

بررسی اثر گالیک اسید بر رشد گل جالیز و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum*)

اعظم سلیمی*، اسرین عرشی و مریم چاوشی

گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۲۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۹/۱۰/۲۳)

چکیده

گل جالیز علف هرز انگلی است که باعث کاهش رشد و عملکرد بسیاری از گیاهان زراعی از جمله گوجه‌فرنگی می‌شود. هدف از این پژوهش، ایجاد ممانعت در برقراری ارتباط بین میزبان و انگل توسط ترکیبات بازدارنده مانند گالیک اسید است. در پژوهش حاضر گالیک اسید در سه غلظت صفر، ۱ و ۳ میلی‌مولار و در سه دوره زمانی ۲۰، ۲۵ و ۳۰ روز پس از کاشت نشاء گوجه‌فرنگی در خاک حاوی بذور گل جالیز به ریشه گیاه اعمال گردید. آزمایش در قالب فاکتوریل و بر پایه طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد که گالیک اسید ۳ میلی‌مولار در ۲۵ و ۳۰ روز پس از کاشت باعث کاهش رشد گل جالیز شده است. گالیک اسید (۱ میلی‌مولار) باعث افزایش معنی‌دار پروتئین برگ و کاهش معنی‌دار پروتئین ریشه گردید. در ۲۵ روز پس از کاشت، گالیک اسید (۱ میلی‌مولار) باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز برگ شده و فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه را کاهش معنی‌داری داده است. در ۳۰ روز پس از کاشت، غلظت ۳ میلی‌مولار گالیک اسید باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آسکوربات پراکسیداز برگ و ریشه آنزیم آسکوربات پراکسیداز شده است. غلظت ۳ میلی‌مولار گالیک اسید باعث افزایش معنی‌دار محتوای فنل و آنتوسیانین برگ شده است. به نظر می‌رسد، گالیک اسید به‌عنوان یک ترکیب فنلی مهم، جوانه‌زنی و یا اتصالات جوان گل جالیز به گیاه میزبان را کنترل می‌کنند و در بازدارندگی رشد گل جالیز نقش مؤثری داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: کاتالاز، پراکسیداز، فنل و آنتوسیانین، گوجه‌فرنگی، گل جالیز

مقدمه

هرمزگان و آذربایجان شرقی به‌شمار می‌رود (نصوحی، ۱۳۸۱). گل جالیز به‌عنوان علف هرز گوجه‌فرنگی مهم‌ترین عامل زیستی در فرایند تولید گوجه‌فرنگی در جنوب غرب آسیا است (Li et al., 2013).

۳۵۰۰ گونه گیاه گل‌دار، در طی تکامل، مرحله اتوتروفیک از چرخه زندگی خود را از دست داده و برای زندگی انگلی و بهره‌بردن از سایر گیاهان، جهت تأمین آب و مواد معدنی سازگار شده‌اند. این گیاهان برای بقاء خود، در کل یا بخشی از

بیماری‌های گیاهی، آفات و علف‌های هرز از عوامل زیان‌آوری هستند که به محصولات کشاورزی خسارت وارد می‌کنند (Culotta and Koshland Jr, 1992). یکی از مهم‌ترین محصولات زراعی که توسط علف‌های هرز آلوده می‌شود گوجه‌فرنگی است. گوجه‌فرنگی به نام علمی *Lycopersicon esculentum*. Mill از تیره سیب‌زمینی Solanaceae است و از مهم‌ترین محصولات زراعی در فارس، خراسان، خوزستان،

چرخه زندگی، وابسته به گیاهان اتوتروف بوده و از آن‌ها تغذیه می‌کنند. انگل‌های گل‌دار یکی از مشکلات مهم کشاورزی در اغلب نقاط جهان به‌شمار می‌روند. علاوه بر این به‌دلیل تولید بذر فراوان موجب آلودگی شدید مزرعه شده و به لحاظ دوام طولانی که این بذور در خاک دارند، زمین را برای مدت مدیدی از بهره‌برداری خارج ساخته و زارع را مجبور به کشت نباتاتی می‌کند که از نظر اقتصادی مقرون به صرفه نیست. غلات به استریگا و صیفی‌جات، گیاهان جالیزی، یونجه، توتون و باقلا به گل جالیز آلوده می‌شوند (رستگار، ۱۳۸۱).

گل جالیز به نام علمی *Orobanche* زندگی انگلی داشته و متعلق به تیره *Orobanchaceae* است. این انگل از طریق ریشه میزبان را آلوده می‌کند. بذر گل جالیز با ذخیره غذایی مختصر، زمانی جوانه می‌زند که مواد محرک شیمیایی تولیدشده توسط ریشه میزبان را دریافت نماید (Zottini et al., 2002). پس از جوانه‌زنی و تشکیل اندام مکنده به ریشه‌های میزبان نفوذ می‌کند. از آنجایی‌که گل جالیز فاقد رنگیزه‌های فتوسنتزی و ریشه حقیقی است کاملاً به میزبان وابسته است و آب و مواد غذایی خود را از میزبان دریافت می‌کند. گل جالیز بدون اینکه میزبان را از بین ببرد، فرایندهای فیزیولوژیک و متابولیک میزبان را تخریب می‌کند و از طریق مصرف مواد معدنی مانند پتاسیم، فسفر، پروتئین، کربوهیدرات کل و اسید گلوتامیک که منجر به کاهش آن‌ها در گیاه میزبان می‌شود، با کاهش مقدار کربوهیدرات‌ها در گیاه میزبان موجب ضعف و ناتوانی آن شده و در نتیجه توانایی جذب آب توسط گیاه میزبان کاهش می‌یابد و این کمبود آب باعث بسته‌شدن روزنه‌ها و در نتیجه کاهش مقدار گاز کربنیک در گیاه شده و در نهایت فتوسنتز، عملکرد و کیفیت محصول گیاه میزبان کاهش می‌یابد. عمل نفوذ انگل به داخل میزبان توسط آنزیم پکتین متیل استراز (PME) صورت می‌گیرد. این آنزیم در همه گیاهان یافت می‌شود و در طول دوره رشد گیاه در متابولیسم پکتین نقش دارد. از جمله ترکیبات بازدارنده پکتین متیل استراز، گالیک اسید است. کاربرد ترکیباتی مانند گالیک اسید در خاک جوانه‌زنی و یا اتصالات جوان گل جالیز به گیاه میزبان را کنترل می‌کنند که

کارایی این نحوه کاربرد به‌طور عمده به غلظت گالیک اسید و سن گیاه میزبان بستگی دارد (Bussmann et al., 2020). کنترل گل جالیز به‌دلیل ارتباط مستقیم با میزبان، زندگی طولانی مدت در زیر خاک و تعداد زیاد بذور ریز و پایدار، بسیار مشکل می‌باشد. روش‌های دیگر کنترل شامل یافتن گیاه میزبان مقاوم، وجین دستی، خاک‌ورزی، استفاده از گیاهان تله، آفتاب‌دهی خاک و مهار زیستی است. استفاده از سموم شیمیایی به‌دلیل صدمه دیدن گیاهان میزبان بسیار مشکل و در مواردی غیرممکن است (Munns, 2002; Habimana et al., 2014). جستجو برای روش‌های جدید دوستدار محیط‌زیست به‌ویژه در زمینه افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های زیستی و غیرزیستی از عوامل کلیدی در کشاورزی پایدار است. در میان روش‌های مقاوم‌سازی گیاه گوجه‌فرنگی به گل جالیز می‌توان به کاربرد گالیک اسید نیز اشاره کرد. Mabrouk و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی رابطه همزیستی نخود و *Rhizobium leguminosarum* به‌دلیل تولید گالیک اسید و نارنژین توسط گیاه، آلوده‌شدن گیاه نخود به گل جالیز کاهش یافته است (Mabrouk et al., 2007). Chen و همکاران (۲۰۰۹) نیز کاهش فعالیت آنزیم پکتین متیل استراز انگور را به افزایش غلظت گالیک اسید مرتبط می‌دانند (Chen et al., 2009). بررسی اثر استرهای گالیک اسید در پاتوژن قارچی *Aspergillus flavus* بر مخمر متیلوتروپ *Pichia pastoris* نیز حکایت از کاهش فعالیت آنزیم پکتین متیل استراز دارد که با کاهش این آنزیم اثرات ناشی از تنش زیستی کاهش می‌یابد (Jiang et al., 2014). علاوه بر این، تیمار با اسید گالیک و مشتقات آن به‌طور قابل توجهی باعث افزایش اجزای عملکرد گیاهان گوجه‌فرنگی آلوده به *Alteraria solani* شده است (El-Nagar et al., 2020).

از آنجایی‌که تاکنون روش کاربردی مؤثر و طولانی مدتی برای کنترل این انگل گیاهی مشخص و معرفی نگردیده است، لذا یکی از راه‌های قابل توصیه و امیدبخش برای کنترل گل جالیز، ممانعت از برقراری ارتباط بین میزبان و انگل است. استفاده از ترکیبات بازدارنده با منشأ طبیعی یا شیمیایی می‌تواند

میزبان انجام شد.

چگونگی کاشت گوجه‌فرنگی در گلدان در گلخانه: برای

کشت گیاه از خاک لومی- ماسه‌ای (شامل ۲۵٪ ماسه، ۴۰٪ سیلت و ۳۵٪ رس) آلوده به بذر گل جالیز استفاده شد. آزمایش در گلدان‌هایی با قطر دهانه فوقانی ۳۰ سانتی‌متر، قطر تحتانی ۲۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر است که با نسبت مساوی رس، ماسه و خاک‌برگ پر شدند در هر گلدان سه گیاه کاشته شد. گیاهان در دمای $18/24^{\circ}\text{C}$ و دوره نوری ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی با شدت نور $200 \mu\text{mol}^{-2} \text{S}^{-1}$ در گلخانه رشد کردند. آزمایش در قالب فاکتوریل و بر پایه طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در دانشگاه خوارزمی انجام شد.

گل جالیز از طریق ریشه میزبان را آلوده می‌کند. طبق پژوهش‌های پیشین حداقل زمان لازم برای جوانه‌زنی و نفوذ انگل به داخل گیاه ۲۰ روز پس از کاشت نشاء در خاک آلوده به انگل می‌باشد و از آنجایی که ۹۰ درصد دوره رشد این انگل در زیر خاک است و علاوه بر این ارتباط مستحکم فیزیولوژیکی- مورفولوژیکی بین انگل و میزبان وجود دارد. یکی از راه‌های قابل توصیه و امیدبخش برای کنترل این انگل، ممانعت از برقراری ارتباط بین میزبان و انگل می‌باشد. با توجه به این نکات که گل جالیز از طریق ریشه به گیاه میزبان وارد می‌شود، گالیک اسید به صورت تیمار خوراکی اعمال شد تا نتیجه بهتری بدست آید، لذا تیمار گالیک اسید در سه غلظت صفر، ۱ و ۳ میلی‌مولار (Sasikumar et al., 2006) به و در سه دوره زمانی ۲۰، ۲۵ و ۳۰ روز پس از کاشت نشاء گوجه‌فرنگی گیاه اعمال گردید بدین صورت که مقداری از خاک اطراف نشاء را کنار گذاشته و تیمارها به اطراف ریشه گوجه‌فرنگی اعمال گردید.

پس از سه ماه، ریشه‌ها و اندام‌های هوایی گیاهان برداشت شدند و جهت سنجش برخی از پارامترهای فیزیولوژیکی به آزمایشگاه منتقل و در فریزر در دمای -20°C و -80°C درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. اندازه‌گیری برخی صفات ریختی در گیاه گوجه‌فرنگی مانند وزن تر اندام‌های گیاهی و ریشه گیاه گوجه‌فرنگی بلافاصله بعد از برداشت صورت گرفت.

راه‌گشایی در این امر باشد. در پژوهش حاضر ممانعت از برقراری ارتباط بین گل جالیز و گوجه‌فرنگی توسط اسید گالیک بررسی شد و اثر این ترکیبات را بر شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه گوجه‌فرنگی مورد بررسی قرار داده‌ایم.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و تهیه بذر گل جالیز و گیاه گوجه‌فرنگی:

بذرهای گل جالیز از مزارع گوجه‌فرنگی آلوده به گل جالیز در روستای کوسه کهریزه از توابع شهرستان مهاباد با طول جغرافیایی ۴۵ درجه و ۴۳ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۴۶ دقیقه شمالی، در شهریورماه جمع‌آوری گردید. بذرهای گیاه گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum*. Mill) از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر کرج تهیه شد.

کاشت بذور گل جالیز و گوجه‌فرنگی در ظروف پتری:

تعدادی بذر یکنواخت و همگن از گل جالیز و گوجه‌فرنگی انتخاب و برای جلوگیری از آلودگی با هیپوکلریت سدیم ۱٪ به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی گردید. سپس بذرهای گل جالیز و گوجه‌فرنگی چندین بار با آب مقطر شستشو داده شد و در درون ظروف پتری استریل حاوی یک لایه کاغذ صافی مرطوب و ۶ میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده شده سپس پتری‌ها در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد در تاریکی قرار داده شد. بذر گل جالیز ۱۰ روز در این شرایط نگهداری شد که این مرحله دوره آماده‌سازی گل جالیز است. بذرهای گوجه‌فرنگی نیز پس از ۵ روز جوانه زدند.

تحریک جوانه‌زنی بذر گل جالیز با جوانه‌های بذر

گوجه‌فرنگی: به‌منظور پیگیری جوانه‌زنی بذرهای گل جالیز، پس از طی دوره آماده‌سازی پتری‌های حاوی بذر گل جالیز از تاریکی خارج شده، این بار به‌منظور تحریک جوانه‌زنی بذرهای گل جالیز، جوانه‌های ایجادشده از گوجه‌فرنگی به پتری‌های حاوی بذرهای گل جالیز منتقل شدند و به‌مدت دو هفته در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد در روشنایی قرار داده شدند، پس از دو هفته جوانه‌زنی بذرهای گل جالیز در حضور

اندازه‌گیری وزن تر ریشه و اندام هوایی گیاه گوجه‌فرنگی: برای اندازه‌گیری وزن تر، ابتدا اندام هوایی از ریشه جدا شده و وزن تر ریشه و اندام هوایی، برحسب گرم با استفاده از ترازوی آزمایشگاهی دیجیتال (مدل TE313s Sartorius، آلمان) اندازه‌گیری شد.

تهیه عصاره پروتئینی: ۰/۵ گرم ریشه و برگ تازه گیاهان پس از توزین، با دو میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم (pH=۶/۸) بر روی یخ به‌صورت هموژن در آمد. پس از همگن‌سازی نمونه‌ها به ویال‌های دو میلی‌لیتری انتقال داده شد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در سرعت ۱۵۰۰۰ g به مدت ۱۲ دقیقه سانتریفیوژ (مدل Smart R17، شرکت hanil، کره) شد. سپس فاز بالایی جدا و در فریزر -20°C ذخیره شد. این عصاره برای سنجش‌های آنزیمی و سنجش پروتئین کل نیز مورد استفاده قرار گرفت (Bradford, 1976).

سنجش غلظت پروتئین کل: این سنجش به روش برادفورد به شرح زیر صورت گرفت، ابتدا معرف برادفورد به‌صورت زیر تهیه شد. ۲۵ میلی‌گرم کوماسی برلیانت بلو در ۱۲/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد حل شد. سپس ۲۵ میلی‌لیتر اسید ارتوفسفوریک ۸۵ درصد به آن اضافه شد و در نهایت حجم کل را با آب مقطر به ۲۵۰ میلی‌لیتر رسانیدیم و معرف تهیه‌شده (برادفورد) در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای سنجش پروتئین برگ و ریشه هر نمونه، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره بدست آمده را به‌همراه ۲۰۰ میکرو لیتر آب مقطر در یک لوله آزمایش ریخته و ۵ میلی‌لیتر از معرف برادفورد تهیه‌شده به آن اضافه شد. دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل ۲۱۰۰، شرکت unico، آمریکا) توسط محلول شاهد که حاوی محلول برادفورد و آب مقطر بود تنظیم گردید سپس در طول موج ۵۹۵ نانومتر جذب نوری هر یک از نمونه‌های مورد آزمایش در مقابل شاهد دستگاه خوانده شد (Bradford, 1976). مقدار پروتئین نمونه‌ها با استفاده از نمودار استاندارد به‌ازای میلی‌گرم در گرم وزن تر ماده گیاهی با فرمول ($Y = 0.0033X - 0.0003$) محاسبه شد.

Y: میزان جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر، X: غلظت پروتئین

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز: میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با بررسی کاهش مقدار پراکسید هیدروژن در ۲۴۰ نانومتر انجام شد. سه میلی‌لیتر مخلوط واکنش که شامل ۲۸۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=۶/۸)، ۱۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی است به عصاره آنزیمی اضافه شد و تغییرات جذب در ۲۴۰ نانومتر به‌مدت سه دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل ۲۱۰۰، شرکت unico، آمریکا) ثبت شد. سپس فعالیت آنزیم برحسب واحد آنزیم به‌ازای هر میلی‌گرم پروتئین برای همه نمونه‌ها محاسبه شد (Dhindsa et al., 1981).

سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز در این روش مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، آسکوربات ۰/۵ میلی‌مولار، آب اکسیژنه ۰/۱ میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت آسکوربات براساس اکسیداسیون آسکوربیک اسید و کاهش در جذب، در طول موج ۲۹۰ نانومتر به‌مدت یک دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل ۲۱۰۰، شرکت unico، آمریکا) 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 برحسب واحد آنزیم به‌ازای هر میلی‌گرم پروتئین برای همه نمونه‌ها محاسبه شد (Nakano and Asada, 1981).

سنجش میزان آنتوسیانین: برای سنجش آنتوسیانین ۰/۱ گرم از بافت تر برگ توسط محلول متانول اسیدی در هاون چینی ساییده شد. عصاره حاصل به فالكون منتقل و به‌مدت ۲۴ ساعت در تاریکی در دمای 4°C قرار داده شد. نمونه فوق به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ g سانتریفیوژ (مدل LC06) شدند. سپس ۱۰۰ میکرولیتر کلروفورم جهت حذف کلروفیل به آن افزوده و جذب محلول رویی در طول موج ۵۳۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (مدل ۲۱۰۰، شرکت unico، آمریکا) خوانده شد. جهت سنجش آنتوسیانین از نمودار استاندارد آنتوسیانین، سیانیدین ۳-گلوکوزید استفاده شد و غلظت نمونه‌ها برحسب میلی‌گرم در گرم ماده تر نمونه محاسبه گردید (Diaz et al.,

نسبت به شاهد افزایش داده است. در ۳۰ روز پس از کاشت غلظت‌های ۱ و ۳ میلی‌مولار از گالیک اسید اثر معنی‌داری بر وزن تر اندام هوایی نداشته است.

در ۲۰ روز پس از کاشت، غلظت ۱ میلی‌مولار از گالیک اسید بر وزن تر ریشه اثر معنی‌داری نداشته ولی غلظت ۳ میلی‌مولار از گالیک اسید باعث افزایش ۱/۷ درصدی وزن تر ریشه شده است. در ۲۵ روز پس از کاشت، غلظت‌های ۱ و ۳ میلی‌مولار از گالیک اسید به ترتیب باعث افزایش ۱/۰۵ و ۲/۵ درصدی در وزن تر ریشه شده است. در ۳۰ روز پس از کاشت غلظت ۱ میلی‌مولار از گالیک اسید اثر معنی‌دار بر وزن تر ریشه نداشته و غلظت ۳ میلی‌مولار گالیک اسید باعث افزایش ۰/۸۲ درصدی آن شده است.

تعداد گل جالیز: تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر زمان، گالیک اسید و اثر متقابل زمان و گالیک اسید بر تعداد گل جالیز معنی‌دار بوده است (جدول ۱). شمارش تعداد گل‌ها در هر تیمار نشان داد که در ۲۰ روز پس از کاشت غلظت‌های ۱ و ۳ میلی‌مولار گالیک اسید اثر معنی‌داری بر تعداد گل جالیز نداشته است. در ۲۵ روز پس از کاشت، غلظت ۱ میلی‌مولار گالیک اسید باعث افزایش ۰/۶۶ درصدی تعداد گل جالیز شده این در حالی است که در غلظت ۳ میلی‌مولار گالیک اسید تعداد گل جالیز کاهش داشته است. در ۳۰ روز پس از کاشت غلظت ۱ میلی‌مولار گالیک اسید اثر معنی‌داری بر تعداد گل جالیز نداشته، این در حالی است که در غلظت ۳ میلی‌مولار تعداد گل جالیز کاهش معنی‌دار داشته است (جدول ۳).

محتوای پروتئین گیاه گوجه‌فرنگی: تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر گالیک اسید و اثر متقابل زمان و گالیک اسید بر محتوای پروتئین برگ معنی‌دار بوده ولی اثر زمان بر صفات مذکور معنی‌دار نگردید (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد که در ۲۰ روز پس از کاشت، تیمار گالیک اسید ۱ میلی‌مولار بر پروتئین برگ اثر معنی‌داری نداشته در حالی که غلظت ۳ میلی‌مولار گالیک اسید باعث افزایش معنی‌دار (۰/۳۵ درصد) پارامتر نامبرده شده است. در ۲۵ و ۳۰ روز پس از کاشت، تیمار گالیک اسید ۱ میلی‌مولار باعث افزایش معنی‌دار پروتئین برگ

(2006). از معادله منحنی استاندارد ($Y = 31.25X + 1.3258$) استفاده شد.

Y: میزان جذب در طول موج ۵۳۰ نانومتر، X: غلظت آنتوسیانین

سنجش ترکیبات فنل کل: با استفاده از معرف فولین-سیکالته ترکیبات فنل کل به روش Rossi و Singleton (۱۹۶۵) اندازه‌گیری شد. در این روش ۰/۵ گرم بافت تر برگ با ۳ میلی‌لیتر متانول ۸۵٪ ساییده شد. ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره حاصل با ۱۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین رقیق‌شده (با نسبت ۱ به ۱۰) ترکیب شد. پس از ۵ دقیقه ۱۲۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷٪ به آن اضافه شد و پس از ۹۰ دقیقه جذب نوری نمونه با دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل ۲۱۰۰، شرکت unico، آمریکا) در طول موج ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید ($Y = 0.0122X - 0.1398$) و با توجه به وزن تر برگ و حجم عصاره ترکیبات فنل کل براساس میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره بیان گردید.

Y: میزان جذب در طول موج ۷۶۰ نانومتر، X: غلظت فنل
برای تجزیه آماری از نرم‌افزارهای Excel و SPSS ویرایش ۱۶ استفاده شد. نرمال‌بودن داده‌ها از شاخص‌های kurtosis و skewness بررسی شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گردید.

نتایج

پارامترهای رشد گیاه گوجه‌فرنگی: تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر زمان، گالیک اسید و اثر متقابل زمان و گالیک اسید بر وزن تر اندام هوایی و وزن تر ریشه معنی‌دار بوده است (جدول ۱ و شکل ۱ و ۲). نتایج مقایسه میانگین‌های حاصل از تیمار گالیک اسید بر وزن تر اندام هوایی گوجه‌فرنگی در جدول ۳ نشان داده شده است. وزن تر اندام هوایی در نمونه‌های تیمار شده در ۲۰ روز پس از کاشت در غلظت‌های ۱ و ۳ میلی‌مولار از گالیک اسید نسبت به شاهد به ترتیب ۰/۶۶ و ۰/۳۶ درصد افزایش معنی‌دار نشان داده است. در ۲۵ روز پس از کاشت، غلظت‌های ۱ و ۳ میلی‌مولار از گالیک اسید به ترتیب ۰/۵۳ و ۰/۵۰ درصد وزن تر اندام هوایی را



شکل ۱- تأثیر تیمار ۱ میلی مولار گالیک اسید بر رشد گیاه گوجه‌فرنگی و گل‌جالیز در زمان‌های مختلف



شکل ۲- تأثیر تیمار ۳ میلی مولار گالیک اسید بر رشد گیاه گوجه‌فرنگی و گل‌جالیز در زمان‌های مختلف

جدول ۱- تجزیه واریانس خصوصیات رشد و صفات بیوشیمیایی گوجه‌فرنگی در تیمار گالیک اسید

کاتالاز برگ	میانگین مربعات			وزن تر ساقه	تعداد گل جالیز	درجه آزادی	منبع تغییرات
	پروتئین ریشه	پروتئین برگ	وزن تر ریشه				
۰/۰۰۰۳۷*	۷۹۱۰**	۳۷۵ ^{ns}	۱/۰۰**	۰/۴۲**	۱/۳**	۲	زمان
۰/۰۰۰۴۱*	۵۰۶۶*	۵۵۴۲۳**	۴/۲۷**	۰/۶۲**	۷/۵**	۲	گالیک اسید
۰/۰۰۰۰۹ ^{ns}	۱۹۹۰ ^{ns}	۹۲۵۹*	۰/۳۹**	۰/۱۴*	۳/۹**	۴	گالیک اسید × زمان
۰/۰۰۰۱۱	۱۴۷۴	۳۱۶۴	۰/۰۲	۰/۰۴	۰/۰۳	۲۷	خطا
۱۳/۲	۱۴	۱۴	۱۳/۲	۱۵	۱۳/۱		ضریب تغییرات

ns عدم معنی‌داری، *، ** و *** به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱

شده (۰/۲۲ و ۰/۳۳ درصد) است ولی غلظت ۳ میلی مولار گالیک اسید بر پارامتر نامبرده اثر معنی‌داری نداشته است.

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی گوجه‌فرنگی در تیمار گالیک اسید

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		کاتالاز ریشه	پراکسیداز برگ	پراکسیداز ریشه	فنل
زمان	۲	۰/۰۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۲ [*]	۰/۴۱ ^{**}	۷۴۷ ^{ns}
گالیک اسید	۲	۰/۰۰۲۶ ^{**}	۰/۰۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۳۶ ^{**}	۲۵۹۳۰ ^{**}
گالیک اسید × زمان	۴	۰/۰۰۰۲۹ ^{ns}	۰/۰۰۰۱۵ [*]	۰/۳۸ ^{**}	۱۹۰۲ ^{ns}
خطا	۲۷	۰/۰۰۰۵۹	۰/۰۰۰۰۶	۰/۰۰۱	۱۱۷۶
ضریب تغییرات		۱۳/۲	۷/۶	۱۴/۸	۱۳/۷

ns عدم معنی‌داری، *، ** و *** به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱

جدول ۳- اثر گالیک اسید در سه غلظت صفر، ۱ و ۳ میلی‌مولار بر تعداد گل جالیز، وزن تر اندام هوایی و ریشه و پروتئین برگ و ریشه گوجه‌فرنگی در ۲۰، ۲۵ و ۳۰ روز پس از کاشت نشا گیاه گوجه‌فرنگی

زمان محلول‌پاشی پس از کشت (روز)	غلظت گالیک اسید (mM)	تعداد گل جالیز	وزن تر ساقه گوجه‌فرنگی (g)	وزن تر ریشه گوجه‌فرنگی (g)	محتوای پروتئین برگ (mg g ⁻¹ FW)	محتوای پروتئین ریشه (mg g ⁻¹ FW)
۲۰	۰	۱/۲۵ ^b	۱/۰۶ ^c	۰/۶۸ ^d	۳۱۶ ^c	۲۹۱ ^{ab}
	۱	۱/۵۰ ^b	۱/۷۷ ^a	۰/۸۸ ^d	۳۹۴ ^{bc}	۲۳۶ ^c
	۳	۱/۲۶ ^b	۱/۴۵ ^{ab}	۱/۸۸ ^b	۴۸۹ ^a	۲۵۳ ^{bc}
۲۵	۰	۱/۲۴ ^b	۱/۰۶ ^c	۰/۶۸ ^d	۳۱۶ ^c	۲۹۱ ^{ab}
	۱	۳/۷۵ ^a	۱/۶۰ ^a	۱/۴۰ ^c	۴۵۰ ^{ab}	۲۹۸ ^{ab}
	۳	۰/۰۰ ^c	۱/۶۳ ^a	۲/۴۰ ^a	۳۹۹ ^{bc}	۳۲۰ ^a
۳۰	۰	۱/۲۵ ^b	۱/۰۶ ^c	۰/۶۸ ^d	۳۱۶ ^c	۲۹۱ ^{ab}
	۱	۱/۲۵ ^b	۱/۱۳ ^{bc}	۰/۸۷ ^d	۴۷۸ ^{ab}	۲۲۹ ^c
	۳	۰/۰۰ ^c	۱/۱۰ ^{bc}	۱/۲۴ ^c	۳۸۹ ^{bc}	۲۵۳ ^b

فعالیت آنزیم کاتالاز گیاه گوجه‌فرنگی: تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر گالیک اسید و زمان بر محتوای فعالیت کاتالاز برگ معنی‌دار بوده ولی اثر متقابل زمان و گالیک اسید بر صفت مذکور معنی‌دار نگردید (جدول ۱). نتایج حاصل از تیمار گالیک اسید بر فعالیت آنزیم کاتالاز برگ نشان داد که در ۲۰ روز پس از کاشت، غلظت ۱ و ۳ میلی‌مولار گالیک اسید بر فعالیت آنزیم کاتالاز برگ اثر معنی‌داری نداشته است. در ۲۵ روز پس از کاشت، غلظت ۱ میلی‌مولار گالیک اسید باعث افزایش ۰/۷۹ درصدی فعالیت آنزیم کاتالاز برگ شده و غلظت ۳

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر گالیک اسید و زمان بر محتوای پروتئین ریشه معنی‌دار بوده ولی اثر متقابل زمان و گالیک اسید بر صفت مذکور معنی‌دار نگردید (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد که در ۲۰ و ۳۰ روز پس از کاشت، تیمار گالیک اسید ۱ میلی‌مولار باعث کاهش معنی‌دار ۰/۲۳ و ۰/۲۱ درصد پروتئین ریشه شده و گالیک اسید ۳ میلی‌مولار اثر معنی‌داری بر آن نداشته است. پروتئین ریشه در ۲۵ روز پس از کاشت با دو غلظت گالیک اسید نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری نداشته است (جدول ۳).

جدول ۴- اثر گالیک اسید در سه غلظت صفر، ۱ و ۳ میلی مولار و گل جالیز بر فعالیت آنزیم های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز برگ و ریشه و محتوای فنل و آنتوسیانین برگ گوجه فرنگی

زمان محلول پاشی پس از کشت (روز)	غلظت گالیک اسید (mM)	آنتوسیانین برگ (mg g ⁻¹ FW)	فنل برگ (mg g ⁻¹ FW)	آسکوربات پراکسیداز برگ		کاتالاز ریشه	کاتالاز برگ
				آسکوربات پراکسیداز برگ	(Δ OD mg ⁻¹ protein)		
۲۰	۰	۲۱۸ ^{bc}	۱۹۶ ^b	۰/۰۴۳ ^c	۰/۰۳۳ ^{bc}	۰/۱۱۲ ^a	۰/۰۱۶ ^b
	۱	۱۶۴ ^c	۲۴۸ ^{ab}	۰/۰۳۷ ^c	۰/۰۲۸ ^{cd}	۰/۰۳۸ ^b	۰/۰۳۷ ^b
	۳	۲۴۳ ^b	۲۷۹ ^a	۰/۰۳۷ ^c	۰/۰۲۸ ^{cd}	۰/۰۳۳ ^b	۰/۰۲۲ ^b
۲۵	۰	۲۱۸ ^{bc}	۱۹۶ ^b	۰/۰۴۳ ^c	۰/۰۳۳ ^{bc}	۰/۱۱۲ ^a	۰/۰۱۶ ^b
	۱	۲۲۹ ^{bc}	۲۹۶ ^a	۰/۰۶۲ ^b	۰/۰۳۳ ^{bc}	۰/۰۵ ^b	۰/۰۷۸ ^a
	۳	۲۷۸ ^{ab}	۲۵۵ ^{ab}	۰/۳۰۰ ^a	۰/۰۲۲ ^d	۰/۰۲۱ ^a	۰/۰۱۹ ^b
۳۰	۰	۲۱۸ ^{bc}	۱۹۶ ^b	۰/۰۴۳ ^c	۰/۰۳۳ ^{bc}	۰/۱۱۲ ^a	۰/۰۱۶ ^b
	۱	۲۸۱ ^{bc}	۳۰۸ ^a	۰/۰۶۶ ^b	۰/۰۳۷ ^{ab}	۰/۰۲۳ ^b	۰/۰۳۵ ^b
	۳	۳۱۸ ^a	۲۶۶ ^a	۰/۰۵۳ ^b	۰/۰۴۳ ^a	۰/۰۲۲ ^b	۰/۰۳۱ ^b

بررسی مقایسه میانگین‌ها نشان داد که دو غلظت ۱ و ۳ میلی مولار گالیک اسید در ۲۰ روز پس از کاشت، بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ و ریشه اثر معنی داری نداشته است. در ۲۵ و ۳۰ روز پس از کاشت، غلظت ۱ میلی مولار گالیک اسید بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ اثر معنی داری نداشته و غلظت ۳ میلی مولار گالیک اسید در روز ۲۵ باعث کاهش ۰/۳۳ درصدی و در ۳۰ روز پس از کاشت، باعث افزایش معنی دار ۰/۲۳ درصدی فعالیت آنزیم فوق شده است.

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر زمان، گالیک اسید و اثر متقابل زمان و گالیک اسید بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ریشه معنی دار بوده است (جدول ۲). دو غلظت ۱ و ۳ میلی مولار گالیک اسید در ۲۵ روز پس از کاشت، باعث افزایش معنی دار ۰/۳۲ و ۰/۸۶ درصدی فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ریشه شده است. در ۳۰ روز پس از کاشت، غلظت ۱ و ۳ میلی مولار گالیک اسید باعث افزایش معنی دار ۰/۳۶ و ۰/۲۰ درصدی فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ریشه شده است (جدول ۴).

محتوای فنل برگ گیاه گوجه فرنگی: تجزیه واریانس

میلی مولار بر فعالیت آن اثر معنی داری نداشته است. در ۳۰ روز پس از کاشت، دو غلظت ۱ و ۳ میلی مولار گالیک اسید بر فعالیت آنزیم کاتالاز برگ اثر معنی داری نداشته است.

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر گالیک اسید و زمان بر محتوای فعالیت کاتالاز ریشه معنی دار نبوده ولی اثر متقابل زمان و گالیک اسید بر صفت مذکور معنی دار گردید (جدول ۲). فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه در ۲۰ روز پس از کاشت، در دو غلظت ۱ و ۳ میلی مولار گالیک اسید کاهش معنی دار ۰/۶۶ و ۰/۷۰ درصدی داشته است. در ۲۵ روز پس از کاشت، غلظت ۱ میلی مولار گالیک اسید باعث کاهش معنی دار ۰/۵۵ درصدی فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه شده و غلظت ۳ میلی مولار گالیک اسید اثر معنی داری بر آن نداشته است. فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه در ۳۰ روز پس از کاشت، در دو غلظت ۱ و ۳ میلی مولار گالیک اسید کاهش معنی دار ۰/۷۹ درصدی داشته است (جدول ۴).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز گیاه گوجه فرنگی:

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل زمان و گالیک اسید بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ معنی دار ولی اثر گالیک اسید بر صفت مذکور معنی دار نمی باشد (جدول ۲).

بکارگیری غلظت ۳ میلی‌مولار گالیک اسید در ۲۵ و ۳۰ روز پس از کاشت نشا گوجه‌فرنگی گل جالیز رشد نکرده و رشد گوجه‌فرنگی نیز به‌مراتب بهتر از نمونه شاهد بوده است. پس می‌توان نتیجه گرفت که افزایش غلظت گالیک اسید مانع از رشد گل جالیز و افزایش رشد گیاه گوجه‌فرنگی شده و باعث کاهش میزان خسارت آن به میزبان می‌شود. از آنجایی که گل جالیز فاقد رنگیزه‌های فوتوستزی و ریشه حقیقی است کاملاً به میزبان وابسته است و آب و مواد غذایی خود را از میزبان دریافت می‌کند. انتقال آب و مواد غذایی از میزبان به انگل به اثبات رسیده است. انتقال آب از طریق فشار اسمزی و به‌دلیل تعرق شدید انگل صورت می‌گیرد. نتایج نشان داد که گل جالیز با جذب آب، مواد غذایی و مواد معدنی از میزبان باعث خسارت ظاهری، پژمردگی و کوتولگی در گیاه میزبان می‌شود (Moreau et al., 2008). کاهش وزن خشک ریشه و ساقه گوجه‌فرنگی در حضور گل جالیز توسط محققان دیگری نیز گزارش شده است (Tokasi et al., 2014). در این پژوهش با کاهش رشد گل جالیز توسط گالیک اسید آب و مواد غذایی بیشتری در دسترس گیاه قرار گرفته و رشد اندام هوایی و ریشه گوجه‌فرنگی افزایش داشته است. یکی از مکانیسم‌های بیماری‌زایی انگل، تغییر ریخت‌شناختی و فیزیولوژی ریشه به نفع خود است. گالیک اسید از یک‌سو از نفوذ گل جالیز به ریشه گوجه‌فرنگی ممانعت کرده و باعث افزایش رشد گوجه‌فرنگی و مهار رشد گل جالیز شده است و از طرفی گالیک اسید به‌عنوان یک ترکیب فنلی در دفاع در برابر پاتوژن‌ها مؤثر بوده که علاوه بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی از اکسید شدن اکسین جلوگیری کرده و تجمع اکسین هم بر رشد ریشه مؤثر بوده و هم باعث القا فلاونوئیدها و سایر آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی می‌شود (Surmus and Ozen, 2016). در پژوهش حاضر در غلظت یک میلی‌مولار گالیک اسید در ۲۵ روز پس از کاشت، تعداد گل جالیز افزایش داشته است. رفتار آنزیم پکتین متیل استراز در گیاه از یک مدل نمودار خطی پیروی نمی‌کند و رفتار آنزیم به‌صورت یک نمودار هذلولی می‌باشد. با توجه به این‌که در این کار آنزیم

داده‌ها نشان داد که اثر زمان و اثر متقابل زمان و گالیک اسید بر فنل برگ معنی‌دار نبوده و اثر گالیک اسید بر صفت نامبرده معنی‌دار است (جدول ۲). نتایج حاصل از تیمار گالیک اسید بر محتوای فنل برگ نشان داد که غلظت ۱ میلی‌مولار گالیک اسید در ۲۰ روز پس از کاشت، بر فنل برگ اثر معنی‌داری نداشته و غلظت ۳ میلی‌مولار از گالیک اسید توانسته محتوای فنل برگ را ۲۹/۰ درصد افزایش دهد. در ۲۵ روز پس از کاشت، غلظت ۱ میلی‌مولار گالیک اسید باعث افزایش معنی‌دار ۳۳/۰ درصدی فنل برگ شده و غلظت ۳ میلی‌مولار گالیک اسید بر آن اثر معنی‌داری نداشته است. دو غلظت ۱ و ۳ میلی‌مولار گالیک اسید در ۳۰ روز پس از کاشت، باعث افزایش معنی‌دار ۳۶/۰ و ۲۶/۰ درصدی محتوای فنل برگ شود (جدول ۴).

محتوای آنتوسیانین گیاه گوجه‌فرنگی: تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر زمان و گالیک اسید بر محتوای آنتوسیانین معنی‌دار و اثر متقابل زمان و گالیک اسید بر آنتوسیانین برگ معنی‌دار نگردید (جدول ۲). نتایج حاصل از تیمار گالیک اسید بر محتوای آنتوسیانین برگ نشان داد که غلظت ۱ و ۳ میلی‌مولار گالیک اسید در ۲۰ و ۲۵ روز پس از کاشت، بر آنتوسیانین برگ اثر معنی‌داری نداشته است. در روز ۳۰ غلظت ۱ میلی‌مولار گالیک اسید بر آنتوسیانین برگ اثر معنی‌داری نداشته ولی غلظت ۳ میلی‌مولار گالیک اسید در همین روز باعث افزایش معنی‌دار ۳۱/۰ درصدی محتوای آنتوسیانین برگ شده است (جدول ۴).

بحث

همزیستی بین گل جالیز و گیاه گوجه‌فرنگی از نوع رابطه انگلی است و این رابطه اثرات فیزیولوژیک سوء را در گیاه گوجه‌فرنگی تحمیل می‌کند و یکی از روش‌های مناسب برای مهار این خسارت ایجاد اختلال در برقراری رابطه انگلی است و در این میان بازدارنده‌های متعددی وجود دارد که از میان آن‌ها گالیک اسید انتخاب شد و در این پژوهش کارآمدی خود را به‌صورت زیر به نمایش گذارد.

نتایج حاصل از بررسی گالیک اسید، نشان داده با

پژوهش Yu و همکاران (۲۰۰۳) که اثرات ترشحات ریشه خیار و ترکیبات آللوپاتیک را بر فتوسنتز و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بررسی کرده و نشان داد که گالیک اسید باعث افزایش فعالیت آنزیم‌ها می‌شود که همسو با نتایج بدست آمده در این پژوهش است (Yu et al., 2003). تحقیقات نشان داد که گالیک اسید توانسته محتوای آب اکسیژنه، سوپراکسید و مالون دآلدئید گیاه برنج را کاهش بدهد که به دنبال آن کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مشاهده شده این امر با کاهش آنزیم‌های کاتالاز ریشه گوجه‌فرنگی مطابقت دارد (Parani et al., 2004). در پژوهش حاضر از بررسی آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی می‌توان به این نتیجه دست یافت که در ۳۰ روز پس از کاشت، فعالیت آسکوربات پراکسیداز برگ و ریشه و آنتوسیانین برگ بر شرایط سلولی به گونه اثر داشته‌اند که ارتباط انگل با گیاه میزبان در حضور گالیک اسید کاهش یابد. در صورتی که در غلظت ۱ میلی‌مولار در ۲۵ روز پس از کاشت، تنها کاتالاز برگ و پراکسیداز ریشه افزایش داشته که جهت مقابله با تنش زیستی و کاهش ارتباط گل جالیز و میزبان کافی نبوده و می‌توان به نقش مهم و همزمان آنتوسیانین و پراکسیداز در این راستا اشاره کرد.

مقدار آنتوسیانین و فنل برگ‌های گیاه گوجه‌فرنگی در تیمار با گالیک اسید افزایش داشته است. میزان آنتوسیانین و فنل در نمونه‌هایی که گل جالیز داشتند کاهش معنی‌داری داشته است پس می‌توان نتیجه گرفت که گالیک اسید با ایجاد مانع در برقراری ارتباط گل جالیز و گوجه‌فرنگی باعث افزایش محتوای فنل و آنتوسیانین شده است. ترکیبات فنلی با تنوع زیاد شامل (سینامیک، کوماریک، کافئیک و فرولیک اسید) و فلاونوئید، آنتوسیانین، تانن، از جمله متابولیت‌های ثانویه مهم هستند که در همه بافت‌های گیاهی یافت می‌شوند. ترکیبات فنلی که از مسیر شیکیمات و به دنبال تولید فنیل‌آلانین ایجاد می‌شود. آنزیم فنیل‌آلانین آمونولیز باعث دامینه‌شدن فنیل‌آلانین و ساخت سینامیک اسید شده که اولین سوسترای سنتز فلاونوئیدها است. یکی از آنزیم‌های مهم در مسیر فنیل پروپانویدها آنزیم فنیل‌آلانین آمونولیز در سنتز ترکیبات فنلی

پکتین متیل استراز استخراج و بررسی نشده فقط می‌توان گفت که گالیک اسید در این تیمار اثر بازدارندگی بر این آنزیم نداشته است و در ۳۰ روز پس از کاشت، گالیک اسید توانسته تعداد گل جالیز را کم کند که این نشان‌دهنده ظرافت عمل بیولوژیکی گالیک اسید است.

مقدار پروتئین برگ در غلظت ۳ میلی‌مولار گالیک اسید نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد پس می‌توان نتیجه گرفت که گالیک اسید با کاهش رشد گل جالیز باعث افزایش مقدار پروتئین برگ گیاه گوجه‌فرنگی شده است. ونگ و همکاران در سال ۲۰۱۲ افزایش یا کاهش پروتئین را ناشی از وجود ترکیبات فنلی و تأثیر بر متابولیسم نیتروژن دانستند که به دنبال آن تغییر محتوای پروتئین صورت گرفت. تغییر فعالیت پروتئین‌ها می‌تواند به دلیل مهار سنتز پروتئین یا تحریک سنتز پروتئین و یا تخریب پروتئین باشد (Wang et al., 2012).

فعالیت آنزیم کاتالاز برگ در ۲۵ روز پس از کاشت با غلظت یک میلی‌مولار گالیک اسید مشاهده شده و فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه در ۲۵ روز پس از کاشت با غلظت ۳ میلی‌مولار گالیک اسید مشاهده شده است؛ اما آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ در غلظت ۳ میلی‌مولار گالیک اسید، در ۲۵ روز پس از کاشت، نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشته است. غلظت ۱ و ۳ میلی‌مولار در ۳۰ روز پس از کاشت، باعث افزایش آنزیم آسکوربات پراکسیداز ریشه شده است.

آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز به‌عنوان شاخص مقاومت به تنش زیستی در گیاهان شناخته شده‌اند. (Manivannan et al., 2007). نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان می‌دهد که تیمار گالیک اسید باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه گوجه‌فرنگی شده، این امر نشان‌دهنده مقاومت گیاه نسبت به گل جالیز و کاهش گونه‌های فعال اکسیژن در حضور گالیک اسید است. به نظر می‌رسد آسکوربات پراکسیداز در کاهش رادیکال‌های آزاد نقش اصلی از خود نشان داده و تبدیل آب اکسیژنه به آب بیشتر تحت تأثیر آنزیم آسکوربات پراکسیداز بوده از طرفی سایر رادیکال‌های آزاد توسط آنتوسیانین خاموش شده‌اند. نتایج

اسید با تأثیر بر این فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونولیز و چالکون سنتاز توانسته بر محتوای آنتوسیانین برگ مؤثر باشد از طرفی گالیک اسید بر فاکتور WRKY که به‌عنوان عامل کلیدی در مسیر علامت‌دهی جاسمونات، سالیسیلیک اسید و اتیلن اثر داشته و توانسته در تنش زیستی و غیرزیستی ایفای نقش کند (Parani *et al.*, 2004). از طرفی با توجه به این که ساختار گالیک اسید یک ساختار فنل است این افزایش فنل می‌تواند به‌دلیل استفاده از گالیک اسید باشد. از طرفی افزایش فنل و متابولیت‌های ثانویه به محتوای قند نیز بستگی دارد. پیش‌ماده اصلی برای سنتز فنل‌ها در بافت‌های گیاهی کربوهیدرات‌ها به‌ویژه کربوهیدرات‌های محلول هستند که منجر به تشکیل مواد ضروری مورد نیاز سنتز فنل‌ها است. افزایش مواد قندی در قطع ارتباط رابطه انگلی می‌تواند توجیهی جهت افزایش متابولیت‌های ثانویه باشد (Gebaly, 2007).

نتیجه‌گیری

در این پژوهش با افزایش غلظت گالیک اسید این اثر بازدارندگی بیشتر مشاهده شده است. بهترین زمان برای اعمال تیمارها در شرایط کشت گلخانه روز ۳۰ بعد از کاشت گوجه‌فرنگی بود. پس به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که بکارگیری ترکیبات مانند گالیک اسید در کنترل گل جالیز، می‌تواند گامی مؤثر در جهت کاهش استفاده از علف‌کش‌های شیمیایی باشد. گالیک اسید علاوه بر کنترل گل جالیز توانسته رشد گوجه‌فرنگی را نیز افزایش دهد.

است که در پاسخ به برخی تنش‌های زیستی و غیرزیستی القا شده و می‌تواند به‌عنوان آنزیم آنتی‌اکسیدان در نظر گرفته شود، زیرا دارای خاصیت به‌دام‌اندازی رادیکال‌های اکسیژن از طریق تولید ترکیبات فنلی است (Michalak, 2006). پلی‌فنل‌های موجود در گیاه دارای ساختار شیمیایی مناسبی هستند که بر اساس واکنش فنتون باعث از بین‌رفتن رادیکال‌های اکسیژن حاصل از تنش زیستی و غیرزیستی و حفاظت گیاه می‌شود. ترکیبات فنلی دارای آروماتیک و خاصیت نوکلئوفیل داشته و با انتقال الکترون به آنزیم‌های پراکسیداز در سلول به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند. تا جایی که ترکیبات فنلی به‌عنوان پایان‌دهنده زنجیره رادیکال‌های آزاد مشهور هستند. با توجه به این که پیش‌ماده اصلی برای سنتز فنل‌ها در بافت‌های گیاهی کربوهیدرات‌ها به‌ویژه کربوهیدرات‌های محلول هستند که منجر به تشکیل مواد ضروری مورد نیاز سنتز فنل‌ها است (Gebaly, 2007). بنابراین افزایش ترکیبات فنلی ممکن است ناشی از افزایش محتوای قند محلول باشد (داده‌های مربوط به قند محلول ارائه نشده است). همچنین ترکیبات فنلی نفوذپذیری غشا سلول را تغییر داده و باعث مهار تقسیم سلولی گل جالیز شده و گیاه به‌صورت طبیعی رشد کرده است (Mittler, 2002).

آنتوسیانین‌ها از مهم‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با وزن مولکولی کم هستند که نه تنها رادیکال‌های آزاد را از بین می‌برند بلکه از تولید بیشتر آن‌ها در گیاه جلوگیری می‌کنند. گیاهان با تولید و تجمع آنتوسیانین در لایه‌های اپیدرمی می‌توانند باعث کاهش اثرهای تنش زیستی و غیرزیستی می‌شود تا گیاه صدمه نبیند. تغییر آنتوسیانین تا حدودی تحت تأثیر فعالیت PAL بوده (Chen *et al.*, 2014) و احتمالاً گالیک

منابع

- رستگار، م. ع. (۱۳۸۱) زراعت عمومی مرکز نشر دانشگاهی، تهران.
 نصوحی، غ. و کوشکی، م. ح. (۱۳۸۱) گوجه‌فرنگی در گلخانه. چاپ دوم، انتشارات نصوح.
 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.
 Bussmann, R. W., Zambrana, N. Y. P., Sikharulidze, S., Kikvidze, Z., Darchidze, M., Manvelidze, Z., Ekhvaia, J., Kikodze, D., Khutsishvili, M. and Batsatsashvili, K. (2020) From the sea to the mountains-plant use in Adjara,

- Samegrelo and Kvemo Svaneti, Sakartvelo (Republic of Georgia), Caucasus. *Ethnobotany Research and Applications* 20: 1-34.
- Chen, C. H., Wu, M. C., Hou, C. Y., Jiang, C. M., Huang, C. M. and Wang, Y. T. (2009) Effect of phenolic acid on antioxidant activity of wine and inhibition of pectin methyl esterase. *Journal of the Institute of Brewing* 115: 328-333.
- Chen, J., Xiao, Q., Wang, C., Wang, W. H., Wu, F. H., He, B. Y., Zhu, Z., Ru, Q. M., Zhang, L. L. and Zheng, H. L. (2014) Nitric oxide alleviates oxidative stress caused by salt in leaves of a mangrove species, *Aegiceras corniculatum*. *Aquatic Botany* 117: 41-47.
- Culotta, E. and Koshland Jr, D. E. (1992) NO news is good news. *Science* 258: 1862-1866.
- Dhindsa, R., Plumb-Dhindsa, P. and Thorpe, T. (1981) Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Experimental Botany* 32: 93-101.
- Diaz, C., Saliba-Colombani, V., Loudet, O., Belluomo, P., Moreau, L., Daniel-Vedele, F., Morot-Gaudry, J. F. and Masclaux-Daubresse, C. (2006) Leaf yellowing and anthocyanin accumulation are two genetically independent strategies in response to nitrogen limitation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology* 47: 74-83.
- El-Nagar, A., Elzaawely, A. A., Taha, N. A. and Nehela, Y. (2020) The antifungal activity of gallic acid and its derivati against *Alternaria solani*, the Causal Agent of tomato early bligh. *Agronomy* 10: 1402-1425.
- Gebaly, S. (2007) Effect of foliar application of methanol under two levels of irrigation regime on cotton produ ves against *Alternaria solani*, the Causal Agent of tomato early blight. *Agronomy* 10: 1402.ctivity. *Egyptian Journal of Agriculture Research* 85: 615-628.
- Habimana, S., Nduwumuremyi, A. and Chinama, R. (2014) Management of orobanche in field crops: A review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 14: 43-62.
- Jiang, X., Jia, Q., Chen, L., Chen, Q. and Yang, Q. (2014) Recombinant expression and inhibition mechanism analysis of pectin methyl esterase from *Aspergillus flavus*. *FEMS Microbiology Letters* 355: 12-19.
- Li, P., Liu, C. Y., Liu, H., Zhang, Q. and Wang, L. (2013) Protective function of nitric oxide on marine phytoplankton under abiotic stresses. *Nitric Oxide* 33: 88-96.
- Mabrouk, Y., Simier, P., Arfaoui, A., Sifi, B., Delavault, P., Zourgui, L. and Belhadj, O. (2007) Induction of phenolic compounds in pea (*Pisum sativum* L.) inoculated by *Rhizobium leguminosarum* and infected with *Orobanche crenata*. *Journal of Phytopathology* 155: 728-734.
- 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.
- Michalak, A. (2006) Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environmental Studies* 15: 523-530.
- Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7: 405-410.
- Moreau, M., Lee, G. I., Wang, Y., Crane, B. R. and Klessig, D. F. (2008) AtNOS/AtNOA₁ is a functional *Arabidopsis thaliana* cGTPase and not a nitric-oxide synthase. *Journal of Biological Chemistry* 283: 32957-32967.
- Munns, R. (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, cell and environment* 25: 239-250.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22: 867-880.
- Parani, M., Rudrabhatla, S., Myers, R., Weirich, H., Smith, B., Leaman, D. W. and Goldman, S. L. (2004) Microarray analysis of nitric oxide responsive transcripts in *Arabidopsis*. *Plant Biotechnology Journal* 2: 359-366.
- Singleton, V. and Rossi, J. A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158.
- Surmus, H. and Ozen, H. C. (2016) The effect of *Cuscuta babylonica* Aucher (*Cuscuta*) parasitism on the phenolic contents of *Carthamus glaucus* Bieb. subsp. *glaucus*. *Iğdir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 6: 31-39.
- Tokasi, S., Bannayan Aval, M., Mashhadi, H. and Ghanbari, A. (2014) Screening of resistance to egyptian broomrape infection in tomato varieties. *Planta Daninha* 32: 109-116.
- Wang, R., Rehman, S. U., Liang, X., Song, Y., Su, Y., Baerson, S. R. and Zeng, R. (2012) Effects of simulated acid rain on the allelopathic potential of invasive weed *Wedelia trilobata*. *Allelopathy* 30: 23-32.
- Yu, J. Q., Ye, S. F., Zhang, M. F. and Hu, W. H., (2003) Effects of root exudates and aqueous root extracts of cucumber (*Cucumis sativus*) and allelochemicals, on photosynthesis and antioxidant enzymes in cucumber. *Biochemical Systematics and Ecology* 31: 129-139.
- Zottini, M., Formentin, E., Scattolin, M., Carimi, F., Lo Schiavo, F. and Terzi, M. (2002) Nitric oxide affects plant mitochondrial functionality in vivo. *FEBS Letters* 515: 75-78.

The effects of Gallic acid on broomrape and antioxidant enzyme activity in tomato (*Lycopersicum esculentum*)

Azam Salimi*, Asrin Arshi and Maryam Chavoushi

Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, P.O. Box: 15719-14911, Tehran, Iran

(Received: 12/10/2019, Accepted: 12/01/2021)

Abstract

Broomrapes are one of the plant parasites limiting the growth and crop production yield. The present research was aimed to assess the potential of gallic acid in preventing the tomato plant host from interaction with this parasite. The soil medium was supplemented with three gallic acid concentrations (0, 1 and 3 mM) at three time intervals (20, 25 and 30 days) after planting the tomato seedlings. This experimental design was done in a randomized complete block design with four replications. The activities of the antioxidant enzymes in the roots and shoots as well as the leaf phenol and anthocyanin contents were determined by spectroscopy techniques. During 25 days, the broomrape growth was significantly decreased upon treatment with 3 mM gallic acid in 25 and 30 days. The 1 mM gallic acid increased the protein contents and catalase activity in the leaves but decreased the protein contents and the catalase activities in the roots. In 25 days, the 3 mM gallic acid increased the leaf and root ascorbate peroxidase activities as well as the phenol and anthocyanin contents of the leaves. This treatment significantly reduced the broomrapes association with tomato plants. These findings indicated gallic acid was one of the key phenolic compounds in controlling the germination or blossom connections.

Keywords: Catalase, Peroxidase, Phenol, Anthocyanine, *Lycopersicum esculentum*, Broomrapes

Corresponding author, Email: Salimi@khu.ac.ir