اثر سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه گلرنگ تحت تنش خشکی

مریم چاوشی*[۱]، فرزانه نجفی[۱]، اعظم سلیمی[۱] و سید عبدالحمید انگجی[۲]

[۱] گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی

[۲] گروه علوم سلولی و ملکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۶/۲۵، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۱۱/۰۲)

چکیده

خشکی یکی از تنش‌های غیرزیستی است که رشد و تولید محصول گیاه را محدود می‌کند. سالیسیلیک اسید (SA) نیز یکی از تنظیم‌کننده‌های رشد است که در پاسخ به تنش زیستی و غیرزیستی نقش اساسی دارد. هدف از بررسی پژوهش حاضر تأثیر سالیسیلیک اسید بر کاهش تنش خشکی در گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) است. بدین منظور اثر سالیسیلیک اسید (صفر و ۰/۲۵ میلی‌مولار) و خشکی (در سطوح ۱۰۰٪، ۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت مزرعه‌ای) بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و بیان ژن زیر واحدهای آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مورد بررسی قرار گرفت. اسید سالیسیلیک به گیاهان در مرحله سه برگی اسپری شد و پس از دو روز گیاهان تحت تیمار خشکی قرار گرفتند. دومین تیمار SA، یک هفته پس از اولین مرحله محلول‌پاشی صورت گرفت. گیاهان پس از دو هفته تنش خشکی جهت بررسی برخی پارامترهای فیزیولوژیکی و مولکولی برداشت شدند. نتایج نشان داد که تنش خشکی FC ۲۵٪ باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها، محتوای آب اکسیژنه و مالون دی‌آلدهید برگ و ریشه، بیان Mn-SOD، Fe-SOD برگ و ریشه شده است. در حالیکه تیمار همزمان خشکی و SA باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ریشه و کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برگ، بیان Fe-SOD ریشه، Mn-SOD، برگ، محتوای آب اکسیژنه و مالون دی‌آلدهید برگ و ریشه شده است. به‌نظر می‌رسد سالیسیلیک اسید در رفع آسیب‌های ناشی از تنش خشکی نقش مؤثری در گیاه گلرنگ داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: آنتی اکسیدان‌ها، تنش آبی، تنش اکسیداتیو، گلرنگ

مقدمه

تنش خشکی یکی از تنش‌های چند بعدی و مهمترین عامل محدودکننده رشد و تولید محصول (Eslam *et al.*, 2010) در سراسر دنیا به‌شمار می‌آید و با توجه به نوع گیاه تحت تنش اثرات متفاوتی مشاهده می‌شود (Gunes *et al.*, 2006). تنش خشکی تأثیر خود را از طریق ایجاد تغییرات تشریحی، ریختی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی از جمله به‌صورت تغییر برخی ساختارها در گیاه، تغییر سرعت رشد، پتانسیل اسمزی بافت و دفاع آنتی‌اکسیدانی اعمال می‌کند. تنش خشکی باعث کاهش فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، بیوماس (زیست‌توده)، کاهش میزان رشد، محتوای نسبی آب، پتانسیل آب برگ، گسترش سلولی (Rahbarian *et al.*, 2011) و در نهایت کاهش عملکرد گیاه (Eraslan *et al.*, 2007) می‌شود. شدت خسارت خشکی به طول دوره خشکی، شدت کمبود آب، مرحله رشد و نمو گیاه، نوع گونه گیاهی (Rampino *et al.*, 2006) و بیان ژنی گیاه بستگی دارد (Ahmadizadeh, 2013).

گلرنگ از گیاهان قدیمی است که کشت آن در ابتدا به منظور استخراج رنگ از گلبرگ‌های آن جهت رنگ‌آمیزی

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: Chavoosh_m@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.21.1]

پارچه و تزیین غذا انجام می‌گرفته ولی امروزه این گیاه برای تولید روغن، کنجاله، مواد دارویی، لوازم‌آرایشی و زینتی کشت می‌شود (Camas, 2005). کشور ما از لحاظ ذخایر ژنتیکی این گیاه یکی از غنی‌ترین مناطق جهان به شمار می‌رود. بیشترین سطح کشت گلرنگ مربوط به استان‌های اصفهان، خراسان و یزد است (Foroozan, 2005). در گلرنگ نیز تنش خشکی باعث کاهش رشد، سطح برگ، تعداد دانه، تعداد گل، کاهش عملکرد روغن، زردی و ریزش زودرس برگ‌ها می‌شود (Hussain *et al.*, 2016). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در اواخر سال ۱۹٦۰ شناخته شد و در همه موجودات هوازی وجود داشته و به‌عنوان اولین خط دفاعی در برابر ROSها است که یون سوپراکسید را به H_2O_2 تبدیل می‌کند. آب‌اکسیژنه حاصل در اثر فعالیت سایر آنتی‌اکسیدان‌ها نظیر کاتالاز و پراکسیداز به آب تبدیل می‌شود. SOD در همه قسمت‌های گیاه به‌ویژه در مناطقی که یون سوپراکسید وجود دارد، یافت می‌شود. سه نوع آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با نام‌های Cu /ZnSOD، MnSOD و FeSOD وجود دارد که محل سنتز هرکدام متفاوت بوده است. همه ایزوفرم‌های آنزیم سوپراکسید دیسموتاز توسط هسته کد می‌شود و با توجه به اسیدهای آمینه‌های موجود در توالی هدف به قسمت‌های مختلف سلول منتقل می‌شوند (Zhao *et al.*, 2007). طبق مطالعات انجام‌شده، تاکنون تحقیقات بر روی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در سطح فعالیت آنزیمی و متابولیت‌ها بوده و در سطح بیان ژن مطالعاتی انجام نشده است. به علاوه هیچ نتیجه‌ای مبنی بر تأثیر خشکی و سالیسیلیک اسید در گیاه گلرنگ در سطح مولکولی گزارش نشده است. ژن‌های MnSOD و FeSOD مربوط به زیر واحدهای آنزیم SOD است که با توجه به اهمیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و به‌دست‌آوردن اطلاعات دقیق‌تر از مکانیسم اثر سالیسیلیک اسید در خشکی در گیاه گلرنگ، بیان ژن‌های مربوط به این آنزیم در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفته است. آگاهی از تغییرات آنزیم‌ها در گیاه تحت تنش و ارتباط آنها با الگوی بیان ژن درک روشنی از متابولیسم گیاه را برای ما ارائه می‌دهد.

ایران با متوسط نزولات آسمانی در سال در زمره مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان قرار دارد که این خود نشان‌دهنده ضرورت توجه به بهینه‌سازی مصرف آب و کاربرد هورمون‌های گیاهی جهت مقاوم‌سازی گیاهان در بخش کشاورزی است. سالیسیلیک اسید (Salicylic acid) ماده‌ای بدون رنگ و دارای ساختار کریستالی است که به‌عنوان تنظیم‌کننده فرایندهای فیزیولوژیکی مختلف مانند رشد، تکامل گیاه، جذب یون، جوانه‌زنی، نمو، رسیدن میوه، گلدهی و پاسخ به دفاع زیستی و غیرزیستی نقش دارد (Miura and Tada, 2014). افزایش رشد، فتوسنتز، تولید محصول و فعال‌شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان توسط سالیسیلیک اسید در نخود تحت تیمار کادمیوم (Alyemeni *et al.*, 2014) و لوبیا در تنش خشکی (Sadeghipour and Aghaei, 2012) گزارش شده است.

هدف از این پژوهش بررسی اثر SA در کاهش اثرات ناشی از تنش خشکی بر گیاه گلرنگ بوده است. با وجود ارزشمندبودن گیاه گلرنگ از نظر دارویی و صنعتی و مواجه‌شدن مناطق زیر کشت این گیاه با شرایط کم‌آبی، از این‌رو تأثیر خشکی و سالیسیلیک اسید بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، هیدروژن پراکسید و مالون دی‌آلدهید و بررسی بیان ژن زیر واحدهای آنزیم SOD برای درک بهتر سازوکار تحمل گیاه در مرحله رویشی بررسی شد. علت انتخاب زیر واحدهای آنزیم SOD به‌دلیل تولید رادیکال‌های آنیون سوپراکسید در تنش خشکی و تبدیل به هیدروژن پراکسید بوده که بعداً توسط کاتالاز و پراکسیداز تجزیه می‌شود و بدین ترتیب سلول‌ها را از خطرات و آسیب‌های اکسیداتیو حفاظت می‌کند.

مواد و روش‌ها

بذرهای گیاه گلرنگ رقم گلدشت از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج بخش دانه‌های روغنی تهیه شد. به منظور بررسی اثر سالیسیلیک اسید بر پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه گلرنگ آزمایشی گلدانی به‌صورت فاکتوریل با دو فاکتور تنش خشکی و سالیسیلیک اسید در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی با سه تکرار و سه گیاه در هر واحد آزمایشی از اواسط شهریور تا اوایل آبان سال ۱۳۹٤ در گلخانه آموزشی- پژوهشی دانشکده علوم زیستی دانشگاه خوارزمی تهران انجام شد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.21.1]

تعدادی بذر یکنواخت و همگن انتخاب شدند. بذرهای جوانه‌زده به گلدان‌های حاوی ماسه، رس و خاکبرگ به نسبت (۳:۱:۲) منتقل شدند. گیاهان در دمای ۱۸/۲۶°C و دوره نوری ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی رشد کردند. گیاهان ۲۳ روزه در مرحله سه برگی تحت تیمار SA به‌صورت اسپری برگی با غلظت‌های (صفر و ۰/۲۵ میلی‌مولار) قرار گرفتند و پس از دو روز تیمار خشکی در چهار سطح (FC ٪۲۵،۷۵٪،۵۰٪ و ٪۱۰۰) به‌مدت دو هفته به گونه‌ای اعمال شد که هر روز گلدان‌ها وزن شده و به اندازه ظرفیت زراعی ذکرشده گیاهان آبیاری شدند. تیمار SA با غلظت صفر و ۰/۲۵ میلی‌مولار برای بار دوم یک هفته پس از اولین مرحله محلول‌پاشی صورت گرفته سپس گیاهان برداشت شدند.

تهیه عصاره آنزیمی: ریشه و برگ تازه گیاهان پس از توزین با دو میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH ٦/٨) به‌صورت هموژن در آمد. پس از همگن‌سازی نمونه‌ها به ویال‌های ۲ میلی‌لیتری انتقال داده شده و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد در سرعت g ۱۵۰۰۰ به‌مدت ۱۲ دقیقه سانتریفیوژ (مدل Smart R17، شرکت Hanil کره) شدند. سپس فاز بالایی جدا شد که این عصاره‌ها برای سنجش‌های آنزیمی نیز استفاده شد (Bradford, 1976).

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT): میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با بررسی کاهش مقدار هیدروژن پراکسید در ۲٤۰ نانومتر انجام شد. سه میلی‌لیتر مخلوط واکنش شامل ۲۸۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH ٦/٨)، ۱۰۰ میکرولیتر هیدروژن پراکسید ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی است. واکنش با افزودن عصاره آنزیمی آغاز شد و تغییرات جذب در ۲٤۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر (مدل ۲۱۰۰، شرکت Unico آمریکا) به‌مدت سه دقیقه ثبت شد. سپس فعالیت آنزیم بر حسب واحد آنزیم به‌ازای هر میلی‌گرم پروتئین برای همه نمونه‌ها محاسبه شد (Chance and Maehly, 1955). محتوای پروتئین به‌روش برادفورد محاسبه گردید (Bradford, 1976).

سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز (APX): در این روش مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH ۷)، آسکوربات ۰/۵ میلی‌مولار، آب‌اکسیژنه ۰/۱ میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت آسکوربات براساس اکسیداسیون آسکوربیک اسید و کاهش در جذب در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر (مدل ۲۱۰۰، شرکت Unico آمریکا) به‌مدت یک دقیقه اندازه‌گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیمی به‌عنوان مقدار آنزیمی است که ۱ میکرومول آسکوربیک اسید را در مدت یک دقیقه اکسید کند. سپس فعالیت آنزیم بر حسب واحد آنزیم به‌ازای هر میلی‌گرم پروتئین برای همه نمونه‌ها محاسبه شد (Nakano and Asada, 1981).

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD): سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از سنجش مهار احیاء نوری متیل‌تیازول تترازولیوم (MTT) در طول‌موج ٥٦۰ نانومتر انجام شد. بدین منظور ابتدا محلول بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH ۷/٤) تهیه شد. سپس برای تهیه مخلوط واکنش به‌ترتیب متیونین ۱۳ میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، MTT ۷۵ میکرومولار و ریبوفلاوین ٤ میکرومولار اضافه شد. سپس از هر نمونه عصاره ۱۰۰ میکرولیتر در هر لوله آزمایش ریخته و ۳ میلی‌لیتر از محلول فوق به آن اضافه گردید و با قراردادن آنها تحت روشنایی لامپ فلورسنت (W ٤۰) بلافاصله واکنش آغاز گردید. پس از گذشت ۱۵ دقیقه جذب نمونه‌ها در طول‌موج ٥٦۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر (مدل ۲۱۰۰، شرکت Unico آمریکا) خوانده شد. به‌عنوان شاهد ۳ میلی‌لیتر از محلول فوق که فاقد عصاره بود بدون آنکه نور ببیند درون کووت ریخته و دستگاه با آن صفر شد. برای سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز علاوه بر این شاهد نیاز به نمونه کنترل نیز بود. این نمونه که شاهد روشنایی نامیده شد، شامل ۳ میلی‌لیتر از محلول واکنش (فاقد عصاره) است که زیر نور فلورسنت قرار گرفت. میزان فعالیت آنزیم SOD در نمونه‌ها در مقایسه با شاهد روشنایی سنجیده شد. به‌دلیل عدم‌وجود آنزیم در شاهد روشنایی، احیاء MTT در حضور نور بطور ۱۰۰ درصد انجام گرفته است.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.21.1]

میزان جذب نمونه شاهد در ٥٦٠ نانومتر نشان‌دهنده ۱۰۰٪ احیاء نوری MTT است و نیمی از آن معادل یک واحد آنزیمی می‌باشد؛ بنابراین یک واحد آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز مقدار آنزیمی است که از احیاء ۵۰ درصد MTT ممانعت می‌کند. اختلاف جذب نمونه‌ها و شاهد روشنایی در ٥٦٠ نانومتر نشان‌دهنده مهار احیاء نوری MTT در حضور آنزیم SOD موجود در نمونه بود. با استفاده از این اختلاف جذب، واحد آنزیمی نمونه‌ها محاسبه و فعالیت آنزیمی بر حسب واحد آنزیم به‌ازای هر میلی‌گرم پروتئین برای همه نمونه‌ها محاسبه شد (Giannopolitis and Ries, 1977).

سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپیدها: برای سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشا غلظت مالون دی‌آلدهید حاصل از این واکنش اندازه‌گیری شد. طبق این روش بافت تازه برگی در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک اسید ۰/۱ (TCA) درصد سائیده شد. عصاره حاصل به‌مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ شد. به ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ ٤ میلی‌لیتر محلول TCA ٤٠ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید (TBA) بود اضافه شد. مخلوط حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حمام آب‌گرم حرارت داده شد. سپس بلافاصله در یخ سرد شد و دوباره مخلوط به‌مدت ۱۰ دقیقه در g ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. شدت جذب این محلول با اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۳۲ نانومتر با اسپکتروفتومتر (مدل ۲۱۰۰، شرکت Unico آمریکا) خوانده شد. ماده موردنظر برای جذب در این طول‌موج کمپلکس قرمز (MDA-TBA) است. جذب سایر آلدهیدها مانند پروپانال و غیره در ٦٠٠ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردید. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل $155\ mM^{-1}cm^{-1}$ استفاده شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب وزن تر محاسبه شد (Heath and Packer, 1968).

سنجش محتوای آب‌اکسیژنه: بافت تر برگ یا ریشه (۰/۵ گرم) درون هاون با ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک اسید ۰/۱ درصد در حمام یخ ساییده شد. همگنای به‌دست آمده به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. سپس ۵۰۰ میکرولیتر از محلول رویی با ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار (pH ۷) و ۱ میلی‌لیتر KI یک مولار مخلوط شده و جذب محلول در طول‌موج ۳۹۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر (مدل ۲۱۰۰، شرکت Unico آمریکا) خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد H_2O_2 مقدار H_2O_2 نمونه‌ها به‌صورت μmg^{-1} FW بیان گردید (Alexieva *et al.*, 2001).

بررسی‌های مولکولی: استخراج RNA با مینی‌کیت گیاهی TOPAZ GENE (Cat. No: TGK2004) با توجه به دستورالعمل کیت صورت گرفت. پس از استخراج RNA کیفیت RNA با ژل آگارز ۱٪ و با استفاده از الکتروفورز (مدل EPS-600Z، شرکت پایا پژوهش پارس، ایران) بررسی شد. برای بررسی و ارزیابی خلوص و تعیین غلظت RNA از روش اسپکتوفتومتری استفاده شد. پس از بررسی سالم‌بودن RNA استخراج‌شده مرحله سنتز cDNA انجام شد. در این قسمت با استفاده از آنزیم نسخه‌برداری معکوس، رشته cDNA از روی RNA ساخته می‌شود. بدین منظور از کیت سنتز cDNA شرکت Pars Tous استفاده شد. واکنش PCR در دستگاه (Multigene، شرکت Labnet، آمریکا) تولید DNA دو رشته‌ای جهت تشخیص بیان ژن‌های خاص با استفاده از cDNA براساس آغازگرهای ویژه صورت گرفت (Sambrook and Russell, 2001).

آغازگرهای Mn-SOD (میتوکندری)، Fe-SOD (کلروپلاست) و β actin (کنترل) بعد از طراحی توسط نرم‌افزار primer 3 و بررسی آنها در برنامه BLAST مورد استفاده قرار گرفت.

برای شناسایی ژن زیر واحدهای آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از RT-PCR استفاده شد. واکنش PCR به‌منظور تکثیر cDNA براساس آغازگرهای ساخته‌شده در تولید DNA دو رشته‌ای جهت تشخیص بیان ژن صورت می‌گیرد. جهت انجام کار ۱ میکرولیتر از آغازگرها، 2x tag premix (٦ میکرولیتر)، آب استریل (۱/۸ میکرلیتر) و DNA (۲/۸ میکرولیتر) استفاده شد. پس از اضافه‌نمودن ترکیبات کیت به داخل میکروتیوب‌ها و قرارگرفتن آنها در دستگاه PCR، طبق برنامه PCR، ژن‌های مربوطه تکثیر شدند. پس از اتمام مراحل PCR نمونه‌ها آماده بارگیری روی ژل الکتروفورز شدند. در این مرحله جهت تفکیک بهتر cDNA از الکتروفورز ژل آگارز

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.21.1]

جدول ۱- توالی نوکلوتیدهای پرایمرهای Mn-SOD، Fe-SOD و β actin

نام پرایمر	توالی	درصد GC	دما °C	طول محصول (bp)
Beta actin	5'CAGGGAGAAGATGACCCAAATC3' 3'AGCAATGCCAGGGAACATAG5'	۵۰	۵۸	۵۹۰
Mn-SOD	5'ACAAGTGAAGGTGGTGGTGA3' 3'GGTCCTGGTTTGCAGTTGTT5'	۵۰	۵۷/۳	۱۹۳
Fe-SOD	5'GTCTCTGAGTCATTGCTCTTGT3' 3'GCATGCCTACTACCTCGATTT5'	٤٥/٥	۵۷	۲۲۸

استفاده شد. پهنای باند ژن‌های مورد مطالعه توسط نرم‌افزار Total lab اندازه‌گیری شد (Franzellitti and Fabbri, 2005; Jubelin *et al.*, 2005; Hassanpour *et al.*, 2014). توالی نوکلوتیدهای پرایمرهای نامبرده در جدول ۱ آورده شده است. برای تجزیه آماری از نرم‌افزارهای Excel و SPSS ویرایش ۱٦ استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گردید.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برگ و ریشه: بررسی نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش تنش خشکی افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز برگ و ریشه نسبت به شاهد (FC ۱۰۰٪) مشاهده شده است. فعالیت کاتالاز برگ در تیمار همزمان SA و خشکی ۲۵٪ کاهش معنی‌داری داشته و در خشکی ۵۰٪ افزایش داشته است. فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه در تیمار همزمان SA و خشکی ۵۰٪ کاهش و در خشکی ۲۵٪ افزایش یافته است (جدول ۲). فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ در تیمار ۲۵٪ و ۵۰٪ نسبت به شاهد (FC ۱۰۰٪) افزایش معنی‌داری داشته در حالیکه تیمار همزمان SA و خشکی فعالیت آسکوربات پراکسیداز برگ را کاهش داده است. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ریشه در خشکی ۲۵٪ نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشته و در تیمار همزمان SA و خشکی۲۵٪ افزایش معنی‌داری داشته است (جدول ۲ و ۳).

فعالیت SOD برگ و ریشه در خشکی ۲۵٪ و ۵۰٪ نسبت به شاهد (FC ۱۰۰٪) افزایش داشته است. تیمار SA و خشکی ۵۰٪ باعث افزایش فعالیت آنزیم SOD برگ شده در حالیکه کاهش فعالیت SOD برگ در خشکی ۲۵٪ مشاهده شده است. فعالیت SOD ریشه در تیمار همزمان خشکی۲۵٪ و ۵۰٪ و SA افزایش معنی‌داری داشته است (جدول ۲ و ٤).

محتوای مالون دی‌آلدهید برگ و ریشه: براساس نتایج حاصل از پژوهش حاضر با افزایش تنش خشکی افزایش مالون دی‌آلدهید برگ و ریشه مشاهده شده است. مالون دی‌آلدهید برگ و ریشه در تیمار همزمان SA و خشکی ۲۵٪ و ۵۰٪ کاهش معنی‌داری داشته است (جدول ۵ و ۳).

آب‌اکسیژنه برگ و ریشه: آب‌اکسیژنه برگ و ریشه در تنش خشکی ۲۵٪ و ۵۰٪ نسبت به شاهد (FC ۱۰۰٪) افزایش یافته است. SA توانسته آب‌اکسیژنه برگ و ریشه را در خشکی ۲۵٪ و ۵۰٪ کاهش دهد (جدول ۳).

بیان زیر واحدهای سوپراکسید دیسموتاز در ریشه و برگ: نتایج حاصل از بررسی تیمار خشکی و SA (جدول ۵) نشان داد که بیان زیر واحد Mn-SOD برگ در خشکی FC ۲۵٪ نسبت به شاهد (FC ۱۰۰٪) افزایش معنی‌داری داشته در حالیکه خشکی ۵۰٪ باعث افزایش بیان ژن Mn-SOD ریشه شده است. SA در خشکی ۲۵٪ باعث کاهش بیان Mn-SOD برگ شده و در ریشه اثر معنی‌داری نداشته است (شکل ۱ و ۲). تیمار خشکی ۲۵٪ باعث افزایش بیان Fe-SOD برگ و ریشه نسبت به شاهد شده است. تیمار همزمان خشکی و SA بر بیان زیر واحد Fe-SOD برگ اثر معنی‌داری نداشته ولی در سه سطح ۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ SA باعث کاهش Fe-SOD ریشه شده است (شکل ۳ و ٤).

بحث

با توجه به اهمیت فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها در شرایط تنش در تحقیق حاضر اندازه‌گیری فعالیت آنها تحت تنش خشکی و سالیسیلیک اسید مد نظر بوده است. در تنش خشکی افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در آفتابگردان (Manivannan *et al.*, 2007) و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در برنج

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.21.1]

جدول ۲- اثر تیمار خشکی و سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز برگ و ریشه و سوپراکسید دیسموتاز برگ در گلرنگ

تیمار	سوپراکسید دیسموتاز برگ	آسکوربات پراکسیداز ریشه	آسکوربات پراکسیداز برگ	کاتالاز ریشه	کاتالاز برگ
FC100 %	۰/۰۲۵ ± ۰/۰۰۰ ef	۰/۰۰۹ ± ۰/۰۰ d	۰/۰۱ ± ۰/۰۰٤ b	۱۸ ± ۰/۹ d	۲۸ ± ۰/۳ g
FC75 %	۰/۰۳۲ ± ۰/۰۰۲ d	۰/۰۱۵ ± ۰/۰۰ bcd	۰/۰۵ ± ۰/۰۰ b	۳٦ ± ۱/۲ c	۱٤۹ ± ۰/۵ d
FC50 %	۰/۰۳٦ ± ۰/۰۰۰ c	۰/۰۱۹ ± ۰/۰۱ bcd	۰/۱٤ ± ۰/۰٤ a	٤٦ ±۰/٦ b	۱٦٦ ± ۰/٤ c
FC25 %	۰/۰٤٦ ± ۰/۰۰۰ a	۰/۰٤ ± ۰/۰۰۳ bc	۰/۱۹ ± ۰/۵ a	۳۷ ± ۱/۲ b	۲۳۱ ± ۱/۳ a
FC100% + SA	۰/۰۲۹ ± ۰/۰۰۰ de	۰/۰۰۸ ± ۰/۰۰ cd	۰/۰۰۵ ± ۰/۰۰ b	۱۲ ± ۰/۳ d	۵۳/٤ ± ۱/۲ g
FC75% + SA	۰/۰۲٤ ± ۰/۰۰۰ f	۰/۰۰٦ ± ۰/۰۰ d	۰/۰۱٤ ± ۰/۰۰ b	۱۲ ± ۰/۷ d	٦۲/٦ ± ۰/۹ f
FC50% + SA	۰/۰۵٤ ± ۰/۰۰۱ a	۰/۰٤ ± ۰/۰۰ b	۰/۰٤۲ ± ۰/۰۲ b	۱۹ ± ۰/۸ d	۱۸۵ ± ۰/٦ b
FC25% + SA	۰/۰۳۰ ± ۰/۰۰۱ d	۰/۲۲ ± ۰/۰۲ a	۰/۰۲٤ ± ۰/۰۰ b	٦٦ ± ۱/٤ a	۷۱ ± ۰/۲ e

حروف یکسان بیانگر عدم‌اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون دانکن است.

جدول ۳- اثر تیمار خشکی و سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ریشه، محتوای آب‌اکسیژنه و مالون دی‌آلدهید برگ و ریشه در گلرنگ

تیمار	مالون دی‌آلدهید ریشه	مالون دی‌آلدهید برگ	آب‌اکسیژنه ریشه	آب‌اکسیژنه برگ	سوپراکسید دیسموتاز ریشه
FC100 %	۵/۲ ± ۰/۲ d	۵/۵ ± ۰/٤ c	۰/۰٤ ± ۰/۰۰۹ d	۰/۱٤ ± ۰/۰۳ e	/۰۳۸ ± ۰/۰۰ c
FC75 %	۱۰/۵ ± ۰/۹ c	۱۱/۲ ± ۰/۱ b	۰/۲۹ ± ۰/۰۵ b	۰/۵۳ ± ۰/۰۲ cd	۰/۰٤۳ ± ۰/۰۰۱ bc
FC50 %	۱۳/۷ ± ۰/٦ b	۱۲/۳ ± ۰/۱ b	۰/۳۳ ± ۰/۰٤ b	۰/۹۲ ± ۰/۱ b	۰/۰۵۵ ± ۰/۰۰۱ b
FC25 %	۲٤/۱ ± ۰/۱ a	۱۳/۷ ± ۰/۱ a	۰/۵۳ ± ۰/۰۰٦ a	۱/٦ ± ۰/۱ a	۰/۰٦۸ ± ۰/۰۰ a
FC100 % + SA	۹/٦ ± ۰/۹ c	۱۲/۸ ± ۰/۲ b	۰/۲٦ ± ۰/۰۰۹ b	۰/٦۹ ± ۰/۰٤ bc	۰/۰۳۷ ± ۰/۰۰۱ c
FC75 % + SA	۱۲/۲ ± ۰/۰۱ c	۱۳/۲ ± ۰/۱ a	۰/۱۵ ± ۰/۰۱ c	۰/۸۱ ± ۰/۰٦ bc	۰/۰٦۷ ± ۰/۰۰٦ a
FC50 % + SA	۱۰/۵ ± ۰/٦ c	۱۳/٦ ± ۰/۰۵ a	۰/۱۳ ± ۰/۰۳ c	۰/۳۵ ± ۰/۰۲ de	۰/۰۷۳ ± ۰/۰۰۲ a
FC25 % + SA	۱۰/۳ ± ۰/۳ c	۱۲/۹ ± ۰/۷ b	۰/۱۰ ± ۰/۰۳ c	۰/٦٤ ± ۰/۰۹ bcd	۰/۰۷۷ ±/۰۰٤ ۰ a

حروف یکسان بیانگر عدم‌اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون دانکن است.

(Srivalli *et al.*, 2003) مشاهده شده که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد.

گزارش‌هایی مبنی بر تغییر در الگوی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش زیستی و غیرزیستی تحت تیمار SA گزارش شده است. در این پژوهش تیمار همزمان SA و خشکی باعث کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز برگ شده زیرا SA به‌علت داشتن اکسیژن در گروه هیدروکسیل خود با پیوند با آنزیم کاتالاز باعث احیا حلقه بنزوئیک شده و قادر به کلاته‌کردن آهن موجود در کاتالاز شده که به‌دنبال آن کاهش فعالیت آنزیم مشاهده می‌شود (Shi and Zhu, 2008). در پژوهش حاضر نتایج حاصل از بررسی تیمار همزمان خشکی و SA نشان داد که فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز ریشه افزایش می‌یابند که با نتایج حاصل از اثر SA در تنش خشکی در لوبیا مطابقت دارد (Sadeghipour and Aghaei, 2012). با افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز آب‌اکسیژنه بیشتری تولید شده و به‌دنبال آن افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز ریشه موجب کاهش محتوای آب‌اکسیژنه می‌شود. SA توانسته با القا آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.21.1]

جدول ٤- تجزیه واریانس خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه گلرنگ در تیمار خشکی و سالیسیلیک اسید

منبع تغییرات	df	میانگین مربعات						
		کاتالاز برگ	کاتالاز ریشه	آسکوربات پراکسیداز برگ	آسکوربات پراکسیداز ریشه	سوپراکسید دیسموتاز برگ	سوپراکسید دیسموتاز ریشه	مالون دی‌آلدهید ریشه
تکرار	۲	۲۲/۲ ns	۲۹/۵ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۳/۹ ns
خشکی	۳	۲٤۰۲۰ ***	۷۸٦ ***	۰/۰۱۳ ***	۰/۰۱٦ ***	۰/۰۰ ***	۰/۰۰۱ ***	۱۱٦ ***
سالیسیلیک اسید	۱	۱۸۳٦۹ ***	۵۰۱۰ ***	۰/۰۳۸ **	۰/۰۱٦ ***	۰/۰۰۰۳ ns	۰/۰۰۱ ***	٤۸/۳ ***
خشکی × سالیسیلیک اسید	۳	۱۰٦۱۰ ***	۸٤۷ ***	۰/۰۰۷ ***	۰/۰۱٤ ***	۰/۰۰ ***	۰/۰۰۱ ***	۱۰۱ ***
خطای آزمایش	۱٤	۱۹/۳	۲۱/۸	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۰٦	۰/۰۰	۲/۳
کل	۲۳							
ضریب تغییرات		٦/۱	۷/٦	۱/۲	۱/۵	۲/٦	۲/۲	٤/۹

ns عدم‌معنی‌داری و *، ** و * به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵، ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۰۱ را نشان می‌دهد.**

جدول ۲- تجزیه واریانس خصوصیات فیزیولوژیکی و ملکولی گیاه گلرنگ در تیمار خشکی و سالیسیلیک اسید

منبع تغییرات	df	میانگین مربعات						
		زیر واحد MnSOD برگ	زیر واحد MnSOD ریشه	زیر واحد FeSOD برگ	زیر واحد FeSOD ریشه	آب‌اکسیژنه برگ	آب‌اکسیژنه ریشه	مالون دی‌آلدهید برگ
تکرار	۲	۰/۰۲ ns	۰/۱ ns	۰/۰۲ ns	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۱ ns	۳/۹ ns	۰/۳۹ ns
خشکی	۳	۰/۰۵۳ ***	۰/۰۵٦ ns	۰/۰۰۹ ns	۰/٤۵ ***	۰/۷۰ *	۰/۰۳۳ ***	۲۱/٤ ***
سالیسیلیک اسید	۱	۰/۰۲۱ **	۰/۰٤۳ ns	۰/۰۰۳ ns	۰/۳۱ ***	۰/۱۹*	۰/۰۸۲ ***	۵۰/۲ ***
خشکی × سالیسیلیک اسید	۳	۰/۰٤٦ ***	۰/۰۲۹ ns	۰/۱۷ *	۰/۷۱ ***	۰/۵٦ ***	۰/۰۹٤ ***	۱٤/۲ ***
خطای آزمایش	۱٤	۰/۰۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲٤	۰/۰۰۱	۰/۰۲	۰/۰۰۳	۰/۷٦
کل	۲۳							
ضریب تغییرات		۱/۷	۱/٦	۱/۷	۱/۵	٦/۱	٦/٤	۲/۱

ns عدم‌معنی‌داری و *، ** و * به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵، ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۰۱ را نشان می‌دهد.**

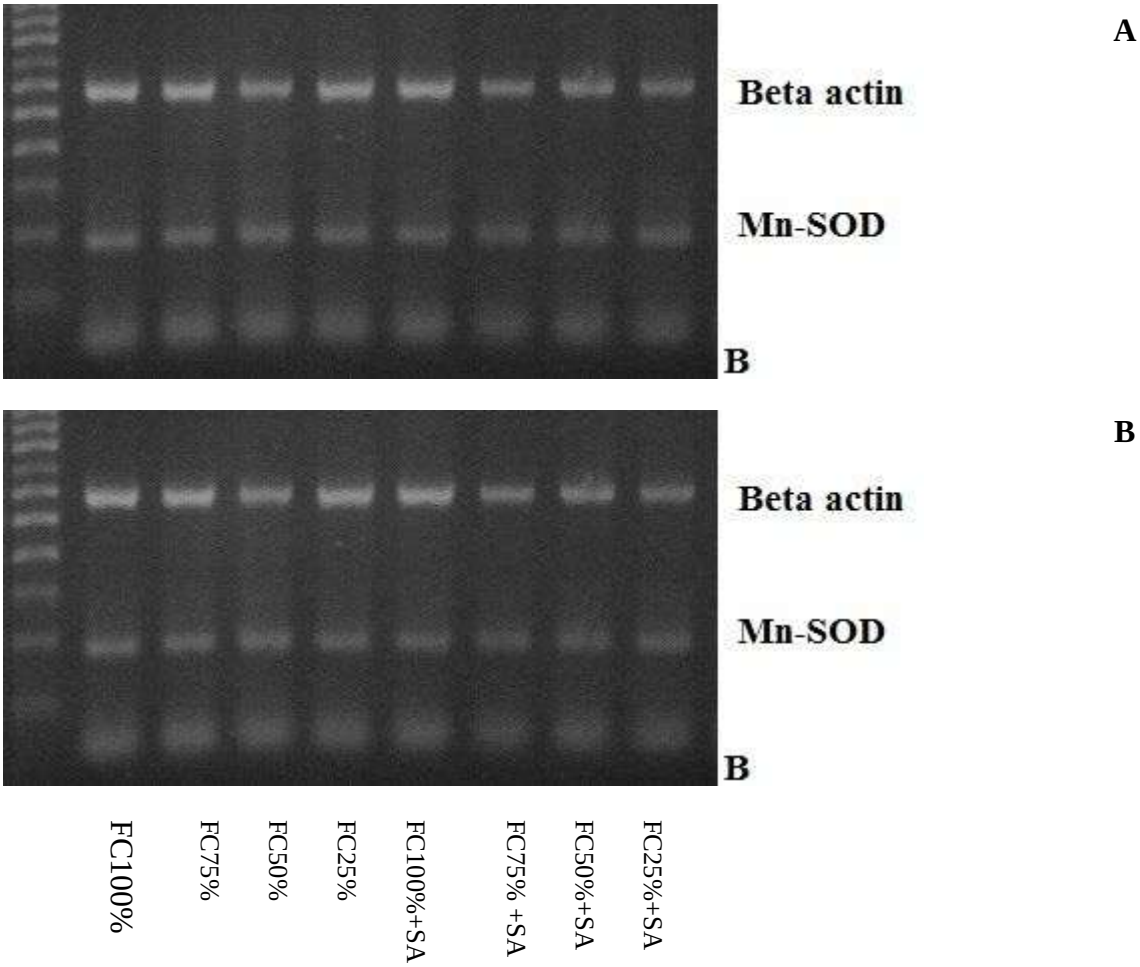
پروتئین‌ها را در برابر خشکی محافظت کند (Sadeghipour and Aghaei, 2012). در این تحقیق تیمار SA در تنش خشکی باعث کاهش آسکوربات پراکسیداز برگ شده که این حالت در خیار تحت تنش خشکی و SA گزارش شده است (Reddy *et al.*, 2004).

در تنش خشکی گونه‌های فعال اکسیژن موجب اکسیدشدن لیپیدها، تغییر ساختار غشاء و درنتیجه از بین‌رفتن یکپارچگی غشاء و افزایش مالون دی‌آلدهید می‌شوند. افزایش سطح مالون دی‌آلدهید در تنش خشکی در گلرنگ با نتایج حاصل از اثر تنش خشکی در ذرت مطابقت دارد (Sofo *et al.*, 2005; Farooq *et al.*, 2009).

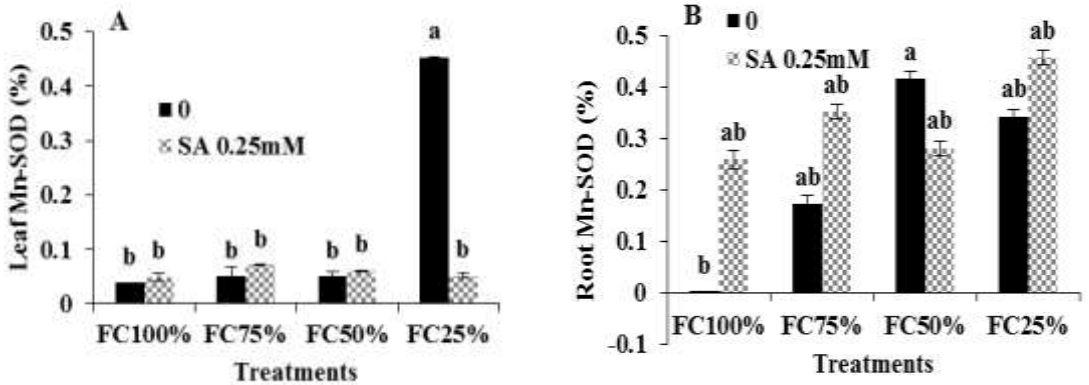
در پژوهش حاضر، مالون دی‌آلدهید برگ و ریشه در تیمار همزمان خشکی و SA کاهش داشته است که علت آن کاهش رادیکال‌های آزاد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.21.1]



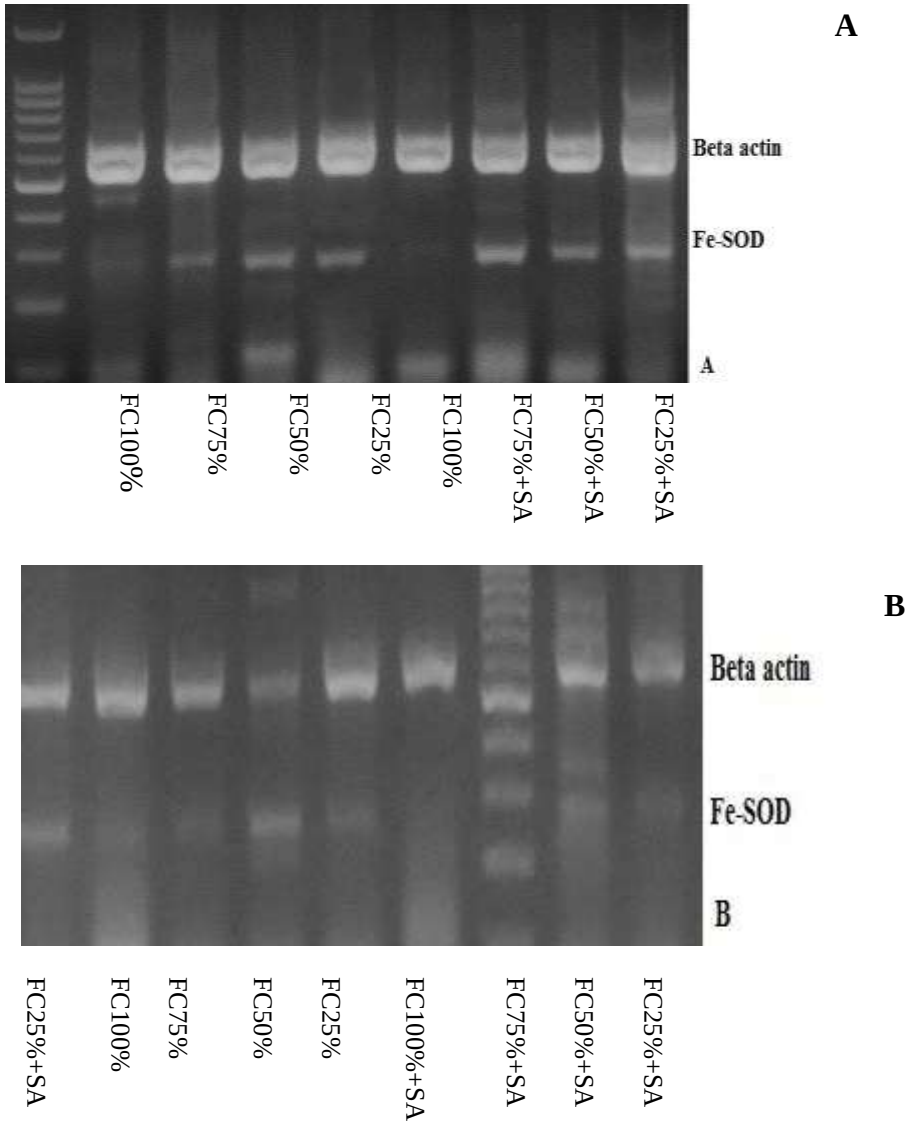
شکل ۱- ژل آگارز، محصول PCR پرایمر Mn-SOD و کنترل مثبت در برگ (A) و ریشه (B)



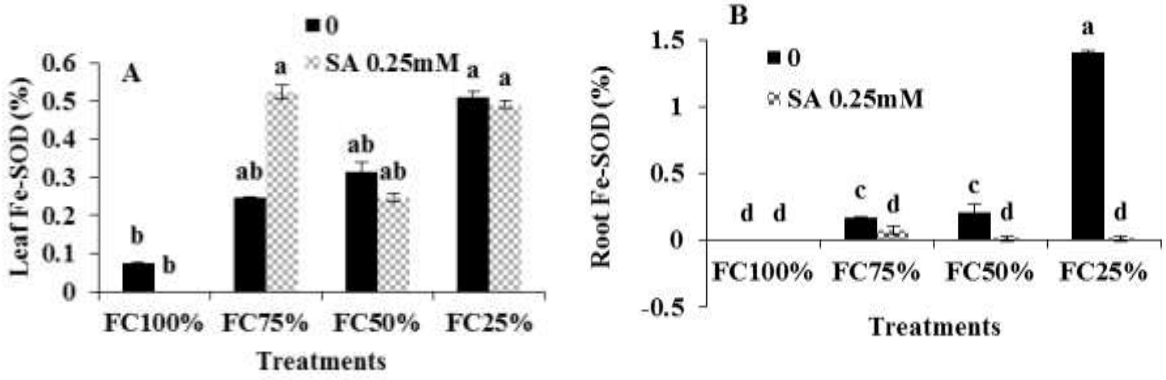
شکل ۲ - اثر تیمار خشکی و سالیسیلیک اسید بر بیان ژن Mn-SOD برگ (A) و ریشه (B) در گلرنگ

است. این حالت در عدس (Bandeoglu *et al.*, 2004) و خرفه (Yazici *et al.*, 2007) گزارش شده است. طبق بعضی مدارک موجود سالیسیلیک اسید با اثر بر H_2O_2 توان آنتی‌اکسیدانی را افزایش و از گیاه در برابر تنش‌های اکسیداتیو حفاظت می‌کند (Posmyk *et al.*, 2005).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.21.1]



شکل ۳- ژل آگارز، محصول PCR پرایمر Fe-SOD و کنترل مثبت در برگ (A) و ریشه (B)



شکل ٤- اثر تیمار خشکی و سالیسیلیک اسید بر بیان ژن Fe-SOD برگ (A) و ریشه (B) در گلرنگ

نتایج حاصل از بررسی تیمار خشکی بر گلرنگ نشان داد که تحت تنش خشکی افزایش قابل ملاحظه‌ای در میزان هیدروژن پراکسید ریشه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.21.1]

و برگ مشاهده شده و تیمار همزمان خشکی و سالیسیلیک اسید توانسته موجب کاهش هیدروژن پراکسید برگ و ریشه شود. افزایش مقدار هیدروژن پراکسید تحت شرایط تنش خشکی نتیجه اختلال در تعادل تولید رادیکال‌های آزاد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی است. تیمار سالیسیلیک اسید با افزایش فعالیت پراکسیداز و کاتالاز ریشه موجب کاهش مقدار پراکسیداسیون لیپیدها و مقدار هیدروژن پراکسید و حفاظت بیشتر از غشاءهای سلولی و رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌شود که در بابونه گزارش شده است (Reddy *et al.*, 2004).

با توجه به اهمیت سوپراکسید دیسموتاز بررسی بیان این ژن تحت تنش خشکی و سالیسیلیک اسید مد نظر بوده است. در تحقیق حاضر تغییرات بیان سه ایزوفرم ژن سوپراکسید دیسموتاز به‌عنوان متالوآنزیم مهم در کاهش سمیت واسطه‌های رادیکال‌های اکسیژن مطالعه گردید. وجود فرم‌های مختلف این آنزیم در سلول‌ها، بافت‌ها و اندام‌های مختلف و در شرایط متنوع محیطی و تحت تنش‌های گوناگون، نشان‌دهنده نقش‌های جداگانه این ایزوفرم‌ها است (Sfaxi *et al.*, 2012). رادیکال سوپراکسید تولیدشده در تنش اسمزی نمی‌تواند از عرض غشای پلاسمایی عبور کند و باعث پراکسیداسیون دو لایه لیپیدی شده و برای سلول سمی و مضر است. بیان و سنتز زیر واحدهای SOD همیشه لازم است اما در شرایط تنش این زیر واحدها مرتباً به‌صورت جدید سنتز می‌شود تا حفاظت از گیاه انجام شود (Zhu and Scandalios, 1994). در پژوهش حاضر در گیاه گلرنگ تحت تنش خشکی افزایش بیان زیر واحدهای آنزیم SOD مشاهده شده است. افزایش زیر واحدهای Fe-SOD در گونه‌های مقاوم و حساس به تنش خشکی ذرت (Karuppanapandian *et al.*, 2011)، Lotus (Borsani *et al.*, 2001) و سیب‌زمینی گزارش شده است (Lu *et al.*, 2010). به‌نظر می‌رسد در میان زیر واحدهای مورد مطالعه همه زیر واحدها در تنش خشکی مؤثر ولی در تیمار همزمان خشکی و سالیسیلیک اسید فعالیت زیر واحد Fe-SOD برگ و زیر واحد Mn–SOD ریشه مؤثر بوده و سبب تحمل گیاه نسبت به خشکی می‌شود. این افزایش در بیان زیر واحد Fe-SOD در برگ گیاه رزماری تحت تنش شوری نیز گزارش شده (El-Esawi *et al.*, 2017) که نشان‌دهنده اثر سالیسیلیک اسید در بیان ژن و افزایش تحمل تنش اسمزی است. تنظیم عملکرد زیر واحدهای سوپراکسید دیسموتاز علاوه بر بیان ژن به تغییرات پس از ترجمه نیز بستگی دارد که به مکانیسم پینگ‌پونگی معروف است که اکسید و احیاشدن پی‌درپی فلز موجود در هر کدام از زیر واحدها باعث تغییر فعالیت آنها می‌شود. نیتراته‌شدن یا نیتروزیله‌شدن اسیدآمینه تیروزین موجود در آنها می‌تواند آنها را فعال یا غیرفعال کند (Arora and Bhatla, 2015).

نتیجه‌گیری

براساس پژوهش حاضر می‌توان نتیجه گرفت که تنش خشکی در ابتدای رشد با افزایش آب‌اکسیژنه و مالون دی‌آلدهید باعث ایجاد تغییرات نامطلوب در گیاه گلرنگ شده و استفاده از سالیسیلیک اسید از طرفی در سطح نسخه‌برداری و بیان ژن و از سوی دیگر با تغییر فعالیت آنتی‌اکسیدانی توانسته رادیکال‌های آزاد را جاروب و آسیب‌های ناشی از تنش خشکی را کاهش داده و باعث سازگاری گیاه به شرایط تنش شده است.

منابع

Ahmadizadeh, M. (2013) Physiological and agro-morphological response to drought stress. Middle-East Journal of Scientific Research 13: 998-1009.

Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S. and Karanov, E. (2001) The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. Plant Cell and Environment 24: 1337-1344.

Alyemeni, M. N., Hayat, Q., Wijaya, L. and Hayat, S. (2014) Effect of salicylic acid on the growth, photosynthetic efficiency and enzyme activities of leguminous plant under cadmium stress. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca 42: 440-445.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.21.1]

Arora, D. and Bhatla, S. C. (2015) Nitric oxide triggers a concentration-dependent differential modulation of superoxide dismutase (FeSOD and Cu/ZnSOD) activity in sunflower seedling roots and cotyledons as an early and long distance signaling response to NaCl stress. Plant Signaling and Behavior 10: 1071751-10717553.

Bandeoglu, E., Eyidogan, F., Yucel, M. and Avni Oktem, H. (2004) Antioxidant responses of shoots and roots of lentil to NaCl-salinity stress. Plant Growth Regulation 42: 69-77.

Borsani, O., Diaz, P., Agius, M. F., Valpuesta, V. and Monza, J. (2001) Water stress generates an oxidative stress through the induction of a specific Cu/Zn superoxide dismutase in *Lotus corniculatus* leaves. Plant Science 161: 757-763.

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Camas, E. A. (2005) Relationships between seed yield and some characters of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars grown in the Middle Black Sea conditions. CAB Direct 2005: 3-198.

Chance, B. and Maehly, A. (1955) Assay of catalases and peroxidases. Methods in Enzymology 2: 764-775.

El-Esawi, M. A., Elansary, H. O., El-Shanhorey, N. A., Abdel-Hamid, A. M., Ali, H. M. and Elshikh, M. S. (2017) Salicylic acid regulated antioxidant mechanisms and gene expression enhance rosemary performance under saline conditions. Frontiers in Physiology 8: 716.

Eraslan, F., Inal, A., Savasturk, O. and Gunes, A. (2007) Changes in antioxidative system and membrane damage of lettuce in response to salinity and boron toxicity. Scientia Horticulturae 114: 5-10.

Eslam, B. P., Monirifar, H. and Ghassemi, M. T. (2010) Evaluation of late season drought effects on seed and oil yields in spring safflower genotypes. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 34: 373-380.

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra, S. (2009) Plant drought stress: effects mechanisms and management. Sustainable Agriculture. Agronomy for Sustainable Development 185-212.

Foroozan, K. (2005) Safflower production in Iran (past, now, future). In: Proceedings of the 6th international safflower conference, Istanbul, Turkey.

Franzellitti, S. and Fabbri, E. (2005) Differential *HSP70* gene expression in the Mediterranean mussel exposed to various stressors. Biochemical and Biophysical Research Communications 336: 1157-1163.

Giannopolitis, C. N. and Ries, S. K. (1977) Superoxide dismutases I. Occurrence in higher plants. Plant Physiology 59: 309-314.

Gunes, A., Cicek, N., Inal, A., Alpaslan, M., Eraslan, F., Guneri, E. and Guzelordu, T. (2006) Genotypic response of chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars to drought stress implemented at pre-and post-anthesis stages and its relations with nutrient uptake and efficiency. Plant Soil and Environment 52: 368-376.

Hassanpour, H., Khavari Nejad, R. A., Niknam, V., Razavi, K. and Najafi, F. (2014) Effect of penconazole and drought stress on the essential oil composition and gene expression of *Mentha pulegium* L.(Lamiaceae) at flowering stage. Acta Physiologiae Plantarum 36: 1167-1175.

Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics 125: 189-198.

Hussain, M. I., Lyra, D. A., Farooq, M., Nikoloudakis, N. and Khalid, N. (2016) Salt and drought stresses in safflower: A review. Agronomy for Sustainable Development 36: 4-31.

Jubelin, G., Vianney, A., Beloin, C., Ghigo, J. M., Lazzaroni, J. C., Lejeune, P. and Dorel, C. (2005) CpxR/OmpR interplay regulates curli gene expression in response to osmolarity in *Escherichia coli*. Bacteriology 187: 2038-2049.

Karuppanapandian, T., Moon, J. C., Kim, C., Manoharan, K. and Kim, W. (2011) Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. Australian Journal of Crop Science 5: 709-725.

Lu, Y. Y., Deng, X. P. and Kwak, S. S. (2010) Over expression of CuZn superoxide dismutase (CuZn SOD) and ascorbate peroxidase (APX) in transgenic sweet potato enhances tolerance and recovery from drought stress. African Journal of Biotechnology 9: 8378-8391.

Manivannan, P., Jaleel, C. A., Sankar, B., Kishorekumar, A., Somasundaram, R., Lakshmanan, G. A. and Panneerselvam, R. (2007) Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 59: 141-149.

Miura, K. and Tada, Y. (2014) Regulation of water, salinity, and cold stress responses by salicylic acid. Frontiers in Plant Science 5: 1-12.

Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant and Cell Physiology 22: 867-880.

Posmyk, M. M., Bailly, C., Szafranska, K., Janas, K. M. and Corbineau, F. (2005) Antioxidant enzymes and isoflavonoids in chilled soybean (*Glycine max* L. Merr.) seedlings. Plant Physiology 162: 403-412.

Rahbarian, R., Khavari Nejad, R., Ganjeali, A., Bagheri, A. and Najafi, F. (2011) Drought stress effects on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and water relations in tolerant and susceptible chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 53: 47-56.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.21.1]

Rampino, P., Spano, G., Pataleo, S., Mita, G., Napier, J. A., Di Fonzo, N., Shewry, P. R. and Perrotta, C. (2006) Molecular analysis of a durum wheat 'stay green'mutant: expression pattern of photosynthesis related genes. Cereal Science 43: 160-168.

Reddy, A. R., Chaitanya, K. V. and Vivekanandan, M. (2004) Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Plant Physiology 161: 1189-1202.

Sadeghipour, O. and Aghaei, P. (2012) Impact of exogenous salicylic acid application on some traits of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under water stress conditions. International Journal of Agriculture and Crop Science 4: 685-690.

Sambrook, J. and Russell, D. (2001) Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Woodbury, New York

Sfaxi, I. H., Ezzine, A., Coquet, L., Cosette, P., Jouenne, T. and Marzouki, M. N. (2012) Combined proteomic and molecular approaches for cloning and characterization of copper – zinc superoxide dismutase (Cu, Zn-SOD2) from garlic (*Allium sativum*). Molecular Biotechnology 52: 49-58.

Shi, Q. and Zhu, Z. (2008) Effects of exogenous salicylic acid on manganese toxicity, element contents and antioxidative system in cucumber. Environmental and Experimental Botany 63: 317-326.

Sofo, A., Tuzio, A. C., Dichio, B. and Xiloyannis, C. (2005) Influence of water deficit and rewatering on the components of the ascorbate – glutathione cycle in four interspecific Prunus hybrids. Plant Science 169: 403-412.

Srivalli, B., Sharma, G. and Khanna-Chopra, R. (2003) Antioxidative defense system in an upland rice cultivar subjected to increasing intensity of water stress followed by recovery. Physiologia Plantarum 119: 503-512.

Yazici, I., Turkan, I., Sekmen, A. H. and Demiral, T. (2007) Salinity tolerance of purslane (*Portulaca oleracea* L.) is achieved by enhanced antioxidative system, lower level of lipid peroxidation and proline accumulation. Environmental and Experimental Botany 61: 49-57.

Zhao, M., Zhao, X., Wu, Y. and Zhang, L. (2007) Enhanced sensitivity to oxidative stress in an Arabidopsis nitric oxide synthase mutant. Plant Physiology 164: 737-745.

Zhu, D. and Scandalios, J. G. (1994) Differential accumulation of manganese-superoxide dismutase transcripts in maize in response to abscisic acid and high osmoticum. Plant Physiology 106: 173-178.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.21.1]

Effects of salicylic acid on antioxidant enzymes activities of safflower under drought stress

Maryam Chavoushi[1], Farzaneh Najafi[1], Azam. Salimi[1] and Sayed AbdolHamid, Angaji[2]

[1]Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran
[2]Department of Cell and Molecular Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

(Received: 16/09/2018, Accepted: 22/01/2019)

Abstract

Drought is one of the abiotic stresses that limits plant growth and crop production. Salicylic acid is one of growth regulators which plays an important role in biotic and abiotic stresses. In this study, the effect of salicylic acid on reduction of drought stress in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) was studied. Also, the effect of the concentrations of SA (0, 0.25 mM) and water stress (levels 100%, 75%, 50% and 25% FC) on antioxidant enzymes activities and expression of the SOD gene were studied. When plants had three expanded leaves, they were sprayed with SA and after 2 days, and then they were exposed to drought. After seven days, plants again were sprayed by SA. After two weeks plants were harvested for studying of physiological and molecular parameters. The results showed that drought stress 25%FC increased leaves and roots antioxidant enzyme activity, H_2O_2 and malondialdehyde contents, leaf Mn-SOD and leaf and root Fe-SOD. Interaction of SA and drought increased root antioxidant enzyme activity and reduced leaf antioxidant enzyme activity, root and leaf gene expression of Fe-SOD and Mn-SOD, leaf and root H_2O_2 and malondialdehyde contents. As a result, salicylic acid had a significant role in the reduction of damage of drought stress in safflower plants.

Keywords: Antioxidant, Water stress, Oxidative strees, Safflower

Corresponding author, Email: Chavoosh_m@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.21.1]