بررسی مقایسه ای تاثیر تیمار خارجی سیلیسیم و اسیدآسکوربیک بر توان آنتی اکسیدانی گیاه دارویی ریحان سبز (*Ocimum basilicum* L.) در شرایط تنش شوری

بتول اسدی، منیره چنیانی* و مهرداد لاهوتی

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۰۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۰۵/۲۵)

چکیده

گیاه ریحان(*Ocimum basilicum* L.) متعلق به تیره نعناع و از گیاهان نسبتاً حساس به شوری محسوب می‌شود. تنش شوری یکی از مهمترین عوامل محدود کننده تولید محصولات کشاورزی است. این پژوهش به منظور بررسی مقایسه‌ای تاثیر بهبودی غلظت‌های مختلف سیلیسیم (SiO_4^{-2})(۰، ۱ و۲ میلی مولار) و اسیدآسکوربیک (۰، ۲۵ و۵۰ میلی مولار) بر گیاه ریحان سبز در مواجه با سطوح مختلف تنش شوری (صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار) در آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. بدین منظور، شاخص پایداری غشاء، میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و محتوای پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و توان آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی (فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و کاتالاز، محتوای پرولین و قندهای محلول) در شرایط مختلف تنش و تیمارها مورد ارزیابی قرار گرفت. هرچند تجمع پرولین و کربوهیدرات‌های محلول در برگ ریحان سبز، درنتیجه تیمار خارجی سیلیسیم در حین تنش شوری دارای بیشینه افزایش بود (به ترتیب ۱۰/٦٤٧ µmol/g F.W. و۷۲/۸٤۷ g/100g D.W.) ولیکن تیمار خارجی اسید آسکوربیک توانست نقش مهمی در کاهش معنی دار میزان پراکسید شدن لیپیدهای غشاء و محتوای H_2O_2 در برابر تنش شوری (به ترتیب ۵۸۰/٦٤۵ µmol/g F.W. و ۱۳۵/۱٤۵ µg /g F.W.) داشته باشد. نتایج این پژوهش نشان داد که فعالیت همه آنزیم‌های مورد بررسی درغلظت‌های بالای نمک افزایش یافت اما کاربرد سیلیسیم و اسیدآسکوربیک منجر به بیشینه افزایش معنی دار فعالیت آنزیم های پراکسیداز و کاتالاز در برگ‌ها گردید. افزایش معنی دار (۱۲۲درصدی) فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در نتیجه تیمار با سیلیسیم و افزایش معنی دار (۱۳۷درصدی) فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در نتیجه تیمار با اسیدآسکوربیک مشاهده شد. بر اساس نتایج این پژوهش، مصرف سیلیسیم و اسیدآسکوربیک به عنوان تیمارهای خارجی می‌توانند از طریق تاثیر بر مسیرهای ویژه و مجزای دفاعی، سیستم مقاومتی گیاه ریحان در برابر تنش شوری را افزایش دهند و کاندیداهای مناسبی در جهت کاهش اثرات مخرب شوری بر بقا و رشد گیاه باشند.

کلمات کلیدی: اسیدآسکوربیک، تنش شوری، توان آنتی اکسیدان، ریحان سبز، سیلیسیم

مقدمه

جنس ریحان (*Ocimum* Sp.) تقریباً دارای ٦۰ گونه گیاهی در سراسر دنیاست (Ekren *et al*., 2012). ریحان یک گیاه دارویی مهم بوده و بطور گسترده درجهت تولید اسانس آن کشت می‌شود.

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: Cheniany@um.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.27.13.4]

اسانس گیاه از برگ‌ها وگل‌های تازه آن استخراج می‌شود (Simon *et al*., 1999). از اسانس استخراجی برای معطر کردن موادغذایی و محصولات دهان و دندان استفاده می‌شود (Simon *et al*., 1984). عصاره اسانسی دارای فعالیت‌های ضدقارچی و ضد باکتریایی با یک اثر مهاری روی قارچ آسپرژیلوس گونه *ochraceus* (Basilico and Basilico, 1999)، دفع حشرات و سموم (Simon *et al*., 1999) است. مشخص شده است که ترکیبات آروماتیک و فنلی عصاره ریحان، عاملی برای فعالیت آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی آن است (Hussain *et al*., 2008).

یکی ازعمده ترین تنش‌های محیطی که اغلب گیاهان با آن مواجهند تنش شوری است. تنش شوری یکی از مهمترین عوامل محدودکننده تولید محصولات کشاورزی است. اثرات اولیه شوری بر گیاهان شامل تنش اسمزی و سمیت یونی است. درحال حاضر شوری خاک‌های کشاورزی افزایش یافته و آب شیرین قابل دسترس به علت بهره برداری بیش از حد و اتلاف آن محدود شده است (Khan and Weber, 2006). این کمبود آب منجر به تشکیل گونه‌های کنشگر اکسیژن (ROS) می‌شود. ROSها از طریق آسیب اکسیداتیو به لیپیدها، پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک متابولیسم معمولی سلول را تخریب می کنند (Munns and Wei, 1981). سیستم سمیت زدایی ROSها و دفاع در برابر تنش‌ها در تمام گیاهان به دو دسته سیستم آنزیمی و غیرآنزیمی تقسیم می‌شود (Foyer *et al*., 1994). گیاهان در پاسخ به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد، سعی می‌کنند تا ظرفیت و فعالیت سیستم‌های دفاعی آنزیمی و غیرآنزیمی را افزایش دهند (Gressel and Galum, 1994). Herrera (۲۰۰۵) بیان داشتند که گیاه ریحان به عنوان یک گیاه میانه در تحمل به شوری می‌باشد. گرچه مطالعات نشان داده است که اثرات تخریبی تنش شوری بر این گیاه در غلظت‌های بالای نمک قابل توجه است (Bernstein *et al*., 2009).

اسیدآسکوربیک (ASA) یک مولکول کوچک قابل حل درآب است که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی بوده و برای سمیت زدایی و خنثی کردن ROS ها به ویژه پراکسید هیدروژن نقش دارد. اسیدآسکوربیک به سه طریق در واکنش های بیوشیمیایی درگیاهان نقش ایفا می‌کند؛ نخست به عنوان یک آنتی اکسیدان مستقیماً در از بین بردن پراکسید هیدروژن حاصل از فتوسیستم II عمل می‌کند (Noctor and Foyer, 1998)؛ دوم، اسیدآسکوربیک یک آنتی اکسیدان ثانوی قوی است که قادر به احیاء نمودن شکل اکسید آلفا توکوفرول (ویتامینE) به عنوان یک آنتی اکسیدان مهم محلول در چربی است (Noctor and Foyer, 1998) و سوم، اسیدآسکوربیک کوفاکتوری برای چرخه ویولاگزانتین می‌باشد (Asada, 1999) که گیاهان را در برابر آسیب‌های فتواکسیداتیو حفاظت می‌کند (Pignocchi and Foyer, 2003). بر طبق مطالعات گزارش شده است که آسکوربات خارجی می‌تواند مقاومت به تنش شوری را در گیاهان افزایش داده و همچنین تنش اکسیداتیو ناشی از آن را کاهش دهد (Shalata and Neumann, 2001 ; Shaddad *et al*., 1990).

سیلیسیم (Si) دومین ترکیب معدنی بعد از اکسیژن در کره زمین است که هنوز نقش آن به طور کامل در همه گیاهان روشن نیست ولیکن اثرات مثبت آن بر عملکرد و مقاومت به تنش‌های محیطی پیشنهاد شده است (Ma, 2004). پس از جذب سیلیسیم به وسیله گیاهان تحت تنش شوری، موجب افزایش فعالیت H^+-ATPase وH^+-PPase در غشاء پلاسمایی و تونوپلاست می‌شود. این تغییرات عاملی برای کاهش جذب سدیم و افزایش جذب پتاسیم و تغییر توزیع یون‌ها در ریشه‌ها و برگ‌های این گیاهان است. از سوی دیگر سیلیسیم برفعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان نیز اثر مثبت دارد (Liang *et al*., 2007). هدف از تحقیق حاضر بررسی مقایسه‌ای اثرات ترمیمی تیمارهای خارجی سیلیسیم و اسیدآسکوربیک بر خنثی سازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن و فعال سازی توان آنتی اکسیدان های آنزیمی و غیر آنزیمی گیاه ریحان سبز در شرایط تنش شوری به ویژه در غلظت‌های بالای نمک می‌باشد.

مواد و روش‌ها

بذرهای گیاه ریحان سبز (*Ocimum basilicum* L.) از شرکت

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.27.13.4]

"پاکان بذر" اصفهان تهیه شد و سپس بذرها از لحاظ هم شکلی، یکنواختی، اندازه و عدم وجود صدمات سطحی بررسی شدند. بذور انتخابی با محلول اتانول ۷۰ درصد ضدعفونی و سپس با آب مقطر شستشو شدند و سپس با محلول هیپوکلریت سدیم ۳ درصد (v/v) ضدعفونی شدند و مجدداً دوبار دیگر با آب مقطر شستشو شدند. برای حصول جوانه زنی بهتر، بذرها بعد از ضدعفونی به مدت ۲ساعت درآب مقطر استریل خیسانده و سپس به تشتک‌های استریل مخصوص جوانه زنی انتقال داده شدند و در تاریکی (۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ٦۰ درصد) قرار گرفتند. درگام بعد، بذرهای جوانه زده شده به گلدان‌های پلاستیکی با ابعاد ۲۰×۱۵ سانتیمتر پرشده با پرلیت دانه متوسط خریداری شده از شرکت "دانش سبز" منتقل شدند و تحت شرایط کنترل شده (دمای روز/ شب ۲۵/۲۰ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ٦۰ درصد، شدت نور ۲۵۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه)، به صورت یک روز در میان با محلول هوگلند با اسیدیته ۰/۱±۵/۷، در حد ظرفیت زراعی آبیاری شدند. به منظور بررسی اثر تنش شوری و برهم کنش آن با تیمارهای خارجی سیلیسیم و اسیدآسکوربیک، زمانی که گیاهچه‌ها به مرحله سه تا چهاربرگی رسیدند، تیمار با غلظت‌های مختلف NaCl (صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی مولار)، غلظت‌های مختلف محلول سیلیسیم ($NaSiO_4^{2-}$)(۰، ۱ و ۲ میلی مولار) و غلظت‌های مختلف اسیدآسکوربیک (صفر، ۲۵، ۵۰ میلی مولار) در محلول هوگلند به صورت تیمار ریشه‌ای صورت گرفت. نمونه برداری از بخش هوایی گیاه، سه هفته بعد از اعمال تیمارها انجام شد و دردمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا در بررسی های بیوشیمایی استفاده گردند.

روش سنجش محتوا پرولین: محتوای پرولین برگ به روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) اندازگیری شد. ۰/۲ گرم از بافت تر برگ در ٤ میلی لیتر محلول اسیدسولفوسالیسیلیک ۳ درصد (w/v) ساییده و همگنای حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. ۲ میلی لیتر از روشناور با ۲ میلی گرم معرف نین هیدرین و ۲ میلی لیتر اسیداستیک گلاسیال مخلوط و به مدت ۱ ساعت در بن ماری (مدل سرولوژی، Kavoosh Mega، ایران) (دمای ۱۰۰ درجه سانتی-گراد) قرار گرفت. جهت قطع انجام کلیه واکنش‌ها، لوله‌های محتوای محلول روشناور بلافاصله در حمام یخ قرار داده شد و سپس ٤ میلی لیتر تولوئن به آن اضافه گردید و به مدت ۳۰ ثانیه به شدت هم زده شدند. با ثابت نگه داشتن لوله‌ها به مدت ۱۵ الی۲۰ ثانیه، ۲ لایه کاملاً مجزا تشکیل شد. از لایه رنگی فوقانی که تولوئن حاوی پرولین بود، جهت اندازه گیری غلظت پرولین استفاده گردید. پس از گذشت ۲۰ دقیقه جذب مقدار مشخصی از این ماده رنگی در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده ازدستگاه اسپکتروفتومتر (مدل JASCO،UV/Vis1800 آلمان) تعیین شد و مقدار پرولین به صورت میکرومول بر گرم وزن تر نمونه اندازه گیری شد(Bates *et al.*,1973).

روش ارزیابی محتوا کربوهیدرات‌های محلول: برای سنجش کربوهیدرات‌های محلول از روش Dubious و همکاران (۱۹۵٦) استفاده شد. ۰/۰۲ گرم بافت خشک برگ گیاه به همراه ۳ میلی لیتر اتانول ۸۰ درصد (v/v) ساییده و به مدت ۱۵ دقیقه در ۵۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. یک میلی‌لیتر از این عصاره با یک میلی لیتر محلول ۵ درصد فنل(w/v) و ۵ میلی لیتر اسیدسولفوریک غلیظ به طور کامل مخلوط شد و به مدت نیم ساعت در دمای اتاق قرار گرفتند. در نهایت مقادیر جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ٤۸۰ نانومتر ثبت شد. با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز، محتوا کربوهیدرات‌های محلول بر حسب گرم بر ۱۰۰ گرم بافت خشک نمونه محاسبه گردید(Dubious *et al.*,1956).

روش تعیین میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء: برای اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا از روش Heath وPacker (۱۹٦۹) بهره گرفته شد. به این منظور ۰/۲ گرم بافت تر برگ با ۵ میلی لیتر اسیدتری کلرواستیک ۰/۱ درصد (w/v) همگن شد و به مدت ۱۵ دقیقه و در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۱ میلی لیتر از محلول روشناور با ٤ میلی لیتر از محلول اسیدتری کلرواستیک ۲۰ درصد (w/v) که حاوی اسیدتیوباربیتوریک ۰/۵ درصد (w/v) بود، مخلوط شد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.27.13.4]

محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و بعد از اتمام این مدت به حمام یخ منتقل شد. جذب نوری هر یک از نمونه‌ها در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. جذب سایر رنگ دانه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر شد. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی (ε) معادل ۱۵۵ میلی مول بر سانتیمتر و بر مبنای رابطه $A= \varepsilon bc$ ، برحسب میکرومول بر گرم وزن تر نمونه استفاده گردید:

A= جذب نمونه مورد نظر

b= پهنای کووت معادل یک سانتیمتر

c= غلظت MDA

روش تعیین شاخص پایداری غشاء (MSI): برای تعیین این شاخص، دو برگ میانی از هر گلدان انتخاب و ۰/۱ گرم از آن در شرایط غوطه ور در آب، به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری ۴۰ درجه سانتی‌گراد و ۰/۱ گرم دیگر از آن به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس هدایت الکتریکی (EC) نمونه‌ها با دستگاه EC متر (مدل-45 10، Jenway، انگلستان) اندازه گیری شد و شاخص پایداری غشاء بر مبنای رابطه زیر محاسبه شد (Azizpour *et al.*, 2010):

$MSI= 1-EC_{40}/EC_{100}\times100$

شاخص پایداری غشا=MSI

EC_{40}= هدایت الکتریکی نمونه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد

EC_{100}= هدایت الکتریکی نمونه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد

روش سنجش محتوا H_2O_2: برای اندازه گیری محتوا پراکسید هیدروژن، ۰/۵گرم بافت تر برگ با ۵ میلی لیتر اسیدتری کلرواستیک ۱درصد (v/v) همگن شد و به مدت ۱۵دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. ۰/۵ میلی لیتر از محلول روشناور با ۰/۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰میلی مولار با pH=۷ و ۱میلی لیتر یدیدپتاسیم ۱مولار مخلوط شدند. جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۹۰ نانومتر ثبت شد و براساس منحنی استاندارد پراکسید هیدروژن، غلظت H_2O_2 در نمونه‌ها بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر برگ محاسبه شد (Alexieva *et al.*, 2001).

عصاره گیری جهت سنجش فعالیت آنزیمی: بدین منظور۰/۲ گرم از بافت تر برگ با ٤ میلی لیتر بافرفسفات پتاسیم ۰/۱ مولار (pH=۷/٤) عصاره گیری و به مدت ۲٤دقیقه در دستگاه سانتریفوژ (مدلZ230، Berthold Hermle GmbH، آلمان) در ۱۲۰۰۰دور در دقیقه سانتریفوژ شد. پس از پایان سانتریفوژ، روشناور تعیین حجم و در دمای ۲۰- درجه سانتی-گراد نگهداری شدند. این عصاره برای سنجش محتوای پروتئین کل و فعالیت آنزیم‌ها مورد استفاده قرارگرفت (Sairam and Saxena; 2000).

روش سنجش پروتئین کل: برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین کل از روش Bradford (۱۹۷٦) استفاده شد. بدین منظور ۲/۵ میلی لیتر معرف برادفورد به همراه ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی پس از مخلوط شدن کامل، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل JASCO،UV/Vis1800، آلمان) قرار داده و جذب نمونه‌ها درطول موج ۵۹۵ نانومترثبت شد. باکمک منحنی استاندارد (سرم آلبومین گاوی)، غلظت پروتئین موجود در هرنمونه برحسب میلی‌گرم برگرم وزن تر نمونه محاسبه شد (Bradford, 1976).

فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD–EC: 1.11.1.7): اندازه گیری فعالیت پراکسیداز براساس روش Putter و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد انجام شد. بدین منظور ۲ میلی لیتر بافر استات سدیم ۰/۲ مولار با pH=۵، حاوی بنزیدین ۰/۰۲ مولار ۵۰ درصد (v/v) و آب اکسیژنه ۰/۳ درصد (v/v) با ۱۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی مخلوط گردید و جذب نوری نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه (با خوانش ۳۰ ثانیه ای) خوانده شد. فعالیت آنزیمی بر حسب تغییرات جذب آنزیم به ازاء هر میلی گرم پروتئین در دقیقه محاسبه شد (Putter, 1974).

فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (PPO-EC: 1.30.3.1): سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز از روش Raymond و همکاران (۱۹۹۳) انجام شد. ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار با pH=٦/۸ به همراه ۰/۲ میلی لیتر پیروگالل ۰/۰۲مولار در بن ماری با دمای ٤۰ درجه سانتی-گراد قرارگرفت و اجازه داده شد تا دمای لوله به ٤۰ درجه سانتی‌گراد برسد. سپس به هریک از لوله‌ها ۰/۲ میلی لیتر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.27.13.4]

عصاره آنزیمی افزوده شد و تغییرات جذب درطول موج ٤٣٠ نانومتر در فاصله زمانی ٤ دقیقه (هر ۳۰ ثانیه) ثبت گردید. میزان فعالیت آنزیم بر حسب تغییرات جذب در دقیقه در میلی گرم پروتئین محاسبه گردید(Rymond *et al.*, 1993).

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT-EC: 1.11.1.6): در جهت سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز ، ۰/۲ میلی لیتر از محلول عصاره آنزیمی با ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۰۵مولار با pH=۷ و ۰/۳ میلی لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد مخلوط گردید و میزان جذب آن در طول موج ٢٤٠ نانومتر به مدت ۳دقیقه (هر ۳۰ ثانیه) اندازه گیری شد و میزان فعالیت آنزیم بر حسب تغییرات جذب در دقیقه به ازاء هر میلی‌گرم پروتئین بر گرم وزن تر محاسبه گردید(Cakmak and Horst, 1991).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX–EC: 1.11.1.1): سنجش فعالیت این آنزیم از روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) انجام شد. بدین منظور ٦٠٠ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار با pH=۷ به همراه ۱۰۰میکرولیتر آب اکسیژنه ۰/۱ میلی مولار، ۱۰۰ میکرولیتر آسکوربات ۵ میلی مولار، ۱۰۰میکرولیتر EDTA ۱ میلی مولار و ۱۰۰میکرولیتر عصاره آنزیمی در حمام یخ با یکدیگر مخلوط شدند و تغییرات جذب نوری در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه (هر ۳۰ ثانیه) ثبت شدو فعالیت آنزیم بر حسب تغییرات جذب در دقیقه به ازاء هر میلی گرم پروتئین محاسبه گردید (Nakano and Asada, 1981).

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد (P≤۰/۰۵) استفاده شد و نمودارهای مربوطه به وسیله نرم‌افزار Microsoft EXCEL (Office 2007) رسم گردیدند.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از واریانس داده‌ها نشان دادکه اثر ساده تنش شوری و تیمارهای به کار رفته و اثر متقابل تنش با تیمار Si بر محتوا اسیدآمینه آزاد پرولین در سطح آماری ۵ درصد معنی دار بود (جدول ۱). گرچه مواجه مجزا با تنش شوری، تیمار ASA و تیمارSi منجر به روند افزایشی محتوا پرولین آزاد شد ولیکن روند تغییرات مشاهده شده بین میانگین‌های به ثبت رسیده، از لحاظ آماری، معنی دار نبودند (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها در خصوص تیمار Si در شرایط تنش شوری نشان داد که کاربرد این تیمار منجر به افزایش معنی دار محتوا پرولین در تمام سطوح شوری نسبت به تیمار شاهد شده بود به طوریکه غلظت یک میلی مولار Si در شوری ۲۰۰ میلی مولار توانست محتوا این ترکیب را تا حد ۱۰/٦٤٧ µmol/g F.W. افزایش دهد (شکل A–۱). تیمار ASA و کاربرد توام آن با Si، تاثیر معنی داری بر تغییرات محتوا پرولین آزاد در شرایط تنش شوری نداشت (جدول ۱). در زمینه افزایش محتوا پرولین در گیاهان تحت تنش شوری گزارش‌های بسیار زیادی وجود دارد که ازجمله آن می‌توان به انواع گیاهان حساس آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.)(Ashraf and Tufail, 1995)، گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius*)(Ashraf and Fatima, 1995)، نخود (*Cicer arietinum*)(Kafi *et al.*, 2011)، برنج (*Oryza sativa*) (Summart *et al.*, 2010)، گندم (*Triticum aestivum*)(Shoaa and Miri, 2012) و...اشاره داشت. سازش گیاهان به تنش‌های محیطی با انباشتن متابولیت‌هایی مانند ترکیبات نیتروژن دار (پرولین، سایراسیدهای آمینه و پلی آمین ها) انجام می‌شود (Razavizadeh *et al.*, 2014). پرولین به عنوان یک اسمولیت می‌تواند در نگهداری فشار تورگر و تثبیت حجم سلولی، به عنوان منبع ذخیره نیتروژن و منبع آینده تأمین ATP، به ویژه در شرایط تنش موثر باشد (Bates *et al.*, 1973). گرچه گزارش‌هایی نیز وجود دارد که بیانگر افزایش محتوا پرولین در گیاهان تحت تنش شوری و تیمار با ASA است (Sheteawi, 2007؛ Abd El-Aziz *et al.*, 2006)، ولیکن تیمار گیاه ریحان پژوهش حاضر با ASA در شرایط شوری نتوانست منجر به افزایش معنی‌دار محتوا پرولین گردد. نکته قابل توجه این پژوهش آن بود که صرف نظر از معنی داری آماری، گرچه در برهمکنش شوری با هریک از تیمارهای

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.27.13.4]

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر تنش شوری و تیمارهای سیلیسیم و اسیدآسکوربیک بر آنتی اکسیدان‌های غیرآنزیمی گیاه ریحان سبز

		میانگین مربعات				
منابع تغییر	درجه آزادی	محتوا پرولین	محتوا قندهای محلول	مالون دی آلدئید	شاخص پایداری غشاء	محتوا پراکسیدهیدروژن
تنش	۲	۲۰٤/۱۷۰ *	۱۰۳۳/٦٥۸ *	۳۳٤۸۸۷/۷۸٤ *	۱۷۰/۰٥۱ *	۱۱٦۳۷٦/۱۳۹ *
Si	۲	۳۳/۷٦٦ *	۱۷۱٥/٤٦۲ *	۳۱۹۱٦۳/٤۲۳ *	٦۰۳/۷٤۳ *	۱٦۹۲٥/۲۸۹ *
ASA	۲	۳/۷۸۲ *	۱٦٤/٥۲۹ *	٥۲۷۷٤/۲٤٥ *	۱۰٦/٥٤٥ *	۳٤٦۹/۲٥۰ *
تنش× Si	٤	٦/۲۲۱ *	۱۰٥/٤۹۰ *	۱۳۷۷۱/٦٦۳ ns	۲٦/٤۹۸ ns	۲۸۳/۳۳۳ ns
تنش×ASA	٤	۰/٥۷۲ ns	٦/۷۳۰ ns	٥٤٤۷/۰۰۱ *	۳٤/۱۷۰ *	۲۰۷/۱۱۰ *
Si×ASA	٤	۰/۰۸۳ ns	۱۰/٦۰٦ ns	٤۲۹۰/۷۹۸ ns	۳۷/۰۱۲ ns	۱٤۲٦/۹۹۰ *
تنش×ASA×Si	۸	۰/۱۱۳ ns	۲۰/۳٤۱ ns	٦۷۹٥/۹۰٤ ns	۲۱/۲۰۲ ns	۱۸۱/۱۰۲ ns
خطا	٥٤	۰/۷٤۸	۳٦/۸۷۷	۱۱۰۹۹/٥٤۹	٥۹/٦٤۸	۳۰۷/٥٤۰

ns و * به ترتیب بیانگر عدم معناداری و معناداری در سطح احتمال خطای ۵ درصد است.

جدول ۲- مقایسه میانگین داده‌ها درتیمار ساده شوری، سیلیسیم و اسیدآسکوربیک بر برخی آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی و آنزیمی گیاه ریحان سبز

شوری و تیمارها	محتوا پرولین mol/g (µF.W.)	محتوا قندهای محلول (g/100g D.W.)	MDA mol/g (µF.W.)	محتوا پراکسیدهیدروژن (µg/g F.W.)	شاخص پایداری غشاء (%)	فعالیت پلی فنل اکسیداز	فعالیت آسکوربات اکسیداز
NaCl=0 mMol	٤/۱۷٤ b	۳۸/۰۰٦ c	٥٥۰/٦٤٥ c	۱۲۸/۷۸۳ c	۷۳/۰۷۷ a	۰/۱۳٦ c	۰/۱۹۸ b
NaCl=100 mMol	٤/۸۲٦ b	٤٦/۹۳۱ b	۸٥۲/٦۸۸ b	۱۹۹/٤۲۰ b	٥۳/۱۳۱ b	۰/۲٤٥ a	۰/۲۳۱ b
NaCl=200 mMol	۹/۳٥۹ a	٥۷/٥۳۲ a	۹۸۱/۷۲۰ a	۲۹۹/٥۰۷ a	۳۹/۸۷۲ c	۰/۱۸۳ b	۰/٤۱۷ a
Si=0 mMol	٤/۱۷٤ b	۳۸/۰۰٦ c	٥٥۰/٦٤٥ a	۱۲۸/۷۸۳ a	۷۳/۰۷۷ a	۰/۱۳٦ b	۰/۱۹۸ a
Si=1 mMol	٤/۹۰۸ a	٦۰/۹۲٥ b	٥۰۰/٤۷۳ b	۱۲۱/٥۳٦ ab	٦۳/۲۰۸ b	۰/۱٤۸ b	۰/۱۹۳ a
Si=2 mMol	٤/۹۲٤ a	۷۰/۰٥٤ a	٥۳۷/٦۳٤ ab	۱۱۰/۳۷۷ b	٦٥/۷۹۱ b	۰/۱٦٤ a	۰/۲۱۸ a
ASA=0 mMol	٤/۱۷٤ b	۳۸/۰۰٦ c	٥٥۰/٦٤٥ a	۱۲۸/۷۸۳ a	۷۳/۰۷۷ b	۰/۱۳٦ b	۰/۱۹۸ a
ASA=25 mMol	٥/۱٦٦ a	۷٤/٦۷۹ a	٤٥۱/٦۱۳ b	۱۰۳/۲۷٥ b	۷٥/۲۰۸ b	۰/۲۲۱ a	۰/۱۹۲ a
ASA=50 mMol	٥/۳۱٥ a	۷۱/٤۳٥ b	٤۳۰/۱۰۸ c	۸۹/٦٥۲ c	۸۳/۷۹۱ a	۰/۱۸۹ ab	۰/۲۳۱ a

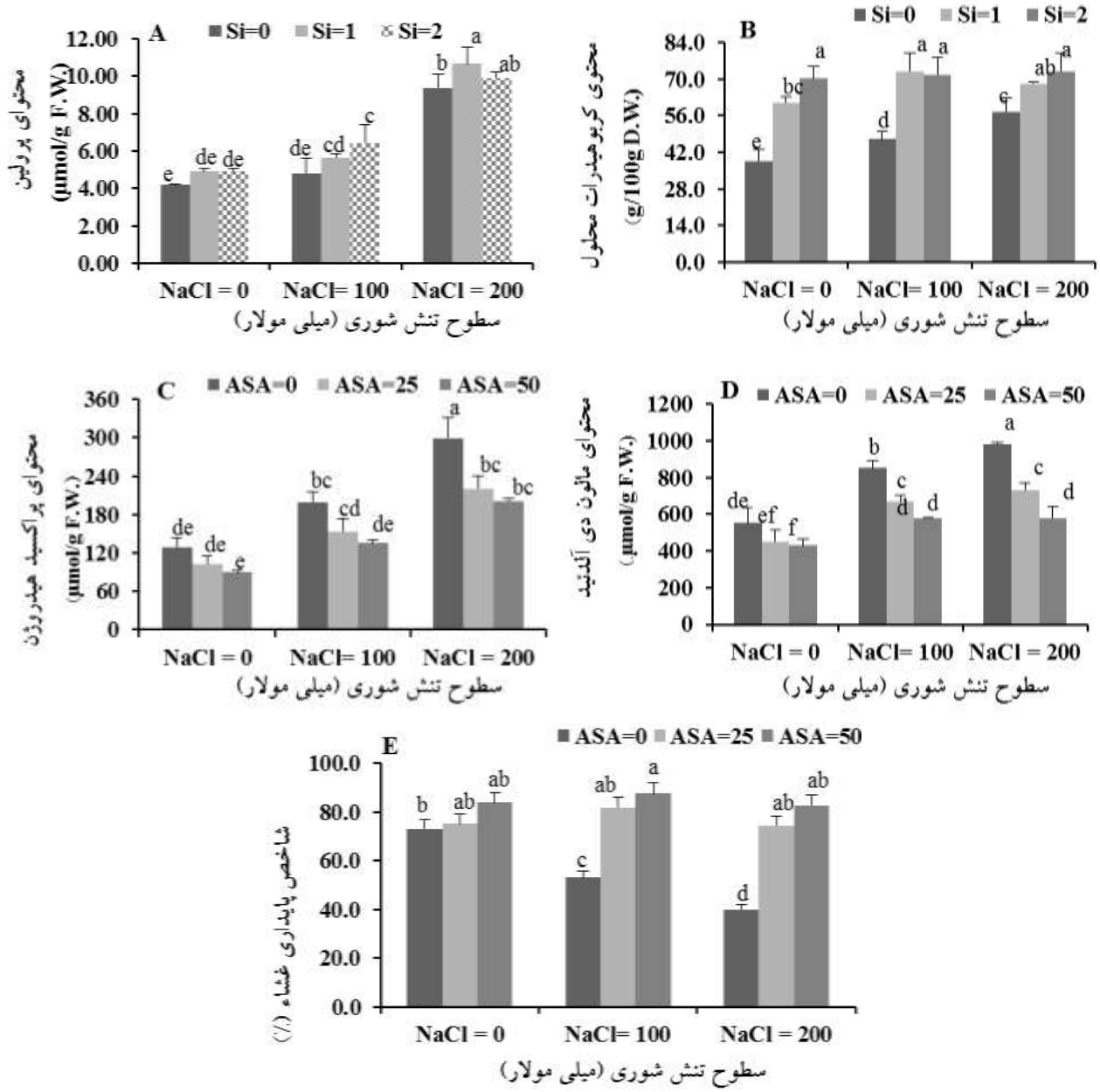
در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حرف یا حروف مشترکی می‌باشند مطابق آزمون دانکن($P<0.05$) تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند.

ASA و Si، محتوا پرولین آزاد افزایش یافت، ولیکن تیمار سیلیسیم در حین تنش شوری، تاثیر بیشتری در افزایش محتوا پرولین داشت (بیشینه افزایش.F.W µmol/g ۱۰/٦٤۷ پرولین در غلظت یک میلی مولار سیلیسیم در برابر بیشینه افزایش F.W. µmol/g ۱۰/٤٥۰ پرولین در غلظت ۵۰ میلی مولارASA). این نتایج کاملاً عکس نتایجی است که از مطالعات Bybordi (2012) بر روی گیاه کانولا (*Brassica napus* L.) به دست آمده است.

براساس نتایج آنالیز واریانس اثر ساده تنش، ASA، Si و اثر متقابل تنش شوری و Si بر محتوا کربوهیدرات‌های محلول برگ گیاه در سطح آماری ۵ درصد معنی دار شد (جدول ۱). نتایج پژوهش حاضر حاکی از آن است که با افزایش مجزا تنش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.27.13.4]



شکل ۱- تاثیر سطوح مختلف تنش شوری بر محتوا پرولین (A)؛ محتوا کربوهیدرات‌های محلول (B)؛ محتوا پراکسید هیدروژن (C)؛ محتوا MDA (D) و شاخص پایداری غشاء (E) تحت تاثیر تیمار معنی دار ASA و یا Si. مقادیر میانگین ۳ تکرار ± SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار برمبنای آزمون دانکن در سطح P<۰/۰۵ است.

شوری و تیمار خارجی Si، محتوا کربوهیدرات‌های محلول ریحان افزایش یافت ولیکن تیمارمجزا در غلظت بالا ASA (۵۰ میلی مولار) موجب کاهش محتوا کربوهیدرات‌های محلول شد (جدول ۲). این اثر کاهشی غلظت‌های بالای ASA بر محتوا کربوهیدرات‌ها، در برهمکنش آن با تنش شوری نیز مشاهده گردید، هرچند این اثر متقابل معنی دار نبود. نکته قابل توجه، اثر مثبت غلظت‌های ۱ و ۲ میلی مولار Si بر افزایش معنی دار محتوا کربوهیدرات‌های محلول برگ در شرایط تنش شوری بود (شکل B-۱). تجمع متابولیت‌ها یکی از پاسخ‌های عمومی احتمالی گیاهان به تغییرات پتانسیل اسمزی خارجی می‌باشد و تجمع متابولیت‌های نهایی نظیر کربوهیدرات‌ها اغلب درگیاهان تحت وضعیت‌های نامساعد مشاهده می‌شوند

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.27.13.4]

(Sotiropoulos, 2007). افزایش قندهای محلول در شرایط تنشی با تأثیر بر پتانسیل اسمزی در حفظ سلامت و عملکرد غشاهای سلولی که در شرایط تنشی دچار آسیب می‌شوند نقش دارد (Kaur *et al.*, 2000). پژوهش‌هایی مبنی بر افزایش بالاترمحتوا کربوهیدرات‌های محلول در گیاهانی که تحت تأثیرتوام تنش شوری و اسیدآسکوربیک قرار گرفتند، نسبت به گیاهانی که تنها در معرض تنش شوری قرار داشتند وجود دارد که از آن جمله می‌توان به گزارش‌های بر *Khaya sensgalensis* (درختی در آفریقا)(Abd El-Aziz *et al.*, 2006) و گیاه سویا(*Glycine max*)(Sheteawi, 2007) اشاره نمود. ASA با توانایی جاروب نمودن H_2O_2 و رادیکال‌های آزاد و کاهش اثرات منفی آنها، از آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تجمع انواع اکسیژن‌های فعال بر آنزیم‌های چرخه کالوین می‌کاهد و باعث عملکرد مناسب آنزیم‌های این چرخه و در نتیجه تولید بالا فتوسنتز از جهت تولید کربوهیدرات‌ها می‌گردد (Shalata and Numman, 2001). به این ترتیب اسیدآسکوربیک سبب بهبود فتوسنتز و تولید فرآورده‌های کربنی می‌شود (Kaur *et al.*, 2000). در مورد سیلیسیم نیز گزارش شده است که این ترکیب می‌تواند با افزایش پلی ساکاریدهای دیواره سلولی، افزایش نسبت پلی ساکاریدها به کل کربوهیدرات‌ها و بهبود ساختار دیواره سلولی موجب تأثیرات مثبت بر علیه تنش گردد (Agarie *et al.*, 1998).

نتایج حاصل از واریانس داده‌ها دلالت بر معنی‌دار بودن ($P \leq 0.05$) تاثیر ساده شوری، ASA، Si، اثر متقابل تنش شوری و ASA و اثر متقابل ASA و Si برمحتوای پراکسید هیدروژن برگ گیاه ریحان داشت (جدول۱). هرچند تنش شوری به تنهایی موجب افزایش محتوا پراکسید هیدروژن برگ گیاه شد ولیکن تیمار ساده Si و به ویژه ASA تأثیر به سزایی در کاهش محتوا این ترکیب داشتند (جدول ۲). تأثیر تیمار Si در شرایط تنش شوری بر تغییرات محتوای پراکسید هیدروژن معنی دار نبود ولیکن تیمار ASA توانست به طور معنی داری باعث کاهش ۴۸/۹۳ درصدی محتوا پراکسید هیدروژن در زمان اعمال تنش شوری در غلظت ۲۰۰ میلی مولار شوری گردد (شکل C-۱). پراکسید هیدروژن یکی از انواع ROS ها است که میزان آن عموماً در گیاهانی که تحت تأثیر تنش شوری هستند افزایش نشان می‌دهد (Fedina *et al.*, 2003). تعادل در تولید و حذف ROS هادر شرایط تنشی می‌تواند به گیاه برای تحمل این شرایط کمک کند. ASA یک مولکول آنتی اکسیدان مهم است که در گیاهان به عنوان ماده اولیه در چرخه سم زدایی آنزیمی H_2O_2 عمل می‌کند (Beltagi, 2008). ASA به طور مستقیم رادیکال‌های هیدروکسیل و سوپراکسید را حذف و H_2O_2 را به کمک آسکوربات پراکسیداز به آب احیا می‌کند (Alqurainy, 2007). نتایج این بخش پژوهش حاضر حکایت از موفقیت بهتر تیمار ASA نسبت به Si در جاروب نمودن پراکسیدهیدروژن در شرایط تنش شوری داشت.

تنش شوری، اثر ساده ASA و Si تأثیر معنی داری ($P \leq 0.05$) بر میزان پراکسید شدن لیپیدهای غشایی برگ گیاه ریحان داشت؛ به این نحو که با اعمال تنش شوری، محتوا MDA افزایش معنی داری نشان داد ولیکن تیمارهای مجزا ASA و Si موجب کاهش محتوا درونی MDA گردید (جدول ۲). بررسی آماری برهمکنش تنش و تیمارها نشان داد که تنها اثر متقابل تنش و تیمار ASA بر محتوای MDA در سطح آماری ۵درصد معنی دار شد (جدول ۱). با مقایسه میانگین داده ها، برهمکنش تنش شوری با غلظت‌های مختلف ASA به ترتیب منجر به کاهش ۴۷ درصدی و ۶۹درصدی محتوای مالون دی آلدهید در سطوح شوری ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار شد (شکل D-۱).

داده‌های (جدول ۱) گویای آن بود که کاربرد مجزا تنش شوری، ASA، Si و تنها اثر متقابل تنش شوری و ASA تأثیر معنی داری ($P \leq 0.05$) بر شاخص پایداری غشاء برگ‌های گیاه ریحان داشت. براساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها، شاخص پایداری غشاءسلول در سطوح مختلف شوری کاهش معنی داری نسبت به تیمار شاهد داشت. اثر ساده Si و ASA هر دو منجر به افزایش پایداری غشاء سلول‌های گیاه ریحان شد، ولیکن این افزایش در بین غلظت‌های مختلف تیمار معنی دار نبود (جدول ۲). تنها تیمارخارجی ASA در زمان اعمال

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.27.13.4]

تنش شوری توانست اثرات نامطلوب این تنش بر پایداری غشاء را به ویژه در غلظت ۵۰ میلی مولار ASA کاهش دهد (به ترتیب تأثیرات مثبت ٤٦درصدی و ۵۱/۵درصدی بر غشاء در سطوح شوری ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار)(شکلE–۱).

تخریب غشای سلولی یکی از پیامدهای مستقیم کمبود آب و تنش‌های اسمزی می‌باشد و به این ترتیب، بین پایداری غشاء، میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و شدت تنش‌ها به ویژه شوری و خشکی ارتباط مستقیم وجود دارد (Sofo *et al.*, 2004). تنش شوری باعث ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن، تنش اکسیداتیو در سلول‌ها، پراکسیداسیون لیپیدها و ایجاد اختلال در اعمال فیزیولوژیکی غشاهای زیستی و سلول می‌شود (Upadhyaya and Panda, 2004؛ Sofo *et al.*, 2004). حاصل پژوهش‌ها نشان داده است که اسیدآسکوربیک به عنوان یک آنتی اکسیدان، سریعاً با سوپراکسید، اکسیژن یکتایی، ازن، پراکسیدهیدروژن واکنش داده (Smirnoff, 1996) و با پاکسازی ROS ها، سبب کاهش در اکسیداسیون لیپیدهای غشای سلول می‌شود که پیامد آن، کاهش محتوی مالون دی آلدهید و در نتیجه افزایش ثبات و پایداری غشاء می‌باشد (Asada, 1999؛ Dolatabadian *et al.*, 2008). در این تحقیق نیز محتوای MDA کمتری در نتیجه تیمار با ASA در شرایط تنش شوری به ثبت رسید. این نتایج نشان می‌دهد که گیاه ریحان توانسته است به کمک تیمار خارجی ASA، در برابر پراکسیداسیون انواع لیپیدهای ساختاری ناشی از تجمع بیش از اندازه انواع ROS ها مقاومت بیشتری از خود نشان دهد و به حفظ بهتر ثبات غشاهای سلول‌های خود اقدام کند.

نتایج حاصل از آنالیز داده‌های این پژوهش نشان داد که اثرهای ساده تنش شوری، ASA و Si برمحتوای پروتئین‌های محلول، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، کاتالاز و آسکوربات اکسیداز برگ گیاه ریحان معنی دار بود ($P \leq 0.05$)(جدول ۳). از باب اثرات متقابل بین تنش و تیمارها، وضعیت مشابهی بر محتوای پروتئین کل برگی، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز مشاهده شد به این نحو که اثرات متقابل تنش شوری و تیمار ASA و همچنین تنش شوری و تیمار Si بر این کمیت‌های اندازه گیری شده در سطح آماری ۵ درصد معنی دار بود. در مطالعه حاضر تنها برهمکنش تنش شوری و تیمار Si بر تغییرات فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، معنی دار شد. همچنین اثر متقابل بین تنش شوری و تیمار ASA بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز معنی دار به ثبت رسید (جدول ۳). هر یک از تیمارهای ASA و Si به ترتیب موجب بیشینه افزایش ۳٦/۷ درصدی و ٤۳/۱ درصدی محتوای پروتئین کل نمونه‌های برگ در شرایط اعمال تنش شوری (غلظت ۱۰۰میلی مولار) شدند (شکل‌های B وA–۲) سیستم دفاع آنتی اکسیدانی در تمام مراحل رشد گیاهان فعال است (Hoshani *et al.*, 2012). ارزیابی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان این مطالعه مشخص نمود که گرچه هر دو تیمار ASA وSi موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در شرایط تنش شوری شدند ولیکن اثر ترغیبی تیمار Si بر فعالیت آنزیم‌های مذکور بیشتر از تیمار ASA بود (بیشینه فعالیت پراکسیداز در تیمار با Si در برابر فعالیت ۰/۳۰۳ unit/mg pro. پراکسیداز در تیمار با ASA؛ بیشینه فعالیت ۰/۲٤۹ unit/mg pro. کاتالاز در تیمار با Si در برابر فعالیت ۰/۳۳۵ unit/mg pro. کاتالاز در تیمار با ASA)(شکل های F، E، D وC–۲). تیمار Si بر گیاهان ریحان در مواجه با تنش توانست به طور معنی داری باعث افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیدازشود (شکل G–۲). این در حالی است که تیمار ASA در شرایط تنش شوری، موجب تقویت فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز برگ گیاهان شد (شکل H–۲).

گزارش‌هایی مبنی بر افزایش مقدار پروتئین در گیاهانی که تحت تأثیرتوأم اسید آسکوربیک و تنش شوری (Sheteawi, 2007؛ Beltagi, 2008) و یا سیلیسیم و تنش شوری (Ebrahimi and Bybordi, 2012) واقع شده بودند نسبت به گیاهانی که تنها در معرض تنش شوری قرار داشتند وجود دارد. ROS های تولید شده طی تنش شوری به علت میل ترکیبی زیادی که با پروتئین‌ها و لیپیدها دارند باعث تخریب غشای سلولی، اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌های سلول می‌شوند (Peltzer *et al.*, 2002). که حاصل آن کاهش مقادیر پروتئین

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.27.13.4]

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر تنش شوری و تیمارهای سیلیسیم و اسیدآسکوربیک بر توان آنتی اکسیدان‌های آنزیمی گیاه ریحان

		میانگین مربعات				
منابع تغییر	درجه آزادی	محتوای پروتئین محلول	آنزیم پراکسیداز	آنزیم پلی فنل اکسیداز	آنزیم کاتالاز	آنزیم آسکوربات پراکسیداز
تنش	۲	۳٦۲۰٦/٥٥٠ *	۰/۰۳۳ *	۰/۰۱۲ *	۰/۰۱۳ *	۰/۲۹۰*
Si	۲	٤۲٥۸٤/۲۳٦ *	۰/۰۱۳ *	۰/۰٤۳ *	۰/۰۰۳ *	۰/٥٥۸ *
ASA	۲	۱۱٤٤٥/٥۷۷ *	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۰۷ *	۰/۰۰۱ *	۰/۲٥٦ *
تنش× Si	٤	۳۷۲/٤۹٥ *	۰/۰۱٥ *	۰/۰۰۰۲ ns	۰/۰۲۰ *	۰/۰٤۱ *
تنش×ASA	٤	٥۹٤/٥۸۷ *	۰/۰۱٦ *	۰/۰۰۱۱ *	۰/۰۰۳ *	۰/۰۱۰ ns
Si×ASA	٤	۲۱٥٦/۹۰۲ ns	۰/۰۰۰۳ ns	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۳ ns	۰/۰۲۹ *
تنش×Si×ASA	۸	۲۰٤/۱۷۸ ns	۰/۰۰۰۲ ns	۰/۰۰۰۸ ns	۰/۰۰۰۲ ns	۰/۰۱۱ ns
خطا	٥٤	٦٥۸/۲۳۹	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۸

ns و * به ترتیب بیانگر عدم معناداری و معناداری در سطح احتمال خطای ۵ درصد است.

های محلول می‌باشد (Parasher, 1987). اسیدآسکوربیک به عنوان یک آنتی اکسیدان مهم گیاهی می‌تواند با انواع مختلف ROS ها ترکیب شده و از آسیب‌های ناشی از افزایش آنها بکاهد (Smirnoff and Wheeler, 2000؛ Fecht Christoffers *et al.*, 2003). عملکرد سیلیسیم در این فرایند می‌تواند غیرمستقیم و از طریق فعال سازی سیستم‌های آنتی اکسیدان از جمله تاثیر بر مسیر تولید فنول‌ها و فلاونوئیدها به عنوان آنتی اکسیدان‌های غیرآنزیمی باشد (Tesfay *et al.*, 2011).

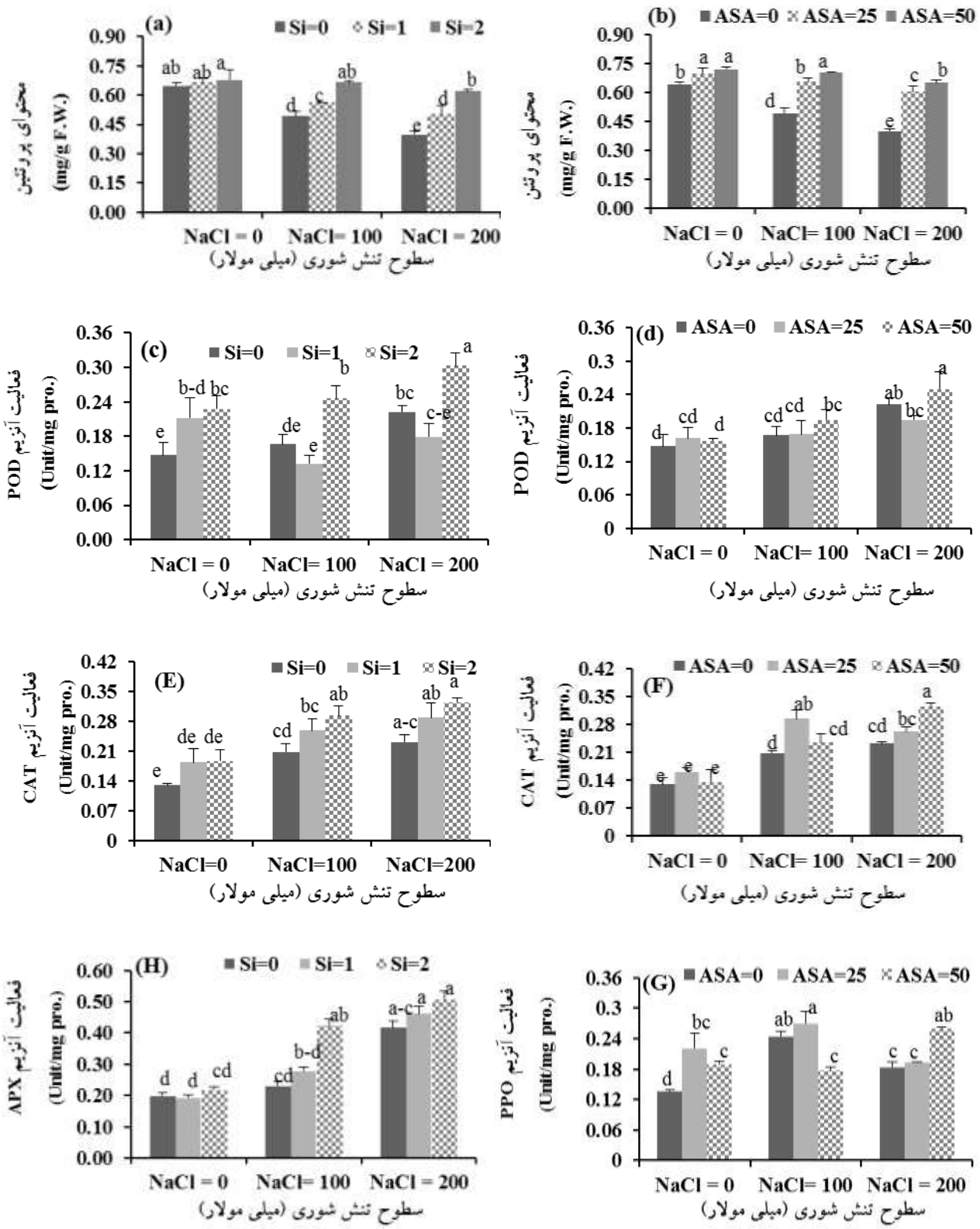
POD جزء آنزیم‌هایی است که تبدیل H_2O_2 به آب و اکسیژن را کاتالیز می‌کند (Gratao *et al.*, 2005). نتایج این پژوهش نشان داد که هر دو تیمار ASA و Si در تنش شوری منجر به افزایش معنی دار فعالیت آنزیم پراکسیداز در مقایسه باکنترل شدند. همچنین در این بررسی، افزایش فعالیت پراکسیداز با کاهش محتوا پراکسید هیدروژن همراه بود. افزایش فعالیت این آنزیم نشان دهنده آن است که پراکسیداز نقش مهمی در سمیت زدایی پراکسیدهیدروژن ایفا می‌کند. نتایج پژوهشگران نشان داده است که ASA بر افزایش فعالیت پراکسیداز (Dehghan *et al.*, 2011) و سیلیسیم بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان مؤثر هستند (Liang *et al.*, 2008).

اثرات تیمارهای اعمال شده در شرایط شوری پژوهش حاضر بر ترغیب فعالیت آنزیم کاتالاز مشابه با آنزیم پراکسیداز بود. تحقیقات برروی گیاه گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) نشان داد که تنش شوری موجب افزایش معنی دار فعالیت آنزیم کاتالاز می‌شود چرا که از یک سو، شوری تجمع ROS ها به ویژه H_2O_2 را در سلول‌های گیاهی تحریک می‌نماید و از سوی دیگر، متابولیسم H_2O_2های تولیدی وابسته به فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان به ویژه کاتالاز و پراکسیداز است (Shalata and Neumann, 2001). در پژوهشی دیگر با مطالعه بر گیاه کانولا (*B. nupus* L.)گزارش شد که اسیدآسکوربیک و Si در مکانیسم‌های دفاعی برعلیه تنش شوری دخالت داشته و می‌توان گفت که Si و اسیدآسکوربیک روی رشد گیاه کانولا تحت شرایط تنش شوری اثرمثبت دارند (Bybordi, 2012). کاتالاز نیز یکی از مهم ترین جاروب کننده‌های H_2O_2 محسوب می‌شود که به همراه پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز، نقشی مهم در جاروب نمودن این ترکیب و در نتیجه تنظیم سطح H_2O_2 در سلول بر عهده دارد (Dixit *et al.*, 2001).

مقایسه میانگین داده‌ها در این پژوهش نشان داد که تأثیر ترغیبی تیمار Si بر افزایش معنی دار فعالیت آنزیم آسکوربات

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.27.13.4]



شکل ۲- تاثیر سطوح مختلف تنش شوری بر محتوا پروتئین کل (A و B)؛ آنزیم پراکسیداز (C و D)؛ آنزیم کاتلاز (E و F)؛ آنزیم آسکوربات پراکسیداز (G) و آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز (H) تحت‌تاثیر تیمار معنی‌دار ASA و یا Si. مقادیر میانگین ۳ تکرار ± SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار برمبنای آزمون دانکن در سطح P<۰/۰۵ است.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.27.13.4]

پراکسیداز در سطوح مختلف شوری بیشتر از تیمار ASA بود. افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز در گیاه کانولا (*B. nupus* L.) و خیار (*Cucumis sativus*)، به واسطه تیمار با Si در شرایط شوری گزارش شده است (Bybordi, 2012؛ Zhu *et al*., 2004). آسکوربات پراکسیداز ازجمله آنزیم‌هایی است که نقش مهمی در حذف سمیت پراکسیدهیدروژن در سلول‌های گیاهی برعهداه دارد. آسکوربات از آنتی اکسیدان‌های مهم سلولی می‌باشد که با واکنش‌های آنزیمی و غیرآنزیمی در حذف ROS ها شرکت می‌کند. فعالیت عمده این ترکیب در چرخه آسکوربات و گلوتاتیون می‌باشد. گرچه اسیدآسکوربیک به آنزیم آسکوربات پراکسیداز درفرایند تجزیه H_2O_2 کمک می‌کند (Foyer *et al*., 1994)، ولیکن ترغیب کمتر آنزیم‌های آنتی اکسیدان ازجمله آسکوربات پراکسیداز، ناشی از مصرف اسیدآسکوربیک، را می‌توان به تأثیر مستقیم خود ASA به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی بر کاهش اثرات مخرب ROSها دانست (Lee and Kader, 2000).

پلی فنل اکسیداز جزء آنزیم‌های است که در پاسخ به تنش های غیرزیستی گوناگون مثل تنش شوری شرکت می‌کند. درواقع این آنزیم به همراه دیگرآنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می توانند در حذف ROSها با یکدیگر همکاری کنند (Veljovic-Jovanovic *et al*., 2006 ؛Sofo *et al*., 2005). نتایج این پژوهش نشان داد که تیمار گیاه ریحان با ASA در تنش شوری منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز به ویژه در شوری ۱۰۰میلی مولار شد. Shinde و Laware در پژوهش خود گزارش نمودند که افزایش سطوح خشکی موجب افزایش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در واریته‌های مختلف بادام زمینی (*Arachis hypogaea* L.) می‌شود (Shinde and Laware, 2015). در پژوهشی دیگر Ebrahimian و Bybordi (۲۰۱۲) گزارش کردند که تنش شوری منجر به افزایش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) شد و برهم کنش شوری با سیلیسیم و اسیدآسکوربیک منجر به افزایش بیشتر فعالیت پلی فنل اکسیداز در این پژوهش شد (Ebrahimian and Bybordi, 2012).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که سیلیسیم و اسیدآسکوربیک به عنوان تیمارهای خارجی می‌توانند از طریق تاثیر بر مسیرهای ویژه و مجزای دفاعی، اثرات مضر حاصل از تنش شوری بر گیاه ریحان را کاهش دهند و سبب بهبود عملکرد سیستم‌های آنتی اکسیدان آنزیمی و غیرآنزیمی این گیاه در شرایط تنش شوند. لذا توجه به این نکته ضروری است که نوع اثر و عملکرد این دو تیمار بر فعال سازی و ترغیب مسیرهای آنتی اکسیدان (آنزیمی و غیرآنزیمی) متفاوت بوده و بالطبع پیامدهای آن در گیاهان مختلف، می‌تواند متفاوت باشد.

تشکر و قدردانی

نگارندگان از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد بابت تأمین هزینه‌های مالی طرح حاضر به شماره ۳/۳۷٦۵۷ تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

Abd El-Aziz, N. G., Mazher Azza, A. M. and El-Habba, E. (2006) Effect of foliar spraying ascorbic acid on growth and chemical constituents of *Khaya senegalensis* growth under salt condition. American- Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Sciences 1: 207-214.

Agarie, S., Hanaoka, N., Ueno, O., Miyazaki, A., Kubota, F. and Agata, W. (1998) Effects of silicon on tolerance to water deficit and heat stress in rice plants (*Oryza sativa* L.), monitored by electrolyte leakage. Plant Production Sciences 1: 96-103.

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

Alqurainy, F. (2007) Responses of bean and pea to vitamin C under salinity stress. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences 3: 714-722.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.27.13.4]

Asada, K. (1999) The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 50: 601-639.

Ashraf, M. and Fatima, H. (1995) Responses of some salt tolerant and salt sensitive lines of sanflower (*Carthamus tinctorius* L.). Acta Physiologiae Plantarum 17: 61-71.

Ashraf, M. and Tufail, M. (1995) Variation in salinity tolerance in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Journal of Agronomy and Crop Science 174: 351-362.

Azizpour, K., Shakiba, M. R., Khosh Kholgh Sima, N., Alyari, H., Moghaddam, M., Esfandiari, E. and Pessarakli, M. (2010) Physiological response of spring durum wheat genotypes to salinity. Journal of Plant Nutrition 33: 859-873.

Basilico, M. Z. and Basilico, J. C. (1999) Inhibitory effects of some spice essential oils on *Aspergillus ochraceus* NRRL 3174 growth and ochratoxin A production. Letters in Applied Microbiology 29: 238-241.

Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.

Beltagi, M. S. (2008) Exogenous ascorbic acid (vitamin C) induced anabolic changes for salt tolerance in chick pea (*Cicer arietinum* L.) plants. African Journal of Plant Science 2: 118-123.

Bernstein, N., Kravchik, M. and Dudai, N. (2009) Salinity-induced changes in essential oil, pigments and salts accumulation in sweet basil (*Osimum basilicum*) in relation to alteration of morphological development. Annals of Applied Biology 156: 167-177.

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

Bybordi, A. (2012) Effect of ascorbic acid and silicium on photosynthesis, antioxidant enzyme activity and fatty acid contents in Canola exposure to salt stress. Journal of Integrative Agriculture 11: 1610-1620.

Cakmak, I. and Horst, W. J. (1991) Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glysin max*). Physiologia Plantarum 83: 463-468.

Dehghan, G., Rezazadeh, L. and Habibi, Gh. (2011) Exogenous ascorbate improves antioxidant defense system and induces salinity tolerance in soybean seedlings. Acta Biologica Szegediensis 55: 261-264.

Dixit, V., Pandey, V. and Shyam, R. (2001) Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad). Journal of Experimental Botany 52: 1101-9.

Dolatabadian, A., Sanavy, S. A. M. M. and Chashmi N. A. (2008) The effects of foliar application of ascorbic acid (Vitamin C) on antioxidant enzymes activites, lipid peroxidation and proline accumulation of of Canola (*Brassica napus* L.) under conditions of salt stress. Journal of Agronomy and Crop Science 194: 206-213.

Dubious, M. K., Gilles, A., Hamilton, J. K., Roberts, P. A. and Smith, F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related. Annual Chemistry 28: 350-566.

Ebrahimian, E. and Bybordi, A. (2012) Effect of salinity, salicylic acid, silicium and ascorbic acid on lipid peroxidation, antioxidant enzyme activity and fatty acid content of sunflower. African Journal of Agricultural Research 7:3685-3694.

Ekren, S., Sonmez, C., Ozcakal, E., Kurttas, Y. S. K., Bayram, E. and Gurgulu, H. (2012) The effect of different irrigation water levels on yield and quality characteristics purple basil (*Ocimum basilicum* L.). Agricultural Water Management 109: 155–161.

Fecht-Christoffers, M. M., Maier, P. and Horst, W. J. (2003) Apoplastic peroxidases and ascorbate are involved in manganese toxicity and tolerance of *Vigna unguiculata*. Physiologia Plantarum 117: 237-244.

Fedina, I. S., Grigorova , I. D. and Georgieva, K. M. (2003) Response of barley seedlings to UV-B radiation as affected by NaCl. Journal of Plant Physiology 160: 205-208.

Foyer, C. H., Lelandais, M. and Kunert, K. J. (1994) Photooxidative stress in plants. Plant Physiolology 92: 696-717.

Gratao, P. L., Polle, A., Lea, P. J. and Azevedo, R. A. (2005) Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. Functional Plant Biology 32: 481-494.

Gressel, J. and Galun, E. (1994) Genetic controls of photooxidant tolerance. In: Causes of Photooxidative Stress and Amelioration of Defence Systems in Plants (Foyer, C.H. and Mullineaux, P.M. Eds.). CRC Press, Boca Raton, USA 25: 237-273.

Heat, R. L. and Packer, L. (1969) Photoperoxidation in isolated chloroplast: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics 125: 189-198.

Herrera, E. (2005) Soil test interpretation: Guide A-122. New Mexico State University 72: 125-153.

Hoshani, M., Mianabadi, M., Aghdasi, M. and Azim Mohseni, M. (2012) An investigation of antioxidant activity of Physalis alikekengi methanolic extracts in different phenological stages. Journal of Plant Biology 4: 101-114 (In Persian).

Hussain, A. I., Anwar, F., Sherazi, S. T. H. and Przybylski, R. (2008) Chemical composition,antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. Food Chemistry 108:986 - 995.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.27.13.4]

Kafi, M., Nabati, J., Masoumi, A. and Mehrgerdi, M. Z. (2011) Effect of salinity and silicon application on oxidative damage of sorghum (*sorghum bicolor* L. Moench.). Pakistan Journal of Botany 43: 2457-2462.

Kaur, S., Gupta, A. K. and Kaur, N. (2000) Effect of GA_3, kinetin and indole acetic acid on carbohydrate metabolism in chickpea seedlings germinating under water stress. Plant Growth Regulation 30: 61-70.

Khan, M. A. and Weber, D. J. (2006) Ecophysiology of high salinity tolerant plants (Tasks for Vegetation Science). Springer, Netherlands 399.

Lee, S. K. and Karder, A. A. (2000) Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. Postharvest Biology and Technology 20: 207-220.

Liang, Y., Zhu, J., Li, Z., Chu, G., Ding, Y. and Zhang, J. (2008) Role of silicon in enhancing resistance to freezing stress in two contrasting winter wheat cultivars. Environmental and Experimental Botany 64: 286 - 294.

Linag, Y., Sun, W., Zhu, Y.G. and Christie, P. (2007) Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants: A review. Environmental Pollution 147: 422-428.

Mann, J. F. (2004) Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses. Soil Science and Plant Nutrition 50: 11-18.

Munns, R. and Weir, R. (1981) Contribution of sugars to osmotic adjustment in elongating and expanded zones of wheat leaves during moderate water deficits at two light leaves. Functional Plant Biology 8: 93-105.

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

Noctor, G. and Foyer, C. H. (1998) Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. Annuals Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 49: 249-279.

Parasher, A. (1987) Effect of different levels of soil salinity on the chemical composition of wheat. Plant Physiology and Biochemical India 14: 153-158.

Peltzer, D., Dreyer, E. and Polle, A. (2002) Differential temperature dependencies of antioxidative enzymes in two contrasting species. Plant Physiology and Biochemical 40: 141-150.

Pignocchi, C. and Foyer, C. (2003) Apoplastic ascorbate metabolism and its role in the regulation of cell signaling. Current Opinion in Plant Biology 6: 379–389.

Putter, J. (1974) In methods of enzymatic analysis (Ed Bergmeyer). Academic Press New York 685.

Razavizadeh, R., Tabatabaee pozveh, Z., and Rostami, F. (2014) Effect of silver nanoparticles on vegetative growth indices and physiological parameters of rapeseed (*Brassica napus* L.) under *in vitro* condition. Journal of Plant Ecophysiology 7: 221-236 (In Persian).

Raymond, M., Poulin, E., Boirox, V., Dupont, E. and Pasteur, N. (1993) Stability of insecticide resistance due to amplification of esterase genes in *Cluex pipiens*. Heredity 70: 301-307.

Sairam, R. K. and Saxena, D. C. (2000) Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. Journal of Agronomy and Crop Science 184: 55-61.

Shaddad, M. A., Radi, A. F., Abd El-Rahaman, A. M. and Azzoz, M. M. (1990) Responses of seeds of *Lupinus termis* and *Vicia faba* to the interactive effect of salinity and ascorbic acid or pyridoxine (B6). Plant and Soil 122: 177-183.

Shalata, A., Neumann, P. M. (2001) Exogenous ascorbic acid (vitamin C) increases resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation. Journal of Experimental Botany 52: 2207-2211.

Sheteawi, S. A. (2007) Improving growth and yield of salt-stressed soybean by exogenous application of jasmonic acid and ascobin. International Journal of Agriculture and Biology 9: 473-478.

Shinde, B. M. and Laware, S. L. (2015) Investigation of water stress on antioxidant enzyme activities in groundnout varieties (*Arachis hypogaea* L.). International Journal of Advanced Biological Research 5: 29-33.

Shoaa, M. and Miri, H. R. (2012) Reducing detrimantal effects of salt stress on morphophysiological characteristics of wheat by application of salicylic acid. Electronice Journal of Crop Prodaction 5: 71-88 (In Persian).

Simon, J. E., Chadwick, A. F. and Craker, L. E., (1984) The scientific literature on selected herbs and aromatic and medicinal plant of the temperate zone. Herbs: an Indexed Bibliography 1971–1980. Archon Books, Hamden 7–9.

Simon, J. E., Morales, M. R., Phippen, W. B., Vieira, R. F. and Hao, Z. (1999) Basil: a source of aroma compounds and a popular culinary and ornamental herb. In: Prespectives on New Crops and New Uses. (Eds. Janick J.). Pp.499-5-5. Agriculture Science and Horticultural Science Press, Alexandria

Smirnoff, N. (1996) The function and metabolism of ascorbic acid in plants. Annals of Botany 78: 661-669.

Smirnoff, N. and Wheeler, G. L. (2000) Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology 35: 291–314.

Sofo, A., Dichio, B., Xiloyannis, C. and Masia, A. (2004) Effects of different irradiance levels on some antioxidant enzymes and on malondealdehyde content during rewatering in olive tree. Plant Science 166: 293-302.

Sofo, A., Dichio, B., Xiloyannis, C. and Masia, A. (2005) Antioxidant defences in olive trees during drought stress: changes in activity of some antioxidant enzymes. Functional Plant Biology 32:45-53.

Sotiropoulos, T. F. (2007) Effect of NaCl and $CaCl_2$ on growth and contents of minerals, chlorophyll, proline and sugars in the apple rootstock M4 cultured *in vitro*. Biologia Plantarum 51: 177–180.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.27.13.4]

Summart, J., Thanonkeo, P., Panichajakul, S., Prathepha, P. and McManus, M. T. (2010) Effect of salt stress on growth, inorganic ion and proline accumulation in Thai aromatic rice, Khao Dawk Mali 105, callus culture. African Journal of Biotechnology 9: 145-152.

Tesfay, S. Z., Bertling, I. and Bower, J. P. (2011) Effects of postharvest potassium silicate application on phenolics and other antioxidant systems aligned to avocado fruit quality. Postharvest Biology and Technology 60: 92-99.

Upadhyaya, H. and Panda, S. K. (2004) Responses of *Camellia sinensis* to drought and rehydration. Biologia Plantarum 48: 597-600.

Veljovic-Jovanovic, S., Kukavica, B., Stevanovic, B and Navari-Izzo, F. (2006) Senescence- and drought-related changes in peroxidase and superoxide dismutase isoforms in leaves of (*Ramonda serbica*). Journal of Experimental Botany 57: 1759- 1768.

Zhu, Z., Wei, G., Li, J., Qian, Q. and Yu, J. (2004) Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). Plant Science 167: 527–533.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-26]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.27.13.4]