بررسی مقایسه ای پاسخ های بیوشیمیایی جمعیت های مختلف زعفران مزروعی به تنش شوری و نقش سالیسیلیک اسید در بهبود اثر تنش

سارا ترابی پاشایی[۱]، وحید نیکنام[۱*]، حسن ابراهیم زاده[۱] و گل اندام شریفی[۲]

[۱] تهران، دانشگاه تهران، پردیس علوم، دانشکده زیست شناسی، قطب تبارزائی موجودات زنده ایران

[۲] تهران، بنیاد دانشنامه نگاری ایران

تاریخ دریافت: ۹۴/۶/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۵/۵/۱۱

چکیده

در پژوهش حاضر اثر تنش شوری با غلظت های 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 دادکه 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 زیمایه های 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 زیمایه ها در بالاترین غلظت نمک مشاهده شد. سالیسیلیک اسید با غلظت ۱ میلی مولار فعالیت زیمایه ها را کاهش داد. بطور کلی به نظر می رسد جمعیت قائنات مقاوم ترین جمعیت است و سالیسیلیک اسید می تواند در گیاهان تحت تیمار سدیم کلرید منجر به بهبود تنش اکسایشی ناشی از شوری شود.

واژه های کلیدی: تنش، شوری، زعفران، سالیسیلیک اسید، زیمایه های پاد اکساینده

* نویسنده مسئول، تلفن: ۶۱۱۱۳۶۳۷-۰۲۱، پست الکترونیکی: vniknam@khayam.ut.ac.ir

مقدمه

زعفران مزروعی (*Crocus sativus* L.) گیاهی علفی از تیره زنبقیان است. زعفران به عنوان گرانترین محصول کشاورزی و دارویی جهان جایگاه ویژه ای در بین محصولات صنعتی و صادراتی ایران دارد و در حال حاضر ایران جزو بزرگترین تولید کننده ها و صادر کننده های 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 تنش های زیستی و غیرزیستی محدود می شود، به طوریکه تحت تاثیر تنش های غیر زیستی، عملکرد گیاهان زراعی در سراسر جهان ۵۰٪ ظرفیت ژنتیکی آنها است (۲۸). امروزه شوری خاک یکی از مهمترین تنش های غیر زیستی است که بر تولید و کیفیت محصولات کشاورزی تاثیر نامطلوب دارد. سمیت یونی و تنش اسمزی که در شرایط تنش شوری ایجاد می شود، منجر به بر هم خوردن تعادل متابولیسمی سلول شده و در نتیجه آن تنش اکسایشی رخ می دهد (۵۰). تنش اکسایشی یک پدیده فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی پیچیده است که حاصل تولید بیش از اندازه و تجمع انواع فعال اکسیژن می باشد و در گیاهان عالی، تحت تنش های زیستی و غیر زیستی رخ می دهد (۱۸). انواع فعال اکسیژن علاوه بر آسیبی که به یاخته می رسانند، تحت شرایط تنش به عنوان پیک ثانویه عمل کرده و نقش

مهمی در انتقال پیام های تنش ایفا می کنند(۲۵). به منظور کم کردن آسیب های ناشی از تنش های اکسیداتیو، گیاهان مجهز به سازگان دفاعی پاداکسایشی هستند که شامل ترکیبهای غیر زیمایه ای مانند کاروتنوئید، توکوفرول، فلاوونوئیدها و همچنین ترکیبهای زیمایه ای مانند سوپراکسید دیسموتاز(SOD)، کاتالاز(CAT)، پراکسیداز (POX)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و پلی فنل اکسیداز (PPO) هستند.گیاهان با سطح بالای پاداکساینده ها دارای مقاومت بالایی به آسیب اکسیداتیو می باشند (۴۳). به هرحال به نظر می رسد 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 می توانند از این صفات به منظور یک شاخص گزینشی 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 پاداکساینده های موثر در گیاهان در تنش های غیر زیستی از قبیل نور بالا و اشعه UV و یا در پاسخ به آلودگی فلزات سنگین افزایش می یابند (۴۶). ترکیبات فنلی توانایی همبند کردن فلزاتی مانند مس را دارند و در نتیجه باعث افزایش تحمل گیاهان در مقادیر بالای فلزات سنگین می شوند (۳۰). علاوه بر این، گروه های 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 می تواند تحمل تنش را تسهیل کرده و بهبود ببخشد (۴۰). در همین رابطه، خیساندن دانه های گندم در محلول SA حفاظت را هم در مقابل شوری و هم خشکی بهبود می بخشد (۹). همچنین گزارش شده است که سالیسیلیک اسید حفاظت آنتی اکسیدانی را افزایش می دهد (۴۹) و مانع تجمع یونهای Na^+ و Cl^- می شود (۲۰).

با توجه به اینکه بخش اعظم زعفران مصرفی جهان در ایران تولید می شود و از طرفی بسیاری از مناطق ایران را زمین های خشک و نیمه خشک تشکیل داده و از ویژگی های این گونه مناطق، تبخیر زیاد و نزولات جوی اندک است که منجر به تجمع املاح مختلف در لایه های سطحی خاک می گردد (۲)، بررسی پاسخ این گیاه مهم اقتصادی به شوری اهمیت فراوان دارد. این پژوهش با هدف بررسی مقایسه ای برخی پاسخ های بیوشیمیایی به تنش شوری در سه جمعیت مختلف زعفران در ایران و با تاکید بر انتخاب مقاوم ترین جمعیت انجام شد. بعلاوه اثر سالیسیلیک اسید به عنوان یک تنظیم کننده بر بهبود اثرات مضر تنش شوری مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

در این پژوهش بنه های 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 می شود، 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 بنه های زعفران در پرلیت کاشته شد و به مدت ۱۵ روز یک روز در میان با آب معمولی آبیاری شد. پس از جوانه زنی بنه ها 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 هوگلند۱/۲ 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

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) ساییده شد و سپس با سرعت ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ 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 سانتریفوژ شد. ۱ میلی لیتر از روشناور با ۲ میلی لیتر از محلول ۲۰ درصد تری کلرواستیک اسید محتوی ۵ درصد تیوباربیتوریک 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 مجددا به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ 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).

پرولین: 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 سریعا به حمام آب یخ منتقل شد. جذب فاز رنگی در طول موج ۵۲۰ نانومتر به کمک اسپکتروفتومتر خوانده شد و مقدار پرولین با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید (۱۳).

عصاره گیری جهت سنجش فعالیت زیمایه 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 ساییده شد و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ 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 زیمایه سوپراکسید دیسموتاز (SOD): میزان فعالیت زیمایه سوپراکسید دیسموتاز با قابلیت آن در بازدارندگی واکنش احیایی فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیوم (NBT) تعیین می شود. در این روش، محلول واکنش شامل بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با pH۷/۵، متیونین ۱۳ میلی مولار، ۰/۱ میلی مولار EDTA و ریبوفلاوین ۷۵ میکرومولار می باشد که در تاریکی کامل نگهداری شد. در دو کووت شیشه ای ۳ میلی لیتر از محلول فوق بدون عصاره زیمایه 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

سانتی متری نور فلوئورسنت 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 لوله های 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 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-HClبه 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 pH= ۶/۸که 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 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 pH= ۷، 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 $mM^{-1}.cm^{-1}$ ۲/۸ محاسبه شد (۱۵)

فعالیت زیمایه کاتالاز: مطابق با این روش مخلوط آزمایش شامل ۶۲۵ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار با 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 $mM^{-1}\ cm^{-1}$ ۳۹/۴ تعیین گردید و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. فعالیت بر حسب واحد زیمایه ای در میلی گرم پروتئین محاسبه شد (۱۱).

آنالیزهای آماری: تمام آزمایش های این پژوهش در قالب طرح کاملا 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 وتحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها در سطح خطای ۵ ٪ (۵٪> P) با آزمون دانکن (DMRT) انجام شد. اعدادی که دارای حروف مشابه هستند از نظر آماری تفاوت معناداری ندارند.

نتایج

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 بیوشیمیائی جمعیت های مختلف زعفران در این پژوهش، محتوای پراکسید 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).

جدول ۱ - میانگین محتوای 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 نطنز. N: نمک و S سالیسیلیک اسید می باشد .در هر گروه تیمارها با حروف یکسان اختلاف معناداری ندارند.

PPO (U mg^{-1} Protein)	APX (U mg^{-1} Protein)	POX (U mg^{-1} Protein)	CAT (U mg^{-1} Protein)	SOD (U mg^{-1} Protein)	MDA (µmol g^{-1} FW)	Proline (µmol g^{-1} FW)	H_2O_2 (µmol g^{-1} FW)	تیمار
۰/۰۰۱۴a	۱۰/۴۹cd	۰/۰۰۴۲a	۱/۳۷b	۰/۰۵a	۲/۴۴ab	۳۷/۳ab	۰/۱۹a	N_0+S_0
۰/۰۹۷e	۱۲/۳۸d	۰/۰۷۹e	۲/۴۹c	۰/۰۴۳a	۲/۸۹bcd	۱۴۰/۳f	۰/۳۸cd	$N_0+S_{0.5}$
۰/۰۱۸۱abc	۲/۰۹a	۰/۰۰۸a	۰/۷۲a	۰/۰۵۹a	۳/۲۴cd	۹۶/۸۳e	۰/۴۰cd	N_0+S_1
۰/۱۷۸f	۱۸/۳۴e	۰/۳۴g	۳/۵۶d	۰/۲۴d	۳/۳۲cd	۱۰۶/۶e	۰/۴۳d	$N_{100}+S_0$
۰/۰۸۶e	۶/۲۶b	۰/۰۹ef	۱/۹۳bc	۰/۲۶d	۲/۵۸ab	۹۹/۱۶e	۰/۲۶abc	$N_{100}+S_{0.5}$
۰/۰۴۱cd	۱/۷a	۰/۰۹۷f	۱/۷۲b	۰/۱۸c	۲/۸ab	۱۰۹/۰۸e	۰/۲۲ab	$N_{100}+S_1$
۰/۰۲۱abc	۸/۴۵c	۰/۰۱۵ab	۱/۷۸b	۰/۱۳b	۳/۵۸d	۵۲bc	۰/۳۱a-d	$N_{200}+S_0$
۰/۰۲۸bc	۲/۲۸a	۰/۰۳۴c	۱/۶۴b	۰/۱۱b	۲/۲۶a	۵۵/۵۸bc	۰/۳۵abc	$N_{200}+S_{0.5}$
۰/۰۰۷ab	۱/۵۴a	۰/۰۵۴d	۰/۶۲a	۰/۱۵b	۲/۳a	۲۰/۴a	۰/۳۶abc	$N_{200}+S_1$
۰/۰۵۴d	۵/۶b	۰/۰۲۵bc	۱/۵۸b	۰/۶۶f	۳bcd	۱۰۴/۱۶e	۰/۳۳a-d	$N_{300}+S_0$
۰/۰۰۸ab	۱/۵۵a	۰/۰۰۴۱a	۰/۴۱a	۰/۲۶d	۲/۹۴bcd	۱۰۶e	۰/۳۳a-d	$N_{300}+S_{0.5}$
۰/۰۰۴ab	۰/۹۲a	۰/۰۱۲ab	۰/۳۱a	۰/۴۲e	۲/۸abc	۶۶cd	۰/۲۱ab	$N_{300}+S_1$

پراکسید هیدروژن : مقایسه محتوای پراکسید هیدروژن در سه منطقه مختلف در مواجهه با تنش نشان داد که بیشترین میزان، مربوط به منطقه نطنز 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 زیمایه های پاداکساینده در منطقه نطنز در شوری ۱۰۰ میلی مولار (جدول۱) و در منطقه قائنات در ۳۰۰ میلی مولار (جدول۲)که محتوای پراکسید هیدروژن بالایی داشتند مشاهده شد.

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 نطنز 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.

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^{-1} Protein)	APX (U mg^{-1} Protein)	POX (U mg^{-1} Protein)	CAT (U mg^{-1} Protein)	SOD (U mg^{-1} Protein)	MDA (µmol g^{-1} FW)	Proline (µmol g^{-1} FW)	H_2O_2 (µmol g^{-1} FW)	تیمار
۰/۰۰۰۵a	۰/۰۱۵a	۰/۰۰۶a	۰/۴۳۹a	۰/۲۷۵ab	۲/۵۳a	۴۹/۹a	۰/۰۹۶a	N_0+S_0
۰/۰۰۶abc	۰/۰۸۵a	۰/۰۲۶۸a	۰/۹۷۹bc	۰/۳۱۶ab	۳/۱۳ab	۳۲a	۰/۳۳g	$N_0+S_{0.5}$
۰/۰۱۸۵de	۰/۰۸۲a	۰/۰۱۴۹a	۱/۱c	۰/۳۸۰ab	۲/۸a	۵۳/۶a	۰/۲۵f	N_0+S_1
۰/۰۲۴e	۰/۰۹۶a	۰/۰۷۰a	۰/۵۴۹ab	۰/۲۴۷ab	۲/۸۳ab	۱۱۴/۹ c	۰/۱۳b	$N_{100}+S_0$
۰/۰۱۶cde	۰/۱۰۶a	۰/۱a	۰/۸۷۲abc	۰/۶۹۶b	۳/۸۷cd	۸۲/۵۷b	۰/۱۸۶cd	$N_{100}+S_{0.5}$
۰/۰۲۶۵e	۰/۲۷۲b	۰/۰۲a	۱/۰۲c	۰/۲۲۱ab	۴/۱۶cd	۳۰/۹۲a	۰/۱۷۶c	$N_{100}+S_1$
۰/۰۱۱bcd	۰/۱۴۶ab	۰/۰۶a	۰/۵۵۵ab	۰/۰۶۶a	۳/۸۹cd	۱۸۷/۵۸d	۰/۲۱۳cd	$N_{200}+S_0$
۰/۰۰۳۷ab	۰/۴۲۳c	۰/۱۶a	۱/۹۱de	۰/۵۵۳ab	۳/۶۷c	۴۰/۶۳a	۰/۱۷۶c	$N_{200}+S_{0.5}$
۰/۰۱۹۷de	۰/۴۶cd	۰/۴۴b	۱/۵۳d	۰/۴۹ab	۴/۲d	۴۵/۷۵a	۰/۲۵ ef	$N_{200}+S_1$
۰/۰۶۰g	۱/۴۵e	۰/۹۸c	۷/۷۴f	۳/۰۱c	۳/۲۱b	۲۷۰/۱۲ef	۰/۲۱۶de	$N_{300}+S_0$
۰/۰۰۶۷abc	۱/۷۶f	۱/۱۵d	۹/۱g	۴/۰۲d	۴/۰۶cd	۲۹۰/۵۳f	۰/۲۶۳f	$N_{300}+S_{0.5}$
۰/۰۱۸۸de	۰/۵۸d	۰/۴۹۹b	۲/۱۹e	۰/۵۸۷ab	۳/۷۱c	۲۴۶/۱۲e	۰/۲۲۷de	$N_{300}+S_1$

جدول۳ - 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^{-1} Protein)	APX (U mg^{-1} Protein)	POX (U mg^{-1} Protein)	CAT (U mg^{-1} Protein)	SOD (U mg^{-1} Protein)	MDA (µmol g^{-1} FW)	Proline (µmol g^{-1} FW)	H_2O_2 (µmol g^{-1} FW)	تیمار
۰/۰۳۲a	۰/۵۲۴f	۰/۰۱۶ab	۱/۴۵d	۰/۲۶def	۱/۴۵a	۱۶/۴۹f	۰/۲ab	N_0+S_0
۰/۰۴۴a	۰/۱۴۲abc	۰/۰۱۹ab	۰/۸۳a	۰/۱۹cd	۱/۷۵ab	۹/۱۰abc	۰/۲۷bc	$N_0+S_{0.5}$
۰/۰۴۸a	۰/۲۴۷d	۰/۰۴۵abc	۱/۸e	۰/۲۹ef	۴/۴۱ef	۱۴/۹۵bcd	۰/۳۲c	N_0+S_1
۰/۱۴۶ab	۰/۲۲۵cd	۰/۰۰۶a	۰/۹۶ab	۰/۰۲۷a	۲/۲bcd	۹۸/۷۶g	۰/۱۳a	$N_{100}+S_0$
۰/۱۶۵ab	۰/۴۱۳e	۰/۰۶۸cd	۱/۱۶bc	۰/۱۳bc	۴/۷۰f	۲۲/۴۴d	۰/۲۸bc	$N_{100}+S_{0.5}$
۰/۲۲۱b	۰/۴۳۴e	۰/۱۷e	۲/۸f	۰/۰۴۷a	۲/۸۸d	۱۱/۲۴a-d	۰/۱۸ab	$N_{100}+S_1$
۰/۴c	۰/۱۱۴ab	۰/۱d	۱/۹۴e	۰/۰۸۷ab	۲/۵۷cd	۶۹/۶۵e	۰/۲۲abc	$N_{200}+S_0$
۰/۴۵c	۰/۳۸۶e	۰/۱۸e	۵/۳۱g	۰/۳۵f	۴/۲ef	۱۰/۳۸a-d	۰/۲۳abc	$N_{200}+S_{0.5}$
۰/۰۵۶a	۰/۲۲۳cd	۰/۰۹d	۱/۸۹e	۰/۰۸۵ab	۴/۰۷ef	۳/۲۳ab	۰/۳۱c	$N_{200}+S_1$
۰/۶۱۸d	۰/۱۹۹bcd	۰/۰۶۸cd	۱/۹۶e	۰/۰۰۵۲a	۱/۶ab	۸۲/۴۴cd	۰/۳۱c	$N_{300}+S_0$
۰/۰۱۶a	۰/۰۷۸a	۰/۰۶۷cd	۱/۸۸e	۰/۲۵def	۲/۱abc	۱/۲۴a	۰/۱۴a	$N_{300}+S_{0.5}$
۰/۰۱۴a	۰/۱۰۴a	۰/۰۸۹cd	۱/۷۲e	۰/۲۴de	۳/۶۹e	۱۰/۴a-d	۰/۱۹ab	$N_{300}+S_1$

پرولین: در هر سه منطقه افزایش معنادار پرولین در برگ گیاه تحت تنش نسبت به حالت شاهد مشاهده شد (جدول های ۱ تا ۳). تیمار سالیسیلیک اسید باعث کاهش معنادار محتوای پرولین به ویژه در منطقه دیهوک شده است. به نظر

می رسد 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 زیمایه سوپراکسید دیسموتاز در برگ گیاهان تنش دیده نسبت به شاهد افزایش یافت. این زیمایه 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 زیمایه مشاهده شد. تیمار سالیسیلیک اسید در منطقه نطنز، با هر دو غلظت، در ۳۰۰ میلی مولار شوری باعث کاهش معنادار فعالیت زیمایه شد(جدول۱). 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 می تواند به عنوان علامتی برای افزایش فعالیت زیمایه 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 زیمایه 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 زیمایه 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 سالیسیلیک اسید با غلظت ۰/۵ میلی مولار محتوای پراکسید هیدروژن را در غلظت ۳۰۰ میلی مولار شوری در این منطقه افزایش داد که می تواند به عنوان علامتی جهت افزایش فعالیت زیمایه ای عمل کند.گزارش شده است هر چه میزان فعالیت زیمایه های پاد اکساینده بالاتر باشد گیاه مقاومت بیشتری به تنش شوری دارد. بنابراین به نظر می رسد سالیسیلیک اسید در جمعیت قائنات با غلظت ۰/۵ میلی مولار موثرتر عمل کرده است.

در منطقه دیهوک فعالیت زیمایه کاتالاز ابتدا کاهش و سپس افزایش یافت (جدول ۳). همچنین فعالیت زیمایه های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز با افزایش غلظت شوری نسبت به شاهد افزایش معناداری یافت درحالیکه فعالیت زیمایه آسکوربات پراکسیداز کاهش یافت. تیمار سالیسیلیک اسید با غلظت ۰/۵ میلی مولار باعث افزایش فعالیت زیمایه کاتالاز در ۲۰۰ میلی مولار شوری ، افزایش فعالیت زیمایه 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 زیمایه های آسکوربات پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز شده است .

بحث

در خصوص تاثیر تیمار سالیسیلیک اسید در کاهش محتوای پراکسید هیدروژن می توان گفت که سالیسیلیک اسید با خاصیت دهندگی یک الکترون و یک پروتون در تجزیه انواع فعال اکسیژن عمل می کند (۲۲) و بنابراین می تواند به طور مستقیم در پاکسازی رادیکالها نقش داشته باشد. به نظر می رسد 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

آرابیدوپسیس منجر به انباشتگی پراکسید هیدروژن می شود و ترکیب اخیر با دخالت در ترارسانی علامت، سبب افزایش سنتز یا فعالیت زیمایه های پاداکساینده می گردد (۴۹).

در خصوص افزایش محتوای پراکسید هیدروژن در غلظت های بالای شوری مانند ۳۰۰ میلی مولار می توان گفت که این افزایش می تواند به عنوان علامتی جهت افزایش فعالیت زیمایه های پاداکساینده عمل کند.گزارش شده است هر چه میزان فعالیت زیمایه های پاد اکساینده بالاتر باشد گیاه مقاومت بیشتری به تنش شوری خواهد داشت (۸).

مالون دی آلدئید یک فراورده سیتوتوکسیک پراکسیداسیون لیپیدی و شاخص تولید رادیکال آزاد و میزان آسیب بافت است (۳۴). سنجش محتوای مالون دی آلدئید، 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 می گیرد(۴۱). افزایش محتوای مالون دی آلدئید 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 زیمایه های پاداکساینده و کمترین میزان مالون دی آلدئید را داشته اند (۲۵). در گیاه ذرت نیز تیمار سالیسیلیک اسید خارجی منجر به کاهش مالون دی آلدئید 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 تاخیر می اندازد(۴). کاهش محتوای مالون دی آلدئید درمنطقه نطنز احتمالا به دلیل جاروب کردن انواع فعال اکسیژن توسط سالیسیلیک اسید می باشد. گزارش شده است که سالیسیلیک اسید با افزایش محتوای پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید در ترارسانی علامت تنش نقش دارد و باعث بیان ژن PR-1 می شود (۱۰). احتمال می رود که سالیسیلیک اسید در دو منطقه قائنات و دیهوک چنین اثری داشته است اما جهت نتیجه گیری قطعی اندازه گیری بیان ژن در پژوهش های بعدی پیشنهاد می شود.

بر طبق نتایج ما سالیسیلیک اسید در غیاب تنش شوری در هر دو غلظت منجر به افزایش محتوای مالون دی آلدئید در هر سه جمعیت شده است (جدول های ۱ تا ۳). لذا می توان نتیجه گرفت که این ترکیب در غیاب تنش شوری منجر به وخیم شدن وضعیت گیاهان و افزایش شدت تنش اکسایشی می شود. در حضور تنش نقش سالیسیلیک اسید (به ویژه در غلظت ۰/۵ میلی مولار) در کاهش مالون دی آلدئید تنها در جمعیت نطنز به وضوح به چشم می خورد و در سایر جمعیت ها اثر بهبود دهندگی این ترکیب قابل مشاهده نیست. در تطابق با این نتیجه گزارش شده است که سالیسیلیک اسید با غلظت پایین (۰/۵ میلی مولار) موجب افزایش مقاومت گلرنگ به تنش شوری شده، اما در غلظت های بالاتر (۱ میلی مولار) 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 می شود یکی از ویژگی های عمومی در بسیاری از گیاهان تک لپه ای است (۸). افزایش محتوای پرولین در دانه رست های 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 ترارسانی علامت تنش و در محافظت اسمزی از ماکرومولکول های گیاهان نیز شرکت می کند. کاهش محتوای پرولین در گیاه تحت تیمار سالیسیلیک اسید می تواند نشانه خروج گیاه از وضعیت تنش و نشان دهنده نقش سالیسیلیک اسید در بهبود اثرات تنش شوری باشد.

در خصوص تغییرات آنزیم های آنتی اکسیدان 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 زیمایه سوپراکسید دیسموتاز می شود اما در غلظت های 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 می دهد که سالیسیلیک اسید ممکن است دارای مسیرهای ترارسانی رسانی علامت مشترک با واسطه تشکیل رادیکال های آزاد اکسیژن باشد. به هر حال حفاظت گیاهان در برابر تنش اکسایشی با افزایش در زیمایه های پاداکساینده مرتبط می باشد و فعالیت این زیمایه ها سطح نهایی رادیکال های آزاد و پراکسید هیدروژن در گیاه را کاهش می دهند (۲۱، ۴۷).

مقادیر اضافی پراکسید هیدروژن توسط زیمایه هایی نظیر پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز حذف می شود(۳۱). گزارش های متعددی حکایت از افزایش فعالیت زیمایه های پاداکساینده تحت تنش های غیر زیستی دارد (۷، ۱۷). به نظر می رسد بالا رفتن فعالیت زیمایه در غلظت پایین شوری و افت آن در غلظت های بالاتر نشانه حساسیت گیاه به غلظت های بالای تنش شوری می باشد. اثر مهاری سالیسیلیک اسید بر زیمایه های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در نخود فرنگی (۴۴) ، پلی فنل اکسیداز در گوجه فرنگی (۳۸) و کاتالاز در گیاهان، قارچ ها و جانوران (۳۹) نیز گزارش شده است.

در توافق با افزایش آنزیم کاتالاز در زعفران های منطقه دیهوک در گیاه *Cassia angustifolia* تحت تنش شوری نیز افزایش فعالیت کاتالاز گزارش شده است (۷). به علاوه افزایش فعالیت زیمایه پراکسیداز در ذرت خوشه ای تحت 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 احتمالا سالیسیلیک اسید در غلظت بالای شوری می تواند 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 دی آلدئید در شرایط شاهد و تحت غلظت های مختلف شوری به عنوان مقاوم ترین جمعیت زعفران می تواند 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 جمعیت های مختلف زعفران می توان مشاهده کرده که در بین جمعیت های 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 جمعیت ها می باشد. در دو جمعیت دیگر اگرچه افزایش پرولین تحت تنش شوری در برگ هر سه جمعیت نسبت به شاهد مشاهده می شود ولی این افزایش تحت تنش شوری بصورت پیوسته نیست.

به علاوه جمعیت نطنز زعفران با بالا بودن محتوای مالون دی آلدئید و با کمترین فعالیت زیمایه های پاداکساینده در غلظت بالای شوری حساس ترین و جمعیت قائنات که تنها در بالاترین غلظت تحت تاثیر تنش قرار گرفته است، می تواند مقاوم ترین جمعیت در نظر گرفته شود. احتمال می رود گیاه در جمعیت اخیر، در غلظت های پایین نمک با ساز وکارهای دیگری از جمله پاداکساینده های غیر زیمایه ای به مقابله با تنش شوری بپردازد. نکته مهم اینکه نقش سالیسیلیک اسید در کاهش محتوای مالون دی آلدئید تنها در جمعیت نطنز که حساس ترین جمعیت با توجه به پارامترهای مختلف است به وضوح به چشم می خورد و

در سایر جمعیت ها اثر بهبود دهندگی این ترکیب قابل مشاهده نیست. بنابراین پیشنهاد می شود در ادامه این پژوهش، سنجش ترکیبات فنلی، گلوتاتیون، آسکوربات، آلفا توکوفرول انجام شود. پاداکساینده های غیر زیمایه ای ممکن است به عنوان ترکیبات احیا کننده عمل کنند یعنی زنجیر رادیکال های آزاد را از هم بگسلند و یا از تشکیل انواع فعال اکسیژن جلوگیری کنند (۴۳). لذا سالیسیلیک اسید به عنوان ترکیب فنلی می تواند به طور مستقیم در جاروب کردن انواع فعال اکسیژن نقش داشته باشد (۲۲).

در جمعیت نطنز با کاهش محتوای پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید و از طرفی کاهش فعالیت زیمایه ها با این نقش ظاهر شده است اما در جمعیت های دیهوک و قائنات، غلظت ۰/۵ میلی مولار باعث افزایش محتوای مالون دی آلدئید و پراکسید هیدروژن شده که متعاقبا فعالیت برخی از زیمایه های پاداکساینده ها را افزایش داده است. بنابراین احتمال می رود که سالیسیلیک اسید در جمعیت های اخیر در رابطه با ترارسانی علامت تنش در پاسخ گیاه نقش داشته است.

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 زیست شناسی 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. Evalution 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. Slinity 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 NO2 using light emitting diodes, Analyst, 131 (8): 916-922.

29. Loreto, F, Velikova, V, 2001. Isoperene 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, Jounal 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 *Lycopersiconpennellii* 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 α-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.[1], Niknam V.[1], Ebrahimzadeh H.[1] and Sharifi G.A.[2]

[1] **School of Biology and Center of Excellence in Phylogenyof Living Organisms, College of Science, University of Tehran, Tehran, I.R. of Iran**

[2] **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