پژوهش در میوه‌کاری
دوره اول، شماره اول، تابستان ۱۳۹۵ (۲۹-۱۵)

تأثیر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی انگور رقم "بیدانه سفید" تحت سمیت بور

سمیه نظام‌دوست[۱]، علیرضا فرخزاد*[۲] و میرحسن رسولی‌صدقیانی[۳]

۱- دانشجوی سابق کارشناشی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
۲ - استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه
۳- دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۲۲- تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۳/۴)

چکیده

به منظور بررسی تأثیر محلول‌پاشی برگی اسید سالیسیلیک در انگور رقم "بیدانه سفید" (*Vitis vinifera* cv. Bidaneh Sefid) تحت تنش ناشی از سمیت بور، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار اجراء شد. نهال‌های دو ساله انگور رقم «بیدانه سفید» به مدت سه ماه در معرض غلظت‌های مختلف بور از منبع اسید بوریک (به صورت کاربرد همراه با محلول غذایی) (۰/۲(شاهد)، ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر) و دو غلظت اسید سالیسیلیک (به صورت محلول‌پاشی برگی)، (صفر و ۱/۵ میلی‌مولار) قرار گرفتند. نتایج آزمایش نشان داد که در گیاهان تیمار شده با بور، مقادیر مالون دی‌آلدئید، پرولین و میزان پروتئین کل افزایش یافت. میزان نشت یونی در غلظت ۳۰ میلی‌گرم در لیتر بور، ۶۳/۱۶ درصد بود که نسبت به شاهد افزایش داشت. با افزایش سمیت بور، فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی گایاکول پراکسیداز کاهش و با محلول‌پاشی برگی نهال‌های انگور با اسید سالیسیلیک، فعالیت این آنزیم افزایش یافت. یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که سمیت بور می‌تواند باعث آسیب‌های اکسیداتیو شده و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک می‌تواند تا حدودی آسیب‌های اکسیداتیو در انگور رقم «بیدانه سفید» را کاهش دهد.

کلمات کلیدی: پروتئین کل، پرولین، تنش اکسیداتیو، مالون دی‌آلدئید

* نویسنده مسئول Email: a.farokhzad@urmia.ac.ir

مقدمه

انگور گیاهی چندساله با نام علمی *Vitis vinifera* از خانواده Vitaceae می‌باشد که برای رشد به تابستان‌های گرم و خشک نیاز دارد (جلیلی‌مرندی، ۱۳۸۶). کشت و کار انگور در مناطق خشک و نیمه خشک متداول بوده و شرایط نامساعد محیطی در این مناطق، رشد و نمو انگور را تحت تاثیر قرار می‌دهد. تنش ناشی از سمیت بور و خسارت ناشی از آن از مهم‌ترین اختلالات در نواحی خشک و نیمه‌خشک جهان محسوب می‌شود. در این مناطق به علت بارندگی کم و تبخیر بالا، بور به اندازه کافی شسته نشده و در خاک تجمع می‌یابد (یرمیاهو و بن گال[1]، ۲۰۰۶). رید[2] و همکاران (۲۰۰۴) بیان داشتند که غلظت بور خاک در حالت کمبود و سمیت بسیار به هم نزدیک بوده و مرز باریکی بین کمبود و سمیت آن در بسیاری از گیاهان وجود دارد. مقدار بور در خاک‌های ایران بین ۲۰ تا ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم متغیر است و حد مطلوب عنصر بور در خاک باغات انگور حدود ۲-۱ پی‌پی‌ام است (طباطبائی، ۱۳۸۸). اسماعیلی و رحمانی (۱۳۹۱) گزارش کردند که حد بهینه عنصر بور در برگ ۱۰۰-۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم می‌باشد. حد مطلوب و بحرانی عنصر غذایی بور براساس آزمون برگ انگور۱۰۰-۳۰ پی‌پی‌ام است. غلظت‌های بدون آسیب بور در آب آبیاری حدود ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر برای گیاهان حساس (انگور، آووکادو، سیب، لوبیا)، ۲-۱ میلی‌گرم در لیتر برای گیاهان نیمه حساس (یولاف، ذرت، سیب‌زمینی) و ۴-۲ میلی‌گرم در لیتر برای گیاهان مقاوم به سمیت بور (هویج، یونجه، چغندرقند) و ۶-۴ میلی‌گرم در لیتر برای گیاهان با مقاومت بالا مانند گوجه فرنگی ذکر شده است (اورعی و همکاران، ۱۳۹۱). انگور جزء گیاهان حساس به بور تعریف شده به خصوص به سمیت بور که باعث بروز علائم مانند نکروز و کلروز و نیز کاهش رشد و عملکرد فتوسنتزی در آن شده که آستانه تحمل آن بسیار پایین و حدود ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر آب می‌باشد (یرمیاهو و بن گال، ۲۰۰۶).

سمیت بور از طریق وجود طبیعی بور در خاک، استفاده از کودهای معدنی حاوی بور زیاد، خاک‌های حاصل از رسوبات فسیلی یا خاکسترهای آتشفشانی و استفاده از آب آبیاری حاوی درصد بالای بور می‌تواند اتفاق بیافتد (کاماچو-کریستوبال[3] و همکاران، ۲۰۰۸). با وجود اثرات مفید بور بر رشد و نمو گیاهان، سمیت بور می‌تواند باعث کاهش تقسیم سلولی ریشه، جلوگیری از گسترش دیواره سلولی، کم شدن محتوای کلروفیل برگ، کاهش مقدار لیگنین و سوبرین و کاهش رشد ریشه و شاخساره، کلروز، کاهش میزان فتوسنتز و در نهایت کاهش قابل توجه در عملکرد

1. Yermiyahu and Ben-Gal
2. Reid
3. Camacho-Cristobal

محصول گردد (هررا-رودریگوز[1] و همکاران، ۲۰۱۰). رستمی و همکاران (۱۳۹۲) نشان دادند که مقادیر بالای بور با اختلال در فعالیت‌های متابولیکی گیاه زیتون، در جذب عناصر غذایی تأثیر می‌گذارد. اختلال در فرایندهای رشدی و جذب عناصر غذایی در ارقام بادام تحت شرایط سمیت بور (۲۰ میلی‌گرم در لیتر) نیز گزارش شده است (اورعی و همکاران، ۱۳۹۱). تحت شرایط سمیت بور، تجمع گونه‌های فعال اکسیژن افزایش می‌یابد. این گونه‌های فعال اکسیژن اکسیدکننده‌های قوی بوده و به پروتئین‌ها، چربی‌ها و اسیدهای نوکلئیک آسیب رسانده و منجر به مرگ سلول می‌شوند (مولاسیوتیز[2] و همکاران، ۲۰۰۶). گیاهان برای مقابله با آسیب‌های اکسیداتیو از سیستم آنزیمی مانند آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز و سیستم غیرآنزیمی مانند گلوتاتیون و آسکوربات استفاده می‌کنند (میتلر[3] و همکاران، ۲۰۰۴). افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن و آسیب‌های اکسیداتیو در پایه‌های سیب تحت شرایط سمیت بور نشان داده شده است (مولاسیوتیز و همکاران، ۲۰۰۶). الفکی[4] و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که در شرایط سمیت بور میزان پروتئین‌های کل افزایش می‌یابد. نتایج پژوهشگران نشان داده است که بین تنش ناشی از سمیت بور و انباشت اسیدهای آمینه مانند پرولین همبستگی وجود دارد (سرویلا[5] و همکاران، ۲۰۱۲). پرولین علاوه بر تنظیم اسمزی، از طریق حذف انواع گونه‌های فعال اکسیژن در تثبیت موقعیت طبیعی ماکرو مولکول‌ها در شرایط تنش، نقش موثری ایفاء می‌نماید (گونز[6] و همکاران، ۲۰۰۶). اسید سالیسیلیک یکی از هورمون‌های گیاهی و جزء ترکیبات فنلی است که در همه اندام‌های گیاهی وجود دارد و هنگامی که گیاه با تنش‌های زیستی و غیرزیستی مواجه می‌شود، غلظت این هورمون افزایش یافته و تحمل گیاه به تنش‌ها را القاء می‌کند (کایسر[7] و همکاران، ۲۰۱۰). کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک در غلظت‌های مناسب، کارآیی سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاهان را افزایش داده و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز را تغییر می‌دهد و از این طریق تحمل گیاه به تنش‌های زیستی و غیر زیستی را افزایش می‌دهد (کایسر و همکاران، ۲۰۱۰). گونز و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که کاربرد اسید سالیسیلیک باعث افزایش جذب عناصر غذایی و کاهش جذب عناصر سمی توسط گیاه ذرت می‌شود. کاربرد اسید سالیسیلیک در گیاهان اسفناج تحت تأثیر سمیت بور باعث کاهش

1. Herrera –Rodriguez
2. Molassiotis
3. Mittler
4. El-Feky
5. Ceryilla
6. Gunes
7. Qaiser

تجمع پرولین و محتوای مالون دی‌آلدئید و افزایش محتوای کلروفیل و هم‌چنین افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز شده (اراسلان[1] و همکاران، ۲۰۰۸). با توجه به تأثیر سوء سمیت بور در رشد و نمو گیاهان و با توجه به اینکه انگور جزء گیاهان حساس به بور تعریف شده است (یرمیاهو و بن گال، ۲۰۰۶) و اطلاعات کافی در مورد تعدیل سمیت بور در این گیاه وجود ندارد، پژوهش حاضر جهت بررسی تأثیر سمیت بور در انگور رقم بیدانه سفید و تأثیر محلول‌پاشی برگی اسید سالیسیلیک در کاهش اثرات آن طرح‌ریزی و مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و اعمال تیمارها

پژوهش حاضر به صورت آزمایش گلدانی در سال ۱۳۹۳ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه انجام شد. نهال‌های دوساله انگور رقم "بیدانه سفید" در گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانهٔ ۲۲ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۴ سانتی‌متر محتوای محیط کشت پرلیت و ورمیکولیت (به نسبت ۳ به ۱) در فروردین ماه کاشته شدند. گیاهان در گلخانه‌ای با شرایط نوری ۱۶ ساعت طول روز و دمای متغیر بین ۱۶ تا ۳۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۴۰ تا ۶۰ درصد قرار گرفتند. ۴۰ روز پس از کشت نهال‌ها و بعد از طی مراحل سازگاری در شرایط گلخانه، تیمارهای آزمایشی همراه با محلول غذایی (روریسون[2]، ۱۹۶۰) به مدت چهار ماه اعمال گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح آماری بلوک کامل تصادفی با سه تکرار و هر تکرار شامل یک گلدان بود. در این آزمایش بور به صورت منبع اسید بوریک در سه سطح با غلظت‌های (۰/۲(شاهد)، ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر) در محلول غذایی و اسید سالیسیلک با غلظت‌های (صفر و ۱/۵ میلی‌مولار) به صورت محلول‌پاشی برگی هر ۱۵ روز یکبار انجام شد. به منظور استمرار اثرات سمیت بور محلول‌دهی سه روز در میان به میزان (۳۰۰-۲۵۰ میلی‌لیتر) تکرار شد. میزان محلول‌دهی به گونه‌ای تنظیم شده بود که مقداری محلول از ته گلدان خارج گردد. pH محلول‌ها در طول مدت آزمایش در محدوده ۶/۵ تنظیم شد و هفته‌ای یک مرتبه آبشویی کامل محیط ریشه گیاهان با آب معمولی انجام گرفت تا تغییرات EC و pH در اثر آبشویی به حداقل برسد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز

سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با استفاده از روش آپادهیایا[3] و همکاران (۱۹۸۵) انجام شد. فعالیت آنزیم به صورت افزایش در طی یک دقیقه در طول موج ۴۹۰ نانومتر محاسبه شد.

1. Eraslan
2. Rorison
3. Updhyaya

اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدئید

برای اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید از روش هیث و پاکر[1] (۱۹۶۸) استفاده گردید. یک گرم بافت تر توسط ۲/۵ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک اسید ۱۰ درصد خوب ساییده شد. حجم مساوی از عصاره و تیوباربیوتوریک اسید (TBA) ۰/۵ درصد در تری کلرو استیک اسید ۲۰ درصد در داخل لوله آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب جوش ۹۶ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. جذب محلول حاصل توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر قرائت گردید.

اندازه‌گیری میزان پرولین

محتوای پرولین ۰/۵ گرم برگ تر انگور رقم « بیدانه سفید» براساس روش ایریگوین[2] و همکاران (۱۹۹۲) در اتانول ۹۵ درصد و ۷۰ درصد استخراج شد و غلظت پرولین نمونه‌ها با استفاده از نین هیدرین در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (پاکواین و لچاسئور[3]، ۱۹۷۹).

اندازه‌گیری میزان قندهای محلول

محتوای قندهای محلول کل ۰/۵ گرم برگ تر انگور رقم "بیدانه سفید" براساس روش ایریگوین و همکاران (۱۹۹۲) در اتانول ۹۵ درصد و ۷۰ درصد استخراج گردید و با اضافه کردن آنترون تهیه شده، میزان قندهای محلول نمونه‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Unico UV2100pc اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری میزان نشت یونی برگ

تعدادی برگ به قطعه‌های یک سانتی‌متری تقسیم شده و پس از شستشو با آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق ۲۵ درجه سانتی‌گراد در دستگاه شیکر مدل JTSL20 نگهداری شدند و سپس EC_1 قرائت شد. همان نمونه‌ها را در اتوکلاو در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده و پس از خنک کردن محلول و رساندن دمای آن به ۲۵ درجه سانتی‌گراد، EC_2 نیز قرائت شد (لوتس[4] و همکاران ۱۹۹۶).

$$\text{نشت یونی غشاء برگ (٪)} = [EC_1 / EC_2] \times 100$$

اندازه‌گیری میزان پروتئین کل

برای تعیین میزان پروتئین محلول از روش برادفورد[5] (۱۹۷۶) استفاده شد. برای تعیین میزان پروتئین کل، ۱۰۰ میلی‌گرم کومایسی بلو را با ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد حل نموده سپس با اضافه نمودن ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۸۵ درصد به حجم ۱ لیتر رسانیده و از کاغذ صافی عبور داده شد. سپس میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد.

1. Heath and Packer
2. Irigoven
3. Peguim and Lechasseur
4. Lutts
5. Bradford

آنالیز آماری داده‌ها

آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۲ و مقایسات میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری (۱و ۵ درصد) انجام شد.

نتایج و بحث

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز

نتایج حاصله از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که سطوح مختلف بور و اسید سالیسیلیک و اثر متقابل آنها اثر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح بور و اسید سالیسیلیک نشان داد که با افزایش سطوح بور فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز به طور قابل توجهی کاهش یافته در حالیکه کاربرد ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک باعث افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در غلظت‌های ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر بور گردید (شکل۱).

در نتایج پژوهش حاضر مشاهده گردید که فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز با افزایش غلظت بور به طور قابل توجهی کاهش یافت. کاهش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در مطالعات هان[1] و همکاران (۲۰۰۹) در برگ‌های مرکبات تحت تنش بور نیز گزارش شده است. بسته به غلظت و نحوه استفاده، نوع گیاه و مرحله رشدی، گیاهان عکس‌العمل‌های متفاوتی به اسید سالیسیلیک نشان می‌دهند (کایسر و همکاران، ۲۰۱۰). همچنین پژوهش حاضر نشان داد که فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز در نهال‌های انگور رقم «بیدانه سفید» تحت تنش بور با اعمال تیمار اسیدسالیسیلیک افزایش یافت. کاظمی و همکاران (۱۳۸۹) نشان دادند که کاربرد اسید سالیسیلیک در گیاهچه‌های کلزا تحت سمیت نیکل، موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول‌پراکسیداز می‌گردد. تحریک سیستم آنتی اکسیدانی ممکن است به خاطر تحریک سنتز پروتئین توسط اسید سالیسیلیک حاصل شود (میزن[2]، ۲۰۰۴). تأثیر مثبت اسید سالیسیلیک در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در مطالعات پوپوا[3] و همکاران (۲۰۰۸) در شرایط سمیت کادمیم در گیاه ذرت نیز گزارش شده است.

مالون دی آلدئید

سطوح بور اثر معنی‌داری بر میزان مالون دی آلدئید داشت در حالیکه اسید سالیسیلیک و اثر متقابل دو فاکتور معنی‌دار نشد (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین میزان مالون دی آلدئید در غلظت ۳۰ میلی‌گرم در لیتر بور مشاهده شد (شکل ۲). مالون دی‌آلدئید محصول تجزیه اسیدهای چرب غیراشباع است که به عنوان یک بیومارکر برای

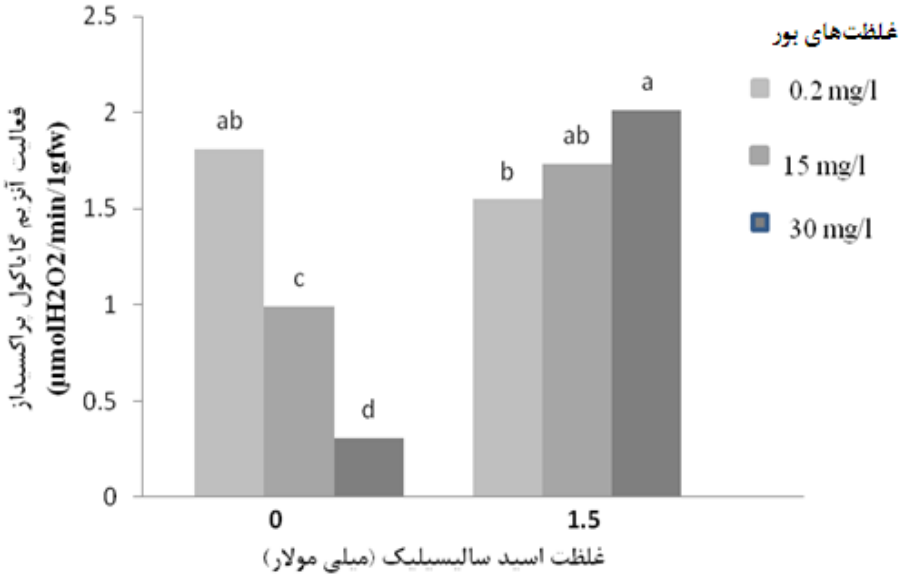
1. Han

2. Mazen
3. Popova

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر بور، اسید سالیسیلیک و اثر متقابل آنها بر برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی انگور رقم بیدانه سفید

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		فعالیت گایاکول پراکسیداز	مالون دی آلدئید	پرولین	قند محلول	نشت یونی	پروتئین کل
بلوک	۲	۰/۰۰۲^{ns}	۰/۰۱^{ns}	۰/۰۰۰۸^{ns}	۳۸/۰۴^{ns}	۴۸/۷۲^{ns}	۰/۰۰۰۰۱^{ns}
بور	۲	۰/۴۱**	۱/۳۷**	۰/۰۴۵**	۵۶/۴۴^{ns}	۴۱۵/۱۰**	۰/۰۰۴۳**
اسید سالیسیلیک	۱	۲/۳۹**	۰/۰۰۵^{ns}	۰/۰۰۰۱^{ns}	۰/۸۰^{ns}	۱۴/۲۴^{ns}	۰/۰۰۰۷**
بور×اسیدسالیسیلیک	۲	۱/۴۵**	۰/۰۱^{ns}	۰/۰۰۰۶^{ns}	۰/۴۰^{ns}	۶/۰۵^{ns}	۰/۰۰۰۰۲^{ns}
اشتباه آزمایشی	۱۰	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۰۰۵	۲۵/۸۶	۱۶/۲۶	۰/۰۰۰۰۳
C.V.		۹/۵۳	۸/۲۰	۱۱/۵۷	۵/۷۲	۷/۲۰	۱۵/۹۴

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد می‌باشد.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل اسید سالیسیلیک و غلظت بور بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در انگور بیدانه سفید. ستون‌های دارای حرف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشند.

پراکسیداسیون لیپیدی که ممکن است در حضور گونه‌های فعال اکسیژن رخ دهد، استفاده می‌شود و یکی از ساده‌ترین نشانه‌های تنش اکسیداتیو در موجودات زنده است (لیانگ[1] و همکاران، ۲۰۰۳).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش غلظت بور میزان مالون دی آلدئید در برگ‌ها به شدت افزایش یافت. افزایش در میزان مالون دی‌آلدئید در برگ‌های

1. Liang

سایر ارقام انگور تحت سمیت بور توسط گونز و همکاران (۲۰۰۶) نیز گزارش شده است. تیمار با غلظت‌های بالای بور در گلابی باعث افزایش غلظت مالون دی‌آلدئید گردید. این افزایش در غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ و ۵۰۰ میلی‌مول در لیتر بور به ترتیب برابر با ۱۰/۰۳، ۶۷/۸۲، ۱۳۳/۰۹ میکرومول در لیتر بود (وانگ[1] و همکاران، ۲۰۱۱). با وجود اینکه براساس نتایج (جدول ۱) اسید سالیسیلیک تأثیر معنی‌داری بر میزان مالون دی‌آلدئید برگ‌های انگور «بیدانه سفید» تحت تنش بور نداشت ولی باعث کاهش محتوای مالون دی‌آلدئید شد که می‌تواند بیانگر نقش حفاظتی اسید سالیسیلیک بر غشاهای سلولی باشد (نتایج نشان داده نشده است).

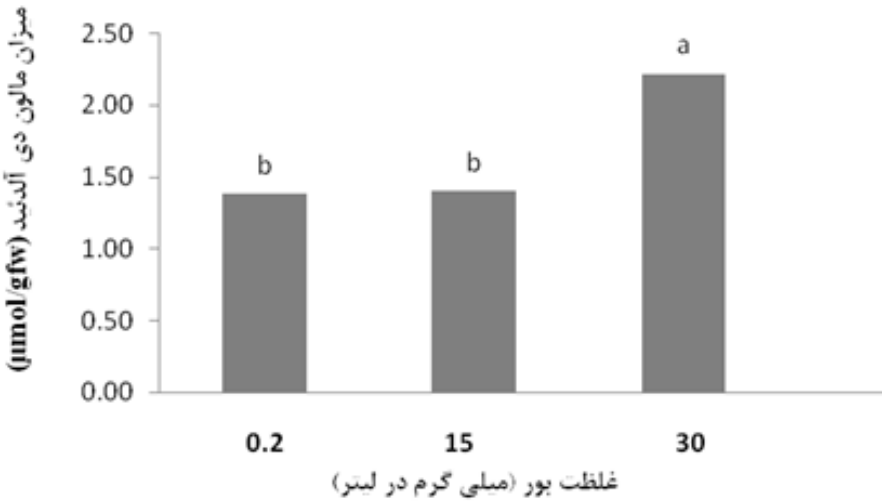
میزان پرولین

سطوح مختلف بور بر میزان پرولین معنی‌دار بود (جدول ۱). در تیمار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر بور بیشترین میزان پرولین مشاهده شد (شکل ۳). بین بور و تنش ناشی از سمیت آن در انباشت اسیدهای آمینه-ای مانند پرولین رابطه وجود دارد که اظهار شده افزایش پرولین به صورت مستقیم نتیجه‌ی تنش ایجاد شده به وسیله‌ی غلظت‌های سمی آن می‌باشد (سرویلا و همکاران، ۲۰۱۲). افزایش غلظت بور در محلول غذایی تا سطح ۱۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش معنی‌دار محتوای پرولین ترکیبات پایه- پیوندک بادام شده و در غلظت بالاتر تغییر معنی‌داری نداشته است (اورعی و همکاران، ۱۳۹۱). در درون سلول‌های گیاهی پرولین به عنوان ماده حفظ تعادل اسمزی بین سیتوپلاسم و واکوئل عمل می‌کند، کاهش مصرف پرولین جهت سنتز پروتئین در طی تنش ممکن است دلیل احتمالی تجمع پرولین باشد (سعادتمند و انتشاری، ۱۳۹۱).

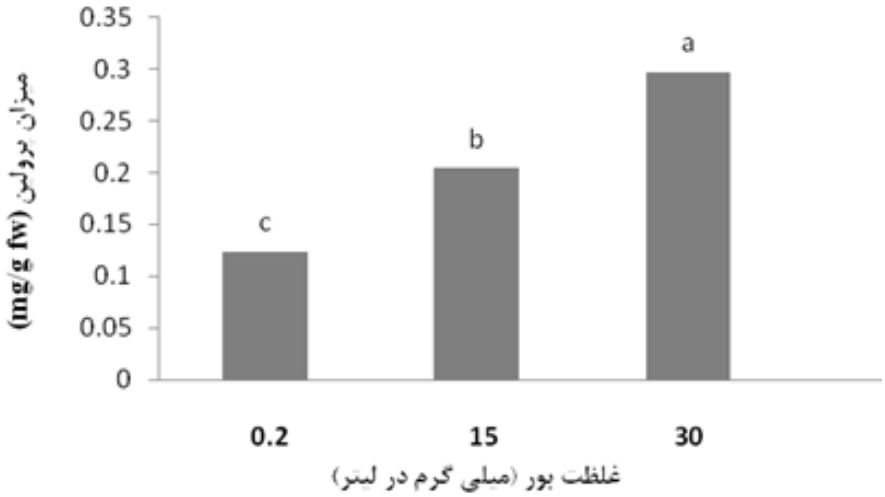
میزان قندهای محلول

نتایج حاصله از تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که سطوح بور و اسید سالیسیلیک و اثرات متقابل آنها اثر معنی‌داری بر محتوای قندهای محلول نداشت. قندهای محلول گروه دیگری از اسمولیت‌های سازگار هستند که تجمع آن در گیاهان در پاسخ به تنش بور گزارش گردیده است. در شرایط تنش به دلیل کاهش انتقال قندها در آوندهای آبکش و کاهش مصرف آن‌ها در اندام‌های مصرف کننده، سنتز این ترکیبات از مسیر غیر فتوسنتزی، توقف رشد و همچنین تخریب قندهای نامحلول، میزان قندها در سلول‌های برگ افزایش می‌یابد (جلیلی‌مرندی، ۱۳۸۹؛ حاجبی و حیدری‌شریف‌آباد، ۲۰۰۵). در نتایج پژوهش حاضر مشخص شد که با افزایش غلظت بور محتوای قند محلول افزایش یافت ولی تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های بور مشاهده نشد. با وجود اینکه اسید سالیسیلیک از نظر آماری تأثیر معنی‌داری بر محتوای قند محلول نداشت ولی محلول‌پاشی بوته‌های انگور با

1. Wang



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر ساده غلظت‌های مختلف بور بر میزان مالون دی‌الدئید در انگور رقم بیدانه سفید. ستون‌های دارای حرف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشند.



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر ساده غلظت بور بر میزان پرولین در انگور رقم بیدانه سفید. ستون‌های دارای حرف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشند.

اسید سالیسیلیک، غلظت کربوهیدرات محلول برگ را نسبت به گیاه شاهد افزایش داد. نشان داده شده است که اسید سالیسیلیک سبب تحریک هیدرولیز کربوهیدرات‌ها می‌شود و با افزایش ترکیباتی مانند قندهای محلول ضمن ایجاد یک منبع اسمزی سبب کاهش خسارت تنش می‌شود. باغبان‌ها و همکاران (۱۳۸۶) با تحقیق روی نهال‌های لیموآب گزارش کردند که کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۵

میلی‌مولار باعث تجمع قندهای محلول در برگ نهال‌های لیموآب می‌گردد.

میزان نشت یونی برگ

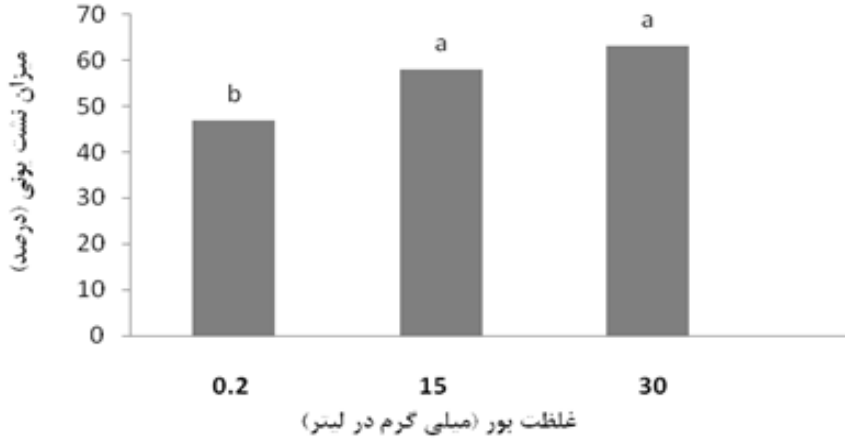
براساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) سطوح بور اثر معنی‌داری بر میزان نشت یونی در برگ‌های انگور رقم بیدانه سفید داشت. بیشترین میزان نشت یونی در غلظت ۳۰ میلی‌گرم در لیتر بور مشاهده شد (شکل ۴). تحت تنش بور تولید و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن، مانند رادیکال‌های سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل افزایش می‌یابد (میتلر و همکاران، ۲۰۰۲) این ترکیبات به بسیاری از ترکیبات سلولی نظیر چربی‌ها، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و اسیدهای نوکلئیک صدمه می‌زنند و با تغییر ساختمان غشاء در اثر پراکسیداسیون چربی‌ها و پروتئین‌ها، تراوایی غشای سلولی را افزایش می‌دهند که منجر به نشت الکترولیت‌های موجود در داخل سلول به سمت بیرون می‌شود و در نتیجه رشد گیاه تحت تأثیر قرار می‌گیرد (لیانگ و همکاران، ۲۰۰۳). افزایش نشت الکترولیت در دو رقم زیتون (کنسروالیا و مانزالینا) با افزایش غلظت بور توسط رستمی و همکاران (۱۳۹۲) نیز گزارش شده است. اسید سالیسیلیک از نظر آماری تأثیر معنی‌داری بر میزان نشت یونی نداشت ولی باعث کاهش محتوای نشت یونی شد که نشان دهنده نقش آن در حفاظت در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش بور می‌باشد.

میزان پروتئین کل

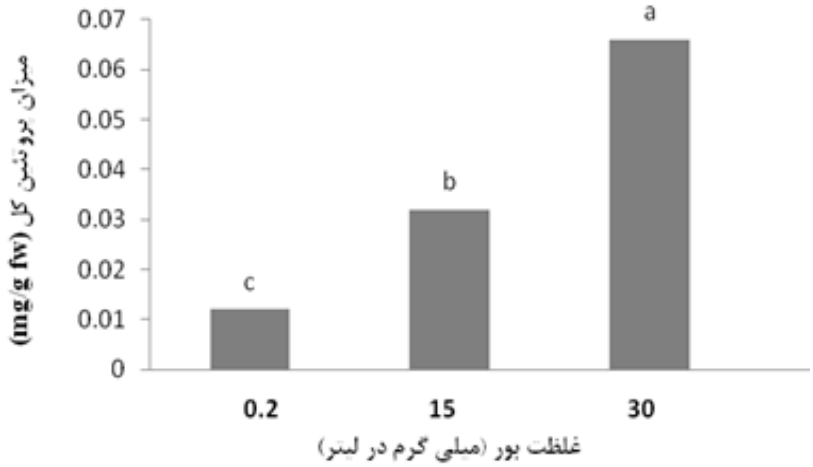
نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که سطوح بور و اسید سالیسیلیک تاثیر معنی‌داری بر محتوای پروتئین کل داشتند. با افزایش غلظت بور میزان پرتئین کل به طور معنی داری افزایش یافت (شکل ۵). همچنین غلظت ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک باعث افزایش محتوای پروتئین کل در برگ انگور رقم "بیدانه سفید" نسبت به شاهد گردید (شکل ۶).

افزایش محتوای پروتئین کل تحت تنش بور در نتیجه کاهش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئین و افزایش سنتز پروتئین، واکنش پروتئین با رادیکال‌های آزاد و در نتیجه تغییر اسید آمینه مرتبط می‌باشد (پاپاداکیس[1] و همکاران، ۲۰۰۴). نقش اسید سالیسیلک در مقابله با آسیب ناشی از تنش بور با تجمع پروتئین‌های محلول کل مشهود است. گزارش شده است که اسید سالیسیلیک با افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز باعث افزایش ازت و پروتئین در گیاه می‌گردد (سینگ و یوشا[2]، ۲۰۰۳). ال- تایب[3] (۲۰۰۵) گزارش کرد که محتوای پروتئین محلول و اسیدهای آمینه آزاد در اندام هوایی گیاهچه‌های جو در شرایط تنش کاهش یافت که با نتایج ما مطابقت ندارد. اسید سالیسیلیک سبب افزایش آنزیم‌های آنتی

1. Papadakis
2. Singh and Usha
3. El-Tayeb



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر ساده غلظت‌های مختلف بور بر میزان نشت یونی در انگور رقم بیدانه سفید. ستون‌های دارای حرف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشند.



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر ساده غلظت‌های مختلف بور بر میزان پروتئین کل در انگور رقم بیدانه سفید. ستون‌های دارای حرف مشترک براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشند.

اکسیدانی می‌گردد (هایات و احمد[1]، ۲۰۰۷). بنابراین در این پژوهش تأثیر اسید سالیسیلیک (غلظت ۱/۵ میلی‌مولار) در افزایش مقدار پروتئین‌ها را می‌توان به تغییر مقدار آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نیز نسبت داد.

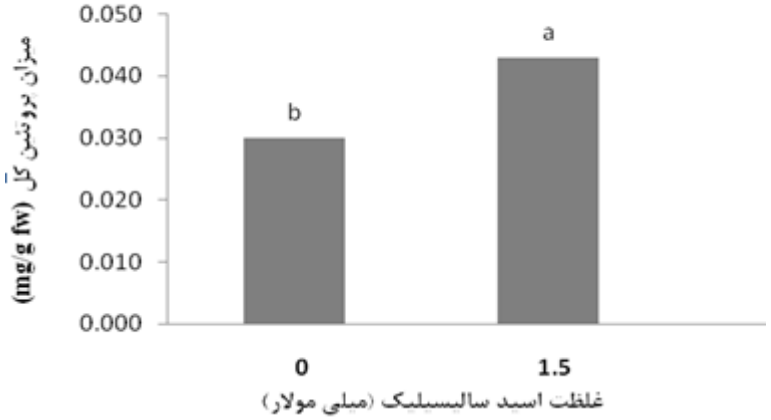
نتیجه گیری کلی

براساس نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر مشخص شد که سمیت بور با افزایش میزان نشت الکترولیتی و مقدار مالون دی آلدئید و کاهش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز باعث تخریب غشاهای سلولی

1. Hayat and Ahmad

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز منجر به تعدیل آسیب اکسیداتیو می‌شود.

می‌گردد. کاربرد ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک احتمالاً با تغییر استراتژی گیاه در انتقال عناصر به بخش هوایی و با افزایش محتوای پروتئین کل و میزان



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر ساده غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک بر میزان پروتئین کل در انگور رقم بیدانه سفید. ستون-های دارای حرف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشند.

منابع

اسماعیلی، م. و رحمانی، م. ۱۳۹۱. اصول تغذیه صحیح در باغات انگور. سازمان جهاد کشاورزی استان قزوین. ۳۹-۱.

اورعی، م.، طباطبایی، س ج.، فلاحی، ا.، ایمانی، ع. و سیدلر فاطمی، س. ۱۳۹۱. اثرات سمیت بور بر رشد رویشی، خصوصیات فیزیولوژیکی و توزیع بور در دو ترکیب پایه- پیوندک درخت بادام. نشریه علوم باغبانی، ۲۶ (۴): ۴۴۷-۴۴۰.

باغبان‌ها، م.، فتوحی قزوینی، ر.، حاتم زاده، ع. و حیدری، م. ۱۳۸۶. اثر اسید سالیسیلیک بر تحمل تنش یخ زدگی دانهال‌های لیموآب شیراز. مجله علوم و فنون باغبانی ایران، ۸ (۳): ۱۹۸-۱۸۵.

جلیلی مرندی، ر. ۱۳۸۶. میوه‌های ریز. انتشارات جهاد دانشگاهی واحد آذربایجان‌غربی. ۲۹۷ صفحه.

جلیلی‌مرندی، ر. ۱۳۸۹. فیزیولوژی تنش‌های محیطی و مکانیسم‌های مقاومت در گیاهان باغی (درختان میوه، سبزی ها، گیاهان زینتی و گیاهان دارویی). جلد اول. انتشارات جهاد دانشگاهی ارومیه. ۶۳۶ صفحه.

حاجبی، ع. و حیدری شریف آباد، ح. ۱۳۸۴. بررسی تاثیر خشکی بر روی رشد و گره زایی سه گونه شبدر. پژوهش و سازندگی، ۶۶: ۲۲- ۱۳.

رستمی، ح.، طباطبایی، س ج.، زارع نهندی، ف. و حاجی لو، ج. ۱۳۹۲. اثرات غلظت‌های بور (B) بر برخی خصوصیات رویشی و فیزیولوژیکی زیتون. نشریه علوم باغبانی، ۲۷ (۱): ۲۶-۱۸.

سعادتمند، م. و انتشاری، ش. ۱۳۹۱. اثر طول زمان پیش تیمار با سیلیکون بر تحمل شوری در گیاه گاوزبان ایرانی (*Echium amoenum* Fisch & C.A. mey). علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای، ۱۲: ۵۶-۴۵.

طباطبائی، س ج. ۱۳۸۸. اصول تغذیه معدنی گیاهان. انتشارات خوارزمی. تبریز. ایران.

کاظمی، ن.، خاوری نژاد، ر.، فهیمی، ح.، سعادتمند، س. و نژاد ستاری، ط. ۱۳۸۹. تاثیر سالیسیلیک اسید برون‌زا بر پراکسیداسیون لیپید و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در برگ‌های گیاهان کلزا تحت تنش نیکل. فصلنامه علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، ۳ (۳): ۸۰-۷۱.

Aebi, H. 1984. Catalase in Vitro. Methods in Enzymology, 105: 121-126.

Asada, K. 1992. Ascorbate peroxidase and hydrogen peroxide scavenging enzyme in Plants. Physiology Plantarum, 85(2): 235-241.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye Bandung. Analytical biochemistry, 72: 248-254.

Camacho-Cristobal, J.J., Rexach, J. and Gonzalez-Fontes, A. 2008. Boron in plants deficiency and toxicity. Plant Biology, 50: 1247-1255.

Cervilla, L.M., Blasco, B., Rios, J.J., Rosales, M.A. and Sanchez-Rodriguez, E. 2012. Parameters symptomatic for boron toxicity in leaves of tomato plants. Journal of Botany, 2012: 1-17.

El-Feky, S.S., El-Shintinawy, F.A. and Shaker, E.M. 2014. Role of $CaCl_2$ and salicylic acid on metabolic activities and productivity of boron stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). International Journal of Current Microbiology and Applied Scinces, 3(2): 368-380.

El- Tayeb, M.A. 2005. Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regulation, 45: 215-225.

Eraslan, F., Inal, A., Pilbeam, D. J. and 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.

Gunes, A., Inal, A., Alpaslan, M., Cicek, N., Eraslan, F. and Guzelordu, T. 2005. Effects of exogenously applied salicylic acid on the induction of multiple stress tolerance and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.). Archives of Agronomy and Soil Science, 51: 687–695.

Gunes, A., Soylemezoglu, G., Inal, A.E.G., Bagci, E.G. and Coban, S. 2006. Antioxidant and stomatal responses of grapevine (*Vitis vinifera* L.) to boron toxicity. Scientia Horticulturae, 110: 279-284.

Han, S., Tang, N., Jiang, H.X., Yang, L.T, Li, Y. and Chen, L.S. 2009. CO_2 assimilation, photosystem II photochemistry, carbohydrate metabolism and antioxidant system of citrus leaves in response to boron stress. Plant Science, 176: 143-153.

Hayat, S. and Ahmad, A. 2007. Salicylic acid - a plant hormone. Plant Physiology, 91–150.

Heath, R.L. and Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. Archives Biochemistry Biophysics, 125: 850-857.

Herrera – Rodriguez, M.B., Gonzalez-Fontes, A., Rexach, J., Camacho- Cristobal, J.J., Maldonado, J. and Navarro- Gochicoa, M.T. 2010. Role of boron in vascular plants and response mechanisms to boron stresses. Plant Stress, 4(2): 115-122.

Irigoyen, J.J., Emerich, D.W. and Sanchez –Diaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of prolin and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Plant Physiology, 84: 55-60.

Liang, Y., Chen, Q., Liu, Q., Zhang, W. and Ding, R. 2003. Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). Journal of Plant Physiology, 160: 1157–1164.

Lutts, S., Kinet, J.M. and Bouharmont, J. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice cultivar differing in salinity resistance. Annals of Botany, 78: 389-398.

Mazen, A. 2004. Accumulation of four metals in tissues of *Corchorus olitorius* and possible mechanisms of their tolerance. Biologia Plantarum, 48(2): 267-272.

Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science, 7(9): 405-410.

Molassiotis, A., Sotiropoulos, T., Tanou, G., Diamantidis, G. and Therios, I. 2006. Boron induced oxidative damage and antioxidant and nucleolytic responses in shoot tips culture of the apple rootstock EM9 (*Malus domestica* Borkh). Environmental and Experimental Botany, 56: 54-62.

Papadakis, E.I., Dimassi, K.N., Bosabalidis, A.M., Therios, I.N., Patakas, A. and Giannakoula, A. 2004. Boron toxicity in 'Clementine' mandarin plants grafted on two rootstocks. Plant Science, 166: 539- 547.

Paquin, R. and Lechasseur, P. 1979. Observations sur une methode de dosage de la proline libre dans les extraits plants. Canadian Journal of Botany, 57: 1851-1854.

Popova, L., Krante, A., Yordanova, R. and Janda, T. 2008. Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. Journal of Plant Physiology, 165: 920-931.

Qaiser, H., Shamsul, H., Mohd, I. and Aqil, A. 2010. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment. Environmental and Experimental Botany, 68: 14-25.

Reid, R.J., Hayes, J.E., Post, A., Stangoulis, J.C.R. and Graham, R.D. 2004. A critical analysis of the cause of boron toxicity in plants. Plant, Cell and Environment, 25: 1405- 1414.

Rorison, I.H. 1960b. The effects of mineral nutrition in seedling growth in the field. Journal of Ecology, 48: 679-688.

Singh, B. and Usha, K. (2003). Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. Plant Growth Regulation, 39: 137-141.

Updhyaya, A., Sankhla, D., Davis, T.D., Sankhla, N. and Smidth, B.N. 1985. Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. Journal of Plant Physiology, 121: 453-461.

Wang, J.Z., Tao, S.T., Qi, K.J., Wu, J. and Wu, H.Q. 2011. Changes in photosynthetic properties and antioxidative system of pear leaves to boron toxicity. African Journal of Biotechnology, 10: 19693-19700.

Yermiyahu, U. and Ben-Gal, A. 2006. Boron toxicity in grapevine. Horticultural Science, 41(7): 1698-1703.

Effect of foliar application of salicylic acid on physiological and biochemical traits in grape (*Vitis vinifera* cv. Bidaneh Sefid) under boron toxicity

S. Nezamdoost[1], A. Farokhzad*[2] and M.H. Rasouli Sadaghiani[3]

1. Former M. Sc. student, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia
2. Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia
3. Associate Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia

(Received: 12, March. 2016 - Accepted: 24, May. 2016)

Abstract

In order to study the effect of foliar application of salicylic acid on Bidaneh Sefid grape cultivar under boron toxicity, a randomized complete block design experiment with three replications. Was conducted two year saplings of grape (Bidaneh Sefid cultivar) were treated for three months with different concentrations of boric acid (application with nutrient solution) (at 0.2 (control), 15, 30 mg/L) and Salicylic acid (foliar application) (at 0, 1.5 mM). The results of this experiment showed that contents of malondialdehyde (MDA), proline, electrolyte leakage and total protein content were increased in saplings treated with boron. The electrolyte leakage was increased to 63.16% at a concentration of 30 mg/l of boron. With increase in boron toxicity, guaiacol peroxidase enzyme activity was reduced. Saplings spraying, saplings with salicylic acid increased the antioxidative enzyme activity. The findings of this study suggest that boron toxicity can increase oxidative damage and foliar application with salicylic acid may reduce oxidative damage caused by the boron stress in Bidaneh sefid grape cultivar

Keywords: Malondialdehyde, Oxidative stress, Proline, Total protein

* Corresponding author: E-mail: a.farokhzad@urmia.ac.ir