مجلة پژوهشي دانشگاه اصفهان (علوم پايه)
جلد بيست و هشتم ـ شماره ۲ ـ سال ۱۳۸٦
صص٦٦-٥٥

بررسي اثرات سالیسیلیک اسید بر برخي پارامترهاي رشد و بيوشيميايي گياه كلزا (Brassica napus L.) تحت تنش خشكي

مريم مظاهري تيراني و خسرومنوچهري كلانتري
گروه زيست شناسي دانشگاه شهيد باهنر كرمان

چكيده

تنش خشكي بعنوان يک عامل محدود كننده توليدات گياهي است. جهت به حداقل رساندن اثرات سوء اين تنش تركيبات متعددي مورد استفاده است. در اين پژوهش نيز از سالیسیلیک اسيداستفاده گرديد. در اين تحقيق گياهان مورد نظر در گلدان‌هاي پلاستيكي حاوي شن، رس و خاک برگ با نسبت‌هاي ۱:۱:۲ كاشته شد. پس از كامل شدن چهارمين برگ اصلي، تيمار سالیسیلیک اسيد در چهار سطح (۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ميلي مول) در دو روز متوالي بر روي برگ‌ها اسپري گرديد، تنش خشكي در سه سطح (هر روز آبياري، عدم آبياري بمدت ۴ و ۵ روز) اعمال گرديد. سپس اثرات سالیسیلیک اسيد و تنش خشكي بر طول ريشه، وزن اندام هاي هوايي، وزن ريشه ، مقدار كلروفيل a، b و كل، كاروتنوئيدها، MDA ، مقدار قند اندام هوايي و ريشه و پروتئين در گياهان كلزا مورد مطالعه قرار گرفت. مقدار كلروفيل a، كلروفيل b، كلروفيل كل و كاروتنوئيدها در تنش خشكي كاهش معني داري نشان داد. همچنين تنش خشكي مقدار پراكسيداسيون ليپيد و قندهاي احياءكننده را افزايش داده، كه نشان دهنده القاء تنش اكسايشي ناشي از خشكي بر گياه است. كاهش ميزان پراكسيداسيون ليپيد و قندهاي احياء كننده در گياهاني كه بطور توأم با سالیسیلیک اسيد و تنش خشكي تيمار شده بودند، نسبت به گياهاني كه فقط در معرض تنش خشكي بودند؛ نشان دهنده كاهش خسارت اكسيداتيو در اين گياهان است. از طرف ديگر افزايش پروتئين‌ها، رنگيزه‌هاي فتوسنتزي و قندها نشان دهنده نقش سالیسیلیک اسيد در افزايش مقاومت اين گياه در برابر تنش خشكي مي‌باشد بنابراين سالیسیلیک اسيد در غلظت‌هاي پائين‌تر از يک ميلي‌مول در رفع آسيب اكسايشي نقش دارد. ولي غلظت ۱/۵ ميلي‌مول سالیسیلیک اسيد اثرات تنشي ناشي از تنش خشكي را تشديد مي‌كند.

واژه هاي كليدي: پراكسيداسيون ليپيد، تنش خشكي، رنگيزه‌هاي فتوسنتزي، سالیسیلیک اسيد، كلزا

The Effects of Salicylic Acid on some Growth and Biochemical Parameters of Brassica Napus L. under Water Wtress

M. Mazaheri tirani, Kh. M. Kalantari

Department of Biology Shahid Bahonar University of Kerman

Abstract

Drought stress is considered as a restricting factor for plant productions; therefore, many compounds are applied to minimize the harmful effects of stress. One of these compounds is salicylic acid. In this research, plants were sown in plastic pots containing sand, clay and peat (2:1:1). After one month, when four fully expanded leaves appeared, salicylic acid was sprayed to the leaves at 0.5, 1 and 1.5mM concentration for 2 days. Three levels of water stress (control, withholding water for 4 and 5 days water) were applied. The effects of salicylic acid and water stress on the quantity of chlorophyll a, b, total chlorophyll, carotenoid, root length, root weight shoot to root ratio, MDA, sugar and protein in leaves of canola plants were investigated. Chlorophyll and carotenoids contents significantly decreased but lipid peroxidation and sugar increased in plants which were under drought stress. Reduction in peroxidation of lipids, protein and reduced sugars in these plants which were treated with both salicylic acid and drought stress were observed, which probably is the indication of reduction in damage caused by oxidative stress in these plants. On the other hand, mitigation of reduction in photosynthetic pigments and sugars could show the role of salicylic acid in increasing tolerance of plants to water stress. Therefore salicylic acid in concentrations of lower than 1 mM has a role in mitigation of damaged caused by oxidative stress, but 1.5 mM salicylic acid enhances damage caused by drought stress.

Keywords: Brassica napus, drought stress, lipid peroxidation, photosynthetic pigments, salicylic acid

مقدمه

گياهان در هر محلي كه رشد كنند با تنش‌هاي متعددي مواجه‌اند، كه اين تنش‌ها شانس نمو و بقاي آنها را محدود مي‌سازد. در پهنه وسيعي از كره زمين مثل مناطق خشك، نواحي شور، مناطق قطبي و ارتفاعات بلند، شرايط مناسب براي رشد گياه در مدت كوتاهي برقرار است (۱۴). بيشتر گياهان در دوره‌هايي از زندگي‌شان با كاهش موقتي در محتوي نسبي آب مواجه‌اند و تعدادي از آنها ساختارهاي مقاوم به خشكي مثل دانه، هاگ يا گرده توليد مي‌كنند كه فصل خشك را مي‌توانند، طي كنند (۱۲ و ۳۹). تنش خشكي در مقايسه با بسياري از تنش‌ها بصورت ناگهاني رخ نمي‌دهد و شدت آن به آرامي افزايش مي‌يابد. بنابراين زمان از نظر بقا در شرايط تنش خشكي نقش مهمي ايفا مي‌كند (۳). كمبود آب باعث كاهش حجم ياخته، افزايش غلظت شيره ياخته‌اي شده و پروتوپلاسم آب خود را از دست مي‌دهد. نخستين و حساس‌ترين واكنش نسبت به كمبود آب، كاهش در آماس و رشد ياخته (به ويژه طويل شدن) است. متابوليسم پروتئين و سنتز آمينواسيدها نيز به سرعت مختل مي‌شوند. حتي يک كمبود متوسط آب نيز كافي است تا سنتز آبسيزيک اسيد از كاروتنوئيدها را در ريشه تحريک كند. آبسيزيک اسيد توليدي به بخشهاي مختلف اندام‌هاي هوايي گياه منتقل مي‌شود و در آنجا اثرات مختلفي را سبب مي‌شود؛ پيري را تسريع مي‌كند، ياخته‌هاي گياه پژمرده، برگهاي مسن‌تر خشک شده و

مي‌ريزند. واكنشهاي ثانوي فتوسنتز و تنفس ميتوكندري را نيز مختل مي‌كند و بالاخره باعث ايجاد اختلالات ياخته‌اي مي‌گردد. واكوئل مركزي به چند واكوئـل كوچـك تجزيـه شده، تيلاكوئيدها در كلروپلاست‌ها و تاج‌هاي ميتوكندري متورم شـده و سـپس تجزيـه مـي‌شـوند، غـشاها گسـسته مي‌گردند و نهايتاً به مرگ ياخته‌اي منجر مي‌شود (۱۳، ۱۴ و ۳۹). مطالعات زيادي در مـورد تـأثير خـشكي بـر روي رشد گياهان مختلف انجام شده است. حساسيت گياهان به تنش خشكي به خصوصيات مورفولوژيكي، فيزيولـوژيكي و بيوشيميايي آنها بستگي دارد (۱۴).

سالیـسیلیک اسـید(SA) بعنـوان یـک آنتـي‌اکـسیدان و همچنین یک هورمـون گیـاهي مطـرح بـوده اسـت (۲۶). سالیسیلیک اسید یک مولکول علامتي مهم در پاسخ‌هـاي گیاهان در برابر تنش‌هاي محیطي محسوب مي‌شود. تیمـار گیاهان با سالیسیلیک اسید تقسیم یاختـه‌اي را در مرسـیتم رأس ریشه افزایش داده و بر رشد گیـاه مـي‌افزایـد (۳۳). همچنـین سالیـسیلیک اسـید از طریـق اثـر بـر روي پلي‌آمین‌هـایي مثـل پوتریـسین، اسـپرمین و اسـپرمیدین و همچنین ایجاد کمپلکس‌هاي پایدار با غشاء باعث مي‌شود تا از غشاء محافظت شود (۲۴).

با توجه به اینکه تنش خشكي به عنوان یک عامل محدود کننده در توليدات گياهي است. بنابراین مقابلـه بـا این تنش‌ها بصورت‌هاي مختلفي مثل استفاده از تركيبـاتي كه هزينه كمتر و كارايي بالاتري داشـته باشـد، از اهميـت ويژه‌اي برخوردار است. در اين تحقيق با توجه به خواص آنتي‌اكسيداني و نقش هورموني سالیـسیلیک اسـید، نقـش اين تركيب بر تخفيف تنش خـشكي مـورد بررسـي قـرار گرفت.

مواد وروش‌ها

در اين تحقيق از گيـاه كلـزا (Brassica napus L.) رقـم option گواهي شده گنبد استفاده گرديد.

كشت گياه در گلدان

پنج بذر سالم در گلدان‌هـايي بـه قطـر ۱۰ سـانتي‌متـر حاوي خاك با نسبت‌هاي ماسه: رس: خـاك بـرگ (۲: ۱: ۱) كشت شدند. گلدان‌ها روزانه با آب آبيـاري شـدند. در اين مدت هفته‌اي يک بـار بـه گلـدان‌هـا محلـول غـذايي Long-Ashton (نقل از ۲۱) با رقت ۱/۲ داده شـد، پـس از رشد دانه‌رستها تعداد گياهان در گلدان بـه ۳ گيـاه كـاهش يافت. پرورش گياه در گلدان‌ها تا قبل از ظهور برگ پنجم (يک ماه) در گلخانه انجام گرفت ولي براي اعمال تيمارها به اتاقک‌هاي رشد ساخت شركت گـروک تهـران بـا دوره نوري ۱۴ ساعت نور و دماي ۲ ± ۲۲ درجه سانتي‌گـراد و ۱۰ ساعت تاريكي و دماي ۲ ± ۱۷ درجه سانتي‌گراد قرار گرفت. شـدت نـور در سـطح گيـاه ۱۱۰۰۰ لـوكس بـود. گياهان به منظور تطابق بـا شـرايط جديـد دو روز قبـل از اعمال تيمارهـا بـه اتاقـک رشـد منتقـل شـدند. ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از انتقال به اتاقک رشد، سالیـسیلیک اسـید در چهار سطح (۱/۵ mM و ۱، ۰/۵، ۰) در ابتداي فـاز نـوري بر روي برگ‌هاي گياهان اسپري شـدند. بـدليل نوسـانات pH در بين گروههاي تيماري، pH تمام محلولها بـا پتـاس در حدود ۵/۵ تنظيم گرديد (۸). در ضمن تريتـون X-100 به مقداريک صدم درصد بعنوان روكنـشگر[1] اسـتفاده شـد. قبل از شروع تيمار تـنش خـشكي، همـه گياهـان روزانـه آبياري شدند. سپس تنش خشكي در سه سـطح (هـر روز آبياري، چهار روز بدون آبياري و پنج روز بـدون آبيـاري) اعمال گرديد. پس از اتمام تيمار تنش خشكي پارامترهـاي رشد و بيوشيميايي زير اندازه‌گيري شد.

اندازه‌گيري طول ريشه در گياه: طول ساقه و ريـشه بـا

1 - surfactant

استفاده از خط كش ميلي‌متري اندازه گرفته شد. براي هر گروه تيماري پنج تكرار، هر تكرار از ميانگين سه نمونه محاسبه شد و سپس نتايج بر اساس واحد سانتي متر گزارش گرديد.

اندازه‌گيري وزن تر ريشه و اندام هوايي: پس از جدا كردن ريشه، وزن هريک برحسب گرم با ترازوي Sartorius مدل BPSIID با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گيري شد. براي هر گروه تيماري پنج تكرار، هر تكرار از ميانگين سه نمونه محاسبه و براساس واحد گرم گزارش گرديد.

سنجش مقدار كلروفيل و كاروتنوئيد: براي سنجش مقدار كلروفيل و كاروتنوئيد از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) استفاده شد (۱۷). براي استخراج اين رنگيزه‌ها، برگها در استن ۸۰ درصد خوب سائيده شدند. پس از صاف كردن، جذب آن‌ها در طول موج‌هاي ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲۰، ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. جهت تنظيم دستگاه استن ۸۰ درصد استفاده شد (۱۷). نتايج حاصل از اندازه‌گيري مقدار رنگيزه‌هاي فتوسنتزي بر حسب ميلي‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه و ارائه گرديدند.

اندازه‌گيري غلظت مالون‌دآلدئيد (MDA): براي اندازه‌گيري مالون‌دآلدئيد از روش Heath و Packer (۱۹۶۹) استفاده شد (۱۰). طبق اين روش بافت تازه برگي در هاون چيني حاوي ۵ ميلي‌ليتر تري‌كلرواستيك اسيد (TCA) ۰/۱ درصد سائيده شد. عصاره حاصل بمدت ۵ دقيقه در ۱۰۰۰۰g سانتريفيوژ شد. به ۱ ميلي ليتر از محلول‌رويي حاصل از سانتريفيوژ، ۴/۵ ميلي ليتر محلول TCA ۲۰ درصد كه حاوي ۰/۵ درصد تيوباربيتوريک اسيد TBA بود؛ اضافه شد. مخلوط حاصل بمدت ۳۰ دقيقه در دماي ۹۵ درجه سانتيگراد حمام آبگرم حرارت داده شد. سپس بلافاصله در يخ سرد شد و دوباره مخلوط بمدت ۱۰ دقيقه در ۱۰۰۰۰ g سانتريفيوژ گرديد. شدت جذب اين محلول با استفاده از اسپكتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. جذب بقيه رنگيزه‌هاي غيراختصاصي در ۶۰۰ نانومتر تعيين و از اين مقدار كسر گرديد. براي محاسبه غلظت MDA از ضريب خاموشي معادل $۱۵۵\ cm^{-1}mM^{-1}$ استفاده شد و نتايج حاصل از اندازه‌گيري بر حسب ميلي‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه و ارائه گرديدند.

سنجش مقدار قندهاي احياكننده: ۰/۲ گرم از بافت تازه برگ و ريشه توزين گرديد و هر نمونه جداگانه با ۱۰ ميلي‌ليتر آب مقطر در هاون چيني سائيده شد. مقدار قندهاي احياكننده در برگ‌ها و ريشه به روش سوموگي (۱۹۵۲) اندازه‌گيري شد. شدت جذب محلول ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر خوانده شد، سپس با استفاده از منحني استاندارد غلظت قندهاي احيا كننده بر حسب ميلي‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه و گزارش گرديد (۳۶).

سنجش مقدار كل پروتئين‌ها: مقدار پروتئين‌ها در برگ‌ها با استفاده از روش لوري (۱۹۵۱) اندازه گيري شد. از آلبومين گاوي براي تهيه منحني استاندارد استفاده گرديد. نتايج بر اساس ميلي‌گرم به گرم وزن تر گزارش گرديد (۲۰).

عمليات آماري: آناليز آماري در اين پژوهش بر اساس طرح كاملاً تصادفي انجام شد. براي مقايسه ميانگين‌ها با استفاده از نرم افزار minitab، SPSS وMSTATC و آزمون LSD باضريب اطمينان ۹۵ درصد محاسبه گرديد و براي رسم نمودارها از نرم افزارExcel استفاده شد.

نتايج

طول ريشه: همانطور كه در نمودار ۱ مشاهده مي‌شود، طول ريشه در گياهان تحت تيمار با غلظت‌هاي مختلف

سالیسیلیک اسید بطور معني‌داري نسبت به گیاهان شاهد کاهش یافت. این اختلاف از لحاظ آماري معني‌دار بود. در ضمن اثر سالیسیلیک اسید و تنش خشکي بر طول ریشه در سطح ۵ درصد از لحاظ آماري اختلاف معني‌دار نشان نداد.

وزن تر ریشه: نتایج تغییرات وزن ریشه در گیاهاني که تحت تنش خشکي و سالیسیلیک اسید قرار گرفته بودند، در نمودار ۲ نشان داده شده است. وزن تر ریشه در گیاهاني که با سالیسیلیک اسید اسپري شده بودند، نسبت به گیاهان شاهد کاهش یافت. ولي این کاهش تنها در غلظت ۰/۵ میلي‌مول سالیسیلیک اسید در سطح ۵ درصد معني‌دار بود. تنش خشکي وزن تر ریشه را کاهش داد. در حالیکه تیمار توأم سالیسیلیک اسید و تنش خشکي باعث افزایش وزن تر ریشه نسبت به گیاهان شاهد و گیاهان تحت تیمار با سالیسیلیک اسید شد ($P \leq$ ۵%). ولي این افزایش تنها در غلظت ۰/۵ میلي‌مول سالیسیلیک اسید در سطح ۵ درصد معني‌دار بود

نسبت ریشه به اندام هوایي: نتایج حاصل از اثر تیمارهاي سالیسیلیک اسید و تنش خشکي بر نسبت وزن ریشه به وزن اندام هوایي در نمودار ۳ آورده شده است. این نتایج نشان داد که اثر اصلي سالیسیلیک اسید معني‌دار شد ($p \leq$ ۵%). تنش خشکي به تنهایي بر روي نسبت وزن تر ریشه به وزن تر اندام هوایي اثري نداشت ($p \leq$ ۵%). ولي اسپري برگ گیاهان توسط محلول ۰/۵ میلي‌مول سالیسیلیک اسید و تحت تنش خشکي نسبت به گیاهان اسپري شده با سالیسیلیک اسید یا گیاهان تحت تنش خشکي نسبت وزن تر ریشه به وزن تر اندام هوایي را افزایش داد، این افزایش در سطح ۵ درصد معني‌دار شد. در حالیکه سالیسیلیک اسید در غلظت ۱/۵ میلي‌مول بدون اثر و در غلظت ۱ میلي‌مول در شرایط تنش خشکي این نسبت را در مقایسه با شاهد افزایش داد ($\alpha \leq$ ۵%).

کلروفیل a و b: نتایج تغییرات میزان کلروفیل a وb در برگهاي گیاه کلزا تحت تیمارهاي سالیسیلیک اسید و تنش خشکي در نمودارهاي ۴ و ۵ مشاهده مي‌شود. تیمار برگ‌هاي گیاهان با سالیسیلیک اسید و تنش خشکي به تنهایي باعث کاهش معني‌دار مقدار کلروفیل a وb نسبت به گیاهان شاهد شد ($p \leq$ ۵%). کاهش مقدار کلروفیل a در مقایسه با کلروفیلb بیشتر بود. مقدار کلروفیل a در تیمارهاي مختلف سالیسیلیک اسید کاهش نشان داد، اسپري برگ گیاهان با غلظت ۱ میلي‌مول سالیسیلیک اسید مقدار کلروفیل a را در گیاهان تحت تنش خشکي افزایش داد، در حالیکه سایر غلظت‌ها قادر به تخفیف تنش نبودند. ولي غلظت‌هاي ۰/۵ و ۱ میلي‌مول سالیسیلیک اسید مقدار کلروفیل b را در شرایط تنش خشکي نسبت به گیاهان تحت همان مقدار تنش خشکي بطور معني‌داري افزایش داد ($p \leq$ ۵%).

کلروفیل کل (a+b): نتایج تغییرات مقدار کلروفیل کل در برگهاي گیاه کلزا تحت تیمارهاي سالیسیلیک اسید و تنش خشکي در نمودار ۶ مشاهده مي‌شود. تیمار برگ‌هاي کلزا با سالیسیلیک اسید باعث کاهش مقدار کلروفیل کل در مقایسه با گیاهان شاهد مشاهده شد. این کاهش از نظر آماري در سطح ۵ درصد معني‌دار بود. در ضمن تأثیر تنش خشکي بر مقدار کلروفیل کل باعث کاهش معني‌دار این رنگیزه‌ها گردید. سالیسیلیک اسید در غلظت ۱ میلي‌مول باعث کاهش کمتر مقدار کلروفیل کل در برگهاي گیاه کلزا تحت تنش خشکي در مقایسه با گیاهان تیمار شده با سالیسیلیک اسید و تنش خشکي به تنهایي شد، در ضمن غلظت ۰/۵ و ۱/۵ اثر معني‌داري بر تغییرات مقدار کلروفیل کل نداشت ($p \leq$ ۵%).

کاروتنوئیدها: داده‌هاي حاصل از تغییرات مقدار

كاروتنوئيدها در برگهاي گياه كلزاي تحت تيمارهاي ساليسيليک اسيد و تنش خشكي در نمودار ۷ ارائه شده است. مقدار كاروتنوئيدها در برگ‌هاي گياهان تيمار شده با ساليسيليک اسيد نسبت به گياهان شاهد بطور معني‌داري كاهش يافت؛ ولي كاهش در مقدار كاروتنوئيدها در غلظت ۱ ميلي‌مول و بالاتر ساليسيليک اسيد معني‌دار بود. تنش خشكي مقدار كاروتنوئيدها را نسبت به گياهان شاهد كاهش داد ($p \leq$ ۵%). ولي تيمار ساليسيليک اسيد در غلظت ۱ ميلي‌مول كاهش ناشي از تنش خشكي در مقدار كاروتنوئيدها را تخفيف داد.

مالون‌دآلدئيد: مالون‌دآلدئيد شاخصي از پراكسيداسيون ليپيدها در نظر گرفته شده است. در اين آزمايش مقدار مالون‌دآلدئيد تحت تنش خشكي افزايش معني‌داري يافت (نمودار۸). اسپري برگ‌ها با ۰/۵ ميلي‌مول ساليسيليک اسيد مقدار MDA را بطور چشمگيري كاهش داد. علاوه بر اين بررسي نتايج نشان داد كه ساليسيليک اسيد در غلظت ۰/۵ ميلي‌مول منجر به كاهش معني‌دار MDA و ساير آلدئيدها شده است. كاهش چشمگيري در محتوي مالون‌دآلدئيد و ساير آلدئيدها در برگ گياهاني كه تحت تنش خشكي قرار گرفتند يا ساليسيليک اسيد اسپري شده بودند، نسبت به گياهاني كه فقط تحت تنش خشكي قرار داشتند، مشاهده شد ($\alpha \leq$ ۰/۰۵).

قند ريشه و برگ: نتايج مربوط به تأثير تيمارهاي ساليسيليک اسيد، تنش خشكي و تيمار توأم آنها بر مقدار قندهاي احياء كننده در برگ و ريشه گياهان كلزا نشان داد كه اسپري برگ‌هاي گياهان با ساليسيليک اسيد باعث افزايش مقدار قندهاي احياءكننده در برگ گياهان تيمار شده با غلظت ۰/۵ ميلي‌مول ساليسيليک اسيد نسبت به گياهان شاهد شد ولي در ريشه اين افزايش فقط در غلظت ۱/۵ ميلي‌مول ساليسيليک اسيد مشاهده شد (نمودارهاي ۹ و ۱۰). تنش خشكي مقدار قندهاي احياء كننده در برگ و ريشه را نسبت به گياهان شاهد به ترتيب افزايش و كاهش داد ($p \leq$ ۵%). بطور كلي تيمار توأم ساليسيليک اسيد و تنش خشكي نسبت به گياهان شاهد مقدار قندهاي احياء كننده در برگ بطور معني‌داري افزايش داد.

پروتئين: نتايج مربوط به مقدار پروتئين‌ها در نمودار ۱۱ مشاهده مي‌شود. تنش خشكي مقدار پروتئين‌ها را بطور معني‌داري كاهش داد ولي ساليسيليک اسيد مقدار پروتئين‌ها را در شرايط خشكي نسبت به گياهان تحت همان مقدار تنش خشكي افزايش داد ($p \leq$ ۵%).

بحث و نتيجه‌گيري

تنش خشكي بعنوان يک عامل مهم محيطي بر پارامترهاي رشد گياه نيز اثر مي‌گذارد. از جمله Cesare و همكاران (۲۰۰۱) گزارش كردند كه تنش خشكي منجر به كاهش تقسيم و گسترش ياخته‌اي مي‌شود (۵). در اين پژوهش نيز كاهش طول ريشه مشاهده گرديد (نمودار۱). تغييرات چشمگيري در افزايش وزن تر ريشه و نسبت وزن ريشه به وزن اندام هوايي تحت تنش خشكي مشاهده شد (نمودارهاي ۲ و ۳). گزارش شده است كه تنش خشكي مهمترين عامل كاهش عملكرد در گياهان زراعي از قبيل كلزا بوده است (۱). در تحقيقي كه روي دو گونه گوجه فرنگي انجام شده است، مشخص گرديده است كه گونه‌هاي مقاوم به خشكي، با تغيير صفات مرفولوژيكي، فيزيولوژيكي و آناتومي قادر به ايجاد ساختارهاي مقاوم به خشكي مي‌باشند (۳۷). همچنين ژنوتيپ‌هاي برتر كلزا سيستم ريشه‌اي خود را به نحو مؤثر گسترش داده و قادر به استفاده حداكثر از رطوبت موجود در خاک مي‌باشند (۱ و ۲). بطور كلي براي مقاومت به خشكي سه ساز و كار

در ارتباط با سیستم ریشه‌اي گیاهان پیشنهاد شده است (١). گیاهان از طریق افزایش حداکثر طول ریشه براي استفاده از ذخایر آب، افزایش حجم ریشه و افزایش نسبت وزن ریشه به بخش هوایي، قادر به افزایش نفوذپذیري ریشه در برابر موانع فیزیکي و شیمیائي شده، در نتیجه با افزایش توان اسمزي ریشه، باعث استخراج آب بیشتري از خاک و مقاومت گیاه در مقابل تنش کمبود آب مي‌شود (١ و ٢). گزارش شده است که در شرایط تنش خشکي آبسیزیک اسید رشد ساقه را بعلت توقف ترشح پروتون‌هاي القاء شده توسط اکسین متوقف مي‌نماید (١٤). اثر خشکي بر رشد اندام هوایي در این پژوهش نیز احتمالاً ناشي از اثر تنش خشکي بر هورمون‌ها مي‌باشد. در تنش خشکي گیاهان با افزایش نسبت وزن ریشه به وزن اندام هوایي توانایي گیاه را براي جذب آب از خاک افزایش داده و در نتیجه منجر به افزایش مقاومت گیاه به خشکي مي‌شود. سالیسیلیک اسید اثرات سوء ناشي از تنش خشکي بر پارامترهاي رشد را تخفیف داد (نمودارهاي ١ الي ٣). در مورد نقش سالیسیلیک اسید بر پارامترهاي رشد گزارش‌هاي متعددي وجود دارد. از جمله گزارش شده است که سالیسیلیک اسید کاهش رشد ناشي از فلزات سنگین (٢٥) و تنش شوري (٨) را بهبود مي‌بخشد. از طرف دیگر گزارش شده است که سالیسیلیک اسید گسترش، تقسیم و مرگ یاخته‌اي را تنظیم مي‌کند. در واقع بین رشد و پیري تعادل ایجاد مي‌کند (٣٢). همچنین گزارش شده است که تیمار با ٠/٠٥ میلي مول سالیسیلیک اسید تقسیم یاختهي را درون مرسیستم رأسي گیاهچه گندم افزایش مي‌دهد و رشد گیاه را بهبود مي‌بخشد (٣٣). همچنین سالیسیلیک اسید کاهش رشد ناشي از کادمیوم را برطرف مي‌نماید. در گیاهان تیمار شده با کادمیوم وزن تر و خشک ریشه، طول ریشه و طول ساقه کم مي‌شود ولي سالیسیلیک اسید این کاهش در اجزاء گیاه را بهبود مي‌بخشد و اثرات ناشي از تنش را تخفیف مي‌دهد (٢٣). Senaranta و همکاران در سال ٢٠٠٠ (٣٢) بیان کردند که سالیسیلیک اسید یک مولکول علامتي مهم در پاسخ‌هاي گیاهان در برابر تنش‌هاي محیطي محسوب مي‌شود. تیمار گیاهان با سالیسیلیک اسید تقسیم یاخته‌اي را در مرسیتم رأس ریشه افزایش داده و رشد گیاه را زیاد مي‌نماید (٣٣). در مقابل گزارش‌هاي دیگر مبني بر اثرات منفي ناشي از تیمار با سالیسیلیک اسید روي رشد گیاه نیز وجود دارد (٤).

یکي از علائم تنش‌هاي محیطي در گیاهان کاهش میزان رنگیزه‌هاي فتوسنتزي است. این کاهش به ژنوتیپ گیاه بستگي دارد (٦). در این پژوهش کاهش مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل گیاهان تحت تنش خشکي مشاهده شد. گزارش ها مشابهي مبني بر کاهش مقدار کلروفیل در گیاهان دو رقم زراعي گندم، نخود، توت سفید در شرایط خشکي وجود دارد (١١). بطوري که گزارش شده است که در زمان تنش خشکي فعالیت فتوسیستم II در دو رقم زراعي توت سفید و پنج رقم زراعي ذرت (هم در رقم‌هاي زراعي حساس و مقاوم) کاهش مي‌یابد (١١). درحالیکه Fu و Huang در سال ٢٠٠١ عنوان کردند که خشکي ملایم بر روي مقدار کلروفیل در دو گیاه سردسیري Festuca و Poa pratensis اثر ندارد ولي خشکي شدید مقدار کلروفیل را کاهش مي‌دهد (٩) بنابراین کاهش مقدار کلروفیل مشاهده شده در این تحقیق احتمالاً مي‌تواند بدلیل تأثیر این تنش بر پیش‌سازهاي سنتز کلروفیل و یا تخریب کلروفیل موجود باشد. مضافاً به این که اتیلن حاصل از تنش خشکي دلایل دیگر کاهش مقدار کلروفیل تحت تنش خشکي مي‌باشد.احتمالاً اتیلن با اثر بر روي آنزیم‌هاي کاتابولیسم

كلروفيل مقدار كاتابوليسم كلروفيل را افزايش داده، در نتيجه بر مقدار كلروفيل اثر مي‌گذارد. اما در مورد نقش سالیسیلیک اسید بر رنگيزه‌هاي فتوسنتزي گزارشهاي ضد و نقيضي وجود دارد. Llüsia و همكاران (٢٠٠٥) گزارش كرده اند كه متيل سالیسیلات بر مقدار رنگيزه‌هاي فتوسنتزي اثري ندارد، ولي فتوسنتز تحت تيمار سالیسیلیک اسید كاهش مي‌يابد (١٨). همچنين گزارش‌هاي ديگر حاكي از اين است كه سالیسیلیک اسید بر دستگاه فتوسنتزي اثر مي‌گذارد; گزارش شده است كه سالیسیلیک اسید موجب افزايش مقدار كلروفيل در Spirodella و Polyrriza شده است (٢٧). همچنين مشاهده شده است كه سالیسیلیک اسید باعث افزايش رنگيزه‌هاي فتوسنتزي در گياهان تحت تيمار با شوري نيز مي‌شود (٨). دراين پژوهش نيز سالیسیلیک اسید مقدار رنگيزه‌هاي فتوسنتزي را به‌طور قابل توجهي در برگ گياهان كلزا تحت تيمار توأم سالیسیلیک اسید و تنش خشكي نسبت به گياهان تحت همان مقدار خشكي افزايش داد.

كارايي كاروتنوئيدها در حفاظت از فتوسيستم‌ها و رنگيزه‌هاي فتوسنتزي مورد بررسي قرار گرفته است. كاروتنوئيدها قادرند انرژي زياد طول موج‌هاي كوتاه را گرفته و اكسيژن يكتايي را به سه‌تايي تبديل كنند و با گرفتن راديكال‌هاي اكسيژن توليد شده، نقش آنتي‌اكسيداني خود را بروز دهند (١٢). در اين تحقيق كاهش معني‌داري در مقدار كاروتنوئيدها در طي تنش خشكي مشاهده شد. Li و همكاران در سال (١٩٩٨) گزارش كرد كه مقدار كاروتنوئيدها طي تنش خشكي در دو رقم زراعي ذرت مقاوم و حساس به خشكي كاهش مي‌يابد (١۶). همچنين خشكي منجر به كاهش مقدر لوتئين، نئوگزانتين و بتاكاروتن شده و ديواكسيداسيون تركيبات چرخه گزانتوفيل را افزايش مي‌دهد (١٩).

راديكال‌هاي سوپراكسيد توليد شده توسط خشكي باعث پراكسيداسيون ليپيدها مي‌شوند (٣١). حاصل پراكسيداسيون ليپيدهاي غشاء، تركيباتي مانند مالون‌دآلدئيد خواهد بود. اين ماده بعنوان شاخصي براي اندازه‌گيري مقدار پراكسيداسيون ليپيدها استفاده مي‌شود. از طرف ديگر افزايش پراكسيداسيون ليپيدها بعنوان شاخص افزايش تنش اكسايشي در نظر گرفته مي‌شود (١٠ و ٢٢). در اين تحقيق تنش خشكي مقدار مالون‌دآلدئيد را افزايش داد. گزارش‌هاي متعددي مبني بر نقش تنش خشكي بر مقدار مالون‌دآلدئيد وجود دارد. Sairam و همكاران (١٩٩٨) گزارش كردند كه مقدار مالون‌دآلدئيد در سه ژنوتيپ گندم در تنش خشكي افزايش يافته است (٣١). در مورد نقش سالیسیلیک اسید در رفع تنش اكسايشي گزارش‌هاي متعددي وجود دارد، بطوري كه در سال‌هاي اخير نقش سالیسیلیک اسید بر روي تنش‌هاي آبي و غير آبي بطور گسترده مورد بررسي قرار گرفته است. گزارش شده است كه سالیسیلیک اسید با اثر روي آنزيم‌هاي آنتي‌اكسيدان و كاهش پراكسيداسيون ليپيدها گياه آرابيدوپسيس را در برابر تنش گرما حفاظت مي‌كند (١۵). همچنين سالیسیلیک اسید موجب جلوگيري از صدمه به اسيدهاي چرب غيراشباع، كاهش نفوذ پذيري غشاء و حفاظت از غشاء تيلاكوئيدي در زمان تنش شوري در گياهچه‌هاي آرابيدوپسيس شده است (۴). علاوه بر اين گزارش شده است كه عامل كاهش مالون‌دآلدئيد توليد شده در تنش شوري در برگ‌ها و ريشه‌هاي گياهان جو سالیسیلیک اسید مي‌باشد (٨). در اين تحقيق مشخص است كه سالیسیلیک اسید افزايش پراكسيداسيون ليپيدهاي ناشي از تنش خشكي را كاهش داد، بنابراين احتمالاً سالیسیلیک اسید به نوعي با كاهش پراكسيداسيون ليپيدها از طريق اثر بر مكانيسم‌هاي دفاع آنزيمي و غيرآنزيمي،

گیاه کلزا را در مقابل تنش اکسایشي محافظت کرده است.

کربوهیدرات‌هاي احیاء کننده داخل یاخته‌ها بعنوان یک مواد اسمزي در تنظیم اسمزي عمل مي‌کنند تا پتانسیل آب یاخته کاهش یافته و آب بیشتري براي حفظ تورم در شرایط تنش خشکي داخل یاخته باقي بماند (۳۵ و ۳۹). در بین قندهاي محلول سوکروز و فروکتان‌ها نقش مهمي را در سازش با تنش‌هاي محیطي دارند. سوکروز در حفظ سیالیت غشاء و ساختمان فسفولیپیدها نقش مهمي را ایفا مي کند و مانع تغییر در ساختمان پروتئین‌هاي محلول در آب مي‌شود (۱۲). در مطالعه حاضر تحت تنش خشکي مقدار قند در ریشه کاهش و در برگ افزایش یافت. گزارش شده است که تنش خشکي موجب تغییرات زیادي در مقادیر کربوهیدرات‌هاي گیاه گردیده و مشخص شده است که با افزایش تنش خشکي در برگ‌ها مقدار نشاسته آنها کاهش مي یابد (۱۲). گیاه کلزا با افزایش مقدار قندها در برگ و کاهش آن در ریشه، به نوعي شیب اسمزي در سراسر گیاه برقرار مي‌شود. تجمع قندهاي محلول در گونه‌ها مانند بادام زمیني (۳۰)، یاخته‌هاي سیب زمیني (۳۸) و گیاهان دیگر نیز مشاهده شده است. در گیاه جو، گندم، لوبیا و گوجه فرنگي طي تنش اکسایشي مقدار تجمع قندها با تیمار سالیسیلیک اسید افزایش یافته است و افزایش مقدار قندها و ایجاد شیب اسمزي در گیاهان، منجر به مقاومت در برابر از دست رفتن آب، افزایش محتوي آب برگ و تسریع رشد گیاهان در شرایط تنش را شده است (۱۲). همچنین بیان شده است که تجمع مواد اسمزي (قندها) رابطه مستقیم و مثبت با افزایش مقاومت ایجاد شده در گیاهان در معرض تنش‌هاي غیرزیستي دارد (۲۸). به نظر مي‌رسد کاربرد سالیسیلیک اسید در این تحقیق از طریق افزایش مواد اسمزي سبب افزایش سازگاري گیاه به شرایط تنش شده است. از طرف دیگر سالیسیلیک اسید باعث تأخیر در کاهش مقدار رنگیزه‌هاي فتوسنتزي در شرایط تنش خشکي شده است. بنابراین به دلیل تعدیل در کاهش مقدار رنگیزه‌هاي فتوسنتزي و احتمالاً حفظ رویسکو باعث افزایش مقدار قندها شده است (۲۷). از طرف دیگر رادیکال‌هاي اکسیژن فعال با تغییر موقعیت آمینواسیدها در رشته‌هاي پروتئین باعث تسهیل تأثیر آنزیم‌هاي تجزیه کننده پروتئین‌ها گردیده و بنابراین یکي از دلایل کاهش محتوي پروتئین در گیاهاني که در معرض خشکي هستند، تولید رادیکال‌هاي آزاد اکسیژن مي‌باشد (۳۵). گزارش گردیده است که سالیسیلیک اسید بر تشکیل پروتئین‌هاي دفاعي، انواع پروتئین کیناز و رویسکو اثر مي‌گذارد. همچنین اثبات شده که سالیسیلیک اسید سنتز پروتئین‌هاي مهار کننده پروتئازهاي گیاهي را القاء مي‌کند (۲۷ و ۲۹). بالاخره El-Tayeb (۲۰۰۵) گزارش کرده است که محتوي پروتئین محلول و آزاد در اندام هوایي و ریشه گیاهچه‌ها در شرایط تنش کاهش یافته است (۸). بنابراین مي‌توان افزایش محتوي پروتئین و یا کاهش تجزیه آن یا هر دو را در تیمار با سالیسیلیک اسید، به نحوي به وجود افزایش فعالیت، پروتئین و آنزیم‌هاي آنتي‌اکسیدان نسبت داد. بطوري که، احتمالاً سالیسیلیک اسید با افزایش پروتئین‌هاي دفاعي از اکسیداسیون پروتئین‌ها حفاظت مي‌کند.

بنابراین کاربرد سالیسیلیک اسید در غلظت‌هاي پائین‌تر از ۱ میلي‌مول براي تخفیف اثرات مخرب ناشي از تنش خشکي پیشنهاد مي‌شود. اثرات متفاوت سالیسیلیک اسید در غلظت‌هاي مختلف بر روي تنش خشکي ناشي از وجود گیرنده‌هاي گوناگون است، که میل ترکیبي این گیرنده‌ها با سالیسیلیک اسید متفاوت مي‌باشد. یکي از این گیرنده‌ها مرگ یاخته‌اي و گیرنده دیگر دفاع آنتي‌اکسیداني

را فعـال مـي‌كنـد (٧ و ٣٤). بنـابراين در اسـتفاده از ساليسيليک اسيد براي تخفيف دادن تـنش‌هـاي اكسايـشي بايستي با احتياط اعمال شود. زيـرا ممكـن اسـت غلظـت مورد استفاده بجاي فعال كردن دفاع آنتـي‌اكـسيدان، مـرگ ياخته‌اي را فعال كند.

منابع

١- م. تورچي، ف. شيخ، م. وليزاده، م. ر. شكيبا و ب. پاسبان اسلام. رابطه خصوصيات مورفولوژيكي ريشه با مقاومـت به كمبود آب در تعدادي ار ژنوتيپ‌هاي كلزا (Brassica napus L.). علوم و فنون و كـشاورزي و منـابع طبيعـي. ١٥ (٣): ١٥-٢٦. (١٣٨۴).

٢- الـف. جعفريـه يـزدي، الـف. مجـد، ف. فلاحيـان، ر. خاوري‌نژاد، ف. برنارد و ف. جاويدفر. بررسي اثـر تـنش خشكي و آبـسيزيک اسـيد بـرون‌زا بـر سـاختار مريـستم زايشي، دانه‌هاي گرده، صفات ريخت شناسي، عملكـرد و اجزاء عملكرد گياه كلزا (Barssica napus L.). مجلـه زيست شناسي ايران. ١٨ (۴): ٢٩٥-٣٠۶. (١٣٨٥).

3- J. I., Bartels. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 47: 377-403; (1996).

4- O., Borsanio, V., Valpuesta. and M. A., Botella. Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stess in Arabidopsis seedlings. Plant Physiology. 126: 1024-1030; (2001).

5- S., Cesare, G., Mazzafera and P. S., Buckeridge. Effect of drought period on the mobilization of non-structural carbohydrates, photosynthetic efficiency water status in an epiphytic orchid. Plant Physiology and Biochemistry. 1009-1016;(2001).

6- M. R., Colom and C., Vazzana. Drought stress effects on three cultivars of Eragrostis curvula: photosynthesis and water relations. Plant Growth Regulation. 34: 195-202; (2001).

7- P. J., Davis. Plant hormones biosynthesis, signal transduction, action!. Springer. Germany. 750 pages; (2005).

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

9- J., Fu and B., Haung. Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season gresses to localized drought stress. Enviromental and Experimental Botany. 45: 105-114; (2001).

10- R. L., Heath, and L., Packer. Photoperoxidation in isolated choloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of biochemistry and biophysics. 125: 189-198; (1969).

11- H., Hyodo and Sh., Yang. Ethylene-enhanced synthesis of phenylalanine ammonia-lyase in Pea seedlings. Plant Physiology. 47: 765-770; (1971).

12- D., Inze and M. V., Montagu. Oxidative stress in plants. Cornawall. Great Britain. 321 pages; (2000).

13- W., Jordan, P., Morgan and T., Davenport. Water

stress enhances ethylene-mediated leaf abscission in cotton. Plant Physiology. 50: 756-758; (1972).

14- W., Larcher. Physiological plant ecology. Springer. Germany. 505 pages; (2001).

15- J., Larkindale and M. R., Knight. Protection against heat stress-induced oxidative damage in Arabidopsis involves calcium, abscisic acid, ethylene and salicylic acid. Plant Physiology. 128: 682-695; (2002).

16- L., Li, J., Van Staden and A. K., Jager. Effects of plant growth regulators on the antioxidant system in seedlings of two maize cultivars subjected to water stress. Plant Growth Regulation 25: 81–87; (1998).

17- H. K., Lichtenthaler. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology. 148:350-382; (1987).

18- J., Llüsia, J., Penuelas and S., Munne-Bosch. Sustained accumulation of methyl salicylate alters antioxidant protection and reduces tolerance of holm oak to heat stress. Physiologia Plantarum. 124: 353-361; (2005).

19- B., Loggini, A., Scartazza, E., Brugonli and F., Navari-Izzo. Antioxidative defense system, pigment composition, and photosynthetic efficiency in two wheat cultivars subjected to drought. Plant Physiology. 119: 1091-1099; (1999).

20- O. H., Lowry, N. J., Roseberough, A. L., Farr and R. J., Randall. Protein measurement with folin–phenol reagent. Journal of Biology Chemistry. 193: 265-275; (1951).

21- H., Meidner. Class experiments in Plant Physiology. George Allen & unwin. 156 pages; (1984).

22- S.,Meirs, S., Philosophhadas and N., Aharoni. Ethylene increased accumulation of fluorescent lipid–peroxidation products detected during Parsley by a newly developed method. Journal of the American Society for Horticultural Science. 117: 128-132; (1992).

23- A., Metwally, I., Finkemeier, M., Georgi, and K-J., Dietz. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. Physiology and Biochemistry of Plant. 132: 272-281; (2003).

24- M., Németh, T., Janda, E., Horvàth, E., Pàldi, and G., Szalai. Exogenous salicylic acid increase polyamine content but may decrease drought tolerance in maize. Plant Science. 162: 569-574; (2002).

25- M., Pàl, Z. Szalai, E., Horvàth, T., Janda, and E., Pàldi. Effect of salicylic acid during heavy metal stress. Acta Biological Szegediensis. 46 (3-4): 119-120; (2002).

26- L., Popova, V., Ananieva, V., Hristova, K., Christov, K., Georgieva, V., Alexieva, and Zh., Stoinova. Salicylic acid-and Methyl jasmonate–induced protection on photosynthesis to paraquat oxidative stress. Bulgarian Journal of Plant Physiology. special issue. 133–152; (2003).

27- L., Popova, T., Pancheva and A., Uzunova. Salicylic acid: properties, biosynthesis and physiological role. Plant Physiology. 23: 85-93; (1997).

28- S., Ramanjulum, N., Sreenivasulu, and C., Sudhakar. Effect of water stress on photosynthesis in two mulberry genotypes with different drought tolerance. Photosythetica. 35 (2): 279-283; (1998).

29- I., Raskin. Role of salicylic acid in plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 43: 439-46; (1992).

30- T. Y., Redy, V. R., Reddy and V., Anbumozhi. Physiological responses of groundnut (Arachis hypogea L.) to drought stress and its amelioration: a critical review. Plant Growth Regulation. 41: 75-88; (2003).

31- R. K., Sairam, P. S., Deshmukh and D. C., Saxena. Role of antioxidant systems in wheat genotype tolerance to water stress. Biologia plantarum. 41 (3): 387-394; (1998).

32- T., Senaranta, D., Touchell, E., Bumm and k., Dixon. Acetylaslicylic (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. Plant Growth Regulation. 30: 157-161; (2002).

33- F. M., Shakirova and D. R., sahabutdinova. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. Plant Science, 164: 317-322; (2003).

34- D. H., Slaymarker, D. A., Navarre, D., Clark, O. D., Pozo, G. B., Martin and D. F., Klessig. The tobacco salicylic acid- banding protein 3 (SABP3) is the chloroplast carbonic anhydrase, which exhibits antioxidant activity and plays a role in the hypersensitive defense response. PANS. 99 (18): 11640-11645; (2002).

35- M. F., Smallwood, C. M., Calvert and D. J., Bowles. Plant responses to environmental stress. BIOS Scientific Publishers. UK. 288 pages; (1999).

36- M., Somogy. Notes on sugar determination. Journal of Biological Chemistry. 195: 19-29; (1952).

37- A., Torrecillas, C., Guillaume, J. J., Alarcon and M. A., Ruiz-Sanchez. Water relations of two tomato species under water stress and recovery. Plant Science. 105: 169-176; (1995).

38- H. L., Wang, P. D., Lee, L. F., Liu and J. C., Su. Effect of sorbitol induced osmotic stress on the changes of carbohydrate and free amino acid pools in sweet potato cell suspension culture. Botanical Bulletin of Academia Sinica. 40: 219-225; (1999).

39- J. K., Zhu. Salt and water stress signal transduction in plant. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 53: 247–273; (2002).