

بررسی اثر اسیدسالیسیلیک بر صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه سویا

(*Glycine max* L.) در شرایط تنش خشکی

طناز کلالی^۱، مهرداد لاهوتی^۲ و هما محمودزاده^{۳*}

(۱) دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.

(۲) استاد گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.

(۳) دانشیار گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.

* نویسنده مسئول: Homa_mahmoodzadeh@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۱/۲۷

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۲۱

چکیده

اسیدسالیسیلیک در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف و رشد و نمو گیاه نقش دارد. در پژوهش حاضر اثر اسیدسالیسیلیک بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه سویا در شرایط تنش خشکی به صورت فاکتوریل در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی در سه تکرار بررسی شد. بذرهاى سویا در گلدان‌های حاوی خاک زراعی کاشته شدند و پس از مرحله چهار برگه تحت تیمارهای مختلف تنش خشکی (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد نسبت نیاز آبی) و اسپری اسیدسالیسیلیک (صفر، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار) قرار گرفتند. نتایج حاصل نشان داد که اثر تنش خشکی بر تمامی پارامترهای اندازه‌گیری شده به جز قند محلول بخش هوایی معنی‌دار بود. همچنین برهمکنش اسیدسالیسیلیک و تنش خشکی، بر تمامی صفات اندازه‌گیری شده به جز طول بخش هوایی، میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئید و فعالیت آنزیم پراکسیداز از نظر آماری معنی‌دار بود. غلظت‌های یک و دو میلی‌مولار اسیدسالیسیلیک موجب بهبود صفات اندازه‌گیری شده در گیاهان در شرایط تنش خشکی ۷۵ درصد شدند.

واژه‌های کلیدی: آنزیم پراکسیداز، پرولین، قندهای محلول و نامحلول.

مقدمه

اسیدسالیسیلیک (SA) یا اسیداورتوهیدروکسی بنزوئیک ($C_2H_6O_3$) یک ترکیب فنلی است و به وسیله سلول‌های ریشه تولید می‌شود و نقش محوری در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف مثل رشد و نمو گیاه، جذب یون‌ها، فتوسنتز و جوانه‌زنی ایفا می‌کند. یکی از مشتقات اسیدسالیسیلیک، اسیداستیل‌سالیسیلیک می‌باشد که پس از جذب سریعاً به اسیدسالیسیلیک تبدیل می‌شود (El-Tayeb, 2005; Popova *et al.*, 1997; Raskin, 1992). اسیدسالیسیلیک گسترش، تقسیم و مرگ سلولی را تنظیم کرده و در واقع بین رشد و پیری تعادل ایجاد می‌نماید، باعث تحریک جوانه‌زنی بذر می‌شود و مولکول واسطه‌ای مهم جهت واکنش گیاهان در برابر تنش‌های محیطی است (Senaranta *et al.*, 2002; Raskin, 1992; Popova *et al.*, 1997). خشکی به عنوان مهم‌ترین فاکتور محدودکننده غیرزنده رشد و عملکرد گیاهان محسوب می‌شود (Cheong *et al.*, 2003). تنش خشکی به منزله کمبود آب در گیاه بوده، این وضعیت هنگامی ایجاد می‌شود که میزان تعرق از میزان جذب آب بیش‌تر باشد (Bray, 1997). مطالعات انجام شده توسط Sakhabutdinova و همکاران (۲۰۰۳) نشان داد که تیمار گیاه گندم با اسیدسالیسیلیک، اثر مهاری القا شده توسط تنش خشکی روی پارامترهای رشدی را از طریق افزایش سطح هورمون‌های ABA و IAA کاهش می‌دهد. گیاهان به تنش خشکی در سطح سلولی و مولکولی پاسخ می‌دهند، این پاسخ به گونه و ژنوتیپ گیاه، طول دوره و شدت کمبود آب و سن و مرحله نمو گیاه بستگی دارد (Zhou *et al.*, 2009; Rampino *et al.*, 2006; Araus *et al.*, 2001). تنش خشکی سبب افزایش بیان آنزیم‌های سنتزکننده پرولین و کاهش فعالیت آنزیم‌های تخریب پرولین باعث افزایش میزان پرولین گیاه می‌شود (Serraj and Sinclair, 2002; Zhang *et al.*, 1999). قندهای محلول گروهی از اسمولیت‌های سازگارند که در شرایط تنش خشکی تجمع یافته و به عنوان عامل اسمزی عمل می‌کنند و سبب تنظیم اسمزی و نگهداری تورژسانس سلولی و افزایش پایداری غشاها می‌شوند (Bohnert *et al.*, 1995). در تحقیق حاضر اثر اسیدسالیسیلیک بر رشد رویشی گیاه سویا در شرایط تنش خشکی بررسی شد. با توجه به اهمیت تنش خشکی در گیاهان زراعی همچون سویا، که دارای ارزش غذایی بالایی است، بررسی اثر عوامل مختلف نظیر هورمون‌های گیاهی جهت افزایش تحمل گیاه در شرایط تنش ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش

این پژوهش در سال ۱۳۹۳ و به منظور بررسی اثر اسیدسالیسیلیک بر ویژگی‌های مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه سویا (*Glycine max* L.) تحت تنش خشکی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار در فیتوترون دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد انجام شد. عوامل آزمایش شامل غلظت‌های مختلف اسیدسالیسیلیک در

چهار سطح شامل (صفر، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی مولار) و تنش خشکی در چهار سطح شامل (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد نسبت نیاز آبی) بود. هر واحد آزمایش شامل یک عدد گلدان یک کیلوگرمی حاوی خاک زراعی بود. گلدان‌ها در ابتدا آبیاری گردیدند و پس از گذشت سه روز و اطمینان از خروج آب اضافی تعداد ۱۲ عدد بذر در هر یک از آن‌ها کشت گردید. پس از حصول اطمینان از جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه اقدام به تنک گیاهچه‌های اضافی شد و در هر گلدان تعداد هشت گیاهچه جهت اعمال تیمارهای آزمایش باقی گذاشته شد. اعمال تنش خشکی از این مرحله و بر اساس تیمارهای تعیین شده، انجام شد. تنش خشکی به آب به صورت توزین روزانه (FC) ۵۰،۲۵ و ۷۵ درصد ظرفیت زراعی گلدان‌ها با ترازو اعمال گردید. سپس در مرحله چهار برگی غلظت‌های مختلف اسیدسالیسیلیک به صورت اسپری برگی بر روی گیاهچه‌ها اعمال و این عمل دو هفته بعد مجدداً تکرار شد. سپس گیاهان برداشت شدند و با دقت با آب مقطر شستشو شدند و برخی صفات مورفولوژیکی شامل وزن تر و خشک بخش هوایی توسط ترازوی آزمایشگاهی مدل Sartorius TE214S با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم انجام و سپس طول ساقه و ریشه با خط کش میلی‌متری اندازه‌گیری شد. صفات فیزیولوژیکی شامل میزان کلروفیل و کاروتنوئید کل برگ و صفات بیوشیمیایی شامل میزان پرولین برگ، فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ و میزان فنل‌های محلول نامحلول (نشاسته) برگ و ریشه محاسبه شد.

سنجش کلروفیل

۰/۲ گرم از بافت برگ را با استن ۸۰ درصد به تدریج ساییده تا کلروفیل وارد محلول استنی شده و در نهایت حجم محلول با استن هشت درصد توسط بالن ژوژه به ۲۵ میلی‌لیتر رسید. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ و سپس جذب نوری در طول موج‌های ۶۴۶، ۶۵۲، ۶۶۳ و ۴۴۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر مدل UV۱۱۰۰ اندازه‌گیری شد. مقدار کلروفیل طبق فرمول‌های Arnon و Mackinney به ترتیب برای تخمین میزان کلروفیل a ، b ، $a+b$ و کاروتنوئید به دست آمد (Arnon, 1956; Mackinney, 1941):

$$\text{Chla}(\text{mg/gFW}) = (12.25A(663) - 2.55A(646)) \times V/W \times 1000$$

$$\text{Chlb}(\text{mg/gFW}) = (22.31A(646) - 4.91A(663)) \times V/W \times 1000$$

$$\text{Chl } a + b (\text{mg/gFW}) = (17.76A(646) + 7.34(663)) \times V/W \times 1000$$

$$\text{Car}(\text{mg/gFW}) = (4.96(440) - 0.267(\text{chl}a + b)) \times V/W \times 1000$$

سنجش پرولین

۰/۵ گرم از بافت برگ در ۱۰ میلی‌لیتر محلول اسیدسولفوسالیسیلیک سه درصد به وسیله هاون، هموزن شده و عصاره حاصل صاف گردید. دو میلی‌لیتر اسیداستیک و دو میلی‌لیتر ناین هیدرین به دو میلی‌متر از عصاره صاف شده فوق، اضافه شد. محلول حاصل به مدت یک ساعت در حمام آب و در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. پس از آن برای پایان

یافتن واکنش، لوله‌های آزمایش در داخل یک بستر یخی قرار گرفته و چهار میلی‌لیتر تولوئن به هر لوله اضافه گردید. غلظت پرولین نمونه‌ها در تولوئن با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل UV۱۱۰۰ در طول موج ۵۲۰ نانومتر و در نهایت با توجه به منحنی استاندارد حاصل از غلظت‌های مختلف پرولین، برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر به روش Bates (۱۹۷۳) محاسبه شد.

سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز

برای سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز از بافت تازه برگ‌ی به مقدار ۰/۱ گرم استفاده شد و سنجش به روش Mae-Adam و Nelson (۱۹۹۲) انجام شد. به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم به عصاره آنزیم سه میلی‌لیتر محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH ۶/۸ و ۵۰ میکرولیتر گایاکول و سپس ۵۰ میکرولیتر هیدروژن پراکسید سه درصد اضافه شد و بلافاصله تغییرات جذب نوری در طول موج ۴۳۶ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل UV۱۱۰۰ در فواصل زمانی ۱۵ ثانیه به مدت سه دقیقه ثبت گردید.

سنجش قندهای محلول ریشه و برگ

برای سنجش قندهای محلول (گلوکز) ریشه و برگ، روی ۰/۱ گرم از بافت خشک اندام‌ها به‌طور جداگانه ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد اضافه و مدت یک هفته در یخچال نگهداری شدند، پس از آن از محلول رویی نمونه‌ها برای برگ ۰/۵ میلی‌لیتر و ریشه یک میلی‌لیتر برداشته و به حجم دو میلی‌لیتر رسانده و سپس یک میلی‌لیتر فنل پنج درصد و پنج میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ به آن اضافه گردید. شدت رنگ محلول زرد به‌دست آمده را با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل UV۱۱۰۰ در طول موج ۴۸۵ نانومتر خوانده و مقادیر قند نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن خشک ارزیابی شد (خاوری‌نژاد و نجفی، ۱۳۷۸).

سنجش قندهای نامحلول ریشه و برگ

برای سنجش قندهای نامحلول (نشاسته) ریشه و برگ، از رسوب صاف شده اتانول که در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شده و وزن آن با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم ثبت گردید، استفاده شد. نمونه به‌دست آمده را داخل لوله آزمایش ریخته و به آن ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه کرده و به مدت ۱۵ دقیقه در بن ماری قرار داده شد. پس از سرد شدن محلول را با کاغذ صافی واتمن صاف کرده، حجم آن را با آب مقطر به ۲۵ میلی‌لیتر رسانده و در نهایت دو میلی‌لیتر از محلول برداشت شد و قندهای نامحلول آن به روش فنل سولفوریک اسید با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل UV۱۱۰۰ در طول موج ۴۸۵ نانومتر، که نشانگر غلظت نشاسته است، ثبت گردید (خاوری‌نژاد و نجفی، ۱۳۷۸).

تجزیه و تحلیل آماری

برای انجام تجزیه آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شد.

نتایج و بحث

اثر خشکی و اسیدسالیسیلیک بر صفات مورفولوژیکی سویا

نتایج جدول ۱ نشان داد که تنش خشکی و اسیدسالیسیلیک اثر معنی‌داری بر صفات مورفولوژیکی گیاه سویا شامل طول بخش هوایی و ریشه و وزن تر و خشک بخش هوایی داشتند. برهمکنش خشکی و اسیدسالیسیلیک تنها بر طول بخش هوایی اثر معنی‌داری نداشت و در سایر موارد معنی‌دار بود.

جدول ۱: میانگین مربعات مربوط به صفات مورفولوژیکی اندازه‌گیری شده در سویا در شرایط تنش خشکی و

اسیدسالیسیلیک

منابع تغییرات	درجه آزادی	طول بخش هوایی	طول ریشه	وزن تر بخش هوایی	وزن خشک بخش هوایی
خشکی	۳	۲۷۲۶/۶۰۷*	۱۱/۹۶*	۱/۹۴۶*	۱/۲۷۱*
اسیدسالیسیلیک	۳	۴۱۷/۴۶۴*	۱۱/۹۹۱*	۰/۴۹۸*	۰/۳۳۰*
اسیدسالیسیلیک × خشکی	۹	۱۹۱/۷۷۰ ^{ns}	۱/۲۸۳*	۰/۵۴*	۰/۰۵۳*
خطای آزمایش	۴۸	۱۳۲/۶۷۸	۳/۵۳	۰/۱۴	۰/۰۱۳
ضریب تغییرات (درصد)	-	۲۳.۲	۲۱.۰۵	۲۵.۰۷	۲۰.۱۲

ns، * و **: به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد و بر اساس آزمون دانکن می‌باشند.

همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود تیمارهای خشکی (۵۰ و ۷۵ درصد) سبب کاهش معنی‌دار طول ساقه در مقایسه با شاهد شدند. افزودن غلظت‌های مختلف اسیدسالیسیلیک اگرچه باعث افزایش طول ساقه در گیاهان تحت تیمار خشکی شد، اما این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. طول ریشه گیاه در تیمارهای ۲۵ و ۵۰ درصد خشکی نسبت به شاهد کاهش نشان داد که اما در تیمار (۷۵ درصد) افزایش یافت که از نظر آماری معنی‌دار نبود. تنها افزودن اسیدسالیسیلیک با غلظت دو میلی‌مولار به تیمار ۲۵ درصد خشکی موجب افزایش معنی‌دار طول ریشه در مقایسه با گیاه در شرایط تنش خشکی گردید.

کمبود آب در توسعه سیستم رشدی اثرگذار است و وضعیت سیستم رشدی در گونه‌های مختلف گیاهی به‌عنوان معیاری جهت تعیین تحمل به خشکی و پتانسیل تولید در شرایط تنش است. در گیاهان مختلف برای مقابله با خشکی، سیستم ریشه‌ای آن‌ها گسترش می‌یابد تا گیاه بتواند آب بیش‌تری را از خاک جذب نماید. افزایش رشد ریشه‌ای برای مقابله با کمبود آب مشاهده می‌شود که احتمالاً طول ریشه اثر مهمی در عملکرد حیات گیاه دارد و گیاهان ریشه‌هایشان را در قسمت‌های عمیق‌تر خاک که رطوبت بیش‌تری دارد، گسترش می‌دهند. گزارش شده است که کاهش ارتفاع گیاه در شرایط تنش خشکی ناشی از کاهش تقسیم و گسترش سلولی می‌باشد (White and Castille, 1989). افزایش معنی‌دار

طول ریشه در مقایسه با گیاه در شرایط تنش خشکی در تیمار دو میلی مولار اسیدسالیسیلیک به این دلیل است که اسیدسالیسیلیک تقسیم سلولی را درون مرستم راسی گیاهچه افزایش می دهد و از این طریق رشد گیاه را بهبود می بخشد.

تیمارهای خشکی (۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد) باعث کاهش معنی دار وزن تر و خشک بخش هوایی گیاهان سویا در مقایسه با شاهد شدند. اضافه کردن غلظت های یک و دو میلی مولار اسیدسالیسیلیک در تمامی تیمارهای خشکی سبب افزایش معنی دار وزن تر در مقایسه با گیاهان در شرایط تنش خشکی گردید. در مورد وزن خشک، افزودن اسیدسالیسیلیک با غلظت های مختلف به گیاهان تحت تیمار خشکی ۷۵ درصد افزایش معنی داری در وزن خشک گیاهان سبب نشد (شکل ۲).

اثر خشکی و اسیدسالیسیلیک بر صفات مورفولوژیکی سویا

همان طور که نتایج تجزیه واریانس جدول ۲ نشان می دهد تنش خشکی اثر معنی دار بر میزان کلروفیل a، a+b و کاروتنوئید داشت. برهمکنش خشکی و اسیدسالیسیلیک تنها بر میزان کلروفیل a+b معنی دار بود.

جدول ۲: میانگین مربعات مربوط به رنگیزه های فتوسنتزی اندازه گیری شده در سویا در شرایط تنش خشکی و

اسیدسالیسیلیک

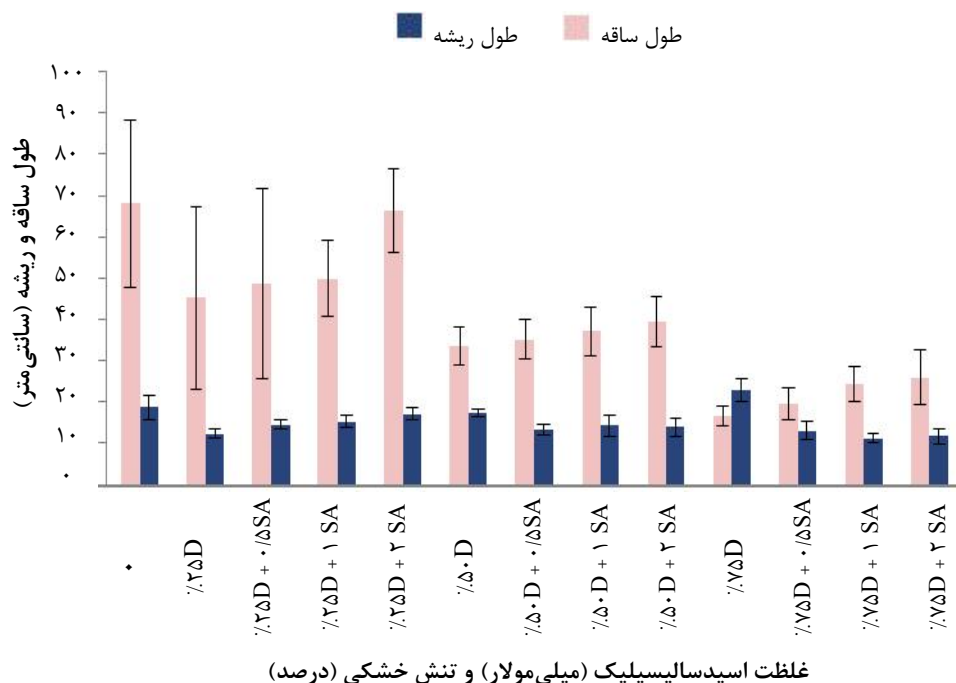
منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a (میلی گرم در گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی گرم در گرم وزن تر)	کلروفیل a+b (میلی گرم در گرم وزن تر)	کاروتنوئید (میلی گرم در گرم وزن تر)
خشکی	۳	۰/۰۸۶ ^o	۰/۰۴۸ ^{ns}	۰/۰۹۲ ^o	۰/۱۴۰ ^o
اسیدسالیسیلیک	۳	۰/۰۲۷ ^{ns}	۰/۰۲۴ ^{ns}	۰/۰۲۹ ^{ns}	۰/۰۴۹ ^{ns}
اسیدسالیسیلیک × خشکی	۹	۰/۰۰۵ ^{ns}	۰/۰۰۴ ^{ns}	۰/۰۰۸ ^o	۰/۰۰۸ ^{ns}
خطای آزمایش	۴۸	۰/۰۱۵	۰/۰۰۵	۰/۰۳۰	۰/۰۴۸
ضریب تغییرات (درصد)	-	۲۰/۱	۲۲/۰۹	۲۰/۰۶	۱۹/۲۳

ns، * و **: به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی دار و اختلاف معنی دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد و بر اساس آزمون دانکن می باشند.

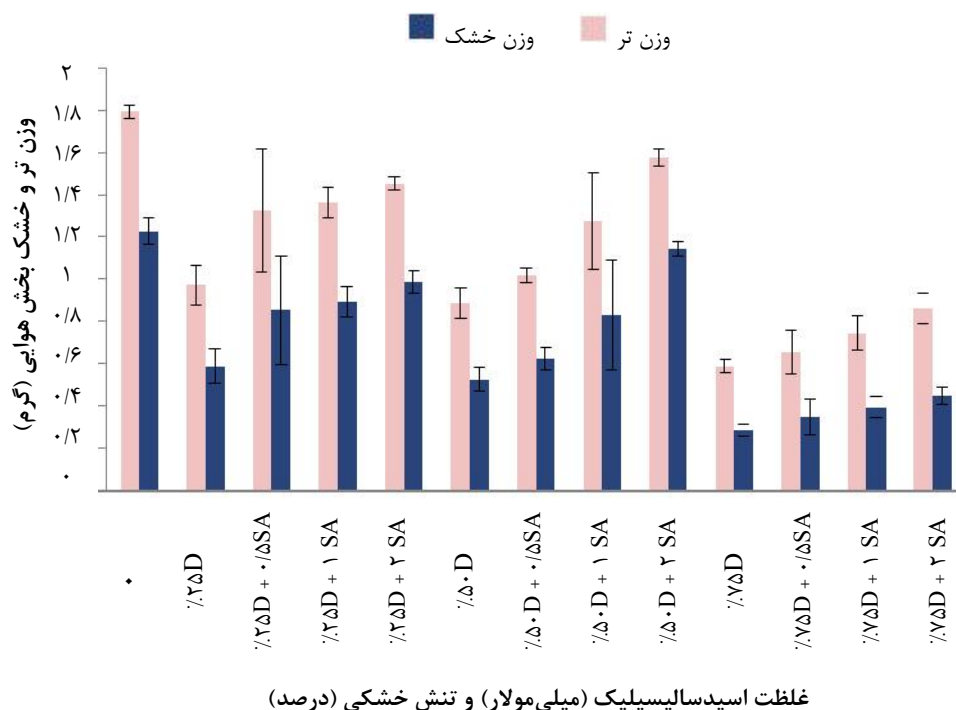
با توجه به شکل های ۳ و ۴ مشاهده می شود میزان کلروفیل a، b، a+b و کاروتنوئید برگ گیاه سویا در تیمارهای مختلف خشکی (۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد) کاهش یافت اما این کاهش در مورد میزان کلروفیل a، a+b و کاروتنوئید تحت تیمار ۷۵ درصد در مقایسه با شاهد معنی دار بود. افزودن مقادیر مختلف اسیدسالیسیلیک به گیاهان در شرایط تنش خشکی موجب افزایش فاکتورهای فوق گردید که تنها در مورد میزان کلروفیل a+b و در تیمار ۷۵ درصد سبب افزایش معنی دار در مقایسه با گیاهان در شرایط تنش خشکی گردید.

کاهش میزان کلروفیل می تواند بواسطه کاهش سنتز کلروفیل و همچنین ناشی از تخریب آن باشد. تخریب مولکولی کلروفیل به علت جدا شدن زنجیره فیتولی از حلقه پورفیرین در اثر رادیکال های آزاد اکسیژن و یا آنزیم کلروفیلاز صورت می گیرد (Parvaiz and Satyawati, 2008). کاربرد خارجی اسیدسالیسیلیک در تنش خشکی بالا (۷۵ درصد) باعث

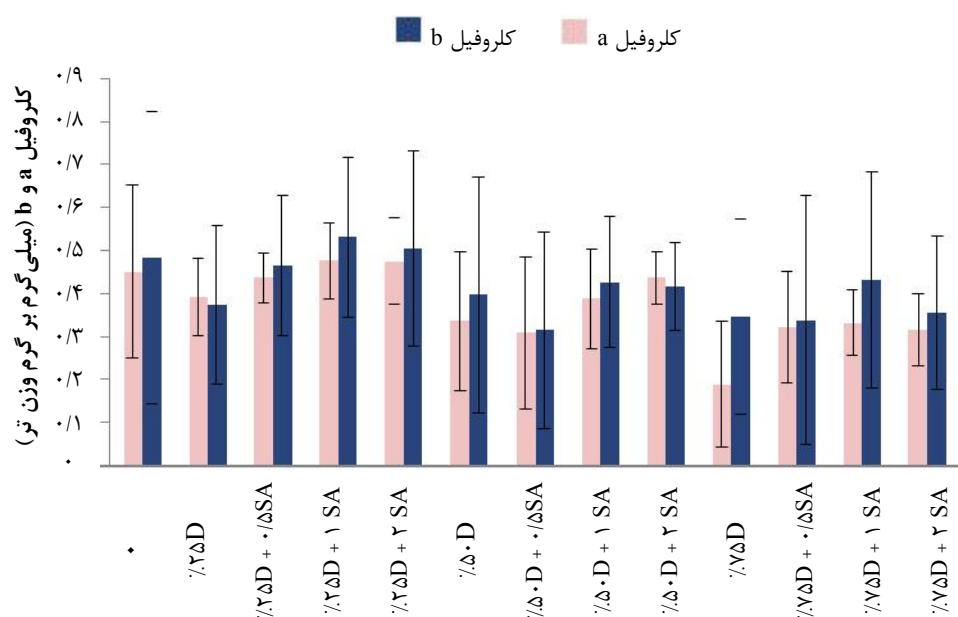
افزایش کلروفیل a+b شد. در تحقیقی اسپری برگی اسیدسالیسیلیک باعث افزایش میزان آب گیاه، میزان کلروفیل و پتاسیم در گیاه در شرایط تنش خشکی گردید (Rao *et al.*, 2012).



شکل ۱: اثر سطوح مختلف تنش خشکی و اسیدسالیسیلیک بر طول ساقه و ریشه گیاه سویا
D و SA: به ترتیب بیانگر خشکی و اسیدسالیسیلیک می‌باشند.



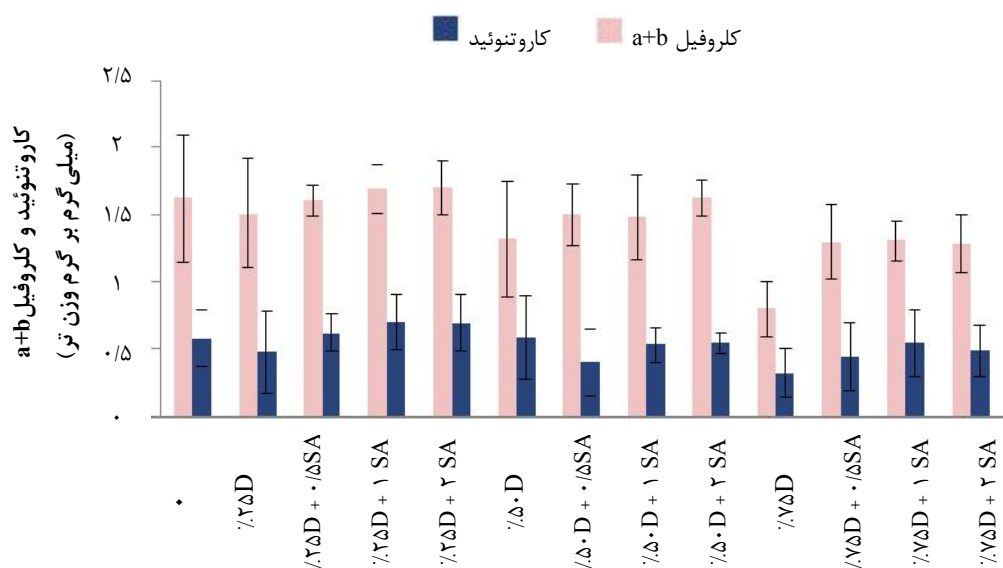
شکل ۲: اثر سطوح مختلف تنش خشکی و اسیدسالیسیلیک بر وزن تر و خشک بخش هوایی گیاه سویا
D و SA: به ترتیب بیانگر خشکی و اسیدسالیسیلیک می‌باشند.



غلظت اسیدسالیسیلیک (میلی مولار) و تنش خشکی (درصد)

شکل ۳: اثر سطوح مختلف تنش خشکی و اسیدسالیسیلیک بر میزان کلروفیل a و b برگ گیاه سویا

D و SA: به ترتیب بیانگر خشکی و اسیدسالیسیلیک می باشند.



غلظت اسیدسالیسیلیک (میلی مولار) و تنش خشکی (درصد)

شکل ۴: اثر سطوح مختلف تنش خشکی و اسیدسالیسیلیک بر میزان کاروتنوئید و کلروفیل a+b برگ گیاه سویا

D و SA: به ترتیب بیانگر خشکی و اسیدسالیسیلیک می باشند.

اثر خشکی و اسیدسالیسیلیک بر صفات بیوشیمیایی سویا

نتایج تجزیه واریانس مربوط به صفات بیوشیمیایی سویا نشان داد که اثر خشکی بر تمامی صفات به جز قند محلول

بخش هوایی معنی دار بود. برهمکنش خشکی و اسیدسالیسیلیک نیز در تمام موارد به جز فعالیت آنزیم پراکسیداز معنی دار

بود (جدول ۳).

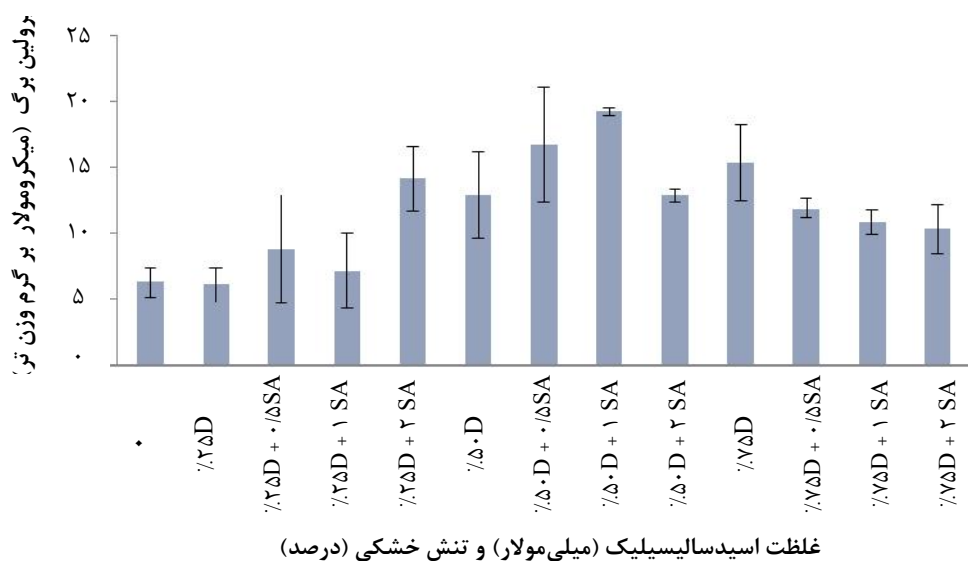
تیمارهای خشکی (۵۰ و ۷۵ درصد) سبب افزایش معنی‌دار میزان پرولین در برگ گیاه سویا در مقایسه با گروه شاهد شدند، درحالی‌که در تیمار ۲۵ درصد خشکی افزایش معنی‌داری مشاهده نشد. با اضافه کردن غلظت‌های مختلف اسیدسالیسیلیک در گیاهان تحت تیمار خشکی (۷۵ درصد) کاهش معنی‌داری در میزان پرولین برگ گیاه سویا در مقایسه با گیاهان در شرایط تنش خشکی ۷۵ درصد بوجود آمد (شکل ۵).

پرولین یکی از اسیدهای آمینه فعال در تنظیم فشار اسمزی درون سلول‌های گیاهی است، اگرچه پرولین در همه اندام‌های گیاهی در طی تنش تجمع می‌یابد، اما بیش‌ترین انباشت را در برگ‌ها دارد (حیدری شریف‌آباد، ۱۳۷۹). تجمع پرولین در گیاهان بوسیله دو مسیر بیولوژیکی، مسیر وابسته به گلوتامات و مسیر وابسته به اورنیتین انجام می‌شود. ظاهراً مسیر وابسته به گلوتامات در شرایط تنش خشکی، مسیر غالب می‌باشد، اهمیت نسبی مسیر اورنیتین در گیاهان تیمار شده با تنش، بستگی به نوع گونه، نوع اندام و مرحله تکاملی گیاه دارد (Bartels and Sunkar, 2005). اسیدسالیسیلیک به‌عنوان افزایش‌دهنده محتوای پرولین درون سلولی شناخته شده است (Hayat et al., 2010).

جدول ۳: میانگین مربعات صفات بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در سویا در شرایط تنش خشکی و اسیدسالیسیلیک

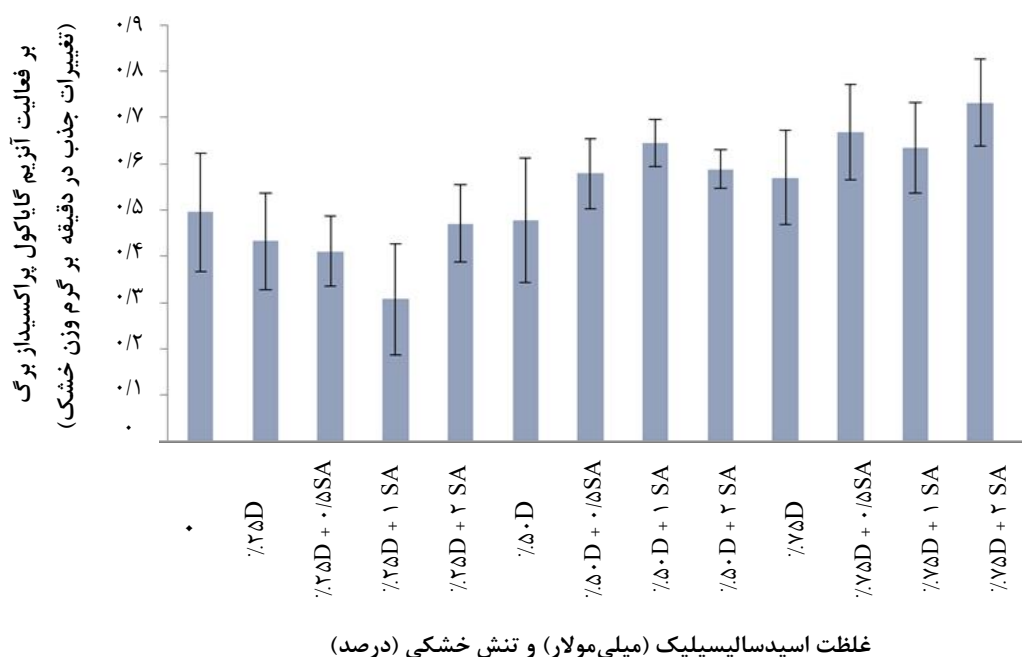
منابع تغییرات	درجه آزادی	پرولین (میکرو مولار در گرم وزن تر)	پراکسیداز (تغییرات جذب در دقیقه در گرم وزن تر)	فعالیت آنزیم	قند محلول بخش هوایی (میلی گرم در گرم وزن خشک)	قند محلول ریشه (میلی گرم در گرم وزن خشک)	قند نامحلول بخش هوایی (میلی گرم در گرم وزن خشک)	قند نامحلول ریشه (میلی گرم در گرم وزن خشک)
خشکی	۳	۱۳۵/۸۱۹ [*]	۰/۱۶۸ [*]	۰/۰۲۴ ^{ns}	۰/۰۴۰ [*]	۰/۰۰۲ [*]	۰/۰۰۳ [*]	۰/۰۰۵ ^{ns}
اسیدسالیسیلیک	۳	۳/۰۶۵ ^{ns}	۰/۰۲۳ ^{ns}	۰/۰۷۸ [*]	۰/۰۲۹ [*]	۰/۰۰۱ [*]	۰/۰۰۱ [*]	۰/۰۰۷ [*]
اسیدسالیسیلیک × خشکی	۹	۵۳/۹۴۰ [*]	۰/۰۱۷ ^{ns}	۰/۰۲۴ [*]	۰/۰۴۶ [*]	۰/۰۰۱ [*]	۰/۰۰۱ [*]	۰/۰۰۷ [*]
خطای آزمایش	۴۸	۵/۹۵۹	۰/۰۰۹	۰/۰۰۹	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴
ضریب تغییرات (درصد)	-	۱۸۰۴	۲۱۰۴	۲۱۰۴	۲۴۰۹	۲۴۰۹	۲۴۰۹	۲۴۰۹

ns، * و **: به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.



شکل ۵: اثر سطوح مختلف تنش خشکی و اسیدسالیسیلیک بر میزان پرولین برگ گیاه سویا
D و SA: به ترتیب بیانگر خشکی و اسیدسالیسیلیک می‌باشند.

همان‌طور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود در تیمارهای خشکی (۵۰ و ۷۵ درصد) میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در برگ گیاه سویا در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش یافت و در تیمار ۷۵ درصد این افزایش از نظر آماری معنی‌دار بود. با اضافه کردن غلظت‌های ۰/۵ و یک میلی‌مولار اسیدسالیسیلیک در تیمار ۲۵ درصد خشکی کاهش فعالیت این آنزیم مشاهده شد که از نظر آماری معنی‌دار نبود ولی در سایر تیمارهای خشکی، افزودن غلظت‌های مختلف اسیدسالیسیلیک سبب افزایش فعالیت این آنزیم شد ($p < 0.05$).



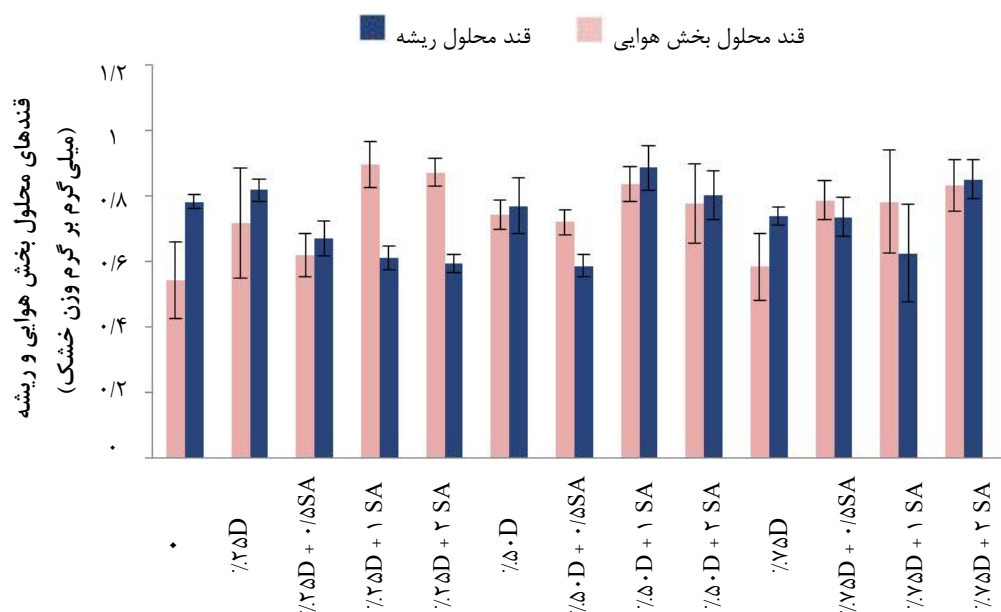
غلظت اسیدسالیسیلیک (میلی‌مولار) و تنش خشکی (درصد)

شکل ۶: اثر سطوح مختلف تنش خشکی و اسیدسالیسیلیک بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز برگ گیاه سویا D و SA: به ترتیب بیانگر خشکی و اسیدسالیسیلیک می‌باشند.

آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPOX) با فعالیت آنتی‌اکسیدانی خود باعث خنثی‌سازی و کاهش انواع اکسیژن فعال می‌شود (Ashraf and Harris, 2004; Mittle, 2002). در شرایط تنش، معمولاً فعالیت آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز، اسکورات پراکسیداز و گلوکاتایون ردوکتاز تحریک می‌شود (Mishra *et al.*, 1995). در تحقیق حاضر نیز افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در تنش خشکی ۷۵ درصد مشاهده گردید.

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد تیمارهای مختلف خشکی (۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد) سبب افزایش میزان قندهای محلول بخش هوایی در مقایسه با گیاهان شاهد شدند اگرچه از نظر آماری معنی‌دار نبود. غلظت‌های ۰/۵ و دو میلی‌مولار اسیدسالیسیلیک در گیاهان تحت تیمار خشکی ۷۵ درصد باعث افزایش معنی‌دار میزان قندهای محلول بخش هوایی گیاهان سویا گردید و در سایر موارد اثر معنی‌داری مشاهده نگردید. در رابطه با میزان قندهای محلول ریشه، نتایج نشان داد تیمارهای ۲۵ و ۵۰ درصد خشکی سبب افزایش قندهای محلول ریشه گردید اگرچه از نظر آماری با گروه شاهد اختلاف

معنی‌داری نشان نداد. درحالی‌که تیمار ۷۵ درصد خشکی کاهش معنی‌داری در میزان قندهای محلول ریشه را سبب گردید. افزودن مقادیر مختلف اسیدسالیسیلیک به تیمار ۲۵ درصد خشکی کاهش معنی‌داری در میزان قندهای محلول ریشه را باعث شد، درحالی‌که در سایر تیمارهای خشکی افزودن اسیدسالیسیلیک تغییر معنی‌داری ایجاد نکرد (شکل ۷).



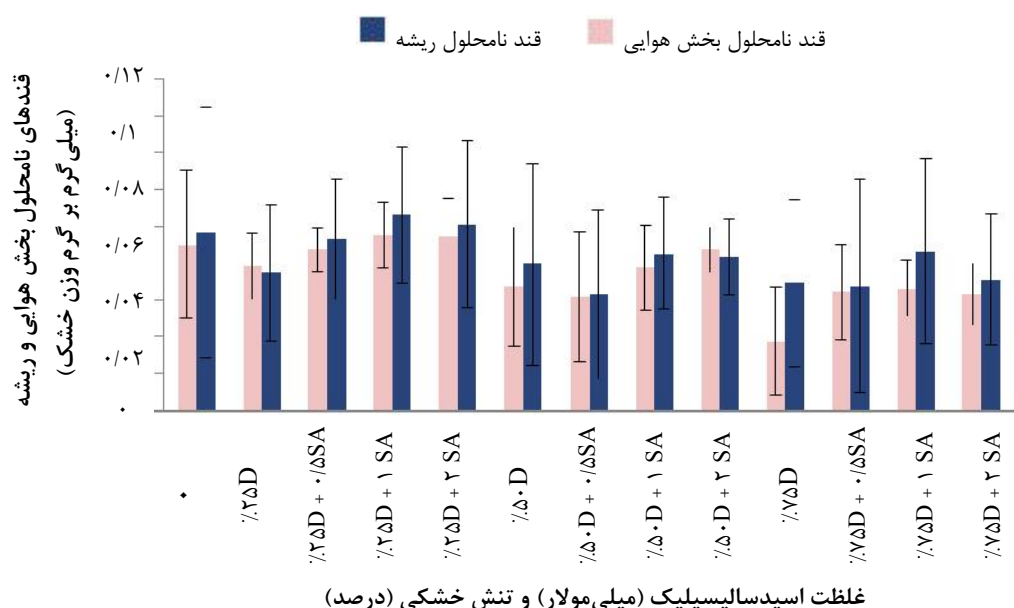
غلظت اسیدسالیسیلیک (میلی‌مولار) و تنش خشکی (درصد)

شکل ۷: اثر سطوح مختلف تنش خشکی و اسیدسالیسیلیک بر میزان قندهای محلول بخش هوایی و ریشه گیاه سویا D و SA: به ترتیب بیانگر خشکی و اسیدسالیسیلیک می‌باشند.

همان‌طور که در شکل ۸ مشاهده می‌شود میزان قندهای نامحلول در بخش هوایی سویا در تیمارهای مختلف خشکی افزایش معنی‌داری در مقایسه با گیاهان شاهد نشان داد. افزودن غلظت‌های یک و دو میلی‌مولار اسیدسالیسیلیک میزان قندهای نامحلول بخش هوایی را افزایش معنی‌دار داد، درحالی‌که در سایر تیمارهای خشکی تغییرات معنی‌داری ایجاد نکرد. قندهای نامحلول در ریشه گیاه سویا در تیمار ۷۵ درصد افزایش معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد یافت. در سایر تیمارهای خشکی با گیاهان شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. افزودن غلظت‌های یک و دو میلی‌مولار اسیدسالیسیلیک در تیمار ۷۵ درصد خشکی کاهش معنی‌دار در قندهای نامحلول ریشه گیاه سویا را سبب شد و در سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. تنظیم‌کننده‌های اسمزی یکی از مهم‌ترین عوامل حفظ گیاهان در مقابل تنش‌های محیطی است، در این میان می‌توان به افزایش ترکیباتی نظیر گلوکز، ساکارز، فروکتوز و پلی‌ال‌ها اشاره کرد (Volkmar *et al.*, 1998).

قندهای محلول گروهی از اسمولیت‌های سازگارند که در شرایط خشکی تجمع یافته و به‌عنوان عامل محافظت اسمزی عمل می‌نماید و افزایش قندها در اثر تنش با تنظیم اسمزی و نگهداری تورژسانس و همچنین با پایدارکردن غشاها و

پروتئین‌ها در ارتباط است (Bohnert et al., 1995). در تحقیقی مقدار تجمع قندها با تیمار اسیدسالیسیلیک افزایش یافت و افزایش مقدار قندها و ایجاد شیب اسمزی در گیاهان منجر به تحمل در برابر از دست رفتن آب، افزایش محتوای آب برگ و تسریع رشد گیاهان در شرایط تنش را شد که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد (Inze and Montagu, 2000).



شکل ۸: اثر سطوح مختلف تنش خشکی و اسیدسالیسیلیک بر میزان قندهای نامحلول بخش هوایی و ریشه گیاه سویا D و SA: به ترتیب بیانگر خشکی و اسیدسالیسیلیک می‌باشند.

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی، نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد اسیدسالیسیلیک بر رشد رویشی گیاه سویا در شرایط تنش خشکی در اکثر موارد اثر مثبت داشته است. این اثر به‌ویژه در تیمارهای بالای خشکی بیش‌تر قابل توجه بود، به‌طوری‌که تیمار با غلظت دو میلی‌مولار اسیدسالیسیلیک باعث کاهش اثر سوء تنش خشکی و افزایش تحمل گیاه سویا گردید. بنابراین توصیه می‌شود که از غلظت‌های بالاتر از یک میلی‌مولار اسیدسالیسیلیک در مرحله چهار برگی گیاه استفاده گردد.

سپاسگزاری

بر خود لازم می‌دانیم از مسئولین محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد که ما را در انجام پژوهش فوق یاری نموده‌اند، کمال تشکر و قدردانی را داشته باشیم.

منابع

حیدری شریف‌آباد، ح. ۱۳۷۹. گیاه، خشکی و خشکسالی، چاپ اول، انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران. ۱۶۳ ص.

خاوری نژاد، ر.ع. و نجفی، ف.ف. ۱۳۷۸. فیزیولوژی گیاهی عملی. انتشارات امید. ۱۸۴ ص.

Araus, J.L., Casadesus, J., and Bort, J. 2001. Recent tools for screening of physiological traits determining yield. In: Application of physiology in wheat breeding. Reynolds, M.P., J. Ortiz-Monasterio, I., and A. McNab. CIMMYT Press.

Arnon, D.J. 1956. Chlorophyll absorption spectrum and quantitative determination. Biochemical and Biophysical Acta 20: 449-461.

Ashraf, M. and Harris, D.J.C. 2004. Potential biochemical indicators of Salinity tolerance in plants. Plant Science 166: 03-16.

Bartels, D. and Sunkar, R. 2005. Drought and Salt tolerance in plants. Critical Reviews in Plant Sciences 24: 23-58.

Bates, I., Waldern, R.P. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.

Bohnert, H., Nelson, D. and Jensen, R. 1995. Adaptations to environmental stress. The Plant Cell 7: 1099-1111.

Bray, A.E. 1997. Plant responses to water deficit. Trends in Plant Science 2: 45-54.

Cheong, Y.H., Kim, K.N., Pandey, G.K., Gupta, R., Grant, J.J., and Luan, S. 2003. CLBI, a calcium sensor that differentially regulates salt, drought, and cold responses in (*Arabidopsis*). The Plant Cell 15: 1845-1933.

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

Hayat, Q., Hayat, S., Irfan, M. and Ahmad, A. 2010. Effect of exogenous Salicylic acid under changing environment: A review. Environmental and Experimental Botany 68: 14-25.

Inze, D. and Montagu, M.V. 2000. Oxidative stress in plants. TJ International Ltd, England.

Mackinnney, G. 1941. Absorption of light by Chlorophyll Solutions. Journal of Biological Chemistry 140: 315-319.

Mae-Adam, J.W. and Nelson Sharp, C.J. 1992. Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue. Journal of Plant Physiology 99: 872-878.

Mishra, N.P., Mishra, R.K. and Singhal, G.S. 1995. Changes in the activities of anti-oxidant enzymes during exposure of intact wheat leaves to strong visible light at different temperatures in the presence of protein synthesis inhibitors. Plant Physiology 102: 903-910.

Mittle, R. 2002. Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. Annual Review of Plant Science 7: 405-415.

Parvaiz, A. and Satyawati, S. 2008. Salt stress and Phyto-biochemical responses of plants. Plant Soil Environment 54: 89-99.

- Popova, L., Pancheva, T. and Usunova, A. 1997.** Salicylic acid: Properties, Biosynthesis and Physiological Role, Bulgarian Journal of Plant Physiology 23: 85-93.
- Rampino, P., Spano, G., Pataleo, S., Mita, G., Napier, J.A., Di Fonzo, N., Shewry, P.R., and Perrotta, C. 2006.** Molecular analysis of a durum wheat stay green mutant: Expression pattern of photosynthesis-related genes. Journal of Cereal Science 43: 160-168.
- Rao, S.R., Qayyum, A., Razzaq, A., Ahmad, M., Mahmood, I. and Sher, A. 2012.** Role of foliar application of salicylic acid and L-Tryptophan in drought tolerance of Maize. The Journal of Animal & Plant Sciences 22: 768-772.
- Raskin, I. 1992.** Role of Salicylic acid in plants. Annu. Rev. Plant Physiology. Plant Molecular Biology 43: 439-463.
- Sakhabutdinova, A.R., Fatkhudinova, D.R., Bezrukova, M.V. and Shakirova, F.M. 2003.** Salicylic acid prevents the damaging action of stress factors on wheat plants. Bulgarian Journal of Plant Physiology 21(3): 314-319.
- Senaranta, T., Touchell, D., BumM, E. and Dixon, K. 2002.** Acetyl Salicylic (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. Plant Growth Regulation 30: 157-161.
- Serraj, R. and Sinclair, T.R. 2002.** Osmolyte accumulation : Can it really help increase crop yield under drought conditions? Plant Cell Environment 25: 333-341.
- Volkmar, K.M., Hu, Y. and Steppuhn, H. 1998.** Physiological response of plants to salinity. A review. Canadian Journal of Plant Science 78: 19-27.
- White, J. and Castille, W. 1989.** Relation effect of root and shoot genotype on yield of common bean under drought stress. Crop Science 29: 360-362.
- Zhang, J., Nguyen, H.T. and Blum, A. 1999.** Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. Journal of Experimental Botany 50: 291-302.
- Zhou, Zh.Sh., Guo, K., Abdou Elbaz, A., and Yang, Zh.M. 2009.** Salicylic acid alleviates mercury toxicity by preventing oxidative stress in roots of *Medicago sativa*. Environmental and Experimental Botany 65: 27-34.