

## بررسی مقایسه‌ای پاسخ‌های بیوشیمیایی جمعیت‌های مختلف زعفران مزروعی به تنش

### شوری و نقش سالیسیلیک اسید در بهبود اثر تنش

سارا ترابی پاشایی<sup>۱</sup>، وحید نیکنام<sup>۱\*</sup>، حسن ابراهیم زاده<sup>۱</sup> و گل اندام شریفی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> تهران، دانشگاه تهران، پردیس علوم، دانشکده زیست‌شناسی، قطب تبارزائی موجودات زنده ایران

<sup>۲</sup> تهران، بنیاد دانشنامه نگاری ایران

تاریخ پذیرش: ۹۵/۵/۱۱

تاریخ دریافت: ۹۴/۶/۱۸

#### چکیده

در پژوهش حاضر اثر تنش شوری با غلظت‌های ۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی مولار کلرید سدیم بر برخی پارامترهای بیوشیمیایی در برگ سه جمعیت زعفران مزروعی (نطنز، قائنات، دیهوک) مورد مقایسه قرار گرفت و اثر بهبود دهندگی سالیسیلیک اسید به صورت افشانه در دو غلظت ۰/۵ و ۱ میلی مولار مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که در هر سه منطقه محتوای پراکسید هیدروژن، مالون دی آلدئید و پرولین در گیاهان تنش دیده افزایش یافت و تیمار سالیسیلیک اسید در منطقه نطنز باعث کاهش آنها شد. در منطقه نطنز فعالیت زیماهی‌های پاداکساینده (پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پلی فنول اکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز) ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت و تیمار سالیسیلیک اسید با هر دو غلظت منجر به کاهش فعالیت در گیاهان تنش دیده شد. در جمعیت قائنات بیشترین فعالیت زیماهی‌ها در بالاترین غلظت نمک مشاهده شد. سالیسیلیک اسید با غلظت ۱ میلی مولار فعالیت زیماهی‌ها را کاهش داد. بطور کلی به نظر می‌رسد جمعیت قائنات مقاوم‌ترین جمعیت است و سالیسیلیک اسید می‌تواند در گیاهان تحت تیمار سدیم کلرید منجر به بهبود تنش اکسایشی ناشی از شوری شود.

واژه‌های کلیدی: تنش، شوری، زعفران، سالیسیلیک اسید، زیماهی‌های پاداکساینده

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۶۱۱۱۳۶۳۷-۰۲۱، پست الکترونیکی: [vniknam@khayam.ut.ac.ir](mailto:vniknam@khayam.ut.ac.ir)

#### مقدمه

(۲۸). امروزه شوری خاک یکی از مهمترین تنش‌های غیر زیستی است که بر تولید و کیفیت محصولات کشاورزی تاثیر نامطلوب دارد. سمیت یونی و تنش اسمزی که در شرایط تنش شوری ایجاد می‌شود، منجر به برهم خوردن تعادل متابولیسمی سلول شده و در نتیجه آن تنش اکسایشی رخ می‌دهد (۵۰). تنش اکسایشی یک پدیده فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی پیچیده است که حاصل تولید بیش از اندازه و تجمع انواع فعال اکسیژن می‌باشد و در گیاهان عالی، تحت تنش‌های زیستی و غیر زیستی رخ می‌دهد (۱۸). انواع فعال اکسیژن علاوه بر آسیبی که به یاخته می‌رسانند، تحت شرایط تنش به عنوان پیک ثانویه عمل کرده و نقش

زعفران مزروعی (*Crocus sativus* L.) گیاهی علفی از تیره زنبقیان است. زعفران به عنوان گرانترین محصول کشاورزی و دارویی جهان جایگاه ویژه‌ای در بین محصولات صنعتی و صادراتی ایران دارد و در حال حاضر ایران جزو بزرگترین تولیدکننده‌ها و صادرکننده‌های زعفران در جهان است و بیش از ۸۰ درصد تولید جهانی این محصول گرانبها به ایران اختصاص دارد (۱).

رشد و عملکرد گیاهان زراعی در بسیاری از مناطق دنیا توسط تنش‌های زیستی و غیرزیستی محدود می‌شود، به طوریکه تحت تاثیر تنش‌های غیر زیستی، عملکرد گیاهان زراعی در سراسر جهان ۵۰٪ ظرفیت ژنتیکی آنها است

با توجه به اینکه بخش اعظم زعفران مصرفی جهان در ایران تولید می‌شود و از طرفی بسیاری از مناطق ایران را زمین‌های خشک و نیمه خشک تشکیل داده و از ویژگی‌های این گونه مناطق، تبخیر زیاد و نزولات جوی اندک است که منجر به تجمع املاح مختلف در لایه‌های سطحی خاک می‌گردد (۲)، بررسی پاسخ این گیاه مهم اقتصادی به شوری اهمیت فراوان دارد. این پژوهش با هدف بررسی مقایسه‌ای برخی پاسخ‌های بیوشیمیایی به تنش شوری در سه جمعیت مختلف زعفران در ایران و با تأکید بر انتخاب مقاوم‌ترین جمعیت انجام شد. بعلاوه اثر سالیسیلیک اسید به عنوان یک تنظیم‌کننده بر بهبود اثرات مضر تنش شوری مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روشها

در این پژوهش بانه‌های زعفران از سه منطقه ایران شامل نطنز (شهرستانی از استان اصفهان در مرکز ایران)، قائنات (شهرستانی از خراسان جنوبی در شرق ایران) و دیهوک (از توابع شهرستان طبس در غرب خراسان جنوبی در شرق ایران که پیشتر جزئی از استان یزد بوده است) تهیه شدند. با توجه به اینکه بیشترین مقدار زعفران ایران در استان خراسان تولید می‌شود، دو جمعیت از مناطق مختلف خراسان جنوبی و یک جمعیت از استان اصفهان، با فاصله جغرافیایی مناسب برای مقایسه میزان مقاومت آنها به تنش شوری انتخاب شد. اول مهر ماه بانه‌های زعفران در پرلیت کاشته شد و به مدت ۱۵ روز یک روز در میان با آب معمولی آبیاری شد. پس از جوانه زنی بانه‌ها و مشاهده برگ‌های سبز زعفران، گیاهان به مدت یک هفته تحت غذادهی با محلول غذایی ۱/۲ هوگلند قرار گرفتند. سپس تیمارهای شوری با غلظتهای (صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی مولار) کلرید سدیم محلول در هوگلند ۱/۲ اضافه و اعمال شد. به منظور جلوگیری از تجمع نمک پس از دو بار اعمال تیمار تنش شوری یک بار شست و شو با آب مقطر صورت گرفت و همچنین پیش از اعمال تیمار ۱۰۰

مهمی در انتقال پیام‌های تنش ایفا می‌کنند (۲۵). به منظور کم کردن آسیب‌های ناشی از تنش‌های اکسیداتیو، گیاهان مجهز به سازگان دفاعی پاداکسایشی هستند که شامل ترکیب‌های غیر زیماهی ای مانند کاروتنوئید، توکوفرول، فلاونوئیدها و همچنین ترکیب‌های زیماهی ای مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POX)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و پلی فنل اکسیداز (PPO) هستند. گیاهان با سطح بالای پاداکساینده‌ها دارای مقاومت بالایی به آسیب اکسیداتیو می‌باشند (۴۳). به هرحال به نظر می‌رسد یک سازوکار مفید برای تحمل شوری در گیاهان بایستی بر اساس اطلاع از سازوکارهای بیوشیمیایی در گیر در شوری باشد. در صورت شناخت اساس فیزیولوژیکی مقاومت به تنش شوری، متخصصین به نژادی می‌توانند از این صفات به منظور یک شاخص‌گزینی استفاده کنند.

سالیسیلیک اسید یا ارتوهیدروکسی بنزوئیک اسید یک ترکیب فنلی است که در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه نقش دارد (۳۶). ترکیبات فنلی به عنوان پاداکساینده‌های موثر در گیاهان در تنش‌های غیر زیستی از قبیل نور بالا و اشعه UV و یا در پاسخ به آلودگی فلزات سنگین افزایش می‌یابند (۴۶). ترکیبات فنلی توانایی همبند کردن فلزاتی مانند مس را دارند و در نتیجه باعث افزایش تحمل گیاهان در مقادیر بالای فلزات سنگین می‌شوند (۳۰). علاوه بر این، گروه‌های هیدروکسیل موجود در ترکیبات فنلی با خاصیت دهندگی یک پروتون و الکترون، به عنوان جاروبگر در تجزیه (ROS) نقش دارند (۲۲). براساس بسیاری از تحقیقات سالیسیلیک اسید می‌تواند تحمل تنش را تسهیل کرده و بهبود ببخشد (۴۰). در همین رابطه، خیساندن دانه‌های گندم در محلول SA حفاظت را هم در مقابل شوری و هم خشکی بهبود می‌بخشد (۹). همچنین گزارش شده است که سالیسیلیک اسید حفاظت آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد (۴۹) و مانع تجمع یونهای  $Na^+$  و  $Cl^-$  می‌شود (۲۰).

**پروپیلین:** ۰/۵ گرم ماده تر برگ با ۱۰ میلی لیتر محلول سولفوسالیسیلیک اسید ۳٪ سائیده و همگن شد. به ۲ میلی لیتر از عصاره حاصل، ۲ میلی لیتر اسید نین هیدرین و ۲ میلی لیتر استیک اسید خالص اضافه شد و به مدت یک ساعت در بن ماری در دمای ۱۰۰ درجه قرار داده و سپس سریعاً به حمام آب یخ منتقل شد. جذب فاز رنگی در طول موج ۵۲۰ نانومتر به کمک اسپکتروفوتومتر خوانده شد و مقدار پروپیلین با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید (۱۳).

**عصاره گیری جهت سنجش فعالیت زیمايه ای:** به این منظور ۰/۳ گرم از ماده تر برگ با ۵ میلی لیتر بافر تریس-کلریدریک اسید با pH ۶/۸ در حمام یخ سائیده شد و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور سانتیفریوژ شد. حجم روشناور حاصل اندازه گیری و سپس در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

تهیه بافر Tris-HCl: برای تهیه ۲۰۰ میلی لیتر بافر تریس (وزن مولکولی ۱۲۱/۱۴ گرم)، ابتدا ۲۴/۲۸۸ گرم تریس در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد و پیش از آنکه به حجم ۲۰۰ میلی مولار برسد، توسط HCl، محلول در pH = ۶/۸ تنظیم شد.

**فعالیت زیمايه سوپراکسید دیسموتاز (SOD):** میزان فعالیت زیمايه سوپراکسید دیسموتاز با قابلیت آن در بازدارندگی واکنش احیایی فتوشیمیایی نیتروبلوترازولیوم (NBT) تعیین می شود. در این روش، محلول واکنش شامل بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با pH ۷/۵، متیونین ۱۳ میلی مولار، ۰/۱ میلی مولار EDTA و ریپوفلاوین ۷۵ میکرومولار می باشد که در تاریکی کامل نگهداری شد. در دو کووت شیشه ای ۳ میلی لیتر از محلول فوق بدون عصاره زیمايه ای ریخته شد، یکی دور از نور در داخل دستگاه قرار داده شد و دیگری در حضور نور به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. پس از اینکه لوله شاهد در ۳۰

میلی مولار، به منظور ممانعت از ایجاد شوک اسمزی اولین تیمار تنش از ۵۰ میلی مولار NaCl شروع شد. پس از رسیدن به تیمار ۳۰۰ میلی مولار دو هفته بعد اقدام به برداشت گیاه شد و در طی دو هفته آخر دو غلظت ۰/۵ و ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید همراه با تنش شوری به صورت تیمار خارجی، دو بار و با فاصله یک هفته روی برگ ها بصورت افشانه (اسپری) استفاده شد. پس از برداشت، نمونه ها بلافاصله در ازت مایع منجمد و تا زمان انجام آزمایش ها در فریزر ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

**پراکسید هیدروژن:** به منظور سنجش محتوای پراکسید هیدروژن، ۰/۱ گرم بافت تر برگ در حمام یخ با ۲/۵ میلی لیتر محلول تری کلرو استیک اسید ۰/۱٪ (w/v) سائیده شد و سپس با سرعت ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتیفریوژ شد. ۰/۵ میلی لیتر از محلول روشناور به ۰/۵ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۱۰ میلی مولار با pH=۷ و ۱ میلی لیتر پتاسیم یدید ۱ مولار اضافه شد و سپس جذب آن در ۳۹۰ نانومتر خوانده شد و محتوای این ماده به صورت میکرومول بر گرم وزن تر گزارش شد (۲۹).

**مالون دی آلدئید:** ۰/۲ گرم بافت تر برگ در ۲ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد عصاره گیری و به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور در دمای محیط سانتیفریوژ شد. ۱ میلی لیتر از روشناور با ۲ میلی لیتر از محلول ۲۰ درصد تری کلرواستیک اسید محتوی ۵ درصد تیوباربیبتوریک اسید مخلوط شد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد نگهداری و بلافاصله به حمام یخ منتقل شد. نمونه ها مجدداً به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتیفریوژ شدند. جذب نمونه ها در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر ثبت شد. محتوای مالون دی آلدئید با استفاده از اختلاف بین طول موج های جذبی و ضریب خاموشی ۱۵۵ میلی مول بر سانتی متر محاسبه شد (۴۵).

عصاره زیمایه ای اضافه شد و بعد از ۶۰ ثانیه فعالیت زیمایه بر حسب تغییرات جذب در دقیقه رسم شد و در نهایت فعالیت زیمایه ای در میلی گرم پروتئین گزارش شد (۳۷).

**فعالیت زیمایه آسکوربات پراکسیداز:** طبق این روش محلول آزمایش شامل ۲ میلی لیتر بافر ۰/۰۵ میلی مولار فسفات پتاسیم با  $\text{pH}=7$ ، ۲۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۳ درصد و ۲۰۰ میکرولیتر آسکوربات ۵۰ میکرومولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره زیمایه ای بود. آسکوربات در اثر واکنش زیمایه ای به صورت اکسید شده در می آید و فعالیت زیمایه بر اساس کاهش جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی  $1 \text{ cm}^{-1} \cdot \text{mM}^{-1} \cdot 2/8$  محاسبه شد (۱۵).

**فعالیت زیمایه کاتالاز:** مطابق با این روش مخلوط آزمایش شامل ۶۲۵ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار با  $\text{pH}$  برابر ۷، ۷۵ میکرولیتر آب اکسیژنه ۳ درصد و ۱۰ میکرولیتر عصاره زیمایه ای بود. در نمونه شاهد ۱۰ میکرولیتر Tris-HCl اضافه و دستگاه صفر شد. منحنی تغییرات در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از ضریب خاموشی  $1 \text{ cm}^{-1} \cdot \text{mM}^{-1} \cdot 39/4$  تعیین گردید و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. فعالیت بر حسب واحد زیمایه ای در میلی گرم پروتئین محاسبه شد (۱۱).

**آنالیزهای آماری:** تمام آزمایش‌های این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام شد. داده‌های حاصل از بررسی‌ها به روش آنالیز واریانس یک طرفه توسط نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۱۹) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها در سطح خطای ۵٪ ( $\alpha < 0.05$ ) با آزمون دانکن (DMRT) انجام شد. اعدادی که دارای حروف مشابه هستند از نظر آماری تفاوت معناداری ندارند.

## نتایج

سانتی متری نور فلئوروسنت قرار گرفت، هر دو دقیقه یک بار جذب محلول در مد فتومتریک و طول موج ۵۶۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد. این روش بر اساس تبدیل NBT به فورمازان در حضور نور و تشکیل رنگ است. در صورتیکه سوپراکسید دیسموتاز در محیط وجود داشته باشد، از انجام واکنش مذکور ممانعت کرده و ظهور رنگ را کاهش می دهد. مشاهده شد که پس از ۱۶ دقیقه جذب ثابت ماند. در این مرحله، در لوله‌های دیگر ۳ میلی لیتر از محلول فوق و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره زیمایه اضافه گردید و به مدت ۱۶ دقیقه در مقابل نور قرار داده و جذب آنها در طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانده شد. یک واحد فعالیت زیمایه ای مقداری از زیمایه است که موجب ۵۰ درصد ممانعت احیای NBT در ۵۶۰ نانومتر می شود. میزان فعالیت زیمایه برحسب یک واحد در دقیقه به ازای میلی گرم پروتئین محاسبه شد (۱۹).

**فعالیت زیمایه پراکسیداز:** ابتدا ۴ میلی لیتر بافر استات سدیم ۲۰۰ میلی مولار با  $\text{pH}=5$  همراه با ۴۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۳ درصد و ۲۰۰ میکرولیتر بنزیدین ۲۰ میلی مولار در متانول ۵۰ درصد و ۵۰ میکرولیتر بافر Tris-HCl به یک کووت شیشه ای اضافه شد و به وسیله آن دستگاه اسپکتروفتومتر در مد سینتیک در طول موج ۵۳۰ نانومتر صفر شد. برای اندازه گیری فعالیت پراکسیداز، به جای ۵۰ میکرولیتر بافر Tris-HCl، ۵۰ میکرولیتر از عصاره زیمایه استخراج شده اضافه شد و در نهایت فعالیت زیمایه بر حسب واحد زیمایه ای در میلی گرم پروتئین محاسبه شد (۶).

**فعالیت زیمایه پلی فنل اکسیداز:** ابتدا ۲/۵ میلی لیتر از بافر فسفات پتاسیم با  $\text{pH}=6/8$  که دمای آن ۴۰ درجه بود به همراه ۲۰۰ میکرولیتر پیروگالول و ۲۰ میکرولیتر بافر Tris-HCl برای صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر در مد سینتیک و طول موج ۴۳۰ نانومتر استفاده شد. برای اندازه گیری فعالیت زیمایه به جای Tris-HCl، ۲۰ میکرولیتر

هیدروژن و مالون دی آلدئید (MDA) برگ به عنوان شاخص های تنش و محتوای پرولین به عنوان مهمترین اسمولیت سلولی جهت تنظیم اسمزی سلول های گیاه و نیز به عنوان یک ترکیب موثر در بهبود اثرات تنش و آنزیم های آنتی اکسیدان به عنوان سیستم دفاعی گیاه در برابر تنش اکسیداتیو حاصل از شوری مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول های ۱ تا ۳).

اولین پارامترهای مورد بررسی در این پژوهش وزن تر و وزن خشک و محتوای نسبی آب برگ گیاه بود. بر اساس نتایج حاصل وزن تر، وزن خشک و محتوای نسبی آب برگ ها در مدت زمان این آزمایش ها (۱۵ روز بعد از تیمار ها) هیچ تغییر معنی داری را نشان ندادند. لذا نتایج این پارامترها در مقاله ارائه نشده است. در ادامه جهت بررسی پاسخ های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی جمعیت های مختلف زعفران در این پژوهش، محتوای پراکسید

جدول ۱ - میانگین محتوای پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ )، پرولین، مالون دی آلدئید (MDA) و فعالیت زیمايه های پاداکساینده سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POX)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، پلی فنل اکسیداز (PPO) در برگ زعفران منطقه نظنز. N: نمک و S سالیسیلیک اسید می باشد. در هر گروه تیمارها با حروف یکسان اختلاف معناداری ندارند.

تیمار	$H_2O_2$ ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ FW)	Proline ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ FW)	MDA ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ FW)	SOD (U $\text{mg}^{-1}$ Protein)	CAT (U $\text{mg}^{-1}$ Protein)	POX (U $\text{mg}^{-1}$ Protein)	APX (U $\text{mg}^{-1}$ Protein)	PPO (U $\text{mg}^{-1}$ Protein)
$N_0+S_0$	۰/۱۹a	۳۷/۳ab	۲/۴۴ab	۰/۰۵a	۱/۳۷b	۰/۰۰۴۲a	۱۰/۴۹cd	۰/۰۰۱۴a
$N_0+S_{0.5}$	۰/۳۸cd	۱۴۰/۳f	۲/۸۹bcd	۰/۰۴۳a	۲/۴۹c	۰/۰۰۷۹e	۱۲/۳۸d	۰/۰۰۹۷e
$N_0+S_1$	۰/۴۰cd	۹۶/۸۳e	۳/۲۴cd	۰/۰۵۹a	۰/۷۲a	۰/۰۰۰۸a	۲/۰۹a	۰/۰۱۸۱abc
$N_{100}+S_0$	۰/۴۳d	۱۰۶/۶e	۳/۳۲cd	۰/۲۴d	۳/۵۶d	۰/۳۴g	۱۸/۳۴e	۰/۱۷۸f
$N_{100}+S_{0.5}$	۰/۲۶abc	۹۹/۱۶e	۲/۵۸ab	۰/۲۶d	۱/۹۳bc	۰/۰۰۹ef	۶/۲۶b	۰/۰۰۸۶e
$N_{100}+S_1$	۰/۲۲ab	۱۰۹/۰۸e	۲/۸ab	۰/۱۸c	۱/۷۲b	۰/۰۰۹۷f	۱/۷a	۰/۰۰۴۱cd
$N_{200}+S_0$	۰/۳۱a-d	۵۲bc	۳/۵۸d	۰/۱۳b	۱/۷۸b	۰/۰۰۱۵ab	۸/۴۵c	۰/۰۰۲۱abc
$N_{200}+S_{0.5}$	۰/۳۵abc	۵۵/۵۸bc	۲/۲۶a	۰/۱۱b	۱/۶۴b	۰/۰۰۳۴c	۲/۲۸a	۰/۰۰۲۸abc
$N_{200}+S_1$	۰/۳۶abc	۲۰/۴a	۲/۳a	۰/۱۵b	۰/۶۲a	۰/۰۰۵۴d	۱/۵۴a	۰/۰۰۰۷ab
$N_{300}+S_0$	۰/۳۳a-d	۱۰۴/۱۶e	۳bcd	۰/۶۶f	۱/۵۸b	۰/۰۰۲۵bc	۵/۶b	۰/۰۰۵۴d
$N_{300}+S_{0.5}$	۰/۳۳a-d	۱۰۶e	۲/۹۴bcd	۰/۲۶d	۰/۴۱a	۰/۰۰۰۴۱a	۱/۵۵a	۰/۰۰۰۸ab
$N_{300}+S_1$	۰/۲۱ab	۶۶cd	۲/۸abc	۰/۴۲e	۰/۳۱a	۰/۰۰۱۲ab	۰/۹۲a	۰/۰۰۰۴ab

مالون دی آلدئید (MDA): محتوای مالون دی آلدئید در گیاهان تنش دیده در هر سه منطقه نسبت به شاهد افزایش یافت (جدول های ۱ تا ۳). تیمار سالیسیلیک اسید در منطقه نظنز همانطور که در مورد پراکسید هیدروژن مشاهده شد، با هر دو غلظت منجر به کاهش محتوای مالون دی آلدئید شد. در دو منطقه قائنات و دیهوک تیمار سالیسیلیک اسید با هر دو غلظت منجر به افزایش معنی دار محتوای مالون دی آلدئید شد.

پراکسید هیدروژن: مقایسه محتوای پراکسید هیدروژن در سه منطقه مختلف در مواجهه با تنش نشان داد که بیشترین میزان، مربوط به منطقه نظنز بود و لذا می توان نتیجه گرفت که حساسیت گیاه به تنش شوری در این منطقه بالا است. با توجه به نقش پراکسید هیدروژن در ترارسانی علامت تنش، بیشترین فعالیت زیمايه های پاداکساینده در منطقه نظنز در شوری ۱۰۰ میلی مولار (جدول ۱) و در منطقه قائنات در ۳۰۰ میلی مولار (جدول ۲) که محتوای پراکسید هیدروژن بالایی داشتند مشاهده شد.

جدول ۲ - میانگین محتوای شاخص های تنش پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ )، پرولین، مالون دی آلدئید (MDA) و فعالیت زیمایه های پاداکساینده سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POX)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، پلی فنل اکسیداز (PPO) در برگ زعفران منطقه قائنات. N: نمک و S سالیسیلیک اسید می باشد. در هر گروه تیمارها با حروف یکسان اختلاف معناداری ندارند.

PPO (U mg <sup>-1</sup> Protein)	APX (U mg <sup>-1</sup> Protein)	POX (U mg <sup>-1</sup> Protein)	CAT (U mg <sup>-1</sup> Protein)	SOD (U mg <sup>-1</sup> Protein)	MDA (μmol g <sup>-1</sup> FW)	Proline (μmol g <sup>-1</sup> FW)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (μmol g <sup>-1</sup> FW)	تیمار
۰/۰۰۰۵a	۰/۰۱۵a	۰/۰۰۶a	۰/۴۳۹a	۰/۲۷۵ab	۲/۵۳a	۴۹/۹a	۰/۰۹۶a	N <sub>0</sub> +S <sub>0</sub>
۰/۰۰۶abc	۰/۰۸۵a	۰/۰۲۶۸a	۰/۹۷۹bc	۰/۳۱۶ab	۳/۱۳ab	۳۲a	۰/۳۳g	N <sub>0</sub> +S <sub>0.5</sub>
۰/۰۱۸۵de	۰/۰۸۲a	۰/۰۱۴۹a	۱/۱c	۰/۳۸۰ab	۲/۸a	۵۳/۶a	۰/۲۵f	N <sub>0</sub> +S <sub>1</sub>
۰/۰۲۴e	۰/۰۹۶a	۰/۰۷۰a	۰/۵۴۹ab	۰/۲۴۷ab	۲/۸۳ab	۱۱۴/۹ c	۰/۱۳b	N <sub>100</sub> +S <sub>0</sub>
۰/۰۱۶cde	۰/۱۰۶a	۰/۱a	۰/۸۷۲abc	۰/۶۹۶b	۳/۸۷cd	۸۲/۵۷b	۰/۱۸۶cd	N <sub>100</sub> +S <sub>0.5</sub>
۰/۰۲۶۵e	۰/۲۷۲b	۰/۰۲a	۱/۰۲c	۰/۲۲۱ab	۴/۱۶cd	۳۰/۹۲a	۰/۱۷۶c	N <sub>100</sub> +S <sub>1</sub>
۰/۰۱۱bcd	۰/۱۴۶ab	۰/۰۶a	۰/۵۵۵ab	۰/۰۶۶a	۳/۸۹cd	۱۸۷/۵۸d	۰/۲۱۳cd	N <sub>200</sub> +S <sub>0</sub>
۰/۰۰۳۷ab	۰/۴۲۳c	۰/۱۶a	۱/۹۱de	۰/۵۵۳ab	۳/۶۷c	۴۰/۶۳a	۰/۱۷۶c	N <sub>200</sub> +S <sub>0.5</sub>
۰/۰۱۹۷de	۰/۴۶cd	۰/۴۴b	۱/۵۳d	۰/۴۹ab	۴/۲d	۴۵/۷۵a	۰/۲۵ ef	N <sub>200</sub> +S <sub>1</sub>
۰/۰۶۰g	۱/۴۵e	۰/۹۸c	۷/۷۴f	۳/۰۱c	۳/۲۱b	۲۷۰/۱۲ef	۰/۲۱۶de	N <sub>300</sub> +S <sub>0</sub>
۰/۰۰۶۷abc	۱/۷۶f	۱/۱۵d	۹/۱g	۴/۰۲d	۴/۰۶cd	۲۹۰/۵۳f	۰/۲۶۳f	N <sub>300</sub> +S <sub>0.5</sub>
۰/۰۱۸۸de	۰/۵۸d	۰/۴۹۹b	۲/۱۹e	۰/۵۸۷ab	۳/۷۱c	۲۴۶/۱۲e	۰/۲۲۷de	N <sub>300</sub> +S <sub>1</sub>

جدول ۳ - میانگین محتوای شاخص های تنش پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ )، پرولین، مالون دی آلدئید (MDA) و فعالیت زیمایه های پاداکساینده سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POX)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، پلی فنل اکسیداز (PPO) در برگ زعفران منطقه دیهوک. N: نمک و S سالیسیلیک اسید می باشد. در هر گروه تیمارها با حروف یکسان اختلاف معناداری ندارند.

PPO (U mg <sup>-1</sup> Protein)	APX (U mg <sup>-1</sup> Protein)	POX (U mg <sup>-1</sup> Protein)	CAT (U mg <sup>-1</sup> Protein)	SOD (U mg <sup>-1</sup> Protein)	MDA (μmol g <sup>-1</sup> FW)	Proline (μmol g <sup>-1</sup> FW)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (μmol g <sup>-1</sup> FW)	تیمار
۰/۰۳۲a	۰/۵۲۴f	۰/۰۱۶ab	۱/۴۵d	۰/۲۶def	۱/۴۵a	۱۶/۴۹f	۰/۲ab	N <sub>0</sub> +S <sub>0</sub>
۰/۰۴۴a	۰/۱۴۲abc	۰/۰۱۹ab	۰/۸۳a	۰/۱۹cd	۱/۷۵ab	۹/۱۰abc	۰/۲۷bc	N <sub>0</sub> +S <sub>0.5</sub>
۰/۰۴۸a	۰/۲۴۷d	۰/۰۴۵abc	۱/۸e	۰/۲۹ef	۴/۴۱ef	۱۴/۹۵bcd	۰/۳۲c	N <sub>0</sub> +S <sub>1</sub>
۰/۱۴۶ab	۰/۲۲۵cd	۰/۰۰۶a	۰/۹۶ab	۰/۰۲۷a	۲/۲bcd	۹۸/۷۶g	۰/۱۳a	N <sub>100</sub> +S <sub>0</sub>
۰/۱۶۵ab	۰/۴۱۳e	۰/۰۶۸cd	۱/۱۶bc	۰/۱۳bc	۴/۷۰f	۲۲/۴۴d	۰/۲۸bc	N <sub>100</sub> +S <sub>0.5</sub>
۰/۲۲۱b	۰/۴۳۴e	۰/۱۷e	۲/۸f	۰/۰۴۷a	۲/۸۸d	۱۱/۲۴a-d	۰/۱۸ab	N <sub>100</sub> +S <sub>1</sub>
۰/۴c	۰/۱۱۴ab	۰/۱d	۱/۹۴e	۰/۰۸۷ab	۲/۵۷cd	۶۹/۶۵e	۰/۲۲abc	N <sub>200</sub> +S <sub>0</sub>
۰/۴۵c	۰/۳۸۶e	۰/۱۸e	۵/۳۱g	۰/۳۵f	۴/۲ef	۱۰/۳۸a-d	۰/۲۳abc	N <sub>200</sub> +S <sub>0.5</sub>
۰/۰۵۶a	۰/۲۲۳cd	۰/۰۹d	۱/۸۹e	۰/۰۸۵ab	۴/۰۷ef	۳/۲۳ab	۰/۳۱c	N <sub>200</sub> +S <sub>1</sub>
۰/۶۱۸d	۰/۱۹۹bcd	۰/۰۶۸cd	۱/۹۶e	۰/۰۰۵۲a	۱/۶ab	۸۲/۴۴cd	۰/۳۱c	N <sub>300</sub> +S <sub>0</sub>
۰/۰۱۶a	۰/۰۷۸a	۰/۰۶۷cd	۱/۸۸e	۰/۲۵def	۲/۱abc	۱/۲۴a	۰/۱۴a	N <sub>300</sub> +S <sub>0.5</sub>
۰/۰۱۴a	۰/۱۰۴a	۰/۰۸۹cd	۱/۷۲e	۰/۲۴de	۳/۶۹e	۱۰/۴a-d	۰/۱۹ab	N <sub>300</sub> +S <sub>1</sub>

های ۱ تا ۳). تیمار سالیسیلیک اسید باعث کاهش معنادار محتوای پرولین به ویژه در منطقه دیهوک شده است. به نظر

پرولین: در هر سه منطقه افزایش معنادار پرولین در برگ گیاه تحت تنش نسبت به حالت شاهد مشاهده شد (جدول

سالیسیلیک اسید با غلظت ۰/۵ میلی مولار محتوای پراکسید هیدروژن را در غلظت ۳۰۰ میلی مولار شوری در این منطقه افزایش داد که می‌تواند به عنوان علامتی جهت افزایش فعالیت زیمايه ای عمل کند. گزارش شده است هر چه میزان فعالیت زیمايه های پاد اکساینده بالاتر باشد گیاه مقاومت بیشتری به تنش شوری دارد. بنابراین به نظر می‌رسد سالیسیلیک اسید در جمعیت قائنات با غلظت ۰/۵ میلی مولار موثرتر عمل کرده است.

در منطقه دیهوک فعالیت زیمايه کاتالاز ابتدا کاهش و سپس افزایش یافت (جدول ۳). همچنین فعالیت زیمايه های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز با افزایش غلظت شوری نسبت به شاهد افزایش معناداری یافت درحالیکه فعالیت زیمايه آسکوربات پراکسیداز کاهش یافت. تیمار سالیسیلیک اسید با غلظت ۰/۵ میلی مولار باعث افزایش فعالیت زیمايه کاتالاز در ۲۰۰ میلی مولار شوری، افزایش فعالیت زیمايه های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار نمک شد. اما در غلظت ۳۰۰ میلی مولار شوری، سالیسیلیک اسید با هر دو غلظت منجر به کاهش قابل توجه فعالیت زیمايه های آسکوربات پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز شده است.

### بحث

در خصوص تاثیر تیمار سالیسیلیک اسید در کاهش محتوای پراکسید هیدروژن می‌توان گفت که سالیسیلیک اسید با خاصیت دهندگی یک الکترون و یک پروتون در تجزیه انواع فعال اکسیژن عمل می‌کند (۲۲) و بنابراین می‌تواند به طور مستقیم در پاکسازی رادیکالها نقش داشته باشد. به نظر می‌رسد سالیسیلیک اسید در منطقه نطنز با این سازوکار عمل کرده است. از طرف دیگر سالیسیلیک اسید در جمعیت قائنات و همچنین در منطقه دیهوک در همه غلظت‌های نمک به جز در ۳۰۰ میلی مولار شوری، اثر افزایشی بر محتوای پراکسید هیدروژن داشته است. بطور مشابه گزارش شده است که سالیسیلیک اسید در گیاه

می‌رسد تیمار سالیسیلیک اسید باعث بهبود وضعیت گیاه و کاهش شدت تنش شده است و به همین دلیل محتوای پرولین کاهش یافته است.

**سوپراکسید دیسموتاز:** در منطقه نطنز فعالیت زیمايه سوپراکسید دیسموتاز در برگ گیاهان تنش دیده نسبت به شاهد افزایش یافت. این زیمايه در منطقه قائنات فقط در غلظت ۳۰۰ میلی مولار نسبت به شاهد افزایش معنا دار داشت در حالیکه در منطقه دیهوک با تیمار تنش شوری کاهش فعالیت این زیمايه مشاهده شد. تیمار سالیسیلیک اسید در منطقه نطنز، با هر دو غلظت، در ۳۰۰ میلی مولار شوری باعث کاهش معنادار فعالیت زیمايه شد (جدول ۱). در منطقه قائنات نیز در غلظت ۳۰۰ میلی مولار شوری، سالیسیلیک اسید با غلظت ۱ میلی مولار اثر کاهشی اما با غلظت ۰/۵ میلی مولار اثر افزایشی داشته است (جدول ۲). در منطقه دیهوک سالیسیلیک اسید به ویژه با غلظت ۰/۵ میلی مولار بر گیاهان تنش دیده اثر افزایشی داشت. سالیسیلیک اسید منجر به افزایش محتوای مالون دی آلدئید و پراکسید هیدروژن در این منطقه شده است که می‌تواند به عنوان علامتی برای افزایش فعالیت زیمايه عمل کند (جدول ۳).

در منطقه نطنز بیشترین فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان مربوط به غلظت شوری ۱۰۰ میلی مولار بود و تیمار سالیسیلیک اسید با هر دو غلظت منجر به کاهش معنی دار فعالیت آنها در گیاهان تنش دیده شده است.

در منطقه قائنات فعالیت زیمايه پلی فنل اکسیداز در همه غلظت‌های شوری نسبت به شاهد افزایش معنادار داشت و سالیسیلیک اسید با هر دو غلظت باعث کاهش فعالیت آن شد. فعالیت زیمايه های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز در غلظت ۳۰۰ میلی مولار به طور معناداری نسبت به شاهد افزایش یافت و سالیسیلیک اسید با غلظت ۱ میلی مولار فعالیت آنها را کاهش داد اما با غلظت ۰/۵ میلی مولار منجر به افزایش شد. همانطور که اشاره شد

داشته است اما جهت نتیجه‌گیری قطعی اندازه‌گیری بیان ژن در پژوهش‌های بعدی پیشنهاد می‌شود.

بر طبق نتایج ما سالیسیلیک اسید در غیاب تنش شوری در هر دو غلظت منجر به افزایش محتوای مالون دی‌آلدئید در هر سه جمعیت شده است (جدول‌های ۱ تا ۳). لذا می‌توان نتیجه گرفت که این ترکیب در غیاب تنش شوری منجر به وخیم شدن وضعیت گیاهان و افزایش شدت تنش اکسایشی می‌شود. در حضور تنش نقش سالیسیلیک اسید (به ویژه در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار) در کاهش مالون دی‌آلدئید تنها در جمعیت نظنز به وضوح به چشم می‌خورد و در سایر جمعیت‌ها اثر بهبوددهندگی این ترکیب قابل مشاهده نیست. در تطابق با این نتیجه گزارش شده است که سالیسیلیک اسید با غلظت پایین (۰/۵ میلی‌مولار) موجب افزایش مقاومت گلرنگ به تنش شوری شده، اما در غلظت‌های بالاتر (۱ میلی‌مولار) موجب تشدید تنش شوری و در نتیجه کاهش رشد بیشتر گیاه شده است (۵).

انباشته شدن پرولین در شرایط تنش که در این پژوهش نیز مشاهده می‌شود یکی از ویژگی‌های عمومی در بسیاری از گیاهان تک‌لپه‌ای است (۸). افزایش محتوای پرولین در دانه رست‌های بسیاری از گیاهان منجمله برنج تحت تنش شوری نیز گزارش شده است (۳۵). در توافق با نتیجه تحقیق حاضر در گیاه ذرت نیز تیمار سالیسیلیک اسید منجر به کاهش محتوای پرولین شده است (۱۸). در مورد پرولین لازم به ذکر است که این آمینو اسید یک ترکیب با اثرات چندگانه است و علاوه بر نقش آفرینی به عنوان یک اسمولیت سازگار، در تنظیم تعادل اکسید و احیای سلول، در سیگنالینگ و ترانس‌سایانی علامت تنش و در محافظت اسمزی از ماکرومولکول‌های گیاهان نیز شرکت می‌کند. کاهش محتوای پرولین در گیاه تحت تیمار سالیسیلیک اسید می‌تواند نشانه خروج گیاه از وضعیت تنش و نشان‌دهنده نقش سالیسیلیک اسید در بهبود اثرات تنش شوری باشد.

آراییدوپسیس منجر به انباشتگی پراکسید هیدروژن می‌شود و ترکیب اخیر با دخالت در ترانس‌سایانی علامت، سبب افزایش سنتز یا فعالیت زیمايه‌های پاداکساینده می‌گردد (۴۹).

در خصوص افزایش محتوای پراکسید هیدروژن در غلظت‌های بالای شوری مانند ۳۰۰ میلی‌مولار می‌توان گفت که این افزایش می‌تواند به عنوان علامتی جهت افزایش فعالیت زیمايه‌های پاداکساینده عمل کند. گزارش شده است هر چه میزان فعالیت زیمايه‌های پاداکساینده بالاتر باشد گیاه مقاومت بیشتری به تنش شوری خواهد داشت (۸).

مالون دی‌آلدئید یک فراورده سیتوتوکسیک پراکسیداسیون لیپیدی و شاخص تولید رادیکال آزاد و میزان آسیب بافت است (۳۴). سنجش محتوای مالون دی‌آلدئید، که شاخص افزایش پراکسیداسیون لیپیدی است، اغلب به عنوان روشی برای ارزیابی شدت تنش اکسایشی و درجه حساسیت گیاه به تنش شوری مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴۱). افزایش محتوای مالون دی‌آلدئید در شرایط تنش خشکی در ذرت (۳) و همچنین تحت تنش شوری در گندم نیز مشاهده شده است و بر طبق این گزارش ارقام متحمل گندم، بیشترین میزان فعالیت زیمايه‌های پاداکساینده و کمترین میزان مالون دی‌آلدئید را داشته‌اند (۲۵). در گیاه ذرت نیز تیمار سالیسیلیک اسید خارجی منجر به کاهش مالون دی‌آلدئید شده است (۲۰). همچنین گزارش شده است که تیمار سالیسیلیک اسید در شاخه بریده گل سرخ با جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی پیری گل را به تأخیر می‌اندازد (۴). کاهش محتوای مالون دی‌آلدئید در منطقه نظنز احتمالاً به دلیل جاروب کردن انواع فعال اکسیژن توسط سالیسیلیک اسید می‌باشد. گزارش شده است که سالیسیلیک اسید با افزایش محتوای پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید در ترانس‌سایانی علامت تنش نقش دارد و باعث بیان ژن PR-1 می‌شود (۱۰). احتمال می‌رود که سالیسیلیک اسید در دو منطقه قائنات و دیهوک چنین اثری



تنش شوری نیز مشاهده شده است (۱۴). در خصوص اینکه سالیسیلیک اسید محتوای پراکسید هیدروژن را در منطقه دیهوک در غلظت ۳۰۰ میلی مولار کاهش داده است، بنابراین احتمالاً سالیسیلیک اسید در غلظت بالای شوری می‌تواند به طور مستقیم منجر به پاکسازی انواع فعال اکسیژن شود.

به طور کلی در بین سه منطقه مقایسه شده، جمعیت دیهوک زعفران با کمترین محتوای مالون دی‌آلدئید در شرایط شاهد و تحت غلظت‌های مختلف شوری به عنوان مقاوم‌ترین جمعیت زعفران می‌تواند در نظر گرفته شود و وضعیت دو جمعیت دیگر یعنی نظنز و قائنات تقریباً مشابه است و از حساسیت بیشتری نسبت به تنش شوری برخوردار هستند. با مقایسه تغییرات محتوای پرولین در جمعیت‌های مختلف زعفران می‌توان مشاهده کرده که در بین جمعیت‌های مختلف، افزایش پیوسته، منظم و وابسته به غلظت پرولین در جمعیت قائنات قابل مشاهده است. در مجموع نیز جمعیت قائنات دارای بیشترین محتوای پرولین در بین جمعیت‌ها می‌باشد. در دو جمعیت دیگر اگرچه افزایش پرولین تحت تنش شوری در برگ هر سه جمعیت نسبت به شاهد مشاهده می‌شود ولی این افزایش تحت تنش شوری بصورت پیوسته نیست.

به علاوه جمعیت نظنز زعفران با بالا بودن محتوای مالون دی‌آلدئید و با کمترین فعالیت زیمايه‌های پاداکساینده در غلظت بالای شوری حساس‌ترین و جمعیت قائنات که تنها در بالاترین غلظت تحت تاثیر تنش قرار گرفته است، می‌تواند مقاوم‌ترین جمعیت در نظر گرفته شود. احتمال می‌رود گیاه در جمعیت اخیر، در غلظت‌های پایین نمک با ساز و کارهای دیگری از جمله پاداکساینده‌های غیر زیمايه‌ای به مقابله با تنش شوری بپردازد. نکته مهم اینکه نقش سالیسیلیک اسید در کاهش محتوای مالون دی‌آلدئید تنها در جمعیت نظنز که حساس‌ترین جمعیت با توجه به پارامترهای مختلف است به وضوح به چشم می‌خورد و

در خصوص تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تاثیر تنش شوری منجمله در گیاه نخود فرنگی (۲۳) و گوجه فرنگی (۲۶) افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز گزارش شده است. در توافق با نتایج تحقیق حاضر در گیاه گندم در تنش کم آبی گزارش شده است که سالیسیلیک اسید با غلظت ۳ میلی مولار باعث کاهش فعالیت زیمايه سوپراکسید دیسموتاز می‌شود اما در غلظت‌های ۱ و ۲ میلی مولار اثر افزایشی دارد (۴۲).

کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید و پراکسید هیدروژن باعث القای تحمل بالاتر گیاهان سیب زمینی به دمای بالا شده است. این نتایج نشان می‌دهد که سالیسیلیک اسید ممکن است دارای مسیرهای ترانس‌سایسیلرسانی علامت‌مشترک با واسطه تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن باشد. به هر حال حفاظت گیاهان در برابر تنش اکسایشی با افزایش در زیمايه‌های پاداکساینده مرتبط می‌باشد و فعالیت این زیمايه‌ها سطح نهایی رادیکال‌های آزاد و پراکسید هیدروژن در گیاه را کاهش می‌دهند (۲۱، ۴۷).

مقادیر اضافی پراکسید هیدروژن توسط زیمايه‌هایی نظیر پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز حذف می‌شود (۳۱). گزارش‌های متعددی حکایت از افزایش فعالیت زیمايه‌های پاداکساینده تحت تنش‌های غیر زیستی دارد (۷، ۱۷). به نظر می‌رسد بالا رفتن فعالیت زیمايه در غلظت پایین شوری و افت آن در غلظت‌های بالاتر نشانه حساسیت گیاه به غلظت‌های بالای تنش شوری می‌باشد. اثر مهاری سالیسیلیک اسید بر زیمايه‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در نخود فرنگی (۴۴)، پلی‌فنل اکسیداز در گوجه فرنگی (۳۸) و کاتالاز در گیاهان، قارچ‌ها و جانوران (۳۹) نیز گزارش شده است.

در توافق با افزایش آنزیم کاتالاز در زعفران‌های منطقه دیهوک در گیاه *Cassia angustifolia* تحت تنش شوری نیز افزایش فعالیت کاتالاز گزارش شده است (۷). به علاوه افزایش فعالیت زیمايه پراکسیداز در ذرت خوشه‌ای تحت

در جمعیت نطنز با کاهش محتوای پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید و از طرفی کاهش فعالیت زیمايه‌ها با این نقش ظاهر شده است اما در جمعیت های دیهوک و قائنات، غلظت ۰/۵ میلی مولار باعث افزایش محتوای مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن شده که متعاقباً فعالیت برخی از زیمايه‌های پاداکساینده‌ها را افزایش داده است. بنابراین احتمال می‌رود که سالیسیلیک اسید در جمعیت های اخیر در رابطه با ترانس‌سانی علامت تنش در پاسخ گیاه نقش داشته است.

در سایر جمعیت‌ها اثر بهبود دهندگی این ترکیب قابل مشاهده نیست. بنابراین پیشنهاد می‌شود در ادامه این پژوهش، سنجش ترکیبات فنلی، گلوکاتینون، آسکوربات، آلفا توکوفرول انجام شود. پاداکساینده‌های غیر زیمايه‌ای ممکن است به عنوان ترکیبات احیا کننده عمل کنند یعنی زنجیر رادیکال‌های آزاد را از هم بگسلند و یا از تشکیل انواع فعال اکسیژن جلوگیری کنند (۴۳). لذا سالیسیلیک اسید به عنوان ترکیب فنلی می‌تواند به طور مستقیم در جاروب کردن انواع فعال اکسیژن نقش داشته باشد (۲۲).

## منابع

- ۱- سرمدنیا، غ. ح. (۱۳۷۲). اهمیت تنش های محیطی در زراعت. مقالات کلیدی اولین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران، دانشگاه کشاورزی کرج، دانشگاه تهران: ۱۶۹-۱۵۷
- ۲- بینا، غ. ۱۳۸۱. بررسی اثر سرما و جیبرلین بر توده های محلی زعفران در شهرهای قائن، بیرجند و گناباد. اولین جشنواره زعفران- قائن. صفحه ۲۵
- ۳- دولت آبادیان، آریا، مدرس ثانوی، سید علی محمد، شریفی، مظفر، (۱۳۸۸). اثر تنش کم آبی و محلول پاشی اسید آسکوربیک بر میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان و برخی تغییرات
- بیوشیمیایی در برگ ذرت دانه ای (*Zea maize L.*). مجله زیست‌شناسی ایران، ۲۲ (۳): ۴۰۷-۴۲۲.
- ۴- گرایلو، سمیه، قاسم نژاد، محمود، شیری، محمد علی. (۱۳۹۳). تاثیر تیمار کوتاه مدت سالیسیلیک اسید در به تاخیر انداختن پیری گل های شاخه بریده رز (*Rosa hybrid*) رقم یلوآیسلند. مجله پژوهش های گیاهی. ۲۷ (۲): ۲۹۹-۳۰۹
- ۵- دانشمند، فاطمه، جواد آروین، محمد، کرامت، بتول. (۱۳۹۳). تغییرات ایجاد شده توسط سالیسیلیک اسید در گیاهان گلرنگ (*Carthamus tinctorius L.*) تحت تنش شوری. مجله پژوهش های گیاهی. ۲۷ (۲): ۲۰۴-۲۱۵
6. Abeles, F, Biles, C, 1991. Characterization of peroxidases in lignifying peach fruit endocarp, *Plant Physiology*, 95(1): 269-273.
7. Agarwal, S, Pandey, V, 2004. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*, *Biologia Plantarum*, 48 (4): 555-560.
8. Aghaleh, M, Niknam, V, Ebrahimzadeh, H, Razavi, K, 2011. Effect of salt stress on physiological and antioxidative responses in two species of *Salicornia* (*S. persica* and *S. europaea*), *Acta Physiologiae Plantarum*, 33 (4): 1261-1270.
9. Al-Hakimi, A, Hamada, A, 2001. Counteraction of salinity stress on *wheat* plants by grain soaking in ascorbic acid, thiamin or sodium salicylate, *Biologia Plantarum*, 44 (2): 253-261.
10. Anderson, M, Chen, Z, Klessig, D, 1998. Possible involvement of lipid peroxidation in salicylic acid-mediated induction of PR-1 gene expression, *Phytochemistry*, 47 (4): 555-566.
11. Arrigoni, O, De Gara, L, Tommasi, F, Liso, R, 1992. Changes in the ascorbate system during seed development of *Vicia faba L.*, *Plant Physiology*, 99 (1): 235-238.
12. Ashraf, M, Harris, P, 2004, Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants, *Plant Science*, 166(1): 3-16.
13. Bates, L, Waldren, R, Teare, I, 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies, *Plant and soil*, 39(1): 205-207
14. Bavei, V, Shiran, B, Arzani, A, 2011. Evaluation of salinity tolerance in *sorghum* (*Sorghum bicolor L.*) using ion accumulation, proline and

- peroxidase criteria, *Plant Growth Regulation*, 64 (3): 275-285.
15. Chen, G, Asada, K, 1989. Ascorbate peroxidase in tea leaves: occurrence of two isozymes and the differences in their enzymatic and molecular properties, *Plant and Cell Physiology*, 30 (7): 987-998.
  16. Demidchik, V, 2015. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology, *Environmental and Experimental Botany*, 109: 212-228.
  17. Garratt, L, Janagoudar, B, Lowe, K, Anthony, P, Power, J, Davey, M, 2002. Salinity tolerance and antioxidant status in *cotton* culture, *Free Radical Biology and Medicine*, 33 (4): 502-511.
  18. Gautam, S, Singh, P, 2009. Salicylic acid-induced salinity tolerance in *Corn* grown under NaCl stress, *Acta Physiologiae Plantarum*, 31 (6): 1185-1190.
  19. Giannopolitis, C, Ries, S, 1977. Superoxide dismutases I. Occurrence in higher plants, *Plant Physiology*, 59 (2): 309-314.
  20. Gunes, A, Inal, A, Alpaslan, M, Eraslan, F, Bagci, E, Cicek, N, 2007. Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays L.*) grown under salinity, *Journal of Plant Physiology*, 164 (6): 728-736.
  21. Guo, B, Liang, Y, Zhu, Y, Zhao, F, 2007. Role of salicylic acid in alleviating oxidative damage in *rice* roots (*Oryza sativa*) subjected to cadmium stress, *Environmental Pollution*, 147 (3): 743-749.
  22. Heim, K, Tagliaferro, A, Bobilya, D, 2002. Flavonoid antioxidant: chemistry, metabolism and structure-activity relationships, *The Journal of nutritional biochemistry*, 13 (10): 572-584.
  23. Hernandez, J, Almansa, M, 2002. Short-term effects of salt stress on antioxidant systems and leaf water relations of *pea* leaves, *Physiologia Plantarum*, 115 (2): 251-257.
  24. Horvath, E, Janda, T, Szalai, G, Paldi, E, 2002. *In vitro* salicylic acid inhibition of catalase activity in *maize*: differences between the isozymes and a possible role in the induction of chilling tolerance, *Plant science*, 163 (6): 1129-1135.
  25. Khaliq, A, Zia-ul-Haq, M, Ali, F, Aslam, F, Matloob, A, Navab, A, Hussain, S, 2015. Salinity tolerance in wheat cultivars is related to enhanced activities of enzymatic antioxidants and reduced lipid peroxidation, *Clean-Soil, Air, Water*, 43 (8): 1248-1258.
  26. Koca, H, Ozdemir, F, Turkan, I, 2006. Effect of salt stress on lipid peroxidation and superoxide dismutase and peroxidase activities of *Lycopersicon esculentum* and *L. pennellii*, *Biologia Plantarum*, 50 (4): 745-748.
  27. Kuzniak, E, Urbanek, H, 2000. The involvement of hydrogen peroxide in plant responses to stresses, *Acta Physiologiae Plantarum*, 22 (2): 195-203.
  28. Langridge, J, Ball, S, Jones, R, 2006. A compact broadband cavity enhanced absorption spectrometer for detection of atmospheric NO<sub>2</sub> using light emitting diodes, *Analyst*, 131 (8): 916-922.
  29. Loreto, F, Velikova, V, 2001. Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes, *Plant Physiology*, 127 (4): 1781-1787.
  30. Michalak, A, 2006. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress, *Polish Journal of Environmental Studies*, 15 (4): 523.
  31. Mittler, R, 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance, *Trends in Plant Science*, 7 (9): 405-410.
  32. Navari-Izzo, F, Hendry, G, del Rio, L, 1998. Proceedings of the Third International Conference on Oxygen, Free Radicals and Environmental Stress in Plants, 616-616.
  33. Nounjan, N, Nighia, PT, Theerakulpisut, P, 2012. Exogenous proline and trehalose promote recovery of rice seedlings from salt-stress and differentially modulate antioxidant enzymes and expression of related genes, *Journal of Plant Physiology*, 169 (6): 596-604.

34. Ohkawa, H, Ohishi, N, Yagi, K, 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, *Analytical biochemistry*, 95 (2): 351- 358.
35. Lutts, S, Kinet, J, Bouharmont, J, 1996. "Effects of salt stress on growth, mineral nutrition and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance." *Plant Growth Regulation* 19(3): 207-218.
36. Raskin, I, 1992. Role of salicylic acid in plants, *Annual review of plant biology*, 43 (1): 439-463.
37. Raymond, J, Rakariyatham, N, Azanza, J, 1993. Purification and some properties of polyphenoloxidase from *sunflower* seeds, *Phytochemistry*, 34 (4): 927-931.
38. Rivero, R, Ruiz, J, Romero, L, 2003. Can grafting in *tomato* plants strengthen resistance to thermal stress?, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83 (13): 1315-1319.
39. Ruffer, M, Steipe, B, Zenk, M, 1995. Evidence against specific binding of salicylic acid to plant catalase, *FEBS letters*, 377(2): 175-180.
40. Senaratna, T, Touchell, D, Bunn, E, Dixon, K, 2000. Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in *bean* and *tomato* plants, *Plant Growth Regulation*, 30 (2): 157-161.
41. Shalata, A, Mittova, V, Volokita, M, Guy, M, Tal, M, 2001. Response of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt-dependent oxidative stress: The root antioxidative system, *Physiologia Plantarum*, 112 (4): 487-494.
42. Singh, B, Usha, K, 2003. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in *wheat* seedlings under water stress, *Plant Growth Regulation*, 39 (2): 137-141.
43. Spychalla, J, Desborough, S, 1990. Superoxide dismutase, catalase, and  $\alpha$ -tocopherol content of stored *potato* tubers, *Plant Physiology*, 94 (3): 1214-1218.
44. Srivastava, M, Dwivedi, U, 1998. Salicylic acid modulates glutathione metabolism in *pea* seedlings, *Journal of Plant physiology*, 153 (3): 409-414.
45. Stewart, R, Bewley, J, 1980. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of *Soybean* Axes, *Plant Physiology*, 65 (2): 245-248.
46. Vanooik, T, Rantala, M, Salminen, J, Yang, S, Neuvonen, S, Ruuhola, T, 2012. The effects of simulated acid rain and heavy metal pollution on the mountain birch-autumnal moth interaction, *Chemoecology*, 22 (4): 251-262.
47. Wu, H, Raza, W, Fan, J, Sun, Y, Bao, W, Liu, D, Huang, Q, Mao, Z, Shen, Q, Miao, W, 2008. Antibiotic effect of exogenously applied salicylic acid on in vitro soilborne pathogen, *Fusarium oxysporum* f. sp. *Niveum*, *Chemosphere*, 74 (1): 45-50.
48. Xu, X, Tian, S, 2008. Salicylic acid alleviated pathogen-induced oxidative stress in harvested sweet cherry fruit, *Postharvest Biology and Technology*, 49 (3): 379-385.
49. Zawonznik, M, Groppa, M, Tomaro, M, Benavides, M, 2007. Endogenous salicylic acid potentiates cadmium-induced oxidative stress in *Arabidopsis thaliana*, *Plant Science*, 173 (2): 190-197.
50. Zhu, J, 2001. Plant salt tolerance, *Trends in plant science*, 6 (2): 66-71

## Comparative study of biochemical responses of different saffron (*Crocus sativus*) accessions to salt stress and alleviative effects of salicylic acid

Torabi Pashai S.<sup>1</sup>, Niknam V.<sup>1</sup>, Ebrahimzadeh H.<sup>1</sup> and Sharifi G.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> School of Biology and Center of Excellence in Phylogeny of Living Organisms, College of Science, University of Tehran, Tehran, I.R. of Iran

<sup>2</sup> Iranian institute for Encyclopedia Research, Tehran, I.R. of Iran

### Abstract

The present research is an attempt to study certain responses of some accessions of saffron (*Crocus sativus* L.) to salinity and ameliorative effects of salicylic acid. For this purpose, the effect of four concentrations (0, 100, 200 and 300 mM) of NaCl on some biochemical parameters in leaves of saffrons collected from different regions of Iran (Natanz, Deyhook, Ghaenat) have been studied. In this research the effect of foliar application of salicylic acid with two concentrations (0.5 and 1 mM) has also been investigated. Our results showed that the contents of hydrogen peroxide, malondialdehyde and proline increased in all accessions under salinity stress and salicylic acid reduced them in Natanz. Activity of antioxidant enzymes, peroxidase, catalase, ascorbate peroxidase, polyphenol oxidase and superoxide dismutase in three accessions was measured. In Natanz the activities of antioxidant enzymes increased at first and then decreased and salicylic acid treatment reduced the activities of the enzymes. In Ghaenat the highest activities of enzymes was detected under maximum salinity and salicylic acid (1 mM) reduced the activities of the enzymes. The obtained results of these analyses demonstrated that Ghaenat is the most resistant accession and salicylic acid could improve oxidative damage in saffron under salt stress.

**Key words:** Stress, Salinity, Saffron, Salicylic acid, Antioxidant enzymes