

## تأثیر سالیسیلیک اسید بر برخی خصوصیات رویشی و بیوشیمیایی خیار (*Cucumis sativus* L.) تحت شرایط تنش مس

رسول آذر می\*

گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۱۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۰۷/۲۹)

### چکیده

مسمومیت خاک و آب با مس مشکلات جدی در رشد و تولید گیاهان و سلامتی انسان ایجاد می‌کند. از آنجا که کاربرد برونزای سالیسیلیک اسید می‌تواند اثرات نامطلوب تنش مس را تعدیل نماید. در این تحقیق، به منظور بررسی تأثیر سمیت مس و سالیسیلیک اسید بر رشد، عملکرد و خصوصیات فیزیولوژیکی خیار، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه سطح مس (۲۳، ۴۷ و ۹۴ میکرومولار) و دو سطح سالیسیلیک اسید (صفر و ۷۵۰ میکرومولار) با سه تکرار تحت شرایط کشت بدون خاک اجرا گردید. نتایج نشان داد که تنش مس حجم ریشه، وزن خشک ریشه، سطح برگ و وزن تر و خشک برگ را به صورت منفی تحت تأثیر قرار داد. بیشترین وزن تر ریشه، وزن خشک برگ و نسبت Fv/Fm در غلظت ۲۳ میکرومولار مس هم در تیمار محلول پاشی با سالیسیلیک اسید و هم در تیمار بدون سالیسیلیک اسید به دست آمد. مس در ریشه با شدت بیشتری در مقایسه با ساقه تجمع یافت. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با افزایش غلظت مس در محلول غذایی افزایش یافت و بیشترین فعالیت آسکوربات پراکسیداز در گیاهان تغذیه شده با ۹۴ میکرومولار مس به دست آمد و فعالیت آنها در گیاهان تیمار شده با سالیسیلیک اسید شدیدتر بود در حالیکه فعالیت آنزیم پراکسیداز روند معکوسی نشان داد. حداکثر عملکرد (۵۳۰ گرم در بوته) در غلظت ۲۳ میکرومولار مس و تیمار سالیسیلیک اسید حاصل شد. اما کمترین عملکرد (۲۸۲ گرم در بوته) در غلظت ۹۴ میکرومولار مس و بدون تیمار سالیسیلیک اسید به دست آمد. بر اساس نتایج این آزمایش، به نظر می‌رسد که کاربرد ۷۵۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید می‌تواند اثرهای منفی تنش مس در غلظت‌های ۴۷ و ۹۴ میکرومولار بر رشد و پاسخ‌های بیوشیمیایی خیار را تعدیل نماید.

کلمات کلیدی: اورتو هیدروکسی بنزوئیک اسید، خیار گلخانه‌ای، رشد، فلزات سنگین

### مقدمه

خواهد بود. محصولات کشاورزی در معرض تنش‌های غیرزیستی شدید در مزرعه از قبیل خشکی، شوری و فلزات سنگین قرار دارند. از میان این تنش‌ها، سمیت فلزات سنگین مهمترین عامل محدودکننده است که علاوه بر کاهش رشد گیاه، کیفیت محصولات و غذا را به خطر می‌اندازد. برخی از

جمعیت جهان به سرعت در حال افزایش است و پیش‌بینی می‌شود در سال ۲۰۵۰ میلادی به حدود ۹ میلیارد نفر برسد (FAO, 2009). بنابراین چالش جهانی در آینده غلبه بر گرسنگی جهان از طریق کشاورزی پایدار و تولید مواد غذایی

\* نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: r\_azarmi@uma.ac.ir

فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی و تعدیل تنش‌های غیرزیستی از قبیل شوری، خشکی، غرقابی و علف‌کش‌ها کاربرد دارد (Habibi, 2012; Radwan, 2012). همچنین این هورمون به‌عنوان یک مولکول سیگنالی مهم در گیاهان باعث فعالیت تعدادی از ژن‌های دفاعی گیاه می‌شود (Hayat et al., 2010). Zengin (۲۰۱۴) با بررسی نقش سالیسیلیک اسید تحت شرایط تنش مس در لوبیا دریافتند که سالیسیلیک اسید می‌تواند به‌عنوان تنظیم‌کننده بالقوه رشد، در بهبود رشد گیاه و استفاده از عناصر معدنی، تحت تنش فلزات سنگین به‌کار برده شود. آلودگی زمین‌های کشاورزی به مس می‌تواند از طرق مختلف مانند استفاده از کودها، آفت‌کش‌ها، قارچ‌کش‌ها، استفاده از پسماند فاضلاب‌ها، دفع ضایعات صنعتی و یا تهنشینی آلاینده‌های اتمسفری ایجاد شود (Barker and Mackie et al., 2012; Pilbeam, 2007). منطقه پارس‌آباد مغان یکی از قطب‌های مهم کشاورزی در ایران به خاطر گرم و شرجی بودن مستعد آلودگی به بیماری سفیدک سطحی و دروغی در خیار است و کشاورزان برای پیشگیری از این بیماری از سموم ترکیبات مسی در چند نوبت استفاده می‌کنند و خیار به‌دلیل حساسیت بالا به مسمومیت مس علائم مسمومیت مس را نشان می‌دهد. بر این اساس آزمایشی برای بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف مس و سالیسیلیک اسید بر رشد و نمو خیار اجرا گردید.

#### مواد و روش‌ها

**مواد گیاهی، شرایط رشد و تیمارها:** این آزمایش در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی در فصل بهار سال ۱۳۹۵ اجرا گردید. برای انجام آزمایش بذر خیار گلخانه‌ای (*Cucumis sativus* var. Nagen 792) از شرکت دودمان سبز تبریز تهیه و در سینی‌های محتوی پرلایت کشت شدند. دانه‌ها به مدت ۳۰ روز در خزانه نگهداری و با نصف غلظت محلول غذایی Hoagland و Arnon (۱۹۵۰) که در جدول ۱ نشان داده شده است آبیاری گردید. با ظهور سومین برگ حقیقی دانه‌ها به گلدان‌های

عناصر ریزمغذی از قبیل مس، منگنز و روی در مقادیر اندک برای رشد مطلوب گیاهان ضروری هستند اما در غلظت‌های بالا باعث مسمومیت گیاهان می‌شوند (Marschner, 2012; Wuna and Okieimen, 2011). به‌طور کلی، فلزات سنگین به فلزاتی اطلاق می‌شود که جرم حجمی آنها بیشتر از ۵ گرم در سانتی‌متر مکعب باشند و این عناصر به میزان کم در خاک وجود دارند (Barakat, 2011). غلظت مس در خاک ۲-۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و غلظت آن در گیاه در شرایط کمبود بحرانی ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم در محدوده کفایت ۱۲-۶ میلی‌گرم در کیلوگرم و حد سمیت غلظت بالای ۳۰-۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک گیاه است (Barker and Pilbeam, 2007). جذب بیش از حد مس باعث اختلال در فرایندهای سلولی از قبیل فتوسنتز، تنفس و متابولیسم دیواره سلولی، اختلال در ساختار سلول، غیرفعال‌شدن آنزیم، جلوگیری از رشد گیاه و به خطر افتادن بقا گیاهان می‌شود (Mostofa and Fujita, 2013; Zhao et al., 2010). بیش‌بود مس با ایجاد مسمومیت سیتوپلاسمی و تحریک تنش باعث تأخیر در رشد گیاه، رشد ضعیف ریشه و کلروز برگ می‌شود (Bouazizi et al., 2010). علاوه بر این، سمیت فلزات سنگین در گیاهان باعث عدم تعادل تغذیه گیاه می‌شود به طوری‌که با افزایش غلظت آنها در محلول غذایی غلظت عناصر پتاسیم، منیزیم، کلسیم، سدیم و منگنز در اندام هوایی اسفناج کاهش می‌یابد (Alia et al., 2015). مسمومیت مس با تحریک تنش اکسیداتیو به‌خاطر ویژگی اکسیداسیون و احیاء آن می‌تواند گونه‌های فعال اکسیژن از قبیل اکسیژن منفرد، هیدروژن پراکسید، رادیکال سوپراکسید و هیدروکسیل تولید نماید (Contreras et al., 2009). مقدار بالای گونه‌های فعال اکسیژن آسیب به ماکرومولکول‌ها را تحریک می‌کند (Ahmad et al., 2010). سالیسیلیک اسید به‌واسطه افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از تنش اکسیداتیو جلوگیری می‌کند و به‌عنوان یک هورمون درون‌زا همانند تنظیم‌کننده‌های رشد در گیاهان عمل می‌کند که نقش‌های وسیع اما متفاوت در توسعه آسیب و سازگاری به تنش دارد. سالیسیلیک اسید در تنظیم تعدادی از

جدول ۱- غلظت عناصر معدنی مورد استفاده در محلول غذایی

عنصر	غلظت (μM)	عنصر	غلظت (mM)	عنصر	غلظت (mM)
آهن	۱۷/۸	کلسیم	۴	آمونیم	۰/۴
منگنز	۸	منیزیم	۱/۲	فسفر	۱/۱
بر	۸	نیترات	۱۴/۴	روی	۳
پتاسیم	۵/۶	گوگرد	۲	مولیبدن	۰/۳

یادداشت شد. وزن خشک هر اندام نیز پس از قراردادن به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد در آون فن‌دار اندازه‌گیری شد. قبل از خشک‌کردن برگ‌ها در آون سطح برگ با استفاده از دستگاه سطح برگ‌سنج (LI-COR, Model Li-1300, USA) به ثبت رسید. برای ارزیابی عملکرد، میوه‌ها دو بار در هفته برداشت‌شده و وزن آنها در هر بوته ثبت گردید.

**اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل:** یک هفته قبل از برداشت گیاهان حداکثر عملکرد فتوشیمیایی کوانتومی فتوسیستم ۲ (Fv/Fm) با استفاده از دستگاه فلورومتر (Handy pea Fluorescence, Hansatech, Chlorophyll) از برگ‌های توسعه‌یافته از ساعت ۹-۱۱ قبل از ظهر ثبت گردید.

**تعیین غلظت مس:** برای اندازه‌گیری غلظت مس برگ و ریشه، ابتدا نمونه‌های خشک‌شده در آون با دستگاه خردکننده آسیاب شده و به‌صورت پودر همگن درآمد. سپس نمونه‌های گیاهی همگن به‌روش اسید هضم شدند. سرانجام از عصاره حاصل برای اندازه‌گیری غلظت مس با دستگاه جذب اتمی (Perkin Elmer, Model 110, USA) استفاده شد.

**استخراج عصاره آنزیمی:** مقدار ۰/۵ گرم بافت تر برگ در ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم سرد (۱۰۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷/۵) محتوی پلی‌وینیل پیرولیدون ۱ درصد و EDTA همگن شده و به‌مدت ۲۰ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. مایع رویی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و پروتئین محلول برگ مورد استفاده قرار گرفت.

حاوی پرلایت و کوکوپیت با نسبت ۱:۲ با حجم ۷ لیتر منتقل شدند. گیاهان از مرحله شش برگی با غلظت‌های ۲۳، ۴۷ و ۹۴ میکرومولار مس در محلول غذایی آبیاری شدند. تیمار مس با استفاده از کود سولفات مس ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) تأمین گردید. غلظت ۲۳ میکرومولار مس در محلول غذایی، غلظت بهینه مس در محلول غذایی است و به‌عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد. اما غلظت‌های ۴۷ و ۹۴ میکرومولار مس در محلول غذایی به‌ترتیب بیانگر تنش ملایم و شدید مس می‌باشد. تیمار سالیسیلیک اسید یک هفته قبل از اعمال تیمار مس (پس از استقرار کامل بوته‌ها و در مرحله پنج برگی) در سه مرتبه با فاصله زمانی یک هفته و تیمار شاهد سالیسیلیک اسید با استفاده از آب‌مقطر محلول‌پاشی شدند (حبیبی و همکاران، ۱۳۹۴). برای اطمینان از نفوذ محلول سالیسیلیک اسید از محلول تووین ۲۰ درصد استفاده گردید. pH محلول غذایی با افزودن ۰/۰۲۵ میلی‌لیتر در لیتر فسفریک اسید و ۰/۰۶۲ میلی‌لیتر در لیتر نیتریک اسید، در محدوده ۶/۵ تنظیم شد. هدایت الکتریکی محلول‌های غذایی با آبشویی بستر کشت به‌صورت هفتگی در محدوده ۲/۲-۲ دسی‌زیمنس بر متر ننگه داشته شد. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. فاکتور اول شامل تیمار مس در سه سطح ۲۳، ۴۷ و ۹۴ میکرومولار در محلول غذایی و فاکتور دوم سالیسیلیک اسید در دو سطح صفر و ۷۵۰ میکرومولار بودند.

**اندازه‌گیری شاخص‌های رشد و عملکرد:** در پایان آزمایش برای اندازه‌گیری وزن تر برگ و ریشه، بوته از طوقه قطع و به بخش‌های برگ و ریشه تقسیم‌شده و وزن تر آن

فقط متأثر از اثر اصلی تیمار مس قرار گرفتند (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها مشخص نمود که با افزایش غلظت مس از ۲۳ میکرومولار به ۹۴ میکرومولار در محلول غذایی، حجم و وزن خشک ریشه به ترتیب ۳۲ و ۳۹ درصد کاهش یافت. گیاهان تیمار شده با سالیسیلیک اسید در مقایسه با گیاهان شاهد آن حجم و وزن خشک ریشه بیشتری داشتند (جدول ۳). بیشترین وزن تر ریشه (۲۲۶ گرم) در گیاهان تغذیه شده با غلظت ۲۳ میکرومولار مس و با کاربرد سالیسیلیک اسید به دست آمد و کمترین وزن تر ریشه (۹۹ گرم) در خیارهای تیمار شده با ۹۴ میکرومولار مس و بدون کاربرد سالیسیلیک اسید حاصل شد (جدول ۳). عناصر سنگین رشد ریشه را کند یا متوقف می‌کنند. اولین اندامی که در معرض تنش عناصر سنگین قرار می‌گیرد ریشه است. عناصر سنگین با تجمع در دیواره سلول موجب کاهش انعطاف پذیری دیواره‌های سلول شده و تقسیم سلول را مختل می‌کند و در نتیجه باعث کاهش رشد می‌شود (El-Tayeb *et al.*, 2006). عناصر سنگین باعث می‌شود ریشه‌ها کوتاه، ضخیم و ضعیف باشند. چرخه تقسیم سلولی در گیاهان به ترتیب شامل مراحل اینترفاز، سنتز و میتوز است و عناصر سنگین از انتقال مرحله اینترفاز به مرحله سنتز ممانعت نموده و با جلوگیری از تقسیم سلولی رشد متوقف می‌گردد (Singh *et al.*, 2016). دلیل این امر بیان کمتر پروتئین کیناز وابسته به چرخه سلولی است که ممکن است گونه‌های فعال اکسیژن در چنین تغییراتی دخیل باشد (Pena *et al.*, 2012). Ali و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که تیمار ۱۵/۷ میکرومولار مس به مدت ۱۵ روز طول ریشه ذرت را تا ۹۰/۶ درصد در مقایسه با شاهد کاهش داد در حالیکه رشد ریشه در تیمارهای ۷۸/۷ و ۱۵۷ میکرومولار مس تقریباً صفر بود. Iseri و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی روی خیار و گوجه‌فرنگی دریافتند که با افزایش غلظت مس در محلول غذایی رشد ریشه نیز کاهش می‌یابد و ریشه‌های خیار در مقایسه با ریشه‌های گوجه‌فرنگی به بیش بود مس حساس‌تر است. مس باعث بازدارندگی طول ریشه در لوبیا در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر در محلول غذایی شد (Azmat and Riaz, 2012).

**سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز:** مقداری از عصاره آنزیمی با بافر فسفات (۵۰ میلی‌مولار، pH=۷) حاوی آسکوربیک اسید ۲۵۰ میکرومولار، آب اکسیژنه ۱/۵ میلی‌مولار و EDTA ۰/۵ میلی‌مولار مخلوط شد و جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر خوانده شد. پس از یک دقیقه توقف دوباره جذب خوانده شده و اختلاف جذب محاسبه و عدد نهایی به صورت واحد در گرم وزن تر گزارش گردید (Nakano and Asada, 1987).

**سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز:** برای سنجش فعالیت این آنزیم مقداری از عصاره آنزیمی با بافر فسفات (۵۰ میلی‌مولار، pH=۷/۸) حاوی گایاکول ۴۰ میلی‌مولار و آب اکسیژنه ۲۰ میلی‌مولار مخلوط شد. میزان تولید تراگایاکول در ۴۷۰ نانومتر در یک دقیقه با طیف‌سنج نوری اندازه‌گیری و فعالیت ویژه آن به صورت واحد در گرم وزن تر بیان گردید (Hemeda and Kelin, 1990).

**سنجش مقدار پروتئین محلول:** برای اندازه‌گیری میزان پروتئین محلول در عصاره آنزیم از روش Bradford (۱۹۷۶) استفاده شد. به این صورت که پس از استخراج مقدار ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج شده به ۲۹۵۰ میکرولیتر محلول برادفورد اضافه شد و به طور کامل به هم زده شد و پس از ۱۰ دقیقه میزان جذب مخلوط در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. برای تعیین غلظت پروتئین از سرم آلبومین گاوی به عنوان استاندارد استفاده شد.

**تجزیه و تحلیل داده‌ها:** کلیه داده‌های حاصل از اندازه‌گیری‌ها توسط نرم افزار SPSS (نسخه ۲۱) تجزیه آماری و مقایسه میانگین تیمارها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد انجام شد. نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار Excel ترسیم شدند.

## نتایج و بحث

**وزن تر، خشک و حجم ریشه:** براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر اصلی و متقابل مس و سالیسیلیک اسید بر وزن تر ریشه معنی‌دار بود. اما صفات حجم ریشه و وزن خشک ریشه

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس تأثیر مس و سالیسیلیک اسید و برهمکنش آنها بر صفات موفولوژیکی ریشه خیار

منابع تغییرات	درجه آزادی	حجم ریشه	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه
مس	۲	۷۸۲۹/۰۰**	۱۵۹۸۴/۰**	۲۵۴/۵۵**
سالیسیلیک اسید	۱	۳۲۰۰/۰۰**	۱۸۶۰/۵**	۳/۷۹ <sup>ns</sup>
مس × سالیسیلیک اسید	۲	۸۴/۵۰ <sup>ns</sup>	۲۹۴/۰*	۱/۸۹ <sup>ns</sup>
خطای آزمایش	۱۲	۳۴۰/۵	۷۳/۲۲	۴/۸۷
ضریب تغییرات (%)		۹/۸۷	۵/۶۱	۸/۱۲

\*\*،\* و ns به ترتیب معنی دار در سطوح ۱ و ۵ درصد و بدون اختلاف معنی دار

جدول ۳- مقایسه میانگین برخی ویژگی‌های ریشه خیار در سطوح مختلف مس و سالیسیلیک اسید و برهمکنش آنها

سالیسیلیک اسید (میکرومولار)	مس (میکرومولار)	حجم ریشه (سانتی متر مکعب)	وزن تر ریشه (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)
	۲۳	۲۰۲/۶ <sup>ab</sup>	۱۹۰/۳ <sup>b</sup>	۳۲/۵ <sup>ab</sup>
	۴۷	۱۸۱/۰ <sup>bc</sup>	۱۳۷/۰ <sup>c</sup>	۲۷/۱۸ <sup>c</sup>
	۹۴	۱۳۶/۰ <sup>d</sup>	۹۹/۶ <sup>d</sup>	۲۰/۳۷ <sup>d</sup>
۷۵۰	۲۳	۲۲۹/۰ <sup>a</sup>	۲۲۶/۶ <sup>a</sup>	۳۳/۷۵ <sup>a</sup>
	۴۷	۲۱۵/۳ <sup>ab</sup>	۱۴۷/۳ <sup>c</sup>	۲۹/۰۳ <sup>bc</sup>
	۹۴	۱۵۶/۰ <sup>cd</sup>	۱۱۴/۰ <sup>d</sup>	۲۰/۰۴ <sup>d</sup>

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی داری در بین تیمارها در سطح ۵ درصد

غذایی افزایش غلظت مس باعث کاهش سطح کل برگ و وزن تر برگ و افزایش تعداد برگ و ارتفاع گیاه گردید. این آزمایش نشان داد که با کاهش سطح برگ تعداد برگ افزایش می‌یابد. ژنگ و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر مس و یا بالاتر به مدت ۱۰ هفته سطح برگ و تعداد برگ خیار را کاهش داد. غلظت بیشتر مس (۱۰۰ گرم در هکتار) باعث کاهش سطح برگ، قطر و طول آنها شد (Barbosa et al., 2013). در گیاهان آلی سمیت فلزات سنگین موجب توقف رشد و کاهش تولید بیوماس می‌شوند. ممانعت از انبساط سلول و تقسیم سلول، عدم تعادل هورمون، اختلال در متابولیسم نیتروژن، کاهش انعطاف‌پذیری دیواره سلولی و به هم خوردن وضعیت آبی گیاه توسط فلزات سنگین منجر به کاهش سطح برگ و بیوماس و رشد می‌شود (Xiong et al., 2006; Wang et al., 2006). این نتایج همسو با یافته‌های

(2012). El-Enany و El-Tayeb (۲۰۰۶) گزارش کردند که کاربرد بیرونی سالیسیلیک اسید رشد ریشه آفتابگردان را هم در گیاهان شاهد و هم در گیاهان تحت تنش مس افزایش می‌دهد. ارتفاع گیاه، تعداد، سطح، وزن تر و وزن خشک برگ: بر پایه نتایج تجزیه واریانس داده‌ها برهمکنش مس و سالیسیلیک اسید بر وزن خشک برگ تأثیر معنی‌داری داشت. در حالیکه تعداد برگ، سطح برگ و وزن تر برگ فقط متأثر از اثر اصلی تیمار مس قرار گرفتند (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشینه وزن خشک برگ (۱۱/۳۱ گرم در بوته) در غلظت ۲۳ میکرومولار مس و در گیاهان شاهد سالیسیلیک اسید حاصل شد که اختلاف معنی‌داری بین تیمار شاهد و ۷۵۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید وجود نداشت در حالیکه کمترین آن (۷/۲۴ گرم در بوته) در غلظت ۹۴ میکرومولار مس و تیمار شاهد سالیسیلیک اسید حاصل شد (جدول ۵). در محلول

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس تأثیر مس و سالیسیلیک اسید و برهمکنش آنها بر صفات مورفولوژیکی خیار

منابع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع گیاه	تعداد برگ	سطح برگ	وزن تر برگ	وزن خشک برگ
مس	۲	۲۵۹/۰۵ <sup>ns</sup>	۴/۰۵ <sup>**</sup>	۲۶۲۸۲۴/۶۰ <sup>**</sup>	۲۰۸۶/۲۰ <sup>**</sup>	۲۳/۱۰ <sup>**</sup>
سالیسیلیک اسید	۱	۲۸۰/۰۵ <sup>ns</sup>	۱/۳۸ <sup>ns</sup>	۱۲۵۲۴/۱۰ <sup>ns</sup>	۱۰/۸۸ <sup>ns</sup>	۰/۵۴۴ <sup>ns</sup>
مس × سالیسیلیک اسید	۲	۷/۳۸ <sup>ns</sup>	۷/۲۲ <sup>ns</sup>	۳۴۲/۹۰ <sup>ns</sup>	۰/۲۲۲ <sup>ns</sup>	۰/۸۹۳ <sup>*</sup>
خطای آزمایش	۱۲	۲۱۸/۸	۰/۵۵۶	۶۴۵۴/۵۰	۴۸/۸۸	۰/۲۰۵
ضریب تغییرات (%)		۱۱/۷	۲/۸۹	۴/۸۴	۹/۶۳	۵/۰۱

ns، \*، \*\* به ترتیب معنی دار در سطوح ۱ و ۵ درصد و بدون اختلاف معنی دار

جدول ۵- مقایسه میانگین برخی ویژگی‌های رشد رویشی خیار در سطوح مختلف مس و سالیسیلیک اسید و برهمکنش آنها

سالیسیلیک اسید (μM)	مس (μM)	ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)	تعداد برگ	سطح برگ (سانتی متر مربع)	وزن تر برگ (گرم)	وزن خشک برگ (گرم)
	۲۳	۱۱۷/۳۳	۲۵/۰۰	۱۸۴۶/۸۰ <sup>a</sup>	۹۳/۰۰ <sup>a</sup>	۱۱/۳۱ <sup>a</sup>
	۴۷	۱۲۰/۳۳	۲۴/۶۶	۱۶۲۷/۵۶ <sup>b</sup>	۶۵/۰۰ <sup>b</sup>	۸/۰۱ <sup>c</sup>
	۹۴	۱۲۸/۳۳	۲۶/۶۶	۱۴۱۸/۵۰ <sup>c</sup>	۵۷/۳۳ <sup>b</sup>	۷/۲۴ <sup>c</sup>
	۲۳	۱۲۲/۶۶	۲۵/۳۳	۱۸۸۳/۱۳ <sup>a</sup>	۹۴/۳۳ <sup>a</sup>	۱۱/۰۲ <sup>a</sup>
۷۵۰	۴۷	۱۲۹/۳۳	۲۶/۰۰	۱۶۹۳/۶۶ <sup>b</sup>	۶۶/۳۳ <sup>b</sup>	۹/۲۲ <sup>b</sup>
	۹۴	۱۳۷/۶۶	۲۶/۶۶	۱۴۷۴/۳۳ <sup>c</sup>	۵۹/۳۳ <sup>b</sup>	۷/۳۷ <sup>c</sup>

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی داری در بین تیمارها در سطح ۵ درصد

از نظر آماری معنی دار بود (جدول ۶). به طوریکه با افزایش تنش مس نسبت Fv/Fm کاهش یافت. در برگ‌های سالم و شاهد نسبت Fv/Fm نزدیک ۰/۸ بود و حداکثر نسبت Fv/Fm در تیمار سالیسیلیک اسید ۷۵۰ میکرومولار مشاهده شد (جدول ۷). نتایج این پژوهش همسو با یافته‌های Afrousheh و همکاران (۲۰۱۵) بود. نسبت Fv/Fm بیانگر عملکرد کوانتومی فتوسیستم ۲ است همچنین این نسبت اغلب به‌عنوان شاخص تنش به‌کار برده می‌شود. نسبت کمتر Fv/Fm نشان می‌دهد که مراکز واکنش فتوسیستم ۲ آسیب دیده است. رشد برگ‌ها تحت شرایط سمیت مس موجب کاهش محتوای کلروفیل، تغییر ساختار کلروپلاست و ترکیب غشاء تیلاکوئید می‌شود (Yruela, 2005). حساسیت فتوسیستم ۲ به سمیت مس بیشتر از فتوسیستم ۱ است. سمیت مس هم در دو جایگاه دهنده و پذیرنده الکترون در فتوسیستم ۲ اثر مخرب دارد. مس می‌تواند

و همکاران (۲۰۰۴) بود. بیش‌بود مس در آفتابگردان باعث کاهش در وزن تر و خشک اندام‌های مختلف گردید و کاربرد سالیسیلیک اسید رشد ریشه، ساقه و برگ را هم در گیاهان شاهد و هم در گیاهان تحت تنش مس بهبود بخشید (El-Tayeb, 2005). از آنجا که محلول‌پاشی با غلظت کم سالیسیلیک اسید باعث افزایش در تقسیم و تمایز سلول‌ها و همچنین سبب افزایش بافت‌های استحکامی و جلوگیری از تخریب دیواره سلولی می‌شود. بنابراین به‌نظر می‌رسد محلول‌پاشی با غلظت‌های کم سالیسیلیک اسید می‌تواند با جلوگیری از کاهش تقسیم و اندازه سلولی، اثرات منفی تنش مس را بر میزان رشد گیاه تعدیل نماید (مداح و فلاح‌پور ۱۳۸۵).

**نسبت Fv/Fm:** براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها اثرات اصلی و متقابل مس و سالیسیلیک اسید بر نسبت Fv/Fm

جدول ۶- نتایج تجزیه واریانس تأثیر مس و سالیسیلیک اسید و برهمکنش آنها بر برخی صفات بیوشیمیایی و عملکرد خیار

منابع تغییرات	درجه آزادی	نسبت Fv/Fm	آسکوربات پراکسیداز	پراکسیداز	پروتئین محلول
مس	۲	۰/۴۳۷ **	۳۱۰/۳۹ **	۱۴۸/۷۷ **	۰/۰۶۲ **
سالیسیلیک اسید	۱	۰/۰۳۸ **	۶۹/۲۲ **	۷۷/۲۹ **	۰/۳۹۹ **
مس × سالیسیلیک اسید	۲	۰/۰۰۶ *	۳/۰۸ **	۳/۱۷۷ ns	۰/۰۲۱ *
خطای آزمایش	۱۲	۰/۰۰۱ *	۰/۷۷۹	۵/۰۰۷	۰/۰۰۵
ضریب تغییرات (%)		۳/۹۹	۱۹/۴۷	۱۰/۱۱	۳/۷۴

\*، \*\*، ns به ترتیب معنی دار در سطوح ۱ و ۵ درصد و بدون اختلاف معنی دار

جدول ۷- مقایسه میانگین برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی خیار در سطوح مختلف مس و سالیسیلیک اسید و برهمکنش آنها

سالیسیلیک اسید	مس	نسبت Fv/Fm	آسکوربات پراکسیداز	پراکسیداز	پروتئین محلول
( $\mu\text{M}$ )	( $\mu\text{M}$ )		( $\text{U g}^{-1} \text{FW}$ )	( $\text{U g}^{-1} \text{FW}$ )	( $\text{mg g}^{-1} \text{FW}$ )
	۲۳	۰/۸۱۶ <sup>a</sup>	۹/۹۳ <sup>e</sup>	۲۳/۷۳	۱/۹۰۷ <sup>b</sup>
	۴۷	۰/۷۸۳ <sup>c</sup>	۱۹/۰۳ <sup>c</sup>	۲۱/۰۶	۱/۷۲۷ <sup>c</sup>
	۹۴	۰/۷۶۰ <sup>e</sup>	۲۳/۵۶ <sup>b</sup>	۱۵/۴۰	۱/۵۸۸ <sup>d</sup>
	۲۳	۰/۸۲۰ <sup>a</sup>	۱۲/۸۶ <sup>d</sup>	۲۹/۰۰	۲/۰۹۳ <sup>a</sup>
	۴۷	۰/۷۹۹ <sup>b</sup>	۲۴/۶۰ <sup>b</sup>	۲۵/۷۳	۲/۰۱۴ <sup>ab</sup>
۷۵۰	۹۴	۰/۷۶۸ <sup>d</sup>	۲۶/۸۳ <sup>a</sup>	۱۷/۹۰	۲/۰۰۹ <sup>ab</sup>

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی داری در بین تیمارها در سطح ۵ درصد

فعالیت آنزیم پراکسیداز کاهش نشان داد. کاربرد سالیسیلیک اسید نسبت به تیمار شاهد آن باعث افزایش فعالیت هر دو آنزیم گردید (جدول ۷). به طور کلی تنش یونی سبب ایجاد تنش ثانویه‌ای به نام تنش اکسیداتیو می‌شوند که منجر به تولید رادیکال سوپراکسید و به دنبال آن سایر گونه‌های فعال اکسیژن آنتی‌اکسیدان در گیاهان به طور بسیار کارآمدی اثرات مخرب گونه‌های فعال اکسیژن را برطرف می‌نماید (Ashraf and Ali, 2008). سالیسیلیک اسید می‌تواند تنش اکسیداتیو ناشی از مسمومیت مس را در لوبیا تعدیل نماید. کاهش آسیب اکسیداتیو ممکن است تا حدودی مرتبط با خصوصیات آنتی‌اکسیدانی سالیسیلیک اسید و همچنین نقش سالیسیلیک اسید در فعالیت واکنش‌های آنتی‌اکسیدانت باشد (Zengin, 2014; Popova et al., 2009). پراکسیداز نقش مهمی در

از طریق واکنش با یون‌های ضروری مثل کلر، کلسیم و منگنز در کمپلکس پروتئینی باعث تخریب ترکیب پلی‌پپتیدی کمپلکس آزادکننده اکسیژن شده و منتهی به کاهش کارایی فتوسیستم ۲ می‌شود (Krupa and Baszynski, 1995).

**فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و پروتئین محلول:** نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی و متقابل مس و سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز از نظر آماری معنی دار بود اما فعالیت آنزیم پراکسیداز فقط متأثر از اثرات اصلی مس و سالیسیلیک اسید قرار گرفت (جدول ۶). براساس مقایسه میانگین داده‌ها با افزایش غلظت مس در محلول غذایی فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز افزایش یافت در حالیکه روند فعالیت آنزیم پراکسیداز بر عکس آسکوربات پراکسیداز بود بدین صورت که با افزایش غلظت مس در محلول غذایی

دلیل این امر ممکن است ناشی از تأثیر متقابل فلزات سنگین با سالیسیلیک اسید باشد (Kang et al., 2003).

**غلظت مس شاخساره و ریشه:** براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها غلظت مس در شاخساره و ریشه متأثر از اثر اصلی تیمار مس قرار گرفت (جدول ۸). به طوریکه با افزایش غلظت مس در محلول غذایی مقدار مس در ریشه و شاخساره افزایش یافت. مس جذب شده عمدتاً در ریشه‌ها تجمع یافته بود. تجمع مس در ریشه و شاخساره خیار در غلظت ۹۴ میکرومولار مس در مقایسه با ۲۳ و ۴۷ میکرومولار مس در محلول غذایی بیشتر بود (جدول ۹). کاهش شدید رشد ریشه در بیش‌بود مس ممکن است به‌خاطر تجمع بیشتر مس در ریشه باشد. سالیسیلیک اسید تأثیری روی تجمع مس نداشت اما آن تغییرات متابولیکی زیادی را در گیاهان تحریک می‌کند. این نتایج با یافته‌های Kopittk و Menzies (۲۰۰۶) همخوانی دارد که تجمع بیشتری از مس در ریشه در مقایسه با شاخساره را مشاهده نمود.

**عملکرد میوه:** نتایج نشان داد که حداکثر عملکرد میوه (۵۳۰ گرم در بوته) در غلظت ۲۳ میکرومولار مس و تیمار سالیسیلیک اسید حاصل شد. اما کمترین عملکرد میوه (۲۸۲ گرم در بوته) در غلظت ۹۴ میکرومولار مس و بدون تیمار سالیسیلیک اسید به‌دست آمد (جدول ۹). افزایش غلظت مس در محلول غذایی همچنین در برگ و ریشه باعث کاهش عملکرد (جدول ۱۰) و همچنین محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید باعث بهبود در عملکرد خیار گردید. کاهش عملکرد خیار ممکن است ناشی از رشد کمتر ریشه، سطح برگ پایین و ماده خشک کمتر برگ باشد.

**علائم مسمومیت برگ:** براساس مشاهدات این آزمایش علائم سمیت در برگ‌های خیار ابتدا به‌صورت رنگ پریدگی و به‌دنبال آن به‌صورت سوختگی بین رگبرگ‌ها در غلظت‌های ۴۷ و ۹۴ میکرومولار مس در محلول غذایی ظاهر گردید (شکل ۱). در حالیکه در تیمار ۲۳ میکرومولار مس هیچ گونه علائم سمیت مس مشاهده نگردید. این علائم در غلظت ۹۴ میکرومولار شدیدتر از ۴۷ میکرومولار مس بود. اما استفاده از

سرعت بخشیدن به تبدیل  $H_2O_2$  به  $H_2O$  و  $O_2$  دارد (Gratao et al., 2005). آسکوربات پراکسیداز همراه با مونودهیدرو آسکوربات رداکتاز، دهیدرو آسکوربات رداکتاز و گلوکاتایون رداکتاز  $H_2O_2$  را به  $H_2O$  از طریق مسیر آسکوربات-گلوکاتایون تبدیل می‌کند. آسکوربات پراکسیداز اولین آنزیم در این مسیر است که  $H_2O_2$  را با استفاده از آسکوربات به‌عنوان یک دهنده الکترون در یک واکنش اکسایش - کاهش حذف می‌کند (Noctor and Foyer, 1998). تعادل میان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان یک فاکتور اساسی و بحرانی برای تعیین سطح پایدار رادیکال‌های سوپراکسید و هیدروژن پراکسید است. این تعادل برای جلوگیری از تشکیل بیش از اندازه رادیکال‌های هیدروکسیل بسیار مهم است (Mittler, 2002). تولید گونه‌های فعال اکسیژن و واکنش آنتی‌اکسیدانت‌ها بستگی به گونه‌گیاهی، شدت و مدت زمان تنش مس دارد به طوریکه با افزایش غلظت مس در بستر رشد، تولید گونه‌های فعال اکسیژن نیز بیشتر شد. در بیشتر گونه‌های گیاهی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت تا محدوده معینی افزایش یافت و سپس فعالیت آنزیم کاهش نشان داد دلیل این امر ممکن است ناشی از شدت تنش مس در گیاهان باشد (Olteanu et al., 2013). براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها اثر ساده و متقابل مس و سالیسیلیک اسید بر پروتئین محلول برگ معنی‌دار گردید (جدول ۶). بیشترین کاهش در مقدار پروتئین محلول در غلظت ۹۴ میکرومولار مس به ثبت رسید. کاربرد سالیسیلیک اسید توانست غلظت پروتئین محلول را در برگ‌های خیار افزایش دهد (جدول ۷). سنتز کمتر پروتئین محلول تحت شرایط بیش‌بود فلزات سنگین ممکن است از فعالیت زیاد گونه‌های فعال اکسیژن و به‌دنبال آن آسیب اکسیداتیو پروتئین ناشی شود که این امر باعث تغییرات در اسیدآمین، تقسیم زنجیره پپتیدی و تغییر در بار الکتریکی می‌گردد (Davies, 2003). بیش‌بود مس مقدار پروتئین محلول در کلم و جو را کاهش داد (Guo et al., 2007; Chatterjee and Chatterjee, 2000). سالیسیلیک اسید باعث تحریک سنتز پروتئین در قسمت‌های مختلف گیاهان شاهد و تحت تنش مس می‌شود

جدول ۸- نتایج تجزیه واریانس تأثیر مس و سالیسیلیک اسید و برهمکنش آنها بر صفات فیزیولوژیکی و عملکرد خیار

منابع تغییرات	درجه آزادی	عملکرد	مس شاخساره	مس ریشه
مس	۲	۶۸۸۵۴/۱ **	۱۳۰۹/۳۸ **	۳۹۵۸۳۲۲/۰ **
سالیسیلیک اسید	۱	۸۳۶۳/۵۵ **	۲۲/۲۲ ns	۰/۸۸۸ ns
مس × سالیسیلیک اسید	۲	۱۹/۰۵ ns	۷/۳۸ ns	۱۰۰/۷۲ ns
خطای آزمایش	۱۲	۵۲۰/۸۳	۲۲/۴۴	۳۸۷۸/۶۶
ضریب تغییرات (%)		۵/۹۱	۱۲/۸۸	۶/۶۸

\*\*،\* و ns به ترتیب معنی دار در سطوح ۱ و ۵ درصد و بدون اختلاف معنی دار

جدول ۹- مقایسه میانگین برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و عملکرد خیار در سطوح مختلف مس و سالیسیلیک اسید و برهمکنش آنها

سالیسیلیک اسید (μM)	مس (μM)	عملکرد (g plant <sup>-1</sup> )	مس شاخساره (μg g <sup>-1</sup> DW)	مس ریشه (μg g <sup>-1</sup> DW)
	۲۳	۴۸۳/۳۳ <sup>b</sup>	۲۲/۶۶ <sup>c</sup>	۲۷۱/۳۳ <sup>c</sup>
۰	۴۷	۳۲۷/۳۳ <sup>d</sup>	۳۶/۶۶ <sup>b</sup>	۶۹۰/۰۰ <sup>b</sup>
	۹۴	۲۸۲/۶۶ <sup>e</sup>	۵۴/۳۳ <sup>a</sup>	۱۸۳۳/۰۰ <sup>a</sup>
	۲۳	۵۳۰/۳۳ <sup>a</sup>	۲۲/۳۳ <sup>c</sup>	۲۶۶/۶۶ <sup>c</sup>
۷۵۰	۴۷	۳۶۹/۶۶ <sup>c</sup>	۳۵/۰۰ <sup>b</sup>	۶۸۴/۳۳ <sup>b</sup>
	۹۴	۳۲۲/۶۶ <sup>de</sup>	۴۹/۶۶ <sup>a</sup>	۱۸۴۲/۰۰ <sup>a</sup>

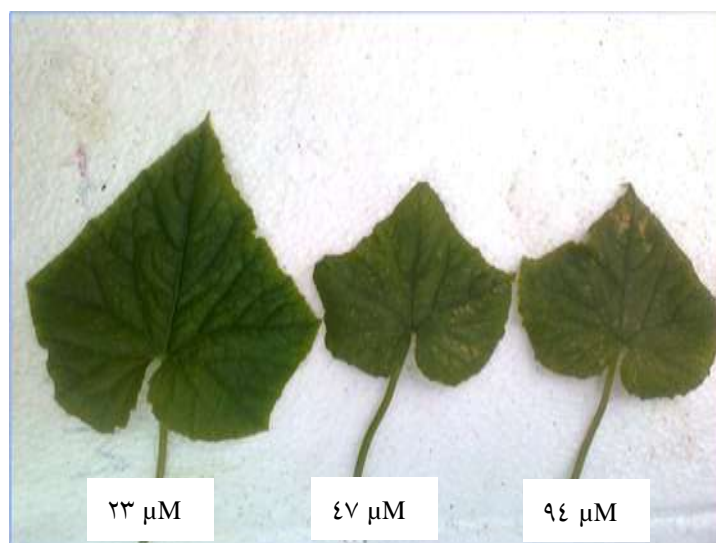
حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی داری در بین تیمارها در سطح ۵ درصد

جدول ۱۰- ضرایب همبستگی بین برخی صفات مهم در تیمار مس و سالیسیلیک اسید خیار گلخانه ای

صفت	عملکرد	مس شاخساره	مس ریشه	پروتئین	آسکوربات پراکسیداز	پراکسیداز
عملکرد	۱	-۰/۷۹۱ **	-۰/۸۴۸ **	-۰/۶۰۵ **	-۰/۸۲۵ **	۰/۷۲۹ **
مس شاخساره		۱	۰/۹۲۵ **	-۰/۸۰۴ ns	۰/۷۹۵ ns	۰/۸۲۷ **
مس ریشه			۱	-۰/۴۵۴ ns	۰/۸۰۶ **	-۰/۷۹۴ **
پروتئین				۱	-۰/۱۸۲ ns	۰/۶۹۴ **
آسکوربات پراکسیداز					۱	-۰/۵۴۵ *
پراکسیداز						۱

\*\*،\* و ns به ترتیب معنی دار در سطوح ۱ و ۵ درصد و بدون اختلاف معنی دار

سالیسیلیک اسید باعث کاهش سوختگی برگ در تیمار ۴۷ میکرومولار در مقایسه با غلظت ۹۴ میکرومولار مس شد. علائم مسمومیت مس در خیار توسط Roupheal و همکاران (۲۰۰۸) نیز گزارش شده است.



شکل ۱- علائم مسمومیت مس. برگ سمت چپ تیمار ۲۳ میکرومولار مس، برگ وسط تیمار ۴۷ میکرومولار مس و برگ سمت راست تیمار ۹۴ میکرومولار مس در محلول غذایی

#### نتیجه گیری

میکرومولار است. اما غلظت‌های ۴۷ و ۹۴ میکرومولار باعث کاهش رشد و عملکرد خیار گلخانه‌ای می‌شود. محلول پاشی با سالیسیلیک اسید توانست از اثرات منفی مسمومیت مس بکاهد.

نتایج این مطالعه نشان داد که غلظت بهینه مس برای رشد و نمو مناسب خیار گلخانه‌ای در سیستم هیدروپونیک ۲۳

#### منابع

- حبیبی، ق.، صادق‌پور، ز. و حاجی‌بلند، ر. (۱۳۹۴) تأثیر تیمار سالیسیلیک اسید بر گیاه توتون (*Nicotiana rustica*) تحت تنش خشکی. زیست‌شناسی گیاهی ایران ۷: ۱۷-۲۸.
- مداح، م.، فلاحیان، ف. ا.، صباغ‌پور، ح. و چلبیان، ف. (۱۳۸۵) اثر سالیسیلیک اسید بر عملکرد و اجزاء عملکرد و ساختار تشریحی گیاه نخود (*Cicer arietinum* L.) علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی ۱: ۷۰-۶۱.
- Abdul Jaleel, C., Riadh, K., Gopi, R., Manivannan, P., Ines, J., Al-Juburi, H. J., Chang-Xing, Z., Hong-Bo, S. and Panneerselvam, R. (2009) Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constrains. *Acta Physiologia Plantarum* 31: 427-436.
- Afrousheh, M., Tehranifar, A., Shoor, M. and Safari, V. R. (2015) Salicylic acid alleviates the copper toxicity in *Tagetes erecta*. *International Journal of Farming and Allied Sciences* 4: 232-238.
- Ahmad, P., Jaleel, C. A., Salem, M. A., Nabi, G. and Sharma, S. (2010) Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Critical Reviews Biotechnology* 30: 161-175.
- Ali, N. A., Bernal, M. P. and Ater, M. (2002) Tolerance and bioaccumulation of copper in *Phragmites australis* and *Zea mays*. *Plant and Soil* 239: 103-111.
- Alia, N., Sardar, K., Said, M., Salma, K., Sadia, A., Sadaf, S., Toqeer, A. and Miklas, S. (2015) Toxicity and bioaccumulation of heavy metals in spinach (*Spinacia oleracea*) grown in a controlled environment. *International Journal of Environmental Research Public Health* 12: 7400-7416.
- Ashraf, M. and Ali, Q. (2008) Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determination of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.). *Environmental and Experimental Botany* 63: 266-273.
- Azmat, R. and Riaz, S. (2012) The inhibition of polymerization of glucose in carbohydrate under Cu stress in *Vigna radiata*. *Pakistan Journal of Botany* 44: 95-98.
- Barakat, M. A. (2011) New trends in removing heavy metals from industrial wastewater. *Arabian Journal of Chemistry* 4: 361-377.
- Barbosa, R. H., Tabaldi, L. A., Miyazaki, F. R., Pilecco, M., Kassab, S. O. and Bigaton, D. (2013) Foliar copper uptake by maize plants: effects on growth and yield. *Cienc Rural* 43: 1561-1568.

- Barker, A. and Pilbeam, D. J. (2007) Handbook of Plant Nutrition. CRC, Taylor and Francis.
- Bouazizi, H., Joulli, H., Geitmann, A. and Ferjani, E. E. (2010) Copper toxicity in expanding leaves of *Phaseolus vulgaris* L.: antioxidant enzyme response and nutrient element uptake. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73: 1304-1308.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annals Biochemistry* 72: 248-254.
- Chatterjee, J. and Chatterjee, C. (2000) Phytotoxicity of cobalt, chromium and copper in cauliflower. *Environmental Pollution* 109: 69-74.
- Contreras, L., Mella, D., Moenne, A. and Correa, J. A. (2009) Differential responses to copper-induced oxidative stress in the marine macroalgae *Lessonia nigrescens* and *Scytosiphon lomentaria* (Phaeophyceae). *Aquat Toxicol* 94: 94-102.
- Davies, M. J. (2003) Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 305: 761-770.
- El-Tayeb, M. A. (2005) Response of barley grains to the interactive effect of salinity and SA. *Plant Growth Regulation* 45: 215-224.
- El-Tayeb, M. A., El-Enany, A. E. and Ahmad, N. L. (2006) Salicylic acid induced adaptive response to copper stress in sunflower. *International Journal of Botany* 2: 372-379.
- El-Tayeb, M. and El-Enany, A. (2006) Salicylic acid induced adaptive response to copper stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Growth Regulation* 50: 191-199.
- FAO. (2009) FAO Land and plant nutrition management service. Available online at: <http://www.fao.org/>. Accessed 10 Jan 2015.
- Gratao, P. L., Polle, A., Lea, P. J. and Azevedo, R. A. (2005) Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. *Functional Plant Biology* 32: 481-494.
- Guo, T. R., Zhang, G. P. and Zhang, Y. H. (2007) Physiological changes in barley plants under combined toxicity of aluminum, copper and cadmium. *Colloid Surfaces B: Biointerfaces* 57: 182-188.
- Habibi, G. (2012) Exogenous salicylic acid alleviates oxidative damage of barley plants under drought stress. *Acta Biologica Szegediensis* 56: 57-63.
- Hayat, Q., Hayat, S., Irfan, M. and Ahmad, A. (2010) Effect of exogenous SA under changing environment: a review. *Environmental and Experimental Botany* 68: 14-25.
- Hemeda, H. M. and Kelin, B. P. (1990) Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. *Journal of Food Science* 55: 184-185.
- Hoagland, D. R. and Arnon, D. S. (1950) The water culture method for growing plants without soil. *California Agriculture Experimental Station Circular* 374: 1-32.
- Iseri, O. D., Korpe, D. A., Yurtcu, E., Sahin, F. I. and Haberal, M. (2011) Copper induced oxidative damage, antioxidant response and genotoxicity in *Lycopersicon esculentum* Mill. and *Cucumis sativus* L. *Plant Cell Reports* 30: 1713-1721.
- Kang, G., Wang, C., Sun, G. and Wang, Z. (2003) SA changes activities of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-metabolizing enzymes and increases the chilling tolerance of banana seedlings. *Environmental and Experimental Botany* 34: 56-59.
- Kopittk, P. M. and Menzies, N. W. (2006) Effect of Cu toxicity on growth of cowpea (*Vigna unguiculata*). *Plant Soil* 279: 287-296.
- Krupa, Z. and Baszynski, T. (1995) Some aspect of heavy metal toxicity towards photosynthetic apparatus – direct and indirect effect of light and dark reactions. *Acta Physiologia Plantarum* 17: 177-190.
- Mackie, K. A., Muller, T. and Kandeler, E. (2012) Remediation of copper in vineyards a mini review. *Environmental Pollution* 167: 16-26.
- Marschner, P. (2012) Marschner Mineral Nutrition of Higher Plants 3<sup>rd</sup> Ed. Elsevier Ltd.
- Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7: 405-10.
- Mostofa, M. G. and Fujita, M. (2013) Salicylic acid alleviates copper toxicity in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings by up regulating antioxidative and glyoxalase systems. *Ecotoxicology* 22: 959-973.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1987) Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplast: in inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant Cell Physiology* 28: 131-140.
- Noctor, G. and Foyer, C. H. (1998) Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology* 49: 249-279.
- Olteanu, Z., Truta, E., Oprica, L., Magdalena, M., Craita, Z., Rosu, M. and Vochita, G. (2013) Copper induced changes in antioxidative response and soluble protein level in *Triticum aestivum* cv. Beti seedlings. *Romanian Agricultural Research* 30: 163-170.

- Pena, L. B., Barcia, R. A., Azpilicueta, C. E., Mendez, A. A. and Gallego, S. M. (2012) Oxidative post translational modifications of proteins related to cell cycle are involved in cadmium toxicity in wheat seedlings. *Plant Science* 196: 1-7.
- Popova, L. P., Maslenkova, L. T., Yordanova, R. Y., Ivanova, A. P., Krantev, A. P., Szalai, G. and Janda, T. (2009) Exogenous treatment with SA attenuates Cd toxicity in pea seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry* 47: 224-231.
- Radwan, D. E. M. (2012) Salicylic acid induced alleviation of oxidative stress caused by clethodim in maize (*Zea mays* L.) leaves. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 102: 182-188.
- Rouphael, Y., Cardarelli, M. and Colla, G. (2008) Yield, mineral composition, water relations, and water use efficiency of grafted mini-watermelon plants under deficit irrigation. *HortScience* 43: 730-736.
- Singh, S., Parihar, P., Singh, R., Singh, V. P. and Prasad, S. M. (2016) Heavy metal tolerance in plants: role of transcriptomics, proteomics, metabolomics, and ionomics. *Frontier in Plant Science* 6: 1143.
- Wang, S. H., Yang, Z. M., Yang, H., Lu, B., Li, S. Q. and Lu, Y. P. (2004) Coper-induced stress and antioxidative responses in root of *Brassica juncea* L. *Botanica Bulletin of Academy Sinica* 45: 203-212.
- Wuana, R. A. and Okieimen, F. E. (2011) Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. *International Scholarly Research Notices: Ecology* 1-20
- Xiong, Z. T., Liu, C. and Geng, B. (2006) Phytotoxic effects of copper on nitrogen metabolism and plant growth in *Brassica pekinsis* Rupr. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 64: 273-280.
- Yruela, I. (2005) Copper in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17: 145-156.
- Zengin, F. (2014) Exogenous treatment with salicylic acid alleviating copper toxicity in bean seedlings. *Proceedings of the National Academy of Science, India, Section B Biological Sciences* 84: 749-755.
- Zhao, S. L., Liu, Q., Qi, Y. T. and Duo, L. (2010) Responses of root growth and protective enzymes to copper stress in turfgrass. *Acta Biologica Cracoviensia, series Botanica* 52: 7-11.
- Zheng, Y., Wang, L., Cayanan, D. F. and Dixon, M. (2010) Greenhouse cucumber growth and yield response to copper application. *HortScience* 45: 771-774.

## Effect of salicylic acid on some vegetative and biochemical properties of cucumber (*Cucumis sativus* L.) under copper stress

Rasoul Azarmi \*

Department of Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

(Received: 08/06/2018, Accepted: 21/10/2018)

### Abstract

Soil and water toxicity with copper (Cu) create serious problems on plant growth and production as well as human health. Exogenous application of salicylic acid (SA) can alleviate adverse effects of Cu stress. In this research, in order to investigate the effect of salicylic acid (SA) on the morphological and physiological properties of cucumber under copper (Cu) stress, an experiment was carried out as factorial based on completely randomized block design with three levels of copper of 23, 47 and 94  $\mu\text{M}$  and salicylic acid with two levels of 0 and 750  $\mu\text{M}$  with three replications under hydroponics conditions. The results showed that copper stress negatively affected root dry weight, root volume, leaf area, leaf fresh and dry weight of cucumber plants. The greatest root fresh weight and Fv/Fm ratio was obtained with 23  $\mu\text{M}$  Cu treatment in both SA and non-SA treatments. Cu accumulated more heavily in roots than in shoots. The ascorbate peroxidase (APX) activity in the leaves was increased by increasing copper concentration and the highest activity of APX was observed in plants fed with 94  $\mu\text{M}$  and was more pronounced in plants treated with SA, whereas, peroxidase (POX) activity showed reverse trend. The highest yield (530 g plant) was obtained in the concentration of 23  $\mu\text{M}$  Cu and treated with salicylic acid, but the lowest yield (282 g plant) was achieved in the concentration of 94  $\mu\text{M}$  Cu and without salicylic acid treatment. Based on the results of this experiment, application of 750  $\mu\text{M}$  SA can alleviate the negative effects of Cu stress at concentrations of 47 and 94  $\mu\text{M}$  on the growth and biochemical responses in cucumber.

**Keywords:** Ortho-hydroxy benzoic acid, Greenhouse Cucumber, Growth, Heavy metal

Corresponding author, Email: r\_azarmi@uma.ac.ir