

## اثر برهمکنش شوری و جیبرلیک اسید بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در دو رقم نخود ایرانی (*Cicer arietinum* L.)

الیاس سلطانی<sup>۱</sup>، رضاعلی خاوری نژاد<sup>۳</sup>، سید عبدالحمید انگجی<sup>۲</sup> و فرزانه نجفی<sup>۱\*</sup>

به ترتیب آگروه علوم گیاهی و آگروه سلولی و ملکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، کد پستی ۱۴۹۱۱-۱۵۷۱۹، تهران، ایران، آگروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران  
(تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۲۷، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۰۴/۱۴)

### چکیده:

گیاه نخود حساسیت بالایی به تنش شوری دارد. جهت به حداقل رساندن اثرات مخرب شوری از ترکیبات مختلفی مثل تنظیم کننده‌های رشد و ترکیبات سنتزی و شیمیایی استفاده می‌شود. در این پژوهش اثر جیبرلین بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی دو رقم نخود ایرانی (جم و کاکا) تحت تنش شوری بررسی شده است. نتایج نشان داد که تنش شوری با غلظت ۸۰ میلی مولار محتوای پروتئین و کلروفیل‌ها (کلروفیل‌های  $a$ ،  $b$ ) را در هر دو رقم مورد مطالعه کاهش و کاروتنوئیدها را در رقم کاکا کاهش و در رقم جم افزایش داده است. همچنین فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز را افزایش و کاتالاز را کاهش می‌دهد. در حالی که در گیاهان تحت تیمار جیبرلیک اسید (۱۰ و ۲۰ میکرومولار) و شوری (۸۰ میلی مولار) محتوای پروتئین و رنگیزه‌ها به طور معنی‌داری ( $P < 0/001$ ) افزایش داشته و فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز کاهش و فعالیت آنزیم کاتالاز نیز افزایش نشان داد. این یافته‌ها حاکی از آن است که جیبرلین موجب بهبود اثرات سوء نمک در گیاه نخود به خصوص در رقم کاکا می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تنش اکسیداتیو، جیبرلین، شوری، نخود.

### مقدمه:

هزینه بر است و یا از گیاهانی استفاده شود که می‌توانند سطح بالای شوری را تحمل کنند (Yamaguchi and Blumwald, et al., 2005).

نخود، گیاهی با نام علمی *Cicer arietinum* L. از خانواده حبوبات و غلغلی، یک‌ساله، کوچک، کرک‌دار و روزبلند است. این گیاه به شرایط آب و هوایی خشک و نیمه خشک و حتی سرد سازش یافته است (Singla and Garg, 2005). نخود منبع مهم پروتئین در بسیاری از کشورهاست که با داشتن ۲۰/۶٪ پروتئین، ۲/۲٪ چربی و ۶۱٪ کربوهیدرات به طور گسترده در تغذیه انسان و دام و همچنین اصلاح خاک (با تناوب زراعی

شوری از بزرگترین عوامل محیطی محدود کننده رشد و تولید گیاهان است. اثرات زیان آور شوری بر گیاهان می‌تواند در سطح مرگ گیاه یا کاهش عملکرد گیاه مشاهده شود. نتایج مطالعات میدانی حاکی از آن است که ۲۰٪ زمین‌های زراعی و نصف زمین‌هایی که آبیاری می‌شوند تحت تأثیر شوری قرار دارند. کاهش زمین‌های قابل کشت ناشی از شوری به طور مستقیم با نیاز غذایی جمعیت جهان در تضاد است. به عبارتی افزایش شوری با کاهش تولید گیاهان زراعی مثل نخود مشکل ساز است. پس به ناچار یا باید زمین‌های شور اصلاح شوند که

\*نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: F\_Najafi@yahoo.com

مثلاً با غلات) استفاده می‌شود. نخود بر اساس اندازه، رنگ و شکل دانه به دو تیپ کابلی و دسی دسته بندی می‌شود (Samini, *et al.*, 2011). با توجه به حساس بودن گیاه نخود به شوری و افزایش نمک‌ها در اراضی کشت نخود لزوم کاهش اثرات مخرب نمک‌ها بیش از پیش احساس می‌شود. برای کاهش اثرات تخریبی نمک از ترکیبات مختلفی از جمله تنظیم کننده‌های رشد استفاده می‌شود.

هورمون‌های گیاهی یک جزء فعال در علامت‌دهی در سلول‌های گیاهی هستند که واکنش گیاه نسبت به تنش را القا می‌کنند. در نتیجه‌ی تنش‌های غیرزیستی سطح هورمون‌های گیاهی تغییر کرده و رشد گیاه کاهش می‌یابد. کاهش محتوی سیتوکینین و جیبرلیک اسید و افزایش آبسزیک اسید در گیاهان تحت تنش شوری مشاهده می‌شود. همچنین شوری روابط آبی و نفوذپذیری غشاء را تغییر می‌دهد. از راهکارهای بهبود تنش شوری می‌توان به کاربرد خارجی جیبرلیک اسید اشاره کرد (Yamaguchi, 2008; Lee *et al.*, 2001)

توجه به تغییرات اقلیمی کشور و افزایش شوری در اراضی کشاورزی از یک سو و ضرورت کشت و تأمین انرژی از سوی دیگر تحقیق در این زمینه را ضروری می‌نماید. لذا انتخاب رقم مقاوم به شوری و همچنین یافتن روشی برای کاهش اثرات مخرب تنش مذکور مد نظر است. این مطالعه با هدف بررسی اثرات کاربرد خارجی جیبرلین بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و محتوای پروتئین‌ها و رنگیزه‌ها تحت تنش شوری در دو رقم نخود ایرانی معروف به رقم جم و رقم کاکا انجام شده است.

### مواد و روش‌ها:

به منظور بررسی بر همکنش شوری با جیبرلیک اسید بر دو رقم نخود ایرانی مطالعه‌ای به صورت گلخانه‌ای در دانشگاه خوارزمی به اجرا درآمد. بذر گیاهان از موسسه تحقیقات کشاورزی دیم مراغه تهیه گردید. بذرها با هیپوکلریت سدیم ۱٪ به مدت ۸ دقیقه استریل شدند و جهت جوانه زنی به پتری دیش‌های استریل محتوی کاغذ صافی مرطوب انتقال یافتند. پتری‌ها در شرایط بدون نور و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار

گرفته و پس از جوانه زنی، گیاهچه‌ها به گلدان‌های حاوی ماسه شسته شده و استریل در محیط گلخانه با متوسط دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز و ۱۸ درجه سانتی‌گراد در شب و دوره‌ی نوری ۱۶ و ۸ ساعت (روشنایی/ تاریکی به ترتیب) منتقل شدند. گیاهان به مدت دو هفته ابتدا با محلول هوگلند رقیق شده (یک پنجم) و بعد با محلول هوگلند رقیق شده (یک دوم) و در ادامه با محلول کامل آبیاری شدند، سپس به مدت ۱۲ روز با محلول غذایی هوگلند کامل تغذیه شدند. پس از ۱۲ روز گیاهان در سه سطح جیبرلیک اسید (۰، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار GA) و دو سطح شوری (۰ و ۸۰ میلی مولار NaCl) تحت تیمار قرار گرفتند (پس از حل کردن پودر جیبرلیک اسید در الکل ۵۰٪ به صورت محلول در محلول غذایی مورد استفاده قرار گرفت). دو هفته پس از اعمال تیمارهای مورد نظر گیاهان جهت انجام سنجش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برداشت شدند.

**سنجش رنگیزه های فتوستزی:** برای سنجش میزان کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها ابتدا برگ سوم (به خاطر اجتناب از انتخاب برگ‌های خیلی جوان و پیر) تکرارهای مختلف جدا و با استن ۸۰٪ در داخل‌هاون چینی به صورت هموژن در آمدند. سپس هموژن حاصل از برگ‌ها را از کاغذ صافی واتمن شماره‌ی ۲ عبور داده و جذب محلول حاصل با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، در طول موج های ۴۷۰، ۶۴۶/۸ و ۶۶۳/۲ نانومتر اندازه‌گیری شد. از استن ۸۰٪ به عنوان محلول شاهد برای تنظیم صفر جذب نوری اسپکتروفتومتر استفاده شد و غلظت کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها بر اساس واحد میلی گرم بر گرم وزن تر بیان شد (Lichtenthaler, 1987).

**سنجش پروتئین:** ۰/۰۵ گرم از بافت تر گیاهی (ریشه و برگ) در محیط سرد توسط ۲ml بافر فسفات با pH ۶/۸ ساییده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۶۰۰۰g و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. فاز رویی برای سنجش پروتئین کل، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز استفاده شد. ۳۰۰ میکرولیتر از هر نمونه برداشته و به آن ۵ میلی لیتر معرف برادفورد اضافه شد و جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای

دارای مخلوط واکنش و فاقد عصاره بود نیز در نور قرار داده شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر ثبت شد و میزان فعالیت این آنزیم به صورت واحد آنزیمی در یک میلی گرم پروتئین بیان شد (Beauchamp and Fridovich, 1971).

**سنجش پرولین:** ابتدا ۰/۰۵ گرم بافت گیاهی در محیط سرد در ۱۰ میلی لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳٪ ساییده شد و به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفوژ شد، در ادامه ۲ml عصاره، ۲ml استیک اسید و ۲ml معرف نین هیدرین در یک لوله آزمایش ریخته و به مدت یک ساعت در حمام آب جوشان در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار داده شده، بعد از سرد شدن به آن ۴ml تولوئن اضافه شد و بعد از به هم زدن جذب فاز روپی در طول موج ۵۲۰ نانومتر ثبت شد. مقدار غلظت پرولین با استفاده از منحنی استاندارد پرولین تعیین شد (Bates et al., 1973).

محاسبات آماری در این مطالعه بر اساس آنالیز واریانس دو عاملی با استفاده از نرم افزار SPSS و پیرایش ۱۶ و در سطح احتمال ۰/۰۰۱ <math>P</math> و آزمون دانکن انجام شد. برای رسم شکل‌ها از نرم افزار Excel استفاده شد.

### نتایج و بحث:

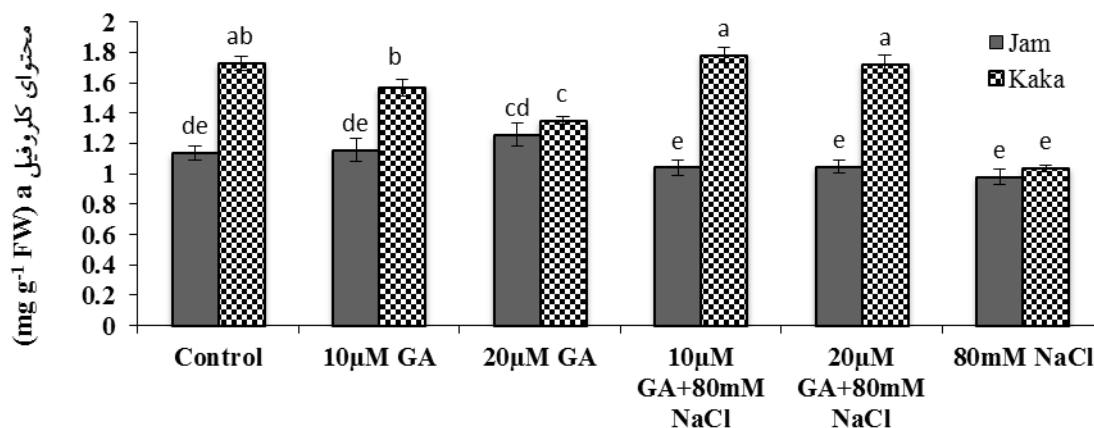
**رنگیزه‌ها و پروتئین کل:** در این بررسی محتوای کلروفیل‌های  $a$ ،  $b$  و پروتئین در پاسخ به تنش شوری در هر دو رقم جم و کاکا کاهش نشان داد. ولی این کاهش در رقم کاکا بیش تر از رقم جم بود. در گیاهان تحت تیمار جیبرلین مقدار کلروفیل بیش از گیاهان شاهد است در حالیکه در گیاهان تحت تیمار توأم جیبرلین و شوری میزان هر دو کلروفیل نسبت به تیمار شوری افزایش یافته است (شکل‌های ۱، ۲). Levent Tuna و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی اثر ترکیبی جیبرلین و شوری بر روی گیاه ذرت مشاهده کردند که جیبرلین در شرایط تنش شوری موجب افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌شود که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. همچنین نتایج این بررسی با یافته‌های Shah (۲۰۰۷) در گیاه خردل و Afroz و همکاران (۲۰۰۵) در *Brassica juncea* هم سواست. Ashraf و همکاران (۲۰۰۲) در یک مطالعه بر روی دو رقم گندم مشاهده کردند که شوری غلظت کلروفیل‌های  $a$  و  $b$  را کاهش

تهیه‌ی منحنی استاندارد و محاسبه‌ی غلظت پروتئین نمونه‌ها از سرم آلبومن گاوی یک میکروگرم بر میکرولیتر استفاده شد. بعد از انتقال نمونه‌ها به فالكون به هر کدام پنج میلی لیتر معرف برادفورد اضافه شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. شکل استاندارد بر اساس جذب نمونه‌ها تهیه شد و مقدار پروتئین نمونه‌ها با استفاده از شکل استاندارد به ازای میلی‌گرم در گرم وزن تر ماده گیاهی بیان شد (Bradford, 1976).

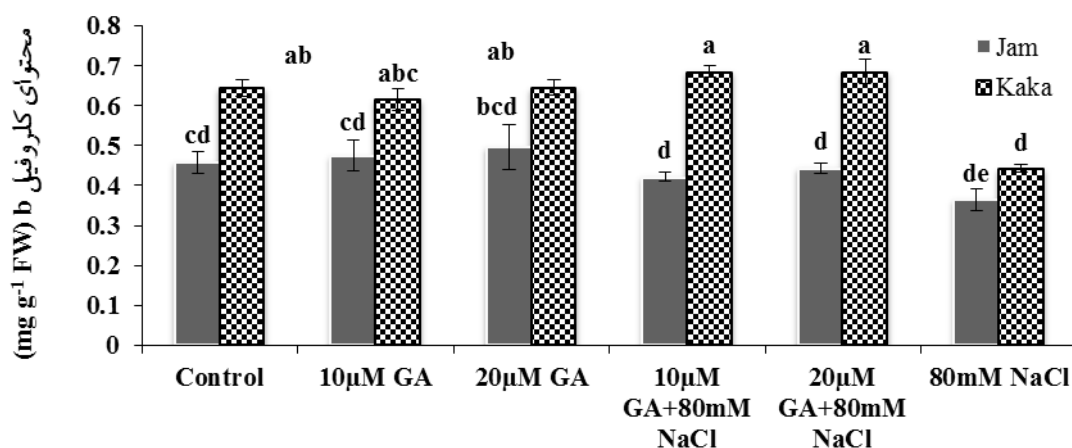
**سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز:** برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به ۳ میلی لیتر مخلوط واکنش شامل آب اکسیژنه ۱۵ میلی مولار و بافر فسفات ۱۵ میلی مولار با pH ۶/۸ اضافه شد. با اضافه شدن عصاره به محیط واکنش تجزیه  $H_2O_2$  توسط آنزیم شروع و میزان فعالیت آنزیم با بررسی کاهش مقدار هیدروژن پراکسید در ۲۴۰ نانومتر انجام می‌شود و فعالیت آنزیم به صورت تغییرات جذب در دقیقه به ازای هر گرم وزن تر بیان گردید (Dazy et al., 2008).

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز، به عنوان نمونه‌ای از انواع پراکسیدازها مورد ارزیابی قرار گرفت. به ۳ میلی لیتر مخلوط واکنش شامل گایاکول ۲۰ میلی مولار و آب اکسیژنه ۴۰ میلی مولار، مقدار ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه شد. افزایش جذب به وسیله تشکیل تترا گایاکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر ثبت شد و فعالیت آنزیم به صورت تغییرات جذب در دقیقه به ازای هر میکروگرم پروتئین بیان گردید (Dazy et al., 2008).

برای سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز ابتدا بافر ۵۰ میلی مولار با pH ۷/۵ تهیه شد. جهت تهیه مخلوط واکنش به بافر مورد نظر، EDTA ۰/۱ میلی مولار ، 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium ، MMT (Bromide) ۷۵ میکرومولار، متیونین ۱۳ میلی مولار و ربیوفلاوین ۴ میکرومولار اضافه شد و ظرف حاوی مخلوط واکنش با فویل پوشانده شد در ادامه به ۳ میلی لیتر مخلوط واکنش ۱۰۰ میکرولیتر عصاره اضافه کرده و زیر نور لامپ فلورسنت با فاصله ۵۰ سانتی متر و به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. در کنار نمونه‌ها یک نمونه نیز به عنوان شاهد روشنایی که



شکل ۱- اثرات جیبرلین و شوری بر محتوی کلروفیل *a* در دو رقم جم و کاکا. حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی دار در سطح احتمال  $P < 0.001$  و آزمون دانکن می‌باشند.



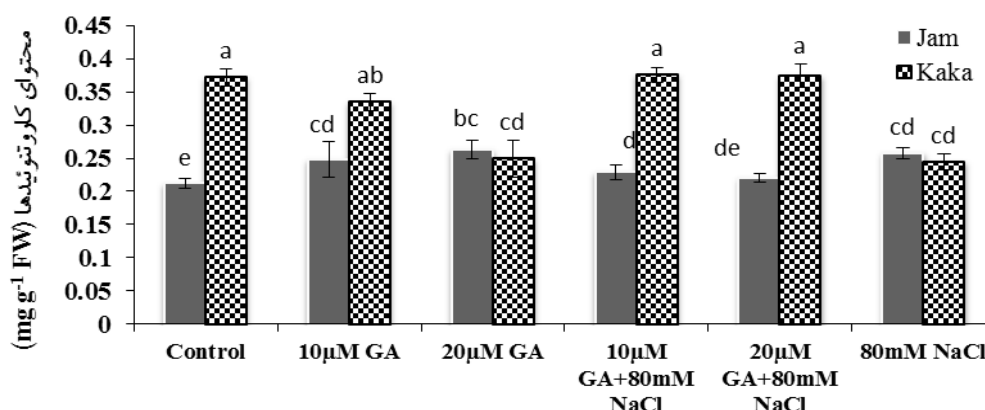
شکل ۲- اثرات جیبرلین و شوری بر محتوی کلروفیل *b* در دو رقم جم و کاکا. حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی دار در سطح احتمال  $P < 0.001$  و آزمون دانکن می‌باشند.

ایتلن اشاره کرد (Khan et al., 2003). کاربرد خارجی جیبرلین در هر دو رقم نخود مورد مطالعه موجب افزایش سطح هر دو کلروفیل می‌شود. در پژوهش حاضر میزان کاروتنوئیدها تحت تنش شوری در رقم جم افزایش نشان داد در حالی که در رقم کاکا کاهش داشت. در گیاهان تحت تیمار جیبرلین و شوری به طور کلی جیبرلین موجب کاهش اثر شوری بر کاروتنوئیدها شده است (شکل ۳).

کاروتنوئیدها یکی از رنگیزه های کلیدی و مهم سیستم آنتی اکسیدانی در گیاهان هستند، اما آنها به تخریب اکسیداتیو بسیار حساس هستند. بتاکاروتن در کلروپلاست های تمامی گیاهان سبز وجود دارد و به فتوسیستم های I و II متصل شده است.

می‌دهد ولی کاربرد جیبرلیک اسید موجب افزایش هر دو رنگیزه در دو رقم مورد مطالعه می‌شود.

مقدار رنگدانه های فتوستتزی از مهم ترین عوامل موثر در ظرفیت فتوستتزی گیاهان هستند زیرا به طور مستقیم بر سرعت و میزان فتوستتزی و در نهایت تولید زیست توده موثر هستند. کاهش محتوی کلروفیل احتمالاً ناشی از افزایش میزان فعالیت آنزیم کلروفیلاز و سنتز پرولین است. زیرا گلوتامات پیش ساز مشترک کلروفیل و پرولین می‌باشد و تحت تنش شوری میزان پرولین برای حفظ توازن آبی گیاه افزایش پیدا می‌کند (Kaya et al., 2006). از دیگر دلایل کاهش کلروفیل می‌توان به کاهش سطح برگ در پاسخ به تنش شوری و افزایش میزان



شکل ۳- اثرات جیبرلین و شوری بر محتوای کاروتنوئیدها در دو رقم جم و کاکا. حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی دار در سطح احتمال  $P < 0/001$  و آزمون دانکن می‌باشند.

نسبت به جم بیش تر بوده است (شکل ۵).

شوری موجب کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در هر دو رقم می شود. در حالی که کاربرد جیبرلین موجب افزایش فعالیت این آنزیم می شود (شکل ۶).

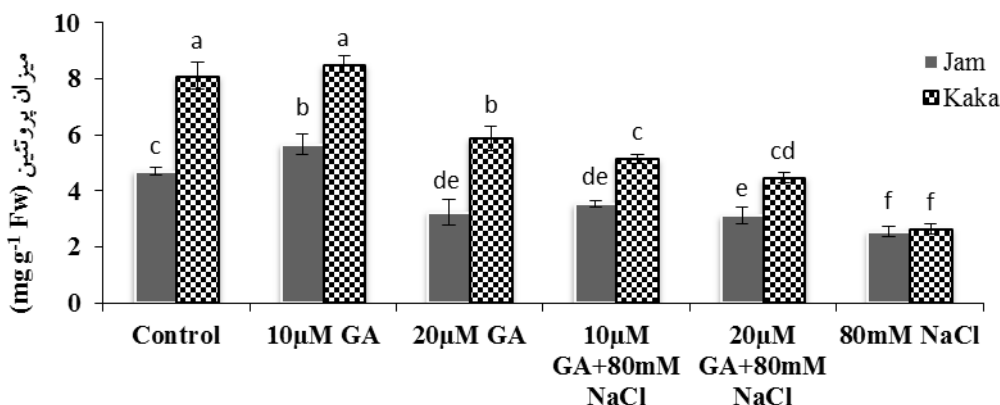
فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در شرایط تنش شوری در هر دو رقم جم و کاکا افزایش داشت. ولی در گیاهان تیمار توأم جیبرلین و شوری فعالیت این آنزیم به طور معنی داری ( $P < 0/001$ ) کاهش نشان داد (شکل ۷). یافته های مشابهی نیز مبنی بر افزایش فعالیت این آنزیم تحت تنش شوری توسط Gossett و همکاران (۱۹۹۴) در پنبه، Lee و همکاران (۲۰۰۱) در برنج و Liang (۱۹۹۹) در برنج گزارش شده است.

افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تنش شوری توسط Levent Tuna و همکاران (۲۰۰۸) در ذرت، Hernandez و همکاران (۱۹۹۵) در نخود فرنگی و همچنین در گندم توسط Meneguzzo و همکاران (۱۹۹۹) و Sairam و Srivastava (۲۰۰۲) نیز گزارش شده است که با نتایج این بررسی مطابقت دارد. در مورد آنزیم کاتالاز بیشتر افزایش فعالیت این آنزیم در تنش شوری گزارش شده است با این حال کاهش فعالیت آن نیز توسط Comba و همکاران (۱۹۹۸) در سویا گزارش شده است. همچنین در مورد اثر ترکیبی جیبرلین و شوری بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان نتایج مشابهی توسط Levent Tuna و همکاران (۲۰۰۸) در ذرت

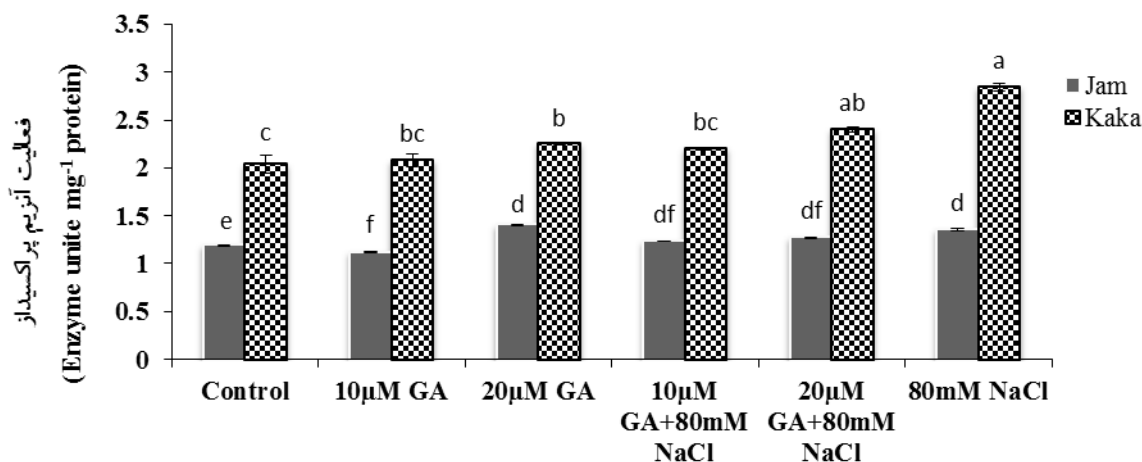
حفاظت در مقابل آسیب های ناشی از رادیکال های اکسیژن فعال در این محل برای کلروپلاست ها خیلی مهم است (Meneguzzo et al., 1999). همچنین شوری موجب کاهش میزان پروتئین در هر دو رقم جم و کاکا شد. جیبرلین موجب افزایش سنتز پروتئین می شود به طوری که در گیاهان تحت تیمار جیبرلین میزان پروتئین نسبت به گیاه شاهد افزایش نشان داد ولی در تیمارهای توأم جیبرلین و شوری میزان پروتئین نسبت به تیمار شوری افزایش داشت (شکل ۸).

تنش های غیر زیستی باعث مهار سنتز بعضی از پروتئین ها شده و سنتز بعضی دیگر را افزایش می یابد اما در کل باعث کاهش میزان پروتئین می گردند. علل کاهش میزان پروتئین در شرایط تنش شوری عبارتند از: بازداشته شدن فعالیت آنزیم های نترات ردوکتاز، گلوتامین سنتتاز، گلوتامات سنتتاز که حساسیت بیشتری به شوری دارند (Khan et al., 2003).

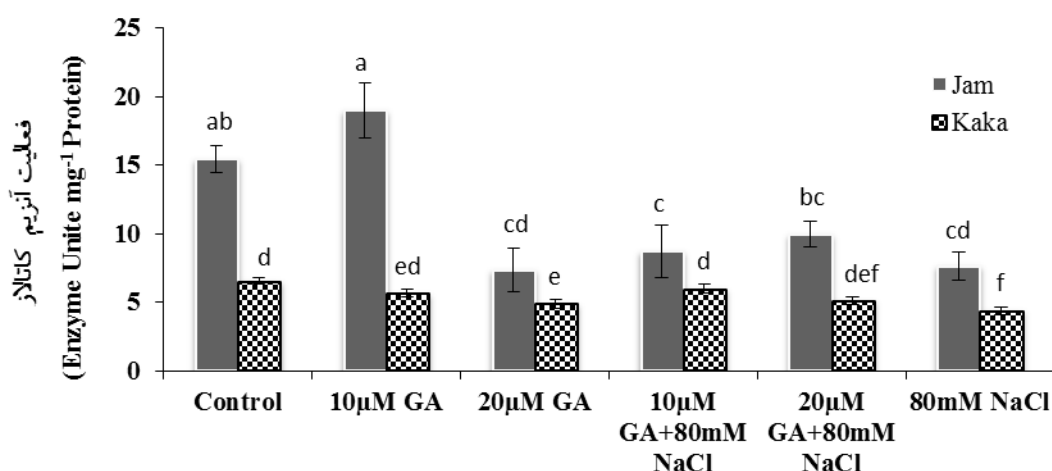
**فعالیت آنزیمی:** در این مطالعه فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان مثل پراکسیداز تحت تنش شوری در دو رقم جم و کاکا افزایش معنی داری ( $P < 0/001$ ) نشان داد. از طرفی فعالیت آنزیم کاتالاز در تنش شوری در هر دو رقم مذکور کاهش نشان داد. نتیجه کاربرد خارجی جیبرلین در شرایط شوری به این ترتیب بود که در تیمارهای جیبرلین به تنهایی فعالیت آنزیم پراکسیداز در هر دو رقم تغییرات معنی داری نداشت، در حالیکه در تیمارهای توأم شوری و جیبرلیک اسید فعالیت آنزیم پراکسیداز کاهش نشان داد که این کاهش در رقم کاکا



شکل ۴- اثرات جیبرلین و شوری بر محتوای پروتئین کل در دو رقم جم و کاکا. حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی دار در سطح احتمال  $P < 0/001$  و آزمون دانکن می‌باشند.

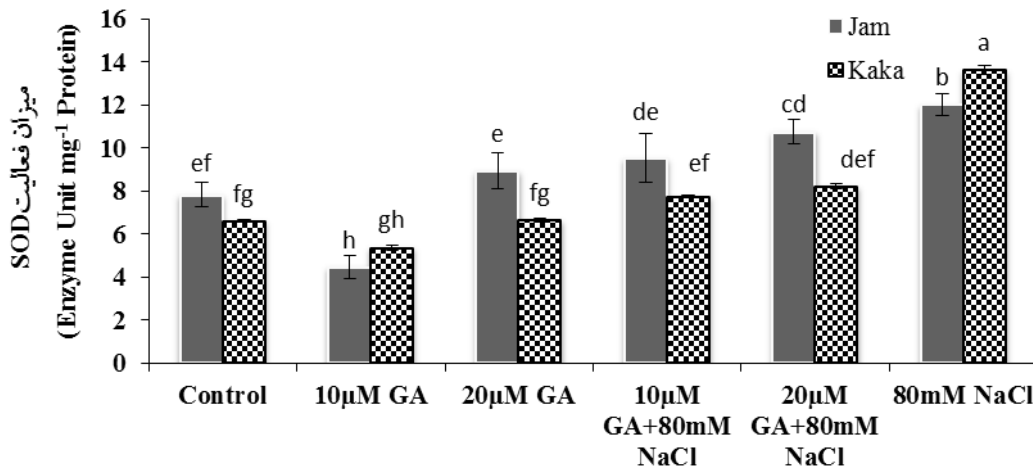


شکل ۵- اثرات جیبرلین و شوری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در دو رقم جم و کاکا. حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی دار در سطح احتمال  $P < 0/001$  و آزمون دانکن می‌باشند.

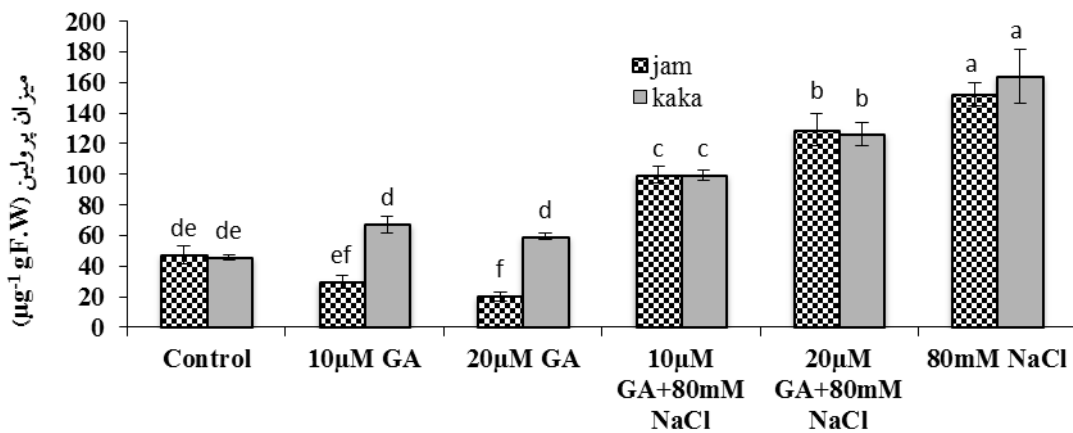


شکل ۶- اثرات جیبرلین و شوری بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در دو رقم جم و کاکا. حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی دار در سطح احتمال  $P < 0/001$  و آزمون دانکن می‌باشند.

و Chakrabarti و Mukharji (۲۰۰۳) در *Vigna radiata* گزارش شده است.



شکل ۷- اثرات جیبرلین و شوری بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در دو رقم جم و کاکا. حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی دار در سطح احتمال  $P < 0/001$  و آزمون دانکن می‌باشند.



شکل ۸- اثرات جیبرلین و شوری بر میزان پرولین در دو رقم جم و کاکا. حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی دار در سطح احتمال  $P < 0/001$  و آزمون دانکن می‌باشند.

پراکسید تبدیل می‌کند. کاتالاز و انواع پراکسیداز شکست هیدروژن پراکسید را کاتالیز می‌کنند (Abd et al., 2003).  
**محتوای پرولین:** در این مطالعه شوری موجب انباشت پرولین در دو رقم جم و کاکا شد با این حال انباشت پرولین در تیمارهای توأم شوری و جیبرلین در هر دو رقم به طور معنی دار ( $P < 0/001$ ) کاهش نشان داد که این کاهش در تیمار توأم جیبرلین ۱۰ میکرومولار و NaCl ۸۰ میلی مولار بیش تر است (شکل ۸).

نتایج مشابهی نیز توسط Levent Tuna و همکاران (۲۰۰۸) در ذرت گزارش شده است. پرولین در گیاهان به عنوان تنظیم کننده اسمزی، نشانه‌ای برای پیری و پاسخ گیاهان به تنش‌ها می‌باشد. پرولین بر محلولیت انواع پروتئین‌ها اثر گذاشته و از

شوری موجب تنش آبی در گیاه می‌شود زیرا اثرات اسمزی گسترده‌ای بر انواع فعالیت‌های متابولیکی دارد. کاهش آب موجب شکل‌گیری گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مثل سوپر اکسید ( $O_2^{\cdot-}$ )، هیدروژن پراکسید ( $H_2O_2$ )، رادیکال‌های هیدروکسیل و اکسیژن مولکولی می‌شود. فعالیت‌های سیتوتوکسیک گونه‌های اکسیژن آسیب جدی به متابولیسم نرمال سلول و آسیب اکسیداتیو به لیپیدها و نوکلئیک اسیدها وارد می‌کند. چرا که غلظت درونی اکسیژن در هنگام فتوسنتز بالاست و در نتیجه کلروپلاست‌ها تمایل به تولید گونه‌های اکسیژن دارند. گیاهان انواع آنتی اکسیدان‌ها را دارند که سلول‌ها را در برابر اثرات سمی گونه‌های فعال اکسیژن حفاظت می‌کنند. متالوآنزیم سوپراکسید دیسموتاز، سوپراکسید را به هیدروژن

شوری و جیبرلین این کاهش به طور قابل توجهی جبران شده و به عبارتی میزان پروتئین زیاد شده است (شکل ۸).

### نتیجه گیری کلی:

با توجه به نتایج این بررسی و گزارش‌های سایر محققین می‌توان نتیجه گرفت که جیبرلیک اسید می‌تواند تا حدود زیادی اثرات منفی شوری بر رشد و تولید گیاهان زراعی حساس به شوری را خنثی کند و موجب بهبود رشد این گیاهان در زمین‌های شور شود. با توجه به اینکه در شرایط تنش شوری میزان افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان مثل پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز در رقم کاکا بیش تر از رقم جم است و از طرفی کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم کاکا کمتر از رقم جم است و همچنین میزان انباشت پرولین در رقم کاکا بیشتر است می‌توان نتیجه گرفت که رقم کاکا نسبت به رقم جم به شوری مقاوم است.

دنا توره شدن آنها تحت شرایط تنش جلوگیری می‌کند. یکی از مهم ترین واکنش‌های تحت تنش شوری تولید و تجمع ترکیبات محلول سازگار می‌باشد. ترکیبات محلول سازگار دارای وزن کم هستند و معمولاً برای گیاهان ایجاد سمیت نمی‌کنند. پرولین از متداول ترین این ترکیبات می‌باشد که تحت شرایط خشکی، شوری، دمای پایین و سایر عواملی که باعث کاهش پتانسیل آب سلول می‌شوند در گیاه تجمع می‌یابد. در واقع تولید پرولین یکی از مکانیسم‌های دفاعی گیاهان در برابر این تنش‌ها است. ذخیره پرولین در بافت‌های گیاهی به دلیل کاهش تجزیه پرولین و افزایش بیوسنتز آن افزایش می‌یابد. دلیل احتمالی کاهش انباشت پرولین در تیمارهای توأم جیبرلین و شوری و همچنین در تیمارهای جیبرلین به تنهایی، افزایش سنتز پروتئین به سبب جیبرلین است (Sabater and Rodriguez, 1978)، چرا که شوری محتوی پروتئین در هر دو رقم را کاهش داده ولی در تیمارهای توأم

### منابع:

- Vigna radiata*. *Biologia Plantarum* 46: 589–594.
- Comba, M. E., Benavides, M. P. and Tomaro, M. L. (1998) Effect of salt stress on antioxidant defence system in soybean root nodules. *Australian Journal of Plant Physiology* 25: 665–671.
- Dazy, M. Jung, V. Ferard, J. F. and Masfarau, J. F. (2008) Ecological recovery of vegetation on a coke-factory soil: Role of plant antioxidant enzymes and possible implications in site restoration. *Chemosphere* 74: 57-63.
- Gossett, D. R., Millhollon, E. P., Lucas, M. C. (1994) Antioxidant response to NaCl stress in salt tolerant and salt sensitive cultivars of cotton. *Crop Science* 34: 706-714.
- Hernandez, J. A., Olmos, E., Corpas, F. J., Sevilla, F., Del Rio, L. A. (1995) Salt-induced oxidative stress in chloroplasts of pea plants. *Plant Science* 105: 151–167.
- Kaya, M. D., Okçu, G., Atak, M., Cikili, Y. and Kolsarici, O. (2006) Seed treatment to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *European Journal of Agronomy* 24: 291- 295.
- Khan, W., Prithviraj, B. and Smith D. L. (2003) Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. *Journal Plant Physiology* 160: 485-492.
- Lee, D. H., Kim, Y. S. and Lee, C. B. (2001) The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Plant Physiology* 158: 737-745.
- Abd El-baky, H. H., Mohamed, A. A. and Hussein, M. M. (2003) Influence of salinity on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and electrophoretic patterns of protein and isoenzymes in leaves of some onion cultivars. *Asian Journal of Plant Sciences* 2: 633–638.
- Afroz, S., Mohammad, F., Hayat, S. and Siddiqui, M. H. (2005) Exogenous application of gibberellic acid counteracts the ill effect of sodium chloride in mustard. *Turkish Journal of Biology* 29: 233-236.
- Ashraf, M., Fakhra Karim, and Rasul, E. (2002) Interactive effects of gibberellic acid (GA3) and salt stress on growth, ion accumulation and photosynthetic capacity of two spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars differing in salt tolerance. *Plant Growth Regulation* 36: 49- 59.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies, *Plant Soil* 39: 205-207.
- Beauchamp, C. and Fridovich I. (1971) Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry* 44: 276–287.
- 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.
- Chakrabarti, N. and Mukharji, S. (2003) Alleviation of NaCl stress by pretreatment with phytohormones in



- antioxidant activity in subcellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. *Plant Science* 162: 897-904.
- Shah, S. H. (2007) Effects of salt stress on mustard as affected by gibberellic acid application, *Gen APPL. Plant Physiology* 33: 97-106.
- Singla, R. and Garg, N. (2005) Influence of Salinity on Growth and Yield Attributes in Chickpea Cultivars, *Turkish Journal of Agriculture Forestry* 29: 231-235.
- Samineni, S. Siddique, K. H. M., Gaur, P. M. and Colmer, T. D. (2011) Salt sensitivity of the vegetative and reproductive stages in chickpea (*Cicer arietinum* L.): Podding is a particularly sensitive stage. *Environmental and Experimental Botany* 71: 260-268.
- Yamaguchi, S. (2008) Gibberellin metabolism and its regulation. *Annual Review of Plant Biology* 59: 225-251.
- Yamaguchi, T. and Blumwald, E. (2005) Developing salt-tolerant crop plants: challenges and opportunities *Trends in Plant Science* 10: 615-620.
- Levent Tuna A., Cengiz, Dikilitas, M. and Higgs, D. (2008) The combined effects of gibberellic acid and salinity on some antioxidant enzyme activities, plant growth parameters and nutritional status in maize plants. *Environmental and Experimental Botany* 62: 1-9.
- Liang, Y. C. (1999) Effect of silicon on enzyme activity and sodium, potassium and calcium concentration in barley under salt stress. *Plant Soil* 209: 217-224.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes, *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
- Meneguzzo, S., Navari-Izzo F. and Izzo R. (1999) Antioxidative responses of shoots and roots of wheat to increasing NaCl concentrations. *Journal of Plant Physiology* 155: 274-280.
- Sabater, B. and Rodrguez, M. T. (1978) Control of chlorophyll degradation in detached leaves of barley and oat through effect of kinetin on chlorophyllase levels. *Physiologia Plantarum* 43: 274-276.
- Sairam, R. K. and Srivastava, G. C. (2002) Changes in

## The interaction of salinity and gibberellic acid on photosynthetic pigments contents and some antioxidant enzymes activities in two varieties of chickpea (*Cicer arietinum* L.)

<sup>1</sup>Elias Soltani, <sup>1,3</sup>Ramazan Ali Khavari-Nejad, <sup>2</sup>Sayed Abdolhamid Angaji and <sup>1</sup>Farzaneh Najafi

<sup>1</sup>Department of Plant Science, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Postal code 15719- 14911, Tehran, Iran.

<sup>2</sup>Department of Molecular and Cell Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Postal code 15719- 14911, Tehran, Iran.

<sup>3</sup>Department of Biology, Faculty of Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

((Received: 16 February 2015, Accepted: 5 July 2015))

### Abstract:

Chickpea is highly sensitive to salt stress. Several compounds are examined to minimize the harmful effects of salt stress. In this research the effect of gibberellic acid (10 and 20  $\mu$ M) on physiological parameters in two cultivars of Iranian chickpea (Jam and Kaka) under salt stress (80mM NaCl) were studied. The results showed that chlorophylls and protein contents were decreased in plants treated with NaCl. However, the activity of peroxidase and superoxide dismutase increased and catalase activity decreased. In plants treated with GA and NaCl, chlorophylls and protein contents were accelerated and the activity of peroxidase and superoxide dismutase were diminished and catalase activity increased. It is concluded that gibberellic acid could alleviate the adverse effects of salt stress in chickpea plants.

**Key words:** Antioxidant enzymes, chickpea, gibberllic acid, oxidative stress, salinity.

\*corresponding author, Email: F\_Najafi@yahoo.com