زیست‌شناسی گیاهی، سال چهارم، شماره دوازدهم، تابستان ۱۳۹۱، صفحه ۲۵-۳۶
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۰۹/۲۹
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۰/۰۵/۰۳
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۰/۱۰/۲۰

مطالعه تأثیر سالیسیلیک اسید بر مقاومت و القای تنش اکسیداتیو در گیاه ریحان سبز (*Ocimum basilicum* L.) تحت تنش شوری

مریم دلاوری پاریزی [۱]، امین باقی‌زاده [۲]، شکوفه انتشاری [۱*] و خسرو منوچهری کلانتری [۳]
[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران ۴۶۹۷ – ۱۹۳۹۵، ج. ا. ایران
[۲] مرکز بین‌المللی علوم، تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی پردیس دانش ماهان، کرمان، ایران
[۳] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

چکیده

تحقیقات نشان داده است که سالیسیلیک اسید سبب ایجاد مقاومت در گیاهان نسبت به تنش‌های محیطی (گرما، سرما، خشکی و شوری) می‌شود. در این تحقیق، اثر سالیسیلیک اسید بر پراکسیداسیون لیپیدها، قندها و عناصر سدیم و پتاسیم در برگ و در ریشه گیاه ریحان سبز تحت تنش شوری بررسی شد. گیاهان مورد آزمایش پس از کاشت در گلدان و رسیدن به مرحله ۴ برگی، با سالیسیلیک اسید در ۳ سطح (۰، ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌مولار) به مدت ۵ روز و شوری در ۳ سطح (۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار سدیم کلرید) به مدت ۵ روز تیمار شدند. مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشا در برگ و ریشه در تیمار با سالیسیلیک اسید و شوری با غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار کاهش معنی‌داری داشت. در تیمار با شوری ۲۰۰ میلی‌مولار مقدار مالون‌دی‌آلدئید ریشه افزایش معنی‌داری داشت و با افزایش تنش شوری مقدار قند نیز در برگ افزایش معنی‌داری نشان داد. در تیمار همزمان شوری و سالیسیلیک اسید، در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار، میزان قند کاهش معنی‌دار و در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار افزایش معنی‌داری داشت. مقدار سدیم برگ در شوری افزایش و در تیمار سالیسیلیک اسید نسبت به گیاه شاهد کاهش یافت. میزان سدیم در تیمار همزمان سالیسیلیک اسید و تنش شوری با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار، کاهش معنی‌داری نشان داد. میزان پتاسیم برگ در تنش شوری کاهش معنی‌داری یافت. تیمار همزمان سالیسیلیک اسید و شوری باعث کاهش معنی‌دار پتاسیم برگ شده، مقدار پتاسیم ریشه نیز کاهش یافت که نشان‌دهنده بهبود اثر شوری در حضور سالیسیلیک اسید است.

واژه‌های کلیدی: ریحان سبز (*Ocimum basilicum* L.)، سالیسیلیک اسید، شوری

مقدمه

تنش‌های محیطی زیادی بر رشد و نمو و تولید محصول در گیاهان تأثیر می‌گذارند. از این عوامل می‌توان به خشکی، سرما، گرما، عناصر سمّی و شوری اشاره کرد (Sairam *et al*., 2005). شوری به عنوان یکی از تنش‌های محیطی، تمام مراحل رشد از

*نویسنده مسؤول: نشانی پست الکترونیک: dr.enteshari@nj.isfpnu.ac.ir، شماره تماس: ۰۳۳۱۲۷۲۷۱۲۱

جوانه‌زنی تا تولید توده زنده گیاهی، دانه و میوه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. پاسخ گیاهان به شوری به نوع گیاه، مرحله نموی گیاه، شدت و مدت تنش بستگی دارد (Manchanda and Garg, 2008). تنش شوری موجب تغییرات شیمیایی، فیزیولوژیک و مورفولوژیک متعددی در گیاهان می‌شود. این تنش رشد، فتوسنتز، سنتز پروتئین، متابولیسم لیپیدها، تنفس و تولید انرژی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Parida and Das, 2005).

همچنین، شوری موجب اختلال در جذب مواد معدنی می‌شود. به طوری که با دخالت در فعالیت ناقل‌ها و کانال‌های یونی در ریشه مانند کانال‌های انتخابی K^+ (رقابت سدیم با پتاسیم)، مهار رشد ریشه توسط اثرات اسمزی Na^+ و یا با تأثیر Na^+ بر ساختار خاک موجب کاهش جذب آب و مواد معدنی می‌شود (Tester and Venport, 2003; Parida and Das, 2005). از سوی دیگر، شوری با جایگزینی Na^+ به جای Ca^{2+} در غشا، نفوذپذیری غشا را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Sairam *et al.*, 2005). تنش شوری باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش نشت‌پذیری غشا سلول‌ها شده که علاوه بر آسیب اکسیداتیو وارد شده توسط گونه‌های فعال اکسیژن، باعث افزایش برخی پروتئین‌ها مانند پروتئین‌های شوک گرمایی، چپرون‌ها و سایر پروتئین‌های سمّ‌زدا می‌شود (Sudhakar *et al.*, 2001). گیاه برای حفظ تورژسانس در تنش شوری موادی می‌سازد که باعث منفی‌تر شدن پتانسیل آبی درون سلول‌ها شده، به گیاه اجازه حفظ تورگر را می‌دهد. این مواد که «اسمولیت» نام دارند، ترکیباتی هستند که توسط همه موجودات ساخته می‌شوند. این ترکیبات قابلیت انحلال بسیار بالایی دارند، با این حال وزن مولکولی آنها کم است و معمولاً در غلظت‌های بالا برای سلول سمّیت و اختلالی در واکنش‌های طبیعی سلول ایجاد نمی‌کنند (Ashraf and Foolad, 2007). اسمولیت‌ها علاوه بر تنظیم اسمزی، در جلوگیری از ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن، سمّ‌زدایی و جاروب کردن گونه‌های فعال اکسیژن نیز نقش دارند (Orcutt and Nilsen, 2000). یکی از این اسمولیت‌ها، قندها هستند که باعث منفی‌تر کردن پتانسیل اسمزی در سیتوپلاسم شده، به جداسازی Na^+ در واکوئل کمک کرده و موجب تنظیم اسمزی می‌شوند (Orcutt and Nilsen, 2000). در مجموع، گیاهان مکانیسم‌های متفاوتی برای مقاومت در برابر تنش شوری دارند که شامل تنظیم میزان Na^+ ورودی به اندام هوایی، ترشح و دفع نمک در سطح برگ، تغییر در هورمون‌های گیاهی و القای سنتز برخی پروتئین‌هاست (Munns 2002; Mahajan and Tuteja 2005). در حال حاضر، از ترکیباتی استفاده می‌شود که مقاومت گیاهان را به تنش‌های محیطی افزایش داده، موجب بهبود فعالیت‌های متابولیکی گیاه می‌شوند. یکی از این ترکیباتی که در این زمینه شناسایی شده، سالیسیلیک اسید است. این ترکیب در تنش‌های محیطی اثر محافظتی داشته، موجب بهبود روند رشد در گیاه می‌شود. از آنجایی که شوری از عوامل محدود کننده رشد و نمو و تولید محصول در بسیاری از گیاهان است، بررسی اثر شوری و سالسیلیک اسید بر گیاه ریحان به عنوان هدف این تحقیق در نظر گرفته شد که با توجه به گسترش روز افزون شوری خاک، از این ماده که نسبتاً ارزان و در دسترس است، بتوان استفاده نمود. ریحان سبز (*Ocimum basilicum* L.) متعلق به خانواده نعنا،

یکی از سبزیجات معطر و پر مصرف خوراکی است. از این گیاه برای معالجهٔ دل درد، سوء هاضمه و یبوست استفاده می‌شود.

مواد و روش‌ها

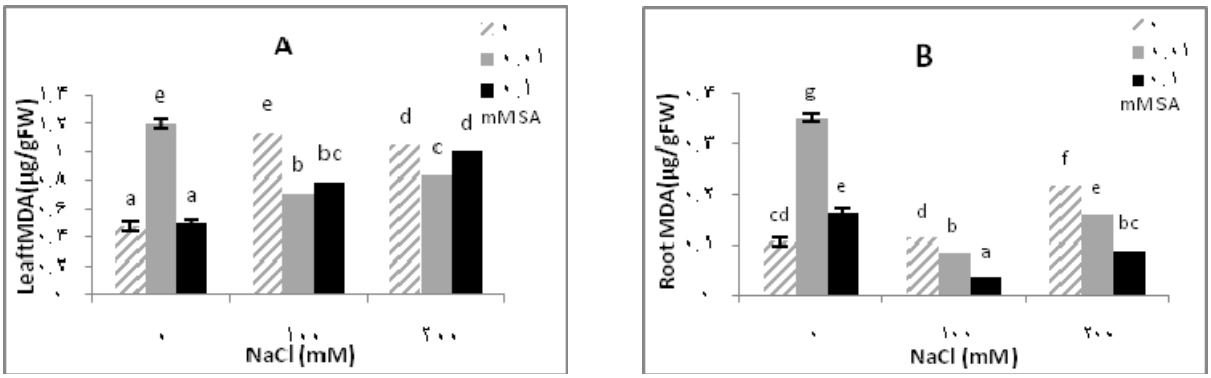
ابتدا بذرهای ریحان (*Ocimum basilicum*)، تهیه شده از شرکت یاسا طب اصفهان، با سدیم هیپوکلریت ۰/۱ درصد ضد عفونی، سپس با آب مقطر شستشو داده شدند. بذرهای ضد عفونی شده به مدت یک ساعت در آب مقطر قرار گرفتند. برای کشت گلدانی، از گلدان‌های با قطر ۱۲ سانتی‌متر استفاده شد که با پرلیت پُر شدند. سپس بذرهای خیس خورده به گلدان‌ها منتقل شدند. برای هر تیمار ۳ گلدان به عنوان ۳ تکرار در نظر گرفته شد. در هر گلدان ۴ بذر به عنوان ۴ نمونه کاشته شد. گلدان‌ها پس از کشت در اتاق رشد (ساخت شرکت GROUC تهران) تحت شرایط نوری ۸/۱۶ (تاریکی/نور) با شدت نور $350\ \mu mol\ m^{-2}\ S^{-1}$ رطوبت ۷۵ درصد و دمای ۲±۲۳: ۲±۱۶ درجه سانتیگراد (نور/تاریکی) قرار گرفته، آبیاری شدند. گیاهان کاشته شده به مدت ۴ هفته پس از جوانه‌زنی در شرایط یاد شده رشد کردند. در طول مدت رشد، گیاهان با محلول Long ashton نیز آبیاری شدند. اسیدیته محلول غذایی با محلول سود یک نرمال در حد ۶/۵ تنظیم شد، ۴ هفته پس از جوانه‌زنی که گیاهان کاملاً رشد کرده بودند، برای تیمار با شوری و سالیسیلیک اسید آماده شدند.

بهینه‌سازی غلظت محلول‌های مورد استفاده با غلظت (۰، ۰/۰۱، ۰/۱، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌مولار محلول سالیسیلیک اسید) و غلظت (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌مولار محلول سدیم کلرید) در مدت زمان‌های ۲، ۵ و ۷ روز انجام و شاخص پراکسیداسیون لیپیدهای غشا بررسی شد تا نتیجه نهایی مشخص شود. در نهایت محلول سالیسیلیک اسید با غلظت‌های (۰، ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌مولار) تأیید شد و ۵ روز، هر روز قبل از شروع دوره نوری، افشانه برگی سالیسیلیک اسید، به طوری که سطح برگ توسط سالیسیلیک اسید خیس شود، با این غلظت‌ها انجام شد. تمام این اعمال در اتاقک رشد با قابلیت تنظیم دما، رطوبت، آغاز و پایان دوره نوری صورت پذیرفت. گیاهان شاهد نیز با محلول آب دیونیزه افشانه شدند. پس از ۵ روز استراحت، به منظور دادن فرصت کافی به گیاه برای مقاوم‌سازی، به گیاهان ۵ بار تیمار شوری به صورت یک روز در میان با آب مقطر داده شد و پس از ۵ روز استراحت، برای اعمال شوری و تأثیر آن در گیاه برداشت آغاز گردید. گلدان‌های حاوی گیاه ریحان در طول رشد، در اتاق رشد نگهداری شدند. در این پژوهش، سنجش میزان قندهای احیاکننده با روش Somogy و Nelson (۱۹۵۲)، غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MDA) با روش Heath و Packer (۱۹۶۹) اندازه‌گیری و تعیین میزان یون سدیم و پتاسیم در اندام هوایی و ریشه با دستگاه جذب اتمی انجام شده است. برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد. در هر یک از تکرارها ۳ گیاه قرار داشت. داده‌های به دست آمده حاصل از سنجش شاخص‌ها از طریق طرح کاملاً تصادفی و تجزیه واریانس با ضریب اطمینان ۹۵ درصد و آزمون LSD ($P\leq0.05$) با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ تحلیل آماری شد، شکل‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شد.

نتایج

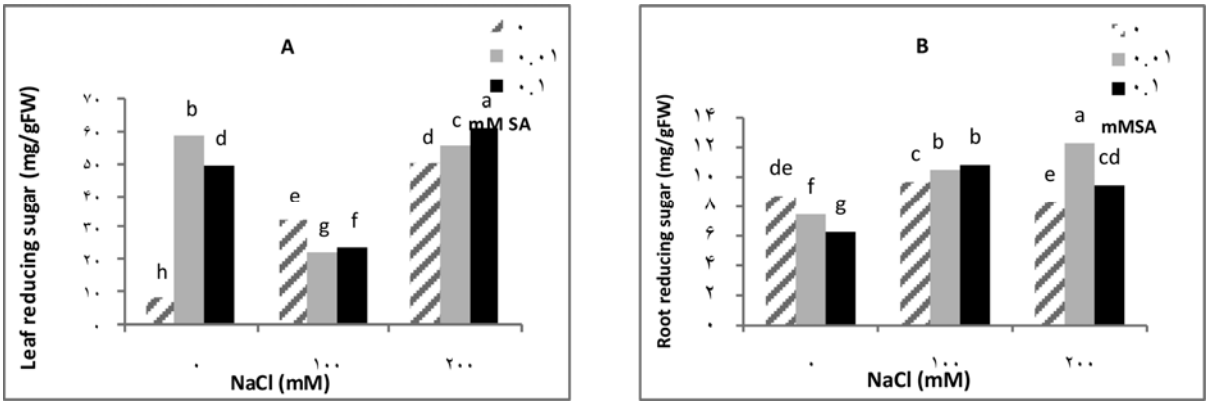
مقدار مالون‌دی‌آلدئید (MDA) برگ تحت تنش شوری ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار در مقایسه با گیاه شاهد افزایش معنی‌داری داشت. غلظت ۰/۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید تأثیری بر مقدار MDA برگ در مقایسه با گیاه شاهد نداشت، اما در تیمار سالیسیلیک اسید و شوری مقدار MDA برگ در شوری کاهش معنی‌داری داشت که نشان‌دهنده کاهش اثر منفی شوری در حضور سالیسیلیک اسید است (شکل ۱).

مقدار MDA ریشه تحت تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار در مقایسه با گیاه شاهد افزایش معنی‌داری داشت. اثر سالیسیلیک اسید بر مقدار MDA ریشه در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید معنی‌دار بود، اما در تیمار سالیسیلیک اسید و شوری مقدار MDA ریشه در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار افزایش معنی‌داری داشت که نشان‌دهنده کاهش اثر شوری در حضور سالیسیلیک اسید است. به طور کلی، کمترین مقدار MDA ریشه در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و سالیسیلیک اسید با غلظت ۰/۰۱ میلی‌مولار مشاهده شده است (شکل ۱).



شکل ۱- اثر سالیسیلیک اسید و تنش شوری بر مقدار مالون‌دی‌آلدئید برگ (A) و ریشه (B). مقادیر، میانگین ۳ تکرار و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است.

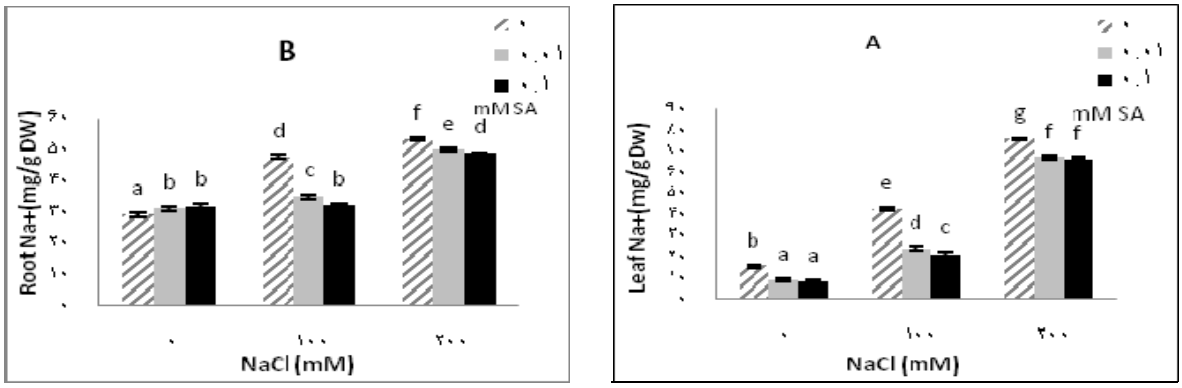
افشانه‌سازی برگ‌های گیاهان با غلظت‌های متفاوت سالیسیلیک اسید موجب افزایش معنی‌دار مقدار قندهای احیاکننده در برگ شد. با افزایش تنش شوری در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار، مقدار قند در برگ افزایش معنی‌داری یافت. در تیمار همزمان شوری و سالیسیلیک اسید در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار در مقایسه با گیاه شاهد، میزان قند در برگ ریحان تغییر معنی‌داری نداشت (شکل ۲). میزان قند احیا در ریشه گیاهان تیمار شده با غلظت‌های متفاوت سالیسیلیک اسید نسبت به گیاهان شاهد، افزایش معنی‌داری یافت. تنش شوری ۱۰۰میلی‌مولار باعث افزایش معنی‌دار مقدار قند در ریشه شد. تیمار همزمان شوری ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار و سالیسیلیک اسید با غلظت ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌مولار در مقایسه با گیاه شاهد، میزان قند را افزایش معنی‌داری داد. کمترین مقدار قندهای احیا در ریشه گیاه تیمار شده با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید و بیشترین مقدار قندهای احیاکننده در ریشه با شوری ۲۰۰ میلی‌مولار و غلظت ۰/۰۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید بود (شکل ۲).



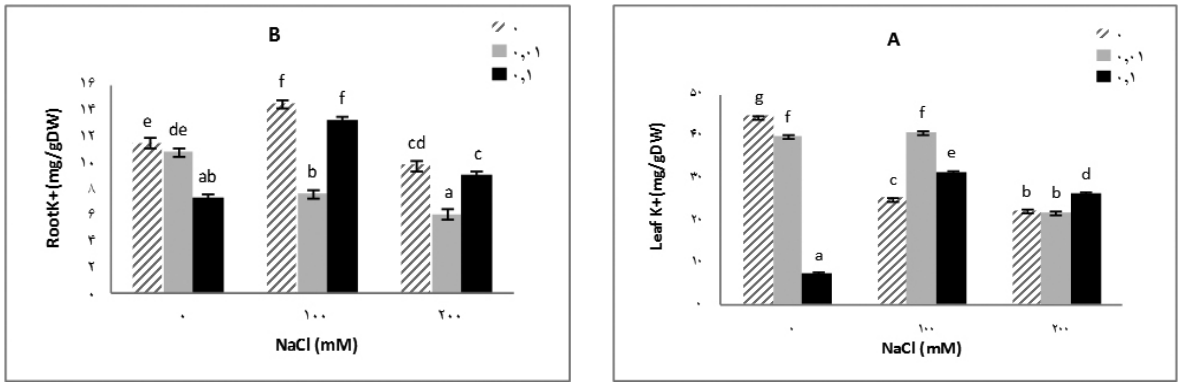
شکل ۲- اثر متقابل سالیسیلیک اسید و تنش شوری بر مقدار قند برگ (A) و ریشه (B). مقادیر، میانگین ۳ تکرار و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ است.

مقدار سدیم برگ در شوری ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار در مقایسه باگیاه شاهد، افزایش معنی‌داری داشت که این افزایش در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار بیشتر بود. میزان سدیم در برگ تیمار شده با سالیسیلیک اسید نسبت به گیاه شاهد کاهش معنی‌داری یافت. میزان سدیم در تیمار همزمان سالیسیلیک اسید و تنش شوری، در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار در مقایسه با همین غلظت شوری کاهش معنی‌داری داشت (شکل ۳). مقدار سدیم ریشه در شوری۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار در مقایسه با گیاه شاهد، افزایش معنی‌داری داشت که این افزایش در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار بارزتر شد. میزان سدیم ریشه در گیاهان تیمار شده با سالیسیلیک اسید نسبت به گیاه شاهد تغییر معنی‌داری نداشت. میزان سدیم ریشه در تیمار همزمان سالیسیلیک اسید و شوری، در شوری ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار در مقایسه با همین میزان شوری کاهش معنی‌داری داشت (شکل ۳).

میزان پتاسیم برگ در گیاهان تحت تنش شوری کاهش معنی‌داری یافت. تیمار سالیسیلیک اسید به تنهایی باعث کاهش میزان پتاسیم برگ شد. میزان پتاسیم برگ در تیمار همزمان سالیسیلیک اسید و شوری ۲۰۰ میلی‌مولار کاهش معنی‌داری پیدا کرد، در حالی که در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار افزایش معنی‌داری داشت (شکل ۴). مقدار پتاسیم ریشه در مقایسه با گیاه شاهد در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار کاهش و در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار افزایش معنی‌داری داشت. در تیمار سالیسیلیک اسید در مقایسه با گیاه شاهد میزان پتاسیم کاهش معنی‌داری داشت. در تیمار همزمان سالیسیلیک اسید و شوری مقدار پتاسیم در همهٔ موارد کاهش معنی‌داری داشت (شکل ۴).



شکل ۳- اثر متقابل سالیسیلیک اسید و تنش شوری بر مقدار سدیم برگ (A) و ریشه (B). مقادیر، میانگین ۳ تکرار و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P≤0.05 است.



شکل ۴- اثر متقابل سالیسیلیک اسید و تنش شوری بر مقدار پتاسیم برگ (A) و ریشه (B). مقادیر، میانگین ۳ تکرار و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P≤0.05 است.

بحث

یکی از اثرات تنش‌های محیطی مانند شوری، افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و القای تنش اکسیداتیو است (Hoekstra *et al.*, 2001; Sudhakar *et al.*, 2001). نشت الکترون‌ها از زنجیره انتقال الکترون به O_2 در طول متابولیسم هوازی طبیعی به تولید انواع ROS مانند سوپراکسید منجر می‌شود. این نوع اکسیژن سمّی بسیار فعال بوده، در غیاب هر مکانیسم محافظتی، متابولیسم معمولی سلول را از طریق آسیب اکسیداتیو تخریب می‌کند. یکی از موارد آسیب آن پراکسیداسیون لیپیدهای غشاست که نتیجه آن، تخریب پروتئین‌ها، غیر فعال شدن آنزیم‌ها، از بین رفتن رنگدانه‌ها و تخریب رشته DNA است. رادیکال‌های سوپراکسید تولید شده در تنش خشکی و شوری موجب پراکسیداسیون لیپیدهای غشا می‌شوند. مطالعاتی که توسط EL-Tayeb (۲۰۰۵) انجام شد، نشان داد که رادیکال‌های آزاد در جو تحت تنش شوری افزایش یافته، غشای سلولی آسیب می‌بیند، چون مقدار MDA و نشت الکترولیتی غشا افزایش یافته است. گزارش شده است که پراکسیداسیون لیپیدها در برگ گوجه‌فرنگی و افزایش مقدار MDA و سایر آلدئیدها بستگی به سن گیاه دارد. افزایش MDA، هیدروژن پراکسید در تنش شوری در گیاهان مختلفی گزارش شده است

(Dioniosio-Sese and Tobita, 1998; Sudhakar *et al*., 2001; Sairam and Srivastava, 2002).

افزایش میزان تنش به خوبی با آسیب لیپیدهای غشا همبستگی دارد. مطالعات انجام شده توسط Mansour (۱۹۹۸) نشان داد که هیدروژن پراکسید و MDA در برگ‌های عدس و به مقدار کمتر در ریشه این گیاه افزایش یافته‌اند. در پژوهش حاضر که روی ریحان سبز انجام شد، شوری عامل ایجاد کننده تنش اکسیداتیو بوده، احتمالاً به تشکیل رادیکال‌های آزاد مانند هیدروکسیل در سلول منجر شده، به دنبال آن غشای سلولی آسیب دیده است. در این آزمایش شاخص آسیب غشایی که مقدار MDA است تحت تنش شوری افزایش یافت. احتمالاً همانند مطالعات یاد شده در بالا، افزایش کمتر MDA ریشه در این پژوهش، آسیب غشایی کمتر در ریشه را ثابت می‌کند.

در این پژوهش، تیمار شوری به تنهایی مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشا را افزایش داد و در شوری بالاتر مقدار MDA تولید شده بیشتر بود. همچنین، پیش تیمار با سالیسیلیک اسید و سپس تیمار با شوری باعث کاهش مقدار MDA در مقایسه با حالت قبل بود که نشان‌دهنده اثر سالیسیلیک اسید به عنوان عامل افزایش مقاومت گیاه به تنش شوری است، زیرا سالیسیلیک اسید قبل از اینکه گیاه در معرض تنش شوری قرار گیرد باعث فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیداتیو گیاه شده است. احتمالاً می‌تواند باعث تقویت غشای سلولی و خنثی کردن خطر افزایش مقدار ROS در مدت زمانی که گیاه در معرض تنش قرار گرفته است، شود. در نتیجه از آسیب به ساختمان غشای سلولی و تغییر در نفوذ پذیری آن در شرایط تنش جلوگیری شده است (Rao *et al*., 1997). در حالی که استفاده از سالیسیلیک اسید به تنهایی مقدار MDA را تغییر نداده، ولی در تیمار سالیسیلیک اسید و شوری مقدار MDA کاهش پیدا کرده است که می‌تواند به علت توانایی سالیسیلیک اسید در جلوگیری از تولید رادیکال‌های آزاد باشد، زیرا این رادیکال‌های آزاد باعث پراکسیداسیون لیپیدها شده، سنتز ماکرومولکول‌های غشا سلول و سیتوپلاسم را نیز تغییر می‌دهند (Rao *et al*., 1997). این آزمایش‌ها در گیاه Cassia (Agarwal and Pandey, 2004)، عدس (Bandeoglu *et al*., 2004) و خرفه (Yazici *et al*., 2007) نیز انجام شده، نتایج مشابهی داشته‌اند.

کربوهیدرات‌هایی مانند قندها (گلوکز، فروکتوز، سوکروز و فروکتان) و نشاسته در تنش شوری تجمع می‌یابند. عمل مهم آنها محافظت اسمزی، فشار اسمزی، ذخیره کربن و جارو کردن رادیکال‌هاست. تنش شوری باعث تغییر ساختار قندهایی مانند گلوکز، فروکتوز، سوکروز و فروکتان‌ها در تعدادی از گیاهان می‌شود (Singh *et al*., 2000). مقدار قند در بعضی از ژنوتیپ‌های برنج در تنش شوری افزایش و در برخی دیگر کاهش پیدا کرده است (Alamgir and Ali, 1999). بر اساس گزارش دیگری در تنش شوری، مقدار نشاسته ریشه برنج کاهش یافته و در بخش هوایی بدون تغییر باقی مانده است. کاهش در مقدار نشاسته و افزایش در هر دو قند قابل احیا و غیر قابل احیا در برگ‌های *Bruguiera parviflora* نیز گزارش شده است (Parida *et al*., 2004). طبق گزارش دیگری مقدار قندهای قابل احیا و غیر قابل احیا و فعالیت سوکروز فسفات سنتاز در تنش شوری افزایش یافته و فعالیت نشاسته فسفریلاز کاهش می‌یابد (Dubey and Singh, 1999). همچنین گزارش شده است که در

بـرگ‌هـای گوجـه‌فرنگـی مقـدار قنـد محلـول و ساکاریدهای کـل بـه طـور قابـل ملاحظـه‌ای در تیمـار شوری افزایش یافته، اما مقدار نشاسته تغییـر معنـی‌داری نداشـته اسـت (Gao *et al*., 1998). همچنـین گـزارش کرده‌اند که در گوجه‌فرنگی غلظت سوکروز و فعالیـت سوکروز فسفات سـنتاز در بـرگ‌هـا افـزایش یافتـه، امـا فعالیت اسید اینورتاز کاهش پیدا کـرده اسـت. گـزارش شده که تغییرات اساسی در پتانسیل اسمزی بـه تغییـر در مقـدار قنـدها ارتبـاط دارد (Sultana *et al*., 1999). در گـزارش Tari و همکـاران (۲۰۰۲) روی گوجـه‌فرنگـی مشخص شده است که مقدار قند کل در بـرگ و ریشـه این گیاه و در تنش شوری کاهش یافته است. در برخـی گزارش‌ها نیز آمده است که مقدار قند تره‌هالوز موجب افزایش مقاومت گیـاه در برابـر تـنش‌هـای غیـر زیسـتی می‌شود. در تنش شـوری در گیاهـان دیگـر ماننـد بـرنج (Parida and Das, 2005)، گندم (Keles and Oncel, 2004) و جـو (Keles and Oncel, 2004) افـزایش تجزیه نشاسته و تجمـع قنـدهای محلـول ماننـد گلـوکز، فروکتوز، سوکروز و فروکتان مشاهده می‌شـود. در ایـن پژوهش، تحت تنش شوری مقدار قند در ریشه کـاهش و در برگ افزایش یافت کـه احتمـالاً بـه علـت کـاهش فروکتوز است، زیـرا قنـدهای محلـول و هیـدرولیز آنهـا افـزایش یافتـه، در نتیجـه فعالیـت نشاسـته فسـفریلاز و فعالیت اسید اینورتاز نیز در برگ کاهش یافته و به دنبال آن فعالیت سوکروز فسفات سـنتاز افـزایش یافتـه کـرده است(Parida and Das, 2005) و در آزمایش دیگـری مشـخص شـده اسـت کـه شـوری محتـوای کـل قنـد و قندهای احیا کننده را در ریشه کاهش می‌دهد (Tari *et al*., 2002).

در پژوهش حاضر که روی ریحان سبز انجام شـد، در تنش شوری مقدار قندهای احیا برگ افزایش پیـدا کـرده است که می‌تواند بـه علـت تولیـد قنـدهای محلـول بـرای مقابله با تنش شوری باشد. البته چون ریشه نسبت به بخش هوایی بیشتر در معرض تنش قرار گرفته است، مقدار قنـد آن کـاهش بیشـتری داشـته و شـاید علـت آن هزینـه کربوهیدرات گیاه برای ساخت پرولین باشد. اما چـون در این پژوهش تمام قندها یعنی قندهای محلول اندازه‌گیـری نشده است، شاید اختلاف میزان قند ریشه و برگ به سایر قنـدها نیـز مربـوط باشـد. نتـایج مشـابهی در مـورد اثـر سالیسیلیک اسید در غلظت‌هـای ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌مـولار بر مقدار کربوهیدرات و پـروتئین گوجـه‌فرنگـی و گنـدم نیـز گـزارش شـده اسـت (Mohammad *et al*., 1998). گـزارش شـده اسـت کـه در گوجـه‌فرنگـی (Kharvarinejad and Ghafarzadeh, 1998)، بـرنج (Karimi *et al*., 2005)، گنـدم و جـو (Keles and Oncel 2004) بـه دنبـال تـنش اکسـیداتیو مقـدار تجمـع قندها با تیمار هورمون سالیسیلیک اسید افزایش مـی‌یابـد. افزایش قندها با ایجاد شیب اسمزی در گیاهـان، مقاومـت گیاه گنـدم را در برابـر از دسـت دادن آب، محتـوی آب برگ و رشد در شرایط تنش افزایش می‌دهنـد (Tasgin *et al*., 2003).

به نظر مـی‌رسـد، کـاربرد سالیسـیلیک اسـید در ایـن پژوهش باعث افزایش سازگاری گیـاه بـه تـنش شـوری شده است. تنش شوری موجب کاهش رشد گیاهان نیـز می‌گردد، البته میـزان کـاهش بسـتگی بـه شـدت تـنش، مدت تنش و نوع گیاه دارد. تـنش شـوری جـذب مـواد معدنی توسط ریشه و انتقال آن را به اندام هـوایی تحـت تأثیر قرار می‌دهد. تنظیم جذب، انتقال و تنظـیم یـون‌هـا در سطح گیاه، انـدام‌هـا و داخـل سـلول بـرای مقاومـت

گیاهان در برابر تنش‌ها از جمله شوری ضروری است. در این بررسی، تنش شوری موجب کاهش مقدار پتاسیم و افزایش مقدار سدیم گردید. کاهش مقدار پتاسیم به این علت است که شباهت این دو یون در اندازه شعاع هیدراته و رقابت برای ورود به داخل سلول، پروتئین‌های انتقال‌دهنده آنها را در تشخیص دچار اشتباه کند (Aqueel Ahmad *et al*., 2007). بنابراین، سدیم به راحتی از طریق ناقل‌های با تمایل کم نسبت به پتاسیم وارد سلول شده، جذب پتاسیم کاهش می‌یابد. از طرف دیگر، سدیم با ورود به فضای آپوپلاستی و جایگزینی با کلسیم غشای سلول را دپلاریزه کرده، به ایجاد اختلال در جذب انتخابی برخی یون‌ها منجر می‌شود (Molassiotis *et al*., 2006؛ Aqueel Ahmad *et al*., 2007).

علت دیگر می‌تواند مسدود شدن کانال‌های وارد کننده پتاسیم توسط سدیم باشد. همچنین، سدیم نشت پتاسیم را از طریق کانال‌های خارج کننده پتاسیم افزایش می‌دهد (Shabala, 2000). گزارشی نیز وجود دارد مبنی بر این که در گیاه *Visia faba* تحت تنش شوری مقدار Na^+ و نسبت Na^+/K^+ افزایش می‌یابد (Parida *et al*., 2004). در این پژوهش نیز مقدار یون سدیم در برگ افزایش و در مقابل یون پتاسیم کاهش یافته است، با این حال مقدار افزایش یون‌ها در ریشه کمتر از مقدار آن در ساقه بوده است. از آنجایی که نسبت Na^+/K^+ شاخصی مناسب برای تعیین درجه مقاومت گیاه به شوری است و عموماً در گیاهان حساس به شوری Na^+ افزایش یافته و K^+ کاهش می‌یابد (Sairam and Srivastava, 2002)، شاید بتوان نتیجه گرفت که گیاه ریحان، گیاهی مقاوم به شوری نبوده، با شوری خسارت می‌بیند. غلظت بالای شوری هومئوستازی در پتانسیل آب را به هم می‌ریزد و باعث پراکنش یون‌ها در گیاهان می‌شود (Dash and Panda, 2001). تغییرات حیاتی در یون و هومئوستازی آب به آسیب مولکولی، توقف رشد و حتی مرگ منجر می‌شود. اثرات ویژه تنش شوری بر متابولیسم گیاهان به ویژه بر برگ‌های حساس با تجمع یون‌های سمّی Na^+ و Cl^- و یا با کاهش یون‌های K^+ و Ca^{2+} در ارتباط است (Demiral and Turkan, 2005). در این تحقیق نیز، با توجه به نتایج حاصل از اندازه‌گیری MDA، سدیم و پتاسیم مشخص شد که گیاه ریحان سبز گیاهی مقاوم به شوری محسوب نمی‌شود. گزارش شده است که تیمار با سالیسیلیک اسید، نسبت Na^+/K^+ در بخش هوایی گیاه گندم تحت شرایط شوری را افزایش داده است (Hamada and Al-Hakimi, 2001). پیش‌تیمار با سالیسیلیک اسید نیز باعث کاهش جذب یون سدیم در گندم شده است (EL-Tayeb, 2005). Tari و همکاران (۲۰۰۲) مشاهده کردند که سالیسیلیک اسید می‌تواند بقای گوجه‌فرنگی را در تنش شوری افزایش داده، از تجمع یون‌های سدیم و کلر در این گیاه جلوگیری کند. احتمالاً سالیسیلیک اسید در ریحان نیز در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار اثر مشابهی داشته است، هر چند در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار تأثیری نشان نداده است. با توجه به افزایش شوری در زمین‌های کشاورزی و کویری بودن منطقه کرمان و پر مصرف بودن این سبزی معطر و دارویی خواستیم باتعیین میزان مقاومت آن به شوری ببینیم آیا می‌توان از سالیسیلیک اسید که نسبتاً ارزان و در دسترس است، برای افزایش مقاومت این گیاه به شوری استفاده کرد که نتیجه رضایت‌بخش بود.

منابع

Agarwal, S. and Pandey, V. (2004) Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. Biologia Plantarum 48(4): 555-560.

Alamgir, A. N. M. and Ali, M. Y. (1999) Effect of salinity on leaf pigments, sugar and protein concentrations and chloroplast ATPase activity of rice (*Oryza sativa* L.) Bangladesh Journal Botany 28: 145-149.

Aqueel Ahmad, M. S. Javed, F. and Ashraf, M. (2007) Role of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany 59(2): 206-216.

Ashraf, M. and Foolad, M. R. (2007) Role of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany 59(2): 206-216.

Bandeoglu, E., Egidogan, F., Yucel, M. and Avnioktem, H. (2004) Antioxidant responses of shoots and roots of lentil to NaCl-salinity stress. Plant Growth Regulation 42: 69-77.

Dash, M. and Panda, S. K. (2001) Salt stress induced changes in growth and enzyme activities in germination *Phaseolus mungo* seeds. Biologia Plantarum 44(4): 587-589.

Demiral, T. and Turkan, I. (2005) Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense system and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. Environmental and Experimental Botany 53: 247-257.

Dionisio-Sese, M. L. and Tobita, S. (1998) Antixidant response of rice seedlingds to salinity stress. Plant Science 135: 1-9.

Dubey, R. S. and Singh, A. K. (1999) Salinity induces accumulation of soluble sugars and alters the activity of sugar metabolizing enzymes in rice plants. Biologia Plantarum 42: 233-239.

El-Tayeb, M. A. (2005) Response of barley grain to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regulation 42: 215-224.

Gao, Z. F., Sag, M. and Lips, S. H. (1998) Carbohydrate metabolism in leaves and assimilate partitioning in fruits of tomato (*Lycopersicum sculentum* L.) as affected by salinity. Plant Science 135: 149-159.

Hamada, A. M. and Al-Hakimi, A. M. A. (2001) Salicylic acid versus salinity-drought-induced stress on wheat seedlings. RostlinnaVyroba 47(10): 444-450.

Heath, R. L. and Packer, L. (1969) Photo peroxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archive of Biochemistry Biophysics 125: 189-198.

Hoekstra, F. A., Golovina, E. A. and Buitink, J. (2001) Mechanisms of plant desiccation tolerance. Plant Science 6: 431-438.

Karimi, G., Ghorbanli, M., Heidari, H., Khavarinejad, R. A. and Assareh, M. H. (2005) The effects of NaCl on growth, water relations, osmolytes and ion content in *Kochia* prostrate. Biologia Plantarum 49(2): 301-304.

Keles, Y. and Oncel, I. (2004) Growth and solute composition in two wheat species experiencing combined influence of stress conditions. Russian Journal Plant Physiology 51: 203-208.

Khavarinejad, R. A. and Ghafarzadeh, N. (1998) The effects of NaCl and $CaCl_2$ on photosynthesis and growth of alfalfa plants. Photosynthetica 35: 461-466.

Mahajan, S. and Tuteja, N. (2005) Cold, salinity and drought stresses: an overview. Archives of Biochemistry and Biophysics 444: 139-158.

Manchanda, G. and Garg, N. (2008) Salinity and its effects on the functional biology of legumes. Acta Physiology Plant 30: 595-618.

Mansour, M. F. (1998) protection of plasma membrane of onion epidermal cells by

glycinebetaine and proline against NaCl stress. Plant Physiology and Biochemistry 36(10): 767-772.

Mohammad, M., Shibli, R., Ajouni, M. and Nimvi, L. (1998) Tomato root and shoot responses to salt stress under different level of phosphorus nutrition. Journal of Plant Nutrient 21: 1667-1680.

Molassiotis, A. N., Sotiropoulos, T., Tanou, G., Kofidis, G., Diamantidis, G. and Therios, I. (2006) Antioxidant and anatomical responses in shoot culture of the apple rootstock MM 106 treated with NaCl, KCl, mannitiol or sorbitol. Biologia Plantarum 50(1): 61-68.

Munns, R. (2002) Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell and Environment 25: 239-250.

Orcutt, D. M. and Nilsen, E. T. (2000) The physiology of plants under stress, soil and biotic factors. John Wiley and Sons, Inc. New York.

Parida, A. K. and Das, A. B. (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicology and Environmental Safety 60: 324-349.

Parida, A. K., Das, B., Mittra, B. and Mohanty, P. (2004) Salt-stress induced alterations in protein profile and protease activity in the mangrove, *Bruguiera parviflora* L. Z Naturforsch 59: 408-414.

Rao, M. V., Paliyath, G., Ormrod, D. P., Murr, D. P. and Watkins, C. B. (1997) Influence of salicylic acid on H2O2 production, oxidative stress and H2O2- netabolizing enzymes (salicylic acid -mediated oxidative damage requires H2O2) Plant Physiology 115(1): 137-149.

Sairam, R. K. and Srivastava, G. C. (2002) Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. Plant Science 162: 897-904.

Sairam, R. K., Srivasta, G. C., Agarwal, S. and Meena, R. C. (2005) Difference in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes. Biologia Plantarum 49(1): 85-91.

Shabala, S. (2000) Ionic and osmotic components of stress specifically modulate net in fluxes from bean leaf mesophyll. Plant Cell and Environment 23: 825-837.

Singh, S. K., Sharma, H. C., Goswami, A. M., Datta, S. P. and Singh, S. P. (2000) In vitro growth and leaf composition of grapevine cultivars as affected by sodium chloride. Biologia Plantarum 43: 283-286.

Somogy, M. and Nelson, N. (1952) Notes on sugar determination. Journal of Biology and Chemistry 195: 19-29.

Sudhakar, C., Lakshmi, A. and Giridarakumar, S. (2001) Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. Plant Science 141: 613-619.

Sultana, N., Ikeda, T. and Itoh, R. (1999) Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. Environmental and Experimental Botany 42(3): 211-220.

Tari, I., Csiszar, J., Szalai, G., Horvath, F., Pecsvaradi, A., Kiss, G., Szepsi, A., Szabo, M. and Erdei, L. (2002) Acclimation of tomato plants to salinity stress after a salicylic acid pre-treatment. Acta Biologica Szegediensis 46(3-4): 55-56.

Tasgin, E., Atici, Q. and Nalbantoglu, B. (2003) Effects of salicylic acid and cold on freezing tolerance in winter wheat leaves. Plant Growth Regulation 41: 231-236.

Tester, M. and Venport, R. D. (2003) Na^+ tolerance and Na^+ transport in higher plants. Annal Botany 91: 503-527.

Yazici, I., Turkan, F., Sekmen, A. H. and Demiral, T. (2007) Salinity tolerance of purslane (*Portulaca oleracea* L.) is achieved by enhanced antioxidative system, lower level of lipid peroxidation and proline accumulation. Environmental and Experimental Botany 61(1): 49-57.

The study of the interactive effects of salicylic acid and salinity stress on induction of oxidative stress and mechanisms of tolerance in *Ocimum basilicum* L.

Maryam Delavari Parizi [1], Amin Baghizadeh [1], Shekoufeh Enteshari [2*] and Khosrow Manouchehri Kalantari [3]

[1] International Center for Science, High Technology and Environmental Science, Kerman, Iran
[2] Biology Department, Payame Noor University, 19395-4697 Tehran, I. R. of IRAN
[3] Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran

Abstract

Studies have shown that salicylic acid (SA improves the resistance of the plant to environmental stress (heat, cold, drought and salt stress). In this research we studied the effect of salicylic acid on lipid peroxidation, sugars and the quantity of Na^+, K^+ ions in leaf and root of *Ocimum basilicum* under salinity stress. The plants were grown in pots until 4 leaf stages. Then, the leaves were sprayed with one of three concentration of salicylic acid (0, 0.01 and 0.1 mM SA) for 5 days and salt stresses at 3 levels (0, 100 and 200 mM NaCl) were treated for 5 days. Lipid peroxidation in leaf and root decreased significantly after treating with salicylic acid and salt water, but malondealdehyde increased significantly in root in 200 mM NaCl under the condition of the combination of the treatment with salicylic acid and salt water. Sugar and Na^+ in leaf increased significantly with increasing salty stresses. Not only had the amount of sugar and Na^+ decreased significantly under the combination of the treatment with salicylic acid and 100 mM NaCl, but also the amount of sugar increased with 200 mM NaCl in this condition. The amount of sugar and K^+ in root increased significantly in the condition of salinity stress with 100 mM. The combination of the treatment with salicylic acid and salt water increased significantly the amount of sugar in root under salty stresses condition. Both 100 and 200 mM NaCl, as well as the combination of the treatment with salicylic acid and salt water, decreased K^+ significantly, that is, the presence of salicylic acid enhanced the effect of salinity.

Key words: *Ocimum basilicum*, Salicylic acid, Salinity

* Corresponding Author: dr.enteshari@nj.isfpnu.ac.ir