

## اثر سالیسیلیک اسید بر پارامترهای رشد، اسمولیت‌ها و پتانسیل اسمزی در گیاه تربچه (*Raphanus sativus* L.) تحت تنش شوری

عفت حسین زاد بهبود<sup>۱</sup>، نادر چا‌پارزاده<sup>۲،۱\*</sup> و کمال الدین دیلمقانی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> تبریز، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، گروه زیست‌شناسی گیاهی

<sup>۲</sup> تبریز، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، گروه پژوهشی بیوتکنولوژی گیاهان شورپسند

<sup>۳</sup> مرند، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرند، گروه زیست‌شناسی گیاهی

تاریخ پذیرش: ۹۱/۹/۱۹

تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۱۷

### چکیده

شوری خاک یک مسئله محیطی جدی است که آثار منفی بر رشد و تولید گیاهان دارد. از سوی دیگر سالیسیلیک اسید یکی از گزینه‌های موثر برای بهبود اثرات تنش می‌باشد که اخیراً از آن به عنوان یک شبه هورمون گیاهی یاد شده است. این مطالعه جهت بررسی آثار تنش شوری (۱۸۰ mM) و سالیسیلیک اسید (۲ mM / ۰) بر پارامترهای رشد و اسمولیت‌های گیاه تربچه (*Raphanus sativus* L.) صورت گرفت. نتایج نشان دادند که سالیسیلیک اسید و تنش شوری هر دو بر رشد گیاه تأثیر منفی داشتند به طوری که اثر تنش شوری توأم با سالیسیلیک اسید روی رشد گیاهان بسیار مشهود بود. تیمار شوری و تیمار شوری به همراه سالیسیلیک اسید موجب افزایش مقدار قندهای محلول در برگ‌ها و ریشه‌ها گردید. اگرچه شوری روی محتوای اسیدهای آمینه آزاد تأثیری نداشت ولی تیمار با سالیسیلیک اسید موجب افزایش آن در برگ‌ها و ریشه‌ها شد. محتوای پروتئین‌های محلول در شرایط شوری، کاهش و با تیمار سالیسیلیک اسید افزایش یافت. هر دو تیمار موجب منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی برگ‌ها شدند.

واژه‌های کلیدی: اسمولیت‌ها، رشد، تربچه، شوری، سالیسیلیک اسید

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۴۱۲-۴۳۲۷۵۴۱، پست الکترونیکی nchapar@azaruniv.ac.ir

### مقدمه

غشاهای سلولی، سمیت متابولیکی، ممانعت از فتوسنتز و کاهش جذب مواد غذایی از عواملی هستند که به رویدادهای نامطلوب در گیاه منتهی می‌شوند (۱۶). تجمع مواد محلول فعال اسمزی مانند کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه آزاد طی تنش شوری، به عنوان مکانیسمی موثر در مقاومت به شوری تایید شده است. سازگاری گونه‌های گیاهی به مقادیر بالای نمک خاک که منجر به منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی محلول خاک می‌شود با تولید و تجمع این ترکیبات در گیاهان همراه می‌گردد (۲۲ و ۲۸). منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی سلول‌ها به عنوان مکانیسمی مهم برای ایجاد مقاومت در گیاهان

تنش شوری یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی است که رشد و تولید گیاهان را محدود می‌کند. شوری با منفی‌تر کردن پتانسیل اسمزی محلول خاک موجب القای تنش آبی می‌شود (۲۳). تنش شوری همچنین با افزایش غلظت یون‌های سمی درون پیکر گیاه منجر به کاهش رشد و تولید گیاه می‌گردد (۲۲). مقادیر بالای یون‌های سمی به ویژه  $Na^+$  و  $Cl^-$  در سیتوزول، بازدارنده بسیاری از فرایندهای متابولیکی سلولی است و این یون‌ها در واكولول‌ها انبار می‌شوند (۶ و ۲۳). تولید گونه‌های فعال اکسیژن، تغییر در متابولیسم نیتروژن و کربن، ناپایداری و تخریب

در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. پس از جوانه زنی، دانه رست‌ها به گلدان‌های دارای پرلیت انتقال داده شدند. با ظهور اولین برگ، تیمار سالیسیلیک در دو سطح شاهد (۰) و ۰/۲ میلی مولار در طی سه روز توسط محلول غذایی هوگلند اصلاح شده از ریشه اعمال شد. پس از آن اعمال شوری با محلول کلرید سدیم در دو سطح شاهد (۰) و ۱۸۰ میلی مولار در شش روز صورت گرفت. گیاهان بیست روزه، برای اندازه‌گیری وزن تر (با ۸ تکرار) و دیگر اندازه‌گیری‌ها (با ۴ تکرار) مورد استفاده قرار گرفتند.

**سنجش پارامترهای رشد:** برای هر تیمار ۸ گیاه انتخاب و ریشه‌ها، برگ‌ها و ساقه‌های گیاهان پس از جداسازی برای حذف املاح از سطوح با آب مقطر شسته شدند. با استفاده از کاغذ جاذب رطوبت آب سطحی خشک و وزن تر و خشک اندام‌ها اندازه‌گیری شد. سطح برگ‌ها با دستگاه سطح سنج برگی و پارامترهای رشد از روابط زیر تعیین گردیدند. این عمل یکبار قبل از تیماردهی و بار دیگر پس از اتمام دوره تیمار دهی صورت گرفت که به عنوان یک دوره ده روزه در نظر گرفته شد.

Relative Growth Rate (RGR) =  $(1/W)(dW/dt)$

Net Assimilation Rate (NAR) =  $(1/L_A)(dW/dt)$

Leaf Area Ratio (LAR) =  $L_A/W$

Specific Leaf Area (SLA) =  $L_A/L_{DW}$

Leaf Weight Ratio (LWR) =  $L_{DW}/W$

Leaf water content per unit Area (LWCA) =  $(L_{FW} - L_{DW})/L_A$

$L_A$  = سطح برگ،  $L_{DW}$  = وزن خشک برگ،  $L_{FW}$  = وزن تر

برگ،  $W$  = وزن خشک گیاه

**سنجش محتوای پروتئین‌های محلول کل:** بافت گیاهی تر با بافر TRIS-HCl همگن و بعد از سانتریفیوژ (دمای ۴ درجه سانتیگراد، سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و مدت ۲۰ دقیقه) مقادیر مشخصی از مایع رویی با معرف برادفورد مخلوط و جذب آن‌ها در طول موج ۵۹۵ nm تعیین گردید

مورد توجه است. تنظیم روابط آبی و تجمع مواد محلول می‌تواند به حفظ هومئوستازی، حذف رادیکال‌های آزاد، پایداری ماکرومولکول‌های پروتئینی و غشاها کمک کند (۱۶ و ۲۸).

سالیسیلیک اسید یا اورتویدروکسی بنزوئیک اسید به عنوان یک ترکیب فنولی، در تنظیم رشد و نمو و جوانه زنی بذرها، فتوسنتز و گلیکولیز، برهم‌کنش با سایر موجودات و پاسخ به تنش‌های محیطی گیاهان نقش مهمی ایفا می‌کند (۱۷ و ۲۹). افزایش مقدار درونی سالیسیلیک اسید در دانه رست‌های نخود بعد از تیمار با کادمیوم به نقش آنتی‌اکسیدانی آن نسبت داده شده است (۳۰). کاربرد سالیسیلیک اسید به صورت برون‌زا در سویا (۲۰)، برنج (۳۱)، گوجه‌فرنگی (۳۴) و *Brassica juncea* (۳۵) منجر به افزایش رشد و تغییرات مثبت در شرایط شوری گردیده است.

بر اساس مطالب فوق و نیز با توجه به روند افزایشی اراضی شور و جمعیت جهانی از یک سو و همچنین افزایش نیاز به تولیدات گیاهان زراعی مقاوم به شوری از جمله تربچه و اهمیت کشت آن از سوی دیگر (۱۰)، طی این مطالعه سعی شد که آثار تنش شوری و سالیسیلیک اسید بر برخی نشانگرهای فیزیولوژیکی گیاه تربچه (*Raphanus sativus* L.) مورد بررسی قرار گیرد. در این پژوهش سعی شده فرضیه اثرات بهبود دهنده سالیسیلیک اسید در شرایط شوری روی گیاهان (منابع بالا) بررسی شود.

## مواد و روشها

به منظور بررسی اثر سالیسیلیک اسید و تنش شوری بر گیاه تربچه، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار طراحی شد. بذرها، تربچه (*Raphanus sativus* L.) با هیپوکلیت ۱/۵ درصد ضدعفونی شده و پس از شست و شوی کامل با آب مقطر درون پتری‌دیش در تاریکی و

**سنجش میزان پتانسیل اسمزی بافت های برگي در حالت عادي و در حالت تورژسانس كامل:** شيره سلولي از بافت های برگي پس از انجماد و تخریب و سانتی‌فیوژ (سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و مدت ۱۵ دقیقه) استخراج و اسمولالیتة با استفاده از روش انجمادی (OSMOMAT 030 GONOTEC) تعیین گردید. برای محاسبه پتانسیل اسمزی از معادله وانتیپوف استفاده گردید. برای اندازه گیری پتانسیل اسمزی در حالت تورژسانس كامل روش بالا اعمال گردید ولی برگ ها برای به دست آوردن محتوای نسبی آب ۱۰۰٪ چند ساعت در محیط سرد در آب مقطر قرار داده شدند (۸).

**تجزیه و تحلیل آماری:** برای انجام تجزیه های آماری از نرم افزار SPSS و Excel استفاده شد. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد جداگانه برای برگ ها و ریشه ها انجام شد.

(۷). با رسم منحنی استاندارد از سرم آلبومین گاوی مقدار نهایی پروتئین های محلول کل براساس میلی گرم بر گرم وزن تر گزارش گردید.

**سنجش محتوای اسیدهای آمینه آزاد:** بافت گیاهی تر با بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مول سرد (pH=۷/۵) همگن و بعد از سانتی‌فیوژ (دمای ۴ درجه سانتیگراد، سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و مدت ۲۰ دقیقه) مقادیری از مایع رویی با معرف نین هیدرین مخلوط و مدتی در بن ماری جوشان قرار داده شد. بعد از سرد شدن جذب نمونه ها در طول موج ۵۷۰ nm تعیین گردید (۱۵). با رسم منحنی استاندارد از گلیسین مقدار اسیدهای آمینه آزاد بر اساس میکروگرم بر گرم وزن تر گزارش گردید.

**سنجش محتوای قند های محلول:** بافت گیاهی تر با اتانول همگن و بعد از سانتی‌فیوژ (سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه و مدت ۱۵ دقیقه) مقادیری از مایع رویی با محلول آنترون مخلوط و در بن ماری در حال جوش قرار داده شد. بلافاصله بعد از توقف واکنش در آب یخ جذب نمونه ها در طول موج ۶۲۵ nm تعیین گردید (۳۲). با رسم منحنی استاندارد از گلوکز مقدار قندهای محلول براساس میلی گرم بر گرم وزن تر گزارش شد.

جدول ۱- مقادیر سطح برگ، RGR، LAR، SLA، LWR، LWCA، پتانسیل اسمزی و پتانسیل اسمزی در حالت تورژسانس كامل. مقادیر میانگین ۴ تکرار  $\pm$  انحراف معیار هستند. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح  $P < 0.05$  می‌باشد.

شاگرد	کلرید سدیم	سالیسیلیک اسید	سالیسیلیک
سطح برگ (cm <sup>2</sup> )	۷/۳۸ $\pm$ ۰/۷۲ <sup>a</sup>	۶/۳۰ $\pm$ ۰/۸۲ <sup>b</sup>	۵/۲۷ $\pm$ ۰/۸۷ <sup>c</sup>
RGR (Kg Kg <sup>-1</sup> day <sup>-1</sup> )	۰/۰۸۱ $\pm$ ۰/۰۰۳ <sup>a</sup>	۰/۰۷۸ $\pm$ ۰/۰۰۴ <sup>ab</sup>	۰/۰۷۶ $\pm$ ۰/۰۰۴ <sup>bc</sup>
NAR (Kg.m <sup>-2</sup> d <sup>-1</sup> )	۰/۰۰۴۶ $\pm$ ۰/۰۰۰ <sup>a</sup>	۰/۰۰۴۷ $\pm$ ۰/۰۰۱ <sup>a</sup>	۰/۰۰۴۹ $\pm$ ۰/۰۰۱ <sup>a</sup>
LAR (m <sup>2</sup> .Kg <sup>-1</sup> )	۱۷/۹۵۱ $\pm$ ۳/۱۸۹ <sup>b</sup>	۱۷/۷۶۲ $\pm$ ۴/۲۹ <sup>b</sup>	۱۶/۳۴۶ $\pm$ ۳/۸۶۸ <sup>b</sup>
SLA (m <sup>2</sup> .Kg <sup>-1</sup> )	۶۶/۷۰۶ $\pm$ ۹/۶۱ <sup>b</sup>	۷۲/۹۰۶ $\pm$ ۱۴/۳۵ <sup>b</sup>	۷۹/۱۴۴ $\pm$ ۱۵/۳۴ <sup>b</sup>
LWR (Kg Kg <sup>-1</sup> )	۰/۲۷۳ $\pm$ ۰/۰۵۸ <sup>a</sup>	۰/۲۴۵ $\pm$ ۰/۰۴۶ <sup>ab</sup>	۰/۲۲۵ $\pm$ ۰/۰۶۲۵ <sup>ab</sup>
LWCA (Kg.m <sup>-2</sup> )	۰/۱۵۷ $\pm$ ۰/۰۱۴ <sup>a</sup>	۰/۱۶۴ $\pm$ ۰/۰۲۴ <sup>a</sup>	۰/۱۶۴ $\pm$ ۰/۰۳۴ <sup>a</sup>
پتانسیل اسمزی (MPa)	-۰/۶۰۲ $\pm$ ۰/۰۰۲ <sup>a</sup>	-۰/۷۰۲ $\pm$ ۰/۰۰۶ <sup>b</sup>	-۰/۶۹۷ $\pm$ ۰/۰۰۵ <sup>b</sup>
پتانسیل اسمزی در حالت تورژسانس	-۰/۲۵۶ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>a</sup>	-۰/۴۱۳ $\pm$ ۰/۰۳ <sup>c</sup>	-۰/۳۱۷ $\pm$ ۰/۰۳ <sup>b</sup>

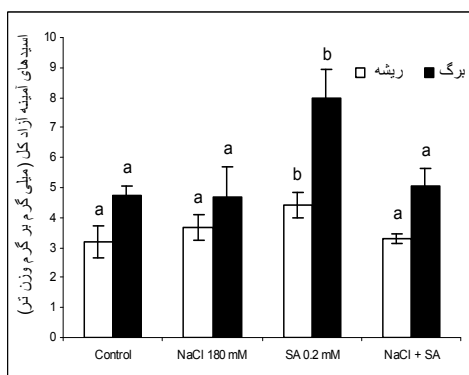
## نتایج

**تجزیه و تحلیل رشد:** با توجه به جدول ۱ تیمار شوری، تیمار سالیسیلیک اسید و نیز تیمار شوری همراه با سالیسیلیک اسید آثار متفاوت در پارامترهای رشد نشان دادند. عدم تاثیر معنی دار شوری روی RGR و کاهش معنی دار آن در تیمار سالیسیلیک اسید مشهود است. در حالیکه RGR و NAR به صورت معنی دار تحت تیمار شوری همراه با سالیسیلیک اسید کاهش یافتند ولی SLA و LAR افزایش معنی داری نشان دادند. LWCA تحت هیچ کدام یک از تیمارها تغییر نیافت.

**پتانسیل اسمزی بافت های برگي در حالت عادي و در حالت تورژسانس کامل:** تیمار سالیسیلیک اسید پتانسیل اسمزی در حالت تورژسانس کامل را منفی تر نمود. این در حالی بود که هیچ تغییری در پتانسیل اسمزی برگ در حالت عادی به وجود نیاورد. تیمار شوری و تیمار شوری همراه سالیسیلیک اسید پتانسیل اسمزی در حالت عادی و در حالت تورژسانس کامل را به صورت معنی دار منفی تر نمود (جدول ۱).

سالیسیلیک اسید نیز نتایج مشابهی در پی داشتند (شکل ۱). بر خلاف تیمارهای دیگر و شرایط شاهد میزان قند های محلول ریشه ها در تیمار شوری همراه با سالیسیلیک اسید بیشتر از برگ ها بود.

**اسیدهای آمینه آزاد کل:** میزان اسیدهای آمینه آزاد در تیمار با سالیسیلیک اسید در برگ و در ریشه به صورت معنی دار افزایش یافت. این درحالی است که شرایط شوری تغییری در میزان اسیدهای آمینه آزاد کل برگ و ریشه به وجود نیاورد. و تیمار شوری همراه با سالیسیلیک اسید نیز نتایج مشابه با نتایج تنش شوری را به همراه داشت (شکل ۲).

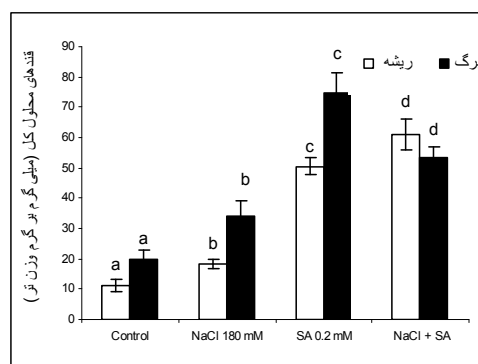


شکل ۲- محتوای اسیدهای آمینه آزاد کل در برگ ها و ریشه ها. مقادیر میانگین ۴ تکرار  $\pm$  انحراف معیار هستند. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح  $P < 0.05$  است.

**پروتئین های محلول کل:** میزان پروتئین های محلول کل در برگ، تحت تیمار سالیسیلیک اسید تغییری نیافت. صورتیکه در ریشه به صورت معنی دار افزایش یافت. تیمار شوری میزان این دسته از ترکیبات را در برگ و ریشه به صورت معنی دار کاهش داد. تیمار شوری همراه با سالیسیلیک اسید میزان پروتئین های محلول کل در مقایسه با شاهد در برگ کاهش و در ریشه افزایش یافت (شکل ۳).

## بحث

رشد: با توجه به داده های جدول ۱ تنش شوری باعث کاهش معنی دار در مقدار RGR نشد ولی این تاثیر در



شکل ۱- محتوای قندهای محلول کل در برگ ها و ریشه ها. مقادیر میانگین ۴ تکرار  $\pm$  انحراف معیار هستند. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح  $P < 0.05$  است.

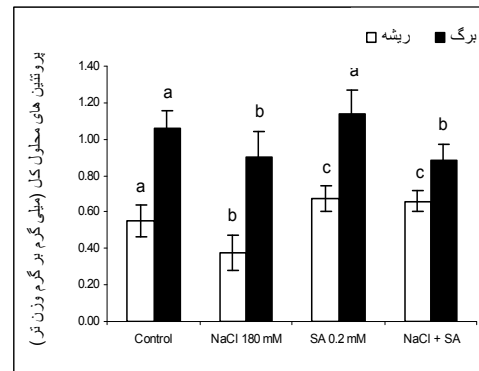
**قندهای محلول کل:** میزان قندهای محلول کل در تیمار با سالیسیلیک اسید در برگ و ریشه به صورت معنی دار افزایش یافت. تیمار شوری و تیمار شوری همراه با

گیاه را نشان می‌دهد. در این مطالعه تیمارها نقش منفی روی LWR اعمال کرده‌اند که این تاثیر در تیمار سالیسیلیک اسید معنی‌دار ظاهر شده است. کاهش که در این مطالعه در سطح برگ تیمارها به دست آمد از اولین واکنش‌هایی است که در گیاهان در پاسخ به تنش مشاهده می‌شود (۸، ۹ و ۲۴). شوری و تیمار سالیسیلیک اسید هر دو به تنهایی در این مطالعه تاثیر منفی روی رشد داشتند و به نظر می‌رسد در تیمار شوری همراه با سالیسیلیک اسید اثرات آنها روی رشد (RGR) افزایشی بوده است. در شرایط شوری خشکی فیزیولوژیکی، سمیت و عدم تعادل یونی به کاهش فعالیت‌های متابولیکی و در نهایت کاهش رشد گیاه منتهی می‌شود (۲۲). از طرفی تنش اکسیداتیو از پیامدهای تیمار شوری است که با افزایش رادیکال‌های اکسیداتیو با آسیب به دستگاه فتوسنتزی و پروتئین‌سازی تاثیر منفی بر رشد و تولید را مضاعف می‌کنند (۵).

در ارتباط با سالیسیلیک اسید نتایج حاصل با نتایج اعمال سالیسیلیک اسید بر *Brassica juncea* منطبق است که در آن غلظت‌های بالای این ترکیب منجر به تخریب و مقادیر اندک آن منجر به ارتقای وضعیت گیاه گردید (۱۲). بنابراین می‌توان چنین نتیجه گرفت که سالیسیلیک اسید اثر دوگانه‌ای بر متابولیسم گیاه دارد. این ترکیب در غلظت‌های پایین به صورت یک آنتی‌اکسیدان، با فعال نمودن و افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، گونه‌های فعال حاصل از تنش اکسیداتیو را جاروب کرده و منجر به بهبود وضعیت حاصل از تنش می‌گردد (۱ و ۲۶). اما در مقابل، در غلظت‌های بالا، نه تنها به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل نمی‌کند بلکه به عنوان یک اکسیدان با ایجاد تنش اکسیداتیو (داده‌ها نشان داده نشده‌اند) و تاثیر بر اجزای سلولی به نتایج منفی در گیاه منتهی می‌گردد (۱۲ و ۱۳).

عدم تغییر در RGR تحت تنش شوری مقاومت این گیاه را در برابر شوری نشان می‌دهد. همان‌طور که در جدول ۱

تیمار سالیسیلیک اسید و تیمار شوری همراه سالیسیلیک اسید معنی‌دار است.



شکل ۳- محتوای پروتئین‌های محلول کل در برگ‌ها و ریشه‌ها. مقادیر میانگین ۴ تکرار  $\pm$  انحراف معیار هستند. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح  $P < 0.05$  است.

به دلیل اینکه RGR حاصل ضرب NAR و LAR می‌باشد لذا تاثیر دو فاکتور اخیر می‌تواند در مقدار RGR نمود پیدا کند. داده‌ها حاکی است که تنها در تیمار شوری همراه با سالیسیلیک اسید مقادیر NAR و LAR تغییر معنی‌دار پیدا کرده است. در این تیمار کاهش زیاد NAR بیانگر تاثیر پذیری زیاد رشد از فرایندهای فتوسنتز و تنفس است. LAR حاصل عملکرد مشترک SLA و LAR می‌باشد که داده‌های جدول ۱ نشانگر تاثیر مثبت LAR روی RGR به ویژه در تیمار شوری همراه با سالیسیلیک اسید است که تاثیر به طور عمده از طریق SLA می‌باشد اگرچه در تیمار سالیسیلیک اسید تنها LWR کاهش معنی‌دار پیدا کرده است. SLA میزان سطح برگ یک گیاه را بر اساس وزن خشک برگ‌ها را نشان می‌دهد. در یک گیاه کاهش SLA با تشکیل برگ‌های ضخیم ولی افزایش SLA با تشکیل برگ‌های نازک همراه است. در این مطالعه افزایش مقدار SLA در تیمار شوری همراه با سالیسیلیک اسید بیانگر تغییر در ضخامت برگ‌هاست. با وجود کاهش سطح برگ‌ها افزایش SLA بیانگر تاثیر زیاد کاهش ماده خشک برگ‌ها در مقایسه با سطح برگ‌هاست. LWR میزان اختصاص ماده خشک به برگ‌ها را در مقایسه با کل

گشته که به دنبال آن تغییری در میزان اسیدهای آمینه آزاد دیده نمی‌شود.

مشابه نتایج به دست آمده در این پژوهش، تیمار سالیسیلیک اسید به افزایش محتوای اسیدهای آمینه در باقلا منتهی شده است. این اسمولیت‌ها با افزایش فشار اسمزی سیتوپلاسم و افزایش شارش آب به داخل سلول در بافت‌ها و اندام‌های مختلف می‌تواند منجر به بهبود آثار منفی حاصل از تنش گردد (۴). با توجه به جدول ۱ و آثار منفی سالیسیلیک اسید بر پارامترهای رشد به نظر می‌آید گیاه راهبردی را در پیش گرفته است تا بتواند با افزایش اسمولیت‌ها و بهبود شرایط آبی از تاثیر منفی هر چه بیشتر سالیسیلیک اسید ممانعت کند.

**پروتئین‌های محلول کل:** با مراجعه به نتایج به دست آمده در شکل ۳، تنش شوری میزان پروتئین‌های محلول در برگ‌ها و ریشه‌ها را کاهش داد. تنش شوری به صورت منفی بر متابولیسم پروتئین تاثیر می‌گذارد. این کاهش می‌تواند به دلیل کاهش سنتز پروتئین، تسریع پروتئولیز، کاهش در اسیدهای آمینه فراهم و یا واسرشته شدن آنزیم‌های در گیر در سنتز پروتئین باشد (۲۵). از سوی دیگر، سطوح بالای سدیم و نسبت بالای سدیم به پتاسیم در طی تنش شوری، واکنش‌های آنزیمی مختلفی را در سیتوپلاسم تحت تاثیر قرار می‌دهند. گزارش‌هایی وجود دارد که حساسیت به شوری با نسبت بالای سدیم به پتاسیم سیتوزولی ارتباط مستقیم دارد (۵). پتاسیم بیش از ۵۰ آنزیم را فعال کرده و عنصری مهم در سنتز پروتئین به شمار می‌آید (۲۲). بنابراین کاهش در محتوای پروتئین‌ها را می‌توان به عنوان اثر مخرب سدیم در نظر گرفت که با تاثیر منفی بر آنزیم‌های موثر در سنتز پروتئین منجر به کاهش محتوای آن شده است. نتایج مشابه در *Raphanus sativus* (۲۵) و *Phaseolus vulgaris* (۱۹) نیز مشاهده شده است.

مطابق با شکل ۳، افزایش پروتئین‌های محلول توسط سالیسیلیک اسید و نیز تیمار شوری همراه با سالیسیلیک

آمده است این تنش در میزان NAR, LWR, LWCA, SLA, LAR نیز تاثیری نداشت.

**قندهای محلول کل:** افزایش قندهای محلول در تنش شوری در حفاظت و تنظیم اسمزی، ذخیره کربنی، جاروب رادیکال‌های آزاد، حفاظت از غشاها و پروتئین‌های سلول‌های در معرض شوری و کاهش تجمع پروتئین‌های واسرشته نقش بسزایی دارد (۲۲). هم‌چنین گزارش شده است طی تنش شوری میزان آنزیم سوکروز فسفات سنتاز و آنزیم‌های تجزیه‌کننده نشاسته در اندام هوایی و نیز در ریشه افزایش می‌یابد. این روند با افزایش غلظت کلرید سدیم القا شده و به تجزیه نشاسته و افزایش قندها می‌انجامد (۱۱). طبق شکل ۱، میزان قندهای محلول برگ و ریشه طی تیمار سالیسیلیک اسید و تنش شوری افزایش یافت که با نتایج به دست آمده در برگ‌ها و ریشه *Oryza sativa* مشابه می‌باشد (۲۷).

افزایش قندهای محلول طی تیمار سالیسیلیک اسید و نیز تیمار این ترکیب همراه با تنش شوری در ذرت نیز گزارش شده است (۲۱). در گزارش‌هایی که سالیسیلیک اسید به عنوان عامل بهبود دهنده آمده است، گمان می‌رود افزایش قند به دلیل افزایش میزان کلروفیل و متعاقب آن افزایش بازده دستگاه فتوسنتزی باشد (۲۱ و ۳۵). اما در این پژوهش با توجه به آثار مخرب سالیسیلیک اسید افزایش میزان قندهای محلول را می‌توان با اثر تحریکی سالیسیلیک اسید بر آنزیم‌های تجزیه‌کننده نشاسته توجیه نمود.

**اسیدهای آمینه آزاد کل:** اسیدهای آمینه‌ای که طی تنش شوری به سرعت تجمع می‌یابند تنظیم اسموتیکی را به عهده داشته و به عنوان منابع در دسترس برای نیتروژن و کربن به حساب می‌آیند (۱۸). با توجه به شکل ۲، تیمار شوری و تیمار شوری همراه با سالیسیلیک اسید تغییری در میزان اسیدهای آمینه به وجود نیاوردند. به نظر می‌رسد کاهش محتوای پروتئین‌های محلول برگ‌ها و ریشه‌ها در شرایط شوری (شکل ۳) منجر به ممانعت سنتز پروتئین‌ها

(۱۱ و ۱۴). افزایش در غلظت نمک محیط به افزایش اسمولالیتیه برگ منتهی می‌شود که انعکاسی از افزایش یون‌ها در بافت‌ها می‌باشد. در هالوفیت‌های دولپه‌ای تنظیم روابط آبی و توانایی منفی‌تر کردن پتانسیل اسمزی عوامل تعیین‌کننده پاسخ‌های رشد هستند (۳). منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی برگ‌ها در تیمار شوری همراه با سالیسیلیک اسید را نیز می‌توان به تجمع یون‌ها و مواد محلول همچون پرولین (۳۳)، قندهای محلول‌های و غیره نسبت داد.

به عنوان نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت در شرایط این تجربه استفاده از سالیسیلیک اسید برخلاف انتظار نه تنها تاثیر مثبتی بر بیشتر پارامترهای مورد نظر نداشت بلکه آثار حاصل از شوری را نیز شدت بخشید. بنابراین احتمال دارد این ترکیب در یک حالت وابسته به گونه گیاهی، غلظت مورد استفاده و برهمکنش با نوع تنش عمل نماید. تعیین غلظت مناسب از این ترکیب جهت تیمار و ارتقای کیفیت و ایجاد مقاومت در گیاه در برابر تنش‌های محیطی بسیار ضروری به نظر می‌آید. با توجه به نتایج حاصل از پتانسیل اسمزی، گیاه تربچه برای کاستن از اثرات شوری با منفی‌تر کردن پتانسیل اسمزی در روابط آبی ایجاد تغییر می‌کند تا مقاومت نسبی به شوری داشته باشد.

اسید در ریشه مشاهده می‌شود. تاثیر افزایشی در مقدار پروتئین‌های برگ‌های گیاه فلفل در تیمار با سالیسیلیک نیز گزارش شده است (۲). سالیسیلیک اسید در تولید پروتئین‌های دفاعی و انواع متفاوتی از کینازها و روبیسکو تاثیرگذار می‌باشد (۲۸). احتمال می‌رود سالیسیلیک اسید بتواند با تاثیر بر آنزیم‌های مسیر سنتزی و یا تجزیه پروتئین‌ها در افزایش میزان پروتئین‌ها دخالت داشته باشد.

### پتانسیل اسمزی در حالت عادی و در حالت تورژسانس

**کامل:** منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی همراه با افزایش تجمع مواد محلول، به عنوان مکانیسمی مهم برای ایجاد مقاومت در گیاهان مورد توجه است. افزایش فشار اسمزی در گیاهان تحت تنش می‌تواند نتیجه تجمع یون‌هایی مانند سدیم، کلر و غیره و یا در نتیجه تجمع اسمولیت‌های آلی باشد. تنظیم اسمزی روابط آبی و تجمع مواد محلول می‌تواند به حفظ هومئوستازی، حذف رادیکال‌های آزاد، پایداری پروتئین‌ها و غشاها کمک کند (۱۶ و ۲۷).

در مطالعه حاضر پتانسیل اسمزی و پتانسیل اسمزی در حالت تورژسانس کامل در شرایط شوری و تیمار شوری همراه با سالیسیلیک اسید منفی‌تر شد. در شرایط شوری، منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی و پتانسیل اسمزی در حالت تورژسانس کامل در گیاهان دیگر نیز مشاهده شده است

### منابع

۱. شبانی ل، احسان پورع. ا، ۱۳۸۸، القاء آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ترکیبات فنولیک و فلاونوئید در کشت در شیشه شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra L.*) با استفاده از متیل جاسمونات و سالیسیلیک اسید، مجله زیست‌شناسی ایران، ۲۲ (۴): ۶۹۱-۷۰۳.
۲. مهدویان ک، قربانلی م، منوچهری کلاتری خ، احمدی موسوی ع، ۱۳۸۷، اثر سالیسیلیک اسید در تخفیف اثرات باندهای مختلف پرتو فرابنفش بر جوانه زنی و سایر پارامترهای رشد گیاه فلفل (*Capsicum annum L.*)، مجله زیست‌شناسی ایران، ۲۱ (۵): ۸۱۹-۸۲۸.
3. Ajmal Khan, M., Ungar, I.A. and Showalter, A.M. (2000) The effect of salinity on the growth, water status, and ion content of a leaf succulent perennial halophyte, *Suaeda fruticosa* (L.) Forssk. *Journal of Arid Environments* 45: 73-84.
4. Azooz, M. (2009) Salt stress mitigation by seed priming with salicylic acid in two faba bean genotypes differing in salt tolerance. *International Journal of Agriculture and Biology* 11: 343-350.
5. Bhutta, W.M. (2011) Antioxidant activity of enzymatic system of two different wheat

- (*Triticum aestivum* L.) cultivars growing under salt stress. *Plant, Soil and Environment* 57:101-107.
6. Blumwald, E., Aharon, G.S. and Apse, M.P. (2000) Sodium transport in plant cells. *Biochimica et Biophysica Acta* 1465: 140-151.
  7. Bradford, M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye Binding. *Analytical Biochemistry* 72:248-254.
  8. Chaparzadeh, N., Khavari-nejad, RA., Navari-Izzo, F. and Izzo, R. (2003) Water relations and ionic balance in *Calendula officinalis* L. under salinity conditions. *Agrochimica* 47: 69-79.
  9. Chartzoulakis, K. and Klapaki, G. (2000) Response of two greenhouse pepper hybrids to NaCl salinity during different growth stages. *Scientia Horticulturae* 86 247-260.
  10. Curtis, I.S. (2003) The noble radish: past, present and future. *Trends in Plant Science* 8: 305-307.
  11. Dubay, R.S. and Singh, A.K. (1999) Salinity induces accumulation of soluble sugars and alter the activity of sugar metabolizing enzymes in rice plants. *Biologia Plantarum* 42: 233- 239.
  12. Fariduddin, Q., Hayat, S. and Ahmad, A. (2003) Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity, and seed yield in *Brassica juncea*. *Photosynthetica* 41: 281-284.
  13. Ghorbani Javid, M., Sorooshzadeh, A., Moradi, F., Modarres Sanavy, S.A.M. and Allahdadi, I. (2011) The role of phytohormones in alleviating salt stress in crop plants. *Australian Journal of Crop Science* 5:726-73
  14. Gimeno, V., Syvertsen, J.P., Nieves, M., Simo, I., Martinez, V. and Garcia-Sanchez, F. (2009) Additional nitrogen fertilization affects salt tolerance of lemon trees on different rootstocks. *Scientia Horticulturae* 121: 298-305.
  15. Harding, V.J. and Maclean, R.M. (1916) The ninhydrin reaction with amines and amides. *Journal of Biological Chemistry* 25: 337-350.
  16. Hasegava, P.M., Bressan, R.A., Kung Zhu, J. and Bohnert, H.J. (2000) Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 51:463-99.
  17. Hayat, Q., Hayat, S., Irfana, M. and Ahmad, A. (2010) Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. *Environmental and Experimental Botany* 68: 14-25.
  18. Kaya, C., Tuna, A.L., Ashraf, M. and Altunlu, H. (2007) Improved salt tolerance of melon (*Cucumis melo* L.) by the addition of proline and potassium nitrate. *Environmental and Experimental Botany* 60: 397-403.
  19. Khadri, M., Tejera, N.A. and Lluch, C. (2007) Sodium chloride-ABA interaction in two common bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars differing in salinity tolerance. *Environmental and Experimental Botany* 60: 211-218.
  20. Khan, W., Prithviraj, B. and Smith, D.L. (2003) Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. *Journal of Plant Physiology*, 160: 485-492.
  21. Khodarry, S.E.A. (2004) Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed maize plants. *International Journal of Agriculture and Biology* 6:5-8.
  22. Kumer Parida, A. and Bandhu Dasa, A. (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60:324-349.
  23. Mahajan, S. and Tuteja, N. (2005) Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 444: 139-158.
  24. Marcelis, L.F.M. and Hooijdonk, J.V. (1999) Effect of salinity on growth, water use and nutrient use in radish (*Raphanus sativus* L.). *Plant and Soil* 215: 57-64.
  25. Muthukumarasamy, M., Dutta Gupta, S. and Panneerselvam, R. (2000) Influence of triadimefon on the metabolism of NaCl stressed radish. *Biologia Plantarum* 43:67-72.
  26. Mutlu, S., Atici, O., and Nalbantoglu, B. (2009) Effects of salicylic acid and salinity on apoplastic antioxidant enzymes in two wheat cultivars differing in salt tolerance. *Biologia Plantarum* 34: 334-338
  27. Nemati, I., Moradi, F., Gholizadeh, S., Esmaili, M.A. and Bihamta, M.R. (2011) The effect of salinity stress on ions and soluble sugars distribution in leaves, leaf sheaths and roots of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Plant, Soil and Environment* 57: 26-33.
  28. Parvaiz, A. and Satyawati, S. (2008) Salt stress and phyto-biochemical responses of plants. *Plant, Soil and Environment* 54: 89-99.



29. Popova, L., Pancheva T. and Uzunova, A. (1997) Salicylic acid: properties, biosynthesis and physiological role. *Bulgarian Journal of Plant Physiology* 23:85–93.
30. Popova, L.P., Maslenkova, L.T., Yordanova, R.Y., Ivanova, A.P., Krantev, A.P., Szalai, G., Janda T. (2009) Exogenous treatment with salicylic acid attenuates cadmium toxicity in pea seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry* 47:224-231.
31. Razack Mohammed, A. and Tarpley, L. (2011) Characterization of rice (*Oryza sativa* L.) physiological responses to  $\alpha$ -tocopherol, glycine betaine or salicylic acid application. *Journal of Agricultural Science* 3: 3-13.
32. Roe, J.H. (1955) The determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent. *Journal of Biological Chemistry* 212: 335-346.
33. 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
34. Stevens, J., Senaratna, T. and Sivasithamparam, K. (2006) Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): associated changes in gas exchange, water relations and membrane stabilization. *Plant Growth Regulation* 49:77–83.
35. Yusuf, M., Aiman Hasan, S., Ali, B., Hayat, S., Fariduddin, Q. and Ahmad, A. (2008) Effect of Salicylic Acid on Salinity-induced Changes in *Brassica juncea*. *Journal of Integrative Plant Biology* 50: 1096–1102.

## Effect of salicylic acid on growth parameters, osmolytes and osmotic potential in radish (*Raphanus sativus* L.) under salt stress

Hosseinazad Behboud E.<sup>1</sup>, Chaparzadeh N.<sup>1,2</sup> and Dilmaghani K.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Plant Biology Dept., Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, I.R. of Iran

<sup>2</sup>Halophytes Biotechnology Center, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, I.R. of Iran

<sup>3</sup> Plant Biology Dept., Marand Branch-Azad Islamic University, Marand, I.R. of Iran

### Abstract

Soil salinity is a serious environmental problem that has negative effect on plants growth and production. On the other hand, salicylic acid is one of strong candidates for stress ameliorators that have been recently recognized as a plant hormone like substance. This study was conducted to investigate effects of salt stress (180 mM) and salicylic acid (0.2 mM) on growth parameters and osmolytes in radish (*Raphanus sativus*) plant. Results released that salicylic acid and salt stress had negative effect on growth parameters. The effect of salt stress with salicylic acid on growth of plants was obvious. Salt stress and also salicylic acid increased soluble sugars of leaves and roots. Whereas salt stress didn't have any effect on amino acids, salicylic acid caused to increase that in leaves and root tissues. Content of soluble proteins decreased under salt stress and increased by salicylic acid treatment. Both of treatments caused more negative osmotic potential.

**Key words:** Osmolytes, Growth, Radish (*Raphanus sativus* L.), Salinity, Salicylic acid