



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "تحقیقات کاربردی اکوفیزیولوژی گیاهان"

دوره اول، شماره دوم، تابستان ۹۳

<http://arpe.gonbad.ac.ir>

بررسی اثر غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم، سالیسیلیک اسید و جیبرلیک اسید بر محتوای پرولین و کلروفیل‌های a و b در دو رقم کلزا (هایولا ۴۰۱ و RGS)

احسان نظریگی^۱، حسین‌علی فلاحتی^۲، رحیم ناصری^۳، امیر میرزایی^۴ و *مرضیه رشیدپور^۵
^۱ کارشناسی ارشد زیست‌شناسی گیاهی، مرکز آموزش عالی علمی کاربردی پارسین (ایلام ۱)، ^۲ مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گلستان، ^۳ دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشگاه ایلام، ^۴ مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی ایلام، ^۵ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم‌شهر
 تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۹/۱۸؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۳/۳۱

چکیده

در پژوهش حاضر اثرات غلظت‌های مختلف شوری در سطوح صفر، ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، جیبرلیک اسید (GA₃) در سطح ۰/۰۵ میلی‌مولار و سالیسیلیک اسید (SA) در سطح پنج میکرومولار روی مقادیر کلروفیل‌های a، b و محتوای پرولین کلزا، واریته هایولا ۴۰۱ و RGS مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش میزان شوری، مقادیر کلروفیل‌های a و b کاهش معنی‌داری یافت که میزان کاهش کلروفیل b در تمامی تیمارها بیشتر از کلروفیل a بود. مقدار کاهش کلروفیل در رقم RGS بیشتر از رقم هایولا ۴۰۱ بود. کاربرد SA بر روی تیمارهای مختلف شوری باعث افزایش معنی‌دار کلروفیل‌های a و b گردید. کاربرد GA₃ نیز در تیمارهای ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار شوری باعث افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل‌های a و b شد؛ در صورتی‌که در تیمار ۱۵۰ میلی‌مولار این افزایش مشاهده نگردید و فاقد اثر بود. کاربرد همزمان GA₃ و SA نیز در دو غلظت اول (۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار) اثر افزایشی و در غلظت بالا به دلیل عدم عملکرد GA₃ تأثیر زیادی نداشت. با اندازه‌گیری محتوای پرولین مشاهده شد که شوری سبب افزایش معنی‌دار در میزان پرولین در ریشه و برگ می‌گردد. کاربرد SA و GA₃ باعث افزایش معنی‌دار محتوای پرولین تحت سه غلظت NaCl گردید و اثر افزایشی اعمال شده در محتوای پرولین توسط SA بیشتر از GA₃ مشاهده شد. کاربرد همزمان هر دو نیز باعث افزایش بیش از پیش محتوای پرولین در دو غلظت ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار گردید. به نظر می‌رسد که رقم هایولا ۴۰۱ در مقایسه با رقم RGS توانایی بیشتری در مقابل استرس شوری از خود نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، جیبرلیک اسید، سالیسیلیک اسید، کلروفیل a، کلروفیل b، کلزا

*مسئول مکاتبه: mrashidpor@gmail.com

مقدمه

کلزا پس از سویا و نخل روغنی، مقام سوم را در تأمین روغن خوراکی جهان دارد (Kunber and MacGergor, 1995). شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های اسمزی است که به‌طور قابل ملاحظه‌ای رشد و تولید گیاه را محدود می‌کند (Khavi et al., 1995). اگر غلظت نمک محلول به قدری بالا باشد که پتانسیل آب خاک را به ۰/۵ الی ۱ بار کاهش دهد، در این صورت تنش شوری در محیط بروز می‌کند (Levitt, 1972). تنش شوری مانند هر تنش دیگری به انحراف از شرایط بهینه حیاتی می‌انجامد. تغییرات ایجاد شده و پاسخ‌های تمام سطوح عملکردی گیاه در ابتدا ممکن است قابل برگشت باشند، ولی با تداوم تنش و کاهش توان سازگاری گیاه، آسیب‌های وارده غیرقابل برگشت بوده و موجب کاهش رشد گیاه خواهد شد (Larcher, 1995).

طبق آزمایشی کاهش محتوای کلروفیل در گیاه خردل که در معرض تیمار شوری قرار گرفته بود، در مقایسه با تیمارهای کنترل، باعث کاهش میزان خالص مواد فتوسنتزی گردید (Afroz et al., 2005). یکی از اثرات تنش شوری در گیاه، کاهش فعالیت فتوسنتزی است که موجب کاهش مقدار کلروفیل-های a، b و کاهش جذب CO₂ و ظرفیت فتوسنتزی می‌شود (Francisco et al., 2002). شکاری (Shekari, 1998) ضمن بررسی اثر شوری بر گیاه کلزا گزارش کرد که با افزایش شوری از مقدار کلروفیل‌های a و b کاسته می‌شود. خان و همکاران (Khan et al., 1997) کاهش مقدار کلروفیل‌های a، b و کلروفیل کل همزمان با افزایش سطوح شوری را در ارقام یونجه گزارش کردند. پرولین به‌عنوان یک محافظ آنزیمی پایدار کننده ساختمان ماکرومولکول‌ها و منبع اصلی انرژی و نیتروژن در مقابل شوری به‌شمار می‌رود (Ghorbanli et al., 2006). افزایش محتوی پرولین تحت تنش شوری و حضور سالیسیلیک‌اسید توسط شاکیرا و همکاران (Shakirova et al., 2003) در گیاهچه‌های گندم گزارش شده است. پرولین یک اسمولیت مهم می‌باشد که در بسیاری از میکروارگانیسم‌ها و گیاهان تحت تنش شوری و خشکی سنتز می‌شود. بنابراین، به‌عنوان یک حفاظت‌کننده اسمزی در گیاهان عالی عمل می‌کند (Acosta and Bolarin, 1997).

جیبرلین‌ها شامل گروه بزرگی از مشتقات تتراسیکلیک دی ترپنوئید کربوکسیلیک اسید با بیش از ۱۰۰ ساختار شیمیایی مشخص شده در گیاهان و قارچ‌ها هستند (Garcia-Martinez, 1997). غنی‌ترین محل از نظر تولید جیبرلین در گیاهان شامل میوه‌ها، دانه‌ها، جوانه‌ها، برگ‌های جوان، نوک ریشه‌ها و انتهای ساقه می‌باشند (Lahooti, 2001). طی آزمایشاتی عنوان شد که جیبرلیک اسید، میزان کلروفیل‌های a و b مجموع کلروفیل و سرعت فتوسنتزی را تحریک کرده، شکل و ساختمان پلاستیدها را تغییر می‌دهد و همچنین این ماده می‌تواند میزان فعالیت آنزیم روبیسکو را در شرایط آزمایشگاهی تغییر دهد (Arteca et al., 1985). همچنین دلا-روزا و میتی (Dela-Rosa and Maiti, 1995) گزارش

کردند که کاربرد جیبرلیک اسید تحت تنش شوری موجب بالا رفتن میزان کلروفیل‌های a، b و بیوسنتز آن‌ها می‌گردد. طی یک آزمایش که روی گیاه ذرت، تحت تیمارهای شوری انجام شد، مشخص شد که تنش شوری موجب افزایش تجمع پرولین در برگ و ریشه می‌شود و با کاربرد هورمون جیبرلیک اسید، افزایش بیشتری در محتوای پرولین برگ و ریشه مشاهده شد (Tuha et al., 2007). با توجه به این که وجود خاک‌های شور به طرز چشم‌گیری بهره‌وری گیاهان را در زمین‌های زراعی و رشد گیاهان را در پوشش‌های گیاهی کاهش می‌دهند، باید مسأله شوری به‌عنوان یک مسأله حیاتی در نظر گرفته شود. هدف از این پژوهش، استفاده از مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی و هورمون‌های گیاهی جهت بهبود مقاومت گیاهان و به‌خصوص ارقام کلزا، در برابر شوری بود.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر روی دو رقم از کلزا با نام‌های هایولا ۴۰۱ و RGS صورت گرفت. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام پذیرفت. بذور ارقام‌های موردنظر از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان تهیه شدند. بذورهای سالم و یکنواخت در محلول هیپوکلریت سدیم ۲۰ درصد برای مدت زمان ده دقیقه به‌صورت سطحی ضد عفونی شده و سپس با آب مقطر شستشو داده شدند. سپس به سبدهایی با منافذی با ابعاد تقریبی ۲×۴ mm و ۱×۳ mm انتقال داده شدند. این محیط تا زمان رسیدن به مرحله دو برگی مورد استفاده قرار گرفت. پس از گذشت مدت زمان یک هفته گیاهان یکنواخت از نظر اندازه انتخاب شده و به ظروف تیره (۶۵۰CC) که حاوی محلول نیم قدرت هوگلند (هیدروپونیک) بود، منتقل شدند. پس از گذشت مدت زمان ۲۴ ساعت تحت تیمارهای مختلف (غلظت‌های صفر، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و ۰/۰۵ میلی‌مولار جیبرلیک اسید و پنج میکرومولار سالیسیلیک اسید) در سه تکرار قرار گرفتند. تیمارها به‌صورت ۱- کلریدسدیم، ۲- کلرید سدیم + جیبرلیک اسید، ۳- کلریدسدیم + سالیسیلیک اسید و ۴- کلریدسدیم + جیبرلیک اسید + سالیسیلیک اسید در نظر گرفته شدند. گیاهان در طول مدت ۲۰ روز در یک اتاقک مخصوص با شرایط نوری مناسب رشد کردند. طول دوره روشنایی و تاریکی به‌ترتیب ۱۶ و هشت ساعت و pH در تمام محلول‌های غذایی در حد ۶/۵ تنظیم شد. پس از گذشت مدت زمان ۲۰ روز، برای اندازه‌گیری تغییرات کلروفیل‌های a و b از روش آرنون (Arnon, 1957) استفاده شد. به این صورت که ۰/۲ گرم برگ تر گیاه را جدا کرده، در هاون چینی همراه با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شد. سپس، سوسپانسیون درون سانتریفیوژ گذاشته شد تا عمل جداسازی دو فاز انجام گیرد و سپس حجم نهایی عصاره با ۱۰ میلی‌لیتر دیگر استون ۸۰ درصد به ۲۰ میلی‌لیتر رسانده شد. جهت محاسبه میزان کلروفیل‌های a و b جذب محلول در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر با توجه به وزن تر هر نمونه

بر حسب میلی گرم وزن تر ($mg.g^{-1}.Fw$) ارزیابی شد. برای اندازه‌گیری محتوی پرولین، مطابق روش بیتز و همکاران (Bates et al., 1973) عمل شد. ابتدا ۰/۵ گرم ماده تر گیاهی در ۱۰ میلی لیتر محلول سه درصد سولفوسالیسیلیک اسید سائیده شد؛ سپس مخلوط همگن حاصل را با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره دو صاف شده و از هر نمونه دو میلی لیتر برداشته شد. پس از آن به هر کدام از آن‌ها دو میلی لیتر معرف اسید ناین هیدرین (حاصل افزودن ۱/۲۵ گرم ناین هیدرین به ۳۰ میلی لیتر اسید استیک خالص) و دو میلی لیتر اسید استیک خالص اضافه شد. لوله‌ها به مدت یک ساعت در بن‌ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار داده شدند و سپس در حمام یخ به مدت نیم ساعت نگه داشته شدند. در مرحله‌ی بعد، چهار میلی لیتر تولوئن به هر لوله اضافه شده و پس از تکان دادن لوله و سپس نگه داشتن آن به مدت ۲۰ ثانیه دو لایه مجزا تشکیل شد. سرانجام جذب لایه رنگی فوقانی (حاوی تولوئن و پرولین) در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد و محتوای پرولین با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد. آنالیز داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS (Ver. 14)، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش دانکن انجام شد. نمودارها توسط نرم‌افزار Excel رسم گردیدند.

نتایج و بحث

کلروفیل‌های a و b: کلروفیل‌ها گروهی از ترکیبات آلی را شامل می‌شوند که بسیار شبیه هم هستند و حاصل یکسری فعل و انفعالات شیمیایی در سلول‌های فتوسنتزی هستند. وجود عوامل محدود کننده مانند تنش شوری موجب اختلال در سنتز کلروفیل در گیاه می‌شود. نتایج به‌دست آمده از سنجش کلروفیل‌های a و b نشان می‌داد که با افزایش غلظت کلرید سدیم در محلول غذایی هوگلند، میانگین کلروفیل‌های a و b به‌صورت معنی‌داری ($P < 0/01$) در هر دو رقم کاهش می‌یافت (جدول ۱ و شکل ۱ و ۲).

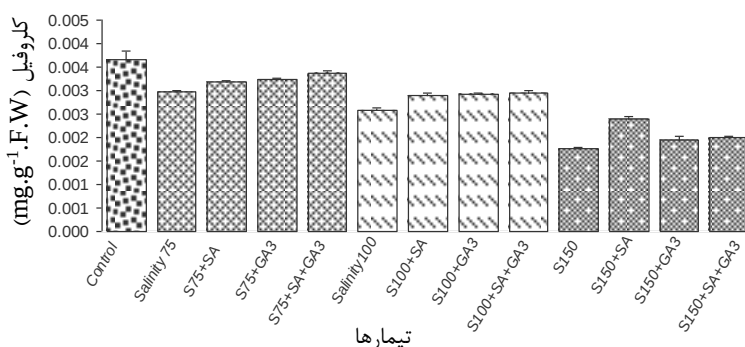
جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در کلزا

منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	میانگین مربعات MS	پرولین برگ	پرولین ریشه
رقم	۱	۰/۰۰۰۰۸۰۸**	۰/۰۰۰۰۱۶**	۰/۰۰۰۰۶۱**	۰/۰۰۰۰۷۴**	۰/۰۰۰۰۱۰**
شوری	۱۲	۰/۰۰۰۰۰۲۸۱**	۰/۰۰۰۰۰۱۹**	۰/۰۰۰۰۰۸۲**	۰/۰۰۰۰۰۹۴ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۱۲ ^{ns}
اثر متقابل رقم × شوری	۱۲	۰/۰۰۰۰۰۰۱۱**	۰/۰۰۰۰۰۰۱۷**	۰/۰۰۰۰۰۰۰۵	۰/۰۰۰۰۰۰۳۵	۰/۰۰۰۰۰۰۳۵
خطا	۴۹	۰/۰۰۰۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۰۰۰۵	۰/۰۰۰۰۰۰۰۵
ضریب تغییرات (درصد)	-	۲/۱۸	۲/۳۸	۳/۷	۳/۲۵	۳/۲۵

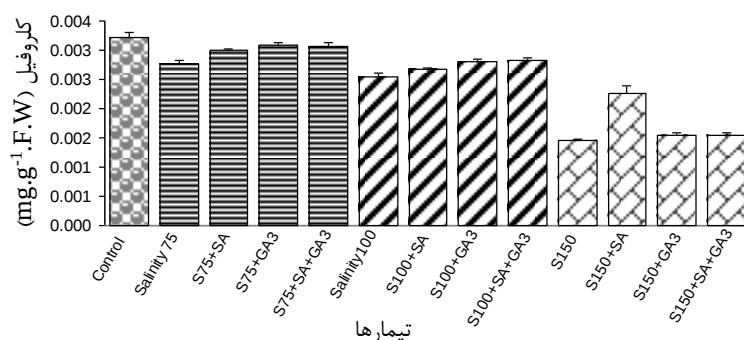
ns و ** به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد می‌باشد.

میزان کاهش مشاهده شده در کلروفیل b بیشتر از کلروفیل a بود. به نظر می‌رسد کاهش ضخامت تیغه‌های تیلاکوئید و تخریب کلروپلاست‌ها به دلیل کاهش محتوای کلروفیل بوده است. کلروفیل‌های a و b به‌طور یکسان تحت تأثیر شوری قرار نمی‌گیرند، زیرا کلروفیل a تجزیه‌پذیرتر است (Kiarostami et al., 2012). کاهش غلظت کلروفیل از عوامل مهم مؤثر در میزان ظرفیت فتوسنتزی گیاه به‌شمار می‌رود و افزایش درجه شوری موجب کارایی ضعیف برگ‌ها در انجام فتوسنتز و تشدید صدمات تنش می‌شود. بنابراین کاهش صفات رویشی را می‌توان به کاهش میزان مواد فتوسنتزی برای تأمین رشد سبزینه‌ای نسبت داد (Abd El-Baky et al., 2008). از مهم‌ترین دلایل کاهش کلروفیل‌ها، تخریب آن‌ها به‌وسیله اکسیژن فعال می‌باشد. از طرف دیگر رقابت و پیشی گرفتن آنزیم گلوتامیل کیناز به هنگام تنش شوری از آنزیم گلوتامات لیگاز (اولین آنزیم مسیر بیوسنتز کلروفیل) باعث می‌شود تا پیش‌ساز گلوتامات بیشتر به مصرف اسید آمینه‌ها به‌ویژه پرولین برسد. بنابراین بیوسنتز کلروفیل با محدودیت مواجه می‌شود (Gibon et al., 2000). لوسی و همکاران (Locy et al., 1996) افزایش مقدار کلروفیل‌های a و b و کل را در توتون و ذرت تحت تنش شوری گزارش کردند. لوتوس و همکاران (Lutts et al., 1996) بیان کردند که شوری موجب تسریع پیری برگ‌های برنج شده و مقدار کلروفیل را کاهش می‌داد. پژوهش‌گران، کاهش مقدار کلروفیل تحت اثر تنش شوری را به افزایش فعالیت آنزیم کلروفیل‌از و یا سست شدن کمپکس لیپیدی- پروتئینی رنگیزه و همچنین به انحراف مسیر متابولیک به سمت تولید ترکیبات نیتروژن‌دار مانند پرولین نسبت داده‌اند (Alpaslani et al., 1996). والیا و همکاران (Valia et al., 1993) عنوان کردند که افزایش تولید پرولین در شرایط شوری موجب می‌شود تا گلوتامات که پیش‌ساز ساخت کلروفیل و پرولین است، کمتر در مسیر بیوسنتز کلروفیل قرار گیرد. بنابراین یکی از عوامل کاهش میزان کلروفیل، جلوگیری از بیوسنتز کلروفیل توسط شوری است. کاربرد سالیسیلیک اسید با غلظت پنج میکرومولار در هر دو رقم به افزایش معنی‌دار ($P < 0.01$) میانگین کلروفیل‌های a و b نسبت به تیمارهای کلرید سدیم منجر شد (شکل ۳ و ۴). سیمایی (Simaie, 2002) عنوان کرد که در شرایط تنش شوری، مقدار کلروفیل‌های a و b و فتوسنتز به‌وسیله SA افزایش یافت. تأثیر سالیسیلیک اسید در بالا بردن محتوای کلروفیل‌های a و b تحت تنش شوری در گیاهانی از قبیل ذرت خوشه‌ای، گوجه‌فرنگی و سویا گزارش شده است (Khodary, 2004). طبق آزمایشات دلا- روزا و میتی (Dela-Rosa and Maiti, 1995) روی گیاه سورگوم، افزایش کلروفیل‌های a و b تحت تیمار سالیسیلیک اسید در تنش شوری معنی‌دار بود. کاربرد جیبرلیک اسید، با غلظت ۰/۰۵ میلی‌مولار تحت غلظت‌های ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم باعث افزایش معنی‌دار میانگین کلروفیل‌های a و b در هر دو رقم شد؛ اما در تیمارهای شوری بیشتر (۱۵۰ میلی‌مولار) فاقد اثر مثبت بود. گزارشات متناقضی در منابع مختلف در مورد به‌کارگیری جیبرلیک اسید در فرآیندهای فتوسنتزی وجود

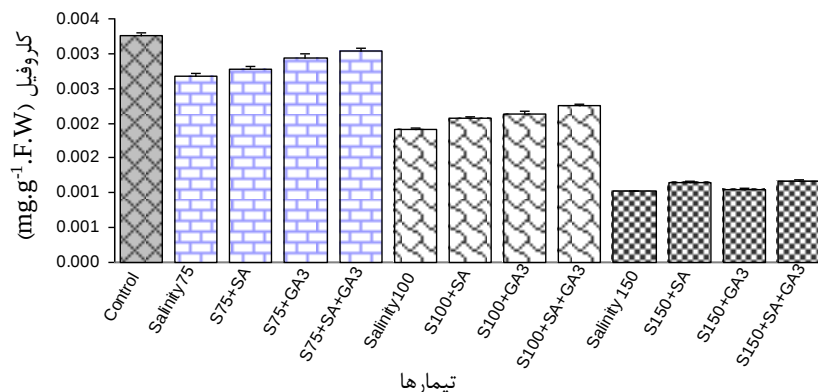
دارد که برخی از آن‌ها بیانگر افزایش (Wareing *et al.*, 1968) و گروهی نیز نشان دهنده کاهش این فرایندها هستند (Sanhla and Tuber, 1974). طی آزمایشاتی مشخص گردید که کاربرد GA_3 فعالیت فتوسنتزی را به مدت یک هفته در گیاه گوجه فرنگی افزایش می‌دهد؛ اما در انتها اظهار گردید که افزایش در میزان فتوسنتز به علت افزایش کلروفیل‌ها و فعالیت فتوسنتزی نبوده بلکه به علت افزایش در مساحت سطح برگ ایجاد شده است (Hayashi, 1961). در این آزمایش کاربرد هم‌زمان هورمون جیبرلیک اسید و سالیسیلیک اسید باعث افزایش میزان کلروفیل‌های *a* و *b* گردید. با مقایسه دو رقم مشاهده شد که رقم هایولا ۴۰۱ نسبت به رقم RGS کاهش کمتری در میانگین کلروفیل‌های *a* و *b* تحت تنش شوری از خود نشان داده است و در نتیجه بردباری بیشتری نسبت به شرایط تنش شوری داشت.



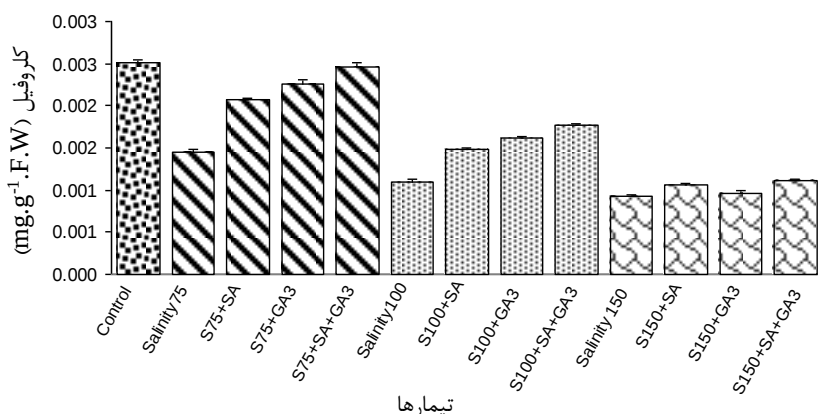
شکل ۱- مقایسه میانگین جیبرلیک اسید و سالیسیلیک اسید در غلظت‌های مختلف کلرید سدیم روی میزان کلروفیل *a* در رقم هایولا ۴۰۱



شکل ۲- مقایسه میانگین جیبرلیک اسید و سالیسیلیک اسید در غلظت‌های مختلف NaCl روی میزان کلروفیل *b* در رقم هایولا ۴۰۱



شکل ۳- مقایسه میانگین جیبرلیک اسید و سالیسیلیک اسید در غلظت‌های مختلف کلرید سدیم روی میزان کلروفیل a در رقم RGS تیمارها



شکل ۴- مقایسه میانگین جیبرلیک اسید و سالیسیلیک اسید در غلظت‌های مختلف کلرید سدیم روی میانگین کلروفیل b در رقم RGS تیمارها

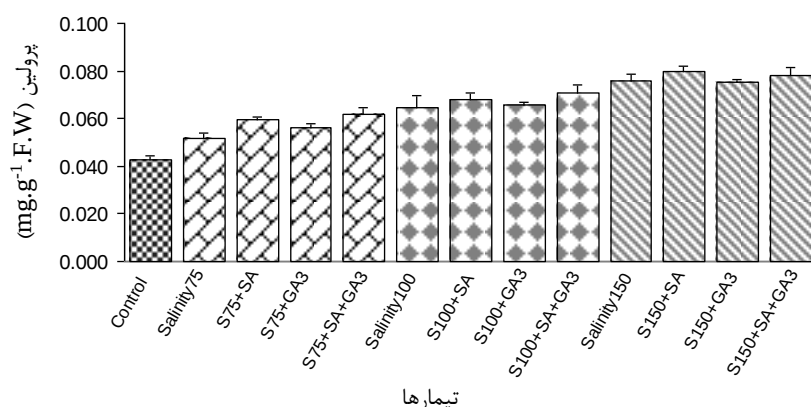
محتوای پرولین: طبق نتایج به دست آمده در این پژوهش همزمان با افزایش سطوح کلرید سدیم، افزایش معنی‌داری در سطح احتمال ($P < 0.01$) در میزان پرولین برگ و ریشه در هر دو رقم هایولا ۴۰۱ و RGS مشاهده شد (جدول ۱). در تیمار شوری مشخص شد که تیمار ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم نسبت به بقیه تیمارها دارای اثر بیشتری بر میزان پرولین برگ و ریشه بود و آن را افزایش داد. (شکل‌های ۵ و ۶). مقایسه دو رقم نشان داد که افزایش میزان پرولین در برگ و ریشه رقم هایولا ۴۰۱ بیشتر از رقم RGS بود. گزارشات متعددی در مورد افزایش محتوای پرولین در شرایط تنش شوری

وجود دارد. اهمیت انباشتگی پرولین در حفظ وضعیت آبی گیاه از اهمیت سایر مواد سازگار کننده بیشتر است. به‌طوری که به‌عنوان بهترین اسمولیت انباشته شده در شرایط تنش عمل می‌کند. ممکن است تحریک سنتز پرولین در شرایط تنش یک نوع محل مصرف مواد احیا شده در تنفس و فتوسنتز جهت حفظ این فرایندها باشد (Larcher, 1995).

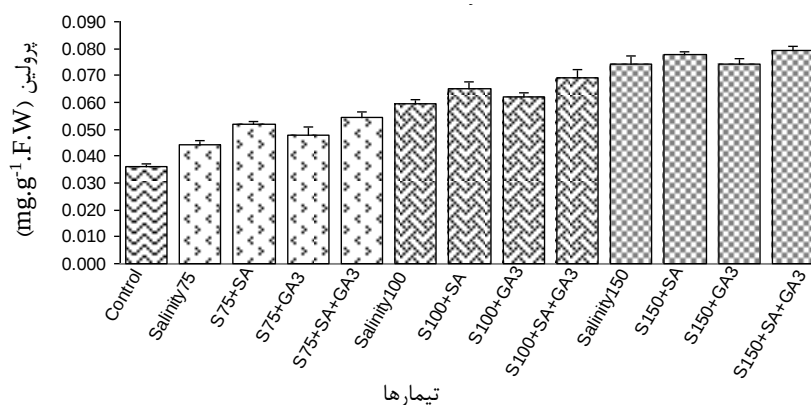
کاربرد سالیسیلیک‌اسید با غلظت پنج میکرومولار سبب افزایش معنی‌دار در $(P < 0.01)$ محتوای پرولین برگ و ریشه در هر دو رقم شد که این افزایش در رقم هایولا ۴۰۱ بیشتر از رقم RGS بود. افزایش پرولین تحت تنش شوری و حضور سالیسیلیک‌اسید توسط شکیروا و همکاران (Shakirova et al., 2003) در دانه رست‌های گندم گزارش شد. طی این گزارش تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به کاهش قابل توجهی در میزان قند کل در گیاه منجر شد که در این شرایط سالیسیلیک‌اسید با فراهم کردن مجموعه‌ای از محلول‌های سازگار کننده از جمله پرولین در حضور سدیم، کاهش در محتوای قند را به‌طور جزئی جبران کرد. افزایش پرولین نه تنها در سازگاری اسمزی بلکه در حفظ مخزن کربوهیدرات‌ها در کلروپلاست‌ها هم اهمیت دارد. در تحقیق حاضر کاربرد جیبرلیک‌اسید باعث افزایش میزان پرولین تحت تیمارهای شوری شد. افزایش محتوای پرولین توسط سالیسیلیک‌اسید از افزایش اعمال شده توسط جیبرلیک‌اسید بیشتر بود (شکل‌های ۷ و ۸). افزایش میزان پرولین در گیاهان در پاسخ گیاهان به تیمار سالیسیلیک‌اسید در شرایط شوری ممکن است به نقش محافظت از غشا مربوط شود که باعث بالا رفتن تحمل گیاه در برابر آسیب‌ها می‌شود (Kafi and Mahdavi, 2010). کرونادو و همکاران (Coronado et al., 1998) گزارش دادند که سالیسیلیک‌اسید باعث افزایش رشد ریشه سویا گردید.

تونا و همکاران (Tuna et al., 2007) طی آزمایشی روی گیاه ذرت تحت تیمارهای شوری دریافتند که تنش شوری موجب افزایش تجمع پرولین در برگ و ریشه گیاه مذکور گردید و با کاربرد هورمون جیبرلیک‌اسید، محتوای پرولین افزایش بیشتری می‌یابد. در این آزمایش کاربرد همزمان جیبرلیک‌اسید و سالیسیلیک‌اسید نیز باعث افزایش میزان پرولین در برگ و ریشه هر دو رقم و در نتیجه تعدیل تنش وارده به گیاهان گردید. تجمع پرولین در برگ مکانیسم سازشی مهمی برای تحمل به شوری است. پرولین یک اسمولیت است و با کاهش پتانسیل اسمزی جذب یون‌های سمی را کاهش می‌دهد. گزارش شده است که در شرایط تنش شوری پرولین نقش مهمی در افزایش تحمل گیاه دارد (Miri, 2009). پرولین احتمالاً در سلول‌های تحت تنش، نقش آنتی‌اکسیدانی دارد و با تجمع در سیتوپلاسم سلول‌ها از طریق کاهش پتانسیل اسمزی درون سلولی تجمع نمک در واکوئل را تنظیم می‌کند (Akhkha et al., 2011). سامارت و همکاران (Summart et al., 2010) نشان دادند که تنش شوری در گیاهچه‌های برنج موجب افزایش میزان پرولین نسبت به شاهد گردید. تحت تنش شوری ارقام متحمل‌تر مقادیر

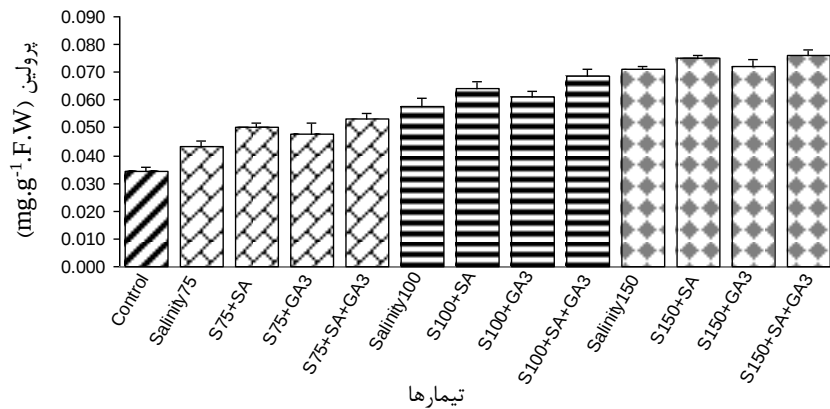
بالا تری از پرولین را در برگ‌های خود تجمع می‌دهند. سالیسیلیک اسید نیز می‌تواند باعث القای تجمع پرولین در گیاهچه‌های گندم شود که این امر با دخالت اسید آسبیزیک حمایت می‌شود. در نتیجه موجب کاهش تأثیرات زیان‌آور تنش شوری و کم آبی بر گیاهچه‌ها می‌گردد (Sakhabutdinova *et al.*, 2003).



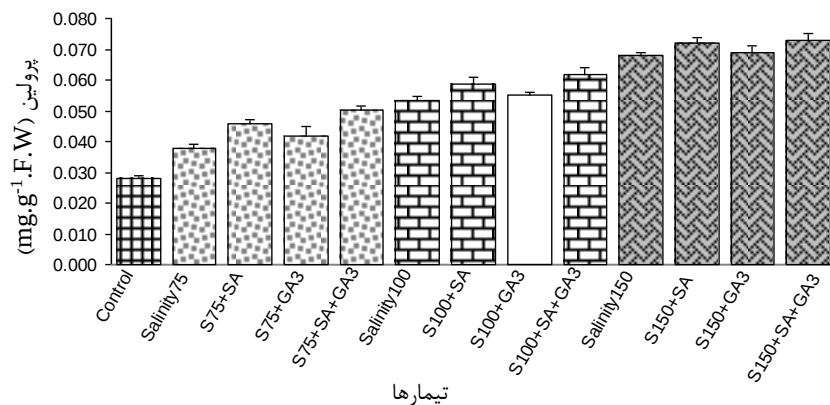
شکل ۵- مقایسه میانگین جیبرلیک اسید و سالیسیلیک اسید در غلظت‌های مختلف کلرید سدیم بر محتوی پرولین در برگ رقم هایولا ۴۰۱



شکل ۶- مقایسه میانگین جیبرلیک اسید و سالیسیلیک اسید در غلظت‌های مختلف کلرید سدیم روی محتوای پرولین در ریشه رقم هایولا ۴۰۱



شکل ۷- بررسی اثرات جیبرلیک‌اسید و سالیسیلیک‌اسید در غلظت‌های مختلف کلرید سدیم روی محتوای پرولین در برگ رقم RGS



شکل ۸- بررسی اثرات جیبرلیک‌اسید و سالیسیلیک‌اسید در غلظت‌های مختلف کلرید سدیم بر محتوای پرولین در ریشه رقم RGS

نتیجه‌گیری

با افزایش میزان شوری، کلروفیل b کاهش بیشتری نسبت به کلروفیل a از خود نشان داد و در مقایسه دو رقم، بیشترین کاهش مربوط به رقم RGS بود. کاربرد سالیسیلیک‌اسید بر روی تیمارهای مختلف شوری باعث افزایش معنی‌دار کلروفیل‌های a و b شد. همچنین کاربرد جیبرلیک‌اسید در تیمارهای ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار باعث افزایش میزان کلروفیل‌های a و b شد ولی در تیمار شوری ۱۵۰ میلی‌مولار این افزایش مشاهده نشد. کاربرد همزمان جیبرلیک‌اسید و سالیسیلیک‌اسید نیز در دو

غلظت‌های (۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار) اثر افزایشی و در غلظت بالاتر به دلیل عدم عملکرد جیبرلیک اسید تأثیر زیادی نداشت. شوری سبب افزایش معنی‌دار در میزان پرولین در ریشه و برگ گردید. کاربرد سالیسیلیک اسید و جیبرلیک اسید به افزایش معنی‌دار محتوی پرولین تحت سه غلظت کلرید سدیم انجامید و اثر افزایشی اعمال شده در محتوی پرولین توسط سالیسیلیک اسید بیشتر از جیبرلیک اسید بود. کاربرد همزمان هر دو نیز تنظیم کننده باعث افزایش بیش از پیش محتوی پرولین در دو غلظت ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار گردید. به این ترتیب، با توجه به نتایج بدست آمده از این آزمایش به نظر می‌رسد که رقم هایولا ۴۰۱ در مقایسه با رقم RGS توانایی بیشتری در مقابل تنش شوری از خود نشان می‌دهد.

منابع

- Abd El-Baky H.M., Hussein M., El-Baroty G. 2008. Algal extracts improve antioxidant defense abilities and salt tolerance of wheat plant irrigated with sea water. *African Journal of Biochemistry*, 2. 151–164.
- Acosta M., Bolarin M. 1997. Changes in free polyamine levels induced by salt stress in leaves of cultivated and wild tomato species. *Physiologia planetarium*, 101(2):341 – 346.
- Afroz S., Mohammad F., Hayata S., Siddiqi M. 2005. Exogenous application of gibberellic acid counteracts the effect of Sodium chloride in mustard. *Turkish Journal of Biology*, 29:233-236.
- Akhkha A., Boutra T., Alhejely A. 2011. The rates of photosynthesis, chlorophyll content, dark respiration, proline and abscisic acid (ABA) in wheat (*Triticum durum*) under water deficit conditions. *International Journal of Agricultural and Biology*, 13: 215-221.
- Alpaslan M., Gunes A., Inal A. 1996. Effect of salinity on stomatal resistance, proline, mineral composition of pepper. *Journal of Plant Nutrition*, 12 (3): 415-422.
- Arnon D.I. 1957. Copper enzymes in isolated chloroplasts; polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24:1-15.
- Arteca R.N., Holcomb E.J., Schlagnhauer C., Tsai D.S. 1985. Effect of root applications of gibberellic acid on photosynthesis and of geranium plant grown hydroponically. *Horticulture Science*, 20: 925–927.
- Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water – stress studies. *Plant and Soil*, 39:205-207.
- Coronado M.A.G., Lopez C.T., Saavedra A.L. 1998. Effects of salicylic acid on the growth of roots and shoots in soybean. *Plant Physiology and Biochemistry*, 8: 563-565.
- Dela-Rosa I.M., Maiti R.K. 1995. Biochemical mechanism in glossy sorghum lines for resistance to salinity stress. *Journal of Plant Physiology*, 146: 515-519.

- Francisco G., Jhon L., Jifon S., Micaela C., James P.S. 2002. Gas exchange, chlorophyll and nutrient contents in relation to Na and Cl accumulation in 'sunburst' mandarin grafted on different root stocks. *Plant Science*, 35:314-320.
- Francois L.E. 1994. Growth, seed yield and oil content of canola grown under saline conditions. *Agronomy Journal*, 86:233-234.
- Garcia- Martinez J.L. 1997. Gibberellin metabolism and control of fruit growth. *Acta Horticulture*, 463: 39-52.
- Ghorbanli M., Maghise E., Sateie A. 2006. Effects of different soil salinity on ion and praline content two cultivars of Canola. *Iranian Journal of Rostaniha*, 7(1). (In Persian).
- Gibon Y., Sulpice R., Larher F. 2000. Proline accumulation in canola leaf discs subjected to osmotic related to stress is the loss of chlorophylls and to the decrease of mitochondrial activity. *Plant Physiology*, 110: 469-476.
- Kafi M., Mahdavi Damghani A. 2010. Mechanisms of Environmental Stress Resistance in Plants. Ferdowsi University of Mashhad Press, 467p.
- Khan. M.S.A., Hamid M., Karim A.M.A. 1997. Effect of sodium chloride on germination and seeding characters of different types of (*Medicago sativa* L.). *Crop Science*, 176: 163-169.
- Khavi Kishor P.B., Zonglie H., Guo-Hua M., Hu.Chein-An A., Desh pal S.V. 1995. Overexpression of n- pyrroline-5 carboxylate synthetase increase proline production and confers osmotolerans in transgenic plants. *Plants Physiology*, 108:1387-1394.
- Khodary S.E.A. 2004. Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis. and carbohydrate metabolism in salt stressed Maize plant. *International Journal of Agriculture and Biology*, 6:5-8.
- Kiarostami K.h., Abdolmaleki N., Heidari M. 2012. The effect of salicylic acid on salt stress reduction in Canola (*Brassica napus* L.). *Journal of Plant Biology*, 4 (12): 69-82.
- Kunber D.S., McGregor D.I. 1995. Brassica oilseed production and utilization. CAB. International.
- Lahooti M. 2001. Biochemistry and Physiology of Plant Hormones. Ferdowsi University of Mashhad Publication.
- Larcher W. 1995. Physiological Plant Ecology Springer, Berlin, Pp: 321-460.
- Levitt J. 1972. Responses of Plant to Environmental Stresses. Academy Press New York, 489p.
- Locy R., Chang D., Nielson B.L., Singh N.R. 1996. Photosynthesis in salt-adapted hero trophic tobacco cells and regenerated plants. *Plant Physiology*, 110:321-328.
- Lutts S., Kinet J.M., Bouharmont J. 1996. Ethylene production by leaves of rice in relation to salinity tolerance and exogenous putrescence application. *Plant Science*, 116:15-25.

- Miri H.R. 2009. Plant Stress Physiology. Kermanshah Islamic Azad University Press, 472p. (In Persian).
- Sakhabutdinova A.R., Fatkhutdinova D.R., Bezrukova M.V., Shakirova F.M. 2003. Salicylic acid prevents the damaging action of stress factors on wheat plants. Bulgarian Plant Physiology (Special Issue): 314-319.
- Sanhla N., Huber A. 1974. Eco- physiological studies on India arid zone plants. IV. Effect of salinity and gibberellin on the activities of photosynthetic enzyme and CO_2 fixation products in leaves of *Pennisetum thyphoides* seedlings. Biochemistry Physiology Pflanzen, 166: 181-187.
- Shakirova F.M., Sakhabutdinova A.R., Bezrukova M.V., Fatkhutdinova D.R. 2003. Changes in the hormonal status of wheat seedling induced by salicylic acid and salinity. Plant Science, 164: 317-322.
- Shekari F. 1998. Investigation the effect of salinity on physiological activity in two cultivar of Canola. Ph.D. Thesis, University of Tabriz, Iran. (In Persian).
- Simaie M. 2002. Effect of exogenous salicylic acid on photosynthesis, growth and other physiological parameter under salinity stress in tomato plant (*Lycopersicon esculentum* Mill). M.Sc. Thesis, University of Tarbiat Modarres. Tehran, Iran. (In Persian).
- Summart J., Thanonkeo P., Panichajakul S., Prathepha P., McManus M.T. 2010. Effect of salt stress on growth, inorganic ion and proline accumulation in Thai aromatic rice, Khao Dawk Mali 105, callus culture. African Journal of Biotechnology, 9: 145-152.
- Tuna A.L., Kaya C., Dikilitas M., Higgs D. 2007. The combined effect of gibberellic acid and salinity on some antioxidant enzyme activities plant growth parameters and nutritional status in maize plants. Environmental and Experimental Botany, 1774: 1-9.
- Valia R.Z., Patil V.K., Kaadia P.K. 1993. Physiological responses of drumstick (*Moringa olifera* Lamk) to varying levels of ESP. Indian Journal of Plant Physiology, 36: 261-262.
- Wareing P.F., Khalif M.M., Trehame K.J. 1968. Rate-limiting processes in photosynthesis at saturating light intensities. Nature, 222: 453-457.

