مجله پژوهش‌های به زراعی
جلد۱۶ ، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۳

مجله پژوهش های به زراعی

اثر محلول پاشی کودهای سیلیسی بر میزان مالون دی آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان گیاه دارویی همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) در شرایط تنش شوری

لیلا آریا فر[۱]، علیرضا لادن مقدم[۲]، علیرضا پازکی[۳]*

۱-دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه باغبانی – گیاهان دارویی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲-دانشیار گروه علوم باغبانی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران

۳- دانشیار، مرکز تحقیقات اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی و دارویی، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۹/۱۹ **تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۱۶**

چکیده

به منظور بررسی اثر محلول پاشی کودهای سیلیسی بر میزان مالون دی آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان گیاه دارویی همیشه بهار (***Calendula officinalis* L.**) در شرایط تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۱۳۹۶ با چهار سطح شوری (۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار **NaCl**) و سه سطح سیلیسیم (۰، ۰/۳ و ۰/۶ میلی‌لیتر در لیتر سیلامول) از منبع سیلامول با سه تکرار در گلخانه کلینیک گل و گیاه شهرداری منطقه ۲۱ تهران انجام شد. نتایج تحقیق نشان داد، مقدار مالون دی آلدئید تا سطح شوری ۳۰ میلی‌مولار تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت ولی با افزایش میزان شوری تا ۶۰ میلی مولار افزایش معنی‌داری در این بیومارکر تخریب حاصل گردید. اثر مصرف سیلامول نیز بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و بیومارکر تخریب مالون دی آلدئید معنی-دار بود. اثرات متقابل شوری و سیلیس تنها بر میزان مالون دی آلدئید معنی‌دار بود. بر اساس یافته‌های تحقیق می توان اظهار داشت که در مناطق تحت تنش شوری می‌توان با مصرف سیلامول کاشت این گیاه دارویی را توصیه نمود.

واژه‌های کلیدی: شوری، سیلیسیم، همیشه بهار، آنزیم‌های آنتی اکسیدان، بیومارکر تخریب

*نگارنده مسئول (alireza_pazoki@iau.ac.ir)

مقدمه

تنش شوری از مهمترین تنش‌های محیطی است که تأثیر قابل توجهی بر بسیاری از ویژگی‌های ظاهری و همچنین صفات فیزیولوژیک گیاهان دارد و با تأثیر منفی بر رشد و نمو گیاهان، عملکرد و کیفیت نهایی محصول را تحت تأثیر قرار می دهد (آزاد و همکاران، ۱۳۹۷).

ایران با دارا بودن اقلیم‌گرم و خشک از این امر مستثنا نبوده، به نحوی که بیش از نیمی از زمین‌های قابل کشت در آن (حدود۲۷میلیون هکتار از خاک‌های شور و سدیمی تشکیل‌شده است (Rezvani Moghaddam & Koocheki, 2001). آسیب اسمزی، تنش شوری طریق از القای تنش اسمزی، آسیب-های اکسیداتیو و سمیت یونی باعث آسیب به گیاه می شود. در حقیقت شوری خود ترکیبی از ۲ تنش اسمزی و یونی است که منجر به تنش ثانویه ای به نام تنش اکسیداتیو می گردد (Siringam *et al.*, 2011) .

راهکارهای مختلف بیوشیمیایی و فیزیولوژی گیاهان برای مقابله با شوری شامل تجمع و خروج انتخابی یون‌ها، کنترل جذب یون‌ها از ریشه و انتقال آن‌ها به برگ‌ها، جایگزینی ویژه یون‌ها در سطح سلول و در کل گیاه، سنتز مواد سازگار، تغییر در مسیر فتوسنتزی، تغییر در ساختار غشایی، تولید آنزیم آنتی های اکسیدان و تولید هورمون‌های گیاهی هستند (Ashraf & McNielly, 2004).

گونه‌های فعال اکسیژن به دلیل داشتن الکترون‌های جفت نشده در اربیتال‌های خود، از میل ترکیبی بسیار بالایی با مولکول‌های زیستی سلول برخوردار می باشند. رادیکال‌های حاصل از احیا ناقص اکسیژن مولکول‌های زیستی که پیشساز متابولیت‌های ضروری متابولیسم می باشند، را هدف قرار داده و به این ترتیب مانع سنتز آن‌ها میشوند. علاوه ماکرومولکول‌های حیاتی سلول نظیر اسید نوکلئیک، پروتئین‌ها و لیپیدها مورد حمله انواع اکسیژن فعال قرار گرفته و به ترتیب

سبب ایجاد موتاسیون در DNA، تغییرماهیت پروتئین‌ها و آسیب به غشاها می شوند. گونه‌های فعال اکسیژن در حالت عادی به میزان کم نیز در گیاهان ایجاد می شود و انواع مختلف نزیم‌می نقش ایفای مراتب به نیز اکسیدان آنتی های‌کنند (Gaber, 2010). پراکسیداز(POX)، کاتالاز (CAT) و سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) از مهمترین آنزیم‌های آنتی اکسیدان هستند حفظ برای مهمی بسیار نقش که هستند که نقش بسیار مهمی برای حفظ سلول در برابر صدمات حاصل از گونه‌های فعال اکسیژن‌ها دارند و در شرایط تنش شوری فعالیت آنزیم‌های مذکور در لوبیا را را افزایش دادند (Gupta *et al.*, 2005). همیشه بهار با نام علمی (*Calendula officinalis* L.) گیاهـــی بوته ای و یکساله از خانواده کاسنی (Asteraceae) بومی مناطق مدیترانه است (Rahemi Kahrizaki *et al.*, 2018). اثرهای ضد ویروسی، ضدتوموری،آنتی موتاژنی، آنتی اکسیدانی گل‌های همیشه بهار مشخص شده است، به طوری که در حال حاضر یکی از مهمترین کاربـردهای آن درمـان التهاب هـای پوستی است (Hormozinejad *et al.*, 2018).

همچنین گل‌های همیشه بهار دارای روغن‌ّهای فرار (اسانس‌ها)، ترکیب‌های فنلی، فلاونوئیدها، اسیدهای چرب، ویتامین E، سزکویی ترپن‌ها، گلیکوزیدها، ساپونین‌ها، زانتوفیل‌ها، تریول ترپن‌ها و ماده ای به نام کالندولین می باشد (Gazim *et al.*, 2008).

سیلیسیم به عنوان عنصری که به طور موثر باعث کاهش انواع تنش‌ها از قبیل سمیت عناصر، شوری، خشکی و سرمازدگی می شود، شناخته شده است. نقش‌های متعدد را به سیلیسیم مرتبط دانسته اند، از جمله بهبود عدم توازن مواد غذایی، کاهش سمیت مواد معدنی، بهبود خصوصیات مکانیکی بافت‌های گیاهی و افزایش مقاومت تنش‌های زنده و غیر زنده به نظر می رسد اثرات مفید سیلیسیم تحت شرایط مطلوب چندان چشمگیر نبوده و تنها زمانی که گیاهان در معرض تنش هستند اثرات سودمند سیلیسیم مشاهده می شود (طباطبایی، ۱۳۸۸).

سیلیسیم با افزایش کارایی مصرف آب و بهبود محتوای رطوبت نسبی برگ در شرایط شوری، باعث افزایش فشار تورژسانس و افزایش اندازه برگ می‌شود. فتوسنتز گیاه نیز، با حضور سیلیسیم افزایش می‌یابد که منجر به افزایش تعداد برگ و افزایش سطح برگ گیاه می‌گردد (Kaya *et al*; 2006).

آزمایش انجام شده در یک مزرعه بر روی سورگوم (*Sorghum bicolor* L.) با سه سطح خاک سیلیسی و سه سطح‌شوری، شاخص پایداری‌غشاء (MSI)، محتوای نسبی آب (RWC)، پرولین برگ، قند محلول، فعالیت آنتی اکسیدانی، مجموع فنل و تراکم ماده خشک مورد سنجش قرارگرفتند که نتایج نشان داد، غلظت پرولین برگ، فعالیت آسکوربات پراکسیداز (APX) و گلوتاتیون ردکتاز (GR)، غلظت یون سدیم به طور معنی داری فقط در سطوح بالای شوری افزایش یافت، اما RWC و تراکم ماده خشک در تمام سطوح شوری افزایش یافته بودند. کاربرد ۱/۴۴g/kgسیلیس سبب افزایش فعالیت APX، کاتالازCAT، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (PRO)، گلوتاتیون ردکتاز (GR)، مجموع آنتی اکسیدان‌ها و مجموع فنل‌ها گردید و کاربرد ۱/۹۲ g/kg سیلیس سبب افزایش شاخص پایداری غشاء، قند محلول و مجموع غلظت فنل، CAT ، SOD و مجموع فعالیت آنتی اکسیدان‌ها شد (kafi *et al*; 2011). سیلیسیم طریق افزایش آنزیم‌های آنتی اکسـیدان، کلروفیل و سطح برگ، رشد و عملکرد گیاه در شرایط تنش شوری از بافت‌های گیاهی محافظت می کند (سید لر فاطمی و همکاران، ۱۳۹۸).

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر محلول پاشی کودهای سیلیسی بر میزان مالون دی آلدئید و آنزیم‌های آنتی اکسیدان گیاه دارویی همیشه بهار (***Calendula officinalis* L.**) در شرایط تنش شوری آزمایشی در سال ۱۳۹۲ در گلخانه کلینیک گل و گیاه شهرداری منطقه ۲۱ واقع در کیلومتر ۵ جاده مخصوص کرج (تهرانسر) به اجراء درآمد.

مراحل آماده‌سازی بستر و مشخصات

بستر کاشت

خاک بستر مخلوطی به نسبت یک سوم ماسه، یک سوم کود دامی کاملا پوسیده و یک سوم خاک زراعی بود که توسط قارچ‌کش بنومیل دو در هزار ضد عفونی و پس از مدت ده روز، در گلدان‌های پلاستیکی به ابعاد ۴۰×۴۰ قرار گرفت.

طرح آزمایشی مورد استفاده به صورت فاکتوریل در قالب کاملاً تصادفی در ۳ تکرار و۱۲ تیمار انجام پذیرفت که در آن عوامل آزمایشی به شرح ذیل بودند:

الف-محلول نمک طعام (NaCL) در ۴ سطح غلظت شامل: صفر میلی‌مولار به عنوان شاهد از طریق آب مقطر(S1)، ۳۰ میلی‌مولار (S2)، ۶۰ میلی‌مولار (S3) و ۹۰ میلی‌مولار (S4)

ب- محلول‌های سیلیسی سیلامول در ۳ سطح غلظت شامل: صفر میلی‌مولار به عنوان شاهد (C1)، ۰/۳ میلی‌لیتر در لیتر (C2)، ۰/۶ میلی‌لیتر در لیتر (C3)

تهیه و کاشت بذر

بذر گل همیشه بهار خالص از شرکت آرتان گل با خلوص۹۷ درصد و قوه نامیه ۹۰ درصد تهیه گردید و با توجه به فواصل کاشت در هر گلدان ۱۰ عدد بذر با احتساب اینکه درجه خلوص و قوه نامیه کمتر از ۱۰۰ درصد بود به عنوان جبران کمبود در نظر گرفته شد. بذور با فواصل مساوی در سطح هر گلدان جای داده شد و سپس بر روی آن‌ها ۰/۵ سانتی‌متر کود دامی کاملا پوسیده ریخته شد.

محلول‌پاشی سیلامول هر ۱۴روز یک‌بار (براساس بروشور شرکت) دو هفته قبل از گلدهی (۵۰ روز پس از کاشت) انجام شد. مرحله دوم محلول پاشی ۶۴ روز پس از کاشت و مرحله سوم ۷۸ روز پس از کاشت انجام پذیرفت. اعمال تیمارهای شوری با غلظت‌های ذکر شده ۵۲ روز پس از کاشت و به مدت ۶۸ روز انجام گردید و برداشت نمونه ۴ ماه پس از کاشت صورت پذیرفت شد. آبیاری تمامی گلدان‌ها به طور یکسان (۲۵۰ میلی‌لیتر در هر نوبت) بر حسب نیاز گیاه با آب مقطر انجام شد.

محلول پاشی سیلامول توسط سمپاش دستی به نحوی بود که محلول به صورت شبنم روی گیاه قرار گیرد و از ریزش بر روی سطح خاک گلدان جلوگیری شود. همچنین فاصله محلول پاشی از سطح گیاه ۲۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد.

در این پژوهش پس ازگذشت ۱۲۰ روز از کاشت بذور و ۳ مرحله محلول پاشی سیلامول و طی نمودن ۶۸ روز از زمان اولین اعمال شوری، تعداد ۴ نمونه از هر گلدان جهت سنجش پارامترهای مختلف برداشت گردید.

فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)

سنجش فعالیت SOD براساس روش Minami & Yoshikawa (1979) انجام پذیرفت. محلول واکنش شامل بافر تریس pH 8.2 به همراه ۰/۱ میلی‌مول EDTA، مقدار ۱/۴۲٪ Triton، و ۰/۰۵ میلی‌مولار نیترو بلو تترازولیم (NBT) و پیرو گالول بود که به ۲ میلی‌لیتر از این محلول برای انجام واکنش ۱۰۰ میکرولیتر عصاره بافت اضافه گردید و در حرارت آزمایشگاه بعد از یک دقیقه تغییر جذب نوری آن در ۵۲۰ نانومتر با اسپکترومتر اندازه گیری و بر اساس منحنی استاندارد، مقدار فعالیت آنزیم مشخص گردید.

فعالیت کاتالاز (CAT)

براساس میزان تجزیه آب اکسیژنه طبق روش Aeby, 1984 انجام گرفت. بدین منظور محلول واکنش شامل ۱۰۰ میلی‌مول بافر فسفات پتاسیم، ۱۵ میلی‌مول آب اکسیژنه بود که پس از اضافه کردن عصاره نمونه بافت، تغییر جذب در اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۴۰ نانو متر ارزیابی گردید.

فعالیت پراکسیداز (POD)

محلول شامل فسفات پتاسیم (۱میلی‌مول pH=7.5) و ۰/۳۶ میلی‌مول EDTA به همراه ۹/۹ میلی‌مول ایزو اسکوربات بود. فعالیت آنزیم در محلول واکنش شامل بافر فسفات سدیم (۲۰۰میلی‌مول pH=7.5)، ۰/۱میلی‌مول از NADPH، ۰/۲۵ میلی‌مول گلوتاتیون, ۱/۵ میلی‌مول $MgCL_2$ ، ۰/۲ میلی‌مول EDTA مقدار

۱۰۰میکرولیتر از عصاره آنزیمی اضافه و به مدت ۱ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد میزان جذب در ۳۴۰ nm ارزیابی و براساس منحنی استاندارد , فعالیت آنزیم ارزیابی شد (Fayer,1976).

میزان مالون دی آلدئید (MDA)

با روش Ohkaw (1979) ارزیابی شد. بدین منظور ۰/۲گرم بافت گیاهی (برگ یا ریشه)، به قطعات کوچک تقسیم و با همو ژنایزر در ۲ میلی‌لیتر محلول تری کلرو استیک اسید ۵ درصد در مجاورت یخ هموژن شد. سپس در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه بمدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ و محلول روئی برداشت شد. نیم میلی‌لیتر از این محلول با نیم میلی‌لیتر از محلول تیو باربیتوریک اسید و تری کلرو استیک ۲۰ درصد مخلوط و در ۹۶ درجه سانتی گراد به مدت ۲۵ دقیقه انکوبه شد. سپس در شرایط سرد در ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. جذب محلول روئی در ۵۳۲ نانو متر اندازه گیری شد. از محلول تیو باربیتوریک اسید و تری کلرو استیک ۲۰ درصد به عنوان شاهد استفاده شد. مقدار MDA با استفاده از منحنی استاندارد تعیین گردید.

نتایج و بحث

مالون دی آلدئید

براساس نتایج تجزیه واریانس صفات، سطوح مختلف شوری، مصرف سیلامول و اثرات متقابل آن‌ها میزان مالون دی آلدئید را تحت تأثیر قرار داد و در سطح آماری یک درصد معنی‌دار شد (۱جدول).

طبق نتایج مقایسه میانگین اثرات اصلی میزان مالون دی آلدئید تحت تأثیر سطوح مختلف تنش شوری قرار گرفت. به طوری که بیشترین میزان مالون دی آلدئید با متوسط ۵۳/۸۹ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین مربوط به تیمار ۹۰ میلی‌مولار و کمترین آن با متوسط ۲۱/۷۸ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین متعلق به تیمار شاهد (مصرف آب مقطر) بود. در بین مصرف سطوح مختلف سیلامول نیز بیشترین مقدار مالون دی آلدئید با میانگین ۴۶/۰۸ نانومول بر میلی گرم پروتئین از تیمار مصرف آب مقطر (شاهد) و کمترین آن با متوسط ۲۷/۵۸ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین از تیمار مصرف

۰/۶ میلی‌لیتر در لیتر سیلامول حاصل شد

(جدول ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورد آزمون

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		میزان فعالیت کاتالاز	میزان فعالیت پراکسیداز	میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز	میزان مالون دی الدئید
شوری (S)	۳	۱۹۴۴/۶۲۰**	۲۶/۲۴۲**	۳/۲۲۴^{ns}	۲/۴۲۷ ^{ns}
سیلامول (C)	۲	۱۲۳۷/۰۰۰**	۵۵/۰۵۱**	۶۰/۶۹۱**	۶۵/۳۹۴**
اثر متقابل S ×C	۶	۱۱۱/۳۷۰**	۰/۲۰۹ ^{ns}	۰/۴۲۲$^{n.s}$	۰/۵۱۸^{ns}
خطا (E)	۲۴	۲۹/۸۶۱	۲۶/۷۸۷	۱/۱۲۸	۱/۱۷۸
ضریب تغییرات (درصد)		۱۵/۸۸	۱۷/۳۶	۱۷/۳۰	۱۵/۰۴

s، * و ** به ترتیب غیرمعنی دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر ساده عوامل آزمایشی بر صفات مورد آزمون

عامل	سطوح عامل	میزان مالون دی آلدئید (میکرو مول بر گرم وزن تازه)	میزان فعالیت کاتالاز (واحد بین المللی بر گرم وزن تازه)	میزان فعالیت پراکسیداز (واحد بین المللی بر گرم وزن تازه)	میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (واحد بین المللی برگرم وزن تازه)
شوری (S)	S_1	۲۱/۷۸c	۷/۴a	۶/۴۶a	۶/۷۳c
	S_2	۲۴/۴۴c	۷/۴۷a	۶/۴۶a	۸/۳۰b
	S_3	۳۷/۵۶b	۷/۵۶a	۶/۴۱a	۹/۸۰a
	S_4	۵۳/۸۹a	۷/۴۳a	۵/۲۴b	۱۰/۶۰a
سیلامول (C)					
	C_1	۴۶/۰۸a	۵/۲۸c	۴/۲۸c	۱۱/۲۸a
	C_2	۲۹/۵۸b	۶/۵۵b	۵/۵۰b	۸/۰۷b
	C_3	۲۷/۵۸b	۹/۸۰a	۸/۴۲a	۷/۲۲b

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد می باشد.

براساس نتایج اثرات متقابل صفات بیشترین میزان مالون دی آلدئید با میانگین ۷۴/۳۳ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین متعلق به تیمار سطح شوری ی۹۰ میلی‌مولار به همراه آب مقطر و کمترین میزان آن با متوسط ۱۹ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین مربوط به تیمار مقطر به همراه مصرف ۰/۶ میلی‌لیتر سیلامول بود(جدول ۳).

جدول۳- مقایسه میانگین اثرات متقابل شوری و سیلیس بر صفات مورد آزمون

تیمار	میزان مالون دی آلدئید (میکرو مول بر گرم وزن تازه	میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (واحدبین المللی برگرم وزن تازه)	میزان فعالیت پراکسیداز (واحدبین المللی برگرم وزن تازه)	میزان فعالیت کاتالاز (واحدبین المللی برگرم وزن تازه)
شوری (S)× سیلامول (C)				
S_1C_1	۲۶/۰۰ef	۹/۵۷ bc	۹/۷۳cd	۵/۴۷de
S_1C_2	۲۰/۳۳f	۵/۷۷ ef	۹/۴۴bc	۶/۴۷cde
S_1C_3	۱۹/۰۰f	۴/۸۷ f	۹/۱۷a	۱۰/۲۷ab
S_2C_1	۳۳/۳۳de	۱۰/۶۳ abc	۴/۷۰cd	۵/۷۳de
S_2C_2	۱۹/۶۷f	۷/۷۰cde	۹/۶۷bc	۶/۶۳cde
S_2C_3	۲۰/۳۳f	۶/۵۷def	۹/۰۰a	۱۰/۰۳ab
S_3C_1	۵۰/۶۷b	۱۲/۰۷ab	۴/۴۷cd	۵/۳۳de
S_3C_2	۳۲/۰۰de	۹/۰۳cd	۵/۸۰bc	۶/۸۳cd
S_3C_3	۳۰/۰۰e	۹/۳۰cde	۹/۱۷a	۱۰/۵۰a
S_4C_1	۷۴/۳۳a	۱۲/۸۷a	۳/۴۳d	۴/۶۰e
S_4C_2	۴۶/۳۳bc	۹/۷۷bc	۵/۰۷cd	۶/۲۷de
S_4C_3	۲۰/۳۳f	۹/۱۷cd	۷/۲۳ab	۸/۴۳bc

میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترکند، اختلاف آماری معنی داری در آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

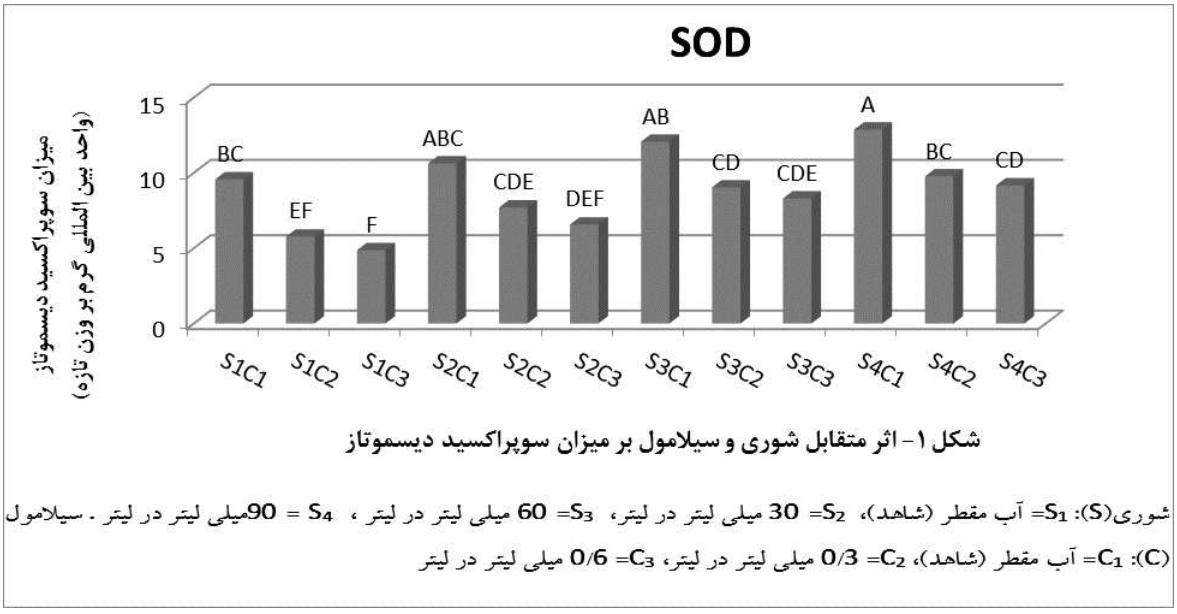
شوری(S): S_1= آب مقطر (شاهد)، S_2= ۳۰ میلی‌لیتر در لیتر، S_3= ۶۰ میلی‌لیتر در لیتر ، S_4 = ۹۰ میلی‌لیتر در لیتر. سیلامول (C): C_1= آب مقطر (شاهد)، C_2= ۰/۳ میلی‌لیتر در لیتر، C_3= ۰/۶ میلی‌لیتر در لیتر

Wang *et al* (2009) افزایش غلظت مالون دی آلدئید را در اندام‌هوایی‌گیاهچه‌های یونجه تحت تنش شوری، گزارش‌کردند که بین کاهش غلظت مالون دی آلدئید و افزایش تحمل به شوری در یونجه همبستگی مستقیم وجود دارد. یکی از اثرات تجمع اکسیژن آزاد

در سلولهای گیاهی در شرایط تنش‌زا، پراکسیداسیون چربی هاست که با اکسیداسیون اسیدهای جرب اشباع نشده همراه بوده و باعث تخریب غشاء و نشت الکترولیت‌ها خواهد شد (liang, 2009).

میزان فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز

براساس نتایج مقایسه میانگین اثرات دوگانه، بیشترین میزان فعالت سوپراکسید دسیموتاز با متوسط ۱۲/۸۷ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین از تیمار سطح شوری ۹۰ میلی‌مولار به همراه آب مقطر و کمترین میزان آن با متوسط ۴/۸۶۷ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین از تیمار مصرف آب مقطر به همراه مصرف ۰/۶ میلی‌لیتر در لیتر سیلامول به دست آمد (شکل ۱).



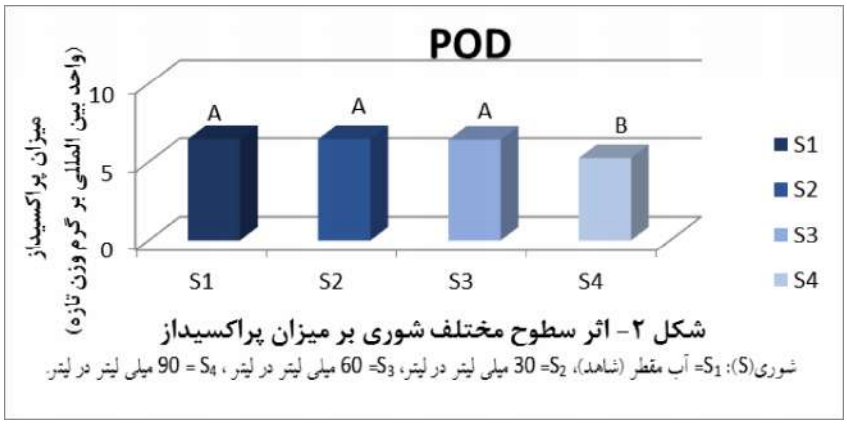
شکل ۱- اثر متقابل شوری و سیلامول بر میزان سوپراکسید دیسموتاز

شوری(S): S_1= آب مقطر (شاهد)، S_2= 30 میلی لیتر در لیتر، S_3= 60 میلی لیتر در لیتر ، S_4 = 90میلی لیتر در لیتر . سیلامول (C): C_1= آب مقطر (شاهد)، C_2= 0/3 میلی لیتر در لیتر، C_3= 0/6 میلی لیتر در لیتر

در شرایط تنش تولید آنتی اکسیدان‌ها بر علیه تنش‌های اکسیداتیو ضروری است و گیاه برای مقابله با تنش مقدار آنتی اکسیدان‌های خود را افزایش می دهد. یکی از اثرات بارز تنش شوری تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن است که بر سلامت سلول‌ها اثر گذاشته و سبب تخریب غشاءهای سلولی و آنزیم‌های حیاتی می شود.گیاهان قادرند با تولید انواع ترکیبات آنزیمی آنتی اکسیدانت نظیر سوپر اکسید دیسمو تاز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، گلوتاتیون ردکتاز وآنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی نظیر کارتنوئید و توکوفرول اقدام به حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن و اثر سمی آن‌ها کنند (Meloni *et al.*, 2003). Kafi *et al* (2011) گزارش کردند که کاربرد ۱/۴۴ g/Kg سیلیس سبب افزایش فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز درگیاه سورگوم تحت تنش شوری شد. همچنین Helal (2006) گزارش کرد کاربرد سیلیکون در گیاه ذرت تحت تنش شوری فعالیتSOD (سوپر اکسید دیسموتاز)راکاهش داد.نتایج این تحقیق با گزارشات Helal (2006) در رابطه با ذرت مطابقت دارد.

میزان فعالیت پراکسیداز

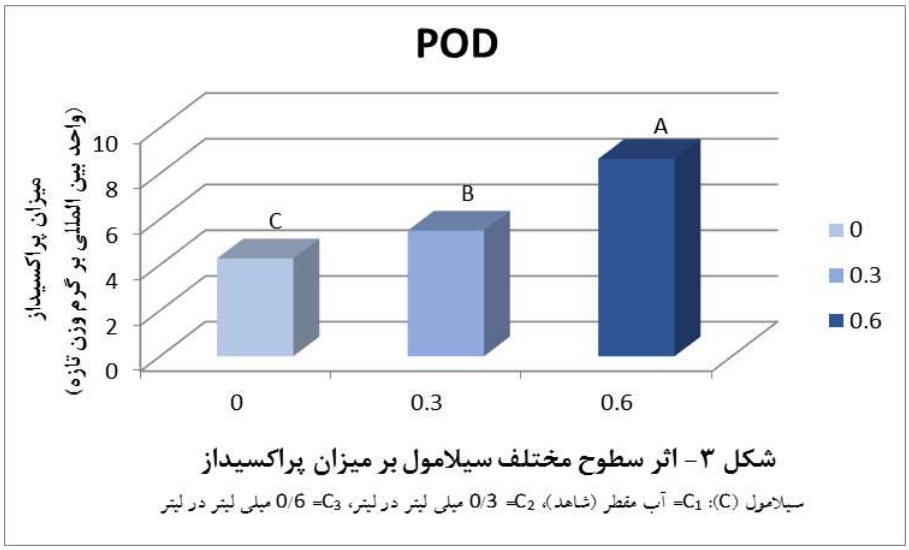
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که میزان پراکسیداز تحت تأثیر مصرف سطوح مختلف سیلامول در سطح آماری یک درصد معنی‌دار شد ولی اثرات سطوح مختلف شوری و همچنین اثرات متقابل دوگانه تیمارهای آزمایشی از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۱). براساس نتایج مقایسه میانگین اثرات اصلی صفات میزان پراکسیداز در تیمار شاهد(مصرف آب مقطر) بیشترین مقدار را به خود اختصاص داده که برابر با ۶/۴۵۶ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین بود و کمترین میزان آن ۵/۲۴۴ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین مربوط به تیمار شوری ۹۰ میلی‌مولار بود.



شکل ۲- اثر سطوح مختلف شوری بر میزان پراکسیداز

شوری(S): S_1= آب مقطر (شاهد)، S_2= 30 میلی لیتر در لیتر، S_3= 60 میلی لیتر در لیتر ، S_4 = 90 میلی لیتر در لیتر.

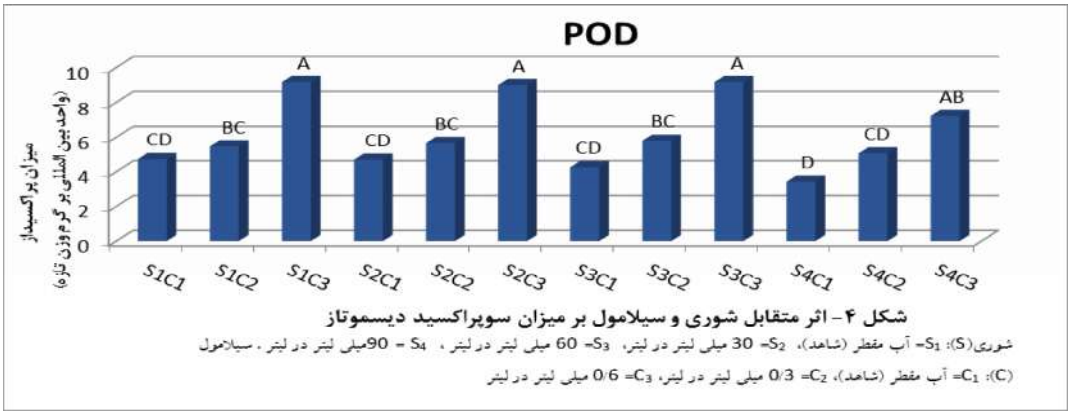
در بین مصرف سطوح مختلف سیلامول نیز بیشترین میزان پراکسیداز با میانگین ۸/۶۴۲ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین از تیمار مصرف ۰/۶ میلی‌لیتر در لیتر سیلامول و کمترین آن با میانگین ۴/۲۸۳ نانومیلی‌گرم بر پروتئین از تیمار مصرف آب مقطر (شاهد) به دست آمد (شکل ۲).



شکل ۳- اثر سطوح مختلف سیلامول بر میزان پراکسیداز

سیلامول (C): C_1= آب مقطر (شاهد)، C_2= 0/3 میلی لیتر در لیتر، C_3= 0/6 میلی لیتر در لیتر

نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که بیشترین میزان پراکسیداز با میانگین ۹/۱۶۷ نانومول بر میلی‌گرم از تیمار سطح شوری ۶۰ میلی‌مولار و مصرف ۰/۶ لیتر سیلامول و کمترین آن با متوسط ۳/۴۳۳ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین از تیمار سطح شوری ۹۰ میلی‌مولار به همراه مصرف آب مقطر حاصل شد (شکل ۴).



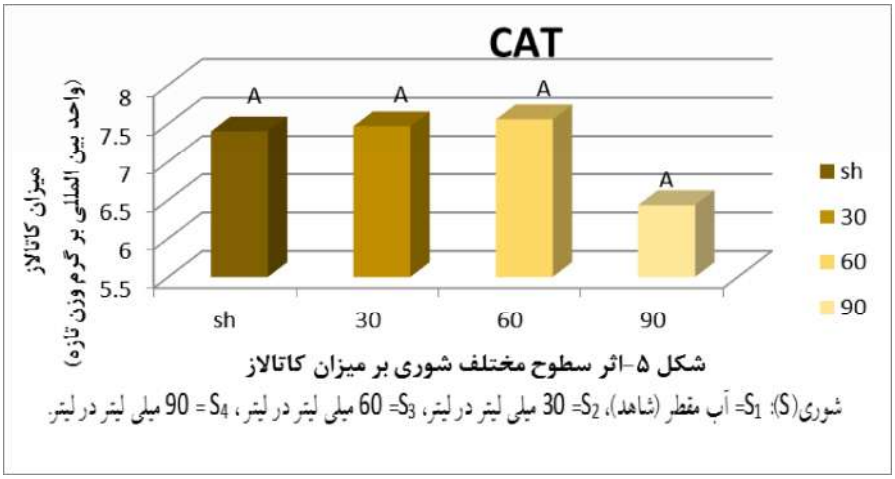
شکل ۴- اثر متقابل شوری و سیلامول بر میزان سوپراکسید دیسموتاز

شوری(S): S_1= آب مقطر (شاهد)، S_2= 30 میلی لیتر در لیتر، S_3= 60 میلی لیتر در لیتر ، S_4 = 90میلی لیتر در لیتر . سیلامول (C): C_1= آب مقطر (شاهد)، C_2= 0/3 میلی لیتر در لیتر، C_3= 0/6 میلی لیتر در لیتر

تنش‌های محیطی با افزایش تولید انواع اکسیژن فعال به بیومولکول‌های حیاتی سلول نظیر لیپیدها، DNA، پروتئین‌ها و برخی نقاط کلیدی آسیب وارد کرده و در نهایت متابولیسم سلول را مختل می نماید. اما سلول‌های گیاهی جهت کاهش اثرات منفی تنش‌های محیطی و انواع اکسیژن فعال تولید شده در سلول از مکانیسم‌های ویژه‌ای برخوردارند که سلول را قادر می سازد تا از تولید عوامل زیان آور پیشگیری کرده و یا آن‌ها را جمع آوری نماید. در واقع سلول سعی دارد تا با استفاده از این مکانیسم‌های دفاعی پتانسیل ردوکس سلول را در حد بالا حفظ کرده و بدین ترتیب سلول در شرایط مطلوب‌تری به سر برد. با اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان نظیر سوپر اکسید دیسموتاز،کاتالاز، گلوتاتیون ردوکتاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیدازها و نیز میزان آنتی اکسیدان‌های سلول مانند نسبت احیاء به اکسید آن‌ها، میتوان پاسخ گیاهان به تنش‌های محیطی را ارزیابی کرد (اسفندیاری و همکاران، ۱۳۸۷). قربانلی و همکاران (۱۳۹۱) گزارش کردند، میزان پراکسیداز در گیاه زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) با افزایش غلظت NaCl افزایش یافت. همچنین Zhujun Zhu *et al* (2004) گزارش نمود سیلیکون به طور معنی‌داری فعالیت آسکوربات پراکسیداز در گیاه خیار (*Cucumis Sativus* L.) که تحت تنش NaCl بود، کاهش داد. سیلیسیم بر فعالیت سوپراکسید دسیموتاز در جو و الی فنولوکسیداز و پراکسیداز در خیار نیز دخالت دارد (ملکوتی و کشاورز، ۱۳۸۵). این تحقیقات با نتایج بدست آمده از این تحقیق مطابقت دارد.

میزان فعالیت کاتالاز

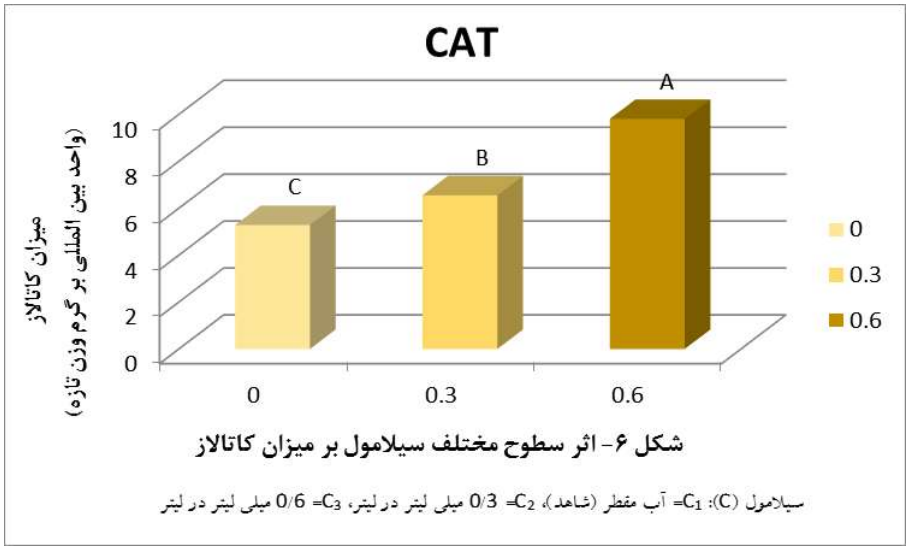
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که میزان فعالیت کاتالاز تحت تأثیر مصرف سطوح مختلف سیلامول در سطح آماری یک درصد معنی‌دار شد ولی اثرات سطوح مختلف شوری و همچنین اثرات متقابل دوگانه تیمارهای آزمایشی از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۱). میزان فعالیت کاتالاز تحت تأثیر چندان سطوح مختلف تنش شوری قرار نگرفت، به نحوی که بیشترین میزان کاتالاز با میانگین ۷/۵۵۶ نانومول بر میلی‌گرم از تیمار سطح شوری ۶۰ میلی‌مولار حاصل شده و کمترین آن با میانگین ۶/۴۳۳ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین از تیمار سطح شوری ۹۰ میلی‌مولار به دست آمد (شکل ۵).



شکل ۵-اثر سطوح مختلف شوری بر میزان کاتالاز

شوری(S): S_1= آب مقطر (شاهد)، S_2= 30 میلی لیتر در لیتر، S_3= 60 میلی لیتر در لیتر، S_4 = 90 میلی لیتر در لیتر

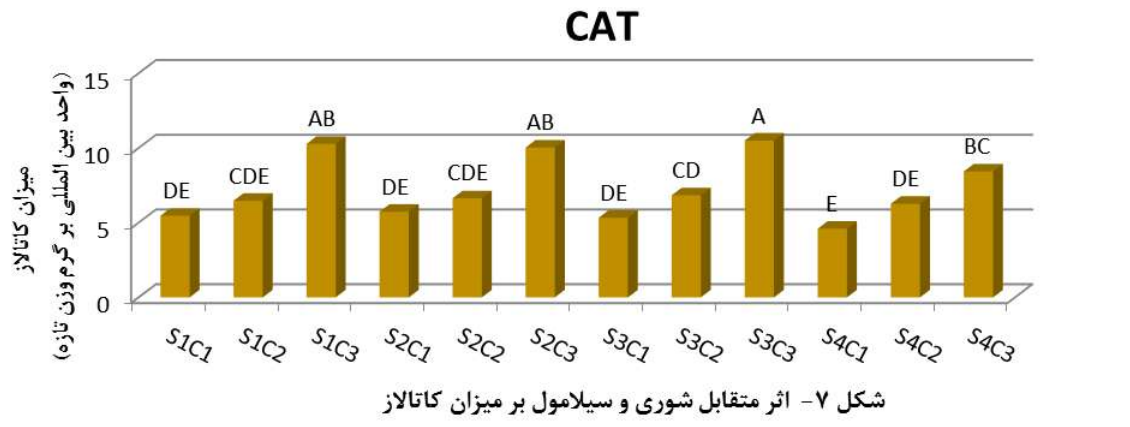
در بین مصرف سطوح مختلف سیلامول بیشترین میزان کاتالاز با متوسط ۹/۸۰۸ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین از تیمار مصرف ۰/۶ میلی‌لیتر در لیتر سیلامول و کمترین آن با متوسط ۵/۲۸۳ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین از تیمار شاهد(مصرف آب مقطر) حاصل شد (شکل ۶)



شکل ۶- اثر سطوح مختلف سیلامول بر میزان کاتالاز

سیلامول (C): C_1= آب مقطر (شاهد)، C_2= 0/3 میلی لیتر در لیتر، C_3= 0/6 میلی لیتر در لیتر

در بین اثرات دو گانه صفات شاهد شده که بیشترین مقدار فعالیت کاتالاز با متوسط ۱۰/۵ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین از تیمار سطح شوری ۶۰ میلی‌مولار به همراه مصرف ۰/۶ میلی‌لیتر در لیتر سیلامول و کمترین آن با میانگین ۴/۶ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین از تیمار سطح شوری ۹۰ میلی‌مولار به همراه مصرف آب مقطر به دست آمد (شکل ۷).



شکل ۷- اثر متقابل شوری و سیلامول بر میزان کاتالاز

شوری(S): S_1= آب مقطر (شاهد)، S_2= 30 میلی لیتر در لیتر، S_3= 60 میلی لیتر در لیتر ، S_4 = 90میلی لیتر در لیتر . سیلامول (C): C_1= آب مقطر (شاهد)، C_2= 0/3 میلی لیتر در لیتر، C_3= 0/6 میلی لیتر در لیتر

قربانعلی و همکاران (۱۳۹۲) همبستگی مثبت و معنی‌داری میان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت پراکسیداز و کاتالاز با مقاومت به شوری ارقام کلزا مشاهده نمودند. اضافه کردن سیلیکون ۳ میلی‌مولار به صورت محلول ،فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه ذرت تحت تنش شوری را کاهش داد (Helal, 2006).

منابع

اسفندیاری، ع.، س. محبوب، و ف. شکاری. ۱۳۸۷. اثرات مخرب انواع اکسیژن فعال، مکانیسم‌های محافظتی گیاه و ضرورت توجه به آن‌ها. دهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران. ص ۱۲۴.

آزاد، م.، م. رستمی، م. قبولی، و ز. موحدی. ۱۳۹۷. برهمکنش تنش شوری و اسید سالیسیلیک بر صفات فیزیولوژیک بالنگو (*Lallemantia royleana*). مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)، ۲: ۲۲۰-۲۰۸.

سیدلرفاطمی، ل.، س.ج. طباطبایی، و ا. فلاحی. ۱۳۸۷. اثر سیلیسیوم بر رشد و عملکرد گیاه توت فرنگی در شرایط تنش شوری. مجله علوم باغبانی(علوم و صنایع کشاورزی)، ۲۳ (۱): ۸۸-۹۵.

طباطبایی، س.ج .۱۳۸۸. اصول تغذیه معدنی گیاهان. انتشارات مؤلف. تبریز. ایران، ۳۲۶ ص.

قربانعلی، م.، آ. ساطعی، و ، آ. مقیسه. ۱۳۹۲. تاثیر مقادیر متفاوت شوری بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و نیترات ردکتاز در ریشه و برگ‌های ارقام کلزا. مجله پژوهشی وسازندگی در زراعت و باغبانی، ۵۸ :۴۳-۳۹.

ملکوتی، م، ج. و پ. کشاورز. ۱۳۸۵. نگرشی برحاصلخیزی خاک‌های ایران (شناسایی‌و بهره برداری)، تهران، انتشارات سنا. ۵۱۴ ص.

Ashraf, M. and T. McNeilly. 2004. Salinity tolerance in Brassica oilseeds. Critical Reviews in Plant Sciences 23: 157-174.

Gaber, M.A. 2010. Antioxidative defense under salt stress. Plant Signaling & Behavior, 5: 369-374.

Gazim, Z., C. Rezende, S. Fraga, B. Dias Filho, C. Nakamura, and D. Cortez. 2008. Analysis of the essential oils from *Calendula officinalis* growing in Brazil using three different extraction procedures. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 44: 391-395.

Prospects of Saline Agriculture in the GCC countries, Dubai, UAE.

Siringam, K., N. Juntawang, S. Cha-Um, T. Boriboonkaset, and C. Kirdmaner. 2011. Salt stress induced ion accumulation, ion homeostasis, membrane injury and sugar contents in salt-sensitive rice (Oryza sativa L. spp. indica) roots under isoosmotic conditions. African Journal of Biotechnology, 10: 1340-1346.

Kaya, C., L.Tuna, and D. Higgs. 2006. Effect of silicon on plant growth and mineral nutrition of maize grown under water stress condition. J. Plant Nutrition, 29:1469- 1480.

Kafi, M., J. Nabati, A. Masoumi, and M. Zare Mehrgerdi. 2011. Effect ofsalinity and silicon application on oxidative damage of sorghum, [sorghum Bicolor(L.) Moench. pak. J. Bot, 43(5): 2457-2462.

Liang, Y. 1999. Effects of silicon on enzyme activity and sodium, potassium and calcium concentration in barley under salt stress. Journal of Plant Soil, 209: 217-224.

Liang, Y. 2009. Effects of silicon on enzyme activity and sodium, potassium and calcium concentration in barley

Gupta, K.J., M. Stoimenova, and W.M Kaiser. 2005. In higher plants, only root mitochondria, but not leaf mitochondria reduce nitrite to NO, *in vitro* and *in situ.* Journal Experimental Botany, 56: 2601–2609.

Hormozinejad, E., M. Zolfaghari, M. Mahmoodi Sourestani, and N. Enayati Zamir. 2018. Effects of plant growth promoting rhizobactria and chemical fertilizer on growth, yield, flowering, physiological properties, and total phenolic content of Calendula officinalis L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 34(4): 684-696.

Rahemi Kahrizaki, A., R. Rahimi, A. Gholizadeh, E. Gholamalipour Alamdari, H. Saboori, and S.H. Davoodi. 2018. The effect of plant growth promoning rhizobacteria and vermicompost on quality traits of druge marigold (*Calendula officinalis* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 34 (5): 711-723.

Rezvani Moghaddam, P. and A. Koocheki. 2001. Research history on salt affected lands of Iran: Present and future prospects – Halophytic ecosystem. International Symposium on

under salt stress. Journal of Plant Soil, 209: 217-224.

Meloni, D.A., M.A. Oliva, C.A. Martinez, and J. Cambraia. 2003. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione 106-reductase in cotton under salt stress. Brazilian Journal of Plant Physiology. 15 (2): 12-21. 90- 1, 2, 2 3.

Wang W.B., Y.H. Kim., H.S. Lee., K.Y. Kim, X.P. Deng, and S.S. Kwak. 2009. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. Journal of Plant Physiology and Biochemestry, 47: 570-577.

The effect of foliar application of silica fertilizers on malondialdehyde and antioxidant enzymes amounts in Marigold (Calendula officinalis L.) under salt stress conditions

Leyla Ariafar[1], Alireza Ladan Moghadam[2], Alireza Pazoki[3]*

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

Recived: 2024.12.9 Accepted: 2025.3.6

Abstract

In order to investigate the effect of foliar application of silica fertilizers on malondialdehyde and antioxidant enzymes *amounts in* marigold (*Calendula officin*alis L.) under salt stress conditions, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design in 2017 with four salinity levels (0, 30, 60, and 90 mM NaCl) and three silicon levels (0, 0.3, and 0.6 mL/L silamol) from silamole source with three replications in the greenhouse of Eleventh District of Tehran Municipality. The results of the study showed that the level of malondialdehyde was not significantly different from the control up to a salinity level of 30 mM, but a significant increase was achieved with increasing salinity to 60 mM. The effect of silamol consumption was also significant on antioxidant enzymes peroxidase, catalase, superoxide dismutase and malondialdehyde. The interaction effects of salinity and silamol were significant only on malondialdehyde content. Based on the research findings, it can be stated that in salinity conditions, planting Marigold can be recommended by using silamol.

Keywords: Antioxidant Enzymes, Biomarker of Degradation, Marigold, Salinity, Silicon

* Corresponding author (alireza_pazoki@iau.ac.ir)