



فصلنامه بوم‌شناسی گیاهان زراعی

جلد ۱۷، شماره ۳، صفحات ۲۶-۱۵

(پاییز ۱۴۰۰)

اثر محلول پاشی برگ‌ی متانول و سالیسیلیک اسید بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و آنتی‌اکسیدانی کلزا (*Brassica napus* L) تحت شرایط کم‌آبیاری

سمانه صفاجو^۱، علی فرامرزی^۲، جلیل آجلی^۱، مهرداد عبدی^۳، مهدی اورعی^۳

۱- دانشجوی دکتری زراعت، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، واحد میانه، دانشگاه آزاد اسلامی، میانه، ایران.

۲- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، واحد میانه، دانشگاه آزاد اسلامی، میانه، ایران.

۳- گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، واحد میانه، دانشگاه آزاد اسلامی، میانه، ایران.

(نویسنده مسئول): aliifaramarzi52@gmail.com

شناسه مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۱۷

چکیده

به منظور سنجش اثر محلول پاشی برگ‌ی متانول و سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز)، محتوای هیدرات‌های کربن محلول و پرولین گیاه کلزا (*Brassica napus* L) در شرایط تنش کم‌آبی، آزمایشی به صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در سال‌های ۱۳۹۶ و ۱۳۹۷ در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی صفی آباد دزفول، اجرا شد. تیمارهای تنش کم‌آبی شامل سه سطح (۷۰، ۱۴۰ و ۲۱۰ میلی‌متر تبخیر) به عنوان کرت‌های اصلی و تلفیق تیمارهای محلول پاشی برگ‌ی سالیسیلیک اسید در سه سطح (صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومول) و متانول در سه سطح (صفر، ۱۰ و ۲۰ درصد حجمی) به عنوان کرت‌های فرعی بوده است. نتایج تجزیه واریانس نشان داد، اثر تنش کم‌آبی بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز، محتوای هیدرات‌های کربن محلول و پرولین، معنی‌دار بوده است. علاوه بر این، محلول پاشی برگ‌ی متانول و سالیسیلیک اسید بر صفات اندازه‌گیری شده، معنی‌دار بود. مقایسات میانگین نشان داد، تنش کم‌آبی، منجر به افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، محتوای هیدرات‌های کربن محلول و پرولین شده است. در نهایت، محلول پاشی برگ‌ی متانول و سالیسیلیک اسید، کاهش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و افزایش محتوای هیدرات‌های کربن محلول و پرولین در گیاه کلزا را به همراه داشته است.

واژه‌های کلیدی

آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو

پرولین

تنش کم‌آبی

سالیسیلیک اسید

کلزا

متانول



این مقاله با دسترسی آزاد تحت شرایط و قوانین The Creative Commons of BY-NC-ND انتشار یافته است.



10.22034/AEJ.2021.708292

مقدمه

کلزا^۱ دانه روغنی ارزشمندی است که در میان دانه های روغنی جهان، بیشترین عملکرد را در دهه های اخیر داشته و امروزه مقام سوم را پس از سویا^۲ و نخل روغنی^۳ در فرآورده های روغن نباتی، دارا می باشد (Arvin et al., 2018). در گیاه کلزا، مراحل گلدهی و تشکیل خورجین ها، از حساس ترین مراحل به تنش خشکی می باشد (Hayat and Ahmad, 2007).

نتایج بررسی های انجام شده نشان داده است که برخورد مراحل زایشی گیاه با تنش خشکی، موجب کاهش اکثر صفات وابسته به عملکرد کلزا می شود (Gandin et al., 2012). در نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری، تنش خشکی یکی از مشکلات عمده تولید گیاهان زراعی به شمار می رود و تهدید جدی برای تولید موفقیت آمیز محصولات زراعی در سراسر جهان است (Khorsand et al., 2010). تنش خشکی علاوه بر کاهش رشد رویشی و تغییر در ساختارهای آناتومیکی گیاه، از طریق ایجاد تنش ثانویه نظیر تنش آکسیداتیو، سبب تغییر در مسیرهای سنتز ترکیبات و متابولیت های ثانویه می شود (Sharma, 2012). در وضعیت خشکی، به دلیل محدود شدن جذب و تثبیت دی اکسید کربن و افزایش فعالیت اکسیژنازی آنزیم رویسکو، تنفس نوری افزایش می یابد که این امر نیز می تواند افزایش تولید پراکسید هیدروژن را به همراه داشته باشد (Miller, 2010). پراکسید هیدروژن منتشر شده به قسمت بیرونی کلروپلاست به وسیله آنزیم کاتالاز در سلول های برگ، پاک سازی می شود (Gholamnejad et al., 2019). برخی پژوهشگران بر این عقیده اند که افزایش غلظت دی اکسید کربن، می تواند اثر ناشی از تنش خشکی را خنثی کند (Hsiao, 2000). بنابراین، بکار بردن موادی که بتواند سبب افزایش غلظت دی اکسید کربن در گیاه شود، موجب بهبود عملکرد در شرایط خشکی می شود (Miller, 2010).

متانول، یکی از ساده ترین فرآورده های گیاهی بوده که توسط گیاهان خصوصاً طی رشد برگ ها و در اثر دیمتیلسیون پکتین در دیواره های سلولی آنها تولید می شود (Haston and Roje, 2001). پس از تولید این ماده آلی فرار در داخل گیاهان، مقداری از آن از برگ ها خارج و وارد لایه مرزی و سپس اتمسفر می شود (Mudgett and Clarke, 1993) و بخش دیگر آن تبدیل به فرم آلدئید و سپس به اسید فرمیک و در نهایت به دی اکسید کربن تبدیل می شود. دی اکسید کربن تولید شده می تواند روی آسیمپلاسیون دی اکسید کربن در گیاهان اثر بگذارد (Galbally and Kristine, 2002).

برخی پژوهشگران گزارش کردند که فیتوهورمون ها، نقش مهمی در تنظیم تولید انواع رادیکال های آزاد اکسیژن و سنتز پرولین ایفا می کنند (Gill and Tuteja, 2010; Gandin et al., 2012). سالیسیلیک اسید نیز در تنظیم واکنش به تنش خشکی، نقش ویژه ای دارد. پژوهش های اخیر در تلاش برای توضیح شبکه ای پیچیده از تعامل های هورمونی و مسیرهای سیگنالینگ در آزمایش روی گیاهان جهش یافته می باشند (Erdal et al., 2015). شواهد زیادی نشان داده که ارتباط پیچیده سالیسیلیک اسید و هورمون آبسزیک اسید، واکنش گیاه به شرایط تنش را تنظیم می کند (Hajebi and Heidari-Sharif Abad, 2005; Haston and Roje, 2001; Gandin et al., 2012). برخی پژوهشگران گزارش کردند که انواع رادیکال های آزاد اکسیژن با اختلال در مسیر سیگنالینگ یون کلسیم (Ca^{2+})، بیوسنتز سالیسیلیک اسید را مختل می کند (Hsiao, 2000; Sinaki et al., 2007). همچنین، مسیر سنتز پرولین را از طریق مسیر سیگنالینگ وابسته به NDR_1 مختل می کند (Bienert et al., 2007). سالیسیلیک اسید، سنتز پرولین را در یک واکنش هورمونی، القاء می کند، هر چند مسیر آن هنوز ناشناخته است.

1- Rapeseed (*Brassica napus* L.)2- Soybean (*Glycine max* L.)3- Oil palms (*Elaeis oleifera* L.)

با توجه به نقش آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو و پرولین در کاهش خسارات تنش‌های اکسیداتیو و کاهش عملکرد ناشی از تنش‌های خشکی در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر محلول‌پاشی متانول و سالیسیلیک‌اسید در شرایط تنش کم‌آبی بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، محتوای هیدرات‌های کربن و پرولین گیاه کلزا رقم هایولا ۴۰۱ انجام شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی متانول و سالیسیلیک‌اسید بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و نیز سنتز پرولین در گیاه کلزا رقم هایولا ۴۰۱، آزمایشی طی دو سال زراعی ۱۳۹۶ و ۱۳۹۷ در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی صفی‌آباد دزفول اجرا شد. آزمایش به‌صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای مورد بررسی در آزمایش شامل عامل تنش کم‌آبی در چهار سطح (۷۰، ۱۴۰، ۲۱۰ میلی‌متر تبخیر) به‌عنوان کرت اصلی و محلول‌پاشی سالیسیلیک‌اسید در سه سطح (صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ میکرومول) و متانول با سه سطح (صفر، ۱۰، ۲۰ درصد حجمی) به‌عنوان کرت‌های فرعی بود. هیبرید مورد آزمایش، کلزای رقم هایولا ۴۰۱ بود. جهت کاشت، مناسب‌ترین تاریخ کاشت کلزا در دزفول در نظر گرفته شد. بعد از کاشت، ضمن یادداشت مرحله سبز شدن، اعمال تیمارهای محلول‌پاشی برگ‌گی در مرحله ی ۴ تا ۸ برگ‌گی، صورت گرفت. آبیاری به‌صورت نشتی انجام پذیرفت. عملیات برداشت نهایی پس از رسیدگی فیزیولوژیکی انجام شد.

پس از تهیه نمونه، برای تهیه عصاره استخراج از روش تغییر یافته کائو و چانگ (۱۹۸۸)، استفاده شد. میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT) و گایاکول‌پراکسیداز (GPX) در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، به‌روش چانس و ماهلی (۱۹۵۵)، اندازه‌گیری شد (Chance and Maehly, 1955). استخراج آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) با استفاده از بافر فسفات ۲۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷ و روش ناکانو و آسادا (۱۹۸۱)، صورت گرفت (Nakano and Asada, 1981). فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بر اساس میزان اکسید شدن آسکوربات در طول موج ۲۹۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی $2/8 \text{ Mm}^{-1}/\text{cm}^{-1}$ تعیین گردید. جهت اندازه‌گیری میزان هیدرات کربن محلول از روش پاگوئن و لیچاسار (۱۹۷۹)، استفاده شد (Paquin and Lechasseur, 1979). برای تعیین محتوای پرولین از روش بیتس و همکاران (۱۹۷۳)، استفاده شد (Bates et al., 1973).

مقایسه میانگین اثرات ساده تیمارها بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار^۱ و اثرات متقابل تیمارها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد، انجام گرفت. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری SAS 9.2 و جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار EXCEL استفاده شد.

نتایج و بحث

کاتالاز

با توجه به نتایج تجزیه واریانس اثر متقابل تیمارهای تنش کم‌آبی، اثر محلول‌پاشی برگ‌گی سالیسیلیک‌اسید و متانول بر فعالیت آنزیم کاتالاز، معنی‌دار بود (جدول ۱). با توجه به نتایج مقایسه میانگین، بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار تنش کم‌آبی ۲۱۰ میلی‌متر و محلول‌پاشی متانول و سالیسیلیک‌اسید (تیمار شاهد) بوده و کمترین فعالیت آن تحت تیمار اثر متقابل تنش کم‌آبی (۷۰ میلی‌متر) و محلول‌پاشی سالیسیلیک‌اسید (۲۰۰ میکرومول) و متانول (۲۰ درصد) بوده است (جدول ۲).

1- Least Significant Difference (LSD)

چنین به نظر می‌رسد که با افزایش میزان تنش کم آبی، فعالیت آنزیم کاتالاز به دلیل افزایش تولید انواع رادیکال‌های آزاد اکسیژن افزایش می‌یابد که محلول پاشی سالیسیلیک اسید و متانول، منجر به کاهش فعالیت این آنزیم می‌شود. به نظر می‌رسد علت این امر، کاهش میزان تولید انواع رادیکال‌های آزاد اکسیژن است. گزارش‌ها مویده آن است که سالیسیلیک اسید از طریق تجمع موقتی هورمون آبسزیک اسید، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را کنترل می‌کند (Ahmed et al., 2002).

بر اساس گزارش‌های گونان و همکاران (۲۰۰۰)، در پی افزایش میزان آبسزیک اسید، تولید پراکسید هیدروژن افزایش می‌یابد. در پی افزایش تولید پراکسید هیدروژن، این ملکول به‌عنوان پیام‌رسان عمل می‌کند و آبشار واکنش‌های حفاظتی را در گیاهان در مقابله با تنش به راه می‌اندازد (Guan et al., 2000). نتایج این پژوهش با یافته‌های لی و همکاران (۲۰۱۹)، نیز همخوانی دارد. از سوی دیگر با محلول پاشی متانول، غلظت دی‌اکسید کربن درون سلولی افزایش پیدا کرده که منجر به کاهش شدت تنفس نوری خواهد شد (Lee et al., 2019). از این رو با کاهش تنفس نوری، پراکسید هیدروژن تولید شده در پراکسی‌زوم‌ها کاهش یافته (Simova et al., 2008) و در نتیجه، سبب کاهش میزان پراکسید هیدروژن و کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز خواهد شد. با توجه به کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در اثر محلول پاشی متانول، به نظر می‌رسد متانول با کاهش میزان پراکسید هیدروژن، در کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز نقش دارد.

گایاکول پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تیمارهای تنش کم آبی و محلول پاشی متانول و نیز محلول پاشی سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز، معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارها نشان داد که بیشترین فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در سطح ۲۱۰ میلی‌متر تنش کم آبی و عدم محلول پاشی متانول و سالیسیلیک اسید مشاهده شده (تیمار شاهد) و کمترین میزان فعالیت این آنزیم در تنش کم آبی (۷۰ میلی‌متر) و محلول پاشی متانول (۲۰ درصد) و عدم محلول پاشی سالیسیلیک اسید مشاهده شد (جدول ۲).

گایاکول پراکسیداز از مهم‌ترین گروه پراکسیدازها بوده که گایاکول را به‌عنوان یک سوبسترای (پیش‌ماده) کاهنده، اکسید می‌کند. واکنش گایاکول با پراکسید هیدروژن به تولید ترکیبی به نام تتراگایاکوکوئینون، منجر می‌شود (Amiri et al., 2011). افزایش گایاکول پراکسیداز می‌تواند عامل مهمی برای تجزیه پراکسید هیدروژن به ویژه هنگام غیرفعال شدن کاتالاز باشد (Abedi and Pakniyat, 2012).

سالیسیلیک اسید می‌تواند سبب افزایش پراکسید هیدروژن بافت گیاهی شده و به این ترتیب موجب القای بیان ژن‌های رمزگذار آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو و افزایش مقاومت گیاه نسبت به تنش‌های غیرزیستی شود (Amiri et al., 2011). متانول نیز با متابولیزه شدن سریع به دی‌اکسید کربن، سبب افزایش دی‌اکسید کربن شده و منجر به کربوکسیلاسیون بیشتر و اکسیژناسیون کمتر در گیاه می‌شود. کاهش تنفس نوری در اثر کاربرد متانول در سویا و نیز کلروپلاست‌های اسفناج، گزارش شده است (Gout et al., 2000).

آسکوربات پراکسیداز

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر متقابل تیمارهای تنش کم آبی و محلول پاشی متانول و سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد، معنی‌دار بوده است (جدول ۱). با توجه به نتایج مقایسه میانگین، بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح ۲۱۰ میلی‌متر تنش کم آبی و عدم محلول پاشی متانول و سالیسیلیک اسید، مشاهده شده و

کمترین فعالیت این آنزیم نیز در سطح ۷۰ میلی متر تنش کم آبی و محلول پاشی ۲۰ درصد متانول و ۲۰۰ میکرومول سالیسیلیک اسید مشاهده شد (جدول ۲).

نتایج این پژوهش با یافته‌های شورایی و همکاران (۲۰۱۲)، مبنی بر اینکه، اثر متقابل تنش خشکی و محلول پاشی سالیسیلیک اسید، تاثیر معنی داری بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نداشته، مطابقت ندارد (Shooryabi *et al.*, 2012). همچنین، نتایج این پژوهش با نتایج طباطبایی (۱۳۹۳)، مبنی بر اینکه تیمار سالیسیلیک اسید با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود، سبب کاهش احتمالی تنش و در نتیجه منجر به کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز می‌شود، مطابقت دارد (Tabatabaei, 2014).

یکی از نقش‌های مهم محلول پاشی متانول، جلوگیری از کاهش اثر تنش القا شده به گیاه در اثر انجام تنفس نوری است (Downie *et al.*, 2004). آسکوربات پراکسیداز از طریق چرخه آسکوربات-گلوتاتیون، باعث متابولیزه شدن پراکسید هیدروژن می‌شود. به نظر می‌رسد محلول پاشی متانول با فراهم آوردن دی‌اکسید کربن لازم برای چرخه تنفس نوری، انرژی لازم برای این فرایند را فراهم می‌آورد.

محتوای پرولین

با توجه به نتایج تجزیه واریانس، مشخص شد که اثر متقابل تیمارهای تنش کم آبی و محلول پاشی سالیسیلیک اسید و متانول بر محتوای پرولین، تاثیر معنی داری ندارد (جدول ۱). همانطور که نتایج مقایسه میانگین نشان داده، بیشترین محتوای پرولین در سطح ۲۱۰ میلی متر از تنش کم آبی و محلول پاشی ۲۰ درصد متانول و ۲۰۰ میکرومول سالیسیلیک اسید، مشاهده شده و کمترین میزان پرولین نیز مربوط به تیمار ۷۰ میلی متر تنش کم آبی و عدم محلول پاشی سالیسیلیک اسید و متانول بوده است (جدول ۳).

رادیکال‌های اکسیژن فعال، نقش کلیدی را به‌عنوان سیگنال بین سلولی در تولید پرولین، بازی می‌کنند (Rejeb *et al.*, 2014). در پژوهش لی و همکاران (۲۰۱۹)، تجمع پرولین در اثر تنش خشکی و کاربرد سالیسیلیک اسید همزمان با بیان ژن NADPH اکسیداز بوده و مشخص شده که انواع رادیکال‌های آزاد اکسیژن (بخصوص پراکسید هیدروژن) برای NADPH اکسیداز، همانند یک سیگنال عمل می‌کند (Rejeb *et al.*, 2014; Chung *et al.*, 2008). افزایش سطوح پرولین در اثر کاربرد سالیسیلیک اسید در حالت تنش خشکی، به علت افزایش سطوح آبسیزیک اسید و جیبرلیک اسید می‌باشد (Lee *et al.*, 2019). حیات و احمد (۲۰۰۷)، نیز گزارش کردند که سالیسیلیک اسید از طریق تجمع موقتی آبسیزیک اسید، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را کنترل می‌کنند (Hayat and Ahmad, 2007).

متانول محلول پاشی شده روی برگ، توسط آنزیم متانول‌اکسیداز و با از دست دادن $2H^+$ به فرمات (متانوئیک اسید)، تبدیل می‌شود. فرمات در مرحله بعد و توسط آنزیم فرمات دِهیدروژناز، تبدیل به دی‌اکسید کربن و H^+ می‌شود (Nonomura and Beson, 1992)، از طرف دیگر، گزارش شده که آنزیم پیرولین-۵ کربوکسیلات سنتتاز (P5CS) در شرایط اسیدی، بیشترین فعالیت را دارد (Yordanov *et al.*, 2003). به نظر می‌رسد متانول با کاهش pH در گیاه، منجر به افزایش فعالیت آنزیم پیرولین-۵ کربوکسیلات سنتتاز شده و در نهایت سبب تجمع پرولین در برگ می‌شود.

محتوای هیدرات‌های کربن محلول

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات متقابل تیمارهای آزمایشی بر محتوای هیدرات‌های کربن محلول، معنی دار نبوده ولی اثرات ساده تنش کم آبی، محلول پاشی متانول و نیز سالیسیلیک اسید بر محتوای هیدرات‌های کربن محلول، معنی دار بوده است

(جدول ۱). با توجه به نتایج مقایسه میانگین، بیشترین محتوای هیدرات‌های کربن محلول مربوط به تنش کم آبی (۲۱۰ میلی‌متر) و کمترین آن مربوط به تیمار تنش کم آبی (۷۰ میلی‌متر) بوده است. در بین سطوح محلول پاشی سالیسیلیک‌اسید نیز بیشترین میزان کربوهیدرات محلول در عدم محلول پاشی (تیمار شاهد) مشاهده شد و کمترین میزان آن در سطح محلول پاشی ۲۰۰ میکرومول سالیسیلیک‌اسید مشاهده شد. بیشترین میزان کربوهیدرات محلول در بین سطوح محلول پاشی متانول نیز در عدم محلول پاشی و کمترین میزان آن در سطح محلول پاشی ۲۰ درصد مشاهده شد (جدول ۳).

افزایش میزان هیدرات‌های کربن در شرایط تنش، می‌تواند به‌عنوان یک سیگنال متابولیکی به تنش خشکی و شوری عمل نماید و در بروز پاسخ‌های دفاعی نقش داشته باشد (Hayat and Ahmad, 2007). افزایش هیدرات‌های کربن محلول در زمان تنش را می‌توان به علت توقف رشد، سنتز ترکیبات از مسیر غیرفتوسنتزی و همچنین تخریب قندهای نامحلول که باعث افزایش قندهای محلول می‌شود، نسبت داد (Hajebi and Heidari-Sharif Abad, 2005). محلول پاشی متانول باعث افزایش غلظت دی‌اکسید کربن شده که می‌تواند میزان تثبیت دی‌اکسید کربن در گیاه را افزایش دهد. متانول با متابولیسم شدن سریع به دی‌اکسید کربن و افزایش دی‌اکسید کربن، منجر به روند کربوکسیلاسیون بیشتر و اکسیژناسیون کمتر در گیاه می‌شود. بنابراین، با افزایش فتوسنتز در اثر کاربرد متانول، میزان هیدرات‌های کربن محلول، افزایش می‌یابد (Zbiec et al., 2003).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که تنش کم آبی منجر به القاء شرایط تنش به گیاه و در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی جهت جلوگیری از خسارات ناشی از تولید انواع رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیز افزایش محتوای کربوهیدرات‌های محلول و پرولین برای افزایش غلظت آنها در بافت‌های گیاهی و جلوگیری از تبخیر آب می‌شود. به نظر می‌رسد سالیسیلیک‌اسید از یک طرف با افزایش موقتی آبسزیک‌اسید، سبب کاهش میزان تولید انواع رادیکال‌های آزاد اکسیژن و در نتیجه کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود و از طرف دیگر با نقش آنتی‌اکسیدانی خود، منجر به کاهش میزان انواع رادیکال‌های آزاد اکسیژن شده و در نتیجه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، کاهش می‌یابد. متانول نیز با فراهم آوردن دی‌اکسید کربن و افزایش غلظت آن، سبب می‌شود دی‌اکسید کربن لازم برای تنفس نوری، فراهم شود و در نتیجه ملکول‌های پر انرژی مصرف شده و تولید انواع رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیز فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، کاهش یابد.

References

- Abedi T, Pakniyat H. Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivar of oilseed rap (*Brassica napus* L.). *Genetics and Plant Breeding*. **2012**, 46(4): 27-34.
- Ahmed S, Nawata E, Hosokawa M, Domae Y, Sakuratani T. Alterations in photosynthesis and some antioxidant enzymatic activities of mungbean subjected to water logging. *Plant Science*. **2002**, 163(16): 117-123.
- Amiri A, Parsa S.R, Nezami M, Ganjeali A. The effects of drought stress at different phenological stages on growth indices of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in greenhouse conditions. *Pulses Research*. **2011**, 1(6): 69-84.
- Arvin P, Vafabakhsh J, Mazaheri D. Study of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and drought on physiological traits and ultimate yield of cultivars of oilseed rape (*Brassica* spp. L.). *Journal of Agro ecology*. **2018**, 9(4): 1208-1226.
- Bates L.S, Walderen R.D, Taere I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*. **1973**, 39(3): 205-207.
- Bienert G.P, Kristiansen K.A, Moller A.L.B. Specific aquaporins facilitate the diffusion of hydrogen peroxide across membranes. *Journal of Biological Chemistry*. **2007**, 282(5): 1183-1192.
- Chung J.S, Zhu J.K, Bressan R.A, Hasegawa P.M, Shi H. Reactive oxygen species mediate Na⁺-induced S₀S₁ mRNA stability in *Arabidopsis*. *Plant Journal*. **2008**, 53(25):554-565.
- Chance B, Maehly A.C. Assays of Catalases and Peroxidases. In: Methods in Enzymology. (Colowick S.P, Kaplan N.O, Eds.) *Academic Press, New York*. **1955**, II: 764- 775.
- Downie A, Miyazaki S, Bohnert H, John P, Coleman J, Parry M, Haslam R. Expression profiling of the response of *Arabidopsis thaliana* to methanol stimulation. *Photochemistry*. **2004**, 65(2): 2305-2316.
- Erdal S, Genisel M, Turk H, Dumlupinar R, Demir Y. Modulation of alternative oxidase to enhance tolerance against cold stress of chickpea by chemical treatments. *Journal of Plant Physiology*. **2015**, 175(5): 95-101.
- Guan L.M, Zhao J, Scandalios J.G. *Cis*-elements and *trans*-factors that regulate expression of the maize *Cat1* antioxidant gene in response to ABA and osmotic stress: H₂O₂ is the likely intermediary signalling molecule for the response. *The Plant Journal*. **2000**, 22(20): 87-95.
- Gout E, Aubert S, Bligny R, Rebeille F, Nonomura A.R, Benson A, Douce R. Plant metabolism of methanol in plant cells. Carbon-13 nuclear magnetic resonance studies. *Journal of Plant Physiology*. **2000**, 123(25): 287-296.
- Gandin A, Duffes C, Day D.A, Cousins A.B. The absence of alternative oxidase A₀X₁A results in altered response of photosynthetic carbon assimilation to increasing CO₂ in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology*. **2012**, 53(5): 1627-1637.
- Gill S.S, Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. **2010**, 48(2): 909-930.
- Gholamnejad J, Etebarian H.R, Sahebani N.A, Roustaei A. Characterization of biocontrol activity of two yeast strains from Iran against blue mould of apple in order to reduce the environmental pollution. *Journal of International Environmental Application and Science*. **2019**, 4(1): 28-36
- Galbally I.E, Kristine W. The production of methanol by flowering plants and the global cycle of methanol. *Journal Atmospheric Chemistry*. **2002**, 43(25), 195-229.
- Hayat S, Ahmad A. Salicylic acid: A plant hormone (2nd edition). *Springer*. **2007**.
- Haston A.D, Roje S. One carbon metabolism in higher plants. *Annual Review of Plant Biology*. **2001**, 52(2): 119-138
- Hajebi A.H, Heidari-Sharif Abad H. Investigation of effect of drought on growth and nodulation of three species of clover. *Pajouhesh and Sazandegi*. **2005**, 66(22): 13-22. (In Persian)
- Hsiao M.C. Internet addiction, usage, gratification, and pleasure experience: The Taiwan College Students' Case. *Computers and Education*. **2000**, 35(5): 65-80.
- Khorsand F, Vaziri J, Azizi-Zehan A.A. Halo culture; sustainable use of water resources and saline soil in agriculture. *Iranian National Committee on Irrigation and Drainage*. **2010**.
- Lee B.R, Islam M.T, Park S.H, Jung H.I, Bae D.W, Kim T.H. Characterization of salicylic acid-mediated modulation of the drought stress responses: Reactive oxygen species, proline, and redox state in *Brassica napus*. *Environmental and Experimental Botany*. **2019**, 15(7):1-10.

- Ma Q, Niknam S.R, Turner D.W. Responses of osmotic adjustment and seed yield of *Brassica napus* and *B. juncea* to soil water deficit at different growth stages. *Australia Journal of Agricultural Research*. **2006**, 57(2): 221-226.
- Mudgett M.B, Clarke S. Characterization of plant l-isoaspartyl methyltransferases that may be involved in seed survival: purification, cloning, and sequence analysis of the wheat germ enzyme. *Biochemistry*. **1993**, 32(5):11-19.
- Miller A. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) is required for cell cycle-regulated silent chromatin on replicated and non-replicated genes. *Journal of Biological Chemistry*. **2010**, 285(45):35142-54
- Nonomura A.M, Beson A.A. The path to carbon in photosynthesis: improved crop yields with methanol. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **1992**, 89(2): 9794-9798.
- Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplast. *Plant Cell Physiology*. **1981**, 22(10): 867-880.
- Paquin R, Lechasseur P. Observation sur une methode dosage de la proline libre dans les extraits de plantes. *Canadian Journal of Botany*. **1979**, 57: 1851-1854.
- Ramberg H.A, Bradley J.S, Olson J.N, Nishio J, Markwell A, Osterman J.C. The role of methanol in promoting plant growth. *Review Plant Biochemistry and Biotechnology*. **2002**, 1(2):113-126.
- Rejeb K.B, Abdelly C, Savouré A. How reactive oxygen species and proline face stress together. *Plant Physiology and Biochemistry*. **2014**, 80(3): 278-284.
- Simova-S Toilova L, Demirevska K, Petrova T, Tsenov N, Feller U. Antioxidative protection in wheat varieties under severe recoverable drought at seedling stage. *Plant Soil Environment*. **2008**, 54(6): 529-536.
- Sinaki J.M, Majidi-Heravan E, Shirani-Rad A.H, Noormohammadi G, Zarei G. The effects of water deficit during growth stages of canola (*B. napus* L.). *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*. **2007**, 2(4): 417-424.
- Szepesi A, Poór P, Gémes K, Horváth E, Tari I. Influence of exogenous salicylic acid on antioxidant enzyme activities in the roots of salt stressed tomato plants. *Acta Biologica Szegediensis*. **2008**, 52(1): 199-200.
- Shooryabi M, Ganjeali A, Abrishamchi P. Investigating the effect of salicylic acid on enzymes activity and antioxidant compounds of chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars under drought stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences*. **2012**, 5(1): 41-54.
- Sharma S. Characterization of stress and methylglyoxal inducible triose phosphate isomerase (OscTPI) from rice. *Plant Signaling & Behavior*. **2012**, 7(10):1337-45
- Tabatabaei S.A. Effect of salicylic acid pretreatment of barley seed on seedling growth, proline content and antioxidant enzymes activity under drought stress. *Journal of Crops Improvement*. **2014**, 16(2):475-486.
- Wang Y, Liu C, Li K, Sun F, Hu H, Li X, Zhao Y, Han C, Zhang W, Duan Y, Liu M, Li X. Arabidopsis EIN2 modulates stress response through abscisic acid response pathway. *Plant Molecular Biology*. **2007**, 64(3): 633-644.
- Yordanov I, Velikova V, Tsonev T. Plant responses to drought and stress tolerance. *Bulgharestan Journal of Plant Physiology*. **2003**, 2: 187-206.
- Zbiec L.S, Karczmarczyk, Podsiadlo, C. Response of some cultivated plants to methanol as compared to supplemental irrigation. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*. **2003**, 6 (1): 1-7.

The effect of methanol and salicylic acid foliar application on the physiological and antioxidant properties of rapeseed (*Brassica napus* L.) under low irrigation conditions



Agroecology
Journal
Vol. 17, No. 3 (15-26)
(Autumn 2021)

Samaneh Safajo¹, Ali Faramarzi^{2✉}, Jalil Ajali², Mehrdad Abdi², Mehdi Oraei³

1- Ph.D Student of Agronomy, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Miyaneh Branch, Islamic Azad University, Miyaneh, Iran.

2- Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Miyaneh Branch, Islamic Azad University, Miyaneh, Iran.

3- Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Miyaneh Branch, Islamic Azad University, Miyaneh, Iran.

✉ aliifaramarzi52@gmail.com (Corresponding author)

Received date: 14. 04. 2021

Accepted date: 08. 09. 2021

Abstract

In order to investigate the effect of methanol and salicylic acid foliar application on the activity of antioxidant enzymes (catalase, guaiacol peroxidase and ascorbate peroxidase), soluble carbohydrates and proline content of rapeseed (*Brassica napus* L.) in dehydration stress condition, an split-factorial experiment was conducted based on randomized complete block design with three replications in two years (2017 and 2018) in Safiabad Agricultural Research and Training Center of Dezful. The treatments of dehydration stress included three levels (70, 140 and 210 mm evaporation) as main plots and combination of treatments of salicylic acid on three level (control, 100 and 20 μmol) and methanol foliar application on three levels (control, 10 and 20 % Volume) as subplots. The results of analysis of variance showed that the effect of dehydration stress on the activity of catalase, guaiacol peroxidase and ascorbate peroxidase enzymes as well as soluble carbohydrates and proline content was significant. Further more, foliar application of methanol and salicylic acid on measured traits was significant Mean comparison showed that dehydration stress has led to increase activity of antioxidant enzymes as well as soluble carbohydrates and proline content. Finally, foliar application of methanol and salicylic acid has reduced the activity of antioxidant enzymes and increased the content of soluble carbohydrates and proline in rapeseed.

Keywords

- ❖ Antioxidant enzymes
- ❖ Dehydration stress
- ❖ Methanol
- ❖ Proline
- ❖ Rapeseed
- ❖ Salicylic acid

This open-access article is distributed under the terms of the Creative Commons-BY-NC-ND which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



10.22034/AEJ.2021.708292



جدول ۱- تجزیه واریانس مرکب آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کلزا رقم هایولا ۴۰۱ تحت تأثیر سال، تنش کم‌آبی، محلول‌پاشی متانول و سالیسیلیک اسید.

Table 1- Compound analysis of variance of antioxidant enzymes of rape Hayola 401 under the influence of years, water stress, foliar application of methanol and salicylic acid.

Sources of Variation	d.f	Mean of Square				
		Catalase	Guaiacol Peroxidase	Ascorbate Peroxidase	Soluble Carbohydrates	Proline
Year	1	0 ns	0.0000016 ns	0.00045 ns	0.00000593 *	0.00002434 ns
Block	2	0.00000039 **	0.00000006 ns	0.00106728 *	0.0000016 ns	0.00061418 **
Year × Block	2	0.00000008 ns	0.00000001 ns	0.00016852 ns	0.00000138 ns	0.00003878 ns
Stress	3	0.00022872 **	0.07903444 **	0.74209136 **	0.00163327 **	1.27280247 **
Stress × Year	3	0 ns	0.00000001 ns	0.00020741 ns	0.00000264 ns	0.00002985 ns
Stress × Year × Block	12	0.00000011 ns	0.0000001 ns	0.00014105 ns	0.00000105 ns	0.00016941 ns
Methanol	2	0.00002779 **	0.00823522 **	0.15571173 **	0.00059262 **	0.14581172 **
Year × Methanol	2	0.00000001 ns	0 ns	0.00226852 **	0.00000106 ns	0.00001325 ns
Stress × Methanol	6	0.00000192 **	0.01106059 **	0.00758673 **	0.00000338 ns	0.02035013 **
Stress × Methanol × Year	6	0 ns	0.00000016 ns	0.00275648 **	0.00000038 ns	0.0000065 ns
Error	32	0.00000009 ns	0.00000005 ns	0.00025463 ns	0.00000153 ns	0.00076178 *
Salicylic Acid	1	0.00003962 **	0.0001176 **	0.0451284 **	0.00042801 **	0.04452064 **
Salicylic Acid × Year	1	0.00000001 ns	0.00000004 ns	0.00031852 ns	0.00000271 ns	0.00002056 ns
Stress × Salicylic Acid	3	0.00000144 **	0.00001109 **	0.00091451 *	0.00000127 ns	0.00077889 **
Stress × Salicylic Acid × Year	3	0.00000003 ns	0.00000005 ns	0.00087315 *	0.00000058 ns	0.00003615 ns
Methanol × Salicylic Acid	2	0.00000119 **	0.0000168 **	0.00021821 ns	0.00000178 ns	0.00205805 **
Methanol × Salicylic Acid × Year	2	0 ns	0.00000004 ns	0.00094537 **	0.00000134 ns	0.00005313 ns
Stress × Methanol × Salicylic Acid	6	0.00000098 **	0.00001702 **	0.00091682 **	0.0000009 ns	0.00399449 **
Stress × Methanol × Salicylic Acid × Year	6	0.00000003 ns	0.00000006 ns	0.00119306 **	0.00000049 ns	0.00004688 ns
Total Error	48	0.00000008	0.00000007	0.00026	0.00000144	0.00001748
C.V (%)	-	0.192146	0.184765	1.362284	4.267149	0.264791

ns, ** و * به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

ns, ** and *: non-significant and significant at the 1 and 5% probability level, respectively.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم آبی، متانول و سالیسیلیک اسید بر آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و محتوای پرولین.

Table 2- Comparison of the mean of interaction effect of dehydration stress, methanol and salicylic acid on catalase, guaiacol peroxidase, ascorbate peroxidase enzymes and proline content.

Dehydration Stress	Salicylic Acid	Methanol	Catalase	Guaiacol Peroxidase	Ascorbate Peroxidase	Proline	
70	0	0	0.146 hi	0.0494833 r	1.13 hi	1.4328 t	
		10	0.144 mn	0.04825 s	1.1 jkl	1.457267 s	
		20	0.14215 q	0.0473833 t	1.06 mn	1.463767 r	
		0	0.14445 l	0.1147 p	1.09167 kl	1.45635 s	
		10	0.1436833 no	0.1135167 q	1.075 lm	1.4679 qr	
		20	0.1437625 mno	0.121575 o	1.095 jkl	1.500563 p	
	100	200	0	0.1435167 o	0.1254333 l	1.055 nm	1.469933 q
			10	0.1429 p	0.1243 m	1.035 n	1.496783 p
			20	0.1417 r	0.1224333 n	0.99333 o	1.511033 o
			0	0.1468833 e	0.1536833 h	1.26 d	1.514533 o
			10	0.1460167 hi	0.1524667 i	1.235 de	1.536533 m
			20	0.1456 j	0.151525 j	1.225 e	1.54715 l
140	0	0	0.1463167 gh	0.1522167 i	1.225 e	1.527283 n	
		10	0.1457333 ij	0.1515167 j	1.16667 fg	1.56735 k	
		20	0.1449333 k	0.1516167 j	1.145 gh	1.59795 j	
		0	0.1449167 k	0.1523 i	1.14667 gh	1.6215 i	
		10	0.1440333 m	0.1516833 j	1.12167 hij	1.62755 h	
		20	0.1436 o	0.1425833 k	1.11 ijk	1.657717 f	
	100	200	0	0.149 a	0.17215 a	1.38833 a	1.644933 g
			10	0.1478167 c	0.1708 b	1.355 b	1.66365 e
			20	0.1473 d	0.1704667 c	1.32833 b	1.6736 d
			0	0.1483167 b	0.1693667 d	1.34833 b	1.657933 f
			10	0.1477667 c	0.1681833 e	1.33167 b	1.667567 e
			20	0.1466983 ef	0.1673833 f	1.29167 c	1.696433 c
210	100	0	0.1477 c	0.1673667 f	1.25333 d	1.700433 c	
		10	0.1473167 d	0.1650333 g	1.235d e	1.733617 b	
		20	0.146 hi	0.1652833 g	1.17333 f	1.7583 a	

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

The averages with common letters in each column do not differ significantly from each other.

جدول ۳ - مقایسه میانگین اثر ساده تیمارهای تنش کم آبی، محلول پاشی متانول و سالیسیلیک اسید بر هیدرات های کربن محلول.

Table 3- Comparison of the mean effect of simple treatments of dehydration stress, methanol and salicylic acid foliar application on soluble carbohydrates.

Treatments	Treatment Levels	Soluble Carbohydrates
Dehydration Stress	70 mm	0.0217963 c
	140 mm	0.0306296 b
	210 mm	0.0318889 a
Salicylic Acid	0 mol/l μ	0.0318333 a
	100 mol/l μ	0.0269815 b
	200 mol/l μ	0.0255000 c
Methanol	0	0.0308889 a
	10	0.0281667 b
	20	0.0252593 c

میانگین های دارای حروف مشترک در هر ستون، اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارند.

The averages with common letters in each column do not differ significantly from each other.