

کاهش اثرات منفی شوری بر شاخص‌های فیزیولوژیک گواوا (*Psidium guajava* L.) با استفاده از اسید جیبرلیک

زهرا پشنگه و منصوره شمیلی*

گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه هرمزگان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۹/۱۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۱۲/۰۷)

چکیده:

از آنجائی که اسید جیبرلیک در افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های غیرزیستی، نقش دارد، لذا ارزیابی واکنش‌های فیزیولوژیک دانهال گواوا به تنش شوری آب و تیمار اسید جیبرلیک در این تحقیق مورد توجه قرار گرفت. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در ۴ تکرار اجرا شد. تیمارها شامل نمک کلرید سدیم (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) و اسید جیبرلیک (صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام) بود. بر اساس نتایج، شوری باعث کاهش میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید، میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز و افزایش در فعالیت کاتالاز گردید. حتی سطح پائین نمک (۵۰ میلی‌مولار) باعث اثرات منفی بر خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیائی گردید. اسید جیبرلیک (۵۰۰ پی پی ام) باعث بهبود خصوصیات فیزیولوژیک دانه رُست گردید. لذا تیمار با اسید جیبرلیک در نهالستان‌ها می‌تواند به‌عنوان تیماری کارآمد جهت مواجهه بعدی نهال‌های گواوا با آب‌وخاک شور مثرتر واقع شود.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، کاروتنوئید، کاتالاز، کلروفیل، نشست یونی

مقدمه

کاتالاز و گلوکاتایون ردوکتاز) و غیر آنزیمی (نظیر کاروتنوئید، فلاونوئید، آسکوربات، گلوکاتایون و توکوفرول) بهره می‌برد (Ahmed et al., 2009).

به‌منظور بهبود وضعیت رشدی گیاه از خسارت وارده از تنش، استراتژی‌های مختلفی مورد استفاده قرار می‌گیرد که از جمله می‌توان به تغذیه تکمیلی با سیلیسیوم (Kaya et al., 2006) محلول‌پاشی با پلی‌آمین‌ها (Tang and Newton, 2005) محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک (Sakhabutdinova et al., 2003) محلول‌پاشی با اسیدآسکوربیک (Conklin, 2001) اشاره کرد.

نقش اسید جیبرلیک در افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های

شوری بر جنبه‌های مختلفی از متابولیسم گیاهان تاثیر گذاشته و تغییراتی را در رشد، متابولیسم، فیزیولوژی، مورفولوژی و بیوشیمی آنها باعث می‌گردد (Labanauskas et al., 1981). از تغییرات بیوشیمیایی مهم در گیاهان تحت تنش شوری، می‌توان به افزایش سطح رادیکال‌های آزاد اشاره کرد (Mittler, 2002). (Mittler et al., 2004) که موجب اختلال در متابولیسم سلول از طریق خسارت بر اکسیداسیون لیپیدها، پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها می‌گردد (Smirnoff, 1993). سلول، اما جهت تخفیف تاثیر اکسیداتیو این رادیکال‌ها، از مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی (نظیر آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز،

۱۳۹۴، از حدود ۲/۶۸ میلیون هکتار سطح باغ‌های کشور (اعم از بارور و غیر بارور)، حدود ۱۴ هزار هکتار، معادل ۰/۵٪ به میوه‌های گرمسیری اختصاص داشته که از این مقدار، گواوا ۸ درصد از کل سطح باغ‌های گرمسیری را شامل شده است (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۹۵). میزان تولید گواوا در استان هرمزگان بر اساس همین آمار، معادل ۱۷۴ هکتار و عملکرد آن ۴/۸۳ تن بوده است.

این گیاه به دامنه وسیعی از خاک‌ها سازگاری نشان می‌دهد، به طوری که حتی در خاک‌های غیر حاصلخیز و کم‌عمق رشد کرده و شرایط خشکی را نیز تحمل می‌کند، اما نمو دانه‌های آن به شدت تحت تاثیر شوری قرار می‌گیرد (Cavalcante et al., 2007). بنا به گزارش Walker و همکاران (۱۹۷۹) درختان گواوا با شوری کلرید سدیم ۳۰ تا ۵۰ میلی‌مولار در محیط ریشه دچار آسیب می‌شوند. همچنین دانه‌های گواوا آبیاری شده با آب دارای EC بالاتر از ۱/۵ دسی‌زیمنس بر متر، کیفیت مناسب برای کاشت نداشتند (Cavalcante et al., 2007). در مطالعه Ali-Dinar و همکاران (۱۹۹۹)، با بررسی تاثیر کلرید-سدیم و سطوح مختلف نترات کلسیم (۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار) بر رشد و شاخص‌های فیزیولوژیک دو رقم گواوا (تو سفید و توسرخ) تحت شرایط شوری، رشد شاخساره، محتوای کلروفیل برگ، میزان فنوستنز خالص و تنفس گواوا کاهش یافت. تاثیر شوری بر مهار جوانه‌زنی بذر گواوا نیز مورد توجه برخی دیگر از محققین قرار گرفته است (Kaul et al., 1988; Hooda and Yamdagni, 1991; Makhija et al., 1980).

گواوا یکی از محصولات امیدبخش جهت توسعه باغات میوه در مناطق گرمسیر کشورمان می‌باشد که به دلیل سازگاری بالا و عملکرد قابل توجه، درآمد قابل توجهی را برای تولید کنندگان به ارمغان می‌آورد. جوانه زنی محدود بذر، ناشی از پوسته سخت، از مشکلات تولید پایه‌های دانه‌الی گواوا به شمار می‌رود. تیمار با آب گرم یا اتفن، خراش‌دهی با اسید نیتریک و اسید سولفوریک از جمله تکنیک‌هایی هستند که جهت بهبود جوانه‌زنی بذر گواوا در شرایط رشد معمول توصیه شده اند (عباسی و همکاران، ۱۳۹۲). اما از آنجا که استقرار و

غیر زیستی نیز مورد توجه محققان قرار گرفته است. در مطالعه اثر اسید جیبرلیک بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و تجمع پرولین در ریشه و اندام هوایی دو رقم کلزا، نتایج حاکی از آن بود که هرچند کاربرد تیمار اسید جیبرلیک خارجی (۰/۰۵ میلی مولار) در سطوح پایین نمک (۷۵ میلی مولار) از آثار مخرب شوری بر گیاهچه‌ها کاست، اما در غلظت‌های بالاتر نمک (۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار) کم اثر بود (لک، ۱۳۹۰). همچنین در مطالعه بر گیاه *Dracocephalum moldavica* L. تحت تنش خشکی، محلول‌پاشی با اسید جیبرلیک میزان کلروفیل و ترکیبات فنلی را به طور معنی‌داری افزایش داد (عباسپور و رضایی، ۱۳۹۳). در پژوهش سلطانی و همکاران (۱۳۹۵) بر دو رقم نخود ایرانی، در گیاهان تحت تنش شوری (۸۰ میکرو مولار)، محتوای پروتئین و آنزیم کاتالاز به طور معنی‌داری افزایش داشت. فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز کاهش نشان داد. تیمار اسید جیبرلیک (۱۰ و ۲۰ میکرومولار) موجب بهبود اثرات سوء نمک گردید.

در مطالعه Gomathi and Thandapani, 2005، شوری به میزان ۷ دسی‌زیمنس بر متر موجب کاهش ارتفاع بوته و رشد برگ نیشکر (*Saccharum officinarum* L.) شد، درحالی‌که کاربرد برگی ۱۵۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک اثرات منفی تنش شوری را کاهش داد. همچنین گزارش شده کاربرد خارجی اسید جیبرلیک آثار منفی تنش شوری را کاهش داده و موجب بهبود ویژگی‌های رشدی در گیاه کنف (*Hibiscus sabdariffa* L.) گردیده است (Ali et al., 2012). در پژوهش Iqbal and Ashraf, 2013 بر دو رقم گندم تحت تنش شوری نیز، کاربرد اسید جیبرلیک (۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، افزایش عملکرد دانه را از طریق تعادل در جذب یون‌ها و تقسیم‌بندی آن‌ها درون ریشه و شاخساره، القا کرد.

کشت گواوا، معروف به سیب مناطق گرمسیر (Bose and Mitra, 1996)، در استان‌های هرمزگان و سیستان و بلوچستان از قدمت زیادی برخوردار است و میوه آن در میان مردم بومی این مناطق، معروف به زیتون محلی است (پژمان و محبی، ۱۳۸۰). بر اساس آمارنامه وزارت جهاد کشاورزی در سال

تهیه عصاره جهت سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: پس از توزین ۰/۵ گرم برگ تازه و پودر کردن با ازت مایع، میزان یک سی‌سی از محلول استخراج (حاوی ۱۰۰ سی‌سی بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار، ۰/۰۳۷۲ گرم EDTA و یک گرم PVP) به آن اضافه گردید. مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ (۱۲۰۰۰ دور در دقیقه) گردید. در نهایت از مایع رویی جهت تعیین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز استفاده گردید (Dhindsa et al., 1981).

ارزیابی فعالیت آنزیم کاتالاز: بدین منظور ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج شده در مرحله قبل، با یک میلی‌لیتر از محلول واکنش کاتالاز (حاوی بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار pH برابر ۷ و پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار) ترکیب، سپس جذب نمونه در طول موج ۲۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Cecil CE2501) قرائت گردید. ضریب خاموشی استفاده شده برای محاسبه واحد آنزیمی معادل $39/4 \text{mM}^{-1}\text{Cm}^{-1}$ می‌باشد (Dhindsa et al., 1981).

ارزیابی فعالیت آنزیم پراکسیداز: بدین منظور ۳۳ میکرولیتر از عصاره استخراج با یک میلی‌لیتر از محلول واکنش پراکسیداز (حاوی ۱۳ میلی‌مول گویکول و ۵ میلی‌مول پراکسید هیدروژن و ۵۰ میلی‌مول بافر فسفات پتاسیم pH برابر ۷) ترکیب، سپس جذب نمونه در طول موج ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. ضریب خاموشی استفاده شده برای محاسبه واحد آنزیمی معادل $26/6 \text{mM}^{-1}\text{Cm}^{-1}$ می‌باشد (Chance and Maehly, 1995).

ارزیابی فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز: بدین منظور ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره استخراج با یک میلی‌لیتر از محلول واکنش پیروگالول (حاوی ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار و ۲۰۰ میکرولیتر پیروگالول ۰/۰۲ مولار) ترکیب، سپس جذب نمونه در طول موج ۴۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. ضریب خاموشی استفاده شده برای محاسبه واحد آنزیمی $26/4 \text{mM}^{-1}\text{Cm}^{-1}$ می‌باشد (Kar and Mishra, 1976).

اندازه‌گیری میزان کلروفیل (a, b و کل) و کاروتنوئید: جهت تعیین میزان کلروفیل و کاروتنوئید، ۰/۵ گرم از نمونه

جوانه‌زنی اولیه بذر این گیاه اغلب در خاک و آب شور صورت می‌گیرد و گزارشی از کاربرد اسید جیبرلیک بر جوانه‌زنی بذر این گیاه در این شرایط موجود نیست، لذا برهمکنش اسید جیبرلیک و شوری بر واکنش فیزیولوژیک دانه رُست گاووا، در راستای تخفیف تنش، مساله اصلی مورد توجه در این تحقیق می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی مواد گیاهی و طرح آزمایشی: به منظور بررسی اثر متقابل شوری کلرید سدیم و اسید جیبرلیک بر خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک دانهال گاووا، تحقیق حاضر در سال ۱۳۹۵ و در آزمایشگاه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه هرمزگان انجام شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی اجرا شد و به منظور کاهش خطاهای آزمایشی، تیمارها به صورت تصادفی در واحد آزمایشی پخش گردید. تیمارها شامل شوری با نمک کلرید سدیم در سه سطح (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) و تیمار تنظیم‌کننده رشد اسید جیبرلیک در سه سطح (صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام) در ۴ تکرار بود. به منظور اجرای آزمایش، ابتدا میوه‌های گاووا در مرحله کاملا رسیده از نهالستانی واقع در شهرستان میناب تهیه و به آزمایشگاه منتقل گردید. بذرهای میوه جدا و در معرض جریان هوا در شرایط آزمایشگاه خشک شدند. کلیه بذرهای با محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۰۵٪ به مدت ۱۰ دقیقه، ضدعفونی شدند. سپس تیمار اسید جیبرلیک مربوطه (در خصوص غلظت صفر اسید جیبرلیک، غوطه‌وری در آب مقطر)، به مدت نیم ساعت و به صورت غوطه‌وری اعمال گردید. پس از آن در هر واحد آزمایشی (هر پتری دیش) تعداد ۲۵ بذر تیمار شده کاشته شد. آبیاری روزانه هر واحد آزمایشی با محلول حاوی تیمار نمکی مربوطه (در خصوص غلظت صفر نمک، آبیاری روزانه با آب مقطر)، انجام شد. بعد از ۲۸ روز که سرعت جوانه‌زنی ثابت شد (شروع جوانه‌زنی روز ۱۴ ام بود)، نمونه‌برداری از برگ‌ها جهت اندازه‌گیری مشخصات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی صورت گرفت. در این زمان کلیه گیاهچه‌ها دارای ۲ برگ بودند.

معنی دار بود. تیمار با اسید جیبرلیک نیز بر کلیه صفات به جز کاتالاز تاثیر معنی داری داشت. همچنین اثر متقابل شوری و جیبرلین بر کاتالاز، پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، درصد نشه یونی و محتوای کاروتنوئید معنی دار بود (جدول ۱).

ارزیابی فعالیت آنزیم کاتالاز: تنش شوری باعث افزایش

میزان آنزیم کاتالاز گردید به طوری که بیشترین میزان آنزیم کاتالاز در تیمار شوری ۱۰۰ میلی مولار و اسید جیبرلیک صفر (۱۲۹/۹۱) میکرومول در دقیقه در یک گرم وزن تازه) و کمترین میزان آن تیمار شوری صفر و اسید جیبرلیک صفر (۳۳/۷۱) میکرومول در دقیقه در یک گرم وزن تازه) مشاهده گردید. کاربرد اسید جیبرلیک باعث کاهش میزان آنزیم کاتالاز در برگ دانهال گواوا گردید. پایین ترین میزان آنزیم در تیمار شوری صفر و اسید جیبرلیک ۵۰۰ پی پی ام (۴/۲۶) میکرومول در دقیقه در یک گرم وزن تازه) مشاهده گردید (شکل ۱). این نتیجه همسو با نتایج Atak و همکاران (۲۰۰۷) بود.

کاتالاز یکی از آنتی اکسیدان های آنزیمی است که واکنش های زنجیره ای رادیکال های آزاد را متوقف و از گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو محافظت می کند. لذا در شرایط بروز تنش این آنزیم افزایش می یابد (Rukmini et al., 2004; Vinchnevestkania and Roy, 2001). کاربرد خارجی اسید جیبرلیک در شرایط شوری از طریق تحریک سنتز آنزیم کاتالاز و در نتیجه جاروب کردن رادیکال های آزاد، اثرات منفی این تنش را کاهش می دهد (Ali et al., 2012).

ارزیابی فعالیت آنزیم پراکسیداز: بر اساس نتایج تحقیق،

تنش شوری منجر به کاهش و تیمار کمکی با اسید جیبرلیک موجب افزایش میزان آنزیم پراکسیداز در برگ دانهال گواوا گردید. به طوری که فعالیت آنزیم از مقدار ۱۴/۷۸ (میکرومول در دقیقه در یک گرم وزن تازه) در تیمار شوری ۱۰۰ میلی مولار و اسید جیبرلیک صفر به ۱۸/۵۰ (میکرومول در دقیقه در یک گرم وزن تازه) در تیمار شوری ۱۰۰ میلی مولار و اسید جیبرلیک ۵۰۰ پی پی ام رسید. میزان آنزیم در تیمار شاهد معادل ۲۱/۱۲ میکرومول در دقیقه در یک گرم وزن تازه بود (شکل ۲). نیاکان و زنگنه (۱۳۹۳)، نیز گزارش کردند تنش غیرزیستی

برگ توزین و در هاون چینی با ازت مایع پودر گردید. سپس ۱۰ سی سی استون ۸۰ درصد به آن افزوده و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. محلول شفاف رویی جهت قرائت میزان جذب نوری در طول موج های ۴۷۰، ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر استفاده شد. در نهایت میزان کلروفیل (a و b)، کلروفیل کل و کاروتنوئید با استفاده از روابط یک الی چهار محاسبه گردید (Arnon, 1949).

$$\text{Chl}_a \text{ (mg g}^{-1} \text{ FW)} = (12.25 * A_{663}) - (2.79 * A_{645}) \quad (1)$$

$$\text{Chl}_b \text{ (mg g}^{-1} \text{ FW)} = (21.21 * A_{645}) - (5.1 * A_{663}) \quad (2)$$

$$\text{Chl}_{\text{total}} \text{ (mg g}^{-1} \text{ FW)} = (20.21 * A_{645}) + (8.02 * A_{663}) \quad (3)$$

$$\text{C}_{x+c} \text{ (mg g}^{-1} \text{ FW)} = ((1000 * A_{470}) - (1.8 * \text{Chl}_a) - (85.02 * \text{Chl}_b)) / 198 \quad (4)$$

(x=xanthophylls and C= carotenes)

ارزیابی نشه یونی: اندازه گیری درصد نشه یونی می تواند

شاخص خوبی در تعیین میزان پایداری غشاء باشد. بدین منظور برگ های تازه را با آب مقطر شسته و سپس با آب دو بار تقطیر آبکشی گردید. از هر برگ ۰/۱ گرم توزین و درون ارلن حاوی ۱۰ میلی لیتر آب دو بار تقطیر قرار داده شد. سپس در حمام آب گرم با دمای ۴۰ درجه به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت و هدایت الکتریکی محتوای ارلن توسط ای سی متر (مدل Tetracon 325)، اندازه گیری و به عنوان EC₁ ثبت شد. ظرف حاوی نمونه به مدت ۱۵ دقیقه در حمام بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد و مجددا هدایت الکتریکی قرائت و به عنوان EC₂ ثبت گردید. درصد نشه یونی از رابطه پنج محاسبه گردید (Sairam and Srivastava, 2002).

$$\text{درصد نشه یونی} \% = (EC_1/EC_2) * 100 \quad (5)$$

تجزیه و تحلیل داده ها: داده های به دست آمده به صورت

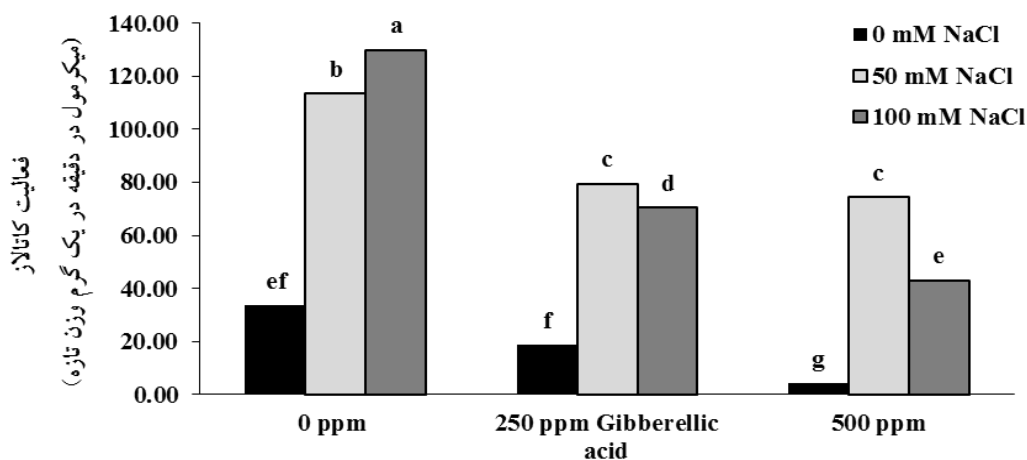
فاکتوریل دو عاملی در قالب کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم افزار MSTATC مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. میانگین داده ها با استفاده از آزمون دانکن مقایسه گردید. ترسیم نمودار های مربوطه در برنامه Excel 2013 انجام شد.

نتایج و بحث

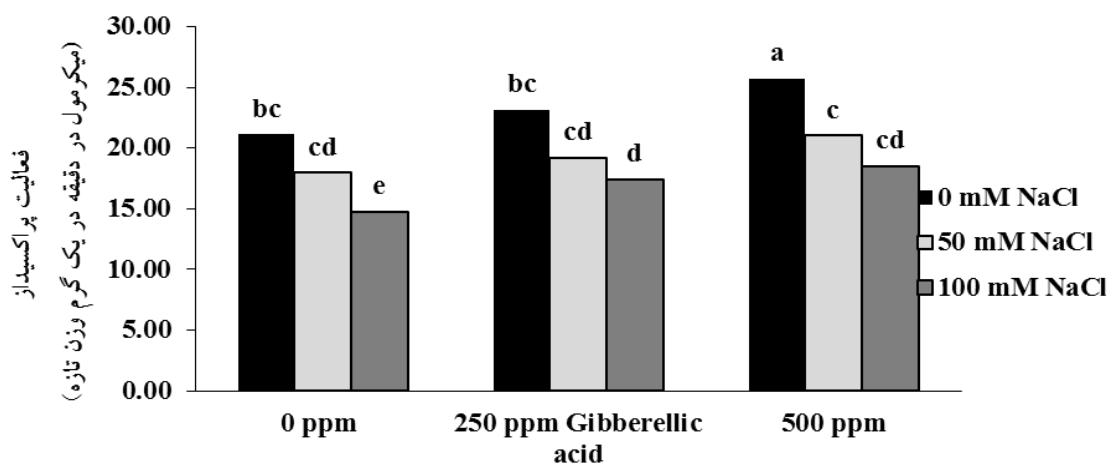
تأثیر شوری بر میزان کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز

جدول ۱- برهم کنش شوری و جیبرلیک اسید بر مشخصه‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گواوا

منبع تغییر	درجه آزادی	کاتالاز	پراکسیداز	پلی فنل اکسیداز	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید	نشت یونی
شوری	۲	**۷۶۹/۱۲	**۱۳/۱۲	*۷۲۳/۴۳	۱/۳۵	۲/۹۸	۲۱/۸	۰/۱۳	۸۸/۰۵
اسید جیبرلیک	۲	۲۴۹/۶۹	*۱۳/۱۲	*۱۴۳۳/۶۱	**۲/۵۵	**۱۲/۶۷	**۳۴۷/۷۴	**۰/۸۰	*۲۳/۵۶
شوری* اسیدجیبرلیک	۴	**۵۱۴/۲۲	**۶۹/۸۷	*۷۲۵/۸۳	۱/۶۴	۱/۷۵	۷/۲۸	*۰/۱۳	**۳۴/۸۷
خطا	۲۴	۱۶۵/۵۴	۴۲/۱۶	۱۴۳/۱۴	۲/۱۹	۰/۷۱	۰/۹۲	۰/۱۲	۵۷/۶۱
ضریب تغییرات		۱۲/۴۳	۲۵/۷۵	۹۳/۰۱	۱۶/۵۵	۲۱/۶۶	۲۰/۵۳	۲۷/۳۵	۱۳/۹۹

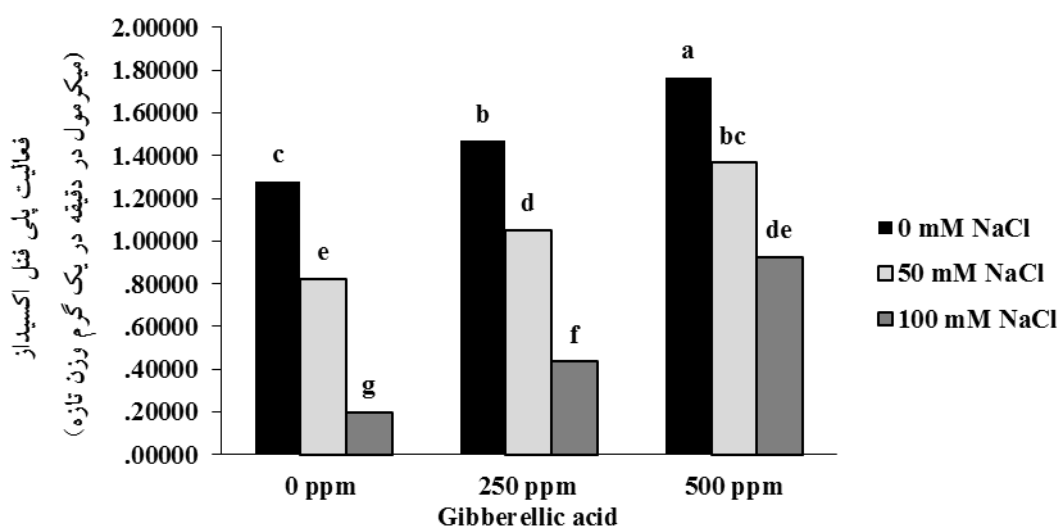


شکل ۱- برهم کنش شوری کلرید سدیم و اسید جیبرلیک بر فعالیت آنزیم کاتالاز گواوا، حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده ی عدم معنی داری در سطح یک درصد می باشد.



شکل ۲- برهم کنش شوری کلرید سدیم و اسید جیبرلیک بر فعالیت آنزیم پراکسیداز گواوا، حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده ی عدم معنی داری در سطح یک درصد می باشد.

باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ریشه و برگ پراکسیدازها در لیگنینی شدن دیواره سلولی، کاتابولیسم می‌گردد. اکسین، مقاومت در برابر پاتوژن‌ها و تحمل به شوری نقش



شکل ۳- برهم کنش شوری کلرید سدیم و اسید جیبرلیک بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز گواوا، حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم معنی‌داری در سطح یک درصد می‌باشد.

کلیدی ایفا می‌کنند (Atak et al., 2007). جیبرلین نقش مهمی در تنظیم ژن‌های القاشده تحت تنش و پاسخ‌های گیاهان به محیط خارج دارد. در واقع در گیاهان تحت تنش، جیبرلین با فعال نمودن آنزیم‌های خانواده پراکسیداز، در مقابله با تنش‌ها ایفای نقش می‌کند (Shah, 2007).

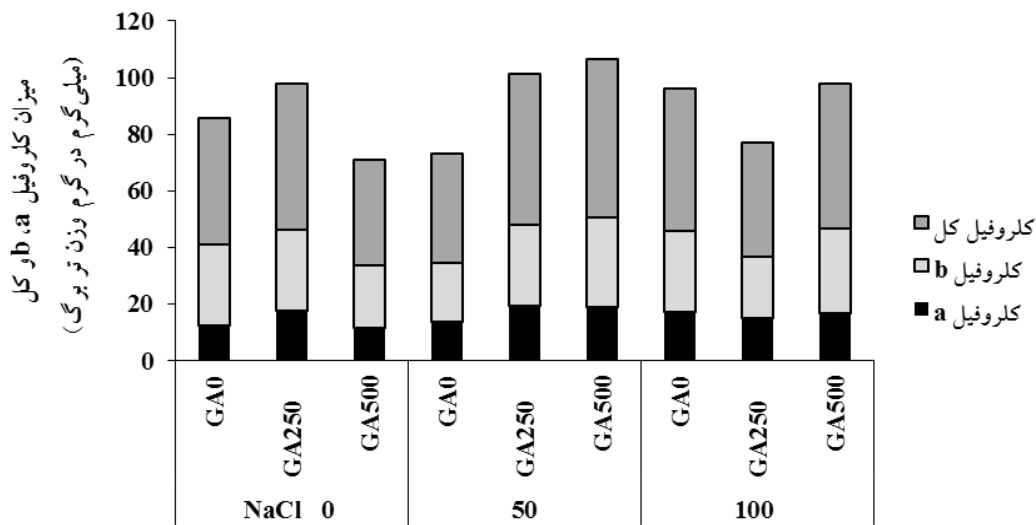
ارزیابی فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز: مطابق با نتایج به‌دست آمده میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز، با افزایش میزان شوری کاهش یافت. کمترین میزان آنزیم مذکور در تیمار شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و اسید جیبرلیک صفر (۱/۱۹ میکرومول در دقیقه در یک گرم وزن تازه) برگ و بیشترین میزان آن در تیمار شوری ۰ و اسید جیبرلیک ۵۰۰ پی پی ام (۱/۷۷ میکرومول در دقیقه در یک گرم وزن تازه) مشاهده گردید (شکل ۳). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش شوری در تحقیق عنافجه و همکاران (۱۳۹۶). نیز گزارش شده است.

پلی فنل اکسیدازها، در اکسیداسیون فنل‌ها به کوئینون‌ها و تشکیل لیگنین در سلول‌های گیاهی نقش دارند. این آنزیم‌ها در فعالیت‌های دفاعی و فوق حساسیت دخالت داشته و واکنش‌های قهوه‌ای شدن بافت‌های زخمی و تشکیل سدهای دفاعی در مقابل عوامل بیماری‌زا را هدایت می‌کنند (Mohammadi

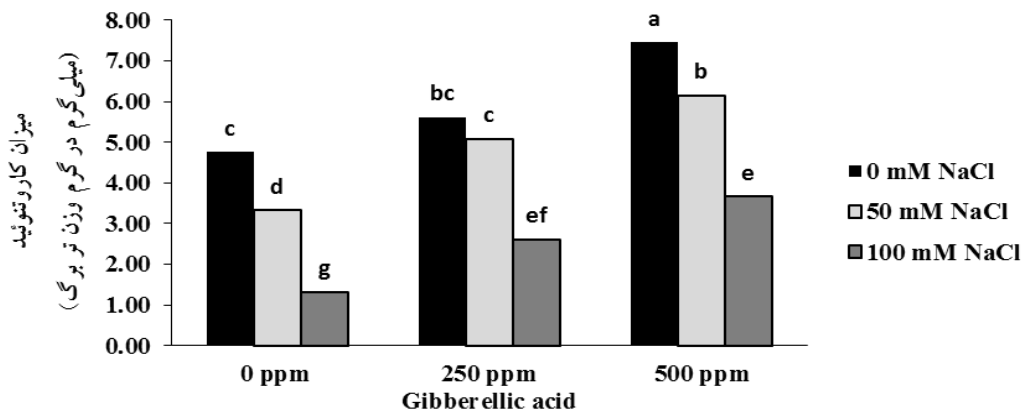
and Kazemi, 2002). اسید جیبرلیک اما، تحمل به شوری را با حفظ فعالیت آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز، پراکسیداز و سوپر-اکسیددیسموتاز، بهبود می‌بخشد. بدین ترتیب کاربرد اسید جیبرلیک باعث رشد مطلوب گیاهچه و پایداری آن تحت شرایط شوری می‌گردد (Levent Tuna et al., 2008).

اندازه‌گیری میزان کلروفیل (a, b و کل) و کاروتنوئید: بنا به نتایج تحقیق حاضر، شوری باعث کاهش میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید گردید (شکل ۴). با افزایش غلظت نمک از ۵۰ به ۱۰۰ میلی‌مولار این کاهش بیشتر بود. این یافته همسو با نتایج صفری و همکاران (۱۳۹۶) بود که به کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش شوری اشاره کردند. تیمار با هر دو سطح اسید جیبرلیک (۲۵۰ و ۵۰۰ پی پی ام)، باعث افزایش میزان رنگدانه‌های مذکور گردید (شکل ۴).

کمترین میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید کل مربوط به تیمار شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و اسید جیبرلیک صفر به ترتیب با مقادیر، ۱۴/۳۲، ۲۴/۷۷ و ۴۳/۱۵ (میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) و بیشترین مقادیر کلروفیل a (۲۱/۷۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ)، کلروفیل b (۳۷/۳۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) و کاروتنوئید کل (۶۵/۲۰ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) مربوط به تیمار شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و اسید جیبرلیک ۲۵۰



شکل ۴- برهم‌کنش شوری کلرید سدیم و اسید جیبرلیک بر محتوای کلروفیل (a, b و کل) گواوا، حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده‌ی عدم معنی‌داری در سطح یک درصد می باشد.



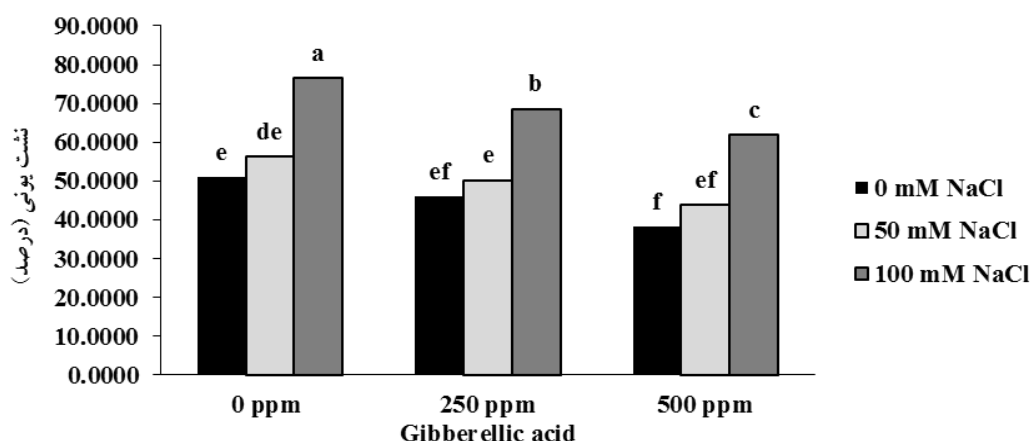
شکل ۵- برهم‌کنش شوری کلرید سدیم و اسید جیبرلیک بر محتوای کاروتنوئید گواوا، حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده‌ی عدم معنی‌داری در سطح یک درصد می باشد.

یافته‌های تحقیق حاضر تائیدی بر نتایج Ben-Asher و همکاران (۲۰۰۶)، در خصوص کاهش کاروتنوئیدها در شرایط شور است.

شوری باعث تخریب ساختار کلروپلاست، تجزیه کلروفیل و تغییر در محتوای کاروتنوئیدها می‌شود (Ben-Asher et al., 2006). کاروتنوئیدها از رنگیزه‌های کلیدی و مهم سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاهان و حساس به تخریب اکسیداتیو هستند (Havaux, 1998). کاهش میزان کاروتنوئیدها در شرایط تنش، ناشی از نقش آنتی‌اکسیدانی آنها در حفظ ساختار کلروفیل و در نتیجه متلاشی شدن ساختار خود کاروتنوئید می‌باشد

پی‌پی‌ام بود (شکل ۴).

افزایش شوری موجب کاهش کاروتنوئید نسبت به شاهد شد؛ با افزایش غلظت اسید جیبرلیک از صفر تا ۲۵۰ و ۵۰۰ پی پی ام، در تیمار شوری صفر، مقدار کاروتنوئید افزایش یافت. حداکثر مقدار کاروتنوئید (۷/۴۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) در تیمار شوری ۰ و اسید جیبرلیک ۵۰۰ پی پی ام مشاهده شد. کمترین مقدار آن (۱/۳۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ) نیز متعلق به تیمار شوری فاقد اسید جیبرلیک بود. با توجه به اینکه اثر متقابل شوری و جیبرلیک اسید، تنها بر محتوای کاروتنوئید معنی‌دار بود فقط نمودار این رنگدانه ترسیم گردید (شکل ۵).



شکل ۶- برهم کنش شوری کلرید سدیم و اسید جیبرلیک بر میزان نشست یونی گواوا، حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده ی عدم معنی داری در سطح یک درصد می باشد.

بهبود رشد گیاهان می گردد (Ashraf and Karim, 2002).

نتیجه گیری کلی

هورمون های گیاهی جزئی فعال در سیگنال رسانی به سلول های گیاهی هستند که نوع و شدت واکنش گیاه نسبت به شرایط رشدی را القا می کنند. با بروز تنش های غیرزیستی سطح هورمون های گیاهی و در نتیجه رشد گیاه تغییر می کند (Iqbal and Ashraf, 2013; Tuna *et al.*, 2008). تیمار خارجی با تنظیم کننده های رشد، در تخفیف خسارات وارده از تنش های محیطی مؤثر است (Stavir *et al.*, 1998b; Stavir *et al.*, 1998a; Lough and Lucas, 2006; 1998a).

بر اساس نتایج این تحقیق، شوری باعث کاهش میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید، میزان فعالیت آنزیم های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز و افزایش در فعالیت کاتالاز در دانهال گواوا گردید. تیمار اسید جیبرلیک باعث کاهش اثرات تنش اکسیداتیو ناشی از تنش شوری و در نتیجه روند کاهشی در فعالیت آنزیم کاتالاز و بهبودی در سایر صفات فیزیولوژیک گردید.

شوری کلرید سدیم حتی در سطح ۵۰ میلی مولار علائم فیزیولوژیک و بیوشیمیایی خود را آشکار ساخت. اسید جیبرلیک ۵۰۰ پی پی ام باعث بازگشت گیاه با شرایط رشدی نرمال با سازوکار طبیعی گردید. عملکرد فیزیولوژیک گیاه در

(Caspi *et al.*, 2000). گزارش شده تیمار با اسید جیبرلیک موجب افزایش رنگیزه های گیاهی از جمله کلروفیل a و کلروفیل b و کلروفیل کل می گردد (Ali *et al.*, 2012).

ارزیابی نشست یونی: تحت تنش شوری، درصد نشست یونی در برگ افزایش یافت (شکل ۶). بیشترین درصد نشست یونی مربوط به تیمار شوری ۱۰۰ میلی مولار و اسید جیبرلیک صفر (۷۶/۶۴٪) و کمترین درصد نشست یونی مربوط به تیمار شوری صفر و اسید جیبرلیک ۵۰۰ پی پی ام (۳۸/۲۰٪) بود. تیمار اسید جیبرلیک، درصد نشست یونی کاهش یافت (شکل ۶). علی نیای فرد و همکاران (۱۳۸۷)، با بررسی تاثیر مواد آنتی اکسیدانت و شوری بر شاخص های مقاومت و پایداری غشاء یاخته در زیتون، گزارش کردند شوری باعث کاهش شاخص پایداری غشاء، شاخص تحمل ریشه و شاخص تحمل شاخساره (که همگی تابعی از میزان نشست یونی هستند) شد. همچنین سلاح ورزی و همکاران (۱۳۹۰)، با مطالعه گیاه مرزنجوش در تنش شوری گزارش کردند نشست یونی برگ در بالاترین سطح نمک (۱۵۰ میلی مولار) به بالاترین مقدار خود رسید. افزایش نشست یونی در شرایط تنش شوری در توت فرنگی (دهقان و همکاران، ۱۳۹۲) و گردو (صفری و همکاران، ۱۳۹۶) نیز گزارش شده است. کاربرد ترکیب آنتی اکسیدان، نشست یونی را تا ۵۰٪ بهبود بخشید. به نظر می رسد اسید جیبرلیک نیز، با بهبود نفوذپذیری غشاء سلول، منجر به

نظر می‌رسد استفاده از اسید جیبرلیک در خزانه‌ها و نهالستان های تولید دانهال گواوا بتواند به‌عنوان تیماری کارآمد جهت مواجهه بعدی این نهال‌ها با آب‌وخاک شور مثر ثمر واقع شود.

سپاسگزاری:

از حوزه معاونت محترم پژوهش و فناوری دانشگاه هرمزگان به دلیل تأمین هزینه‌های انجام این تحقیق، سپاسگزاری می‌گردد.

هر شرایط رشدی (نرمال یا تنش) حاصل برهم‌کنش سازوکارهای دفاعی درونی گیاه (آنزیمی و یا غیر آنزیمی) و راهکارهای مدیریتی بیرونی می‌باشد. در تحقیق حاضر افت عملکرد فیزیولوژیک دانهال گواوا به شکل افزایش محسوس در آنزیم کاتالاز و تخریب رنگدانه‌های فتوسنتزی (خصوصاً کاروتنوئیدها) نمود داشت. تیمار کمکی توانست تعادل فیزیولوژیک را به نفع شرایط رشدی طبیعی بازگرداند. لذا به

منابع

- پژمان، ح. و محبی، ع. (۱۳۸۰) گواوا، موسسه تحقیقات خرما و میوه‌های گرمسیری کشور، سازمان تحقیقات آموزشی و ترویج کشاورزی، نشریه ترویجی، تهران.
- دهقان، ف.، غلامی، م. و عزیزی، ع. (۱۳۹۲). بررسی اثر برهم‌کنش محلول‌پاشی برگ‌ی آسکوربیک اسید و تنش شوری بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی توت‌فرنگی سلوا. فناوری تولیدات گیاهی. ۵۶-۱۳:۴۷.
- سلاح ورزی، ی.، گلدانی، م.، نباتی، ج. و علیرضایی، م. (۱۳۹۰) تاثیر کاربرد برون‌زای آسکوربیک اسید بر برخی از تغییرات فیزیوشیمیایی مرزنجوش (*Origanum majorana L.*) تحت تنش شوری، مجله علوم باغبانی ایران. ۴۲: ۱۶۷-۱۵۹.
- سلطانی، ا.، خاوری نژاد، ر.، انگجی، س.ع. و نجفی، ف. (۱۳۹۵) اثر برهم‌کنش شوری و جیبرلیک اسید بر محتوای رنگیزه های فتوسنتزی و برخی آنزیم های آنتی‌اکسیدان د دو رقم نخود ایرانی (*Cicer arietinum L.*)، فرآیند و کارکرد گیاهی، ۵: ۱۷۹-۱۸۸.
- صفری، س.، عرفانی مقدم، ج. و زارع، م.ج. (۱۳۹۶). اثرات سالیسیلیک اسید بر برخی از ویژگی‌های مورفو/فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دانهال گردو تحت تنش شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی. ۶: ۲۲۳-۲۳۵.
- عباسپور، ح. و رضایی، ح. (۱۳۹۳) اثر جیبرلیک اسید بر سرعت واکنش هیل، رنگیزه های فتوسنتزی و ترکیبات فنلی در گیاه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica L.*) در شرایط تنش خشکی، مجله پژوهش های گیاهی، ۲۷: ۸۹۳-۹۰۳.
- عباسی، م.، حیدری، م. و رحیمی، م. (۱۳۹۲). بهبود جوانه زنی بذر گواوا (*Psidium guajava*) با استفاده از خراش دهی با اسید. نشریه علوم باغبانی. ۲۷: ۳۹۹-۳۹۴.
- علی نیای فرد، س.، طباطبائی، س. ج.، حاجی لو، ج. و سیفی کلهر، م. (۱۳۸۷) واکنش رشدی و فیزیولوژیکی زیتون به مواد آنتی‌اکسیدانت و شوری، مجله علوم و فنون باغبانی ایران. ۹: ۲۸۴-۲۷۵.
- عنافجه، الف.، صالحی سلمی، م.، دانشور، م.ح. و مرآتان، ع.ا. (۱۳۹۶). اثر تنش شوری بر رشد، تنشیم کننده های رشد و فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدانتی گیاه شورپسند خرفه ساحلی. فرآیند و کارکرد گیاهی. ۶: ۲۶۷-۲۷۸.
- لک، ر. (۱۳۹۰) بررسی آثار جیبرلین و آسکوربات خارجی بر فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدانی و تجمع پرولین، در ریشه و اندام هوایی دانه رست های دو رقم کلزا تحت شرایط شوری. اولین همایش ملی مباحث نوین در کشاورزی، ساوه، ایران.
- نیاکان، م. و زنگنه، ا. (۱۳۹۳). اثر تنش خشکی و سالیسیلات بر میزان فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدانی، گیاه دارویی شنبلیله. نشریه پژوهش های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران. ۳۳: ۴۵-۳۸.

Ahmed, P., Jaleel, C., Azooz, M. and Gowher, N. (2009) Generation of ROS and non-enzymatic antioxidants during abiotic stress in plants. *Botany Research International* 2: 11-20.

Ali-Dinar, H.M., Ebert, G. and Ludders, P. (1999) Growth, chlorophyll content, photosynthesis and water relations in guava (*Psidium guajava L.*) under salinity and different nitrogen supply. *Gartenbauwissenschaft*: 64:54-59.

- Ali, H. M., Siddiqui, M. H., Basalah, M. O., Al- Whaibi, M. H., Sakran, A. M. and Al-Amri, A. (2012) Effect of gibberellic acid on growth and photosynthetic pigments of *Hibiscus sabdariffa* L. African Journal of Biotechnology 11: 800-804.
- Arnon, D. I. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in: (*Beta vulgaris*). Journal of Plant Physiology. 24: 1-15.
- Ashraf, M. and Karim, F. (2002) Interactive effects of gibberellic acid (GA₃) and salt stress on growth, ion accumulation and photosynthetic capacity in to spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars differing in salt tolerance. Plant Growth regulator. 36: 49-59.
- Atak, C., Celik, O., Olgun, A., Alikamanoglu, S. and Rzakoulieva, A. (2007) Effect of magnetic field on peroxidase activities of soybean tissue culture. Biotechnology 2: 21-25.
- Ben-Asher, J., Tsuyuki, I., Bravdo, B. A. and Sagih, M. (2006) Irrigation of grapevines with saline water. I. Leaf area index, stomatal conductance, transpiration and photosynthesis. Agricultural Water Management. 83: 13-21.
- Bose, T.K. and Mitra, S.K. (1996). Fruit Tropical and subtropical. Naya Prokash. Cornell University.
- Caspi, V., Droppa, M., Horrath, G., Malkin, S., Marder, J. B and Raskin, V.I. (2000) The effect of copper on chlorophyll organization during greening of barley leaves. Photosynthesis Research. 62: 165-174
- Cavalcante, I. H. L., Cavalcante, L. F., Hu, Y. and Cavalcante, M. Z. B. (2007) Water salinity and initial development of four Guava (*Psidium guajava* L.) cultivars in North-Eastern Brazil. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research. 15: 71-80.
- Chance, B. Maehly, AC. (1995) Assay of proxidases. Methods enzymol. 11: 755 – 764.
- Conklin, P.L. (2001) Recent advances in the role and biosynthesis of ascorbic acid in plants. Plant, Cell and Environment. 24: 383-394.
- Dhindsa R.S., Plumb-Dhindsa P., Thorpe T. (1981) Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. Journal of Experimental Botany. 32: 93-101.
- Gomathi, R. and Thandapani, V (2005) Role of gibberellins and polyamines in relation to salt tolerance of sugarcane genotypes (*Saccharum officinarum* L.). Plant Archives. 5: 293-296.
- Havaux, M. (1998) Carotenoids as membrane stabilizers in chloroplasts. Trends in Plant Science. 3: 147-151.
- Hooda P.S. and Yamdagni R. (1991) Salt tolerance of guava (*Psidium guajava* L.) and amla (*Emblia officinalis*) at germination stage. Research and Development Technical Report. 8(1): 36-38.
- <http://amar.maj.ir/dorsapax/userfiles/file/bagh-94.pdf>
- Iqbal M. and Ashraf, M. (2013) Gibberellic acid mediated induction of salt tolerance in wheat plants: Growth, ionic partitioning, photosynthesis, yield and hormonal homeostasis. Environmental and Experimental Botany. 86: 76- 85.
- Kar M. and Mishra D. (1976) Polyphenoloxidase activity during rice leaf senescence. Plant physiology. 57: 315-319.
- Conklin, P.L. (2001) Recent advances in the role and biosynthesis of ascorbic acid in plants. Plant, Cell and Environment. 24: 383-394.
- Kaul M.K., Mheta P.K. and Baskshi R.K. (1988) Note on effect of different salts on seed germination of *Psidium guajava* L. cv. L-49 (Sadar). Current agriculture. 12(1-2): 83-85.
- Kaya C., Tuna, L. and Higgs D. (2006) Effect of silicon on plant growth and mineral nutrition of maize grown under water – stress condition. Journal of Plant Nutrition. 29:1469- 1480.
- Labanauskas C.K., Stolzy L.H. and Handy M.F. (1981) Protein and free amino acids in wheat grain affected by soil types and salinity levels in irrigation water. Plant and soil. 59:299-316.
- Levent Tuna A., Cengiz K., Murat D. and David H. (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.
- Lough T. J., Lucas W.J. (2006) Integrative plant biology: role of phloem long-distance macromolecular trafficking. Annual Review of Plant Biology. 57: 203-232.
- Makhija M., Dhankhar O.P., Singhrot R.S. (1980) Effect of soil salinity levels on growth and leaf mineral composition of guava (*Psidium guajava* L.). Haryana Journal of Horticultural Science. 9(1-2): 21-25.
- Mittler R. (2002) Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. Trends in Plant Science. 7: 405-415.
- Mittler R., Vanderauwera S., Gollery M. and Breusegem F.V. (2004) Reactive oxygen gene network of plants. Trends in Plant Science. 9: 490-498.
- Mohammadi M. and Kazemi H. (2002) Changes in peroxidase and polyphenol oxidase activities in susceptible and resistance wheat heads inoculated with *fusarium graminearum* and induced resistance. Plant Science. 162: 491-498.
- Rukmini M.S., Benedicta D.S. and Vivan D.S. (2004) Superoxide dismutase and catalase activities and their correlation with malon dialdehyde in Schizophrenic Patients. Indian journal of Clinical Biochemistry. 1919: 114-118.
- Sairam R.K. and G.C. Srivastava (2002) Changes in antioxidant activity in subcellular fraction of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. Plant Science. 162: 897-904
- Sakhabutdinova A.R., Fatkhutdinova D.R., Bezrukova M.V., and Shakirova F.M. (2003) Salicylic acid prevents the

- damaging action of stress factors on wheat plants. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*. (Special Issue): 314-319.
- Shah S.H. (2007) Effect of salt stress on mustard as affected by gibberellic acid application. *General and Applied Plant Physiology*. 33(1-2): 97-106.
- Smirnoff N. (1993) The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytologist*. 125: 27-58.
- Stavir K., Gupta A.K. and Kaure N. (1998a) Gibberellic Acid and kinetin partially reverse the effect of water stress on germination and seedling growth in chick pea. *Plant Growth Regulation*. 25: 29-33.
- Stavir K., Gupta A.K. and Kaure N. (1998b) Gibberellic Acid reverses the effect of salt stress in chick pea (*Cicer arietinum* L.) seedlings by changing amylase activity and mobilization of starch in cotyledons. *Plant Growth Regulation*. 26: 85-90.
- Tang W. and Newton J. R. (2005) Polyamines reduced salt induced oxidative damage by increasing the activities of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in Virginia pine. *Plant Growth Regulation*. 46: 31-43.
- Tuna A., Kaya C., Dikilitas M., Higgas 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.
- Vinchnevestkani K.D., Roy D.N. (2001) Oxidative stress and antioxidative defence with an emphasis on plants antioxidants. *Environmental Review*. 7:31-51.
- Walker R.R., Kriedemann P.E. and Maggs D.G. (1979) Growth, leaf physiology and development in salt-stressed guavas. *Australian Journal of Agricultural Research*. 30: 477-488.

Ameliorating negative impacts of salinity on physiological characteristics of guava (*Psidium guajava* L.) by application of gibberellic acid

Zahra Pashangeh¹ and, Mansoore Shamili^{2*}

¹ PhD student, Horticulture department, University of Hormozgan

² Assistant Professor, Horticulture department, University of Hormozgan

(Received: 01/12/2017, Accepted: 26/02/2018)

Abstract:

Since gibberellic acid has a critical role in plant tolerance to abiotic stress, therefore in present research, the impact of salt water and gibberellic acid treatment on guava seedlings physiological responses were investigated. The factorial experiment was carried out as a complete randomized design with four replications. Treatments included sodium chloride (0, 50 and 100 mM) and gibberellic acid (0, 250 and 500 ppm). Based on the results, salinity reduced chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoids, peroxidase and polyphenol oxidase activity, whereas it increased catalase activity. Even low salt treatment (50 mM), caused negative effects on physiological and biochemical characteristics. Gibberellic acid (500 ppm) improved physiological properties of the seedlings. So, gibberellic acid application in the nurseries can be used as an effective treatment for the consequent exposure of the guava seedlings to saline soil and water.

Key words: Carotenoid, Catalase, Chlorophyll, Ion leakage, Peroxidase, Polyphenol oxidase

* Corresponding author: shamili@ut.ac.ir