

## تأثیر اسید سالیسیلیک بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی انگور رقم قزل اوزوم در شرایط شور و غیر شور

معصومه عابدینی<sup>۱\*</sup> و قادر حبیبی چهار برج<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور (مرکز تبریز)، ایران، <sup>۲</sup>گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور (واحد ملکان)، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۸/۲۲، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۰۲/۰۱)

### چکیده:

در این پژوهش، تأثیر کاربرد برگی اسید سالیسیلیک در دو غلظت ۱۰۰ و ۵۰۰ میکرومول در لیتر روی تعدادی از شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی انگور رقم قزل‌اوزوم در شرایط شور (EC=۱۰) و غیر شور (EC=۲) مورد مطالعه قرار گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و با چهار تکرار در شرایط گلخانه‌ای در آزمایشگاه زیست‌شناسی دانشگاه پیام نور تبریز در سال ۱۳۹۳-۱۳۹۲ انجام گرفت. نتایج به دست آمده کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک، محتوای آب گیاه، رنگیزه‌های فتوستتزی، کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II، غلظت پروتئین کل، نشاسته و یون پتاسیم را در شرایط شور نشان داد، در حالی‌که غلظت آمینواسید آزاد، قندهای محلول و سدیم افزایش یافت. تأثیر شوری بر سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه با تحریک فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز و افزایش غلظت مالون‌دی‌الدئید و پراکسید هیدروژن اندام هوایی همراه بود. کاربرد برگی اسید سالیسیلیک در شرایط غیر شور و در غلظت ۵۰۰ میکرومول در لیتر در شرایط شور تأثیر معنی‌دار و قابل توجهی بر روی شاخص‌های مورد مطالعه نداشت. کاربرد غلظت ۱۰۰ میکرومول در لیتر اسید سالیسیلیک در شرایط شور توانست باعث افزایش معنی‌دار غلظت اسموتیکوم‌ها، رنگیزه‌های فتوستتزی، کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II، توان سیستم آنتی‌اکسیدانت و به ویژه کاهش انتقال سدیم به اندام‌های در حال رشد شود.

واژگان کلیدی: پتاسیم، سدیم، سیستم آنتی‌اکسیدان، راندمان فتوسیستم II، رنگیزه‌های فتوستتزی.

### مقدمه:

سمیت‌یونی، عدم تعادل عناصر غذایی، کاهش غلظت دی‌اکسیدکربن و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و القاء تنش اکسیداتیو باشد (Ashraf, 2004; Chawla et al., 2013). در شرایط تنش، فتوستتزی از طرق مختلفی مانند القاء بسته شدن روزنه‌ها و یا مستقل از روزنه‌ها کاهش می‌یابد که حفظ سرعت مناسب آن در مقاومت گیاه نقش مهمی دارد (Jayakannan et al., 2013). اسید سالیسیلیک یک هورمون گیاهی است که عملکردهای متفاوتی را در گیاهان موجب می‌شود (Arberg 1981).

تنش شوری یکی از مهمترین تنش‌های محیطی است که کمیت و کیفیت محصولات اقتصادی را به شدت کاهش می‌دهد. شوری می‌تواند روی فرایندهای فیزیولوژیکی مختلف گیاهان از مرحله جوانه‌زنی تا مراحل نهایی تکوین تأثیر منفی داشته باشد و منجر به کاهش رشد و محصول شود (Ashraf, 2004). پیچیدگی پاسخ گیاهان به تنش شوری می‌تواند مربوط به تأثیر شوری از طریق مکانیسم‌های مختلف مانند ایجاد تنش اسمزی،

\*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: ms\_abedini@pnu.ac.ir

### مواد و روش‌ها:

قلمه‌هایی با پنج جوانه برگی از گیاهان انگور (*Vitis vinifera* L. var. Ghizil Uzum) سه ساله در اواخر بهمن ماه ۱۳۹۲ جدا شد و در محیط ماسه‌ای مرطوب برای ریشه‌زایی در گلخانه آزمایشگاه زیست‌شناسی دانشگاه پیام نور تبریز کشت شدند. در اواسط اردیبهشت ماه ۱۳۹۳ قلمه‌های دارای ریشه به گلدان‌های حاوی خاک ماسه‌ای لومی با  $\text{pH}=7/83 \pm 0/61$  و  $\text{EC}=2/03 \pm 0/18$  منتقل شدند. گلدان‌ها در گلخانه با شدت نور  $850 \mu\text{M}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$  فتوپریود ۱۴ ساعت، رطوبت نسبی متوسط ۷۵٪ و دمای روز و شب ۲۸ و ۱۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سه ماه پس از انتقال قلمه‌ها به گلدان، نمک به شکل کلرید سدیم به خاک گلدان‌ها (یک‌دوم گلدان‌ها) اضافه شد و EC نمونه‌های تیمار شوری با EC متر در ۱۰ تنظیم گردید. محلول‌پاشی برگی اسید سالیسیلیک به غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار با اعمال شوری آغاز شد و نمونه‌های شاهد با آب مقطر محلول‌پاشی شدند. محلول‌پاشی برگی هر هفته یک‌بار تکرار شد و در نهایت پس از گذشت شش هفته از اولین کاربرد برگی اسید سالیسیلیک، نمونه‌های برگی برای اندازه‌گیری پارامترهای مورد نظر و سنجش فعالیت آنزیم‌ها و متابولیت‌ها برداشت شدند.

مقدار نسبی آب برگ‌ها با استفاده از وزن تر (Fw)، وزن خشک (Dw) و وزن اشباع (Sw) و بر اساس رابطه زیر محاسبه شد (Lara et al., 2003).

$$\text{RWC} = 100 \times (\text{Fw} - \text{Dw}) / (\text{Sw} - \text{Dw})$$

سنجش آمینواسیدهای آزاد با استفاده از معرف نین‌هیدرین انجام گرفت (Yemm and Cocking, 1955) و غلظت آمینواسید نمونه‌ها با استفاده از محلول‌های استاندارد گلیسین و با واحد میلی‌گرم در گرم وزن تر محاسبه شد.

برای سنجش غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی پس از استخراج با استن ۸۰٪ و سانتریفیوژ در ۴۰۰۰ rpm، جذب نمونه‌ها در طول‌موج‌های ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد و غلظت رنگیزه‌ها با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد (Lichtenthaler, 1987).

$$\text{Chla } (\mu\text{g}/\text{ml}) = 12/25A_{663/2} - 2/79A_{646/8}$$

مطالعات انجام گرفته نشان داده‌اند که کاربرد خارجی این هورمون می‌تواند جوانه‌زنی و رشد (Khan et al., 2003)، فتوسنتز (Khodary, 2004)، فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو (Jayakannan et al., 2013)، جذب و انتقال یون (Harper and Balke, 1981) و مقاومت گیاه (Park et al., 2009) را تحت تأثیر قرار دهد. پیشنهاد شده است که اسید سالیسیلیک دارای نقش دوگانه می‌باشد به طوری که در القاء سیستم دفاعی گیاه و حفظ سطح احیایی سلول‌ها نقش دارد. بنابراین این هورمون برای حفاظت گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از تنش‌های متفاوت محیطی ضروری می‌باشد (Borsani et al., 2001). مطالعات انجام گرفته در این زمینه افزایش مقاومت در برابر تنش ناشی از ازن، اشعه UV-B، عناصر سنگین، دما، خشکی، تنش اکسیداتیو و شوری (Panda and Patra 2007; Sing and Gautam, 2013) را در گیاهان با کاربرد این هورمون گزارش کرده‌اند. دومین جنبه از نقش اسید سالیسیلیک که در غلظت‌های بالای آن اتفاق می‌افتد القاء مسیر مرگ برنامه‌ریزی شده سلول‌ها می‌باشد که منجر به حساسیت افزایش یافته در برابر تنش‌های محیطی می‌شود (Borsani et al., 2001; Yuan and Lin, 2008; Kovacic et al., 2009; Nazar et al., 2015).

انگور یکی از محصولات مهم باغی در دنیا و ایران بشمار می‌رود که در اغلب نقاط شمال غرب ایران به وفور کشت می‌گردد. با جدی‌تر شدن مشکل کم آبی دریاچه ارومیه و خشکی حوضه‌های آبریز آن، شوری حاصل از کم آبی در خاک‌های سطحی این مناطق افزایش یافته است. بنابراین افزایش تحمل شوری ارقام انگور مورد کشت در این نقاط، حداقل از طریق اعمال محافظت‌کننده‌های بیرونی، بیش از پیش ضروری به نظر می‌رسد.

با توجه به اینکه غلظت مناسب اسید سالیسیلیک در تخفیف اثرات ناشی از تنش از گونه‌ای به گونه دیگر و در مراحل مختلف تکوین گیاه متفاوت می‌باشد، این مطالعه به منظور بررسی تأثیر کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک در شرایط غیر شور و شور بر روی گیاه انگور رقم قزل‌اوزوم و تعیین غلظت مناسب آن در تخفیف اثرات ناشی از تنش انجام گرفت.

۲۶/۶<sup>۱</sup> برای گایاکول فعالیت پراکسیداز محاسبه گردید. مقدار آنزیم لازم برای تولید یک میکرومول تترآگایاکول در دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین به عنوان یک واحد آنزیم پراکسیداز در نظر گرفته شد (Chance and Maehly, 1955).

فعالیت کاتالاز با دنبال نمودن تجزیه H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> در طول موج ۲۴۰ nm و اعمال ضریب خاموشی ۳۹/۴ cm<sup>-1</sup>.mol<sup>-1</sup> محاسبه گردید. مخلوط واکنش از ۵ mL ۱/۵ بافر سیترات-فسفات-بورات ۰/۱ mol/L (pH= ۷/۵)، ۵۰ μL عصاره آنزیمی و ۱۳ μL ۱۰ mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> تشکیل شده بود. مقدار آنزیم لازم برای تجزیه یک میکرومول آب‌اکسیژنه در دقیقه به عنوان یک واحد آنزیم کاتالاز معرفی می‌شود (Obinger et al., 1997).

برای سنجش مالون‌دی‌آلدئید (MDA) عصاره برگ در محلول ۰/۱٪ (w/v) تری کلرواستیک اسید (TCA) استخراج و پس از پنج دقیقه سانتریفوژ در ۱۰۰۰۰ g، نسبت ۱ به ۴ از روشناور با محلول ۲۰٪ از TCA حاوی ۰/۵٪ تیوباریتوریک اسید مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب با دمای ۹۵<sup>o</sup>C قرار گرفت. پس از سرد کردن لوله‌ها و سانتریفوژ مجدد جذب نمونه‌ها در ۵۳۲ nm اندازه‌گیری شد. برای محاسبه غلظت مالون‌دی‌آلدئید نمونه‌ها از محلولهای استاندارد صفر تا ۱۰۰ نانومول ۱،۱،۳،۳- تترآ اتوکسی پروپان استفاده شد (Boominathan and Doran, 2002).

برای اندازه‌گیری غلظت پراکسید هیدروژن بر روی عصاره‌ی برگ‌گی استخراج شده با TCA، ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۱۰ میلی‌مولار و ۱ میلی‌لیتر یدید پتاسیم یک مولار اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۵<sup>o</sup>C نگهداری شد. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۹۰ nm در مقابل شاهد اندازه‌گیری شد (Harinsaut et al., 2000). غلظت H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> نمونه‌ها به کمک منحنی جذب محلول‌های استاندارد H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> که از صفر تا ۱۰۰ میکرومولار تهیه شده بودند، محاسبه گردید. عصاره پروتئینی در بافر فسفات سدیم با غلظت ۵۰ mM و pH=۶/۸ استخراج شده و به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۵۰۰۰ g سانتریفوژ شد. از روشناور حاصل برای سنجش پروتئین کل به روش برادفورد (Bradford, 1976) استفاده شد.

$$\text{Chlb} (\mu\text{g/ml}) = 21/5A_{663/2} - 5/1A_{666/8}$$

$$\text{Total Ch} = \text{Cha} + \text{Chb}$$

$$C(x+c) = 10 \cdot A_{470} - 1/82 \text{Cha} - 85/02 \text{Chb} / 198$$

راندمان فتوشیمیایی فتوسیستم II (Fv/Fm) توسط دستگاه فلورومتر کلروفیل بعد از بیست دقیقه سازش برگ‌ها به تاریکی اندازه‌گیری شد (Maxwell and Johnson, 2000).

اندازه‌گیری قندهای محلول و نامحلول به روش فنل-اسیدسولفوریک انجام گرفت (Dubois et al., 1956) و غلظت قندها با استفاده از محلول‌های استاندارد گلوکز و با واحد میلی‌گرم در گرم وزن خشک محاسبه شد.

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) بر اساس درصد ممانعت از احیاء نیتروبلوتترازولیوم (NBT) به ترکیب دی فورمازان توسط رادیکال سوپراکسید حاصل از فتولیز ریوفلاوین، توسط آنزیم موجود در عصاره مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (Winterbourn et al., 1976). عصاره آنزیمی در بافر هپس ۲۵ mM حاوی ۰/۱ mM EDTA، (pH=۷/۸) استخراج و پس از ۱۵ دقیقه سانتریفوژ در ۱۵۰۰۰ g، ۱۰۰ μL از روشناور با ۱ mL از محلول واکنشی شامل هپس ۲۵ mM EDTA، ۰/۱ mM، Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ۵۰ mM، (pH=۷/۶)، حاوی ۱۲ mM L-متیونین، ۷۵ μM NBT و ۱ μM ریوفلاوین مخلوط و به مدت ۲۰ دقیقه در شدت نور ۸۰۰۰ لوکس به منظور انجام واکنش قرار گرفت. برای تهیه نمونه‌های شاهد مخلوط فوق بدون افزودن عصاره آنزیمی تهیه گردید و جذب نمونه‌ها در ۵۶۰ nm اندازه‌گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیم بر اساس مقدار پروتئین آنزیمی لازم برای القاء ۵۰ درصد ممانعت از احیاء NBT در مقایسه با نمونه‌های شاهد بدون عصاره آنزیمی محاسبه شده و به صورت واحد/میلی‌گرم پروتئین بیان گردید.

کاتالیز پلیمریزاسیون گایاکول توسط پراکسیداز مبنای سنجش فعالیت این آنزیم قرار گرفت. مخلوط واکنش از ۱/۵ بافر سیترات-فسفات-بورات ۰/۱ mol/L (pH= ۷/۵)، ۵۰ μL گایاکول ۱۵ mmol/L، ۲۵ μL عصاره آنزیمی و ۵۰ پراکسید هیدروژن ۳/۳ mmol/L تشکیل شده بود. با استفاده از افزایش جذب در ۴۷۰ nm و ضریب خاموشی ۴۷۰ cm<sup>-1</sup>.mol<sup>-1</sup>

بر روی فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مانند فتوسنتز، هموستازی یون و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌دهد (Ashraf and Harris, 2009). تأثیر مثبت کاربرد اسید سالیسیلیک در تخفیف اثرات منفی ناشی از تنش شوری که در این مطالعه در غلظت  $100 \mu\text{M}$  مشاهده شد، در طیف وسیعی از گونه‌های گیاهی در غلظت‌های پائین ( $\geq 100 \mu\text{M}$ ) و اثرات منفی آن در غلظت‌های بالاتر ( $\leq 1\text{mM}$ ) توسط محققین متعدد گزارش شده است (Ashraf et al., 2010; Rivas-San Vicente and Plasencia, 2011). نقش اسید سالیسیلیک در تخفیف عوارض ناشی از تنش‌ها از طریق تأثیر روی فرایندهای متعدد مانند عملکرد روزنه، مقدار کلروفیل، تعرق و فتوسنتز می‌باشد (Jayakannan et al., 2015). تأثیر مثبت اسید سالیسیلیک در تخفیف تنش‌های مختلف محیطی به غلظت بکار برده شده از آن بستگی دارد و این غلظت بین گونه‌ها و ارقام مختلف متفاوت می‌باشد (Borsani et al., 2001; Yuan and Lin, 2008). در این مطالعه، غلظت  $500 \mu\text{M}$  اسید سالیسیلیک اگرچه به اندازه‌ای بالا نبود که باعث القاء اثرات منفی شود ولی فاقد تأثیر قابل توجهی در تخفیف اثرات منفی ناشی از شوری بر روی رشد گیاه بود.

**اسیدآمین و پروتئین کل:** نتایج حاصل از این مطالعه افزایش معنی‌دار غلظت اسیدآمین کل و کاهش معنی‌دار پروتئین کل را تحت شرایط شور نشان داد. کاهش مقدار پروتئین و افزایش غلظت اسیدهای آمینه توسط محققین متعددی در شرایط شور گزارش شده است. یکی از دلایل کاهش غلظت پروتئین کاهش فعالیت آنزیم‌های درگیر در متابولیسم ازت مانند نیترات‌ردوکتاز می‌باشد (Zahra et al., 2010). در شرایط غیرشور کاربرد اسید سالیسیلیک در سطح  $100 \mu\text{M}$  باعث کاهش و در سطح  $500 \mu\text{M}$  موجب افزایش جزئی اسیدآمین کل شد، ولی تأثیر آن بر غلظت پروتئین کل با افزایش در سطح  $100 \mu\text{M}$  و کاهش در  $500 \mu\text{M}$  همراه بود که قابل توجه نبودند. با توجه به این‌که غلظت پروتئین تابعی از سرعت سنتز و تجزیه آن می‌باشد، نتایج حاصل از این مطالعه افزایش سنتز پروتئین را در غلظت  $100 \mu\text{M}$  و افزایش تجزیه آن را در غلظت  $500 \mu\text{M}$  نشان داد. نقش غلظت‌های مناسب

برای سنجش عناصر، هضم نمونه‌های خشک شده ابتدا در مخلوط اسید نیتریک و اسید پرکلریک غلیظ (با نسبت حجمی ۴:۱) در دمای  $130^\circ\text{C}$  بمدت یک ساعت و سپس در اسید کلریدریک غلیظ به مدت ۲۰ دقیقه در دمای  $115^\circ\text{C}$  انجام گرفت. پس از به حجم رساندن نمونه‌های حاصل با آب دوبار تقطیر از محلول‌های بدست آمده برای تعیین سدیم و پتاسیم با استفاده از اسپکترومتر نشر اتمی (ICP-OES spectrometer) (Munns et al., 2010) استفاده شد.

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها و محاسبات آماری با کمک نرم افزارهای اکسل و سیگما استات (نسخه ۳/۵) انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت.

## نتایج و بحث:

**شاخص‌های رشد:** نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که شوری باعث کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک و مقدار نسبی آب گیاه می‌شود. در محیط‌های غیر شور، کاربرد اسید سالیسیلیک در غلظت  $100$  میکرومولار باعث افزایش جزئی وزن تر، وزن خشک و مقدار آب گیاه شد و در غلظت  $500 \mu\text{M}$  موجب کاهش جزئی این شاخص‌ها گشت که از نظر آماری معنی‌دار نبودند. در محیط شور استفاده از اسید سالیسیلیک در غلظت  $100 \mu\text{M}$  باعث افزایش معنی‌دار وزن تر، وزن خشک و مقدار آب گیاه شد، ولی افزایش القاء شده توسط غلظت  $500 \mu\text{M}$  اسید سالیسیلیک غیر قابل توجه بود (جدول ۲). کاهش شاخص‌های رشد گیاه در پاسخ به حضور نمک در محیط کشت، نشان دهنده حساسیت رقم مورد مطالعه انگور به شوری می‌باشد. این نتیجه در راستای نتایج حاصل از مطالعه انجام گرفته توسط کریمی و یوسف‌زاده روی همین رقم از گیاه انگور می‌باشد (Karimi and Yusef-Zadeh, 2013). به نظر می‌رسد که تغییرات القاء شده در متابولیسم گیاه توسط شوری عامل کاهش رشد گیاه می‌باشد (Erdal et al., 2011). تنش شوری رشد گیاه را با تأثیر منفی

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس دوفاکتوره (میانگین مربعات) بررسی اثر شوری، هورمون و اثر متقابل شوری با هورمون بر شاخص‌های رشد و غلظت پروتئین و اسیدآمینو کل انگور رقم قزل‌اوزوم.

| پارامترها     | شوری    | هورمون              | شوری × هورمون       |
|---------------|---------|---------------------|---------------------|
| وزن تر        | ۱/۹۳**  | ۱/۴۳**              | ۰/۳۲ <sup>NS</sup>  |
| وزن خشک       | ۰/۱۲**  | ۰/۰۳۳**             | ۰/۰۱۶ <sup>NS</sup> |
| اسید آمینو کل | ۰/۲۵**  | ۰/۰۰۳ <sup>NS</sup> | ۰/۰۰۷ <sup>NS</sup> |
| مقدار نسبی آب | ۲۰۷۲*** | ۱۳۳*                | ۱۳۹*                |
| پروتئین کل    | ۱۲۲***  | ۵/۵۸ <sup>NS</sup>  | ۱/۵۶ <sup>NS</sup>  |

NS، \*\*\*، \*\* و \* به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال یک‌هزارم، یک‌صدم، پنج‌صدم با استفاده از آزمون دانکن.

جدول ۲- تأثیر اسید سالیسیلیک روی شاخص‌های رشد و غلظت پروتئین و اسیدآمینو کل انگور رقم قزل‌اوزوم تحت شرایط شور و غیرشور.

| تیمار                        | وزن تر (g)              | وزن خشک (g)             | مقدار نسبی آب (%)  | اسید آمینو کل (mg/g.FW) | پروتئین (mg/g.FW)      |
|------------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------|-------------------------|------------------------|
| شاهد                         | ۲/۹۷±۰/۱۲ <sup>ab</sup> | ۰/۳۸±۰/۰۷ <sup>a</sup>  | ۸۰±۴ <sup>a</sup>  | ۰/۲۴±۰/۰۳ <sup>c</sup>  | ۱۶/۷±۱/۹ <sup>a</sup>  |
| اسیدسالیسیلیک ۱۰۰ μM         | ۳/۲۹±۰/۳۲ <sup>a</sup>  | ۰/۳۹±۰/۰۸ <sup>a</sup>  | ۸۱±۷ <sup>a</sup>  | ۰/۲۱±۰/۰۷ <sup>c</sup>  | ۱۷/۸±۱/۸ <sup>a</sup>  |
| اسیدسالیسیلیک ۵۰۰ μM         | ۲/۳۱±۰/۴۰ <sup>bc</sup> | ۰/۲۴±۰/۰۱ <sup>ab</sup> | ۷۴±۵ <sup>a</sup>  | ۰/۲۷±۰/۰۲ <sup>bc</sup> | ۱۵/۴±۲/۰ <sup>ab</sup> |
| شوری ۱۰                      | ۱/۸۷±۰/۲۷ <sup>c</sup>  | ۰/۱۰±۰/۰۳ <sup>b</sup>  | ۵۱±۶ <sup>c</sup>  | ۰/۴۴±۰/۱۱ <sup>ab</sup> | ۱۱/۴±۱/۲ <sup>bc</sup> |
| شوری ۱۰+اسیدسالیسیلیک ۱۰۰ μM | ۲/۸۹±۰/۴۲ <sup>ab</sup> | ۰/۳۰±۰/۰۷ <sup>a</sup>  | ۷۰±۴ <sup>ab</sup> | ۰/۵۴±۰/۱۲ <sup>a</sup>  | ۱۱/۳±۲/۴ <sup>bc</sup> |
| شوری ۱۰+اسیدسالیسیلیک ۵۰۰ μM | ۱/۹۷±۰/۳۰ <sup>c</sup>  | ۰/۱۱±۰/۰۶ <sup>b</sup>  | ۶۱±۴ <sup>bc</sup> | ۰/۴۷±۰/۱۰ <sup>a</sup>  | ۱۰/۹±۲/۱ <sup>c</sup>  |

اختلاف بین مقادیر مربوط به هر شاخص که دارای حروف مشترک است، بر اساس آزمون دانکن از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد ( $P < 0.05$ ,  $n=3$ ).

a/b شد. در محیط‌های غیرشور کاربرد اسید سالیسیلیک تأثیر چندانی روی غلظت کلروفیل‌ها نداشت و اثر آن روی غلظت کاروتنوئیدها در سطح ۱۰۰ μM با افزایش و در سطح ۵۰۰ μM با کاهش جزئی همراه بود، که از لحاظ آماری معنی‌دار نبودند. کاربرد اسید سالیسیلیک در شرایط شور موجب افزایش غلظت کلروفیل کل و کاروتنوئیدها و نسبت کلروفیل a/b شد که این افزایش در سطح ۱۰۰ μM معنی‌دار، ولی در سطح ۵۰۰ μM از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۳ و ۴). کاهش مقدار کلروفیل‌ها، نسبت کلروفیل a/b و کاروتنوئیدها در شرایط شور در اغلب گیاهان حساس به شوری گزارش شده است (Ashraf and Bhatti, 2000). کاهش رنگی‌های فتوسنتزی در تنش شوری می‌تواند به دلیل اثر مهار ناشی از انباشته شدن یون در کلروپلاست‌ها، کاهش پایداری کمپلکس‌های رنگی‌ه-پروتئین به دلیل حضور یون‌ها و فعال شدن آنزیم کلروفیل‌لاز باشد (Saha et al., 2010). اثرات مثبت کاربرد اسید

اسید سالیسیلیک در تحریک سنتز پروتئین‌ها توسط محققین گزارش شده است (El Tayeb, 2005). در شرایط شور اسید سالیسیلیک در هر دو غلظت بکار رفته توانست باعث افزایش جزئی اسیدآمینو کل شود که در سطح ۱۰۰ μM اسید سالیسیلیک این افزایش نسبتاً بیشتر بود، ولی تأثیر آن بر روی پروتئین کل با کاهش ناچیز همراه بود (جداول ۱ و ۲). افزایش غلظت اسمولیت‌ها در شرایط تنش‌زا یک مکانیسم شناخته شده برای سازش اسمزی در برابر غلظت‌های بالای یونی می‌باشد که هیدرولیز پروتئین‌ها و افزایش اسیدآمینوهای آزاد مثال مناسبی در این زمینه می‌باشد (Singh and Gautam, 2013). در شرایط شور اسید سالیسیلیک باعث تحریک هیدرولیز پروتئین‌های محلول می‌شود و بدین ترتیب مخزن مناسبی از اسمولیت‌ها را برای گیاه تأمین می‌کند (Ashraf and Harris, 2009).

رنگی‌های فتوسنتزی: در این مطالعه شوری باعث کاهش معنی‌دار غلظت کلروفیل کل و کاروتنوئیدها و نسبت کلروفیل

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس دوفاکتوره (میانگین مربعات) بررسی اثر شوری، هورمون و اثر متقابل شوری با هورمون بر غلظت رنگیزه‌های فتوستتزی، قند محلول و نشاسته انگور رقم قزل‌اوزوم.

| پارامترها  | شوری               | هورمون             | شوری × هورمون      |
|------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| کلروفیل a  | ۱۰۱۴۵۴***          | ۵۳۷۰ <sup>ns</sup> | ۱۲۰۶۹*             |
| کلروفیل b  | ۱۷۶۷ <sup>ns</sup> | ۱۰۴۱ <sup>ns</sup> | ۲۳۸۱ <sup>ns</sup> |
| کاروتنوئید | ۱۷۲۱۶***           | ۳۰۵۷۰***           | ۸۱۳۴***            |
| قند محلول  | ۲۱۴۴***            | ۲۵/۳ <sup>ns</sup> | ۶۰/۵ <sup>ns</sup> |
| نشاسته     | ۳۲/۵***            | ۱/۴۱ <sup>ns</sup> | ۱/۴۳ <sup>ns</sup> |

ns، \*\*\*، \*\* و \* به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال یک‌هزارم، یک‌صدم، پنج‌صدم با استفاده از آزمون دانکن.

جدول ۴- تأثیر اسید سالیسیلیک روی غلظت رنگیزه‌های فتوستتزی، قند محلول و نشاسته در انگور رقم قزل‌اوزوم تحت شرایط شور و غیرشور.

| تیمار                        | کلروفیل a/b             | کلروفیل کل (µg/g.FW) | کاروتنوئید (µg/g.FW) | قند محلول (mg/g.FW) | نشاسته (mg/g.FW)       |
|------------------------------|-------------------------|----------------------|----------------------|---------------------|------------------------|
| شاهد                         | ۲/۸۵±۰/۴۲ <sup>a</sup>  | ۸۱۰±۳۸ <sup>a</sup>  | ۲۸۲±۳۰ <sup>bc</sup> | ۵۴±۴/۷ <sup>b</sup> | ۴/۹±۱/۴ <sup>a</sup>   |
| اسیدسالیسیلیک ۱۰۰ µM         | ۲/۵۲±۰/۲۲ <sup>a</sup>  | ۸۱۰±۲۲ <sup>a</sup>  | ۳۵۲±۲۹ <sup>ab</sup> | ۵۰±۵/۰ <sup>b</sup> | ۴/۴±۰/۶ <sup>ab</sup>  |
| اسیدسالیسیلیک ۵۰۰ µM         | ۲/۹۹±۰/۶۱ <sup>a</sup>  | ۸۱۴±۴۳ <sup>a</sup>  | ۲۷۵±۳۱ <sup>c</sup>  | ۵۲±۶/۴ <sup>b</sup> | ۳/۸±۱/۱ <sup>abc</sup> |
| شوری ۱۰                      | ۱/۹۸±۰/۶۷ <sup>b</sup>  | ۶۱۷±۴۸ <sup>b</sup>  | ۲۰۰±۴۳ <sup>d</sup>  | ۷۴±۹/۲ <sup>a</sup> | ۲/۱±۰/۳ <sup>c</sup>   |
| شوری ۱۰+اسیدسالیسیلیک ۱۰۰ µM | ۲/۵±۰/۷۲ <sup>a</sup>   | ۷۷۰±۳۷ <sup>a</sup>  | ۳۹۲±۲۸ <sup>a</sup>  | ۸۲±۱۲ <sup>a</sup>  | ۲/۵±۰/۷ <sup>bc</sup>  |
| شوری ۱۰+اسیدسالیسیلیک ۵۰۰ µM | ۲/۳۲±۰/۶۷ <sup>ab</sup> | ۷۰۰±۷۳ <sup>ab</sup> | ۲۱۰±۲۷ <sup>d</sup>  | ۷۸±۱۰ <sup>a</sup>  | ۲/۰±۰/۸ <sup>c</sup>   |

اختلاف بین مقادیر مربوط به هر شاخص که دارای حروف مشترک است، بر اساس آزمون دانکن از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد ( $P < 0.05$ ,  $n=3$ ).

تیمار شوری در این مطالعه افزایش و غلظت نشاسته کاهش قابل توجه نشان داد. کاربرد اسید سالیسیلیک در شرایط شور در هر دو سطح باعث افزایش جزئی غلظت قند محلول و در سطح ۵۰۰ µM باعث افزایش جزئی غلظت نشاسته شد که از نظر آماری معنی‌دار نبودند. کاربرد اسید سالیسیلیک در هر دو سطح در محیط‌های غیرشور باعث افزایش ناچیز قند محلول و کاهش ناچیز نشاسته شد (جدول ۳ و ۴). نتایج به‌دست آمده از تحقیقات نشان داده‌است که تنش‌های محیطی بویژه تنش خشکی و شوری باعث افزایش قندهای محلول مانند گلوکز، ساکارز و فروکتوز می‌شوند (Fahad and Bano, 2012)، زیرا این قندها به‌عنوان اسمولیت نقش مهمی در تنظیم اسمزی ایفا می‌کنند، افزایش در قندهای محلول معمولاً با کاهش قندهای نامحلول همراه است که از کاهش بیوستتزی آنها یا افزایش تجزیه آنها ناشی می‌شود (Zahra et al., 2010).

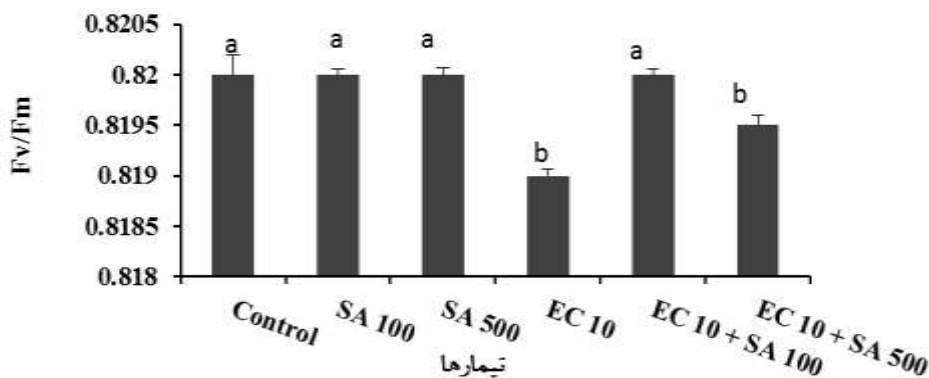
کارایی سیستم فتوستتزی: در این مطالعه کارایی

سالیسیلیک در افزایش غلظت رنگیزه‌های فتوستتزی و نسبت کلروفیل a/b بعنوان شاخصی از مقاومت به شوری توسط Khodary (۲۰۰۴) گزارش شده است که در مطالعه حاضر در غلظت ۱۰۰ µM اسید سالیسیلیک قابل توجه بود. کاروتنوئیدها به‌عنوان یکی از ترکیبات مورد نیاز برای مقاومت گیاهان در برابر شوری معرفی شده‌اند (Perez-Rodriguez, 2009). افزایش غلظت کاروتنوئیدها با کاربرد اسید سالیسیلیک در گیاهان گندم تحت تنش شوری گزارش شده است که در راستای افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه جهت حفاظت از سیستم فتوستتزی بود (Arfan et al., 2007) و با نتایج به‌دست آمده در این تحقیق همسو می‌باشد. جلوگیری از کاهش غلظت کلروفیل‌ها، به‌ویژه کلروفیل a و کاروتنوئیدها با کاربرد اسید سالیسیلیک در شرایط شور یکی از عوامل حفظ نرخ طبیعی فتوستتزی تحت شرایط تنش می‌باشد (Arfan et al., 2007). نشاسته و قند محلول: غلظت قندهای محلول در گیاهان تحت

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس دوفاکتوره (میانگین مربعات) بررسی اثر شوری، هورمون و اثر متقابل شوری با هورمون بر غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم برگ‌های پیر و جوان و نسبت فلورسانس متغیر/ بیشینه (Fv/Fm) انگور رقم قزل‌اوزوم.

| پارامترها       | شوری     | هورمون             | شوری × هورمون      |
|-----------------|----------|--------------------|--------------------|
| Fv/Fm           | ۰/۰۲۸*** | ۰/۰۰۲**            | ۰/۰۰۲**            |
| سدیم برگ جوان   | ۵۶۴***   | ۶۳/۸**             | ۶۱/۲*              |
| سدیم برگ پیر    | ۶۰۴***   | ۹/۱۵ <sup>ns</sup> | ۵/۱ <sup>ns</sup>  |
| پتاسیم برگ جوان | ۵۸۶***   | ۷/۵۱ <sup>ns</sup> | ۲۵/۷*              |
| پتاسیم برگ پیر  | ۸۱۴***   | ۲/۹۵ <sup>ns</sup> | ۳/۰۴ <sup>ns</sup> |

ns، \*\*\*، \*\* و \* به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال یک‌هزارم، یک‌صدم، پنج‌صدم با استفاده از آزمون دانکن.

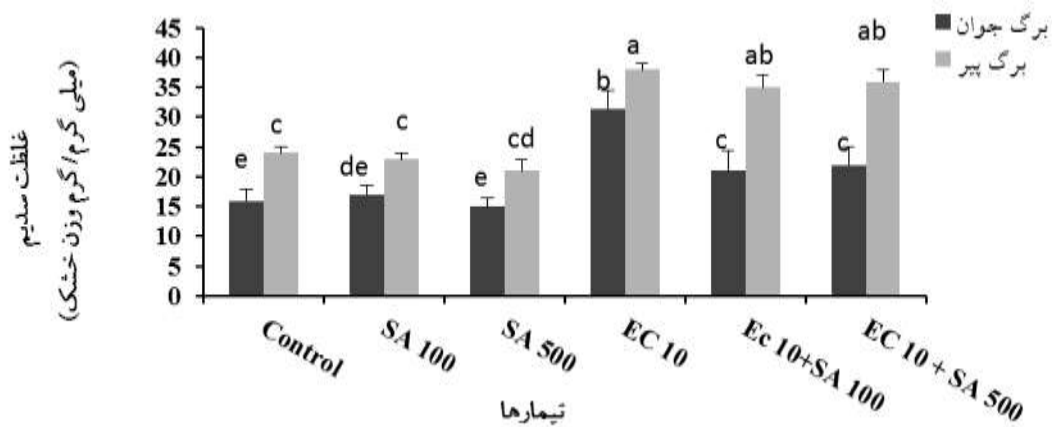


شکل ۱- تأثیر اسید سالیسیلیک روی نسبت فلورسانس متغیر/ بیشینه (Fv/Fm) در انگور رقم قزل‌اوزوم تحت شرایط شور و غیر شور. اختلاف بین مقادیر (mean±SE) ستون‌هایی که دارای حروف مشترک است، بر اساس آزمون دانکن از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد (p<۰/۰۵ n=۳).

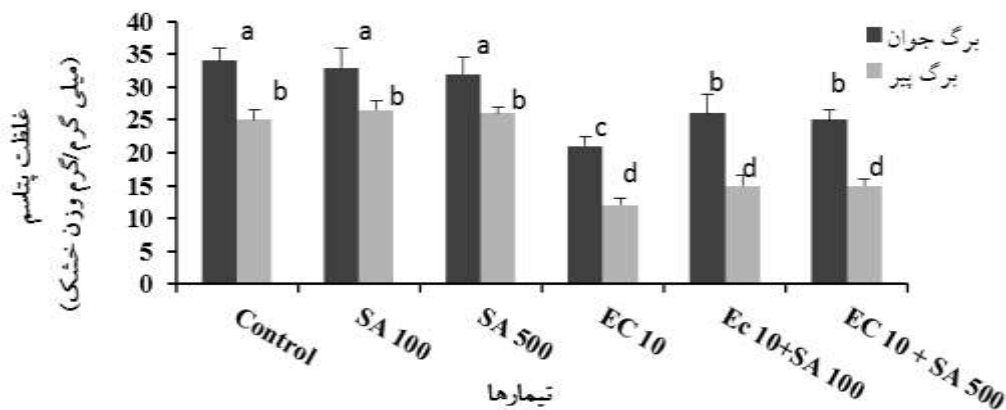
پروتئین‌کینازها و فسفریلاسیون قابل برگشت پروتئین‌ها از شدت آسیب در شرایط تنشی می‌کاهد (Hui-Jie et al., 2011). در هر حال باید توجه کرد که پاسخ از گونه‌ای به گونه دیگر می‌تواند متفاوت باشد برای مثال Arfan و همکاران (۲۰۰۷) در مطالعه خود روی گیاه گندم نشان دادند که کارایی فتوسیستم II تحت تأثیر شوری و سالیسیلیک اسید قرار نمی‌گیرد و این ویژگی در کاهش فتوسنتز گیاه در شرایط شور بی‌تأثیر است.

**غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم:** اندازه‌گیری غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم در برگ‌های پیر و جوان انگور نشان داد که غلظت سدیم برگ‌ها در شرایط شور افزایش و غلظت پتاسیم کاهش معنی‌دار داشت. تأثیر استفاده از اسید سالیسیلیک در شرایط غیر شور بر غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم معنی‌دار نبود. در شرایط شور کاربرد اسید سالیسیلیک تأثیری روی غلظت سدیم در برگ‌های پیر نداشت، ولی باعث کاهش معنی‌دار آن بویژه در سطح ۱۰۰ میکرومولار در برگ‌های جوان

فتوسیستم II (Fv/Fm) در شرایط شور کاهش معنی‌دار نشان داد که این کاهش با کاربرد ۱۰۰ μM اسید سالیسیلیک جبران شد، ولی طبق نتایج کاربرد ۵۰۰ μM اسید سالیسیلیک بر بهبود آن تأثیر چندانی نداشت، همچنین کاربرد اسید سالیسیلیک در شرایط غیر شور این شاخص را تحت تأثیر قرار نداد (جدول ۵ و شکل ۱). بازده کوآنزومی فتوسیستم II یکی از عوامل موثر در فتوسنتز است که کاهش آن در شوری و بهبود آن با کاربرد اسید سالیسیلیک در گیاهانی مانند گلرنگ گزارش شده است که با نتایج این تحقیق همسو است (Ghassemi-Golezani and Hosseinzadeh-Mahootchi, 2015). کاهش نسبت Fv/Fm در شرایط شور شاید نشانه‌ای از آسیب به فتوسیستم II است که احتمالاً از کمبود آب ناشی شده است و با آسیب به مراکز واکنشی و ظرفیت انتقال الکترون فتوسیستم همراه می‌باشد (Kalaji et al., 2011). گزارش شده است که کاربرد اسید سالیسیلیک با تسریع ترمیم و واژگودی پروتئین D1 و القاء



شکل ۲- تأثیر اسید سالیسیلیک روی غلظت یون سدیم در برگ‌های پیر و جوان رقم قزل‌اوزوم انگور تحت شرایط شور و غیرشور. اختلاف بین مقادیر ستون‌هایی (mean±SE) که دارای حروف مشترک است، از لحاظ آماری معنی‌دار نمی‌باشد ( $P < 0.05$ ,  $n=3$ ).



شکل ۳- تأثیر اسید سالیسیلیک روی غلظت یون پتاسیم در برگ‌های پیر و جوان رقم قزل‌اوزوم انگور تحت شرایط شور و غیرشور. اختلاف بین مقادیر ستون‌هایی (mean±SE) که دارای حروف مشترک است، از لحاظ آماری معنی‌دار نمی‌باشد ( $P < 0.05$ ,  $n=3$ ).

را بعد از کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک نشان داده است (Ashraf *et al.*, 2010). مطالعات اخیر انجام گرفته توسط Jayakannan و همکاران (۲۰۱۳) نشان داد که تیمار با غلظت‌های فیزیولوژیک اسید سالیسیلیک (میلی‌مولار  $< 0.5$ ) در گیاهان آرابیدوپسیس تحت تنش شوری باعث کاهش نشت پتاسیم از طریق کانال‌های خارج کننده در شرایط شور و حفظ پتاسیم می‌شود. خروج پتاسیم در گیاهان تحت تیمار کلرید سدیم از طریق کانال‌های خارج کننده  $K^+$  در بیشتر گیاهان گزارش شده است (Anschutz *et al.*, 2014).

**آنزیم‌ها و متابولیت‌های سیستم آنتی‌اکسیدان:** بررسی فعالیت آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدانی انگور رقم قزل‌اوزوم نشان داد که شوری باعث افزایش قابل توجه فعالیت آنزیم‌های

شد، بطور مشابه کاربرد این هورمون تأثیری روی غلظت یون پتاسیم در برگ‌های پیر نداشت، ولی در برگ‌های جوان باعث افزایش معنی‌دار آن بویژه در سطح ۱۰۰ میکرومولار شد (جدول ۵ و شکل ۲ و ۳). افزایش سدیم و کاهش پتاسیم که در جریان تنش شوری اتفاق می‌افتد، نتیجه‌ی افزایش جذب یون سدیم توسط ناقلین و کاهش جذب پتاسیم و یا نشت آن از طریق کانال‌های خارج کننده می‌باشد (Shabala, 2009). کاهش پتاسیم سلول‌ها با ایجاد اختلال در عملکردهای متابولیک نهایتاً منجر به مرگ سلول‌ها می‌شود، بنابراین حفظ هموستازی پتاسیم یک جزء اصلی از مکانیسم مقاومت به شوری محسوب می‌شود. مطالعات انجام گرفته روی تعدادی از گونه‌های گیاهی افزایش غلظت پتاسیم و کاهش غلظت سدیم



جدول ۶- نتایج تجزیه واریانس دوفاکتوره (میانگین مربعات) بررسی اثر شوری، هورمون و اثر متقابل شوری با هورمون بر فعالیت آنزیم‌ها و غلظت متابولیت‌های سیستم آنتی‌اکسیدان انگور رقم قزل‌اوزوم.

| پارامترها                       | شوری     | هورمون              | شوری × هورمون       |
|---------------------------------|----------|---------------------|---------------------|
| فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز | ۳۸۰***   | ۱۷/۵**              | ۴/۳۸*               |
| فعالیت آنزیم کاتالاز            | ۳۱۳***   | ۱/۴۰ <sup>ns</sup>  | ۶/۸۰ <sup>ns</sup>  |
| فعالیت آنزیم پراکسیداز          | ۰/۰۳۶*** | ۰/۰۰۶ <sup>ns</sup> | ۰/۰۰۲ <sup>ns</sup> |
| غلظت پراکسید هیدروژن            | ۳/۰۳***  | ۰/۵۶۱**             | ۰/۲۸۵ <sup>ns</sup> |
| غلظت مالون دی‌آلدئید            | ۱۳۵۵***  | ۱۷۷**               | ۱۵۹**               |

ns، \*\*\*، \*\* و \* به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال یک‌هزارم، یک‌صدم، پنج‌صدم با استفاده از آزمون دانکن.

که فعالیت آن طبق نتایج افزایش نشان داد. در شرایط شور کاربرد اسید سالیسیلیک در سطح  $100 \mu\text{M}$  باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و افزایش پراکسیداز و در غلظت  $500 \mu\text{M}$  باعث افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز و کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز شد که از نظر آماری قابل توجه نبودند (جدول ۶ و ۷). آنیون سوپراکسید که در شرایط تنش تولید می‌شود با فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌شود. کاهش فعالیت آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدان در این مطالعه با کاربرد اسید سالیسیلیک  $100 \mu\text{M}$  احتمالاً در ارتباط با نقش مستقیم اسید سالیسیلیک در از بین بردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشد. افزایش ناچیز القاء شده در فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز با کاربرد اسید سالیسیلیک  $500 \mu\text{M}$  نتوانست تأثیری در کاهش غلظت پراکسید هیدروژن ایفا کند.

در این مطالعه غلظت مالون‌دی‌آلدئید فرآورده پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و پراکسید هیدروژن تحت تنش شوری افزایش نشان داد. تنش شوری باعث تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) می‌شود که افزایش این رادیکال‌ها با آغاز واکنش‌های زنجیره‌ای می‌تواند منجر به آسیب ماکرو ملکول‌هایی مانند پروتئین‌ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک شود (McCord, 2000). سلول‌های گیاهی با داشتن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان و افزایش ظرفیت آن در شرایط تنش‌زا تا حد امکان در مقابل تنش اکسیداتیو مقاومت می‌کنند (Turkan and Demiral, 2009). تحقیقات در گیاهانی مانند گندم

سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز می‌شود. افزایش فعالیت آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاهان در شرایط شور یک پدیده رایج جهت سم‌زدایی رادیکال‌های آزاد تولید شده‌ی اکسیژن محسوب می‌شود (Saikachout et al., 2013; Abedini and Daie, 2015). در محیط‌های غیرشور، کاربرد اسید سالیسیلیک در سطح  $100 \mu\text{M}$  باعث کاهش جزئی فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز و افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و در سطح  $500 \mu\text{M}$  باعث افزایش جزئی فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز و کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز شد. مطالعات Sakhabutdinova و همکاران (۲۰۰۴) نشان داده است که کاربرد اسید سالیسیلیک می‌تواند تولید ROS را در گیاهان تعدیل کند، این یافته‌ها نشان می‌دهند که فعالیت آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدان بطور مستقیم و یا غیر مستقیم توسط اسید سالیسیلیک تنظیم می‌شوند (Singh and Guatam, 2013). کاهش مشاهده شده در فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح  $500 \mu\text{M}$  اسید سالیسیلیک احتمالاً ناشی از تأثیر مهار کنندگی این ترکیب بر فعالیت آنزیم کاتالاز می‌باشد که گزارش شده است اسید سالیسیلیک با اتصال به پروتئین آنزیم کاتالاز باعث کاهش فعالیت آن می‌شود (Horváth et al., 2002). آنزیم کاتالاز در تجزیه پراکسید هیدروژن نقش دارد و با کاهش فعالیت آن، سطح پراکسید هیدروژن در گیاه افزایش پیدا می‌کند (Horváth et al., 2002)، که نتایج به دست آمده از این تحقیق نیز آن را تأیید می‌کنند. به نظر می‌رسد که در غلظت  $500 \mu\text{M}$  اسید سالیسیلیک آنزیم پراکسیداز نقش مهمتری را در سم‌زدایی پراکسید هیدروژن ایفا می‌کند، به طوری

جدول ۷- تأثیر اسیدسالیسیلیک روی فعالیت آنزیم‌ها و غلظت متابولیت‌های آنتی‌اکسیدان در انگور رقم قزل‌اوزوم تحت شرایط شور و غیرشور.

| MDA<br>(nmol.g <sup>-1</sup> .FW <sup>-1</sup> ) | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub><br>(μmol.g <sup>-1</sup> .FW <sup>-1</sup> ) | POD<br>(U/mg.pro.min)   | CAT<br>(U/mg.pro.min) | SOD<br>(U/mg.pro.min)  | تیمار                        |
|--|--|-------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------------|
| ۲۰±۳/۱ <sup>b</sup>                              | ۰/۸۳±۰/۲۲ <sup>b</sup>   | ۰/۱۲±۰/۰۷ <sup>b</sup>  | ۱۰/۶±۱/۱ <sup>b</sup> | ۵/۹۷±۰/۱۲ <sup>b</sup> | شاهد                         |
| ۲۱±۲/۷ <sup>b</sup>                              | ۰/۷۲±۰/۳۴ <sup>b</sup>   | ۰/۱۰±۰/۰۲ <sup>b</sup>  | ۱۱/۱±۲/۳ <sup>b</sup> | ۴/۴۲±۰/۳۰ <sup>b</sup> | اسیدسالیسیلیک ۱۰۰ μM         |
| ۲۳±۲/۸ <sup>b</sup>                              | ۰/۹۱±۰/۱۲ <sup>b</sup>   | ۰/۱۴±۰/۰۳ <sup>ab</sup> | ۹/۷±۲/۰ <sup>b</sup>  | ۶/۲۰±۱/۲ <sup>b</sup>  | اسیدسالیسیلیک ۵۰۰ μM         |
| ۴۲±۷/۵ <sup>a</sup>                              | ۱/۸±۰/۳۶ <sup>a</sup>  | ۰/۲۴±۰/۰۶ <sup>a</sup>  | ۱۸/۶±۲/۷ <sup>a</sup> | ۹/۱۷±۰/۸۴ <sup>a</sup> | شوری ۱۰                      |
| ۲۴±۴/۱ <sup>b</sup>                              | ۰/۹۳±۰/۱۹ <sup>b</sup>   | ۰/۲±۰/۰۴ <sup>a</sup>   | ۱۶/۹±۳/۱ <sup>a</sup> | ۵/۲۲±۰/۵۲ <sup>a</sup> | شوری ۱۰+اسیدسالیسیلیک ۱۰۰ μM |
| ۴۰±۶/۲ <sup>a</sup>                              | ۱/۹±۰/۵۳ <sup>a</sup>  | ۰/۱۹±۰/۰۷ <sup>ab</sup> | ۱۹/۲±۳/۵ <sup>a</sup> | ۱۰/۳±۲/۱ <sup>a</sup>  | شوری ۱۰+اسیدسالیسیلیک ۵۰۰ μM |

اختلاف بین مقادیر مربوط به هر شاخص که دارای حروف مشترک است، بر اساس آزمون دانکن از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد ( $P < 0.05$ ,  $n=3$ ).

نشان داد که با کاهش رشد، غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی، غلظت پتاسیم و کارایی فتوسیستم II و افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدئید، پراکسید هیدروژن، فعالیت آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدان و غلظت سدیم در گیاه همراه بود. در این گیاه کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت ۵۰۰ میکرومولار نتوانست در بهبود پارامترهای متأثر از شوری مفید باشد ولی کاربرد غلظت ۱۰۰ میکرومولار آن نتوانست از طریق افزایش معنی‌دار کاروتنوئیدها از آسیب به فتوسیستم II در شرایط شوری ممانعت کند و با کاهش انتقال یون سمی سدیم به برگهای جوان و در حال رشد و همچنین حفظ مقادیر مناسبی از اسموتیکوم‌ها مانند پتاسیم، اسیدهای آمینه و قندهای محلول در این برگها، اثرات مخرب شوری در اندامهای در حال رشد را تخفیف دهد. همچنین، کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت ۱۰۰ میکرومولار در شرایط شور نتوانست تولید پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدئید را کاهش و فعالیت آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدان را تعدیل کند.

(Abedini and Daie, 2015)، برنج (Chawla et al., 2013) و گوجه‌فرنگی (Mittova et al., 2004) نشان داده است که گیاهان مقاوم دارای سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی کارآمدتری می‌باشند. در این مطالعه اگرچه شوری باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدان شد ولی این افزایش نتوانست در کاهش غلظت رادیکال‌های اکسیژن تولید شده موثر باشد. با کاربرد اسید سالیسیلیک در غلظت ۱۰۰ μM کاهش معنی‌دار در غلظت مالون‌دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن مشاهده شد، ولی کاربرد غلظت ۵۰۰ μM اسید سالیسیلیک تأثیر قابل‌توجهی بر روی آنها نداشت.

استفاده از اسید سالیسیلیک با غلظت ۵۰۰ μM در محیط‌های غیرشور با افزایش این دو ترکیب و با غلظت ۱۰۰ μM با کاهش پراکسید هیدروژن همراه بود که از نظر آماری معنی‌دار نبودند (جدول ۶ و ۷).

### نتیجه‌گیری کلی:

این پژوهش حساسیت رقم قزل‌اوزوم را به شرایط شور

### منابع:

- Abedini, M. and Daie-Hassani, B. (2015) Salicylic acid affects wheat cultivars antioxidant system under saline and non-saline condition. *Russian Journal of Plant Physiology* 62: 604–610.
- Anschutz, U., Becke, D. and Shabala, S. (2014) Going beyond nutrition: regulation of potassium homeostasis as a common denominator of plant adaptive responses to environment. *Journal of Plant Physiology* 171:670–687.
- Arberg, B. (1981) Plant growth regulators. Monosubstituted benzoic acid. *Swedish Journal of Agriculture Research* 11: 93–105.
- Arfan, M. (2007) Exogenous application of salicylic acid through rooting medium modulates ion accumulation and antioxidant activity in spring wheat under salt stress. *International Journal of Agriculture and Biology* 11: 437–442.
- Ashraf, M. (2004) Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. *Flora* 199: 361–76.

- Ashraf, M. and Harris, P. (2009) Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Sciences* 166: 3-16.
- Ashraf, M. Y. and Bhatti, A. S. (2000) Effect of salinity on growth and chlorophyll content in rice. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research* 43: 130-131.
- Ashraf, M., Akram, N. A., Arteca, R. N., Foolad, M. R. (2010) The physiological, biochemical and molecular roles of brassinosteroids and salicylic acid in plant processes and salt tolerance. *Critical Reviews in Plant Sciences* 29: 162–190.
- Boominathan, R. and Doran, P. M. (2002) Ni-induced oxidative stress in roots of the Ni hyper accumulator, *Alyssum bertolonii*. *New Phytologist* 156: 205–215.
- Borsani, O., Valpuesta, V. and Botella, M. (2001) Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in arabidopsis seedlings. *Plant Physiology*, 126: 1024-1030.
- Bradford, M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. *Annual Review of Biochemistry* 72: 248–254.
- Chance, B. and Maehly, A. C. (1955) Assay of catalases and peroxidases, *Methods in Enzymology*. Academic Press, New York.
- Chawla, S., Jain, S. and Jain, V. (2013) Salinity induced oxidative stress and antioxidant system in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Plant Biotechnology and Biochemistry* 1: 27-34.
- DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350-356.
- El-Tayeb, M.A. (2005) Response of barley grains to interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation* 45: 215-225.
- Erdal, S., Aydin, M., Genisel, M., Taspinar, M. S., Dumlupinar, R., Kaya, O. and Gorcek, Z. (2011) Effect of salicylic acid on wheat salt sensitivity. *African Journal of Biotechnology* 30: 5713–5718.
- Fahad, S. and Bano, A. (2012) Effect of salicylic acid on physiological and biochemical characterization of maize grown in saline area. *Pakistan Journal of Botany* 44: 1433-1438.
- Ghassemi-Golezani, K. and Hosseinzadeh-Mahootchi, A. (2015) Improving physiological performance of safflower under salt stress by application of salicylic acid and jasmonic acid. *Walia Journal* 31: 104-109.
- Harinasut, P., Poonsoa, D., Roengmongkol, K. and Charoensataporn, R. (2003) Salinity effects on antioxidant enzymes in mulberry cultivars. *Science Asia* 29: 109–113.
- Harper, J. P. and Balke, N. E. (1981) Characterization of the inhibition of K<sup>+</sup> absorption in oat roots by salicylic acid. *Plant Physiology* 68: 1349–1353.
- Horváth, E., Janda, T., Szalai, G. and Páldi, E. (2002) In vitro salicylic acid inhibition of catalase activity in maize: differences between the isoenzymes and a possible role in the induction of chilling tolerance. *Plant Science* 163: 1129-1135.
- Hui-Jie Z., Xue-Juan, Z. H., Pei-Fang, M., Yue-Xia, W., Wei-Wei, H., Hong, L. and Yi-Dan, Z. (2011) Effects of salicylic acid on protein kinase activity and chloroplast D1 protein degradation in wheat leaves subjected to heat and high light stress. *Acta Ecologica Sinica* 31: 259–263.
- Jayakannan, M., Bose, J., Babourina, O., Rengel, Z., Shabala, S. (2013) Salicylic acid improves salinity tolerance in signaling s by restoring membrane potential and preventing salt-induced K<sup>+</sup> loss via a GORK channel. *Journal of Experimental Botany* 64:2255–2268.
- Jayakannan, M., Jayakumar, B., Olga, B., Zed, R. and Shabala, S. (2015) Salicylic acid in plant salinity stress signaling and tolerance. *Plant Growth Regulation* 76: 25-40.
- Karimi, H. and Yusef-Zadeh, H. (2013) The effect of salinity on the morphological and physiological traits of two grape (*Vitis vinifera* L.) cultivars. *International Journal of Agronomy and Plant Production* 4: 1108-1117.
- Khan, W., Prithiviraj, B. and Smith, D. L. (2003) Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. *Journal of Plant Physiology* 160:485-92.
- Khodary, S. E. A. (2004) Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed maize plants. *International Journal of Agriculture and Biology* 6:5–8.
- Kovacik, J., Grúz, J., Baèkor, M., Strnad, M. and Repečák, M. (2009) Salicylic acid-induced changes to growth and phenolic metabolism in *Matricaria chamomilla* plants. *Plant Cell Reports* 28:135–143.
- Lara, M. V., Disante, K. B., Podesta, F. E., Andreo, C. S. and Drincovich, M. F. (2003) Induction of a Crassulacean acid like metabolism in the C<sub>4</sub> succulent plant, *Portulaca oleracea* L.: physiological and morphological changes are accompanied by specific modifications in phosphoenolpyruvate carboxylase. *Photosynthesis Research* 77: 241–254.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
- Maxwell, K. and Johnson, N. G. 2000. Chlorophyll fluorescence a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51: 659–668.
- McCord, J. M. (2000) The evolution of free radicals and oxidative stress. *American Journal of Medicine* 108:652–659.

- Mittova, V., Guy, M., Tal, M. and Volokita, M. (2004) Salinity up-regulates the antioxidative system in root mitochondria and peroxisomes of the wild salt-tolerant tomato species *Lycopersicon pennellii*. *Journal of Experimental Botany* 55:1105–1113.
- Munns, R., Wallace, P. A. Teakle, N. L. and Colmer, T. D. (2010) Measuring soluble ion concentrations ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ) in salt-treated plants. *Methods in Molecular Biology* 639: 371-82.
- Nazar, R., Umar, S. and Khan, N. A. (2015) Exogenous salicylic acid improves photosynthesis and growth through increase in ascorbate-glutathione metabolism and S assimilation in mustard under salt stress. *Plant Signaling and Behavior* e1003751-10.
- Obinger, C., Maj, M., Nicholls, P. and Loewen, P. (1997) Activity, peroxide compound formation and heme d synthesis in *Escherichia coli* HPII catalase. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 342: 58-67.
- Panda, S. and Patra, H. (2007) Effect of salicylic acid potentiates cadmium induced oxidative damage in *Oryza sativa* L. leaves. *Acta Physiologia Plantarum* 29: 567–575.
- Park, S. W., Liu, P. P., Forouhar, F., Vlot, A. C., Tong, L. and Klessig, F. (2009) Use of a synthetic salicylic acid analog to investigate the roles of methyl salicylate and its esterases in plant disease resistance. *The Journal of Biological Chemistry* 284: 7307–7317.
- Perez-Rodriguez, L. (2009) Carotenoids in evolutionary ecology: re-evaluating the antioxidant role. *BioEssays* 31: 1116–1126.
- Rivas-San Vicente, M. and Plasencia, J. (2011) Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development. *Journal of Experimental Botany* 62: 3321-38.
- Saha, P., Chatterjee, P. and Biswas, A. K. (2010) NaCl pretreatment alleviates salt stress by enhancement of antioxidant defense system and osmolyte accumulation in mungbean. *Indian Journal of Experimental Biology* 48: 593-600.
- Sakhabutdinova, A. R., Fatkhutdinova, D. R. and Shakirova, F. M. (2004) Effect of salicylic acid on the activity of antioxidant enzymes in wheat under conditions of salination. *Applied Biochemistry and Microbiology* 40:501–505.
- Saikachout, S., Jaffel Hamza., K., Karray Bouraoui, N., Leclerc, J. C. and Ouerghi, Z. (2013) Salt-induced changes in antioxidative enzyme activities in shoot tissues of two atriplex varieties. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 41:115-121.
- Shabala, S. (2009) Salinity and programmed cell death: unraveling mechanisms for ion specific signaling. *Journal of Experimental Botany* 60:709–712.
- Singh, P. K. and Gautam, S. (2013) Role of salicylic acid on physiological and biochemical mechanism of salinity stress tolerance in plants. *Acta Physiologia Plantarum* 35: 2345–2353.
- Tu'rkkan, I. and Demiral, T. (2009) Recent developments in understanding salinity tolerance. *Environmental Experimental Botany* 67:2–9.
- Winterbourn, C. C., McGrath, B. M. and Carrell, R. W. (1976) Reactions involving superoxide and normal and unstable haemoglobins. *The Biochemical Journal* 3: 493–502.
- Yemm, E. W. and Cocking, E. C. (1955) The determination of amino-acids with ninhydrin. *Analyst* 80: 209-213.
- Zahra, S., Amin, B., Ali, V. S. M., Ali, Y. and Mehdi, Y. (2010) The salicylic acid effect on the tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) sugar, protein and proline contents under salinity stress (NaCl). *Journal of Biophysics and Structural Biology* 2: 35–41.