

تأثیر اسید سالیسیلیک و سولفات منیزیم کلاته بر میزان آلفا-توکوفرول و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی در گلابی رقم لوئیزبون

مه‌جبین عادل^۱، محمد اسماعیل امیری^{۲*}، محمدعلی نجاتیان^۳ و مریم عادل^۱

۱ و ۲. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استاد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان

۳. دانشیار، بخش تحقیقات علوم زراعی-باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان قزوین، سازمان تحقیقات،

آموزش و ترویج کشاورزی، قزوین، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۹/۲۶ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۳)

چکیده

پاداکنده (آنتی‌اکسیدان)ها، سامانه‌های ضد اکسایشی گیاهان عالی به شمار می‌آیند و تحریک تولید یا کاربرد مصنوعی آن‌ها می‌تواند در غلبه بر تنش‌ها مؤثر واقع شود. این ترکیب‌ها شامل انواع آنزیمی و غیر آنزیمی مانند ویتامین‌ها، رنگریزه‌ها و غیره هستند. در این پژوهش، تأثیر اسید سالیسیلیک و سولفات منیزیم کلاته بر تحریک یا جلوگیری از تولید پاداکنده‌های مختلف در برگ گلابی بررسی شد. آزمایش در شرایط اقلیمی استان قزوین در قالب طرح بلوک کامل تصادفی روی درختان گلابی رقم لوئیزبون انجام شد. صفات مورد بررسی در این پژوهش شامل پاداکنده‌های آلفا-توکوفرول، کاروتنوئید و سبزینه (کلروفیل) a، سبزینه b و سبزینه کل بود. نتایج نشان داد، اسید سالیسیلیک و سولفات منیزیم کلاته تأثیر معنی‌داری بر میزان پاداکنده آلفا-توکوفرول، سبزینه و کاروتنوئید داشتند. به طوری که دامنه تغییرپذیری بین تیمارهای مختلف در مورد رنگریزه سبزینه بین ۱/۰۳ تا ۶/۲۷ و کاروتنوئید بین ۰/۰۶ تا ۱/۹۸۵ میلی‌گرم بر گرم و آلفا-توکوفرول بین ۰/۰۳ تا ۲/۳۰ قسمت در میلیون (PPM) متغیر بود. مقایسه میانگین‌ها نشان داد، تیمار همزمان اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۵ و سولفات منیزیم کلاته با غلظت ۰/۷ گرم در لیتر بیشترین میزان پاداکنده آلفا-توکوفرول را به خود اختصاص داد که از نقش مثبت تیمار یادشده در تحریک تولید این پاداکنده حکایت می‌کند.

واژه‌های کلیدی: پاداکنده، تنش، سبزینه، غیر آنزیمی، کاروتنوئید.

The effect of salicylic acid and chelated magnesium sulfate on amount of α -tocopherol and some physiological characteristics of pear (cv. Louise Bonne de Jersey)

Mahjabin Adel¹, Mohammad Esmail Amiri^{2*}, Mohammad Ali Nejatian³ and Maryam Adel¹

1, 2. Former M.Sc. Student and Professor, Faculty of Agriculture, Zanjan University, Zanjan, Iran

3. Associate Professor, Horticulture Crops Research Department, Qazvin Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Qazvin, Iran

(Received: Sep. 20, 2015 - Accepted: Feb. 22, 2016)

ABSTRACT

The antioxidants are anti-oxidative system in higher plants and therefore their endogenous stimulation or exogenous application of them can be effective in overcoming on stresses. These combinations are included the kinds of enzymatic and non-enzymatic materials such as: vitamins, pigments and so on. In this present experiment, the influence of salicylic acid and chelated magnesium sulfate was studied on stimulatory or inhibitory effects on different antioxidants production in the pears' leaves. The experiment was conducted in the ecological conditions of Qazvin province in RCBD in 2013 and plant materials were selected pear trees belonging to Louise Bonne. The studied characteristics in this research include antioxidants of α -tocopherol, carotenoid, chlorophylls a, b and total. The results indicated that salicylic acid and chelated magnesium sulfate significantly affected on the content of α -tocopherol antioxidant, chlorophyll and carotenoid in the leaf pear. There was a highly significant difference ($P \leq 0.01$) among treatments. The changes for chlorophyll pigment were between 1.03 to 6.27 mg/g, for carotenoid between 0.06 to 1.985 mg/g and for α -tocopherol between 0.03 to 2.30 ppm. The LSD indicated that the highest amount of α -tocopherol compound was obtained in the combination of salicylic acid (0.5 g) and chelated magnesium sulfate (0.7 g) treatment. It can be interpreted the positive role of the aforementioned treatment in producing stimulation of this antioxidant.

Keywords: Antioxidant, carotenoid, chlorophyll, non-enzymatic, stress.

* Corresponding author E-mail: m-amiri@znu.ac.ir

مقدمه

بهترین راه رویارویی با رادیکال‌های آزاد، تحریک تولید یا کاربرد مصنوعی ترکیب‌های پاداکسنده (آنتی‌اکسیدان) یعنی سامانه پاداکسایشی پیچیده گیاهان عالی است. چرخه پاداکسندگی که ویتامین‌ها، مواد کانی، اسیدهای آمینه و آنزیم‌ها نقش اساسی را در آن بازی می‌کنند، ترکیب‌هایی هستند که گیاه را در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی محافظت می‌کنند. مهم‌ترین پاداکسنده‌ها شامل آسکوربات (ویتامین C)، توکوفرول (ویتامین E)، کاروتنوئید، آنزیم‌ها و برخی مواد کانی مورد نیاز (سلنیوم، آهن، روی، منگنز، مس) می‌باشند که مورد اخیر تأثیر خود را در سلول از راه آنزیم‌های پاداکسندگی بروز می‌دهد و از اینرو تأثیر پاداکسندگی به آن‌ها نیز نسبت داده می‌شود (Blokhin et al., 2003).

گزارش‌ها به نقش مواد مختلف در تحریک تولید پاداکسنده‌ها اشاره دارد (Taiz & Zeiger, 1999). محققان دیگر از جمله Fang et al. (2002) و Ghorbani and Ladan Moghadam (2005) در مورد نقش منیزیم در سوخت‌وساز (متابولیسم) گلوکز و گوگرد و نقش گوگرد در ساخت (سنتز) گلوکاتایون و نقش گلوکاتایون در احیاء آسکوربات و نقش آسکوربات در احیاء توکوفرول تاکید داشتند. زمانی که در شرایط تنش نسبت گلوکاتایون احیاء به اکسید کاهش می‌یابد، تقاضای یاخته‌ای برای NADPH به میزان قابل توجهی افزوده می‌شود (Sies, 1999). منیزیم عامل کمکی (کوفاکتور) دو آنزیم چرخه پنتوز (گلوکز-۶- فسفات دهیدروژناز و ۶- فسفوکلوکونات دهیدروژناز) است که تولید NADPH از NADP⁺ را کاتالیز می‌کنند و بنابراین و مطابق گزارش Rock et al. (1995) لازمه فعالیت پاداکسنده گلوکاتایون ریداکتاز (در حضور NADPH) و گلوکاتایون پراکسیداز می‌باشد. نقش منیزیم به عنوان عامل کمکی (کوفاکتور) در تامین NADPH و بنابراین نگهداری نسبت نرمال گلوکاتایون احیاء به گلوکاتایون اکسید و حفظ حالت عادی اکسایش، احیاء (Redox) در سلول‌ها بدیهی است.

از سویی ترکیب گوگردی N- استیل سیستئین، پیش‌ماده سیستئین برای ساخت گلوکاتایون احیاء

درون‌یاخته‌ای (GSH) است (Sies, 1999) که احیاء کننده رادیکال ویتامین C بوده و گونه‌های فعال اکسیژن مانند رادیکال پروکسیل لیپید، پراکسی‌نیتريت و H₂O₂ را توسط واکنش‌های آنزیمی به صورت موثری تنظیم می‌کند.

اسید سالیسیلیک نیز به صورت مستقیم و غیرمستقیم سبب مهار گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) شده و اثرگذاری زینبار ناشی از تنش اکسایشی (اکسیداتیو) را کاهش می‌دهد (Hayat et al., 2007). این تنظیم‌کننده با اصلاح فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز و NADPH اکسیداز در متابولیسم کردن رادیکال‌های آزاد و تولید پاداکسنده و حفظ ذخایر پاداکسنده‌های دیگر از جمله کاروتنوئید، آلفا-توکوفرول و سبزینه (کلروفیل) و در نتیجه نورساخت (فتوسنتز) نقش دارد (Moharekar et al., 2003). افزون بر این، اسید سالیسیلیک از راه کلاته کردن آهن موجود در آنزیم ACC اکسیداز و بلوکه کردن این آنزیم از زیست‌ساخت (بیوسنتز) اتیلن و سیانید جلوگیری کرده و با توجه به قابلیت سیانید در توقف چرخه‌های زیستی، از تولید گونه‌های فعال اکسیژن جدید ممانعت به عمل خواهد آورد. از سویی بر اساس گزارش Drolet et al. (1986) این تنظیم‌کننده از تولید رادیکال سوپراکسید که حضور آن برای تبدیل ACC به اتیلن و سیانید ضروری است جلوگیری می‌کند و در تنظیم سوپراکسیدهای موجود نیز نقش دارد. اسید سالیسیلیک همچنین مقدار پلی‌آمین را در بافت گیاهی افزایش می‌دهد (Nemeth et al., 2002). در این پژوهش، نقش مواد تیماری اسید سالیسیلیک و سولفات منیزیم کلاته (ترکیب پلی‌آمین بعلاوه عناصر کانی) بر میزان رنگریزه‌های فتوسنتزی (نورساختی) و آلفا-توکوفرول در برگ گلایی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۲ به منظور بررسی تأثیر ترکیب‌های اسید سالیسیلیک و سولفات منیزیم کلاته بر میزان پاداکسنده‌های مختلف در یک باغ یکنواخت گلایی واقع در روستای جهان‌آباد استان قزوین، روی

$$\text{Chlorophyll total} = (20.2 \times A_{645} + 8.02 \times A_{663}) V/100 W \quad (3)$$

$$\text{Carotenoids} = 1000 (A_{470}) - 3.27 (\text{mg chl. a}) - 1.4 (\text{mg chl. b}) / 227 \quad (4)$$

در این روابط:

V = حجم محلول فوقانی ناشی از سانتریفیوژ

A = میزان جذب

W = وزن تر بر حسب گرم.

تشخیص، جداسازی و اندازه‌گیری مقادیر آلفا-توکوفرول با استفاده از روش اصلاح‌شده Botsoglou *et al.* (1998) و توسط دستگاه HPLC یا فام‌نگاری (کروماتوگرافی) مایع با کارکرد عالی (Schimadzu) انجام و بر حسب قسمت در میلیون (PPM) در بافت برگ گزارش شد. مواد متانول و استونیتریل مربوط به شرکت رومیل (ROMIL) و با درجه خلوص HPLC و آلفا-توکوفرول مربوط به شرکت البرز دارو است.

به‌منظور استخراج آلفا-توکوفرول از برگ‌ها، از آن ۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت استفاده شد. پس از کاربرد محلول‌های پیروکاتکول و هیدروکسید پتاسیم، بنماری ۸۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه به‌کاربرده شد. به دلیل ناپایدار بودن این ویتامین در مایعات زیستی (بیولوژیک) به‌ویژه در تماس با نور و هوا، این مرحله مطابق نظر Aarabi & Jalali (2003) در شرایط بدون نور انجام شد. نمونه‌های قرار داده شده در بنماری هر پنج دقیقه یکبار به‌شدت تکان (ورتکس) داده شد و در نهایت در حمام آب یخ قرار گرفت و سپس با افزودن آب مقطر و هگزان مجدداً به مدت یک دقیقه به‌شدت تکان داده و آنگاه به مدت دو دقیقه با سرعت ۱۷۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. ماده به‌دست‌آمده در ۱/۵ میلی‌لیتر حالت (فاز) متحرک متانول-استونیتریل (۹۰:۱۰ V/V) حل و سپس با صافی‌های سرسرنگی دارای روزه‌های ۰/۵ میکرومتر صافی شد. پیش از تزریق نمونه‌ها به دستگاه، استانداردهای ۳، ۶ و ۱/۵ قسمت در میلیون تزریق شد و منحنی استاندارد به دست آمد. در نهایت تزریق ۲۰ میکرولیتر از عصاره به دستگاه

درختان گلایی ۱۰ ساله با مشخصات رشدی همسان متعلق به رقم لوئیزبون با فواصل کشت ۷×۵ اجرا شد. تیمارهای مورد استفاده شامل شاهد (آب)، سولفات منیزیم (۰/۵ و ۰/۷ گرم در لیتر)، اسید سالیسیلیک (۰/۱ و ۰/۵ گرم در لیتر)، تیمارهای ترکیبی هر یک از سطوح سولفات منیزیم با سطوح اسید سالیسیلیک و شاهد (بدون آب) در قالب طرح بلوک کامل تصادفی اجرا شد. لازم به یادآوری است که برای افزایش ضریب نفوذ و اثربخشی سولفات منیزیم محلول‌پاشی شده از راه برگ به درون گیاه از ترکیب کلات منیزیم استفاده شد. به‌طوری‌که با افزودن کلات منیزیم در مقادیر یکسان به سولفات منیزیم، ترکیب سولفات منیزیم کلاته به دست آمده و برای محلول‌پاشی به‌کاربرده شد. میزان کلات منیزیم افزوده‌شده به سولفات منیزیم در همه تیمارهای حاوی این ترکیب، یکسان و معادل ۲/۷ گرم در لیتر بود. محلول‌پاشی در ماه خرداد و در دو نوبت با فاصله زمانی چهار روز انجام شد. برای حذف اثر حاشیه، فاصله مکانی بین بلوک‌ها لحاظ گردید. نمونه‌ها در ماه تیر تهیه و نمونه‌برداری از برگ پنجم شاخه سال جاری صورت گرفت که با برداشت سه برگ سالم از هر درخت انجام شد.

صفات مورد اندازه‌گیری شامل پاداکننده‌های سبزینه a، سبزینه b و سبزینه کل، کاروتنوئید (Arnon, 1967) و آلفا-توکوفرول (روش اصلاح‌شده Botsoglou, 1998) بود. در اندازه‌گیری فراسنجه‌های سبزینه a، سبزینه b، سبزینه کل و کاروتنوئید از سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه و مدت ۱۰ دقیقه برای جداسازی عصاره استفاده شد و میزان جذب توسط اسپکتروفتومتر و به تفکیک در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای سبزینه a، ۶۴۵ نانومتر برای سبزینه b و ۴۷۰ نانومتر برای کاروتنوئید قرائت شد و در نهایت غلظت رنگریزه‌ها توسط روابط ۱، ۲، ۳ و ۴ محاسبه و بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ گزارش گردید (Arnon, 1967).

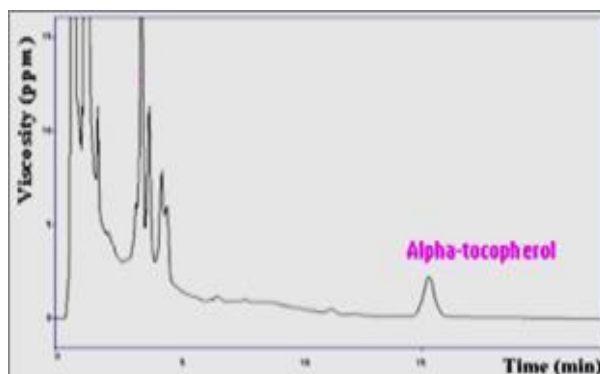
$$\text{Chlorophyll a} = (19.3 \times A_{663} - 0.86 \times A_{645}) V/100 W \quad (1)$$

$$\text{Chlorophyll b} = (19.3 \times A_{645} - 3.6 \times A_{663}) V/100 W \quad (2)$$

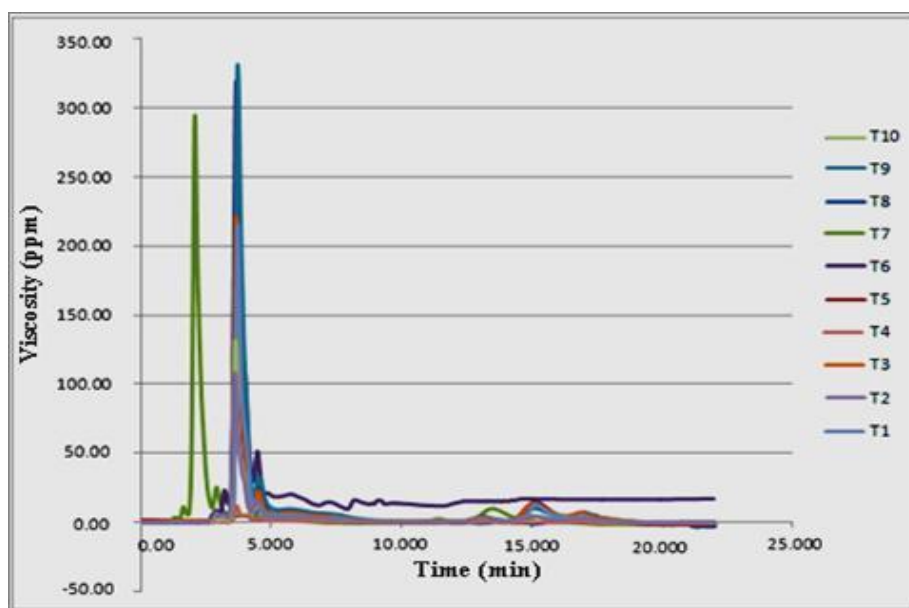
جداگانه (شکل ۱) توسط نرم‌افزار اکسل بر هم منطبق شد (شکل ۲).

محاسبات آماری صفات مورد اندازه‌گیری با استفاده از نرم‌افزارهای (۱۱) MSTAT-C و (۱۶) SPSS صورت گرفت. میانگین شاخص‌های اندازه‌گیری شده با استفاده از آزمون دانکن در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد انجام شد.

HPLC با ستون C_{18} در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و حالت متحرک متانول- استونیتریل (۹۰ : ۱۰) با شدت جریان ۱/۳ میلی‌لیتر در دقیقه توسط دتکتور (آشکارساز) فلئورسانس در دو طول‌موج تابشی ۲۸۸ و ۳۲۹ انجام شد. بهترین نقطه اوج (پیک) منحنی، ۱۶ دقیقه پس از تزریق استانداردها به دست آمد. آنگاه منحنی‌های فام نگاری (کروماتوگرام)



شکل ۱. منحنی فام نگاری آلفا-توکوفرول
Figure 1. Chromatogram curve of Alpha-tocopherol



شکل ۲. انطباق منحنی‌های فام نگاری آلفا-توکوفرول
Figure 2. The conformity of Alpha-tocopherol chromatogram curves

غلظت سولفات منیزیم کلاته و اسید سالیسیلیک به دست آمد، به عبارت دیگر بین غلظت آلفا-توکوفرول و افزایش غلظت مواد تیماری رابطه مستقیمی برقرار بود. میزان آلفا-توکوفرول به‌طور کلی در غلظت

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس کل صفات نشانگر وجود اختلاف معنی‌داری بین تیمارها در سطح احتمال ۱ درصد بود (جدول ۱). بالاترین غلظت آلفا-توکوفرول در بالاترین

ترتیب به تیمارهای اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۱ و اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۵ گرم در لیتر اختصاص داشت. درصد افزایش میزان سبزینه b در تیمارهای سولفات منیزیم کلاته به مراتب بیشتر از سبزینه a بود و بالاترین میزان سبزینه b و کاروتنوئید به تیمار توام اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۵ و سولفات منیزیم کلاته با غلظت ۰/۵ و پایین‌ترین میزان به تیمار شاهد اختصاص داشت. بالاترین نسبت سبزینه a به b مربوط به تیمار شاهد و تیمارهای منفرد اسید سالیسیلیک بود که متأثر از تفاوت چشمگیر میزان سبزینه a و b در شرایط نبود مواد تیماری به خصوص سولفات منیزیم کلاته ارزیابی می‌شود و پایین‌ترین مقدار به تیمار توام اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۵ و سولفات منیزیم کلاته با غلظت ۰/۷ گرم در لیتر اختصاص داشت (جدول ۲).

بیشینه سولفات منیزیم کلاته افزایش معناداری نسبت به شاهد نشان داد. اما در تیمارهای همزمان هر دو ماده تیماری، اسید سالیسیلیک مانع این افزایش بود. کمترین آلفا-توکوفرول برگ مربوط به تیمارهای اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۱ و به‌طور کلی ترکیبات تیماری حاوی اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۱ گرم در لیتر و بیشترین میزان آن نیز به تیمار توام اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۵ و سولفات منیزیم کلاته با غلظت ۰/۷ اختصاص داشت. افزایش معنادار میزان سبزینه و کاروتنوئید نسبت به شاهد در تیمارهای منفرد سولفات منیزیم کلاته بیانگر نقش مثبت ترکیب مذکور در میزان تولید این پاداکسنده‌ها می‌باشد. بالاترین میزان سبزینه a و کل به تیمار سولفات منیزیم کلاته با غلظت ۰/۷ و پایین‌ترین میزان به

جدول ۱. تجزیه واریانس صفات سبزینه، کاروتنوئید و آلفا-توکوفرول
Table 1. Analysis of Chlorophyll, Carotenoid and α -tocopherol

Source of Variation	df	Means of Squares				
		Chlorophyll a	Chlorophyll b	Chlorophyll t	Carotenoid	α -tocopherol
Replication	2	0.013 ^{ns}	0.007 ^t	0.001 ^{ns}	0.0001 ^{ns}	0.0001 ^{ns}
Treatment	9	8.39 ^{**}	4.55 ^{**}	14.36 ^{**}	0.002 ^{**}	1.94 ^{**}
Error	18	0.014	0.001	0.004	0.0001	0.005
CV (%)	-	3.35	2.23	1.81	15.40	8.09

***, * و ns به ترتیب معنادار در سطح احتمال ۱ درصد، ۵ درصد و غیر معنادار.

***, * and ns significant in probability level of 1% , 5% and non significant, respectively.

جدول ۲. مقایسه میانگین صفات سبزینه، کاروتنوئید و آلفا-توکوفرول
Table 2. Mean comparison of Chlorophyll, Carotenoid and α -tocopherol

Treatment	Chlorophyll a (mg/g)	Chlorophyll b (mg/g)	Chlorophyll t (mg/g)	Carotenoid (mg/g)	a / b (-)	α -tocopherol (ppm)
1. Ctrl. (H ₂ O)	1.85 f	0.02 g	1.85 e	0.07 c	92.5 a	0.51 e
2. CMS 0.5	4.85 b	2.45 c	5.63 e	1.24 ab	1.98 e	0.90 d
3. CMS 0.7	5.57 a	2.66 a	6.27 a	1.88 a	2.09 de	1.91 b
4. SA 0.1	1.18 h	0.02 g	1.21 g	1.04 bc	59 abc	0.03 f
5. CMS 0.5 + SA 0.1	2.40 e	0.21 f	1.69 f	1.05 bc	11.42 bc	0.04 f
6. CMS 0.7 + SA 0.1	4.22 c	0.63 d	3.26 c	1.05 bc	6.70 d	0.05 f
7. SA 0.5	1.61 g	0.04 g	1.03 h	1.08 abc	40.25 abc	1.14 c
8. CMS 0.5 + SA 0.5	5.40 a	2.67 a	6.17 a	1.98 a	2.02 de	1.30 c
9. CMS 0.7 + SA 0.5	4.80 b	2.51 b	5.64 e	1.34 ab	1.91 e	2.30 a
10. Ctrl. (without H ₂ O)	2.86 d	0.47 e	2.16 d	0.06 c	6.08 d	0.50 e

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف‌های همسان از نظر آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنادار در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

CMS: سولفات منیزیم کلاته، SA: اسید سالیسیلیک، Ctrl. (without H₂O): شاهد (بدون آب)، Ctrl. (H₂O): شاهد (با آب).

In each column, means followed by the same letters are not significantly different in probability level of 5% using dankaduncan's multiple range test. CMS: Chelated Magnesium Sulfate, SA: Salicylic Acid, Ctrl. (without H₂O): the control group without water, and Ctrl. (H₂O): the control group with water.

جدول ۳. همبستگی صفات اندازه‌گیری شده
Table 3. Correlations of measured attributes

	Chl. a	Chl. b	Chl. t	Car.	E
Chlorophyll a (Chl. a)	1	0.930 ^{**}	0.965 ^{**}	0.539	0.411
Chlorophyll b (Chl. b)		1	0.988 ^{**}	0.575	0.556
Chlorophyll total (Chl. t)			1	0.605	0.514
Carotenoid (Car.)				1	0.283
α -tocopherol (E)					1

***, * و ns به ترتیب معنادار در سطح احتمال ۱ درصد، ۵ درصد و غیر معنادار.

***, * and ns significant in probability level of 1% , 5% and non significant, respectively.

تیمارهای سولفات آسکارتر و همراه با افزایش سبزینه بود. از آنجایی که کاروتنوئیدها از راه سازوکاری که چرخه گزانتوفیل نامیده می‌شود، باعث مصرف اکسیژن و حفاظت از سبزینه در برابر اکسایش نوری (فتواکسیداسیون) می‌شوند (Loggini *et al.*, 1999)، این افزایش سبزینه را می‌توان به نقش حفاظتی کاروتنوئید نسبت داد و بیانگر نقش مثبت تیمار یادشده در تحریک تولید کاروتنوئیدها می‌باشد. کاهش میزان سبزینه در تیمار اسید سالیسیلیک در هر دو غلظت نیز می‌تواند متأثر از تبدیل متابولیت‌های مختلف از جمله سبزینه به آلفا-توکوفرول یا سبزینه b به a در شرایط تنش باشد که این کاهش با نتایج Al-Nabulsi *et al.* (1994) همخوانی دارد. افزایش میزان سبزینه b در اثر تیمار با اسید سالیسیلیک که با نتایج Hayat *et al.* (2007) همخوانی دارد، در این پژوهش نیز در غلظت بیشینه اسید سالیسیلیک قابل مشاهده است. کاهش نسبت کلروفیل a به b در تیمارهای منفرد حاوی اسید سالیسیلیک نسبت به تیمار شاهد در این بررسی، با نتایج Moharekar *et al.* (2003) همخوانی دارد که بر نقش ماده فوق در افزایش میزان کلروفیل b در گیاه گلایی اشاره دارد. اختصاص پایین‌ترین نسبت کلروفیل a به b به تیمار توام اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۵ و سولفات منیزیم کلاته با غلظت ۰/۷، تیمار توام اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۵ و سولفات منیزیم کلاته با غلظت ۰/۵، تیمار سولفات منیزیم کلاته با غلظت ۰/۵ و تیمار سولفات منیزیم کلاته با غلظت ۰/۷ نیز بر نقش تیمارهای منفرد حاوی سولفات منیزیم کلاته و تیمارهای توام در غلظت‌های بیشینه در تشدید اثر تحریک‌کننده اسید سالیسیلیک در افزایش مقادیر سبزینه b اشاره دارد که متأثر از نقش عنصرها به‌عنوان کاتالیزور فرآیندهای فیزیولوژیکی در سوخت‌وساز گیاه است.

نتیجه‌گیری کلی

آلفا-توکوفرول شکل و ترکیب فعال ویتامین E است که نوعی پاداکسنده قوی است. در این بررسی تحقق افزایش پاداکسنده قوی آلفا-توکوفرول در کنار

یکی از روش‌های بهبود واکنش گیاهان در برابر تنش‌های محیطی، افزایش ظرفیت پاداکسندگی است. پاداکسنده‌ها شامل انواع آنزیمی و غیر آنزیمی مانند ویتامین‌ها، رنگریزه‌ها و غیره بوده و با تنظیم رادیکال‌های آزاد موجب حفاظت گیاه در برابر تنش‌های اکسایشی می‌شوند (Sairam *et al.*, 1998). کاروتنوئید یکی از این پاداکسنده‌های موجود در گیاهان عالی است که هم به طور مستقیم از تشکیل رادیکال‌های آزاد جلوگیری به عمل می‌آورد و هم به طور غیر مستقیم تولید آن‌ها را کاهش می‌دهد. ترکیب پاداکسنده آلفا-توکوفرول (شکل فعال ویتامین E) که در موجودهای نورساخت‌کننده و برخی از سیانوباکتری‌ها تولید می‌شود و از صدمات اکسایشی پروتئین‌های سلولی، DNA و زوال غشاء جلوگیری می‌کند نیز پاداکسنده‌ای غیر آنزیمی در گیاهان نورساخت‌کننده است و Munne-Bosch *et al.* (1999)، Bergmuller *et al.* (2003)، Kurk *et al.* (2005) و Matringe *et al.* (2008) بسیاری از فعالیت‌های زیستی مانند از بین بردن مولکول‌های اکسیژن یگانه و افزایش سازگاری گیاهان به سرما و کنترل غیر آنزیمی اکسایش لیپیدها در گیاهان را به این پاداکسنده نسبت می‌دهند. افزایش ترکیب پاداکسنده آلفا-توکوفرول، در پاسخ به بسیاری از تنش‌ها مانند نور شدید، خشکی، سرما و گرما اثبات شده است. به‌طور کلی میزان ذخایر پاداکسندگی گیاه صرف‌نظر از ظرفیت ژنتیکی آن می‌تواند تحت تأثیر شرایط حاکم بر آن مانند چگونگی تغذیه قرار گیرد.

در این بررسی، هر دو ماده تیماری سالیسیلیک اسید و سولفات منیزیم کلاته با تحت تأثیر قرار دادن میزان رنگریزه‌های نورساختی و آلفا-توکوفرول در تغییر میزان پاداکسنده‌ها دخیل بودند. تیمار با اسید سالیسیلیک در هر دو غلظت موجب افزایش کاروتنوئید نسبت به شاهد شد که این افزایش با نتایج Eraslan *et al.* (2008) همخوانی دارد. مطالعات Mazaheri Tirani *et al.* (2007) و Hayat & Ahmad (2008) بیانگر نقش اسید سالیسیلیک در بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیک و میزان پاداکسنده‌ها در گیاهان مختلف می‌باشد. این افزایش کاروتنوئید در

منیزیم کلاته با غلظت ۰/۷ مبین آن است که کاربرد ترکیبی مواد اسید سالیسیلیک و سولفات منیزیم کلاته به ترتیب با غلظت ۰/۵ و ۰/۷ می‌تواند محتوای آلفا-توکوفرول گیاه را از طریق تحریک تولید طبیعی این مواد با ارزش در داخل گیاه افزایش دهد و به دنبال آن پیامدهای زیانبار حاصل از رادیکال‌های آزاد کاهش و ارزش غذایی محصول تولیدی و در نهایت سلامت انسان افزایش می‌یابد.

سپاسگزاری

از آقای دکتر عباسعلی زمانی، استادیار محیط‌زیست دانشگاه زنجان برای راهنمایی‌های ارزنده و تأمین امکانات آزمایشگاهی، تشکر و قدردانی می‌گردد.

کاروتنوئید و سبزینه در نتیجه کاربرد ترکیبات تیماری اسید سالیسیلیک و سولفات منیزیم کلاته و نیز بهترین غلظت و ترکیب کاربردی در بین مقادیر پیشنهادی به دست آمد. بهترین غلظت در مورد ویتامین E به تیمار توام اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۵ و سولفات منیزیم کلاته با غلظت ۰/۷ و در مورد کاروتنوئید و سبزینه به تیمار سولفات منیزیم کلاته با غلظت ۰/۷ اختصاص داشت. عدم وجود این پاداکسندها در تیمارهای شاهد نسبت به تیمارهای دیگر به نقش مثبت کاربرد ترکیبات تیماری بر ذخیره پاداکسندگی در برگ گلابی اشاره دارد. اختصاص بیشترین میزان آلفا-توکوفرول در نمونه‌های برگ به تیمار توام اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۵ و سولفات

REFERENCES

1. Aarabi, M. H. & Jalali, M. (2003). Simultaneous measurement of vitamins A and E with the way of Reversed Phase HPLC. *Feyz (Journal of Kashan University of Medical Sciences)*, 27: 2-8. (In Farsi)
2. Al-Nabulsi, Y. A., Al-Jasim, A. A. & Al-Taahir, O. A. (1994). Effect of saline drainage water and nitrogen fertilization on kernel yield, vegetative growth and nitrogen and chlorophyll content of Hassawi rice. *Arid Soil Research*, 8, 207-125.
3. Arnon, A. N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy*, 23, 112-121.
4. Bergmuller, E., Porfirova, S. & Dormann, P. (2003). Characterization of an Arabidopsis mutant deficient in γ -tocopherol methyltransferase. *Plant Molecular Biology*, 52, 1181-1190.
5. Blokhin, O., Virolainen, E. & Fagerstedt, K. (2003). Antioxidant oxidative damage and oxygen deprivation stress. *Annual Review of Botany*, 91, 179-194.
6. Botsoglou, N., Fletouris, D., Psomas, I. & Mantis, A. (1998). Rapid gas chromatographic method for simultaneous determination of cholesterol and tocopherol in eggs. *Journal of AOAC International*, 8, 1177-1183.
7. Drolet, G., Dumbroff, E. B., Legg, R. & Thompson, J. E. (1986). Radical scavenging properties of polyamines. *Phytochemistry*, 25, 367-371.
8. Eraslan, F., Inal, A., Pilbeam, D. J. & Gunes, A. (2008). Interactive effects of salicylic acid and silicon on oxidative damage and antioxidant activity in spinach (*Spinacia oleracea* L. CV. Matador) grown under boron toxicity and salinity. *Plant Growth Regulation*, 55, 207-219.
9. Fang, Y. Z., Yang, S. & Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18, 872-879.
10. Ghorbani, H. & Ladan Moghadam, A. (2005). *Introduction to oxidative stresses and plant strains*. Davavin Publication Institute. Iran. 128 p. (in Farsi)
11. Hayat, S. & Ahmad, A. (2007). *Salicylic acid: a plant hormone*. Springer, 410 pp.
12. Hayat, S., Ali, B. & Ahmad, A. (2007). Salicylic acid: biosynthesis, metabolism and physiological role in plants. In: Hayat, S. & Ahmad, A. (Ed), *Salicylic Acid-A Plant Hormone*. (Pp.1-14.) Springer.
13. Kurk, j., Hollander-Czytko, H., Oett meier, W. & Trebst, A. (2005). Tocopherol as singlet oxygen scavenger in photosystem II. *Plant Physiology*, 162, 749-757.
14. Loggini, B., Scartazza, A., Brugnoli, E. & Navari-Izzo, F. (1999). Antioxidative defense system, pigment composition, and photosynthetic efficiency in two wheat cultivars subjected to drought. *Plant Physiology*, 119, 1091-1099.
15. Matringe, M., Ksas, B., Rey, P. & Havaux, M. (2008). Tocotrienols, the unsaturated forms of vitamin E, can function as antioxidants and lipid protectors in tobacco leaves. *Plant Physiology*, 147, 764-778.
16. Mazaheri Tirani, M., Kalantari, Kh. M., & Hasibi, N. (2008). The study of the interactive effects of ethylene and salicylic acid on induction of oxidative stress and the mechanisms of tolerance in *Brassica napus* L. *Iran Journal of Biology*, 21(3), 421-432. (in Farsi)
17. Moharekar, S. T., Lokhande, S. D., Hara, T., Tanaka, R., Tanaka, A. & Chavan, P. D. (2003). Effect of salicylic acid on chlorophyll and carotenoid contents of wheat and moong seedlings. *Photosynthetica*, 41, 315-317.

18. Munne- Bosch, S., Schwarz, K. & Alegre, L. (1999). Enhanced formation of α -tocopherol and highly oxidized alienate diterpene in water-stressed rosemary plants. *Plant Physiology*, 121, 1047-1052.
19. Nemeth, M., Janda, T., Horvath, E., Paldi, E. & Szalai, G. (2002). Exogenous salicylic acid increases polyamine content but may decrease drought tolerance in maize. *Plant Science*, 162, 569-574.
20. Rock, E., Astier, C. & Lab, C. (1995). Dietary magnesium deficiencies in rats enhance free radical production in skeletal muscle. *Nutrition*, 128, 1205.
21. Sairam, R. K., Deshmukh, P. S. & Saxena, D. C. (1998). Role of antioxidant systems in wheat genotype tolerance to water stress. *Plant Biology*, 41(3), 387-394.
22. Sies, H. (1999). Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radical Biology and Medicine*. 27, 916.
23. Taiz, L. & Zeiger, E. (1999). *Plant Physiology* (5th ed.). Translate: Kafee M., Lahootee M., Zand E., Shareefee H. R. & Goldanee M. Publications of Mashhad University Jihad. 456 pp. (in Farsi)