دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان

مجله اکوفیزیولوژی گیاهی
سال پنجم، شماره دوازدهم، ۱۳۹۲

اثر محلول پاشی اسیدسالیسیلیک روی برخی از شاخص های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ارقام حساس و مقاوم نخود(*Cicer arietinum* L.) تحت تنش خشکی

رضوان رمضان نژاد[۱]، مهرداد لاهوتی[۲]، علی گنجعلی[۲]

تاریخ دریافت: ۹۱/۸/۷ تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۸

چکیده

به منظور بررسی اثرات توام تنش خشکی و اسید سالیسیلیک روی برخی از شاخص های فیزیولوژیکی (شاخص پایداری غشاء) و بیوشیمیایی (محتوای کلروفیل a و b ، کلروفیل کل ، نسبت کلروفیل a/b و کاروتینوئید) آزمایشی روی دو ژنوتیپ از مجموعه کلکسیون نخود مشهد (MCC441 و MCC358) در چهار سطح تنش خشکی بر اساس ظرفیت زراعی (ظرفیت زراعی، ۷۵٪ ظرفیت زراعی، ۵۰ ٪ ظرفیت زراعی و ۲۵٪ ظرفیت زراعی) و تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت های ۰ و ۰/۷ میلی مول به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که تنش خشکی در تمام موارد به غیر از نسبت کروفیل a/b با عث کاهش معنی دار شاخص های مورد بررسی شد. تیمار اسید سالیسیلیک باعث افزایش معنی دار شاخص پایداری غشاء و میزان کاروتینوئید در ژنوتیپ MCC358 شد. اسید سالیسیلیک توانست باعث افزایش معنی دار محتوای کلروفیل b و کلروفیل کل در ژنوتیپ MCC441 شود. اما در ژنوتیپ MCC358 محتوای کلروفیل b بعد از تیمار با اسید سالیسیلیک بطور معنی داری نسبت به شاهد کاهش یافت. به نظر می رسد که تاثیر بازدارنده ی تنش خشکی بر ژنوتیپ MCC441 بیشتر از ژنوتیپ MCC358 بوده است و کاربرد اسیدسالیسیلیک با توجه به تاثیر آنتی اکسیدانی آن، اثری بر بهبود شاخص های مورد بررسی در ژنوتیپ MCC441 نداشت.

کلمات کلیدی: اسیدسالیسیلیک، تنش خشکی، شاخص پایداری غشاء، کاروتینوئید، کلروفیل

۱- دانش آموخته دانشگاه فردوسی مشهد- نویسنده مسئول. پست الکترونیک: soodehramezannejad@yahoo.com

۲- عضو هیات علمی دانشگاه فردوسی مشهد

مقدمه

حبوبات به دلیل میزان پروتئین بالا(تقریباً دو برابر غلات) و توانایی تثبیت زیستی نیتروزن در کشاورزی و تغذیه بشر اهمیت قابل توجهی دارند (خدابخش و همکاران، ۱۳۸۹). در بین حبوبات، نخود یکی از مهمترین آنها است، که از نظر سطح زیر کشت با داشتن متجاوز از ۱۰ میلیون هکتار سطح زیر کشت جهانی، پس از لوبیای معمولی رتبه دوم و از نظر میزان تولید دانه پس از لوبیا و نخود فرنگی رتبه سوم را به خود اختصاص داده است (میلان و همکاران، ۲۰۰۶). نخود محصولی است که در سرتاسر دنیا کشت می شود و به شرایط آب و هوایی متفاوت از معتدل تا گرم و از مرطوب تا خشک سازگار است (امیری و همکاران، ۱۳۸۹). ویژگی هایی همچون توانایی تثبیت نیتروژن، ریشه دهی عمیق و استفاده مؤثر از نزولات جوی سبب شده است که این گیاه نقش مهمی در ثبات تولید نظام های زراعی در کشاورزی پایدار ایفا نماید (امیری و همکاران، ۱۳۸۹).

تنش به هر عامل زیستی و غیر زیستی گفته می شود که در چرخه زندگی گیاه ایجاد اختلال نماید. تنش ها به عنوان عوامل محدود کننده رشد گیاهان و تولید محصولات زراعی جهان مطرح می‌باشند (عابدی و همکاران، ۲۰۱۲). خشکی یکی از مهمترین تنش های محیطی محدودکننده تولید در گیاهان زراعی در سرتاسر جهان است (امیدی و همکاران، ۲۰۱۲). سیدیک و همکاران (۱۹۹۹) گزارش کردند که خشکی به عنوان مهم ترین فاکتور کنترل کننده عملکرد محصولات، تقریبا روی کلیه‌ی فرآیندهای رشد گیاه تاثیر گذار است. از جمله اینکه تنش خشکی باعث کاهش میزان کلروفیل در مرحله رویشی و زایشی می شود. کاهش در میزان کلروفیل باعث کاهش ظرفیت دریافت نور در گیاه شده و در نتیجه تولید گونه های اکسیژن فعال (ROS) حاصل از دریافت انرژی مازاد نوری، با تخریب رنگیزه های فتوسنتزی در شرایط تنش خشکی، کمتر می‌شود (مفاخری و همکاران، ۲۰۱۱).

اسید سالیسیلیک (SA) از ترکیبات فنلی است که در تعداد زیادی از گیاهان وجود دارد. این ترکیب امروزه بعنوان ماده ای شبه هورمون محسوب می‌گردد که نقش مهمی در رشد و نمو گیاهان ایفاء می‌کند (کانگ، ۲۰۰۳). این ماده می تواند نقش محوری در مقاومت نسبت به بیماری در گیاهان به ویژه طی مقاومت سیستمیک کسب شده داشته باشد (آمبوراب و فلورات، ۲۰۰۲). همچنین اسید سالیسیلیک نقش محوری در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف در خلال رشد و نمو گیاه مثل جذب یون، فتوسنتز و جوانه زنی بسته به غلظت بکار رفته،گونه ی گیاهی، دوره ی رشدی و شرایط محیطی، ایفاء می کند. این ماده همچنین به عنوان یک سیگنال مولکولی مهم در نوسانات گیاهی در پاسخ به تنش های محیطی شناخته شده است (سنارانتا و همکاران،۲۰۰۰).

هدف از اجرای این تحقیق بررسی اثر اسیدسالیسیلیک به عنوان ترکیبی با خواص آنتی اکسیدانی در بهبود تحمل گیاه نخود در مواجهه باتنش خشکی می باشد. به این منظور برخی از شاخص های زیستی گیاه شامل شاخص پایداری غشاء و محتوای رنگیزه های فتوسنتزی در شرایط تنش خشکی و بعد از تیمار با اسیدسالیسیلیک در دو ژنوتیپ حساس و مقاوم نخود مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش ها

به منظور بررسی برخی از صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دو ژنوتیپ نخود MCC441 (تیپ

دسی) و MCC358 (تیپ کابلی)، دو ژنوتیپ تجاری در ایران که به صورت دیم کشت می شوند، و تعیین میزان حساسیت آن‌ها نسبت به شرایط تنش خشکی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد.

کاشت بذر و اعمال تیمارهای آزمایشی : ابتدا بذور سالم دو ژنوتیپ مورد نظر انتخاب و به تعداد ۵ عدد و با فواصل ۳ سانتی متر از یکدیگر در داخل گلدانها کاشته شدند. سپس ظرفیت زراعی خاک گلدانها تعیین و به همان میزان آبیاری شدند و گلدانها در اتاقک رشد قرار گرفتند. به دلیل زیاد بودن بذور داخل گلدانها ٤ روز بعد از رشد گیاهچه ها، تعداد گیاهچه های هر گلدان به ۳ عدد کاهش یافت. اعمال تنش خشکی ۲ هفته بعد از رشد گیاهچه ها صورت گرفت. تنش خشکی شامل ٤ سطح (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی (شاهد)، ۷۵٪ ظرفیت زراعی، ۵۰ ٪ ظرفیت زراعی و ۲۵٪ ظرفیت زراعی) بود. جهت اعمال سطوح تنش خشکی از روش وزنی استفاده شد. به این ترتیب که ابتدا یکی ازگلدان های آزمایش با نسبت ۲ به ۱ خاک به ماسه پر شده و توزین شد. سپس گلدان از آب اشباع شد، و برای جلوگیری از تبخیر، سطح گلدان توسط یک پلاستیک پوشیده شد. با خروج آب ثقلی وزن گلدان به طورمرتب کم شد تا زمانیکه وزن آن ثابت ماند (نشان دهنده رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی). با تفاضل وزن اخیر و وزن خاک خشک مقدار آب لازم برای رسیدن خاک هر گلدان به حد ظرفیت زراعی مشخص و سطوح ۷۵٪ ، ۵۰٪ و ۲۵٪ این مقدار آب نیز محاسبه شد و در طول دوره آزمایش برای سطوح مختلف رطوبتی گلدان ها مورد استفاده قرارگرفت. بدین منظور گلدان ها روزانه وزن می شد و مقدارآب لازم برای رسیدن به هر کدام از سطوح اضافه می شد (خزائی و همکاران، ۱۳۸۷). بعد از ۲ هفته از اعمال تنش، SA با غلظت های ۰/۷ mM و ۰mM (آب مقطر) روی گیاهان اسپری شد. همچنین دقت شد که محلول SA تمام سطوح گیاهان را بپوشاند. اسپری ۳ مرتبه و در فواصل ۱۰ روزه صورت گرفت. سپس زمانیکه گیاهان به مرحله گلدهی رسیدند، برداشت شده و از بخش هوایی آنها به منظور سنجش و ارزیابی شاخص های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی استفاده شد.

سنجش شاخص پایداری غشاء : برای این منظور از روش سیارام و سریواستاوا (۲۰۰۵) استفاده شد. به این ترتیب که از هر گلدان ۲ عدد برگ به میزان ۰/۱ گرم جدا کرده و در دو سری لوله آزمایش مجزا قرار داده شد. سپس در هر لوله ۱۰ میلی آب مقطر ریخته و لوله ها در حمام آب گرم (بن ماری) قرار گرفتند. لوله های آزمایش سری اول به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ٤۰ درجه سانتی گراد و لوله های سری دوم به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. بعد از این مدت لوله ها از بن ماری خارج و در دمای اتاق سرد شدند. سپس هدایت الکتریکی آنها با استفاده از دستگاه EC متر مدل JENWAY اندازه گیری شد. شاخص پایداری غشا با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد(سیارام و سریواستاوا، ۲۰۰۵):

$$MSI= (۱- EC_{٤۰} / EC_{۱۰۰}) \times ۱۰۰$$

MSI= شاخص پایداری غشاء

$EC_{٤۰}$=هدایت الکتریکی نمونه در دمای ٤۰ درجه سانتی گراد

$EC_{۱۰۰}$=هدایت الکتریکی نمونه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد

استخراج و سنجش رنگیزه های فتوسنتزی (کلروفیل و کاروتینوئید): به منظور استخراج و

سنجش میـزان کلروفیـل و کاروتینوئیـد مطـابق روش لیچنتالر (۱۹۸۷) از هر گلدان ۰/۲ گرم بـرگ بریـده و با ٤ میلی لیتر اسـتن ۸۰ درصـد خـوب سـائیده شـد. عصاره به دست آمده بعد از عبور از کاغـذ صـافی بـه لوله آزمایش منتقل شد. سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه انجام شد. محلول شفاف بالایی به سلول‌های ویژه منتقـل گردیـد و جـذب آن در طـول موج‌های ٦٦٣/٢ ، ٦٤٦/٨ و ٤٧٠ نانومتر با اسـتفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر جذبی مـدل PLUS-3000 خوانده شد. از استن ۸۰ نیز به عنـوان شـاهد اسـتفاده شـد. بـرای بـه دسـت آوردن میـزان کلروفیـل کـل و کلروفیل‌های a و b و کاروتینوئید از فرمول‌هـای زیـر استفاده شد(فاضلیان و اسرار، ۱۳۹۰).

Chl. a = (12.25 A663.2 – 2.79 A646.8)
Chl. b = (21.21 A646.8 – 5.1 A663.2)
Chl. T = Chl. a + Chl. b
Car = ((1000 A470 – 1.8 Chl. a – 85.02 Chl. b) / 198)

آنالیزهای آماری

تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SAS انجام گرفت . مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال خطای ۵ درصد ($p< ۰/۰۵$) صورت گرفت و نمودارها و جدول ها توسط نرم افزارEXCEL رسم گردید.

نتایج و بحث

شاخص پایداری غشاء

بر اساس نتایج آنالیز واریانس اثر تنش و اثر متقابل ژنوتیپ × تنش و SA ×ژنوتیپ بر شاخص پایداری غشاء در سطح آماری۱٪ و اثر ژنوتیپ و همچنین اثر متقابل تنش × SA × ژنوتیپ بر شاخص پایداری غشاء در سطح آماری ۵ ٪ معنی دار شد. اثر SA به تنهایی بر شاخص پایداری غشاء معنی دار نشد(جدول ۱). مقایسه میانگین داده ها نشان داد که در ژنوتیپ MCC441 شاخص پایداری غشاء به طرز معنی داری بیشتر از ژنوتیپ MCC358 می-باشد (جدول ۲). افزایش سطح تنش خشکی شاخص پایداری غشاء گیاه را کاهش داد که این کاهش در سطح تنش۲۵٪ بیشترین مقدار خود را نسبت به شاهد داشت(جدول ۲). بررسی اثر متقابل تنش × ژنوتیپ نشان داد که در ژنوتیپ MCC358 در تمام سطوح تنش و در ژنوتیپ MCC441 در سطح تنش ۵۰٪ و ۲۵٪ شاخص پایداری غشاء به طرز معنی داری نسبت به شاهد کاهش یافت. در هر دو ژنوتیپ مزبورکمترین شاخص پایداری غشاء مربوط به سطح تنش ۲۵٪ بود. همچنین درسطح تنش ۲۵٪ کاهش شاخص پایداری غشاء نسبت به شاهد در ژنوتیپ MCC441 بیشتر بود که نشان می دهد این ژنوتیپ حساسیت بیشتری نسبت به تنش نشان داده است(جدول۳). بر اساس مقایسه میانگین داده ها تیمار SA توانست میزان شاخص پایداری غشاء را در دو ژنوتیپ به طرز معنی داری تغییر دهد. این تغییر در دو ژنوتیپ یکسان نبود. به طوریکه در ژنوتیپ MCC358 بیشترین مقدار شاخص پایداری غشاء در شاهد و در ژنوتیپ MCC441 در تیمار با SA مشاهده شد(شکل۱). شواهد نشان می‌دهد ROSها نقش مهمی در کنترل مسیرهای ترارسانی علامت درون سلولی برای بسیاری از فرآیندهای سلولی دارد (وندروسکالو و همکاران، ۲۰۰۷) . وقتیکه ROS لیپیدها را هدف قرار می دهد، فرآیند پراکسیداسیون لیپید آغاز شده و پراکسیداسیون لیپید پایداری غشا سلول را بر هم می زند. در نتیجه ی این امر، ترکیبات محلول ضروری به خارج از اندامک‌ها نشت پیدا کرده و باعث آشفتگی عملکرد غشایی و بر هم زدن تعادل متابولیسمی سلول می شود. بنابراین پایداری غشای سلولی یک شاخص مهم مقاومت گیاهان نسبت به

تنش می باشد (وندروسکالو و همکاران، ۲۰۰۷) . خان و همکاران (۲۰۱۱) مشاهده کردند که در شرایط تنش خشکی تیمار SA باعث افزایش قندهای محلول در برگ های گندم هگزاپلوئید شده و به این ترتیب به افزایش پایداری غشا کمک می کند. احمد و حیات (۲۰۰۷) نشان دادند پیش تیمار گیاهان گندم با SA به مدت ۲٤ ساعت، گیاه را در برابر آسیب های ناشی از شوری محافظت می کند و نشت الکترولیت ها را به طور چشمگیری کاهش می دهد.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تنش خشکی و تیمار اسیدسالیسیلیک (SA) بر صفات مورد بررسی دو ژنوتیپ نخود

منبع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a mg/g FW	کلروفیل b mg/g FW	کلروفیل کل mg/g FW	نسبت کلروفیل a/b	کاروتینوئید mg/g FW	شاخص پایداری غشا (٪)
ژنوتیپ	۱	۱/۲۰۳۳ ns	٦/۰۷۰٥* *	۲/۱۱۲٦ *	۳۷/۸۰*	۱/۳۰۰۰**	۳۰/۸*
تنش	۳	۸/٦۸۳۸ **	۲/۳٦۹۷ **	۱۹/۳۷۱۱**	٤/۱۰ ns	۲/۱۸۹۱ **	۲٤۷/٦۹**
SA	۱	۰/۹٦۳۳ ns	۰/۰۰۷۷ ns	۱/۱٤۳۹ ns	۰/۵۸ ns	۰/۹۹۱۸ **	۱/۳۳ns
ژنوتیپ × تنش	۳	۰/۷۹۲۷ ns	۱/۱۹٦۱ **	۰/۷۹٤٦ ns	۱۰/٦۷*	۰/۳۷۸۵ *	٤۵/۹۱**
SA × ژنوتیپ	۱	۰/۰۵۳۳ ns	۰/۳۳۱٦ **	۰/۵۱۸۸ ns	٤/۵٦ ns	۰/۹۹۱۸ **	۱۹۲/۰۰**
SA × تنش	۳	۰/۷۹۲۲ ns	۰/۱۰۰۲ ns	۱/۵۸۱۵ ns	۱/٤٤ ns	۰/۰٦۳۵ ns	۱۵/۷۲ns
ژنوتیپ × تنش × SA	۳	۰/۵٦۲۷ ns	۰/۰۹۳۰ ns	۰/۳۷۰۸ ns	۰/۹۹ ns	۰/٤۸۹۱ **	۱۸/٦۱ns
خطا	۳۲	۰/۲۹۰۲	۰/۰۳۵۷	۰/۳٦۷٦	۱/٦۰	۰/۰۵۰٦	۷/۰۸

** ، * و ns به ترتیب معنی دار در سطح ۱٪ ، ۵٪ و عدم معنی دار

رنگیزه های فتوسنتزی

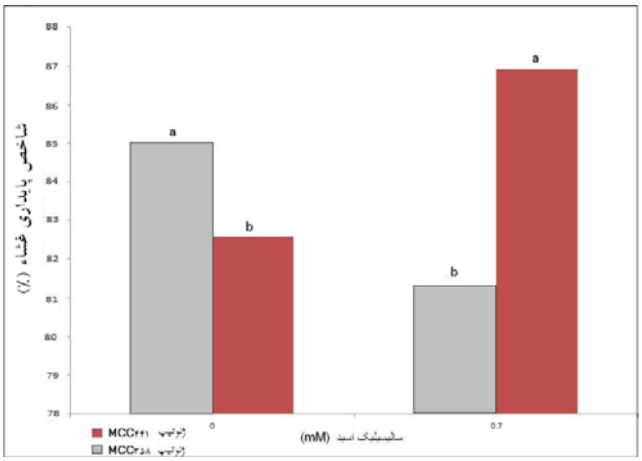
بر اساس نتایج آنالیز واریانس داده ها تاثیر تنش خشکی بر محتوای کلروفیل a گیاه در سطح آماری۱٪ معنی دار شد (جدول۱). بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها تنش خشکی در سطح۵۰٪ و ۲۵٪ محتوای کلروفیل a برگ را به طرز معنی داری کاهش داد. اما در سطح تنش ۷۵٪ یک افزایش معنی دار در محتوای کلروفیل a نسبت به شاهد مشاهده شد. بیشترین مقدار کلروفیل a مربوط به تنش۷۵ ٪ و کمترین مقدار آن مربوط به تنش ۲۵٪ بود. نتایج مقایسه میانگین ها نشان داد که تنش خشکی در سطح ۵۰٪ و ۲۵٪ باعث کاهش معنی دار کلروفیل a در دو ژنوتیپ مورد بررسی شده است (جدول۲). تیمار SA تاثیر معنی داری بر میزان کلروفیل a در هیچ یک از دو ژنوتیپ نداشت.

نتایج آنالیز واریانس داده ها نشان داد که اثر ژنوتیپ، تنش و اثر متقابل تنش × ژنوتیپ و SA × ژنوتیپ بر محتوای کلروفیل b در سطح آماری ۱٪ معنی دار بود (جدول۱). بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها ژنوتیپ MCC358 کلروفیل b بیشتری نسبت به MCC441 داشت (جدول۲). تنش خشکی محتوای کلروفیل b را به طرز معنی داری کاهش داد (جدول۲). این کاهش در محتوای کلروفیل b در دو ژنوتیپ در سطوح تنش ۵۰٪ و۲۵٪ معنی دار بود. اما تاثیر تنش خشکی بر کاهش محتوای کلروفیل b در دو ژنوتیپ یکسان نبود. بر اساس نتایج به دست آمده

تنش خشکی محتوای کلروفیل b را در ژنوتیپ MCC358 با شدت بیشتری نسبت به شاهد کاهش داد. به نظر می رسد که تاثیر تنش خشکی بر محتوای کلروفیل b در ژنوتیپ MCC358 بیشتر بود (جدول۳). مقایسه میانگین داده ها نشان داد که تاثیر تیمار SA بر محتوای کلروفیل b در دو ژنوتیپ یکسان نبود. تیمار SA توانست تنها در ژنوتیپ MCC441 تاثیر معنی داری بر محتوای کلروفیل b داشته باشد، که این تاثیر به صورت یک افزایش معنی دار در این رنگیزه مشاهده شد. بنابراین مشخص شد که تاثیر تیمار SA بر میزان کلروفیل b در ژنوتیپ MCC441 بیشتر بوده است (شکل۲).

جدول ۲- اثر ژنوتیپ، تنش خشکی و اسیدسالیسیلیک (SA) بر صفات مورد بررسی دو ژنوتیپ نخود. میانگین‌های دارای حروف مشابه در مورد هر صفت اختلاف آماری معنی داری با یکدیگر ندارند(دانکن α=۰/۰۵)

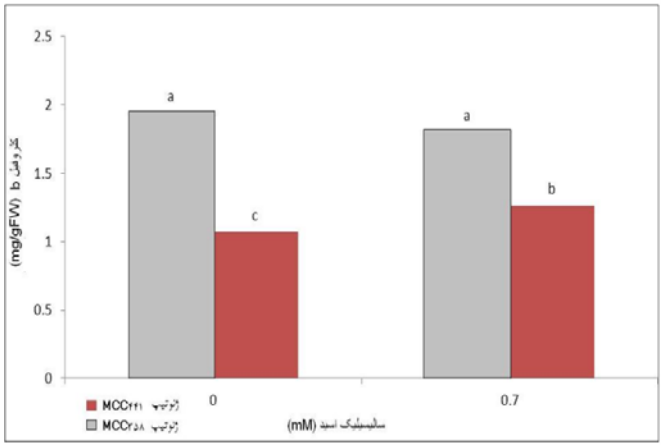
منبع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a mg/g FW	کلروفیل b mg/g FW	کلروفیل کل mg/g FW	نسبت کلروفیل a/b	کاروتینوئید mg/g FW	شاخص پایداری غشا (٪)
ژنوتیپ	MCC358	٦/٩٥a	١/٨٧a	٨/٨٤a	٤/١٦b	٣/٢٥a	٨٣/١٦b
	MCC441	٧/٢٦a	١/١٦b	٨/٤٢b	٥/٩٤a	٢/٩٢b	٨٤/٧٥a
ظرفیت زراعی (٪)	١٠٠	٧/٥٣b	١/٩٨a	٩/٥٤a	٤/٢١b	٣/٦٨a	٨٨/٧٥a
	٧٥	٧/٩٩a	١/٨١b	٩/٨٠a	٥/١٠ab	٣/١٠b	٨٥/٥٠b
	٥٠	٦/٨٧c	١/٢١c	٨/٠٦b	٥/٥١a	٢/٨٤c	٨٣/٦٦b
	٢٥	٦/٠٣d	١/٠٧c	٧/١٠c	٥/٣٨a	٢/٧٢c	٧٧/٩١c
اسید سالیسیلیک (mM)	٠	٦/٩٦a	١/٥٠a	٨/٤٧a	٤/٩٢a	٢/٩٤b	٨٣/٧٩a
	٠/٧	٧/٢٥a	١/٥٣a	٨/٧٨a	٥/١٨a	٣/٢٣a	٨٤/١٢a



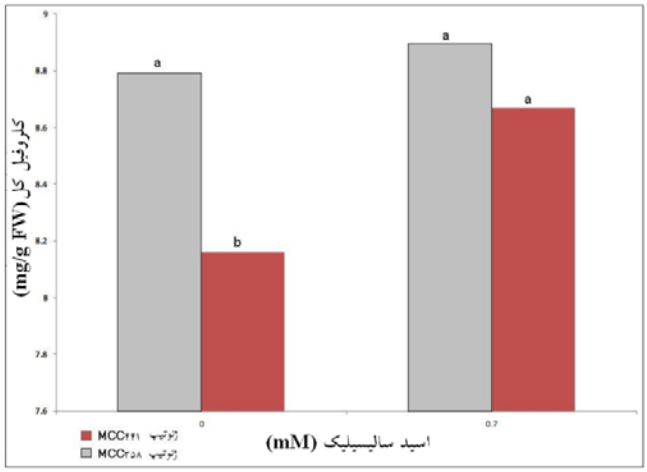
شکل ۱- مقایسه میانگین تاثیر اسید سالیسیلیک بر شاخص پایداری غشا در ژنوتیپ های نخود (MCC358 و MCC441)، میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می باشند، مطابق آزمون دانکن (P<۰/۰۵)تفاوت معنی داری ندارند.

بر اساس نتایج آنالیز واریانس اثر ساده تنش و اثر متقابل تنش × SA بر محتوای کلروفیل کل در سطح آماری ۵٪ معنی دار بود (جدول ۱). ژنوتیپ MCC358 محتوای کلروفیل کل بالاتری نسبت به

ژنوتیپ MCC441 داشت(جدول۲). تنش خشکی باعث کاهش میزان کلروفیل کل شد که این کاهش در سطح تنش ۷۵٪ نسبت به شاهد معنی دار نبود(جدول۲). همچنین تنش خشکی باعث کاهش محتوای کلروفیل کل در سطح ۵۰ ٪ و۲۵٪ در دو ژنوتیپ مورد بررسی شد(جدول۳). بررسی اثر متقابل تنش × SA نشان داد که بیشترین تاثیر SA بر محتوای کلروفیل کل گیاه مربوط به شرایط بدون تنش بوده است. به نظر می رسد که SA نتوانسته است در شرایط تنش خشکی تاثیر معنی داری بر محتوای کلروفیل کل گیاه داشته باشد. تیمار SA تنها توانست باعث افزایش معنی دار محتوای کلروفیل کل در ژنوتیپMCC441 شود (شکل۳).



شکل ۲- مقایسه میانگین تاثیر اسید سالیسیلیک بر محتوای کلروفیل b در ژنوتیپ های نخود (MCC358 وMCC441)، میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می باشند، مطابق آزمون دانکن (P<۰/۰۵)تفاوت معنی داری ندارند.



شکل ۳- مقایسه میانگین تاثیر اسید سالیسیلیک بر محتوای کلروفیل کل در ژنوتیپ های نخود (MCC358 وMCC441)، میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می باشند، مطابق آزمون دانکن (P<۰/۰۵)تفاوت معنی داری ندارند.

بر اساس نتایج آنالیز واریانس اثر اصلی ژنوتیپ و اثر متقابل تنش × ژنوتیپ بر نسبت کلروفیل a/b در سطح آماری ۱٪ معنی دار بود (جدول ۱). بر اساس مقایسه میانگین داده ها نسبت کلروفیل a/b در

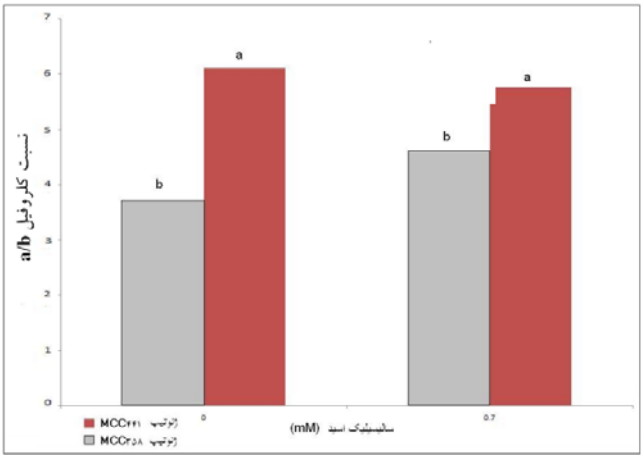
ژنوتیپ MCC441 بیشتر از ژنوتیپ MCC358 بود(جدول۲). تنش خشکی باعث افزایش نسبت کلروفیل a/b در دو ژنوتیپ مورد بررسی شد. این افزایش در نسبت کلروفیل a/b در ژنوتیپ MCC441 در سطح تنش ۷۵٪ و در ژنوتیپ MCC358 در سطح تنش ۵۰٪ و ۲۵٪ معنی دار بود. بر اساس این نتایج می توان نتیجه گرفت که تنش‌های شدیدتر (۵۰٪ و ۲۵٪) تاثیر بیشتری بر نسبت کلروفیل a/b در ژنوتیپ MCC441 نسبت به ژنوتیپ MCC358 داشته است(جدول۳). اشرف و همکاران (۱۹۹٤) گزارش کرده اند که تنش خشکی کلروفیل a را بیشتر از کلروفیل b کاهش می دهد و به این ترتیب باعث افزایش نسبت کلروفیل a/b می‌شود. تیمار SA در ژنوتیپ MCC358 باعث افزایش نسبت کلروفیل a/b شد. تیمار SA در هیچ یک از دو ژنوتیپ تاثیر معنی داری بر محتوای کلروفیل نداشت. بر طبق گزارش مفاخری و همکاران (۲۰۱۰) تنش خشکی در مرحله رویشی به طور معنی داری باعث کاهش محتوای کلروفیل a ، b و کلروفیل کل در ارقام نخود شد. نیاشیرو و همکاران (۲۰۰۱) نیز کاهش معنی دار محتوای کلروفیل a وb را در ۳ رقم گندم تائید کرده‌اند. در مطالعه‌ای که کایدان و همکاران (۲۰۰۷) انجام دادند، مشخص شد که تیمار SA (10^{-2}، 10^{-4}و 10^{-6}مول/ لیتر) باعث افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a ، b و کاروتینوئید) در گیاهان گندم تحت تنش شوری و شاهد می شود. همچنین تورکی و همکاران (۲۰۰۵) نیز گزارش دادند که اسپری کردن SA بر روی گیاه لوبیا باعث افزایش کلروفیل a، b و کاروتینوئیدها تحت شرایط کنترل و شرایط تنش می شود. کاهش در کلروفیل در شرایط تنش خشکی به دلیل آسیب به کلروپلاست توسط گونه های اکسیژن فعال رخ می دهد. به نظر می‌رسد که در شرایط تنش ملایم کاهش میزان فتوسنتز گیاه در درجه اول ناشی از بسته شدن روزنه ها باشد، اما در شرایط محدودیت آبی اثر روزنه ای ممکن است با افزایش مقاومت مزوفیلی و تاثیر سوئی که تنش بر غشای تیلاکوئید می گذارد، تشدید شود (خان و همکاران ، ۲۰۰۳).

جدول ۳- اثر متقابل تنش خشکی و ژنوتیپ بر صفات مورد بررسی دو ژنوتیپ نخود. میانگین‌های دارای حروف مشابه در مورد هر صفت اختلاف آماری معنی داری با یکدیگر ندارند(دانکن α=۰/۰۵)

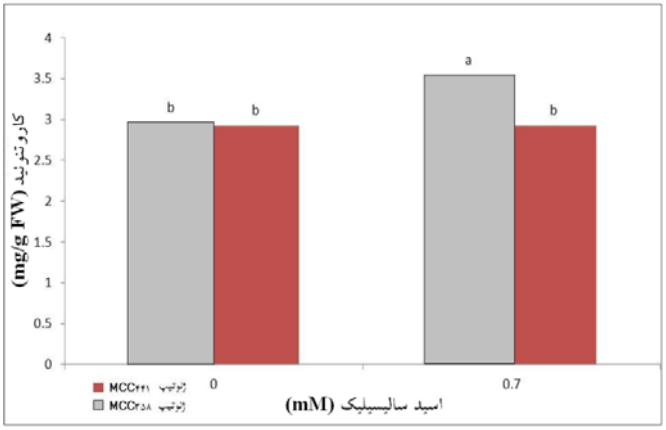
ژنوتیپ	ظرفیت زراعی (٪)	کلروفیل a (mg/g FW)	کلروفیل b (mg/g FW)	کلروفیل کل (mg/g FW)	نسبت کلروفیل a/b	کاروتینوئید (mg/g FW)	شاخص پایداری غشا (٪)
MCC358	۱۰۰	۲/٦۲ a	۷/٤۱ b	۱۰/۰۹ a	۳/۰۰ c	۳/٦۸ a	۸۸/۳۳a
MCC358	۷۵	۲/٤۲ a	۷/۵۱ b	۹/۹٤ a	۳/۰٦ c	۳/۵۱ a	۸۲/۱٦bc
MCC358	۵۰	۱/۳۱ bc	٦/٦۸ cd	۷/۹۹ cd	۵/۰۸ b	۲/۹۱ b	۸۲/۸۳b
MCC358	۲۵	۱/۱٤ bcd	٦/۱۸ de	۷/۳۲ de	۵/۵۱ b	۲/۹۰ b	۷۹/۳۳cd
MCC441	۱۰۰	۱/۳٤ b	۷/٦۵ b	۸/۹۹ b	۵/٤۳ b	۳/٦۸ a	۸۹/۱٦a
MCC441	۷۵	۱/۱۹ bcd	۸/٤٦ a	۹/٦٦ ab	۷/۱۳ a	۲/۷۰ bc	۸۸/۸۳a
MCC441	۵۰	۱/۱۲ cd	۷/۰٦ bc	۸/۱۳ c	۵/۹۵ b	۲/۷٦ bc	۸٤/۵۰b
MCC441	۲۵	۱/۰۰ d	۵/۸۸ e	٦/۸۹ e	۵/۲۲ b	۲/۵۵ c	۷۹/۳۳cd

بر اساس نتایج آنالیز واریانس اثرهای اصلی ژنوتیپ، تنش، SA و اثرمتقابل تنش × ژنوتیپ، SA × ژنوتیپ و تنش ×SA × ژنوتیپ بر محتوای کاروتینوئیدهای گیاه در سطح آماری ۱٪ معنی دار شد. (جدول۱).

بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده ها میزان کاروتینوئید در ژنوتیپ MCC358 بیشتر از ژنوتیپ MCC441 بود(جدول۲). تنش خشکی محتوای کاروتینوئید گیاه را کاهش داد که این کاهش در سطوح تنش۵۰٪ و ۲۵٪ نسبت به شاهد بیشتر بود(جدول۲). در ژنوتیپ MCC441 تمام سطوح تنش باعث کاهش معنی دار کاروتینوئیدها نسبت به شاهد شدند. اما این سطوح تنش از لحاظ آماری تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند. در ژنوتیپ MCC358 کاهش معنی دار کاروتینوئیدها مربوط به سطوح تنش۵۰٪ و۲۵٪ نسبت به شاهد بود. بر اساس نتایج به دست آمده تنش خشکی توانست باعث کاهش بیشتر محتوای کاروتینوئید گیاه نسبت به شاهد در ژنوتیپ MCC441 شود. بنابراین تاثیر پذیری ژنوتیپ MCC441 در شرایط تنش خشکی بیشتر از ژنوتیپ دیگر بوده است. تیمار SA به تنهایی توانست میزان کاروتینوئیدها را به طرز معنی داری نسبت به شاهد افزایش دهد (جدول۲). برهمکنش SA و ژنوتیپ نشان داد که تیمار SA تنها باعث افزایش معنی دار محتوای کاروتینوئید در ژنوتیپ MCC358 شده است و SA نتوانست بر میزان کاروتینوئید ژنوتیپ MCC441 تاثیر معنی داری داشته باشد. (شکل٤). باندی یوپادهیای (۱۹۹۹) بیان کرده است که نقش اصلی کاروتینوئیدها خاموش سازی مستقیم کلروفیل سه تایی و جلوگیری از تولید اکسیژن یک تایی و در نهایت جلوگیری از آسیب اکسیداتیو می باشد، در واقع کاروتینوئیدها از طریق فروکش کردن سریع وضعیت برانگیخته کلروفیل، حفاظت نوری را انجام می دهد. در شرایط تنش مقدار کارو تنوئیدها کاهش یافته و نمی توانند نقش حفاظتی خود را انجام دهند، ولی کاهش آن ها نسبت به کلروفیل ها کمتر است(باندی یوپادهیای و همکاران، ۱۹۹۹). کاهش محتوای کاروتینوئیدی می تواند به دلیل اکسید شدن آن ها توسط اکسیژن فعال و تخریب ساختار آن ها باشد (باندی یوپادهیای و همکاران، ۱۹۹۹). از طرفی مطالعات دیگری افزایش میزان کاروتینوئیدها را در شرایط تنش خشکی نشان می دهند. به عنوان مثال وانگ و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کرده اند که میزان کاروتینوئیدها در برگهای گندم زمستانه تحت تنش خشکی افزایش می یابد. بنابراین به نظر می رسد که تاثیر تنش خشکی بر میزان کاروتینوئیدها یکسان نباشد. نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که تیمار SA باعث افزایش میزان کاروتینوئیدها شد که این افزایش در ژنوتیپ MCC358 نسبت به شاهد بیشتر از ژنوتیپ دیگر بود(شکل۵). در رابطه با تاثیر SA بر محتوای رنگریزه های فتوسنتزی حیات و همکاران(۲۰۰۹) گزارش کردند که درگیاه *Brassica junnica* افزایش شاخص رشد و رنگریزه های فتوسنتزی در پاسخ به پیش تیمار SA با غلظت 10^{-5} مول ممکن است مربوط باشد به القای پاسخ های آنتی اکسیدانی، که سلول را از آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تنش محافظت می‌کند، مربوط باشد. در چنین شرایطی گیاه به منظور ادامه جذب آب، از طریق تجمع ترکیبات اسمزی از جمله کربوهیدرات‌های محلول و پرولین، پتانسیل اسمزی خود را کاهش می دهد و به عبارت دیگر تنظیم اسمزی صورت می‌گیرد.



شکل ٤- مقایسه میانگین تاثیر اسید سالیسیلیک بر نسبت کلروفیل a/b در ژنوتیپ های نخود (MCC358 و MCC441)، میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می باشند، مطابق آزمون دانکن (P<۰/۰۵)تفاوت معنی داری ندارند.



شکل ٥- مقایسه میانگین تاثیر اسید سالیسیلیک بر میزان کاروتینوئید در ژنوتیپ های نخود (MCC358 و MCC441)، میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می باشند، مطابق آزمون دانکن(P<۰/۰۵)تفاوت معنی داری ندارند.

نتیجه گیری

بر طبق مشاهدات حاصل می توان گفت با وجود اینکه تنش خشکی توانست در برخی از پارامترهای اندازه گیری شده در ژنوتیپ MCC358 نسبت به ژنوتیپ MCC441 تغییرات بیشتری اعمال کند، اما در مجموع تاثیر تنش خشکی بر ژنوتیپ MCC441 بیشتر بود. از طرفی تیمار SA (mM ۰/۷) در شرایط تنش خشکی در بهبود صفات تغییر یافته در این شرایط بر ژنوتیپ MCC358 بیشتر از MCC441 بود و احتمالا MCC441 نسبت به MCC358 از نظر میزان تحمل شرایط تنش خشکی حساسیت بیشتری دارد و MCC358 مقاومت بیشتری را در شرایط تنش زا از خود نشان می دهد.

سپاسگزاری

با تشکر فراوان از پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد که در امر تهیه نمونه پژوهش کمک های شایانی نمودند.

منابع

خزاعی، ح. م، پارسا. ف، حسین پناهی. ۱۳۸۷. اثرات تلقیح نژادهای بومی ریزوبیوم بر گرهزایی ژنوتیپ های دسی و کابلی نخود تحت رژیم های مختلف رطوبتی در مرحله رشد رویشی(*Cicer arietinum* L.) . مجله پژوهش‌های زراعی ایران، جلد٦، شماره ۱ ، ۸۹-۹۷

فاضلیان، ن. و ز، اسرار. ۱۳۹۰. تأثیر برهمکنش آرسنیک و سالیسیلیک اسید بر رشد و برخی از شاخصهای فیزیولوژیک (*Matricaria recutita* L.)گیاه بابونه، مجله زیست شناسی گیاهی، جلد ۳، شماره ۸ ، ۱۰-۱

Abedi, T. and H. Pakntyat. 2010. Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.). Czech J. Gen. Plant Breed. 16: 27-34.

Amborabe, B.E. and P. Fleurat-Lessard.2002. Antifungal effects of salicylic acid and other benzoic acid derivatives towards *Eutypa lata*: structure-activity relationship. Plant Physiol. Biochem. 40:1051

Amiri A., S.R. Parsa, M. Nezami and A. Ganjeali. 2011. The effects of drought stress at different phenological stages on growth indices of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in greenhouse conditions. J. Puls. Res. 1: 69-84

Hayat, S., A. Masood, M. Yusef, Q. Fariduddin and A. Ahmad. 2009. Growth of Indian mustard (*Brassica juncea* L.) in response to salicylic acid under hight-temperature stress. Braz J. Plant Physiol. 21:187- 195

Kang.G. 2003. Salicylic acid changes activities of H_2o_2 metabolizing enzymes and increases the chilling tolerance of banana seedlings. Environ. Exp. Bot. 50:9-15

Khan W., P. Balakrishnan and D.L. Smith. 2003. Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. J. Plant Physiol. 160: 485-492

Khodabakhsh F., R. Amooaghaie, A. Mostajeran and G. Emtiazi. 2010. Effect of hydro and osmopriming in two commercial chickpea cultivars on germination, growth parameters and nodules number in salt stress condition. J. Plant Biol. 2: 147-153

Lichtenthaler. H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods Enzymol. 148:350-382

Mafakheri A., A. Siosemardeh, B. Bahramnejad, P.C. Struik and Y. Sohrabi. 2011. Effect of drought stress and subsequent recovery on protein, carbohydrate contents, catalase and peroxidase activities in three chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. Aust. J. Crop Sci. 5: 1255-1260

Millan T., H. J. Clarke, K. H. M. Siddique, H. K. Buhariwalla, P. M. Gaur, K. Jagdish, Gil J., Kahl G., and P. Winter. 2006. Chickpea molecular breeding:New tools and concepts. Euphytica. 147: 81-103

Nyachiro, J.M., F.R. Clarke, R.M. DePauw, R.E. Knox and K.C. Armstrong. 2002. Temperature effects on seed germination and expression of seed dormancy in wheat. Euphytica. 126: 123-127

Omidi H., F. Movahadi and S.H. Movahadi. 2012. The effect of salicylic acid and scarification on germination characteristics and proline, protein and soluble carbohydrate content of Prosopis *(Prosopis farcta L.*) seedling under salt stress. Rang. Des. Res. 18: 608-623

Sairam R.K., G.C. Srivastava, S. Agarwal and R.C. Meena. 2005. Differences in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes. Biol. Plant. 49: 85-91

Siddique , M.R.B., A. Hamid and M.S. Islam. 1999. Drought stress effects on photosynthetic rate and leaf gas exchange of wheat. Botanical Bulletin of Academia Sinica. 40: 141-145

Wang L., L. Fan, W. Loescher, W. Duan, G.Liu, J. Cheng, H. Luo and S. Li. 2010. Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under heat stress and accelerates recovery in grapevine leaves. BMC Plant Biol. 10: 34-48

Effect of salicylic acid on physiological and biochemical parameters on resistant and sensitive chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes under drought stress

R. Ramezannezhad[1], M. Lahouti[2], A. Ganjali[2]
Received: 2012-10-28 Accepted: 2013-4-27

Abstract

In order to study the effect of drought stress and salicylic acid on parameters of physiology (membrane stability index) and biochemical (photosynthetis pigments) an experiment was conducted under four drought levels, based on Field Capacity (100% FC, 75% FC, 50% FC, 25% FC) and treatment of Salicylic acid (0 , 0.7 mM) using a completely randomized design with three replications. The results showed increasing drought levels significantly decreased all parameters except chlorophyll a/b ratio in two genotypes. Application of salicylic acid (0.7 Mm) significantly increased membrane stability index and carotenoids in MCC358 genotype and also increased chlorophyll b and total chlorophyll content in MCC441 genotype. It seems that inhibitory effect of drought stress in MCC441 genotype was more effective than MCC358 genotype. Also, Application of salicylic acid could not improve growth parameters in MCC441genotype.

Key Words: carotenoid, chlorophyll, drought stress, salicylic acid, membrane stability index

1- Graduated Student, Ferdosi University of Mashhad
2- Academic Staff, Ferdosi University of Mashhad