

## تأثیر کاربرد آسکوربات و جیبرلین بر میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان، پرولین و قندهای محلول در گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) در شرایط تنش شوری

راحله همتی\*، کارشناس ارشد زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد یادگار امام (ره)، شهر ری، ایران  
علیرضا پازکی، عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهری،  
دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

### چکیده

به منظور بررسی اثر آسکوربات و جیبرلین بر روی برخی صفات فیزیولوژیکی گیاه دارویی مریم گلی در شرایط تنش شوری، آزمایشی در اسفند ماه ۱۳۹۲ در گلخانه شهرداری منطقه ۱۵ به مرحله اجرا در آمد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در چهار تکرار اجرا گردید. عامل های آزمایشی شامل چهار سطح شوری صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی مولار از منبع نمک طعام، آسکوربات در دو سطح صفر و ۴ میلی مولار و جیبرلین در دو سطح صفر و ۲ میلی مولار در نظر گرفته شدند. مقایسه میانگین اثرات اصلی تنش شوری نشان داد شوری سبب نزول فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و افزایش میزان قندهای محلول و پرولین گردید. بجز هر سه اثر متقابل دوگانه عوامل آزمایشی بر پرولین و قندهای محلول در سایر موارد اختلاف معنی دار گردید. همچنین بجز اثر متقابل سه گانه بر پرولین، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در سایر موارد اختلاف معنی داری مشاهده نگردید. در این شرایط بیشترین میزان تولید پرولین (۱۲/۶۷ میلی گرم بر گرم وزن تر)، فعالیت کاتالاز (۱۹/۶۸ میلی گرم پروتئین در دقیقه) و آسکوربات پراکسیداز (۶۱/۲۵ میلی گرم پروتئین در دقیقه) در تیمار شوری ۷۵ میلی مولار و کاربرد آسکوربات و جیبرلین حاصل شد. در نتیجه با کاربرد آسکوربات به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی و جیبرلین به عنوان تنظیم کننده رشد، اثر مخرب تنش به واسطه محلول پاشی این دو ترکیب جبران گردید و در شرایطی که آسکوربات و جیبرلین به گیاه داده شد، میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان کاهش نشان داد.

واژه های کلیدی: مریم گلی، شوری، آسکوربات، جیبرلین

\* نویسنده مسئول: E-mail : hemati.raheleh@yahoo.com

## مقدمه

مشکلات شوری یا سدیمی بودن خاک در مناطق خشک و نیمه خشک که برای شستشوی یون های نمکی به خارج ریزوسفر وجود ندارد، معمول می باشد (۱۹). عمده ترین اثر شوری کاهش رشد گیاهان است. اثر نامطلوب شوری بر روی رشد و عملکرد گیاه مربوط به اثر اسمزی، سمیت یونی، عدم تعادل مواد غذایی و یا ترکیبی از این فاکتورها است (۲۰).

تنش شوری یکی از تنش های غیر زنده است که پتانسیل تولید زمین های کشاورزی را کاهش می دهد. این تنش و کنترل آن یکی از موضوعات عمده ای بوده، که انسان از هزاران سال تاکنون با آن رو به رو است. شوری یکی از عامل های مهم در کاهش حاصلخیزی زمین در تولید محصولات کشاورزی است (۱۷). هانی و جانسون (۱۹۹۵) عقیده دارند که تجمع قندهای احیاء کننده در شرایط تنش احتمالاً در تنظیم اسمولاریته درون سلولی و حفاظت مولکول های زیستی و غشاهای اهمیت دارد. فعالیت آنزیمهای اینورتاز و ساکاروز سنتاز که دو آنزیم شکست ساکاروز به قندهای غیر احیاء کننده در سیتوسل و واکوئل می باشند، باعث کاهش محتوای قندهای احیاء کننده در گیاه شده و میزان ساکاروز را در دیواره سلولی واکوئل کاتالیز میکند.

اسید آسکوربیک یک متابولیت فراوان در سلول های گیاهی است و برخی مواقع مقدار آن به بیش از ده درصد کربوهیدرات های سلول می رسد. اسید آسکوربیک نقش مهمی در فیزیولوژی تنش و نیز رشد و نمو گیاه دارا می باشد (۱۹). اسید جیبرلیک نیز می تواند از میزان پرولین آزاد در گیاه به هنگام تنش بکاهد. احتمالاً این کاهش ناشی از نقش اسید جیبرلیک در اتصال این آمینو اسیدهای آزاد به یکدیگر و تبدیل آنها به پروتئین و یا آنزیم ها در راستای افزایش تحمل به نمک در دانه رست های کلزا می باشد (۲). عبداللهی و همکاران (۲۰۱۳) گزارش دادند که غلظت جیبرلین موجب افزایش تجمع پرولین برگ گیاه کنار (*Ziziphus spina - Christi*) می شود و با محلول پاشی جیبرلین تحمل گیاه کنار در شرایط تنش شوری افزایش می یابد. مریم گلی گیاهی خشکی دوست است و در طول رویش به نور کافی، هوای گرم و آب کم نیاز دارد. آب فراوان و هوای خنک، رشد رویشی این گیاه را افزایش می دهد. این گیاه تقریباً در هر نوع خاکی قادر به رویش است و می توان از بافت های مختلف خاک برای کشت آن استفاده نمود و در مناطق خشک و خاکهای شنی به خوبی رشد می کند. pH مناسب خاک برای کشت مریم گلی بین ۴/۹ تا ۸/۲ است (۱۰). هنداوی و خالد (۲۰۰۵) گزارش کردند که تنش شوری در گیاه دارویی مریم گلی (*Salvia officinalis L.*) باعث افزایش درصد کربوهیدرات های کل می شود. با توجه به موارد ذکر شده این تحقیق به منظور بررسی تأثیر تنش شوری، کاربرد هورمون جیبرلین و آسکوربات بر صفات آنزیمی و غیر آنزیمی مرتبط با تنش شوری در گیاه دارویی مریم گلی انجام گردید.

## مواد و روش ها

این آزمایش در گلخانه شهرداری منطقه ۱۵ تهران در اسفند ماه ۱۳۹۲ انجام گردید. به منظور بررسی اثر آسکوربات و جیبرلین بر روی برخی صفات فیزیولوژیکی گیاه دارویی مریم گلی در سطوح مختلف تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در چهار تکرار اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل سطوح مختلف شوری در چهار سطح (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی مولار از منبع نمک طعام)، آسکوربات در دو سطح (صفر و ۴ میلی مولار) و جیبرلین در دو سطح (صفر و ۲ میلی مولار) در نظر گرفته شد. به فاصله ده روز قبل از اعمال تنش شوری و به منظور مقاوم سازی گیاهان به تنش، محلول پاشی با دو عامل آسکوربات و جیبرلین با غلظت های ذکر شده انجام گردید. محلول پاشی با دو عامل ذکر شده به طور متوسط یک روز پس از اعمال هر بار تنش انجام پذیرفت. گیاهان بعد از گذشت هشت هفته از اعمال تیمار ها جهت اندازه گیری صفات، نمونه برداری گردیدند. کاشت گلدانی مریم گلی با استفاده از خاک کشاورزی سنجش شده از نظر عناصر ضروری انجام پذیرفت. خاک مورد استفاده برای کاشت به طور دستی و به نسبت ۲: ۱: ۱ از خاک رس، ماسه بادی و کود دامی تهیه گردید. بعد از جوانه زنی بذور و در مرحله چهار برگی در هر گلدان به طور متوسط با تنک کردن بوته ها ده بوته باقی گذاشته شد. آبیاری بوته ها از زمان کاشت تا اعمال تنش شوری به میزان مساوی در هر گلدان و بصورت روزانه (با توجه به شرایط محیطی میزان آب تعیین می گردید) یکبار در صبح زود انجام پذیرفت. در زمان برداشت برای اندازه گیری صفات فیزیولوژیکی ۵ بوته انتخاب و به آزمایشگاه انتقال داده شد.

جدول ۱: نتایج آزمایش خاک مورد استفاده در گلدان

CU (ppm)	Na	نسبت C/N	بافت	Sand (%)	Silt (%)	Clay (%)	MN (ppm)	K (%)	P (ppm)	N (%)	OC (%)	TNV (%)	PH	Ec (ds/m)	عمق (cm)
۰/۶۳	۳۰/۷۵	۱۰/۸	لوم ماسه	۵۴	۲۶	۱۷	۳/۳۵	۷۲۵	۸۸	۰/۱۱	۱/۱۹	۸/۷	۷/۶	۱۰/۳۲	۰-۳۰

برای اندازه گیری پرولین محتوای بافت برگ از روش بتس و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. برای اندازه گیری پرولین، ابتدا مقدار ۰/۲ گرم گیاهچه توزین شد و در هاون چینی در ۳ میلی لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳درصد به خوبی سائیده شد و همگن حاصل در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. غلظت پرولین بر حسب میلی گرم بر گرم بافت تازه برگ با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد. واحد به صورت میلی گرم بر گرم وزن تر بیان می شود. به منظور اندازه گیری قندهای محلول نمونه های منجمد شده به میزان ۰/۲ گرم در ۳ میلی لیتر آب مقطر عصاره گیری شده

و سپس همگن حاصل به کمک کاغذ صافی صاف گردید. برای اندازه گیری قند نمونه، به ۵۰ میکرولیتر از همگن صاف شده ۰/۵ میلی لیتر فنل ۰/۵٪ و ۲/۵ میلی لیتر اسید سولفوریک ۹۸٪ اضافه شد (۸).

### سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز به روش کاکمک و هورست (۱۹۹۱) انجام شد. ۰/۲ گرم برگ منجمد در ۳ میلی لیتر بافر سدیم فسفات ۲۵ میلی مولار با pH ۸/۶ عصاره گیری شد. همگن حاصل در دور ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شده و سپس محلول روئی برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده گشت. واحد فعالیت به صورت تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین در دقیقه در وزن تر بیان گردید.

### سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

۰/۲ گرم نمونه برگ منجمد در ۳ میلی لیتر بافر HEPES-KOH با pH ۷/۸ حاوی EDTA ۰/۱ میلی مولار عصاره گیری شد. همگن های حاصل در دور ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شده و بخش روئی برای سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز مورد استفاده قرار گرفت. یک واحد فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به عنوان مقدار آنزیمی در نظر گرفته شد که منجر به مهار ۵۰٪ احیای نوری نیتروبلوترازولیوم می گردد، واحد فعالیت نسبت به میلی گرم پروتئین در دقیقه بیان شد (۱۱).

### سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز

۰/۲ گرم از بافت برگ تازه در نیتروژن مایع سائیده در بافر پتاسیم فسفات ۰/۰۲ مولار و pH = ۶/۸ در دمای ۴ درجه سانتی گراد عصاره گیری شد و سپس همگن حاصل در ۱۲۰۰۰ دور در دمای ۴-۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و محلول روئی جهت اندازه گیری فعالیت پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت (۹).

### سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

میزان فعالیت این آنزیم با استفاده از روش رانیری و همکاران (۲۰۰۱) سنجیده شد. محیط واکنش حاوی ۶۰۰ میکرولیتر از EDTA ۰/۱ مولار و ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۰/۰۵ مولار، ۴۰۰ میکرولیتر آسکوربیک اسید ۰/۵ میلی مولار، ۴۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۳۰٪ و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب به ازای میلی گرم پروتئین در دقیقه بیان گشت. تجزیه و تحلیل داده های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون LSD انجام شد. برای رسم نمودارها نرم افزار Excel مورد استفاده قرار گرفت.

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس حاصل از داده ها نشان داد که به جز اثر اصلی جیبرلین بر فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز که در سطح ۰.۵٪ معنی دار شد، اثرات اصلی هر سه عامل آزمایشی بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و میزان پرولین و فندهای محلول در سطح ۱٪ معنی دار گردید (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر اصلی شوری بیانگر این مطلب بود که با اعمال تنش شوری و افزایش سطح شوری در گیاه مریم گلی میزان فندهای محلول، میزان پرولین و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی به عنوان راهکاری برای مقابله با تنش افزایش یافت (جدول ۴).

جدول ۲: تجزیه واریانس و میانگین مربعات اثر تنش شوری، آسکوربات و جیبرلین بر صفات گیاهی مریم گلی

میانگین مربعات						درجه آزادی	منابع تغییرات
آسکوربات	سوپراکسید	پراکسیداز	کاتالاز	پرولین	فندهای محلول		
پراکسیداز	دیسموتاز						
۳۷۷۲/۳۲**	۵۷۱۸/۴۹**	۱۸۵۹/۳۸**	۲۷۱/۷۴**	۹۰/۰۷**	۷۳۵/۸۱**	۳	شوری (a)
۴۴۵/۸۴**	۴۷۶/۲۸**	۴۱۶/۸۲**	۲۷/۹۰**	۱۸/۳۶**	۷۹/۴۶**	۱	آسکوربات (b)
۵۷/۶۱**	۱۴۲/۰۶*	۱۳۲۰/۶۸**	۳۵/۷۹**	۲۴/۵۵**	۶۷/۳۰**	۱	جیبرلین (c)
۱/۵۲ <sup>ns</sup>	۲۱/۴۷*	۴۰/۲۵*	۲/۷۰ <sup>ns</sup>	۰/۶۹ <sup>ns</sup>	۴/۳۸ <sup>ns</sup>	۳	ab
۱۲/۳۷*	۱۵/۴۹**	۱/۲۰ <sup>ns</sup>	۶/۱۲*	۰/۷۹ <sup>ns</sup>	۲/۴۸ <sup>ns</sup>	۳	ac
۵۶/۴۷**	۹/۰۷ <sup>ns</sup>	۰/۳۹ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۲ <sup>ns</sup>	۰/۸۹ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۲ <sup>ns</sup>	۱	bc
۱۳/۴۸*	۱/۹۵ <sup>ns</sup>	۴/۸۰ <sup>ns</sup>	۲/۱۷*	۱/۲۰*	۱/۳۸ <sup>ns</sup>	۳	abc
۴/۷۶	۱۲/۵۰	۱۶/۴۹	۱/۸۴	۰/۴۱	۳/۲۰	۴۸	خطا
۵/۷۵	۶/۵۴	۱۰/۰۹	۱۰/۳۷	۷/۲۸	۹/۸۲		ضریب تغییرات (%)

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

تحقیقات بسیاری تجمع پرولین را در نتیجه تنش های شوری و خشکی نشان می دهند. اگر چه آمینو اسیدهای مهم دیگری نیز مانند آلانین، گلایسین، سرین و آسپارژین نیز در این شرایط تجمع پیدا می کنند. مثلا دیده شده که در جو تنها پرولین و در گندم پرولین به تنهایی یا به همراه آسپارژین تحت تنش شوری و خشکی تجمع می یابند. اما بطور کلی پرولین نسبت به سایر آمینو اسیدها در گیاهان تحت تنش به مقدار بیشتری جمع می شود (۲). میزان پرولین با افزایش شوری افزایش یافت. این امر نشان می دهد که شوری باعث بر هم زدن نسبت های یونی و کاهش شدید یون پتاسیم شده که در این مرحله حفظ سلول و تعدیل اسمزی برای حفظ بقای گیاه در شرایط شور اهمیت پیدا میکند و افزایش پرولین به عنوان نوعی مکانیسم مقاومت به شوری وارد عمل می شود (۳).

اثر اصلی مصرف آسکوربات و جیبرلین بیانگر آن بود که کاربرد این دو ترکیب باعث کاهش قندهای محلول، میزان پرولین و کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در گیاه مریم گلی شد. درنتیج حاصل از آزمایشی که بر روی گیاه دارویی انیسون انجام شد، نشان داد که در شرایط تنش خشکی به موازات کاهش پتانسیل آبی، قندها در اندام گیاهی زیاد گشته که با عامل آسکوربات بصورت خارجی از میزان آن کاسته شد (۱۶).

بررسی مقایسه میانگین اثر متقابل سه گانه حاصل از عاملهای آزمایشی نشان داد که بجز اثر متقابل سه گانه بر پرولین، کاتالاز و آسکوربات بر اکسیداز در سایر موارد اختلاف معنی داری مشاهده نگردید. در این شرایط بیشترین میزان تولید پرولین (۱۲/۶۷ میلی گرم بر گرم وزن تر)، فعالیت کاتالاز (۱۹/۶۸ میلی گرم پروتئین در دقیقه) و آسکوربات پراکسیداز (۶۱/۲۵ میلی گرم پروتئین در دقیقه) در تیمار شوری ۷۵ میلی مولار و کاربرد آسکوربات و جیبرلین حاصل شد (جدول ۴).

تحت شرایط تنش های محیطی گیاهان برای جمع آوری انواع اکسیژن واکنشگر (ROS) تولید شده در کلروپلاست و میتوکندری، از طریق مکانیسم آنزیمی، سنتز آنزیم هایی مانند سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) را افزایش می دهند (۲۴) و این آنزیم ها نیز رادیکال های آزاد اکسیژن را جمع آوری و به  $H_2O_2$  تبدیل میکنند، سپس  $H_2O_2$  توسط آنزیم هایی مانند آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز جمع آوری می گردد (۲۳).

در آزمایشی که بر روی بعضی واریته های خربزه انجام شد (۲۵) نتایج نشان داد که عامل شوری باعث افزایش فعالیت APX شد.

جدول ۳: مقایسه میانگین صفات مورد آزمون در گیاه مریم گلی تحت اثرات اصلی عوامل آزمایشی

تیمارها	قند محلول (میلی گرم بر گرم وزن تر)	پرولین (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کاتالاز پراکسیداز سوپراکسید دیسموتاز آسکوربات پراکسیداز (تغییرات جذب بر حسب میلی گرم پروتئین در دقیقه)
کلرید سدیم (NaCl)			
صفر میلی مولار	۱۱/۶۵d	۵/۹۸d	۸/۲۸d
۲۵ میلی مولار	۱۴/۱۸c	۷/۹۹c	۱۱/۳۹c
۵۰ میلی مولار	۲۰/۱۷b	۱۰/۰۸b	۱۵/۰۴b
۷۵ میلی مولار	۲۶/۸۶a	۱۱/۳۹a	۱۷/۶۹a
آسکوربات (ASC)			
صفر میلی مولار	۱۹/۳۳a	۹/۴۰ a	۱۳/۷۶ a
۴ میلی مولار	۱۷/۱۰b	۸/۳۲ b	۱۲/۴۴ b
جیبرلین (GA)			
صفر میلی مولار	۱۹/۲۴a	۹/۴۸a	۱۳/۸۴a
۲ میلی مولار	۱۷/۱۹b	۸/۲۴ b	۱۲/۳۵b

عامل هایی که با حروف مختلف نشان داده شده اند، دارای اختلاف معنی داری در سطح ۰.۰۵٪ هستند

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل دوگانه حاصل از عامل‌های آزمایشی نشان داد به جز پرولین و قندهای محلول که در هیچکدام از حالت‌ها اختلاف معنی داری را نشان ندادند، اثر این عوامل بر آنزیم‌های آنتی اکسیدان در برخی از حالت‌ها معنی دار گردید.

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل دوگانه شوری و آسکوربات نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در عامل ۷۵ میلی مولار نمک وبدون کاربرد آسکوربات به دست آمد که معادل ۷۸/۶۳ (تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین در دقیقه) بود (شکل ۱).

همچنین بررسی مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و جیبرلین نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم SOD در عامل ۷۵ میلی مولار نمک بدست آمد که مقدار بدست آمده در هر دو شرایط کاربرد و عدم کاربرد جیبرلین در یک گروه آماری قرار گرفتند که این مقدار برای عدم کاربرد جیبرلین و کاربرد شوری معادل ۷۶/۵۳ و برای کاربرد جیبرلین با تنش شوری معادل ۷۳/۰۲ (تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین در دقیقه) حاصل شد (شکل ۲). قابل ذکر است که در گیاه مریم گلی با اعمال تنش شوری، به منظور مقاومت در برابر تنش فعالیت آنزیم SOD بیشتر از بقیه آنزیم‌های آنتی اکسیدانی افزایش یافت.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل دوگانه شوری در آسکوربات بر سوپراکسید دیسموتاز



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل دوگانه شوری در جیبرلین بر سوپر اکسید دیسموتاز

جدول ۴: مقایسه میانگین اثرات متقابل سه جانبه شوری، آسکوربات و جیبرلین بر صفات مورد آزمون در گیاه

مریم گلی

صفات عاملها	پرولین	قندهای محلول	کاتالاز	پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	آسکوربات پراکسیداز		
							(میلی گرم بر گرم وزن تر)	(تغییرات جذب بر حسب میلی گرم پروتئین در دقیقه)
صفر NaCl	۷/۰۴hi	۱۳/۸۲hij	۹/۵۰hi	۲۸/۵۰ij	۳۵/۰۷h	۲۴/۶۹g	No GA	No Asc
	۶/۵۶ij	۱۱/۵۴ijk	۸/۸۶hij	۲۷/۳۶ij	۳۴/۵۹h	۲۱/۹۵g	GA	
	۴/۳۶k	۱۰/۹۹jk	۷/۷۶ij	۲۶/۴۱j	۲۸/۹۴i	۱۸/۴۱h	No GA	Asc
۲۵ NaCl	۵/۹۸j	۱۰/۲۳k	۷/۰۰j	۲۳/۰۰j	۲۷/۸۳i	۱۶/۵۳h	GA	
	۷/۵۷gh	۱۵/۵۲fg	۱۲/۸۳ef	۴۰/۹۲efg	۵۰/۲۴f	۳۳/۸۱e	No GA	No Asc
	۹/۰۴ef	۱۴/۱۴fgh	۱۱/۶۱fg	۳۸/۹۶fg	۴۵/۳۲fg	۳۴/۳۰e	GA	
۵۰ NaCl	۶/۹۱hi	۱۴/۱۷fgh	۱۰/۵۹gh	۳۶/۱۳gh	۴۸/۴۵f	۲۸/۹۱f	No GA	Asc
	۸/۴۴fg	۱۲/۸۹hij	۱۰/۵۳gh	۳۲/۸۰hi	۴۲/۵۳g	۲۹/۷۷f	GA	
	۹/۷۹de	۲۳/۲۳cd	۱۶/۰۰cd	۵۰/۴۷bc	۶۶/۸۰cd	۴۸/۷۲c	No GA	No Asc
۷۵ NaCl	۱۱/۳۲b	۲۰/۸۳de	۱۴/۱۷de	۴۷/۶۲bcd	۶۵/۰۱cd	۴۲/۹۰d	GA	
	۸/۹۰ef	۲۰/۱۵e	۱۵/۴۴d	۴۸/۳۶bcd	۶۱/۸۳de	۴۰/۸۳d	No GA	Asc
	۱۰/۲۹cd	۱۶/۴۶f	۱۴/۵۵de	۴۵/۱۳cde	۵۹/۲۳e	۴۱/۲۵d	GA	
	۱۱/۱۷bc	۲۸/۸۴a	۱۹/۶۸a	۵۶/۷۴a	۷۹/۴۹a	۶۲/۵۲a	No GA	No Asc
	۱۲/۶۷a	۲۶/۷۰ab	۱۷/۴۳bc	۵۱/۸۱ab	۷۷/۷۸ab	۵۵/۴۹b	GA	
	۱۰/۱۷d	۲۷/۱۹ab	۱۸/۹۸ab	۴۵/۹۴cde	۷۳/۵۸b	۵۲/۹۷b	No GA	Asc
	۱۱/۵۳b	۲۴/۷۰bc	۱۴/۶۶de	۴۳/۷۷def	۶۸/۲۷c	۵۳/۴۹b	GA	

عامل هایی که با حروف مختلف نشان داده شده اند، دارای اختلاف معنی داری در سطح ۰.۰۵٪ هستند

اولین آنزیم پاکسازی کننده سوپراکسید دیسموتاز است که تبدیل رادیکال سوپر اکسید هیدروژن که یک مولکول با خاصیت غیر رادیکالی است را بر عهده دارد. پراکسید هیدروژن تولید شده توسط آنزیم کاتالاز و یا آسکوربات پراکسیداز تبدیل به آب و اکسیژن می شود (۷).

در آزمایشی که بر روی رقم های آفتابگردان در شرایط شوری انجام گرفت، نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم SOD بطور معنی داری با افزایش نمک، افزایش یافت (۶). عباسی و همکاران (۲۰۱۲) گزارش دادند در گیاه کرچک در شرایط شوری ملایم میزان فعالیت APX در ریشه و ساقه افزایش می یابد، اما با افزایش غلظت NaCl میزان آن کاهش می یابد. در حالی که حامد و همکاران (۲۰۱۲) اعلام کردند که در سطوح بالای نمک میزان فعالیت CAT و APX در گیاه نمک دوست اشنان بدون تغییر می ماند. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل دوگانه شوری و جیبرلین نشان داد بیشترین میزان فعالیت (۱۹/۳۳) تغییرات جذب بر حسب میلی گرم پروتئین در دقیقه) آنزیم کاتالاز در عامل ۷۵ میلی مولار نمک طعام و بدون



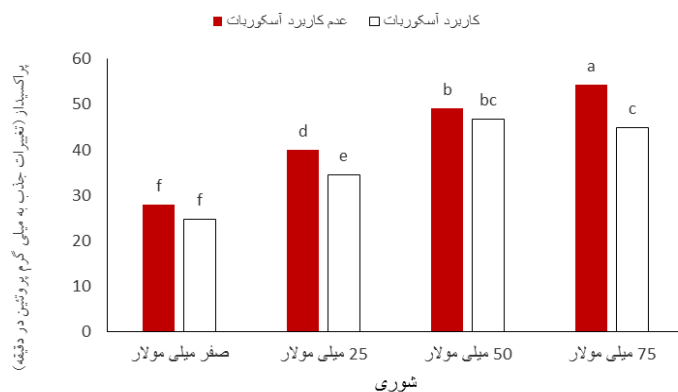
مصرف هورمون جیبرلین به دست آمد، همچنین قابل ذکر است که در هر کدام از غلظت‌های نمک کمترین میزان فعالیت این آنزیم در شرایط کاربرد هورمون جیبرلین به دست آمد (شکل ۳).



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل دوگانه شوری در جیبرلین بر کاتالاز

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و آسکوربات نشان داد که در هر کدام از سطوح شوری، نمک باعث افزایش فعالیت پراکسیداز شده و کاربرد عامل آسکوربات میزان فعالیت این آنزیم را کاهش داد، به طوری که بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در عامل ۷۵ میلی مولار نمک بود که استفاده از آسکوربات توانست اثرات منفی نمک را کاهش دهد و باعث کاهش فعالیت این آنزیم شد.

میزان فعالیت این آنزیم در عامل ۷۵ میلی مولار معادل ۵۴/۲۷ بود که با مصرف آسکوربات به ۴۴/۸۵ رسید (شکل ۴).



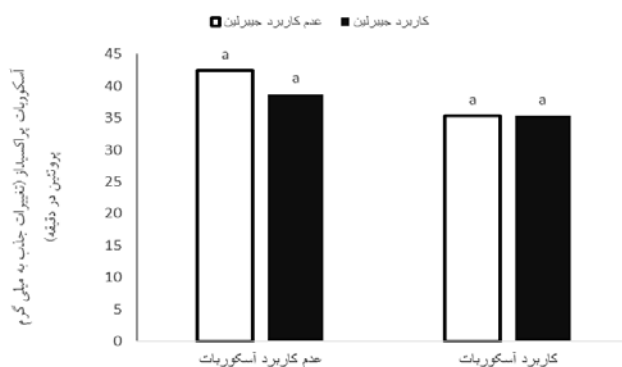
شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل دوگانه شوری در آسکوربات بر پراکسیداز

نتایج اثر متقابل دوگانه جیبرلین و شوری بیانگر آن مطلب بود که بیشترین میزان فعالیت آنزیم APX در غلظت ۷۵ میلی مولار نمک به دست آمد، که کاربرد هورمون جیبرلین همزمان با اعمال تنش شوری در غلظت ذکر شده باعث کاهش آنزیم ذکر شده گردید.

البته از لحاظ آماری بین کاربرد و عدم کاربرد جیبرلین در عامل ۷۵ میلی مولار شوری بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز اختلافی مشاهده نشد و هر دو حالت در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل ۵). نتایج اثر متقابل دوگانه جیبرلین و آسکوربات نشان داد که میزان فعالیت آنزیم APX در کلیه حالت های کاربرد و عدم کاربرد این دو عامل با یکدیگر در یک گروه آماری قرار گرفتند، اگر چه از لحاظ آماری بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در حالت عدم کاربرد آسکوربات و عدم کاربرد جیبرلین به دست آمد که معادل ۴۲/۴۳ (تغییرات جذب بر حسب میلی گرم پروتئین در دقیقه) بود (شکل ۶). در آزمایشی که بر روی دو رقم سویا در زمان کاربرد آسکوربات و تنش شوری انجام گرفت، نتایج نشان داد که کاربرد اسید آسکوربیک باعث کاهش فعالیت آنزیم SOD در گیاهان کامل هر دو رقم شد (۲۲).



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل دوگانه شوری در جیبرلین بر آسکوربات پراکسیداز



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل دوگانه آسکوربات در جیبرلین بر آسکوربات پراکسیداز

در این پژوهش با هدف بالا بردن تحمل گیاه دارویی مریم گلی به تنش شوری به طور مجزا و همزمان از عامل های آسکوربات و جیبرلین استفاده شد، که با توجه به نتایج آزمایش ها در بالاترین سطح شوری بیشترین آسیب به گیاه وارد گردید و با کاربرد آسکوربات و جیبرلین از اثرات مخرب تنش کاسته شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که با اعمال تنش شوری میزان قندهای محلول، پرولین و میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی افزایش یافت که این امر به سبب انتخاب این مکانیزم مقاومت گیاه در برابر تنش شوری می باشد. با کاربرد آسکوربات به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی و جیبرلین به عنوان

تنظیم کننده رشد، اثر مخرب تنش به واسطه محلول پاشی این دو ترکیب جبران گردید و در شرایطی که آسکوربات و جیبرلین به گیاه داده شد، میزان قندهای محلول، پرولین و میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان کاهش نشان داد.

## منابع

- 1- **Abdollahi, F., Jafari, L. and Gordi Takhti, S. 2013.** Effect of GA<sub>3</sub> on growth and chemical composition of jujube leaf (*Ziziphus spina-christi*) under salinity condition. *Journal of plant process and Function*; 2 (4):53-64
- 2- **Asada, K. and Nakano, Y. 1981.** Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts: Its in activation in acerbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant Cell Physiol*, 28: 131-140.
- 3- **Baghalian, K., Haghiry, A., Naghavi, M. R. and Mohammadi, A. 2008.** Effect of saline irrigation on agronomical and phytochemical characters of chamomile (*Matricaria recutita* L.). *Scientia Horticulturae* 116 (2008). 437-441.
- 4- **Bates, L. S., Waldern, R. P. and Teave, I. D. 1973.** Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*.39: 205-207.
- 5- **Cakmak, I. and Horst, W. 1991.** Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glysin max*). *Plant Phisiology*.83:463-468.
- 6- **Culha erdal, S. and Cakirlar, H. 2014.** Impact of salt stress on photosystem (II) efficiency and antioxidant enzyme activities of safflower (*Carthamus tinctorius*. L) cultivars. *Turkish journal of biology* 38:549-560.
- 7- **Dolatabadian, A, Modarres Sanavy, S. A. M. and Sharifi, M. 2008.** Effect of Water Deficit Stress and Foliar Application of Ascorbic acid on Antioxidants Enzymes Activity and Some Biochemical's Changes in Leaves of Grain Corn (*Zea maize* L.). *Iranian Journal of Biology*. 22(3). 407-421.[ In Persian with English Summary].
- 8- **Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F. 1956.** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem*. 28:350-356.
- 9- **Ghanati, F., Morita, A. and Yokota, H. 2002.** Induction of suberin and increase of lignin content by excess Boron in Tobacco cell. *Soil Science. Plant Nutrition*.48: 3: 357-364.
- 10- **Ghani, A., Ebrahimpoor, A., Tehranifar, A. and Hassanzadeh khayaat, M. 2010.** Evaluation of growth and development adaptability and medicinal-ornamental potential of Clary sage (*Salvia sclarea* L.) cultivated in Mashhad climatic conditions. . *Journal of Plant Production Research*.17(1). [In Persian with English Summary].
- 11- **Giannopolitis, C. and Ries, S. 1997.** Superoxid desmutase. I.Occurence in higher plant. *Plant Physiology*. 59: 309-314.
- 12- **Hammed, A., Hussain, T. and Gulzar, S. 2012.** Salt tolerance of a cash crop halophyte suaeda fruticosa: biochemical responses to salt and exogenous chemical treatments . *acta physiol plant*.
- 13- **Hendawy, S. F. and Khalid, KH. A. 2005.** Response of sage (*saliva officinalis* L) plant to zinc application under different salinity levels . *Journal of applied sciences research* , 1(z) : 147-155.
- 14- **Huany, B. and Johnson, J. W. 1995.** Root respiration and carbohydrate status of two wheat genotypes in response to hypoxia. *Ann. Bot.* 75: 427-432.
- 15- **Jan mohamadi, M., Abbasi, A. and Sabaghnia, N. 2012 .** Influence of nacl treatments on growth and biochemical parameters of castor bean (*ricinus communis* L) . *Acta agriculturae slovenica* , 99-1 : 31-40.
- 16- **Kavan, Z. A., Ghorbanli, M. and Sateei, A. 2010.** The effect of drought stress and exogenous ascorbate on photosynthetic pigments, flavonoids, phenol compounds and lipid peroxidation in *Pimpinella anisum* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 25( 4) 456-469. [In Persian with English Summary]
- 17- **Khoshkholghsima, N. and Asghari, H. 2001.** Different mechanisms resistance against salinity stress. *Agricultural college Mashad Ferdosi University*.
- 18- **Lak, R. 2011.** Study Effects of Exogenous Gibberellin and Ascorbat on Antioxidant Enzymes Activities and Proline Content in Root and Shoot of Brassica Napus Seedlings under Salinity. *First National Conference on new issues in agriculture*.Islamic Azad University, Saveh Branch. [In Persian with English Summary]
- 19- **Miri, H. 2009.** Plant stress physiology. *Islamic Azad University of Kermanshah*. P479 [In Persian]
- 20- **Mozafari, M., Hassani, A., Sefidkon, F. and Rasooli Sadaghiaani, H. 2011.** The effect of irrigation with saline water and treated with salicylic acid on the growth and physiological traits of peppermint (*Mentha piperita* .L). *Department of Horticulture, College of Agriculture, University of Urmia*. [In Persian]

- 21- **Ranieri, A., Castagna, A., Baldan, B. and Soldatini, G. F. 2001.** Iron deficiency differently affects peroxidase isoforms in sunflower. *Journal of experimental botany*, 52(354), 25-35.
- 22- **Rezazadeh Hamidieh, I. 2008.** Salt tolerance in soybean (Soybean) in the presence of some antioxidant compounds. MSc dissertation, Department of Plant Sciences, College of Natural Sciences, University of Tabriz.[In Persian]
- 23- **Sairam, R. and Tyagi, A. 2004.** Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants, *Current science*, 86(3).
- 24- **Tuna, A., Kaya, C., Dikilitas, M. and Higgas, D. 2008.** The combined effects of gibberellic acid and salinity on some antioxidant enzyme activities, plant growth parameters and nutritional status in maize plants, *Environmental and experimental botany*, 62: 1-9.
- 25- **Yasar, F., Kusvuran, S. and Elliatioglu, S. 2006.** Determination of anti oxidant activities in some melon (*Ucumis melo* L.) varieties and cultivars under salt stress. *Journal of horticultural science and biotechnology*, 81(4) : 627-630.