

## تأثیر سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات بر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و صفات فیزیولوژیکی مامیران کبیر (*Chelidonium majus L.*) تحت تنش شوری

صدیقه فابریکی اورنگ<sup>۱\*</sup> و هانیه سادات شهاب‌زاده<sup>۲</sup>

۱- نویسنده مسئول، استادیار، گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

پست الکترونیک: s.ourang910@gmail.com

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۶

تاریخ اصلاح نهایی: دی ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۶

### چکیده

در این پژوهش اثرات سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات به‌عنوان دو القاءکننده بر فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، رنگ‌رزه‌های فتوسنتزی و فلاونوئید تحت تنش شوری در گیاه مامیران کبیر (*Chelidonium majus L.*) مطالعه شد. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره) در سال ۱۳۹۵ اجرا گردید. سه فاکتور مورد مطالعه شامل هورمون در سه سطح بدون هورمون (آب مقطر)، متیل جاسمونات ۱۰۰ میکرومولار و اسید سالیسیلیک ۲ میلی‌مولار، شوری در دو سطح عدم شوری (آب شهری با هدایت الکتریکی ۰/۶۲ دسی‌زیمنس بر متر) و شوری با استفاده از ۳۰ میلی‌مولار NaCl (۳/۳۶ دسی‌زیمنس بر متر) و فاکتور اندام گیاهی در سه سطح برگ، ساقه و ریشه بودند. الیستورها به‌صورت محلول‌پاشی و مخلوط با آبیاری به گیاهان اعمال شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی شوری، الیستور، بافت و اثرات متقابل بین آنها برای بیشتر صفات معنی‌دار بود. نتایج حاصل از مقایسه میانگین الیستورها نشان داد که متیل جاسمونات سبب افزایش کاروتنوئید، فلاونوئید و آنتوسیانین گردید. هر دو تیمار سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات باعث کاهش میزان و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گاپاکول پراکسیداز تحت تنش شوری شدند. در مقایسه میانگین اثرات متقابل سه جانبه، شوری + سالیسیلیک اسید + برگ بهترین ترکیب فاکتورها برای محتوای کلروفیل و کاروتنوئید (به ترتیب ۱/۶۸ و ۰/۵۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود. همچنین بیشترین میزان آنتوسیانین ( $5/7 \text{ OD.gr}^{-1} \text{ FW}$ ) در ترکیب عدم شوری + متیل جاسمونات + برگ و بیشترین میزان فلاونوئید در ترکیب‌های فاکتوری شوری + عدم هورمون ( $3/42 \text{ OD.gr}^{-1} \text{ FW}$ )، عدم شوری + سالیسیلیک اسید ( $3/27 \text{ OD.gr}^{-1} \text{ FW}$ ) و شوری + متیل جاسمونات ( $3/27 \text{ OD.gr}^{-1} \text{ FW}$ ) در بافت برگ مشاهده شد. میزان پروتئین کل بر خلاف کاهش در تنش شوری + بدون هورمون (۴۳/۳۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، در تیمارهای تنش شوری + سالیسیلیک اسید و تنش شوری + متیل جاسمونات (به ترتیب ۵۶/۷۲ و ۵۳/۲۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) افزایش یافت. در جمع‌بندی کلی مشخص شد که با اعمال دو تیمار هورمونی مذکور تحت تنش شوری، مامیران نیاز کمتری به افزایش سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان داشته و قابلیت لازم را برای بهبود عملکرد زیست‌توده و نیز برخی از متابولیت‌های ثانویه خواهد داشت.

واژه‌های کلیدی: الیستور، رنگ‌رزه‌های فتوسنتزی، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گاپاکول پراکسیداز.

## مقدمه

اثرات مخرب ناشی از انواع تنش‌های محیطی مانند شوری، کم‌آبی و سرما توسط برخی از هورمون‌های گیاهی مانند متیل‌جاسمونات‌ها کاهش می‌یابد (Li et al., 1998). جاسمونیک اسید و متیل‌استرها (متیل‌جاسمونات) که در حالت کلی به جاسمونات‌ها معروف هستند گروهی از هورمون‌های گیاهی هستند که ترکیب‌های ویژه‌ای از سیکلوپنتان حلقوی و مشتقات لینولئیک اسید هستند و از مسیر بیوسنتزی اکتادکانوئید تولید می‌شوند که با تغییر در میزان بیان ژن‌ها اثر تنش‌های محیطی را کم می‌کنند (Creelman et al., 1992). همچنین در مطالعاتی تأثیر متیل‌جاسمونات‌ها بر تنش‌های خشکی، سرما، شوری و همچنین مکانیسم‌های مقابله با پاتوژن‌ها و حشرات مشخص شده است (Yu et al., 2001). سالیسیلیک اسید از ترکیب‌های تنظیم‌کننده رشد و ترکیب‌های فنی در گیاهان محسوب می‌شود که نقش بسیار مهمی در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه به‌عهده دارد، این هورمون گیاهی در تنش‌های محیطی اثر محافظتی داشته و موجب بهبود روند رشد در گیاه می‌گردد (Fathi & Esmailpour, 2000). سالیسیلیک اسید همچنین با سنتز اتیلن باعث تعدیل اثرات منفی تنش شوری می‌گردد (Heydari et al., 2009).

مامیران با نام علمی *Chelidonium majus* L. متعلق به خانواده پاپاوراسه می‌باشد که به‌دلیل داشتن آلکالوئیدهایی با خواص فارماکولوژیکی مهم، جایگاه ویژه‌ای را در میان گیاهان دارویی دارد (Tome & Colomb, 1995). پراکندگی این گیاه در جهان در نواحی معتدله اروپا و آسیا، شمال‌غرب آفریقا، تالش و شمال ایران می‌باشد. این گیاه اغلب در نواحی جنگلی و گاهی در کنار جاده‌ها و نواحی روشن استان‌های گرگان، مازندران و گیلان می‌روید (Mozaffarian, 2012). مامیران کبیر به‌صورت گسترده در درمان سنتی و مدرن برای درمان بیماری‌های دستگاه گوارش و کبد و حتی برای پیشگیری و درمان تومورها و سرطان استفاده می‌شود (Venkatesh et al.,

2011; Demelo et al., 2011). تمام قطعات گیاه حاوی شیره نارنجی رنگ سرشار از آلکالوئیدهای chelerythrine, chelidone, sanguinarin, berberin و غیره می‌باشد (Colombo & Bosisio, 1996).

در آزمایشی تأثیر محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید بر روی گیاه درمنه خزری (*Artemisia annua*) تحت تنش شوری مورد مطالعه قرار گرفت و اثر متقابل سالیسیلیک اسید و شوری نشان داد که سالیسیلیک اسید در هر دو شرایط بدون تنش و تنش شوری موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز گردید (Eskandari Zanjani et al., 2012). در تحقیقی دیگر بر روی گیاه جینسینگ (*Panax ginseng*) تیمارهای سالیسیلیک اسید و متیل‌جاسمونات باعث افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در روزهای سوم، پنجم و هفتم پس از اعمال، شدند (Babar et al., 2006). اما در تحقیق مشابه دیگری بر روی ریحان (*Ocimum basilicum*) تیمار متیل‌جاسمونات در غلظت و ساعات مختلف باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آسکوربات پراکسیداز نشد (Brocki et al., 2016). در گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla*) نیز سالیسیلیک اسید باعث افزایش توان آنتی‌اکسیدانی گیاه از جمله کاروتنوئیدها شد (Costa et al., 2005). در تحقیقی دیگر تأثیر تنش‌های شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار بر گیاه خشخاش (*Papaver somniferum*) در مرحله گیاهچه‌ای مورد مطالعه قرار گرفت و نتایج نشان داد که سطوح شوری اعمال شده باعث کاهش سنگوئینارین به میزان ۲۰ تا ۵۰ درصد شده و به‌همین دلیل نتیجه‌گیری شد که سطوح شوری اعمال شده باعث کاهش مورفین و سایر آلکالوئیدهای خشخاش می‌گردد (Balazova et al., 2008).

با توجه به گسترش روزافزون شوری خاک و از طرفی اهمیت و کاربرد گیاه دارویی مامیران کبیر، سنجش توان تحمل و افزایش آن برای توصیه کشت در مناطق شور حائز اهمیت می‌باشد. از سوی دیگر الیستورهای مانند متیل‌جاسمونات و

مجموعه متوالی به فاصله چهار روزه در هفت روز دوم تنش به گیاهان داده شد و پس از اعمال تیمارهای مذکور با پایان روز چهاردهم نمونه‌گیری از اندام‌های ریشه، ساقه و برگ انجام و صفات زیر اندازه‌گیری شدند.

#### تهیه عصاره آنزیمی

۰/۵ گرم بافت تازه از سه اندام ریشه، ساقه و برگ با استفاده از ازت کوبیده شد. سپس به بافت کوبیده شده مقدار ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر استخراج (0.05 M Tris-HCl buffer, 3 mM MgCl<sub>2</sub>, 1mM EDTA, 1.5% w/v (pH=7.5), PVPP) افزوده و به مدت ۴ دقیقه ورتکس شد. در مرحله بعد نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد ساترنیفیوژ شدند و فاز شفاف رویی به‌عنوان عصاره آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت (Kang & Saltveit, 2002).

#### سنجش کاتالاز (CAT)

فعالیت کاتالاز به‌وسیله اندازه‌گیری میزان از بین رفتن هیدروژن پراکسید با استفاده از روش Maehly و Chance (۱۹۵۹) مورد سنجش قرار گرفت و فعالیت کاتالاز از طریق میزان کاهش جذب در ۲۴۰ نانومتر قرائت و ثبت گردید.

#### سنجش آسکوربات پراکسیداز (APX)

فعالیت آسکوربات پراکسیداز با روش Chen و Asada (۱۹۸۹) اندازه‌گیری شد. پس از تهیه مخلوط واکنش تخریب آسکوربات با کاهش جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر سنجیده شد.

#### سنجش سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به‌وسیله اندازه‌گیری توانایی آن در ممانعت از کاهش فیتوشیمیایی NBT با استفاده

سالیسیلیک اسید می‌تواند به‌عنوان عوامل افزایش‌دهنده تحمل تنش و راهکاری در جهت بهبود تولید و عملکرد باشند. از این‌رو، این پژوهش با هدف بررسی اثر محلول‌پاشی متیل جاسمونات و سالیسیلیک اسید بر کاهش اثرات شوری از طریق مطالعه روند تغییرات برخی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانتی و صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در مامیران کبیر انجام شد.

#### مواد و روش‌ها

برای مطالعه اثرات اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه مامیران کبیر تحت شرایط شوری، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با چهار تکرار در گلخانه تحقیقاتی و آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره) طی سال ۱۳۹۵ انجام شد. سه فاکتور مورد مطالعه شامل شوری در دو سطح عدم شوری (آب شهری با هدایت الکتریکی ۰/۶۲ دسی‌زیمنس بر متر) و شوری با استفاده از ۳۰ میلی‌مولار NaCl (۳/۳۶ دسی‌زیمنس بر متر)، فاکتور هورمون در سه سطح بدون هورمون (آب مقطر)، متیل جاسمونات ۱۰۰ میکرومولار و اسید سالیسیلیک ۲ میلی‌مولار و فاکتور اندام گیاهی در سه سطح برگ، ساقه و ریشه بودند. بذر مامیران کبیر از مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور تهیه شده و در گلدان‌ها کشت شدند. هر واحد آزمایشی شامل یک گلدان پلاستیکی به ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر و قطر دهانه ۲۰ سانتی‌متر بود. محتوای هر گلدان نیز شامل مخلوطی از خاک زراعی و ماسه با نسبت ۳:۱ (ماسه:خاک) بود. شرایط رشدی گلخانه و شرایط دمایی در حد مطلوب برای گیاهان بهینه گردید. پس از رشد و استقرار گیاهان اعمال تیمارها در مرحله رویشی گیاه (گیاهان ۵۰ روزه) انجام شد. طول دوره اعمال تنش شوری به مدت ۱۴ روز بود و هورمون‌های متیل جاسمونات و سالیسیلیک اسید هم به‌صورت محلول‌پاشی و هم به‌صورت مخلوط با آب آبیاری در دو

از روش Dhindsa و همکاران (۱۹۸۱) مورد سنجش قرار گرفت.

#### سنجش گایاکول پراکسیداز (GPX)

فعالیت گایاکول پراکسیداز به روش Upadhyaya و همکاران (۱۹۸۵) اندازه‌گیری شد و پس از تهیه مخلوط واکنش افزایش جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر ثبت گردید.

#### سنجش محتوای پروتئین کل

محتوای پروتئین کل با استفاده از روش Bradford (۱۹۷۶) در طول موج ۵۹۵ نانومتر، با استفاده از آلبومین سرم گاوی (BSA) به‌عنوان یک استاندارد تعیین شد.

#### سنجش کلروفیل و کاروتنوئید

میزان کلروفیل و کاروتنوئید به روش Arnon (۱۹۴۹) تعیین شدند.

#### سنجش فلاونوئید و آنتوسیانین

یک گرم بافت تر هر نمونه در ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (شامل الکل متیلیک ۹۹/۵٪ و هیدروکلریک اسید خالص به نسبت ۹۹ به ۱) همگن و سانتریفیوژ شد. سپس جذب عصاره رویی در ۳۰۰ و ۵۳۰ نانومتر به ترتیب برای فلاونوئید و آنتوسیانین با دستگاه اسپکتروفوتومتر تعیین شد و نتایج به‌صورت جذب در گرم وزن تر ( $OD.g^{-1}FW$ ) محاسبه گردید (Nogues & Baker, 2000).

#### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه واریانس برای صفات مورفولوژیک به‌صورت فاکتوریل (بافت+تنش+الیسیاتور) در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی (CRD) در چهار تکرار انجام و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن بررسی شد. برای تجزیه

داده‌های آماری از نرم‌افزارهای SPSS و MSTATC و برای ترسیم شکل‌ها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

#### نتایج

تأثیر متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک اسید بر روی صفات آنتی‌اکسیدانی تحت تنش شوری در بافت‌های مختلف براساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) اثرات اصلی شوری، الیسیاتور و بافت و اثرات متقابل دو جانبه و سه جانبه آنها از نظر تمام آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (بجز اثر اصلی شوری برای گایاکول پراکسیداز) در سطح احتمال ۱٪ ( $P 0.01$ ) معنی‌دار شدند. مقایسه میانگین اثر متقابل تنش  $\times$  الیسیاتور (شکل ۱) نشان داد که تیمار سالیسیلیک اسید باعث بهبود و افزایش میزان آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در هنگام تنش شوری نسبت به عدم تنش شد، اما همین تیمار هنگام شوری فعالیت کاتالاز را کاهش داد. در اثر تیمارهای سالیسیلیک اسید و متیل‌جاسمونات میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تنش شوری نسبت به عدم تنش افزایش نشان نداد، در حالی‌که در تیمار بدون هورمون شوری باعث افزایش این آنزیم شده است. از این‌رو به نظر می‌رسد هر دو تیمار هورمونی به‌عنوان تعدیل‌کننده اثرات تنش باعث شده‌اند که گیاه نیاز به افزایش آنزیم SOD برای مقابله با اثرات سوء تنش نداشته باشد (شکل ۱). اثر تیمار متیل‌جاسمونات هنگام تنش شوری بر روی فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز متفاوت بود که به ترتیب باعث افزایش و کاهش فعالیت این دو آنزیم گردید. میزان پروتئین کل برخلاف کاهش در تنش شوری تحت تیمار بدون هورمون، در اثر تیمار با سالیسیلیک اسید و متیل‌جاسمونات نسبت به زمان عدم استفاده از این دو هورمون باعث افزایش میزان پروتئین در گیاهان تنش دیده نسبت به عدم تنش گردید. البته میزان پروتئین در تیمار سالیسیلیک اسید نسبت به متیل‌جاسمونات زیادتر بود (شکل ۴).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثرات شوری، الیسیطور و بافت بر فاکتورهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در مامیران کبیر

میانگین مربعات (Mean of Squares)											درجه	منابع تغییر (S.o.V)
آنتوسیانین	فلاونوئید	کاروتنوئید	کلروفیل کل	کلروفیل b	کلروفیل a	پروتئین کل	آسکوربات پراکسیداز	گایاکول پروکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز	آزادی (d.f)	
۰/۰۳۴ns	۰/۰۴۴ns	۰/۰۰۳**	۰/۱۳**	۰/۰۶۸**	۰/۰۱**	۲۴۸/۲**	۱۲/۱**	۰/۰۰۰ns	۲۳۸/۵**	۰/۰۰۰**	۱	تنش شوری
۰/۴۴۸**	۰/۱۳ns	۰/۰۵۵**	۰/۳۴**	۰/۱۴۶**	۰/۰۴۳**	۳۶۸/۸**	۲۶/۹**	۰/۰۱۶**	۳۸۵/۹**	۰/۰۰۶**	۲	الیسیطور
۰/۴۴۸**	۰/۳۳۵**	۰/۰۱۵**	۰/۲۶**	۰/۱۱۲**	۰/۰۳۲**	۳۶۱۸۳/۴**	۴۵۳/۶**	۰/۰۸۵**	۱۵۴۹۳/۷**	۰/۰۱۵**	۲	بافت
۴۷/۴۸۳**	۳/۶۴**	۱/۰۴**	۱۴/۱۳**	۰/۱۱۳**	۱/۶۹**	۱۸۰۷/۸**	۹۵/۴**	۰/۰۵۹**	۴۶۸/۴**	۰/۰۰۰**	۲	تنش×الیسیطور
۰/۰۵ns	۰/۲۳۳*	۰/۰۰۷**	۰/۲۴**	۰/۰۹۷**	۰/۰۳۵**	۳۱۶/۴**	۳۹/۲**	۰/۰۳۲**	۷۴۱/۶**	۰/۰۰۴**	۲	تنش×بافت
۰/۰۱۴۵ns	۰/۱۴۳*	۰/۰۲۲**	۰/۲۵**	۰/۱۲۳**	۰/۰۲۵**	۱۵۰۶/۲**	۶۲/۷۷**	۰/۰۲۲**	۱۶۱۱/۵**	۰/۰۰۲**	۴	الیسیطور×بافت
۰/۹۷۲**	۰/۰۶۲ns	۰/۰۰۶**	۰/۲۳**	۰/۱۰۴**	۰/۰۲۸**	۲۱۱۱/۲**	۱۳۷/۱**	۰/۰۱۵**	۳۱۴۶/۹**	۰/۰۰۲**	۴	تنش×الیسیطور×بافت
۰/۰۷۸	۰/۰۵۶	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۸/۱	۰/۵	۰/۰۰۰	۷/۶۱	۰/۰۰۰	۵۴	خطا
۲۲/۱	۴/۶۷	۸/۹۷	۳/۳۴	۳/۹۵	۳/۶۷	۵/۴	۲۰/۴	۱۹/۱	۷/۱۶	۱۷/۳		ضریب تغییرات

ns, \*\* و \* به ترتیب اختلاف غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪

پراکسیداز کاهش یافت. در بافت ریشه فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در تنش شوری کاهش و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز افزایش نشان داد. میزان پروتئین کل تحت تنش شوری نسبت به عدم تنش در ریشه کاهش نشان داد ولی در برگ و ساقه اختلافی نسبت به زمان عدم تنش دیده نشد (شکل ۴).

مقایسه میانگین اثر متقابل بافت × تنش (شکل ۲) نشان داد که تنش شوری در بافت برگ میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز را نسبت به عدم تنش افزایش و میزان آنزیم کاتالاز را کاهش داد. در بافت ساقه در تنش شوری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز افزایش و فعالیت آنزیم آسکوربات

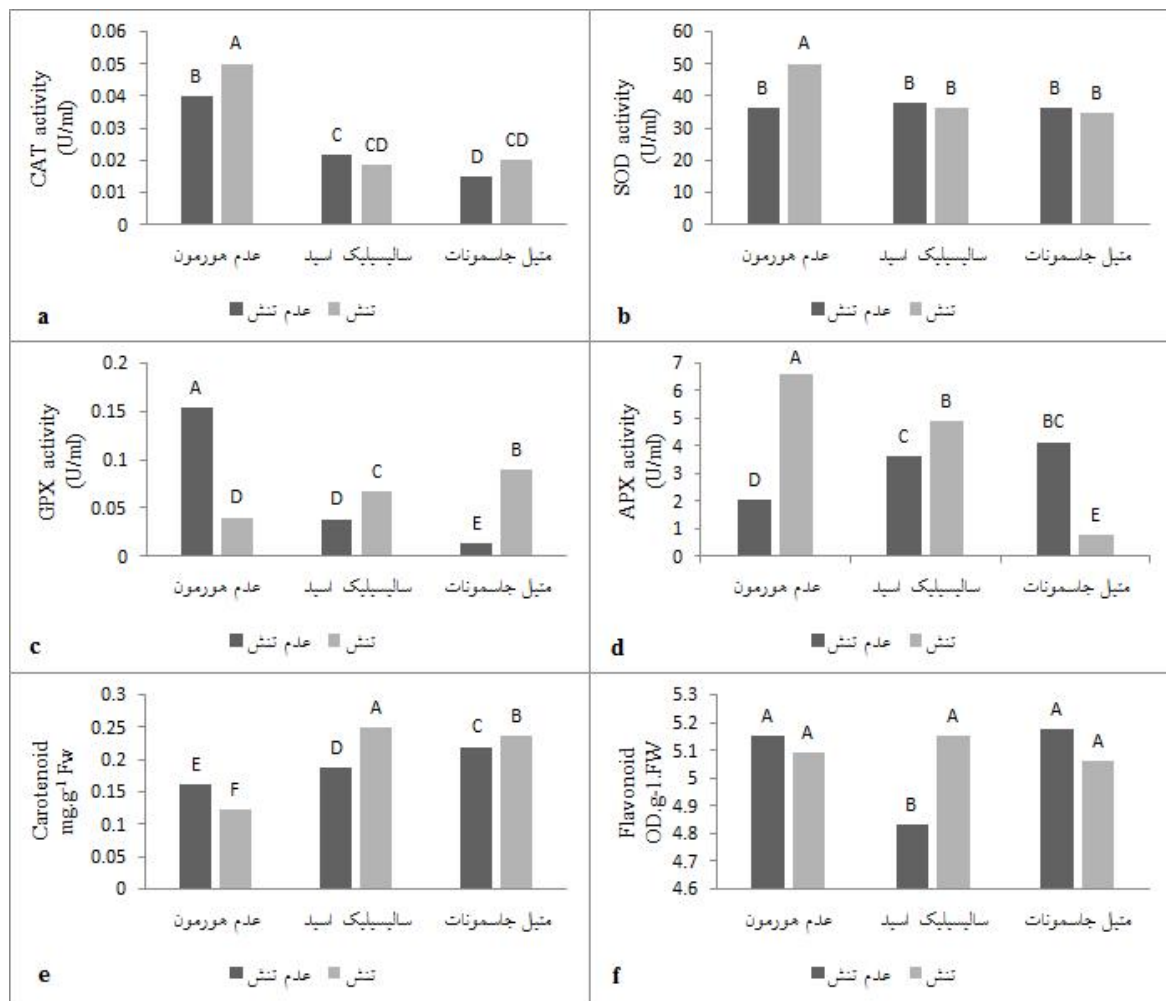
جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات اصلی شوری، الیستور و بافت برای میزان فلاونوئید و آنتوسیانین در مامیران کبیر

تنش	بافت		الیستور		متیل جاسمونات	عدم هورمون	صفت	
	شوری	عدم تنش	برگ	ساقه				سالیسیلیک اسید
۵/۱A	۵/۰۵A	۵/۴۹A	۵/۰۲B	۴/۷۲C	۵/۱۲A	۴/۹۹A	۵/۱۲A	فلاونوئید (OD.g <sup>-1</sup> FW)
۱/۲۳A	۱/۲۸A	۲/۸۸A	۰/۳۹B	۰/۵۱B	۱/۳۵A	۱/۱۰B	۱/۳۳A	آنتوسیانین (OD.g <sup>-1</sup> FW)

حروف مشابه در هر ردیف برای هر یک از صفات و اثرات اصلی در هر تیمار اختلاف آماری معنی‌دار ندارند.

این آنزیم شدند. اثر تیمار متیل جاسمونات و سالیسیلیک اسید در فعالیت گایاکول پراکسیداز در برگ افزایش بود که این افزایش در تیمار متیل جاسمونات بیشتر مشاهده شد. در مورد آسکوربات پراکسیداز نیز تیمار سالیسیلیک اسید در برگ افزایش چشمگیری نسبت به متیل جاسمونات و عدم استفاده از هورمون نشان داد. میزان پروتئین کل تحت تأثیر هر دو تیمار متیل جاسمونات و سالیسیلیک اسید در ریشه کاهش ولی در ساقه و برگ افزایش یافت (شکل ۴).

مقایسه میانگین اثر متقابل بافت × الیستور (شکل ۳) نشان داد که تیمارهای سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات نسبت به عدم مصرف هورمون باعث کاهش میزان آنزیم کاتالاز در بافت‌های برگ و ساقه شدند، همین نتیجه نیز در میزان آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز در ریشه، سوپراکسید دیسموتاز در برگ و آسکوربات پراکسیداز در ساقه مشاهده شد. اما تأثیر این دو تیمار هورمونی در فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در ساقه و ریشه متفاوت از برگ بود و هر دو تیمار باعث افزایش فعالیت

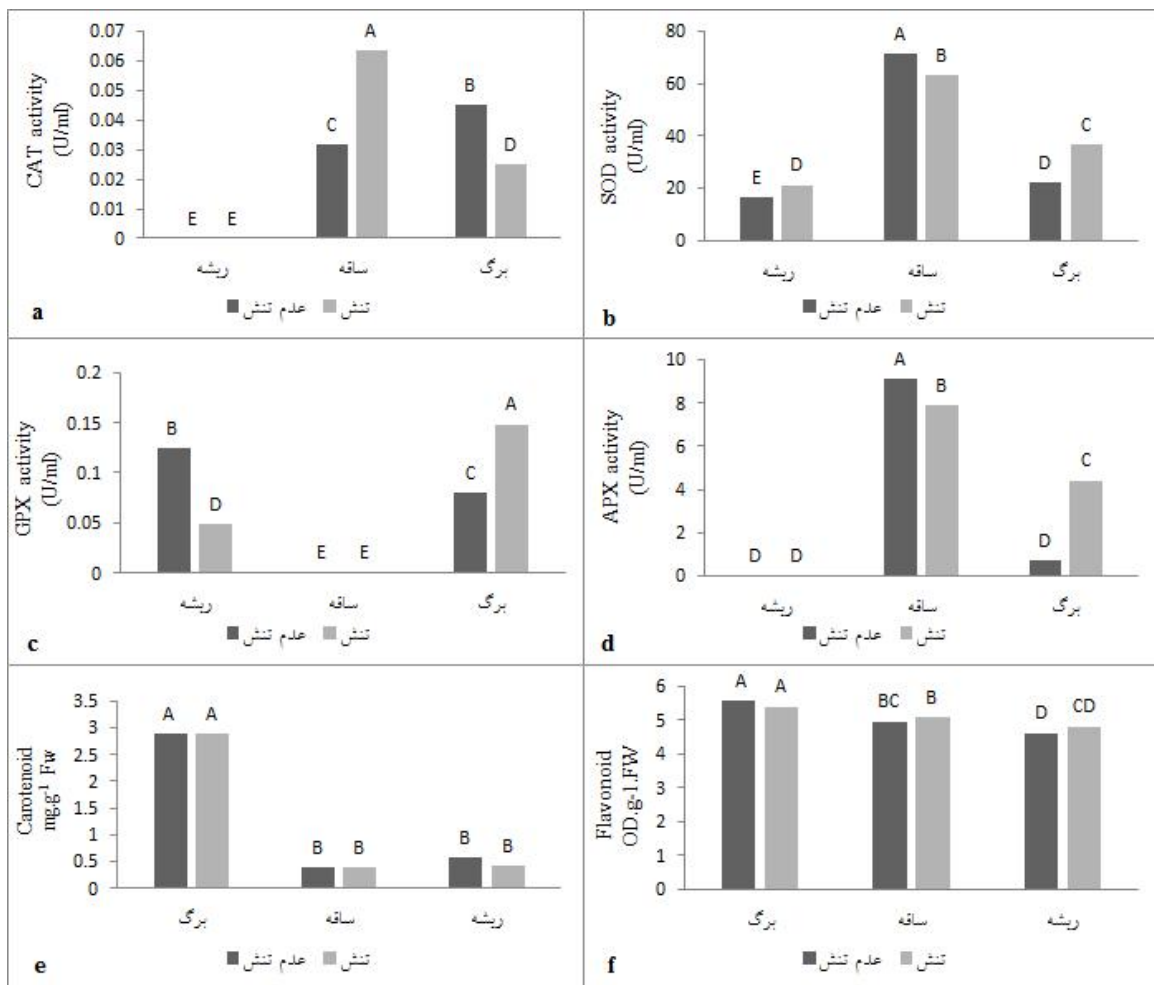


شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش × الیستور در تغییرات میزان (a) کاتالاز، (b) سوپراکسید دیسموتاز، (c) گایاکول پروکسیداز،

(d) آسکوربات پراکسیداز، (e) کاروتنوئید و (f) فلاونوئید در گیاه مامیران کبیر تحت تیمار با

الیستورهای سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات در تنش شوری

حروف غیر مشابه روی هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن می‌باشد.



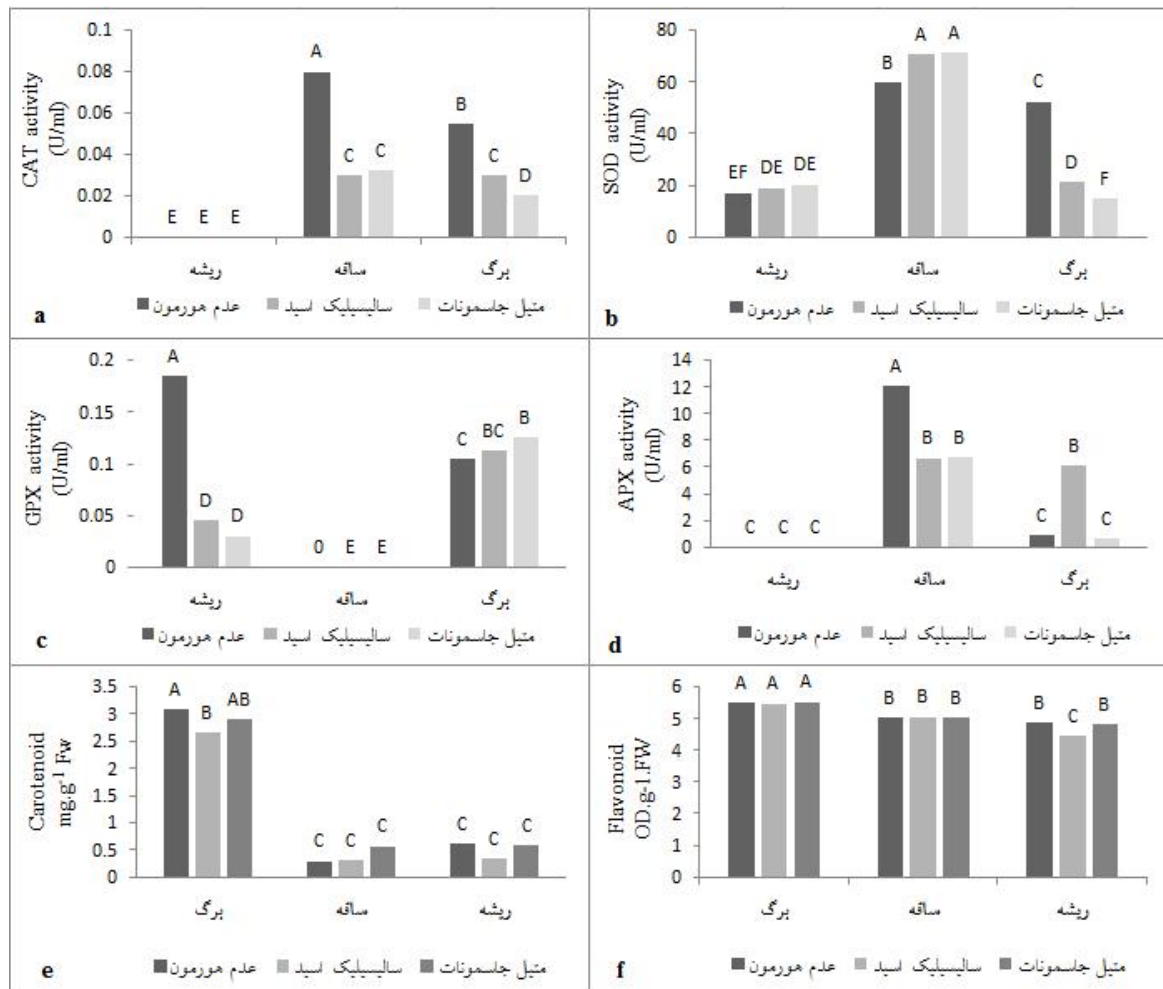
شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش×بافت در تغییرات میزان (a) کاتالاز، (b) سوپراکسید دیسموتاز، (c) گایاکول پروکسیداز،

(d) آسکوربات پراکسیداز، (e) کاروتنوئید و (f) فلاونوئید در گیاه مامیران کبیر تحت تیمار با

الیستورهای سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات در تنش شوری

حروف غیر مشابه روی هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن می‌باشد.





شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل الیسیاتور×بافت در تغییرات میزان (a) کاتالاز، (b) سوپراکسید دیسموتاز، (c) گایاکول پروکسیداز، (d) آسکوربات پراکسیداز، (e) کاروتنوئید و (f) فلاونوئید در گیاه مامیران کبیر تحت تیمار با

### الیسیاتورهای سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات در تنش شوری

حروف غیر مشابه روی هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن می‌باشد.

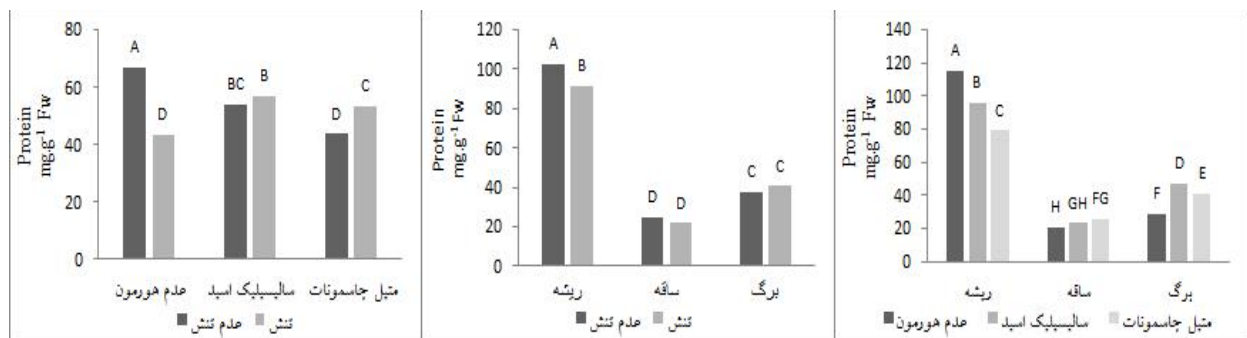
میانگین اثر متقابل بافت×تنش (شکل ۵) مشخص شد که تنش شوری فقط میزان رنگریزه‌های فتوسنتزی را در برگ کاهش داد اما در ساقه و ریشه تغییر زیادی ایجاد نشد. در مقایسه میانگین اثر متقابل بافت×الیسیاتور (شکل ۵) تیمار با متیل جاسمونات و سالیسیلیک اسید باعث افزایش مقدار رنگریزه‌ها در برگ و ساقه گردید که این افزایش در

تأثیر متیل جاسمونات و سالیسیلیک اسید بر روی رنگریزه‌های فتوسنتزی و غیرفتوسنتزی تحت تنش شوری

با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر ساده شوری، الیسیاتور و بافت و همچنین اثرات دوگانه و سه‌گانه آنها تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ ( $P < 0.01$ ) بر محتوای کلروفیل a, b, کل و کاروتنوئید داشتند. در مقایسه

سالیسیلیک اسید نسبت به تیمار عدم هورمون (شاهد) باعث کاهش آنتوسیانین گردید، در حالی که متیل جاسمونات تغییری در میزان آنتوسیانین نسبت به شاهد ایجاد نکرد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل سه جانبه بافت × الیسیاتور × تنش (جدول ۳) نشان داد که بیشترین میزان آنتوسیانین در ترکیب تیماری عدم تنش + سالیسیلیک اسید و شوری + متیل جاسمونات در بافت برگ بدست آمد. همچنین بیشترین مقدار فلاونوئید در ترکیب های تیماری عدم تنش + متیل جاسمونات، عدم تنش + سالیسیلیک اسید و شوری + سالیسیلیک اسید در بافت برگ مشاهده شد.

تیمار با سالیسیلیک اسید بیشتر از متیل جاسمونات بود. در این تحقیق اثر اصلی تنش شوری اثر معنی داری بر میزان فلاونوئید و آنتوسیانین نداشت (جدول ۱). همچنین تیمارهای سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات اثر معنی داری بر میزان فلاونوئید نشان ندادند، اما میزان آن در سه بافت مورد مطالعه تفاوت معنی دار داشته و بیشترین میزان فلاونوئید به ترتیب در برگ، ساقه و ریشه مشاهده گردید. در مورد آنتوسیانین اثرات اصلی بافت و الیسیاتور در سطح ۱٪ معنی دار بودند (جدول ۱) و بر اساس مقایسه میانگین اثر اصلی بافت (جدول ۲)، بیشترین میزان آنتوسیانین در بافت برگ مشاهده شد. همچنین با مقایسه میانگین اثر اصلی الیسیاتور، مشخص شد که



شکل ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش × الیسیاتور، تنش × بافت، الیسیاتور × بافت، در تغییرات محتوای پروتئین کل در گیاه مامیران کبیر

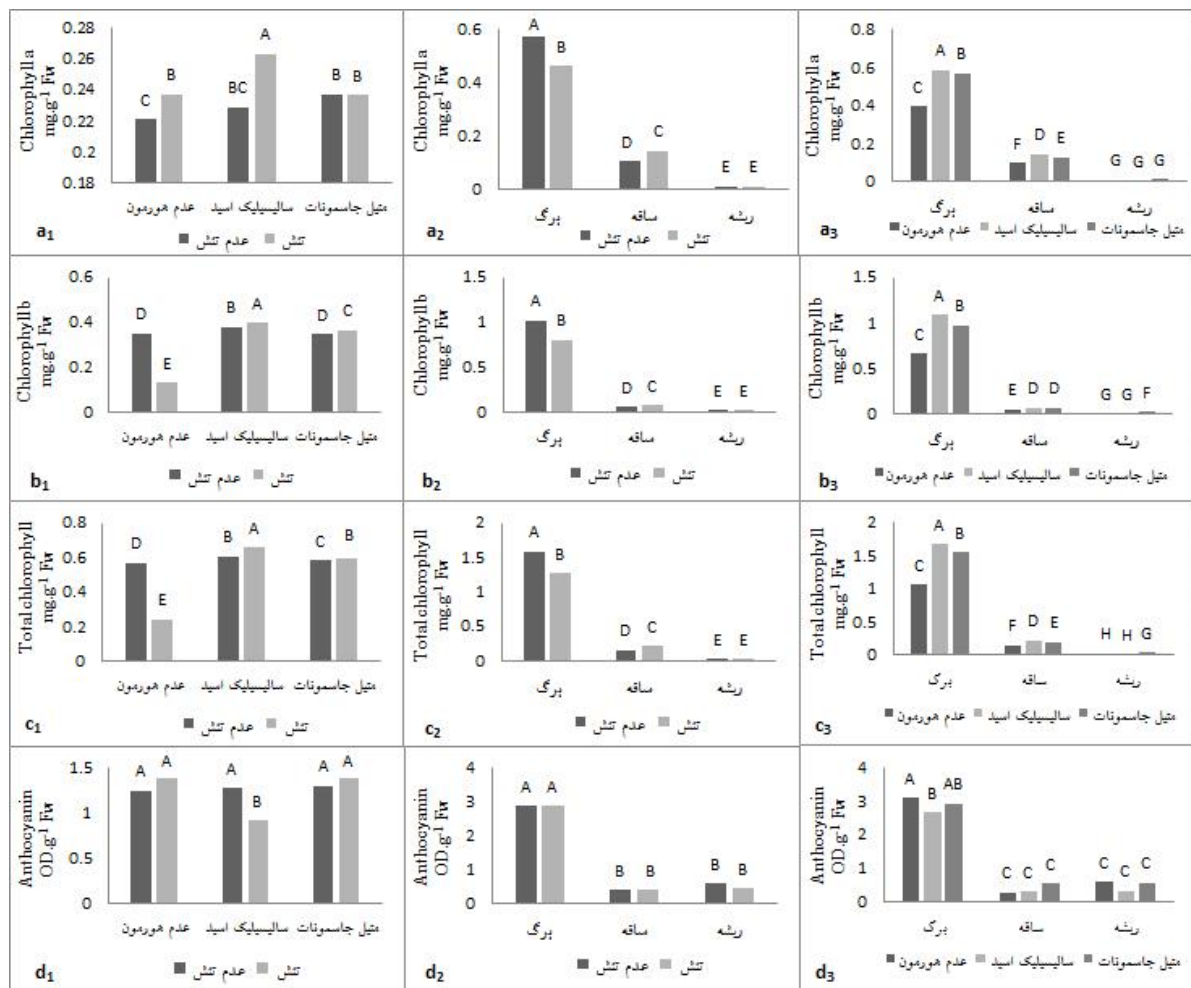
تحت تیمار با الیسیاتورهای سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات در تنش شوری

حروف غیر مشابه روی هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار براساس آزمون دانکن می باشد.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش × الیسیستور × بافت از نظر فاکتورهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در مامیران کبیر

تنش	الیسیستور	بافت	کاتالاز (u.ml <sup>-1</sup> )	سوپراکسید دیسموتاز (u.ml <sup>-1</sup> )	گایاکول پروکسیداز (u.ml <sup>-1</sup> )	آسکوربات پراکسیداز (u.ml <sup>-1</sup> )	پروتئین کل (mg. g <sup>-1</sup> FW)	کلروفیل a (mg. g <sup>-1</sup> FW)	کلروفیل b (mg. g <sup>-1</sup> FW)	کلروفیل کل (mg. g <sup>-1</sup> FW)	کاروتنوئید (mg. g <sup>-1</sup> FW)	فلاونوئید (OD. g <sup>-1</sup> FW)	آنتوسیانین (OD. g <sup>-1</sup> FW)
	ریشه		۰/۰۰ <sup>G</sup>	۱۳/۹ <sup>HI</sup>	۰/۳ <sup>A</sup>	۰/۰۰ <sup>F</sup>	۱۳۶/۶ <sup>A</sup>	۰/۰۱۱ <sup>I</sup>	۰/۰۰۹ <sup>I</sup>	۰/۰۲ <sup>LM</sup>	۰/۰۵۸ <sup>J</sup>	۰/۷۴ <sup>D</sup>	۴/۹ <sup>DE</sup>
	عدم هورمون	ساقه	۰/۰۴ <sup>C</sup>	۷۵/۹ <sup>C</sup>	۰/۰۰ <sup>H</sup>	۵/۵۴ <sup>D</sup>	۲۵/۴ <sup>IJK</sup>	۰/۰۸۴ <sup>H</sup>	۰/۰۴ <sup>GH</sup>	۰/۱۲۳ <sup>L</sup>	۰/۰۵۲ <sup>J</sup>	۰/۲۶ <sup>E</sup>	۴/۹۹ <sup>CDE</sup>
		برگ	۰/۰۸ <sup>B</sup>	۱۸/۷ <sup>GH</sup>	۰/۱۶ <sup>C</sup>	۰/۵۷ <sup>F</sup>	۳۸/۲ <sup>H</sup>	۰/۰۵۷ <sup>B</sup>	۰/۰۹۹ <sup>B</sup>	۱/۵۶ <sup>C</sup>	۰/۳۷ <sup>D</sup>	۲/۷۶ <sup>B</sup>	۵/۵۵ <sup>AB</sup>
عدم تنش	سالیسیلیک اسید	ریشه	۰/۰۰ <sup>G</sup>	۱۷/۱ <sup>GH</sup>	۰/۰۶ <sup>D</sup>	۰/۰۰ <sup>F</sup>	۱۱۰/۸ <sup>B</sup>	۰/۰۰۵ <sup>I</sup>	۰/۰۰۳ <sup>I</sup>	۰/۰۱ <sup>M</sup>	۰/۰۲۲ <sup>K</sup>	۰/۳۳ <sup>DE</sup>	۴/۱۳ <sup>F</sup>
		ساقه	۰/۰۳ <sup>DE</sup>	۵۸/۵ <sup>D</sup>	۰/۰۰ <sup>H</sup>	۹/۶ <sup>C</sup>	۲۴/۵ <sup>IJK</sup>	۰/۱۰۱ <sup>G</sup>	۰/۰۰۵ <sup>G</sup>	۰/۱۵ <sup>I</sup>	۰/۰۵۷ <sup>J</sup>	۰/۲۵ <sup>E</sup>	۴/۸۸ <sup>DE</sup>
		برگ	۰/۰۳۵ <sup>CD</sup>	۳۷/۵ <sup>F</sup>	۰/۰۵۵ <sup>DH</sup>	۱/۲۷ <sup>F</sup>	۲۶/۲ <sup>II</sup>	۰/۰۵۸ <sup>AB</sup>	۱/۰۸ <sup>A</sup>	۱/۶۶ <sup>B</sup>	۰/۴۸ <sup>B</sup>	۳/۲۷ <sup>A</sup>	۵/۴۹ <sup>AB</sup>
	متیل جاسمونات	ریشه	۰/۰۰ <sup>G</sup>	۱۸/۸ <sup>GH</sup>	۰/۰۱۵ <sup>GH</sup>	۰/۰۰ <sup>F</sup>	۶۰/۳ <sup>F</sup>	۰/۰۱۲ <sup>I</sup>	۰/۰۱۴ <sup>I</sup>	۰/۰۳ <sup>L</sup>	۰/۰۶۶ <sup>J</sup>	۰/۶۸ <sup>DE</sup>	۴/۸۴ <sup>DE</sup>
		ساقه	۰/۰۲۵ <sup>EF</sup>	۷۹/۱ <sup>BC</sup>	۰/۰۰ <sup>H</sup>	۱۲/۱ <sup>B</sup>	۲۲/۷ <sup>IJK</sup>	۰/۱۳ <sup>E</sup>	۰/۰۶۶ <sup>F</sup>	۰/۲ <sup>G</sup>	۰/۱۲ <sup>G</sup>	۰/۶۴ <sup>DE</sup>	۴/۹۹ <sup>CDE</sup>
		برگ	۰/۰۲ <sup>F</sup>	۱۰/۹ <sup>I</sup>	۰/۰۲۵ <sup>FG</sup>	۰/۲۹ <sup>F</sup>	۴۷/۹ <sup>G</sup>	۰/۰۵۶ <sup>B</sup>	۰/۰۹۶ <sup>C</sup>	۱/۵۲ <sup>D</sup>	۰/۴۸ <sup>B</sup>	۲/۶۱ <sup>B</sup>	۵/۷ <sup>A</sup>
	عدم هورمون	ریشه	۰/۰۰ <sup>G</sup>	۲۰/۵ <sup>G</sup>	۰/۰۷ <sup>D</sup>	۰/۰۰ <sup>F</sup>	۹۴/۴ <sup>C</sup>	۰/۰۱ <sup>I</sup>	۰/۰۰۷ <sup>I</sup>	۰/۰۲ <sup>LM</sup>	۰/۰۲ <sup>K</sup>	۰/۴۶ <sup>DE</sup>	۴/۸۲ <sup>DE</sup>
		ساقه	۰/۱۲ <sup>A</sup>	۴۳/۳ <sup>E</sup>	۰/۰۰ <sup>H</sup>	۱۸/۶ <sup>A</sup>	۱۵/۹ <sup>L</sup>	۰/۱۱۳ <sup>FG</sup>	۰/۰۵۳ <sup>FG</sup>	۰/۱۷ <sup>H</sup>	۰/۰۸ <sup>I</sup>	۰/۳۲ <sup>DE</sup>	۵/۰۴ <sup>CDE</sup>
		برگ	۰/۰۳ <sup>DE</sup>	۸۶/۲ <sup>A</sup>	۰/۰۵ <sup>DEF</sup>	۱/۲۸ <sup>F</sup>	۱۹/۷ <sup>KL</sup>	۰/۲۲۴ <sup>C</sup>	۰/۳۳ <sup>D</sup>	۰/۵۵ <sup>E</sup>	۰/۲۷ <sup>E</sup>	۳/۴۲ <sup>A</sup>	۵/۴۲ <sup>AB</sup>
	سالیسیلیک اسید	ریشه	۰/۰۰ <sup>G</sup>	۲۱ <sup>G</sup>	۰/۰۳ <sup>EFG</sup>	۰/۰۰ <sup>F</sup>	۸۱/۴ <sup>D</sup>	۰/۰۰۶ <sup>I</sup>	۰/۰۰۷ <sup>I</sup>	۰/۰۱۲ <sup>LM</sup>	۰/۱۰۳ <sup>H</sup>	۰/۳۶ <sup>DE</sup>	۴/۷۹ <sup>E</sup>
شوری		ساقه	۰/۰۳ <sup>DE</sup>	۸۲/۸ <sup>AB</sup>	۰/۰۰ <sup>H</sup>	۳/۷ <sup>E</sup>	۲۰/۹ <sup>JKL</sup>	۰/۱۹ <sup>D</sup>	۰/۰۸۹ <sup>E</sup>	۰/۲۸ <sup>F</sup>	۰/۱۰۱ <sup>H</sup>	۰/۳۸ <sup>DE</sup>	۵/۲۱ <sup>BCD</sup>
		برگ	۰/۰۲۵ <sup>EF</sup>	۵/۱ <sup>J</sup>	۰/۱۷ <sup>C</sup>	۱۰/۹۴ <sup>BC</sup>	۶۷/۹ <sup>E</sup>	۰/۰۵۹ <sup>A</sup>	۱/۰۹ <sup>A</sup>	۱/۶۸ <sup>A</sup>	۰/۵۴ <sup>A</sup>	۲/۰۴ <sup>C</sup>	۵/۴۶ <sup>AB</sup>
	متیل جاسمونات	ریشه	۰/۰۰ <sup>G</sup>	۲۱/۹ <sup>G</sup>	۰/۰۴۵ <sup>DEF</sup>	۰/۰۰ <sup>F</sup>	۹۷/۸ <sup>C</sup>	۰/۰۱۵ <sup>I</sup>	۰/۰۲۹ <sup>H</sup>	۰/۰۵ <sup>K</sup>	۰/۱۶ <sup>F</sup>	۰/۴۸ <sup>DE</sup>	۴/۸۴ <sup>DE</sup>
		ساقه	۰/۰۴ <sup>C</sup>	۶۳/۷ <sup>D</sup>	۰/۰۰ <sup>H</sup>	۱/۳۴ <sup>F</sup>	۲۸/۲ <sup>I</sup>	۰/۱۲ <sup>EF</sup>	۰/۰۶۵ <sup>F</sup>	۰/۱۹ <sup>G</sup>	۰/۰۹۸ <sup>H</sup>	۰/۴۹ <sup>DE</sup>	۵/۰۲ <sup>CDE</sup>
		برگ	۰/۰۲ <sup>F</sup>	۱۸/۶ <sup>GH</sup>	۰/۲۲۵ <sup>B</sup>	۰/۹۸ <sup>F</sup>	۳۳/۸ <sup>H</sup>	۰/۰۵۷ <sup>B</sup>	۰/۰۹۹ <sup>B</sup>	۱/۵۷ <sup>C</sup>	۰/۴۵ <sup>C</sup>	۳/۲ <sup>A</sup>	۵/۳۴ <sup>ABC</sup>

حروف مشابه در هر ستون برای هر یک از صفات اختلاف آماری معنی دار ندارند.



شکل ۵- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش×السیستور، تنش×بافت، السیستور×بافت، در تغییرات میزان (a) کلروفیل A، (b) کلروفیل B،

(c) کلروفیل کل و (d) آنتوسیانین در گیاه مامیران کبیر تحت تیمار با السیستورهای سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات در تنش شوری

حروف غیر مشابه روی هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار براساس آزمون دانکن می باشد.

## بحث

آسکوربات گلوکاتایون همانند گلوکاتایون ردکاتاز استفاده می کنند (Baby & Jini, 2011). تغییرات میزان آنزیم های آنتی اکسیدان در گیاهان تحت تنش یک مکانیسم تحمل به شوری است، که این مکانیسم در کنار سایر ترکیب های سازگار کننده همانند پرولین و کربوهیدرات ها میزان تحمل گیاه را بالا می برد (Abo-Kassem, 2007).

در تنش های محیطی از جمله تنش شوری تغییرات شیمیایی زیادی رخ می دهد، که یکی از این تغییرات تولید انواع اکسیژن های فعال می باشد که از اثرات مخرب آنها، تخریب عمده غشاء، چربی ها، پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک می باشد (Garratt et al., 2002). گیاهان در مقابله با این خسارت های سلولی، از سیستم آنتی اکسیدانی و آنزیم های دخیل در چرخه

کشت سوسپانسیون تنباکو (*Nicotiana tabacum*) می‌شود (Conrath et al., 2002). در گیاه درمنه خزری نیز تحت تیمار سالیسیلیک اسید بیشترین فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در زمان عدم مصرف سالیسیلیک اسید مشاهده شده است (Eskandari Zanjani et al., 2012)، که مطابق با نتایج ما در استفاده از تیمار سالیسیلیک اسید بر فعالیت این آنزیم می‌باشد.

در این آزمایش آنزیم گایاکول پراکسیداز هنگام تنش شوری افزایش فعالیت نشان نداد. در گیاه تاتوره (*Datura stramonium*) نیز اثر متیل جاسمونات بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز مورد بررسی قرار گرفته و مشخص شد که متیل جاسمونات اثری بر فعالیت گایاکول پراکسیداز نداشته است (Hare & Walling, 2006)، در صورتی که در این تحقیق متیل جاسمونات باعث کاهش فعالیت این آنزیم در مامیران شد. تحقیقی بر روی گیاه جینسینگ (*Panax ginseng*) تحت تیمار سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات نشان داد که این تیمارها باعث افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز در روزهای سوم، پنجم و هفتم پس از اعمال، شدند (Babar et al., 2006). اما در تحقیق مشابه دیگری بر روی ریحان (*Ocimum basilicum*) تیمار متیل جاسمونات در غلظت و ساعات مختلف باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آسکوربات پراکسیداز نشد (Brocki Milan et al., 2016). مطابق با گزارشی که متیل جاسمونات باعث افزایش محتوای پروتئین در ریشه و ساقه کلزا (*Brassica napus*) شده است (Comparot et al., 2002)، در تحقیق ما نیز محتوای پروتئین تحت تیمار متیل جاسمونات در ساقه و برگ افزایش یافت.

البته رابطه مثبتی بین محتوای نسبی آب برگ و غلظت کلروفیل وجود دارد. به طوری که تحت شرایط شوری، به علت پایین آمدن پتانسیل اسمزی محیط ریشه، جذب آب با مشکل مواجه می‌شود. میزان آب بافت‌ها و سلول‌های برگ کاهش پیدا می‌کند و محتوای نسبی آب نیز کاهش می‌یابد. با کاهش محتوای نسبی آب، آنزیم کلروفیل‌لاز، کلروفیل را تجزیه می‌کند، بنابراین

در این مورد در مطالعه‌ای که روی تیپ وحشی و جهش یافته گیاه آراییدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) انجام شد، سالیسیلیک اسید به عنوان برطرف‌کننده آسیب‌های اکسیداتیو معرفی شد (Metwally et al., 2003). تنش شوری سبب تبدیل رادیکال سوپراکسید به پراکسید هیدروژن در درون سلول می‌شود که بالا رفتن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان همانند کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز از اثرات سوء تشکیل پراکسید هیدروژن جلوگیری می‌کند (Shen et al., 1997). در واقع افزایش این آنزیم‌ها یک مکانیسم تحمل گیاه نسبت به تنش شوری می‌باشد. در آزمایش ما نیز میزان فعالیت کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز هنگام شوری افزایش یافت. در تحقیق Eskandari Zanjani و همکاران (۲۰۱۲)، سالیسیلیک اسید در گیاه درمنه خزری (*Artemisia annua*) سبب کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز نسبت به عدم آن مصرف شد که مشابه با نتایج این آزمایش می‌باشد، که این امر می‌تواند به این دلیل باشد که سالیسیلیک اسید از طریق تولید ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان فنولیک، به طور مستقیم در از بین بردن رادیکال‌های آزاد نقش داشته و با پاکسازی این گونه‌های فعال و کاهش اثرات تنش، از افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز جلوگیری می‌کند (Doulatabadian et al., 2008).

در تحقیق Eskandari Zanjani و همکاران (۲۰۱۲)، اثر متقابل سالیسیلیک اسید و شوری نشان داد که سالیسیلیک اسید در گیاه درمنه خزری در هر دو شرایط بدون تنش و تنش شوری موجب کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز شده که این نتیجه هم‌راستا با نتایج ما درباره فعالیت آنزیم کاتالاز می‌باشد. همچنین گزارش شده که سالیسیلیک اسید از طریق متصل شدن به آنزیم کاتالاز، سبب کاهش فعالیت آن در توتون (*Nicotiana rustica*) گردید (Chen et al., 1989). در توافق با نتایج این تحقیق در مورد فعالیت کاتالاز در برگ تحت تیمار سالیسیلیک اسید، در گزارشی دیگر بیان شده است که سالیسیلیک اسید باعث کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ و

افزایش سرعت فتوسنتز در برگ شده است (Spence & Humphries, 1972).

آنتوسیانین از قدرت بالای جاروب‌کنندگی مولکول‌های اکسیدکننده به‌ویژه رادیکال‌های آزاد برخوردار است (Kong *et al.*, 2003). قدرت آنتی‌اکسیدانی بالای آنتوسیانین به دلیل وجود اتم اکسونیوم در حلقه C است (Michalak, 2006). رادیکال‌های پراکسید برای تبدیل شدن به رادیکال‌های هیدروپراکسید سیتوزول به سرعت پروتونه می‌شوند یا توسط سوپراکسید دیسموتاز به  $H_2O_2$  تبدیل و بعد به درون واکوئل آزاد شده و توسط آنتوسیانین جاروب می‌شوند (Yamamura *et al.*, 1998). از سوی دیگر فلاونوئیدها ترکیب‌های طبیعی با ارزشی هستند که در مسیر فنل پروپانویید بیوستنز می‌شوند و توانایی جذب رادیکال‌های آزاد را دارند. در این تحقیق بیشترین میزان آنتوسیانین در ترکیب تیماری عدم تنش + سالیسیلیک اسید و شوری + متیل‌جاسمونات در بافت برگ بدست آمد. همچنین بیشترین مقدار فلاونوئید در ترکیب‌های تیماری عدم تنش + متیل‌جاسمونات، عدم تنش + سالیسیلیک اسید و شوری + سالیسیلیک اسید در بافت برگ مشاهده شد. در این راستا در گیاه جینسینگ تیمار ۲۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید باعث افزایش میزان فلاونوئید در گیاه شده است (Ali *et al.*, 2007). همچنین در هویج (*Daucus carota*) طی ۹ روز تیمار با غلظت ۲۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید، میزان آنتوسیانین کاهش یافت اما با گذشت ۲۱ روز مقدار آن افزایش یافت (Sudha & Ravishankar, 2003). در برگ‌های ذرت (*Zea mays*) نیز سالیسیلیک اسید اثر معنی‌داری بر میزان آنتوسیانین نداشته است (Kim *et al.*, 2006).

در جمع‌بندی کلی، نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که متیل‌جاسمونات سبب افزایش کاروتنوئید، فلاونوئید و آنتوسیانین گردید. هر دو تیمار سالیسیلیک اسید و متیل‌جاسمونات باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گایاکول پراکسیداز تحت تنش شوری شدند. در ترکیب تیماری

رابطه مثبتی بین میزان کلروفیل و محتوای نسبی آب وجود دارد (Castrillo & Turujillo, 1994). این موضوع مطابق با نتیجه این آزمایش بود که تنش شوری موجب کاهش میزان کلروفیل a, b و کل گردید.

در مورد نقش متیل‌جاسمونات بر مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی نتایج متفاوتی توسط محققان گزارش شده است. متیل‌جاسمونات با فعال کردن یکسری از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در کلروپلاست مانع از تخریب کلروفیل شده و از این طریق از کاهش فتوسنتز جلوگیری می‌کند که این به صورت غیرمستقیم سبب تولید کربوهیدرات و دیگر مواد متابولیسمی مورد استفاده گیاه شده و باعث مقاومت گیاه به شرایط تنش می‌شود (Popova *et al.*, 2003). در این تحقیق نیز تیمارهای متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک اسید در هنگام تنش شوری باعث افزایش عملکرد تمام رنگیزه‌های فتوسنتزی شدند. همچنین گزارش شده است که کاربرد متیل‌جاسمونات در شرایط تنش شوری سرعت فتوسنتزی را در نخودفرنگی (*Pisum sativum*) افزایش داده است (Fedina & Dimova, 2000). سالیسیلیک اسید هنگام تنش با افزایش آسیمیلایسیون، درصد فتوسنتز و افزایش جذب مواد معدنی توسط گیاهان تنش‌دیده باعث کاهش اثرات تنش از جمله تنش شوری می‌گردد (Szepesi *et al.*, 2005). در گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla*) تیمار سالیسیلیک اسید باعث افزایش توان آنتی‌اکسیدانی از جمله کاروتنوئیدها شده که این موجب کاهش مقدار پراکسیداسیون لیپیدها و مقدار  $H_2O_2$  و حفاظت بیشتر از غشاهای سلولی و رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌شود و از کاتابولیسم کلروفیل جلوگیری می‌کند (Costa *et al.*, 2005). در توافق با دیگر یافته‌ها، در این تحقیق نیز تیمار با متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک اسید باعث افزایش مقدار رنگیزه‌ها در برگ و ساقه گردید که این افزایش در تیمار با سالیسیلیک اسید بیشتر از متیل‌جاسمونات بود. در این راستا در سیب‌زمینی شیرین (*Ipomoea batatas*)، تیمار با تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی باعث

- under water stress and rewatering. *Photosynthetica Journal*, 30: 175-181.
- Chen, G.X. and Asada, K., 1989. Ascorbate peroxidase in tea leaves: occurrence of two isozymes and the differences in their enzymatic and molecular properties. *Plant Cell Physiology*, 30: 987-998.
  - Creelman, R.A., Tierney, M.L. and Mullet, J.E., 1992. Jasmonic acid/methyl jasmonate accumulate in wounded soybean hypocotyls and modulate wound gene expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89: 4938-4941.
  - Costa, M., Civell, P.M., Chaves, A.R. and Martinez, G.A., 2005. Effects of ethephon and 6-benzylaminopurine on chlorophyll degrading enzymes and a peroxidase-linked chlorophyll bleaching during post-harvest senescence of modulated protein phosphatase. *Plant Science*, 264: 1448-1452.
  - Comparot, S.M., Graham, C.M. and Reid, D.M., 2002. Methyl jasmonate elicits a differential antioxidant response in light and dark grown canola (*Brassica napus*) roots and shoots. *Journal of Plant Growth Regulation*, 38: 21-30.
  - Conrath, U., Pieterse, C.M.J. and Mauch-Mani, B., 2002. Priming in plant-pathogen interactions. *Trends in Plant Science*, 7: 210-216.
  - Colombo, M. and Bosisio, E., 1996. Pharmacological activities of *Chelidonium majus* L. (Papaveraceae). *Pharmaceutical Research*, 127: 33-34.
  - Demelo, J.G., Santos, A.G., De Amorim, E.L.C., Do Nascimento, S.C. and De Albuquerque, U.P., 2011. Medicinal plant used as antitumor agents in Brazil: an ethnobotanical approach. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-14.
  - Dhindsa, R.S., Plump-Dhindsa, P. and Thorpe, T.A., 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.
  - Doulatabadian, A., Modarres Sanavi, S.A.M. and Etemadi, F., 2008. Effect of pretreatment of salicylic acid on wheat (*Triticum aestivum* L.) seed germination under salt stress. *Iranian Journal of Plant Biology*, 692-702.
  - Eskandari Zanjani, K., Shirani-Rad, A.M., Moradi-Aghdam, A. and Taherkhani, T., 2012. Effect of salicylic acid application in salt stress conditions on physiological and morphological characteristics of *Artemisia annua* L. *Ecophysiology of Crops*, 4(24): 415-427.
- شوری+سالیسیلیک اسید+برگ بیشترین محتوای کلروفیل و کاروتنوئید مشاهده شد. همچنین بیشترین میزان آنتوسیانین و فلاونوئید به ترتیب در شوری+متیل جاسمونات+برگ و شوری+عدم هورمون+برگ مشاهده شد. میزان پروتئین کل نیز در شوری+سالیسیلیک اسید و شوری+متیل جاسمونات افزایش یافت.
- ### منابع مورد استفاده
- Abo-Kassem, E.D.M., 2007. Effects of salinity: calcium interaction in growth and nucleic acid metabolism in five species of Chenopodiaceae. *Turkish Journal of Botany*, 31: 125-134.
  - Ali, M.B., Hahn, E.J. and Paek, K.Y., 2007. Methyl jasmonate and salicylic acid induced oxidative stress and accumulation of phenolics in *Panax ginseng* bioreactor root suspension cultures. *Molecules*, 12: 607-621.
  - Arnon, D., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplast: Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24(1): 1-15.
  - Babar, A.M., Yu, K.W., Hahn, E.J. and Paek, K.Y., 2006. Methyl jasmonate and salicylic acid elicitation induces ginsenosides accumulation, enzymatic and non-enzymatic antioxidant in suspension culture *Panax ginseng* roots in bioreactors. *Biotic and Abiotic Stress*, 25: 613-620.
  - Baby, J. and Jini, D., 2011. Development of salt stress tolerance plants by gene manipulation of antioxidant enzymes. *Asian Journal of Agricultural Research*, 5: 17-27.
  - Balazova, A., Bilka, F., Blarikova, V. and Bilkova, A., 2008. Effect of salt stress on content of prolin, sanguinarine formation and polyphenol oxidase activity in poppy seedlings. *Acta Facultatis Pharmaceuticae Universitatis Comenianae*, 55: 51-57.
  - Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
  - Brocki Milan, A., Hasani, L., Abdollahi-Mandolkani, B., Darvishzadeh, R., Kheradamand, F. and Hasani, A., 2016. The effect of different methyl-jasmonate concentrations on antioxidant activity and total protein content in basil. *Agricultural Crop*, 18(1): 103-115.
  - Castrillo, M. and Turujillo, I., 1994. Ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase activity and chlorophyll and protein contents in two cultivars of French bean plants

- Noguees, S. and Baker, N.R., 2000. Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean plants growth under enhanced UV-B radiation. *Journal of Experimental Botany*, 51: 1309-1317.
- Popova, L., Ananieva, E., Hristova, V., Christov, K., Georgieva, K., Alexieva, V. and Stoinova, Z.H., 2003. Salicylic acid and methyl jasmonate induced protection on photosynthesis to paraquat oxidative stress. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 18: 133-152.
- Shen, B., Jensen, R.G. and Bohnert, H.J., 1997. Mannitol protects against oxidation by hydroxyl radicals. *Plant Physiology*, 115: 527-532.
- Spence, J.A. and Humphries, E.C., 1972. Effect of moisture supply, root temperature and growth regulators on photosynthesis of isolated root and leaves of sweet potato (*Ipomoea batata*). *Journal of Annals of Botany*, 36: 115-121.
- Sudha, G. and Ravishankar, G.A., 2003. Influence of methyl jasmonate and salicylic acid in the enhancement of capsaicin production in cell suspension cultures of *Capsicum frutescens* Mill. *Current Science*, 85: 1212-1217.
- Szepesi, A., Csiszar, J., Bajkan, S. Gemes, K., Horvath, F., Erdei, L., Deer, A.K., Simon, M.L. and Tari, I., 2005. Role of salicylic acid pre-treatment on the acclimation of tomato plants to salt and osmotic stress, *Acta Biologica Szegediensis*, 49: 123-125.
- Tome, F. and Colombo, M.L., 1995. Distribution of alkaloids in *chelidonium majus* and factors affecting their accumulation. *Phytochemistry*, 40: 37-39.
- Upadhyaya, A., Sankhla, D., Davis, T.D., Sankhla, N. and Smith, B.N., 1985. Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. *Journal of Plant Physiology*, 121: 453-461.
- Venkatesh, K., Govindaraj, S., Ramachandran, A., Kalimuthu, S. and Perumal, E.V., 2011. Effect of ukraine on cell survival and apoptosis in the androgen-independent prostate cancer cell line PC-3. *Environ Pathol Toxicol Oncol*, 30: 11-19.
- Yamamura, S., Ozawa, K., Ohtani, K., Kasai, R. and Yamasaki, K., 1998. Antihistaminic flavones and aliphatic glycosides from *Mentha spicata*. *Phytochemistry*, 48: 131-136.
- Yu, L.J., Lan, W.Z., Qin, W.M. and Xu, H.B., 2001. Effects of salicylic acid on fungal elicitor induced membrane-lipid peroxidation and Taxol production in cell suspension cultures of *Taxus chinensis*. *Process Biochemistry*, 37: 477-482.
- Fathi, G.A. and Esmailpour, B., 2000. Plant growth regulator (principles and application). Translation, Mashhad University Press, 130p.
- Fedina, I.S. and Dimova, L.M., 2000. Methyl jasmonate-induced polypeptides in *Pisum sativum* roots soluble proteins. *Journal of Physiology Desert Plants*, 53(10): 59-65.
- Garratt, L.C., Janagoudr, B.S., Lowe, K.C., Anthony, P., Power, J.B. and Davey M.R., 2002. Salinity tolerance and antioxidant status in cotton cultures. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(4): 502-511.
- Hare, J.D. and Walling, L.L., 2006. Constitutive and jasmonate-inducible traits of datura wrightii. *Journal of Chemical Ecology*, 32: 29-45.
- Heydari, M., Egyptian, F. and Kikha, Z., 2009. Investigation on the effect of salinity stress on nucleic acid metabolism, antioxidant enzyme activity, chlorophyll fluorescence and osmotic regulation of five canola cultivars. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 41(3): 199-212.
- Kang, H.M. and Saltveit, M.E., 2002. Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling leaves and roots are differentially affected by salicylic acid. *Physiologia Plantarum*, 115: 571-578.
- Kim, J.S., Lee, B.H., Kim, S.H., Ok, K.H. and Cho, K.Y., 2006. Response to environmental and chemical signals for anthocyanin biosynthesis in nonchlorophyllous corn (*Zea mays* L.) leaf. *Journal of Plant Biology*, 49: 16-25.
- Kong, J.M., Chia, L.S., Goh, N.K., Chia, T.F. and Brouillard, R., 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64: 923-933.
- Li, L., van Staden, J. and Jager, A.K., 1998. Effect of plant growth regulators on the antioxidant system in seedling of two maize cultivars subjected to water stress. *Plant Growth Regulation* 25: 81-87.
- Maehly, A.C. and Chance, B., 1959. The assay of catalase and peroxidase: 357-425. In: Glick, D., (Ed.). *Methods of Biochemical Analysis* (Vol. 1). Interscience Publishers, New York, 502p.
- Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M. and Dietz, K.J., 2003. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in *Hordeum vulgare*. *Biological Research*, 1: 40-48.
- Michalak, A., 2006. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal Stress. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15: 523-530.
- Mozaffarian, V.A., 2012. Identification of Medicinal and Aromatic Plants of Iran. Farhang Moaser Publishing, 1444p.



## The effect of salicylic acid and methyl-jasmonate on antioxidant properties and physiological traits of greater celandine (*Chelidonium majus* L.) under salinity stress

S. Fabriki-Ourang<sup>1\*</sup> and H. Sadat Shahabzadeh<sup>2</sup>

1\*- Corresponding author, Department of Production and Plant Breeding, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran, E-mail: s.ourang910@gmail.com

2- M.Sc. student, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran

Received: November 2017

Revised: January 2018

Accepted: February 2018

### Abstract

In this study, the effects of salicylic acid and methyl jasmonate as two inducers were studied on antioxidant activity, photosynthetic pigments and flavonoids under salinity stress in *Chelidonium majus* L. This experiment was conducted as a factorial in a completely randomized design with four replications at Imam Khomeini International University during 2017. The elicitors were treated as foliar and mixed with irrigation. The factors studied included elicitors at three levels (distilled water as control, 2 mM salicylic acid, and 100  $\mu$ M methyl jasmonate), salinity stress at two levels, urban water as control (EC=0.62 ds/m), salinity at 30 mM NaCl (EC=3.36 ds/m), and plant organs at three levels (leaf, root, stem). The analysis of variance showed that the main effects of salinity, elicitors, organs and their interactions were significant for most of the traits. The results of mean comparison for elicitors showed that methyl jasmonate increased carotenoid, flavonoids and anthocyanin. Both salicylic acid and methyl-jasmonate treatments reduced the amount and activity of catalase, superoxide dismutase and guaiacol peroxidase enzymes under salinity stress. In mean comparison of the triple interaction effects, salinity+salicylic acid+leaf was the best combination of factors for chlorophyll (1.68 mg.g<sup>-1</sup> FW) and carotenoid (0.54 mg.g<sup>-1</sup> FW) contents. Also, the maximum content for anthocyanin (5.7 OD.gr<sup>-1</sup> FW) was observed in non-salinity+methyl jasmonate+leaf and for flavonoids in salinity+non-hormone (3.42 OD.gr<sup>-1</sup> FW), non-salinity+salicylic acid (3.27 OD.gr<sup>-1</sup> FW) and salinity+methyl jasmonate (3.2 OD.gr<sup>-1</sup> FW) in leaf, respectively. The amount of total protein increased in salinity+salicylic acid (56.72 mg.g<sup>-1</sup> FW) and salinity+methyl jasmonate (53.27 mg.g<sup>-1</sup> FW) in contrast to reduction in salinity+non-hormone (43.35 mg.g<sup>-1</sup> FW). In conclusion, by applying the two mentioned elicitors, greater celandine does not need to increase the antioxidant defense system and will potentially improve the yield of biomass and some secondary metabolites under salinity stress.

**Keywords:** Elicitor, photosynthetic pigments, superoxide dismutase, catalase, guaiacol peroxidase.