and Enzymology ,57,pp.315-319

Mishra, (1976) Catalase, peroxidase and polyphenol oxidase actives during rice leaf senescence. Plant Biochemistry and Enzymology. 57, 315-319.

Noctor, G., and Foyer, CH. (1998) Ascorbate and glutath ione: keeping active oxygen under control. Annual Review of Plant

Ogawa, K., Iwabuchi, M., (2001) A mechanism of promoting the germination of zinnia elegans seeds by hydrogen peroxide. Plant, Cell and Physiology. 2, 286-291.

Parida, A.K., Das, A.B., Mittra, B., (2004) Effects of salt on growth, ion accumulation photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove, Bruguiera parviflora. Trees-struct. Funct. 18, 167-174.

Paleg, L.G. (1961) Physiological effects of gibberellic acid. III. bservations on its mode action on barley endosperm. Plant Physiology. 829-837.

Potters, G., De Gara, L, Asard, H., Horemans, N. (2002) Ascorbate and wtathiine: yurdians of the cell cycle, partners in crime. Pant physioloy and Biochemistty. 40: 537-548.

Singh, S. and Ram, T. (1997) Growth response of diverse rice genotypes to exogenous applicastion of GA3. Int. Rice Res. Notes. 22-31.

Smirnoff, N., Conklin PL., Loewus, FA. (2001) Biosynthesis of ascorbic acid in plants: a renaissance. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 52, 437-467.

Smirnoff N. (200). Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-facitted molecule. Current Opinion in Plant Biology. 3, 229-235.

Shirazi, M.V., khanzade, B., khan, M.A., and Ali, M. (2001) Growth and ion accumulation in some wheat genotype under NaCl stress. Biologucal science. 4(4) 388-391.

Tipir damaz, R. and Gomurgen, A.N. (2000) The effect of temperature and gibberellic acid on germination of *Eranthis hyemalis* (L.) salisb. Seeds. Turk Journal Botany. 24, 143-145.

Thomas, C.E., Mclean, L.R., Parker, R.A., Ohlweiler, D.F. (1992). Ascorbate and phenolic antioxidant interactions in prevention of liposomal oxidation Lipids. 27, 543-550.

Vandekerckhove, J.N.D., and Job, D. (2002) Proteomics of Arabidopsis seed germination, a comparative study of wild type and gibberellin-deficient seeds. Plant Physiology. 129, 823-837.

Effect of salt, gibberellin and ascorbate on germination growth and anti oxidant system in Barely (*Hordeum vulgare* L.) seedling

Niakan, M[1]., Rashidzadeh, V[1]., Norinia, A.A[2].

1. Islamic Azad University, Gorgan Branch, Iran
2. Agricultural and Natural Research Center of Golestan Province, Gorgan-Iran

Abstract

In different stress such as salinity, strong oxidant as reactive oxygen species is produced that damages to membrane structure in plant. Different antioxidant as ascorbate scavenger them. Between hormone, gibberellic acid has different roles that depend to king of gibberellin, density and plant space. In this research Hordeum (4222) treated to ascorbate (1mm), gibberellin (200 and 400ppm) and NaCl (150, 350mm) and the effect of them on germination percentage, radicle lenght and antioxidant enzymes such as catalase, peroxidase,poly phenol oxidase, ascorbate peroxidase and phenolic compounds was evaluated. The result of this research showed that in present of NaCl germination decreased but in NaCl and Ascorbate and Gibberellin germination and radicle length increased significanty. Also in absence of ascorbate and gibberellin and present of NaCl activity of catalase, peroxidase decreased but activity of poly phenoloxidase and ascorbate peroxidase increased. Also NaCl cause decreased phenolic compounds in barley seedling but by increasing ascorbate and gibberellin the content of them increased.

Keyword: Ascorbate, Gibberellin, Antioxidant Enzyme, Phenolic, Growth, Compounds, salt, *Hordeum vulgare* L.