

کاهش اثرات منفی شوری بر شاخص‌های فیزیولوژیک گواوا (*Psidium guajava L.*) با استفاده از اسید جیبرلیک

* زهرا پشنگه و منصوره شمیلی*

گروه علوم باگبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه هرمزگان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۹/۱۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۱۲/۰۷)

چکیده:

از آنجائی که اسید جیبرلیک در افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های غیرزیستی، نقش دارد، لذا ارزیابی واکنش‌های فیزیولوژیک دانهال گواوا به تنش شوری آب و تیمار اسید جیبرلیک در این تحقیق مورد توجه قرار گرفت. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در ۴ تکرار اجرا شد. تیمارها شامل نمک کلرید سدیم (۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار) و اسید جیبرلیک (صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام) بود. بر اساس نتایج، شوری باعث کاهش میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتونوئید، میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فلنل‌اکسیداز و افزایش در فعالیت کاتالاز گردید. حتی سطح پائین نمک (۵۰ میلی مولار) باعث اثرات منفی بر خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیائی گردید. اسید جیبرلیک (۵۰۰ پی‌پی‌ام) باعث بهبود خصوصیات فیزیولوژیک دانه رُست گردید. لذا تیمار با اسید جیبرلیک در نهالستان‌ها می‌تواند به عنوان تیماری کارآمد جهت مواجهه بعدی نهال‌های گواوا با آب و خاک شور مشمر شمر واقع شود.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، پلی‌فلنل‌اکسیداز، کاروتونوئید، کاتالاز، کلروفیل، نشت یونی

مقدمه

کاتالاز و گلوتاتیون ردوکتاز) و غیر آنزیمی (نظیر کاروتونوئید، فلاونوئید، آسکوربات، گلوتاتیون و توکوفرول) بهره می‌برد (Ahmed *et al.*, 2009).

به منظور بهبود وضعیت رشدی گیاه از خسارت واردہ از تنش، استراتژی‌های مختلفی مورداً استفاده قرار می‌گیرد که از جمله می‌توان به تعذیه تکمیلی با سیلیسیوم (Kaya *et al.*, 2006) محلول‌پاشی با پلی‌آمین‌ها (Tang and Newton, 2005) (Sakhabutdinova *et al.*, 2003)، محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک (Conklin, 2001)، محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک (Conklin, 2003) اشاره کرد.

نقش اسید جیبرلیک در افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های

شوری بر جنبه‌های مختلفی از متابولیسم گیاهان تاثیر گذاشته و تغییراتی را در رشد، متابولیسم، فیزیولوژی، مورفو‌لوجی و بیوشیمی آنها باعث می‌گردد (Labanauskas *et al.*, 1981). از تغییرات بیوشیمیایی مهم در گیاهان تحت تنش شوری، می‌توان به افزایش سطح رادیکال‌های آزاد اشاره کرد (Mittler, 2002) (Mittler *et al.*, 2004) که موجب اختلال در متابولیسم سلول از طریق خسارت بر اکسیداسیون لیپیدها، پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها می‌گردد (Smirnoff, 1993). سلول، اما جهت تخفیف تاثیر اکسیداتیو این رادیکال‌ها، از مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی (نظیر آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید‌دی‌سیموتاز،

۱۳۹۴، از حدود ۲/۶۸ میلیون هکتار سطح باغهای کشور (اعم از بارور و غیر بارور)، حدود ۱۴ هزار هکتار، معادل ۰/۵٪ به میوه‌های گرمسیری اختصاص داشته که از این مقدار، گواوا ۸ درصد از کل سطح باغهای گرمسیری را شامل شده است (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۹۵). میزان تولید گواوا در استان هرمزگان بر اساس همین آمار، معادل ۱۷۴ هکتار و عملکرد آن ۴/۸۳ تن بوده است.

این گیاه به دامنه وسیعی از خاک‌ها سازگاری نشان می‌دهد، به‌طوری‌که حتی در خاک‌های غیر حاصلخیز و کم عمق رشد کرده و شرایط خشکی را نیز تحمل می‌کند، اما نمو دانه‌الهای آن به‌شدت تحت تاثیر شوری قرار می‌گیرد (Cavalcante *et al.*, 2007 و همکاران ۱۹۷۹). بنا به گزارش Walker (al., 2007) درختان گواوا با شوری کلرید سدیم ۳۰ تا ۵۰ میلی‌مولار در محیط ریشه دچار آسیب می‌شوند. همچنین دانه‌الهای گواوا آبیاری شده با آب دارای EC بالاتر از ۱/۵ دسی‌زیمنس بر متر، کیفیت مناسب برای کاشت نداشتند (Cavalcante *et al.*, 2007). در مطالعه Ali-Dinar و همکاران (۱۹۹۹)، با بررسی تاثیر کلرید-سدیم و سطوح مختلف نیترات‌کلسیم (۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار) بر رشد و شاخص‌های فیزیولوژیک دو رقم گواوا (تو سفید و توسرخ) تحت شرایط شوری، رشد شاخصاره، محتوای کلروفیل برگ، میزان فتوستز خالص و تنفس گواوا کاهش یافت. تاثیر شوری بر مهار جوانه‌زنی بذر گواوا نیز مورد توجه برخی دیگر از محققین قرار گرفته است (Kaul *et al.*, 1988؛ Hooda and Yamdagni, 1991؛ Makhija *et al.*, 1980).

گواوا یکی از محصولات امیدبخش جهت توسعه باغات میوه در مناطق گرمسیر کشورمان می‌باشد که به دلیل سازگاری بالا و عملکرد قابل توجه، درآمد قابل توجهی را برای تولید کنندگان به ارمغان می‌آورد. جوانه زنی محدود بذر، ناشی از پوسته سخت، از مشکلات تولید پایه‌های دانه‌الی گواوا به شمار می‌رود. تیمار با آب گرم یا اتفن، خراش‌دهی با اسید نیتریک و اسید سولفوریک از جمله تکنیک‌هایی هستند که جهت بهبود جوانه‌زنی بذر گواوا در شرایط رشد معمول توصیه شده‌اند (عباسی و همکاران، ۱۳۹۲). اما از آنجا که استقرار و

غیر زیستی نیز مورد توجه محققان قرار گرفته است. در مطالعه اثر اسید جیبرلیک بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و تجمع پرولین در ریشه و اندام هوایی دو رقم کلزا، نتایج حاکی از آن بود که هرچند کاربرد تیمار اسید جیبرلیک خارجی (۰/۰۵ میلی مولار) در سطوح پایین نمک (۷۵ میلی مولار) از آثار مخرب شوری بر گیاهچه‌ها کاست، اما در غاظت‌های بالاتر نمک (۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار) کم اثر بود (Lk, ۱۳۹۰). همچنین در مطالعه بر گیاه *Dracocephalum moldavica* L. تحت تنش خشکی، محلول‌پاشی با اسید جیبرلیک میزان کلروفیل و ترکیبات فنلی را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (عباسپور و رضایی، ۱۳۹۳). در پژوهش سلطانی و همکاران (۱۳۹۵) بر دو رقم نخود ایرانی، در گیاهان تحت تنش شوری (۸۰ میکرو مولار)، محتوای پروتئین و آنزیم کاتالاز به‌طور معنی‌داری افزایش داشت. فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز کاهش نشان داد. تیمار اسید جیبرلیک (۱۰ و ۲۰ میکرومولار) موجب بهبود اثرات سوء نمک گردید.

در مطالعه Gomathi and Thandapani, 2005، شوری به میزان ۷ دسی‌زیمنس بر متر موجب کاهش ارتفاع بوته و رشد برگ نیشکر (*Saccharum officinarum* L.) شد، در حالی که کاربرد برگی ۱۵۰ پی‌پی ام اسید جیبرلیک اثرات منفی تنش شوری را کاهش داد. همچنین گزارش شده کاربرد خارجی اسید جیبرلیک آثار منفی تنش شوری را کاهش داده و موجب بهبود ویژگی‌های رشدی در گیاه کنف (*Hibiscus sabdariffa*) (L. گردیده است (Ali *et al.*, 2012). در پژوهش Iqbal and Ashraf, 2013 بر دو رقم گندم تحت تنش شوری نیز، کاربرد اسید جیبرلیک (۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، افزایش عملکرد دانه را از طریق تعادل در جذب یون‌ها و تقسیم‌بندی آن‌ها درون ریشه و شاخصاره، القا کرد.

کشت گواوا، معروف به سیب مناطق گرمسیر (Bose and Mitra, 1996)، در استان‌های هرمزگان و سیستان و بلوچستان از قدامت زیادی برخوردار است و میوه آن در میان مردم بومی این مناطق، معروف به زیتون محلی است (پژمان و محبی، ۱۳۸۰). بر اساس آمارنامه وزارت جهاد کشاورزی در سال

تهیه عصاره جهت سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: پس از توزین ۰/۵ گرم برگ تازه و پودر کردن با ازت مایع، میزان یک سی سی از محلول استخراج (حاوی ۱۰۰ سی سی بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار، ۰/۰۳۷۲ گرم EDTA و یک گرم PVP) به آن اضافه گردید. مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ (۱۲۰۰۰ دور در دقیقه) گردید. درنهایت از مایع رویی جهت تعیین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز استفاده گردید (Dhindsa *et al.*, 1981).

ارزیابی فعالیت آنزیم کاتالاز: بدین منظور ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج شده در مرحله قبل، با یک میلی‌لیتر از محلول واکنش کاتالاز (حاوی بافر فسفات‌پتابسیم ۵۰ میلی‌مولار pH برابر ۷ و پراکسیدهیدروژن ۱۵ میلی‌مولار) ترکیب، سپس جذب نمونه در طول موج ۲۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (Cecil CE2501) قرائت گردید. ضریب خاموشی استفاده شده برای محاسبه واحد آنزیمی معادل $39/4 \text{mM}^{-1} \text{Cm}^{-1}$ می‌باشد (Dhindsa *et al.*, 1981).

ارزیابی فعالیت آنزیم پراکسیداز: بدین منظور ۳۳ میکرولیتر از عصاره استخراج با یک میلی‌لیتر از محلول واکنش پراکسیداز (حاوی ۱۳ میلی‌مول گوایکول و ۵ میلی‌مول پراکسیدهیدروژن و ۵۰ میلی‌مول بافر فسفات‌پتابسیم با pH ۷) ترکیب، سپس جذب نمونه در طول موج ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت گردید. ضریب خاموشی استفاده شده برای محاسبه واحد آنزیمی معادل $26/6 \text{mM}^{-1} \text{Cm}^{-1}$ می‌باشد (Chance and Maehly, 1995).

ارزیابی فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز: بدین منظور ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره استخراج با یک میلی‌لیتر از محلول واکنش پیروگالول (حاوی ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات‌پتابسیم ۵۰ میلی‌مولار و ۲۰۰ میکرولیتر پیروگالول ۰/۰۲ مولار) ترکیب، سپس جذب نمونه در طول موج ۴۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت گردید. ضریب خاموشی استفاده شده برای محاسبه واحد آنزیمی معادل $26/4 \text{mM}^{-1} \text{Cm}^{-1}$ می‌باشد (Kar and Mishra, 1976). آندازه‌گیری میزان کلروفیل (a, b و کل) و کاروتونوئید: جهت تعیین میزان کلروفیل و کاروتونوئید، ۰/۵ گرم از نمونه

جوانه‌زنی اولیه بذر این گیاه اغلب در خاک و آب شور صورت می‌گیرد و گزارشی از کاربرد اسید جیبریلیک بر جوانه زنی بذر این گیاه در این شرایط موجود نیست، لذا بر همکنش اسید جیبریلیک و شوری بر واکنش فیزیولوژیک دانه رُست گواوا، در راستای تخفیف تنش، مساله اصلی مورد توجه در این تحقیق می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی مواد گیاهی و طرح آزمایشی: به منظور بررسی اثر متقابل شوری کلرید سدیم و اسید جیبریلیک بر خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک دانه‌ال گواوا، تحقیق حاضر در سال ۱۳۹۵ و در آزمایشگاه با غبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه هرمزگان انجام شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد و به منظور کاهش خطاهای آزمایشی، تیمارها به صورت تصادفی در واحد آزمایشی پخش گردید. تیمارها شامل شوری با نمک کلرید سدیم در سه سطح (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) و تیمار تنظیم‌کننده رشد اسید جیبریلیک در سه سطح (صفرا، ۲۵۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام) در ۴ تکرار بود. به منظور اجرای آزمایش، ابتدا میوه‌های گواوا در مرحله کاملاً رسیده از نهالستانی واقع در شهرستان میناب تهیه و به آزمایشگاه منتقل گردید. بذرها از میوه جدا و در معرض جریان هوا در شرایط آزمایشگاه خشک شدند. کلیه بذرها با محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۰۵٪ به مدت ۱۰ دقیقه، ضدغونی شدند. سپس تیمار اسید جیبریلیک مربوطه (در خصوص غلظت صفر اسید جیبریلیک، غوطه‌وری در آب مقطر)، به مدت نیم ساعت و به صورت غوطه‌وری اعمال گردید. پس از آن در هر واحد آزمایشی (هر پتری دیش) تعداد ۲۵ بذر تیمار شده کاشته شد. آبیاری روزانه هر واحد آزمایشی با محلول حاوی تیمار نمکی مربوطه (در خصوص غلظت صفر نمک، آبیاری روزانه با آب مقطر)، انجام شد. بعد از ۲۸ روز که سرعت جوانه‌زنی ثابت شد (شروع جوانه‌زنی روز ۱۴ آم بود)، نمونه‌برداری از برگ‌ها جهت اندازه‌گیری مشخصات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی صورت گرفت. در این زمان کلیه گیاه‌چه‌ها دارای ۲ برگ بودند.

معنی دار بود. تیمار با اسید جیرلیک نیز بر کلیه صفات به جز کاتالاز تاثیر معنی داری داشت. همچنین اثر متقابل شوری و جیرلین بر کاتالاز، پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، درصد نشت یونی و محتوای کاروتوئید معنی دار بود (جدول ۱).

ارزیابی فعالیت آنزیم کاتالاز: تنش شوری باعث افزایش میزان آنزیم کاتالاز گردید به طوری که بیشترین میزان آنزیم کاتالاز در تیمار شوری ۱۰۰ میلی مولار و اسید جیرلیک صفر (۱۲۹/۹۱) میکرومول در دقیقه در یک گرم وزن تازه) و کمترین میزان آن تیمار شوری صفر و اسید جیرلیک صفر (۳۳/۷۱) میکرومول در دقیقه در یک گرم وزن تازه مشاهده گردید. کاربرد اسید جیرلیک باعث کاهش میزان آنزیم کاتالاز در برگ دانه ای گواوا گردید. پایین ترین میزان آنزیم در تیمار شوری صفر و اسید جیرلیک ۵۰۰ پی پی (ام ۴/۲۶) میکرومول در دقیقه در یک گرم وزن تازه مشاهده گردید (شکل ۱). این نتیجه همسو با نتایج Atak و همکاران (۲۰۰۷) بود.

کاتالاز یکی از آنتی اکسیدان های آنزیمی است که واکنش های زنجیره ای رادیکال های آزاد را متوقف و از گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو محافظت می کند. لذا در شرایط بروز تنش Rukmini *et al.*, (Vinchnevetskiania and Roy, 2001; 2004 این آنزیم افزایش می باید (اسید جیرلیک در شرایط شوری از طریق تحريك ستز آنزیم کاتالاز و درنتیجه جاروب کردن رادیکال های آزاد، اثرات منفی این تنش را کاهش می دهد (Ali *et al.*, 2012).

ارزیابی فعالیت آنزیم پراکسیداز: بر اساس نتایج تحقیق، تنش شوری منجر به کاهش و تیمار کمکی با اسید جیرلیک موجب افزایش میزان آنزیم پراکسیداز در برگ دانه ای گواوا گردید. به طوری که فعالیت آنزیم از مقدار ۱۴/۷۸ (میکرومول در دقیقه در یک گرم وزن تازه) در تیمار شوری ۱۰۰ میلی مولار و اسید جیرلیک صفر به ۱۸/۵۰ (میکرومول در دقیقه در یک گرم وزن تازه) در تیمار شوری ۱۰۰ میلی مولار و اسید جیرلیک ۵۰۰ پی پی (ام رسید. میزان آنزیم در تیمار شاهد معادل ۲۱/۱۲ میکرومول در دقیقه در یک گرم وزن تازه بود (شکل ۲). نیاکان و زنگنه (۱۳۹۳)، نیز گزارش کردند تنش غیرزیستی

برگ توزین و در هاون چینی با ازت مایع پودر گردید. سپس ۱۰ سی سی استون ۸۰ درصد به آن افزوخته و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. محلول شفاف رویی جهت قرائت میزان جذب نوری در طول موج های ۴۷۰، ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر استفاده شد. درنهایت میزان کلروفیل (a و b)، کلروفیل کل و کاروتوئید با استفاده از روابط یک الی چهار محاسبه گردید (Arnon, 1949)

$$\text{Chl}_a (\text{mg g}^{-1} \text{ FW}) = (12.25 * A_{663}) - (2.79 * A_{645}) \quad (1)$$

$$\text{Chl}_b (\text{mg g}^{-1} \text{ FW}) = (21.21 * A_{645}) - (5.1 * A_{663}) \quad (2)$$

$$\text{Chl}_{\text{total}} (\text{mg g}^{-1} \text{ FW}) = (20.21 * A_{645}) + (8.02 * A_{663}) \quad (3)$$

$$C_{x+c} (\text{mg g}^{-1} \text{ FW}) = ((1000 * A_{470}) - (1.8 * \text{Chl}_a) - (85.02 * \text{Chl}_b)) / 198 \quad (4)$$

(x=xanthophylls and C= carotenes)

ارزیابی نشت یونی: اندازه گیری درصد نشت یونی می تواند شاخص خوبی در تعیین میزان پایداری غشاء باشد. بدین منظور برگ های تازه را با آب مقطر شسته و سپس با آب دوبار تقطیر آبکشی گردید. از هر برگ ۰/۱ گرم توزین و درون ارلن حاوی ۱۰ میلی لیتر آب دو بار تقطیر قرار داده شد. سپس در حمام آب گرم با دمای ۴۰ درجه به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت و هدایت الکتریکی محتوای ارلن توسط ای سی متر (مدل Tetracon 325)، اندازه گیری و به عنوان EC₁ ثبت شد. ظرف حاوی نمونه به مدت ۱۵ دقیقه در حمام بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد و مجددا هدایت الکتریکی قرائت و به عنوان EC₂ ثبت گردید. درصد نشت یونی از رابطه پنج محاسبه گردید (Sairam and Srivastava, 2002).

$$\% \text{ درصد نشت یونی} = (\text{EC}_1 / \text{EC}_2) * 100 \quad (5)$$

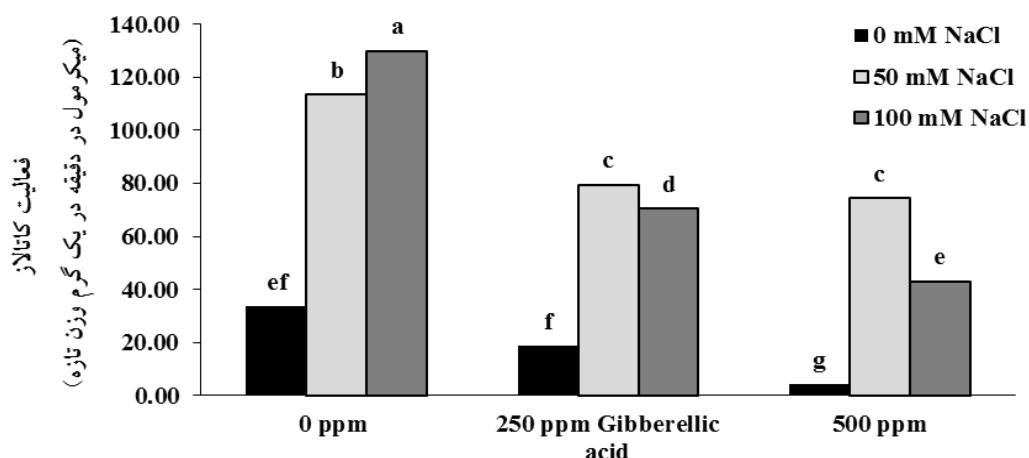
تجزیه و تحلیل داده ها: داده های به دست آمده به صورت فاکتوریل دو عاملی در قالب کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم افزار MSTATC مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. میانگین داده ها با استفاده از آزمون دانکن مقایسه گردید. ترسیم نمودار های مربوطه در برنامه Excel 2013 انجام شد.

نتایج و بحث

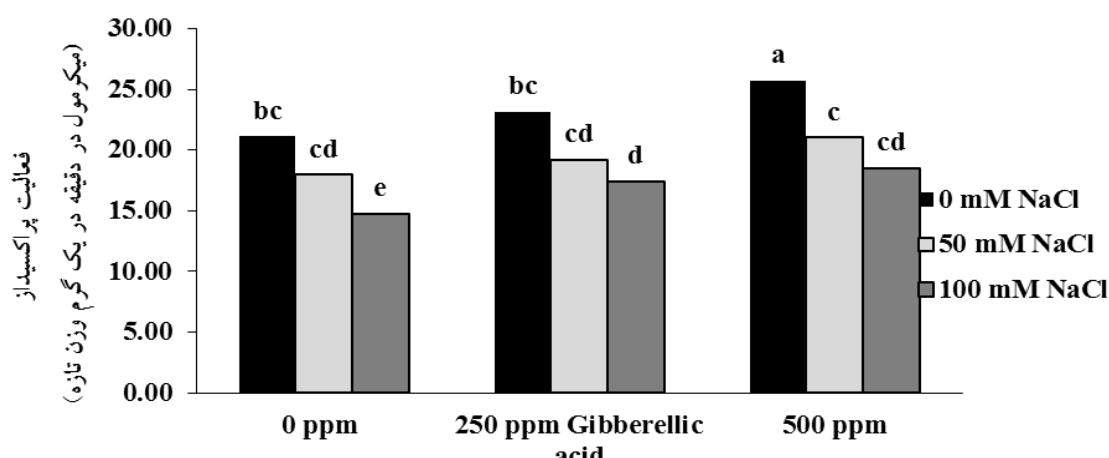
تأثیر شوری بر میزان کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز

جدول ۱- برهم کنش شوری و جیرلیک اسید بر مشخصه های بیوشیمیائی و فیزیولوژیک گواوا

منبع تغییر	آزادی	درجه	کاتالاز	پراکسیداز	پلی فنل اکسیداز	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتینوئید	نشت یونی
شوری	۲	**۷۶۹/۱۲	**۱۳/۱۲	*۷۲۳/۴۳	**۲/۵۵	**۱۲/۶۷	۲/۹۸	۲۱/۸	۰/۱۳
اسید جیرلیک	۲	۲۴۹/۶۹	*۱۳/۱۲	*۱۴۳۳/۶۱	**۳۴۷/۷۴	**۰/۸۰	**۲۳/۵۶		
شوری * اسید جیرلیک	۴	**۵۱۴/۲۲	**۶۹/۸۷	**۷۲۵/۸۳	*۰/۱۳	۷/۲۸	۱/۷۵		**۳۴/۸۷
خطا	۲۴	۱۶۵/۵۴	۴۲/۱۶	۱۴۳/۱۴	۰/۷۱	۰/۹۲	۰/۱۲		۰/۱۳
ضریب تغییرات		۱۲/۴۳	۲۵/۷۵	۹۳/۰۱	۱۶/۵۵	۲۱/۶۶	۲۰/۵۳	۲۷/۳۵	۱۳/۹۹



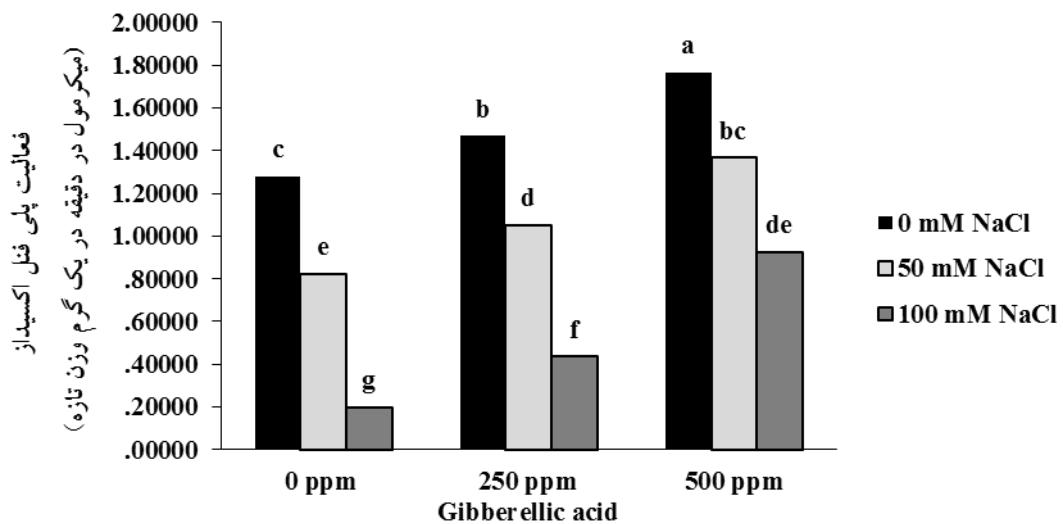
شکل ۱- برهم کنش شوری کلرید سدیم و اسید جیرلیک بر فعالیت آنزیم کاتالاز گواوا، حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده ای عدم معنی داری در سطح یک درصدی باشد.



شکل ۲- برهم کنش شوری کلرید سدیم و اسید جیرلیک بر فعالیت آنزیم پراکسیداز گواوا، حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده ای عدم معنی داری در سطح یک درصدی باشد.

پراکسیدازها در لیگنینی شدن دیواره سلولی، کاتابولیسم اکسین، مقاومت در برابر پاتوژنها و تحمل به شوری نقشی می‌گردد.

باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در ریشه و برگ می‌گردد.



شکل ۳- برهم‌کنش شوری کلرید سدیم و اسید جیبرلیک بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز گواوا ، حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم معنی داری در سطح یک درصد می‌باشد.

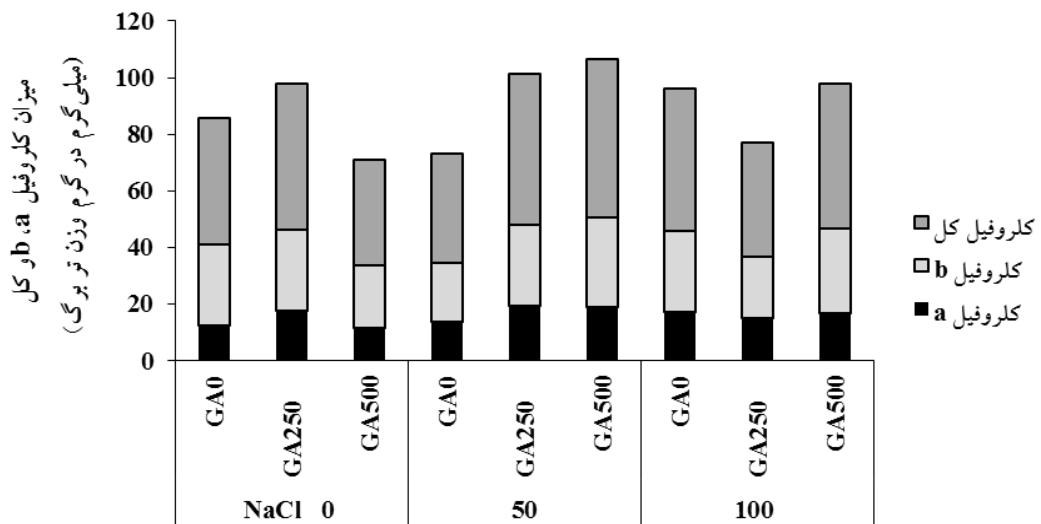
(and Kazemi, 2002). اسید جیبرلیک اما، تحمل به شوری را با حفظ فعالیت آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز، پراکسیداز و سوپر-اکسیدیسموتاز، بهبود می‌بخشد. بدین ترتیب کاربرد اسید جیبرلیک باعث رشد مطلوب گیاهچه و پایداری آن تحت شرایط شوری می‌گردد (Levent Tuna *et al.*, 2008).

اندازه‌گیری میزان کلروفیل (b.a و کل) و کاروتونئید: بنا به نتایج تحقیق حاضر، شوری باعث کاهش میزان کلروفیل^a، کلروفیل b و کلروفیل کل و کاروتونئید گردید (شکل ۴). با افزایش غلظت نمک از ۵۰ به ۱۰۰ میلی‌مولار این کاهش بیشتر بود. این یافته همسو با نتایج صفری و همکاران (۱۳۹۶) بود که به کاهش رنگدانه‌های فتوسترزی در شرایط تنفس شوری اشاره کردند. تیمار با هر دو سطح اسید جیبرلیک (۵۰ و ۵۰۰ پی بی ام)، باعث افزایش میزان رنگدانه‌های مذکور گردید (شکل ۴). کمترین میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل مربوط به تیمار شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و اسید جیبرلیک صفر به ترتیب با مقادیر، ۱۴/۳۲، ۱، ۲۴/۷۷ و ۴۳/۱۵ (میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) و بیشترین مقادیر کلروفیل a (۲۱/۷۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ)، کلروفیل b (۳۷/۳۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) و کلروفیل کل (۶۵/۲۰ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) مربوط به تیمار شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و اسید جیبرلیک ۲۵۰

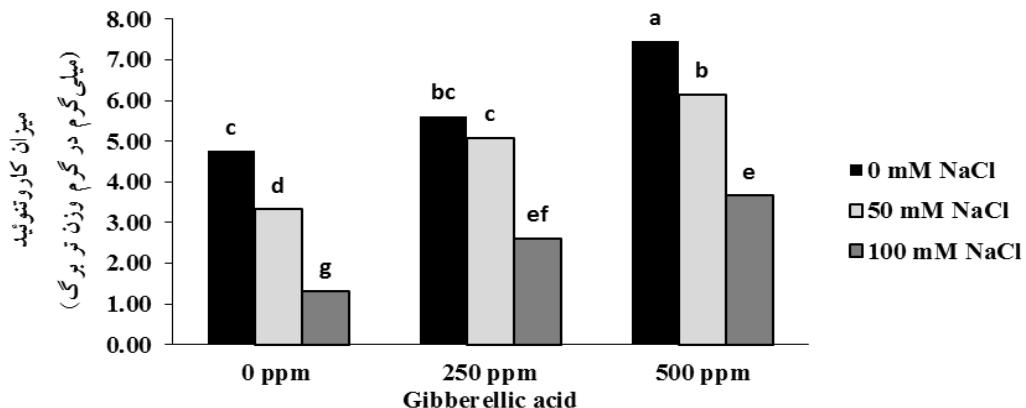
گلیدی ایفا می‌کند (Atak *et al.*, 2007). جیبرلین نقش مهمی در تنظیم ژن‌های القاشده تحت تنفس و پاسخ‌های گیاهان به محیط خارج دارد. درواقع در گیاهان تحت تنفس، جیبرلین با فعال نمودن آنزیم‌های خانواده پراکسیداز، در مقابله با تنفس‌ها ایفای نقش می‌کند (Shah, 2007).

ارزیابی فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز: مطابق با نتایج به دست آمده میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز، با افزایش میزان شوری کاهش یافت. کمترین میزان آنزیم مذکور در تیمار شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و اسید جیبرلیک صفر (۱/۱۹ میکرومول در دقیقه در یک گرم وزن تازه) برگ و بیشترین میزان آن در تیمار شوری ۰ و اسید جیبرلیک ۵۰۰ پی بی ام (۱/۷۷ میکرومول در دقیقه در یک گرم وزن تازه) مشاهده گردید (شکل ۳). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنفس شوری در تحقیق عنافجه و همکاران (۱۳۹۶). نیز گزارش شده است.

پلی فنل اکسیدازها، در اکسیداسیون فنل‌ها به کوئینون‌ها و تشکیل لیگنین در سلول‌های گیاهی نقش دارند. این آنزیم‌ها در فعالیت‌های دفاعی و فوق حساسیت دخالت داشته و واکنش‌های قهقهه‌ای شدن بافت‌های زخمی و تشکیل سدهای دفاعی در مقابل عوامل بیماری‌زا را هدایت می‌کنند (Mohammadi



شکل ۴- برهم‌کنش شوری کلرید سدیم و اسید جیبرلیک بر محتوای کلروفیل (a، b و کل) گواوا ، حروف مشابه در هر ستون نشان دهندهی عدم معنی‌داری در سطح یک درصد می‌باشد.



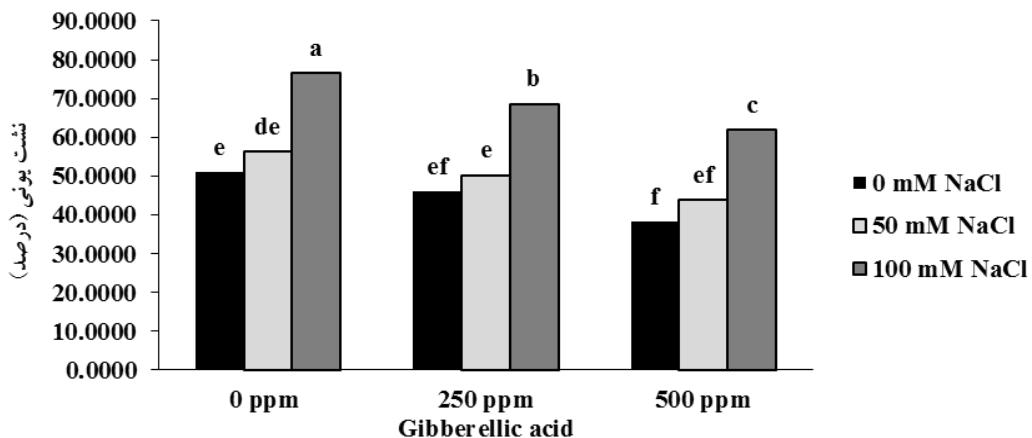
شکل ۵- برهم‌کنش شوری کلرید سدیم و اسید جیبرلیک بر محتوای کاروتینوئید گواوا ، حروف مشابه در هر ستون نشان دهندهی عدم معنی‌داری در سطح یک درصد می‌باشد.

یافته‌های تحقیق حاضر تائیدی بر نتایج Ben-Asher و همکاران (۲۰۰۶)، در خصوص کاهش کاروتینوئیدها در شرایط شور است.

شوری باعث تخریب ساختار کلروپلاست، تجزیه کلروفیل و تغییر در محتوای کاروتینوئیدها می‌شود (Ben-Asher *et al.*, 2006). کاروتینوئیدها از رنگیزه‌های کلیدی و مهم سیستم آنتی اکسیدانی در گیاهان و حساس به تخریب اکسیداتیو هستند (Havaux, 1998). کاهش میزان کاروتینوئیدها در شرایط تنفس، ناشی از نقش آنتی اکسیدانی آنها در حفظ ساختار کلروفیل و درنتیجه متلاشی شدن ساختار خود کاروتینوئید می‌باشد

پی‌پی ام بود(شکل ۴).

افزایش شوری موجب کاهش کاروتینوئید نسبت به شاهد شد؛ با افزایش غلظت اسید جیبرلیک از صفر تا ۲۵۰ و ۵۰۰ پی‌پی ام، در تیمار شوری صفر، مقدار کاروتینوئید افزایش یافت. حداقل مقدار کاروتینوئید (۷/۴۵ میلی‌گرم بر گرم وزن ترا برگ) در تیمار شوری ۰ و اسید جیبرلیک ۵۰۰ پی‌پی ام مشاهده شد. کمترین مقدار آن (۱/۳۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ) نیز متعلق به تیمار شوری فاقد اسید جیبرلیک بود. با توجه به اینکه اثر متقابل شوری و جیبرلیک اسید، تنها بر محتوای کاروتینوئید معنی‌دار بود فقط نمودار این رنگدانه ترسیم گردید (شکل ۵).



شکل ۶- برهم‌کنش شوری کلرید سدیم و اسید جیبرلیک بر میزان نشت یونی گواوا، حروف مشابه در هر ستون نشان دهندهٔ عدم معنی داری در سطح یک درصدی باشد.

بهبود رشد گیاهان می‌گردد (Ashraf and Karim, 2002).

نتیجه‌گیری کلی

هر مواد گیاهی جزئی فعال در سیگنال رسانی به سلول‌های گیاهی هستند که نوع و شدت واکنش گیاه نسبت به شرایط رشدی را القا می‌کنند. با بروز تنش‌های غیرزیستی سطح هرمون‌های گیاهی و درنتیجه رشد گیاه تغییر می‌کند (Iqbal and Ashraf, 2013; Tuna *et al.*, 2008). تیمار خارجی با تنظیم‌کننده‌های رشد، در تخفیف خسارات واردۀ از تنش‌های Stavir *et al.*, 1998b; Stavir *et al.*, 1998a; Lough and Lucas, 2006; 1998a مؤثر است (Lough and Lucas, 2006).

بر اساس نتایج این تحقیق، شوری باعث کاهش میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتینوئید، میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز و افزایش در فعالیت کاتالاز در دانه‌ال گواوا گردید. تیمار اسید جیبرلیک باعث کاهش اثرات تنش اکسیداتیو ناشی از تنش شوری و درنتیجه روند کاهشی در فعالیت آنزیم کاتالاز و بهبودی در سایر صفات فیزیولوژیک گردید.

شوری کلرید سدیم حتی در سطح ۵۰ میلی مولار علائم فیزیولوژیک و بیوشیمیائی خود را آشکار ساخت. اسید جیبرلیک ۵۰۰ پی ام باعث بازگشت گیاه با شرایط رشدی نرمال با سازوکار طبیعی گردید. عملکرد فیزیولوژیک گیاه در

(Caspi *et al.*, 2000). گزارش شده تیمار با اسید جیبرلیک موجب افزایش رنگیزهای گیاهی از جمله کلروفیل a و کلروفیل b و کلروفیل کل می‌گردد (Ali *et al.*, 2012).

ارزیابی نشت یونی: تحت تنش شوری، درصد نشت یونی در برگ افزایش یافت (شکل ۶). بیشترین درصد نشت یونی مربوط به تیمار شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و اسید جیبرلیک صفر (۷۶/۶۴٪) و کمترین درصد نشت یونی مربوط به تیمار شوری صفر و اسید جیبرلیک ۵۰۰ پی ام (۳۸/۲۰٪) بود. تیمار اسید جیبرلیک، درصد نشت یونی کاهش یافت (شکل ۶). علی‌نیای فرد و همکاران (۱۳۸۷)، با بررسی تاثیر مواد آنتی اکسیدانت و شوری بر شاخص‌های مقاومت و پایداری غشاء یاخته در زیتون، گزارش کردند شوری باعث کاهش شاخص پایداری غشاء، شاخص تحمل ریشه و شاخص تحمل شاخصاره (که همگی تابعی از میزان نشت یونی هستند) شد. همچنین سلاح ورزی و همکاران (۱۳۹۰)، با مطالعه گیاه مرزنگوش در تنش شوری گزارش کردند نشت یونی برگ در بالاترین سطح نمک (۱۵۰ میلی‌مولار) به بالاترین مقدار خود رسید. افزایش نشت یونی در شرایط تنش شوری در توت‌فرنگی (دهقان و همکاران، ۱۳۹۲) و گردو (صفری و همکاران، ۱۳۹۶) نیز گزارش شده است. کاربرد ترکیب آنتی اکسیدان، نشت یونی را تا ۵۰٪ بهبود بخشد. به نظر می‌رسد اسید جیبرلیک نیز، با بهبود نفوذپذیری غشاء سلول، منجر به

نظر می‌رسد استفاده از اسید جیبرلیک در خزانه‌ها و نهالستان‌های تولید دانه‌ال گواوا بتواند به عنوان تیماری کارآمد جهت مواجهه بعدی این نهال‌ها با آب و خاک شور متمرث مر واقع شود.

سپاسگزاری:

از حوزه معاونت محترم پژوهش و فناوری دانشگاه هرمزگان به دلیل تأمین هزینه‌های انجام این تحقیق، سپاسگزاری می‌گردد.

هر شرایط رشدی (نرمال یا تنفس) حاصل برهمکنش سازوکارهای دفاعی درونی گیاه (آنزیمی و یا غیر آنزیمی) و راهکارهای مدیریتی بیرونی می‌باشد. در تحقیق حاضر افت عملکرد فیزیولوژیک دانه‌ال گواوا به شکل افزایش محسوس در آنزیم کاتالاز و تخریب رنگدانه‌های فتوستتری (خصوصاً کاروتونوئیدها) نمود داشت. تیمار کمکی توانست تعادل فیزیولوژیک را به نفع شرایط رشدی طبیعی بازگرداند. لذا به

منابع

- پژمان، ح. و محبی، ع. (۱۳۸۰) گواوا، موسسه تحقیقات خرما و میوه‌های گرم‌سیری کشور، سازمان تحقیقات آموزشی و ترویج کشاورزی، نشریه ترویجی، تهران.
- دهقان، ف.، غلامی، م. و عزیزی، ع. (۱۳۹۲). بررسی اثر برهمکنش محلول‌پاشی برگی آسکوربیک اسید و تنفس شوری بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی توت‌فرنگی سلوا. فناوری تولیدات گیاهی. ۱۳:۴۷-۵۶.
- سلاح ورزی، ی.، گلدانی، م.، نباتی، ج. و علیرضایی، م. (۱۳۹۰) تاثیر کاربرد برون‌زای آسکوربیک اسید بر برخی از تغییرات فیزیوشیمیایی مرزن‌جوش (*Origanum majorana* L.) تحت تنفس شوری، مجله علوم باطنی ایران. ۴۲: ۱۶۷-۱۶۹.
- سلطانی، ا.، خاوری نژاد، ر.، انگجی، س.ع. و نجفی، ف. (۱۳۹۵) اثر برهمکنش شوری و جیبرلیک اسید بر محتوای رنگیزه‌های فتوستتری و برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان دو رقم نخود ایرانی (*Cicer arietinum* L.), فرآیند و کارکرد گیاهی، ۵: ۱۷۹-۱۸۸.
- صفری، س.، عرفانی مقدم، ج. و زارع، م.ج. (۱۳۹۶). اثرات سالیسیلیک اسید بر برخی از ویژگی‌های مورفو/فیزیولوژیکی و بیوشیمیائی دانه‌ال گرد و تحت تنفس شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی. ۶: ۲۲۳-۲۳۵.
- عباسپور، ح. و رضایی، ح. (۱۳۹۳) اثر جیبرلیک اسید بر سرعت واکنش هیل، رنگریزه‌های فتوستتری و ترکیبات فنلی در گیاه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) در شرایط تنفس خشکی، مجله پژوهش‌های گیاهی، ۲۷: ۸۹۳-۹۰۳.
- عباسی، م.، حیدری، م. و رحیمی، م. (۱۳۹۲). بهبود جوانه زنی بذر گواوا (*Psidium guajava*) با استفاده از خراش دهی با اسید. نشریه علوم باطنی. ۲۷: ۳۹۹-۳۹۴.
- علی‌نیای فرد، س.، طباطبائی، س.ج.، حاجی‌لو، ج. و سیفی‌کلهر، م. (۱۳۸۷) واکنش رشدی و فیزیولوژیکی زیتون به مواد آنتی‌اکسیدانت و شوری، مجله علوم و فنون باطنی ایران. ۹: ۲۸۴-۲۷۵.
- عنافجه، الف.، صالحی‌سلمی، م.، دانشور، م.ح. و مرآتان، ع.ا. (۱۳۹۶) اثر تنفس شوری بر رشد، تنشیم کننده‌های رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی گیاه شورپستند خرفه ساحلی. فرآیند و کارکرد گیاهی. ۶: ۲۶۷-۲۷۸.
- لک، ر. (۱۳۹۰) بررسی آثار جیبرلین و آسکوربیات خارجی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تجمع پرولین، در ریشه و اندام هوایی دانه رست‌های دو رقم کلزا تحت شرایط شوری. اولین همایش ملی مباحث نوین در کشاورزی، ساوه، ایران.
- نیاکان، م. و زنگنه، ا. (۱۳۹۳) اثر تنفس خشکی و سالیسیلات بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، گیاه دارویی شبکیله. نشریه پژوهش‌های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران. ۳۳: ۴۵-۳۸.
- Ahmed, P., Jaleel, C., Azooz, M. and Gowher, N. (2009) Generation of ROS and non-enzymatic antioxidants during abiotic stress in plants. Botany Research International 2: 11-20.
- Ali-Dinar, H.M., Ebert, G. and Ludders, P. (1999) Growth, chlorophyll content, photosynthesis and water relations in guava (*Psidium guajava* L.) under salinity and different nitrogen supply. Gartenbauwissenschaft: 64:54-59.

- Ali, H. M., Siddiqui, M. H., Basalah, M. O., Al- Whaibi, M. H., Sakran, A. M. and Al-Amri, A. (2012) Effect of gibberellic acid on growth and photosynthetic pigments of *Hibiscus sabdariffa* L. African Journal of Biotechnology 11: 800-804.
- Arnon, D. I. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in: (*Beta vulgaris*). Journal of Plant Physiology. 24: 1-15.
- Ashraf, M. and Karim, F. (2002) Interactive effects of gibberellic acid (GA₃) and salt stress on growth, ion accumulation and photosynthetic capacity in two spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars differing in salt tolerance. Plant Growth regulator. 36: 49-59.
- Atak, C., Celik, O., Olgun, A., Alikamanoglu, S. and Rzakoulieva, A. (2007) Effect of magnetic field on peroxidase activities of soybean tissue culture. Biotechnology 2: 21-25.
- Ben-Asher, J., Tsuyuki, I., Bravdo, B. A. and Sagih, M. (2006) Irrigation of grapevines with saline water. I. Leaf area index, stomatal conductance, transpiration and photosynthesis. Agricultural Water Management. 83: 13-21.
- Bose, T.K. and Mitra, S.K. (1996). Fruit Tropical and subtropical. Naya Prokash. Cornell University.
- Caspi, V., Droppa, M., Horrath, G., Malkin, S., Marder, J. B and Raskin, V.I. (2000) The effect of copper on chlorophyll organization during greening of barley leaves. Photosynthesis Research. 62: 165-174
- Cavalcante, I. H. L., Cavalcante, L. F., Hu, Y. and Cavalcante, M. Z. B. (2007) Water salinity and initial development of four Guava (*Psidium guajava* L.) cultivars in North-Eastern Brazil. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research. 15: 71-80.
- Chance, B. Maehly, AC. (1995) Assay of peroxidases. Methods enzymol. 11: 755 – 764.
- Conklin, P.L. (2001) Recent advances in the role and biosynthesis of ascorbic acid in plants. Plant, Cell and Environment. 24: 383–394.
- Dhindsa R.S., Plumb-Dhindsa P., Thorpe T. (1981) Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. Journal of Experimental Botany. 32: 93–101.
- Gomathi, R. and Thandapani, V (2005) Role of gibberellins and polyamines in relation to salt tolerance of sugarcane genotypes (*Saccharum officinarum* L.). Plant Archives. 5: 293-296.
- Havaux, M. (1998) Carotenoids as membrane stabilizers in chloroplasts. Trends in Plant Science. 3: 147–151.
- Hooda P.S. and Yamdagni R. (1991) Salt tolerance of guava (*Psidium guajava* L.) and amla (*Emblica officinalis*) at germination stage. Research and Development Technical Report. 8(1): 36-38.
- <http://amar.maj.ir/dorsapax/userfiles/file/bagh-94.pdf>
- Iqbal M. and Ashraf, M. (2013) Gibberellic acid mediated induction of salt tolerance in wheat plants: Growth, ionic partitioning, photosynthesis, yield and hormonal homeostasis. Environmental and Experimental Botany. 86: 76– 85.
- Kar M. and Mishra D. (1976) Polyphenoloxidase activity during rice leaf senescence. Plant physiology. 57: 315- 319.
- Conklin, P.L. (2001) Recent advances in the role and biosynthesis of ascorbic acid in plants. Plant, Cell and Environment. 24: 383–394.
- Kaul M.K., Mhetra P.K. and Baskhi R.K. (1988) Note on effect of different salts on seed germination of *Psidiumguajava* L. cv. L-49 (Sadar). Current agriculture. 12(1-2): 83-85.
- Kaya C., Tuna, L. and Higgs D. (2006) Effect of silicon on plant growth and mineral nutrition of maize grown under water – stress condition. Journal of Plant Nutrition. 29:1469- 1480.
- Labanauskas C.K., Stolzy L.H. and Handy M.F. (1981) Protein and free amino acids in wheat grain affected by soil types and salinity levels in irrigation water. Plant and soil. 59:299-316.
- Levent Tuna A., Cengiz K., Murat D. and David H. (2008) The combined effects of gibberellic acid and salinity on some antioxidant enzyme activities, plant growth parameters and nutritional status in maize plants. Environmental and Experimental Botany. 62: 1-9.
- Lough T. J., Lucas W.J. (2006) Integrative plant biology: role of phloem long-distance macromolecular trafficking. Annual Review of Plant Biology. 57: 203–232.
- Makhija M., Dhankhar O.P., Singhrot R.S. (1980) Effect of soil salinity levels on growth and leaf mineral composition of guava (*Psidium guajava* L.). Haryana Journal of Horticultural Science. 9(1-2): 21-25.
- Mittler R. (2002) Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. Trends in Plant Science. 7: 405-415.
- Mittler R., Vanderauwera S., Gollery M. and Breusegem F.V. (2004) Reactive oxygen gene network of plants. Trends in Plant Science. 9: 490-498.
- Mohammadi M. and Kazemi H. (2002) Changes in peroxidase and polyphenol oxidase activities in susceptible and resistance wheat heads inoculated with *fusarium graminearum* and induced resistance. Plant Science. 162: 491-498.
- Rukmini M.S., Benedicta D.S. and Vivan D.S. (2004) Superoxide dismutase and catalase activities and their correlation with malon dialdehyde in Schizophrenic Patients. Indian journal of Clinical Biochemistry. 19(1): 114-118.
- Sairam R.K. and G.C. Srivastava (2002) Changes in antioxidant activity in subcellular fraction of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. Plant Science. 162: 897-904
- Sakhabutdinova A.R., Fatkhutdinova D.R., Bezrukova M.V., and Shakirova F.M. (2003) Salicylic acid prevents the

- damaging action of stress factors on wheat plants. Bulgarian Journal of Plant Physiology. (Special Issue): 314-319.
- Shah S.H. (2007) Effect of salt stress on mustard as affected by gibberellic acid application. General and Applied Plant Physiology. 33(1-2): 97-106.
- Smirnoff N. (1993) The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. New Phytologist. 125: 27-58.
- Stavir K., Gupta A.K. and Kaure N. (1998a) Gibberellic Acid and kinetin partially reverse the effect of water stress on germination and seedling growth in chick pea. Plant Growth Regulation. 25: 29-33.
- Stavir K., Gupta A.K. and Kaure N. (1998b) Gibberellic Acid reverses the effect of salt stress in chick pea (*Cicer arietinum* L.) seedlings by changing amylase activity and mobilization of starch in cotyledons. Plant Growth Regulation. 26: 85-90.
- Tang W. and Newton J. R. (2005) Polyamines reduced salt induced oxidative damage by increasing the activities of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in Virginia pine. Plant Growth Regulation. 46: 31-43.
- Tuna A., Kaya C., Dikilitas M., Higgas D. (2008) The combined effects of gibberellic acid and salinity on some antioxidant enzyme activities, plant growth parameters and nutritional status in maize plants, Environmental and experimental botany. 62: 1-9.
- Vinchnevskania K.D., Roy D.N. (2001) Oxidative stress and antioxidative defence with an emphasis on plants antioxidants. Environmental Review. 7: 31-51.
- Walker R.R., Kriedemann P.E. and Maggs D.G. (1979) Growth, leaf physiology and development in salt-stressed guavas. Australian Journal of Agricultural Research. 30: 477-488.

Ameliorating negative impacts of salinity on physiological characteristics of guava (*Psidium guajava* L.) by application of gibberellic acid

Zahra Pashangeh¹ and, Mansoore Shamili^{2*}

¹ PhD student, Horticulture department, University of Hormozgan
² Assistant Professor, Horticulture department, University of Hormozgan
(Received: 01/12/2017, Accepted: 26/02/2018)

Abstract:

Since gibberellic acid has a critical role in plant tolerance to abiotic stress, therefore in present research, the impact of salt water and gibberellic acid treatment on guava seedlings physiological responses were investigated. The factorial experiment was carried out as a complete randomized design with four replications. Treatments included sodium chloride (0, 50 and 100 mM) and gibberellic acid (0, 250 and 500 ppm). Based on the results, salinity reduced chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoids, peroxidase and polyphenol oxidase activity, whereas it increased catalase activity. Even low salt treatment (50 mM), caused negative effects on physiological and biochemical characteristics. Gibberellic acid (500 ppm) improved physiological properties of the seedlings. So, gibberellic acid application in the nurseries can be used as an effective treatment for the consequent exposure of the guava seedlings to saline soil and water.

Key words: Carotenoid, Catalase, Chlorophyll, Ion leakage, Peroxidase, Polyphenol oxidase

*Corresponding author: shamili@ut.ac.ir