جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علوم گیاهان زراعی ایران
دوره ۴۲، شماره ۴، ۱۳۹۰ (۷۳۴-۷۲۳)

بررسی اثر محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی دو رقم کلزا (*Brassica napus* L.) تحت شرایط تنش سرما

حامد کشاورز[۱]، سید علی محمد مدرس ثانوی[۲]*، فاطمه زرین کمر[۳]، آریا دولت‌آبادیان[۴]، مهدی پناهی[۵] و کمال سادات اسیلان[۶]
۱، ۲، ۳، ۴، دانشجوی کارشناسی ارشد، استاد، استادیار و دانشجوی دکتری دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ۵، استادیار دانشگاه زنجان، ۶، استادیار دانشگاه پیام نور

(تاریخ دریافت: ۸۹/۴/۲۷ - تاریخ تصویب: ۹۰/۶/۲۳)

چکیده

دمای پایین به عنوان یک عامل محدودکننده تولیدات گیاهی به شمار می‌رود. در این تحقیق اثر محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی دو رقم کلزا با درجه تحمل متفاوت به سرما مورد بررسی قرار گرفته است. سالیسیلیک اسید در ۴ غلظت ۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومول در مرحله روزت دو رقم کلزا RGS (بهاره و حساس به سرما) و LICORD (پاییزه و متحمل به سرما) محلول‌پاشی گردید. نمونه‌گیری از کرت‌ها ۲۴ ساعت بعد از محلول‌پاشی انجام شد. مقدار کلروفیل a و b، کلروفیل کل (a+b)، کاروتنوئیدها، آنتوسیانین، فلاونوئیدها، پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، پرولین و مقدار قند اندام هوایی و ریشه مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که سرما (بدون کاربرد سالیسیلیک اسید) باعث کاهش مقدار کلروفیل a، b، کلروفیل کل، کاروتنوئید و قندهای محلول در رقم حساس به سرما شد، اما رقم مقاوم دارای برتری معنی‌داری در صفات ذکر شده نسبت به رقم حساس بود. همچنین مقدار پراکسیداسیون لیپیدی غشاء اندام هوایی در رقم مقاوم نسبت به رقم حساس بیشتر بود. محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید در غلظت‌های پایین باعث افزایش معنی‌دار مقدار کلروفیل a، b، کلروفیل کل، کاروتنوئید، آنتوسیانین، فلاونوئید، پرولین و قندهای محلول شد. در حالی که سبب کاهش معنی‌داری در پراکسیداسیون لیپیدی غشاء در هر دو رقم گردید. افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی، پرولین و قندها و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی غشاء نشان‌دهنده کاهش خسارت اکسیداتیو و نقش سالیسیلیک اسید در افزایش تحمل کلزا در برابر سرما می‌باشد. در این آزمایش مشاهده شد که سالیسیلیک اسید در غلظت‌های پایین‌تر از ۲۰۰ میکرومول در رفع آسیب اکسایشی نقش مؤثر دارد ولی غلظت ۴۰۰ میکرومول سالیسیلیک اسید خود سبب بروز تنش در گیاه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: تنش اکسیداتیو، پر اکسیداسیون چربی‌های غشاء، رنگدانه‌های فتوسنتزی، پرولین

* نویسنده مسئول: سید علی محمد مدرس ثانوی تلفن: ۰۹۱۲-۱۴۸۱۶۳۷ E-mail: modares@modares.ac.ir

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

گیاهان با طیف وسیعی از تنش‌های زیستی و غیرزیستی در طی دوره رشد و نمو خود مواجه هستند که به روش‌های مختلفی با آنها مقابله می‌کنند. شرایط محیطی مانند نور، خشکی، دما، شوری و غیره بر رشد، نمو و عملکرد گیاهان تأثیر می‌گذارد. گیاهان در عکس‌العمل به تنش‌های محیطی، از سازوکارهای دفاعی گوناگونی بهره می‌گیرند (Horváth et al., 2007). دما یکی از عوامل محیطی است که رشد و نمو گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. تنش سرما و دماهای زیر صفر یا انجماد، تولید گیاهان را در بسیاری از نواحی کره زمین، محدود ساخته است (Hughes & Dunn, 1990) . مسلم است که زیان اقتصادی وارده به کمیت و کیفیت محصولات زراعی ناشی از تنش‌های محیطی، شناخت ساز و کارهای مقاومت در ارقام زراعی جدید با مقاومت بالا را الزامی می‌سازد (Neelam & Saxena, 2009).

خصوصیت عمومی و مشترک بسیاری از گونه‌های گیاهی این است که وقتی در معرض دمای پایین[1] (نه انجماد[2]) بین ۰-۱۵ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گیرند، دچار تنش سرما می‌شوند (Reza et al., 2006). گیاهان طی فرآیندی به نام خو پذیری[3]، به درجه حرارت‌های سرد مقاوم می‌شوند (Upadhyaya et al., 2006). در طی این فرآیند، تغییرات زیادی در پارامترهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی سلول‌های گیاهی رخ می‌دهد که منجر به حفظ سلول در مقابل آسیب‌های سرما می‌شود (Howarth & Ougham, 1993).

از نتایج تنش سرما می‌توان به شکسته شدن زنجیره انتقال الکترون و تولید اکسیژن آزاد یا اکسیژن فعال مانند $O_2^{\cdot}$ (سوپر اکسید)، H_2O_2 (پراکسید هیدروژن) و OH (هیدروکسیل) اشاره کرد (Andrews et al., 1995). رادیکال‌های آزاد اکسیژن[4] به علت میل ترکیبی زیاد، باعث تخریب غشاء سلولی، آنزیم‌ها، اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌های سلول می‌شوند (Peltzer et al., 2002). اکسیژن آزاد غالباً در مرکز واکنش فتوسیستم II به وجود می‌آید و میزان آن وابسته به شدت نور و میزان احیاء شدن پلاستوسیانین است. گیاهان برای مقابله و مقاومت در برابر خسارت رادیکال‌های آزاد اکسیژن از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مانند سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POX) استفاده می‌کنند (Zhao & Blumwald, 1998).

اولین حس‌کننده حرارتی در سلول، درجه سیالی لیپیدهای غشایی است و اولین حادثه واقع شده در سلول‌های گیاهان حساس به سرمازدگی وقتی در معرض سرمازدگی قرار می‌گیرد یک تغییر حالت در نظم مولکولی تودهٔ چربی‌های غشایی است. این تغییر حالت می‌تواند متأثر از گونه‌های فعال اکسیژن باشد که باعث اکسید شدن غشاء (Elste, 1982) و کاهش نفوذپذیری انتخابی غشاء سلولی می‌شود (Bates et al., 1973) که در نتیجه نشت الکترون در شرایط تنش سرما روی می‌دهد (Markowski et al., 1990). تجمع قند در برگ گیاهانی که در معرض سرما قرار گرفته‌اند، در حد گسترده‌ای اتفاق می‌افتد (Peltzer et al., 2002). اعتقاد بر این است که در بسیاری از گیاهانی که نسبت به دماهای بسیار پایین متحمل هستند، تجمع قند، نقش مثبتی در مقابله با تنش سرما ایفا می‌کند (Guy et al., 1992).

سنتز کلروفیل یکی از فرآیندهای بسیار حساس به تغییرات دمایی است و به عنوان روشی کمی برای اندازه‌گیری حساسیت به سرما در گونه‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد (Colom & Vazzana, 2001). در دماهای پایین، انرژی نورانی جذب شده توسط رنگیزه‌ها نمی‌تواند در واکنش‌های فتوسنتزی به کار گرفته شود. این انرژی نورانی جذب شده باعث واکنش‌های اکسیداسیون نوری می‌شود که منجر به از دست رفتن رنگیزه‌ها، لیپیدها و اسیدهای چرب به ویژه در غشاهای تیلاکوئیدی می‌شود (Patrick et al., 2000). دمای پایین باعث القاء تغییرات زیادی در ترکیبات سلولی مانند تغییر در ترکیبات پروتئینی، پرولین و کربوهیدرات‌ها می‌شود. مولکول‌های پیک که در سیستم‌های انتقال سیگنال نقش دارند، آنزیم‌های ویژه‌ای را برای فعال کردن مسیر تولید پرولین ایجاد می‌کنند تا باعث تشکیل

1. Low temperature stress
2. Chilling stress
3. Acclimation
4. Free radicals Oxygen

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

یا تنظیم فعالیت ترکیبات دفاعی مانند پرولین شود (Ashraf & Foolad, 2007). پرولین نقش‌های مختلفی در گیاه ایفا می‌کند مانند تنظیم فشار اسمزی، حفظ یکپارچگی غشاء، تعادل بین آنزیم/ پروتئین، برقراری نسبت مناسب $NADP^+/NADPH$ و پاکسازی رادیکال‌های آزاد (Ashraf & Foolad, 2007). تجمع پرولین در شرایط تنش به میزان مقاومت گیاه بستگی دارد.

زنده ماندن گیاهان در شرایط تنش بستگی به توانایی گیاه به درک محرک، تولید و انتقال سیگنال‌ها و ایجاد تغییرات بیوشیمیایی دارد که فرآیندهای متابولیک نیز در همین راستا تغییر می‌کند. عوامل مختلفی مانند کلسیم، اتیلن، جاسمونیک اسید و سالیسیلیک اسید به عنوان سیگنال‌هایی در این باره معرفی شده است (Klessig & Malamy, 1994).

سالیسیلیک اسید به عنوان یک شبه هورمون فنولیک، تنظیمات درونی گیاه را انجام می‌دهد و نقش آن در سیستم دفاعی در مقابل تنش‌های زیستی (عوامل بیماری‌زا) و غیر زیستی (عناصر سنگین، شوری، خشکی و ازون) به خوبی مشخص است. همچنین به عنوان یک تنظیم‌کننده رشد گیاهی شناخته شده است که نقش مهمی در تنظیم تعدادی از فرآیندهای فیزیولوژیک شامل فتوسنتز، بسته شدن روزنه‌ها، تعرق، سنتز کلروفیل، سنتز پروتئین، ممانعت از بیوسنتز اتیلن، جذب و انتقال عناصر بازی می‌کند (Klessig & Malamy, 1994). به عنوان مثال، در سوسن سفید هنگام گلدهی گرما تولید می‌شود که در جذب یون‌ها از ریشه و ضریب هدایت روزنه‌ها نقش دارد (Raskin, 1992). سالیسیلیک اسید در تنظیم و ایجاد علامت‌هایی برای بیان ژن‌ها در زمان پیری در گیاه مدل آرابیدوبسیس (*Arabidopsis thaliana*) دخالت دارد (Morris et al., 2000). علاوه بر این، مانع رسیدگی میوه‌ها (Srivastava & Dwivedi, 2000) می‌شود. طی تحقیقاتی که تاکنون انجام شده به نظر می‌رسد که سالیسیلیک اسید در مقاومت به تنش سرما نیز نقش دارد و احتمالاً از طریق تأثیر بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و متابولیسم هیدروژن پراکسید، زمینه کاهش خسارت سرما و افزایش تحمل گیاه به سرما را فراهم می‌آورد. کارایی سالیسیلیک اسید در القاء تحمل به تنش، بسته به نوع گیاه و یا غلظت سالیسیلیک اسید دارد (Horváth et al., 2007). سالیسیلیک اسید سبب افزایش تحمل به شوری در گیاهچه‌های گندم (Shakirova & Bezrukova, 1997) و مقاومت به کمبود آب می‌گردد (Bezrukova et al., 2001). این ماده در گوجه‌فرنگی و لوبیا نیز سبب افزایش تحمل به دماهای پائین و بالا شده (Senaratna et al., 2000) و باعث کاهش آسیب عناصر سنگین در برنج می‌گردد (Mishra & Choudhuri, 1999). تولید پروتئین‌های شوک گرمائی در توتون (*Nicotiana tabacum*) و تجمع لکتین‌ها در گندم (Shakirova & Bezrukova, 1997) نیز به سالیسیلیک اسید نسبت داده می‌شود. کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید سبب ایجاد تحمل به گرما (Dat et al., 1998)، سرمازدگی (Janda et al., 1999) و تنش شوری در دولپه‌ای‌ها نیز می‌گردد (Borsanio et al., 2001). همچنین در ذرت، سالیسیلیک اسید سبب تغییراتی در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در زمان سرمازدگی می‌شود. با توجه به اینکه تنش سرما به عنوان یک عامل محدودکننده در تولیدات گیاهی مطرح است بنابراین مقابله با این تنش به صورت‌های مختلفی نظیر استفاده از ترکیباتی که هزینه کمتر و کارایی بالاتری داشته باشند، از اهمیت ویژه‌ایی برخوردار است. با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانتی و نقش شبه هورمونی سالیسیلیک اسید، در این تحقیق تأثیر این هورمون بر تخفیف تأثیر تنش سرما مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به منظور بررسی تأثیر سالیسیلیک اسید بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی دو رقم کلزا در شرایط آب و هوایی منطقه کرج در سال زراعی ۸۹-۱۳۸۸ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس اجرا شد. ارتفاع محل آزمایش از سطح دریا ۱۳۵۲ متر، مختصات جغرافیائی آن به ترتیب ۴۴َ ۳۵ْ عرض شمالی و ۱۰َ ۵۱ْ طول شرقی است. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. بذرهای مورد استفاده در کرت‌هایی به طول پنج و عرض دو متر در شش ردیف

کشت گردید (سه پشته که کشت در هر دو طرف آن انجام شد). فاصله بین ردیف‌ها ۳۵ سانتی‌متر و فواصل روی ردیف‌ها حدود ۴ سانتی‌متر در نظر گرفته شد (نزدیک به ۷۲۰ هزار بوته در هکتار). فاصله هر کرت از کرت مجاور و از تکرار بعدی ۱/۵ متر در نظر گرفته شد. کاشت در ۱۰ مهر سال ۸۸ انجام گردید. سالیسیلیک اسید در ۴ سطح (آب مقطر) ۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومول پنجاه روز بعد از کشت (در مرحله روزت) در دو رقم کلزا RGS (بهاره و حساس به سرما) و LICORD (پاییزه و متحمل به سرما) محلول‌پاشی شد. زمان محلول‌پاشی با توجه به آمار ۳۰ ساله منطقه با نزدیک شدن میانگین دمای شبانه‌روز به محدوده دمایی ۱۰-۷ درجه سانتی‌گراد و داده‌های ایستگاه هواشناسی واقع در دانشکده کشاورزی پنجاه روز بعد از کشت (۳۰ آبان) تعیین گردید (جدول ۱). نمونه‌گیری از برگ کلزا ۲۴ ساعت بعد از محلول‌پاشی (اول آذر) انجام شد (جدول ۲). بلافاصله بعد از نمونه‌گیری، نمونه‌ها درون فویل آلمینیومی پیچیده و به درون نیتروژن مایع انداخته شدند و سپس تمام نمونه‌ها تا انجام آزمایشات بیوشیمیایی درون فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند.

آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد محاسبه گردید.

جدول ۱- متوسط دمای روزانه در ماه آبان طی ۱۰ سال گذشته (۸۷-۱۳۷۸)

تاریخ	۸/۱	۸/۲	۸/۳	۸/۴	۸/۵	۸/۶	۸/۷	۸/۸	۸/۹	۸/۱۰	۸/۱۱	۸/۱۲	۸/۱۳	۸/۱۴	۸/۱۵	۸/۱۶	۸/۱۷	۸/۱۸	۸/۱۹	۸/۲۰	۸/۲۱	۸/۲۲	۸/۲۳	۸/۲۴	۸/۲۵	۸/۲۶	۸/۲۷	۸/۲۸	۸/۲۹	۸/۳۰
دما	۱۵/۳	۱۵/۴	۱۵/۶	۱۵/۳	۱۵/۲	۱۵/۳	۱۶/۳	۱۴/۹	۱۵/۱	۱۳/۵	۱۲/۹	۱۳/۱	۱۲/۵	۱۳/۴	۱۲/۷	۱۲	۱۱/۸	۱۱/۴	۱۰/۸	۱۰/۵	۱۰/۲	۹/۵	۹/۴	۹/۲	۹/۶	۹/۸	۹/۷	۷/۹	۸/۶	۸/۷

جدول ۲- میزان دما و بارندگی در زمان نمونه‌گیری

تاریخ	حداقل دما (°C)	حداکثر دما (°C)	میزان بارندگی (mm)
۸۸/۸/۲۹	۶	۹	۰/۰۱
۸۸/۸/۳۰	۱	۹	۱/۸
۸۸/۹/۱	-۱	۱۸	۰
۸۸/۹/۲	-۱	۱۲	۰
۸۸/۹/۳	-۲	۱۱	۰

سنجش مقدار کلروفیل و کاروتنوئید

برای سنجش مقدار کلروفیل و کاروتنوئید از روش Lichtenthaler (1987) استفاده شد. برای استخراج این رنگیزه‌ها، ۰/۲ گرم از نمونه برگی در استون ۸۰ درصد سائیده شدند. پس از صاف کردن به وسیله کاغذ صافی، جذب آنها در طول موج‌های ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲۰ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. جهت صفر کردن دستگاه از استن ۸۰ درصد (محلول بلانک) استفاده شد. نتایج بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه و ارائه گردیده است.

پراکسیداسیون لیپیدی غشاء

بر اساس روش Health & Packer (1969) و با استفاده از اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید به عنوان فرآوردهٔ نهایی پراکسیداسیون لیپیدی غشاء انجام گرفت. نمونه‌های منجمد شده به میزان ۰/۳ گرم در ۳ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۱۰ درصد (وزن به حجم) عصاره‌گیری شد. سپس به ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون صاف شده ۱ میلی‌لیتر تیوباربی توریک اسید ۰/۵ درصد (وزن به حجم) اضافه شد و در حمام آب گرم (۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت. سپس، لوله‌ها از حمام خارج و پس از سرد شدن مالون‌دی‌آلدئید با اندازه‌گیری جذب در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی (ε=155 $\mu M^{-1}cm^{-1}$) محاسبه شد و به صورت میلی‌مول بر سانتی‌متر بیان گردید.

اندازه‌گیری قندهای محلول

نمونه‌های منجمد به میزان ۰/۲ گرم در ۳ میلی‌لیتر آب مقطر عصاره‌گیری شدند و سپس محلول همگن حاصل به کمک کاغذ صافی صاف‌گردید. برای

اندازه‌گیری قند نمونه، به ۵۰ میکرولیتر از همگن صاف شده ۰/۵ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و ۲/۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸ درصد اضافه شد. منحنی استاندارد با استفاده از غلظت‌های مختلف گلوکز، زایلوز و مانوز از ۰ تا ۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر ترسیم گردید. جذب استانداردها به همراه جذب قند نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج‌های ۴۸۰، ۴۸۵ و ۴۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شده و مقدار قند نمونه، به صورت میکروگرم بر گرم بافت تازه بیان شد (Dubiso et al., 1965).

آنتوسیانین

بر طبق روش Krizek et al. (1993) مقدار ۰/۲ گرم برگ در ۳ میلی‌لیتر متانول اسیدی که شامل متانول و اسید کلریدریک به نسبت ۹۹ به ۱، به طور کامل سائیده شد، سپس عصاره حاصل سانتریفیوژ گردید و محلول روئی به مدت یک ساعت در تاریکی قرار گرفت. میزان جذب در ۵۵۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت، از ضریب خاموشی (ε= ۳۳۰۰$mol^{-1}cm^{-1}$) استفاده و به صورت میکرومول بر سانتی‌متر بیان گردید.

فلاونوئید

بر طبق روش Krizek et al. (1993) مقدار ۰/۲ گرم برگ در ۳ میلی‌لیتر اتانول اسیدی که شامل اتانول و اسید کلریدریک به نسبت ۹۹ به ۱، به طور کامل سائیده شد، سپس عصاره حاصل سانتریفیوژ شده و محلول روئی به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از سرد شدن نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر جذب آنها در سه طول موج ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت از ضریب خاموشی (ε=۳۳۰۰$mol^{-1}cm^{-1}$) استفاده و به صورت میکرومول بر سانتی‌متر بیان گردید.

پرولین

میزان پرولین برگ بر طبق روش Bates et al. (1973) مشخص شد. به این منظور ۰/۲ گرم بافت برگ توزین و در هاون چینی در ۳ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد به خوبی سائیده شد. همگن حاصل با دور ۱۸۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس ۲ میلی‌لیتر معرف ناین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک اسید گلاسیال اضافه شد. پس از بستن در لوله‌ها به مدت ۱ ساعت درحمام آب گرم (۱۰۰°C) قرار داده شد. پس از سرد شدن لوله‌ها به هر کدام از آنها ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه گردید و با استفاده از دستگاه ورتکس به مدت ۱۵ ثانیه لوله‌ها تکان داده شدند. فاز روئی را که به رنگ قرمز و حاوی پرولین محلول در تولوئن بود، برداشته و همزمان با نمونه‌های استاندارد در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار گرفت و جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید. غلظت پرولین بر حسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه برگ با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد.

نتایج

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر رقم بر تمام صفات مورد بررسی به جز میزان MDA در ریشه تأثیر گذار بوده و این در حالی بود که غلظت سالیسیلیک اسید نیز بر تمام صفات مورد بررسی اثر معنی‌دار نشان داد ($p\leq$۰/۰۱). اثر متقابل رقم در غلظت نیز بر تمام صفات مورد بررسی اثر معنی‌دار نشان داد (جدول‌های ۳ و ۴).

کلروفیل a وb: نتایج تغییرات میزان کلروفیل a و

جدول ۳- میانگین مربعات صفات مورد بررسی در دو رقم کلزا تحت تأثیر غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید

منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل (a+b)	پرولین	کاروتنوئید	MDA در ریشه	MDA در اندام هوایی	آنتوسیانین
تکرار	۲	۰/۰۰۰۴۲۹	۰/۰۰۰۰۹۰	۰/۰۰۰۲۵	۰/۰۳۶	۰/۰۰۰۰۵۲	۰/۰۰۰۱۶	۰/۰۰۱۴	۰/۰۰۰۰۰۰۰۹
رقم	۱	۰/۷۵۹۷**	۰/۱۹۸۶**	۱/۷۳**	۲/۲۹۸۶**	۰/۰۶۴**	۰/۰۰۰۰۱۶ns	۰/۵۲۸**	۰/۰۰۰۰۰۳۱۵**
غلظت محلول‌پاشی	۳	۰/۳۳۵۰**	۰/۰۱۷۲**	۰/۴۶**	۱/۳۱۸۴**	۰/۰۲۱**	۰/۲۱۹**	۰/۱۷۱**	۰/۰۰۰۰۰۷۷**
اثر متقابل	۳	۰/۰۶۹۳**	۰/۰۱۵۴**	۰/۱۴**	۱/۲۰۹۹**	۰/۰۱۰**	۰/۰۱۳۰**	۰/۱۷۲**	۰/۰۰۰۰۰۲۶۱**
خطای آزمایشی	۱۴	۰/۰۰۱۳۵	۰/۰۰۰۳۶	۰/۰۰۲۳	۰/۰۲۷	۰/۰۰۰۰۸۳	۰/۰۰۰۹	۰/۰۰۰۸۶	۰/۰۰۰۰۰۰۱۶
ضریب تغییرات (درصد)		۴/۱	۴/۹۱	۳/۷۷	۸/۷۴	۲/۵۲	۳/۲۴	۲/۸۵	۴/۹۴

ns، **: به ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار و معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد.

جدول ۴- میانگین مربعات صفات مورد بررسی در دو رقم کلزا تحت تأثیر غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید

منابع تغییر	درجه آزادی	فلاونوئید ۲۷۰	فلاونوئید ۳۰۰	فلاونوئید ۳۳۰	زایلوز در اندام هوایی	مانوز در اندام هوایی	گلوکز در اندام هوایی	زایلوز در ریشه	مانوز در ریشه	گلوکز در ریشه
تکرار	۲	۰/۰۰۰۰۱۸	۰/۰۰۰۰۰۲۳	۰/۰۰۰۰۱۷	۰/۰۱۰	۰/۰۱	۰/۱۲	۰/۰۰۲۲	۰/۲۴	۰/۰۷
رقم	۱	۰/۰۰۰۲۱**	۰/۰۰۱۳**	۰/۰۰۱۷**	۳/۸۴**	۵/۰۵**	۹/۶۳**	۹/۱۵**	۱۲/۵۱**	۲۲/۵۳**
غلظت محلول‌پاشی	۳	۰/۰۰۲۴**	۰/۰۰۰۸۲**	۰/۰۰۲۱**	۶/۳۵**	۷/۷۷**	۱۵/۰۴**	۲/۸۹**	۳/۵۴**	۷/۳۰**
اثر متقابل	۳	۰/۰۰۱۰**	۰/۰۰۰۴۳**	۰/۰۰۰۵۲**	۶/۷۹**	۸/۵۴**	۱۶/۳۶**	۳/۳۹**	۳/۸۹**	۷/۳۷**
خطای آزمایشی	۱۴	۰/۰۰۰۰۱۷	۰/۰۰۰۰۱۳۹	۰/۰۰۰۰۱۶	۰/۰۴۶	۰/۰۳۷	۰/۰۵	۰/۰۸	۰/۲۰	۰/۴۰
ضریب تغییرات (درصد)		۴/۸۸	۴/۱۸	۳/۴۳	۳/۰۲	۲/۵۲	۲/۲۲	۳/۴۷	۵/۰۷	۵/۳۱

ns، **: به ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار و معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد.

b در برگ‌های گیاه کلزا تحت تیمارهای سالیسیلیک اسید و تنش سرما در جدول ۳ نشان داده شده است. تنش سرما به تنهایی باعث کاهش میزان کلروفیل a در رقم حساس نسبت به رقم مقاوم شد (جدول ۳). محلول‌پاشی با غلظت ۱۰۰ میکرومول سالیسیلیک اسید در رقم مقاوم باعث افزایش میزان کلروفیل a گردید. تیمار سالیسیلیک اسید با غلظت ۴۰۰ میکرومول در رقم حساس باعث کاهش میزان کلروفیل b شد در حالی که سایر غلظت‌ها اثر معنی‌داری بر تغییرات مقدار کلروفیل b نداشتند (جدول ۵).

کلروفیل کل (a+b): محلول‌پاشی با ۱۰۰ میکرومول سالیسیلیک اسید در رقم مقاوم باعث افزایش ۲۳ درصدی مقدار کلروفیل کل گردید در حالی که سایر غلظت‌ها باعث کاهش مقدار کلروفیل کل شدند. رقم حساس با غلظت محلول‌پاشی ۴۰۰ میکرومول دارای کمترین میزان کلروفیل کل بود اما محلول‌پاشی با ۲۰۰ میکرو مول منجر به افزایش ۳۰ درصدی این صفت در رقم حساس شد (جدول ۵). سنتز کلروفیل از فرآیندهای بسیار حساس به دما است و به عنوان روشی کمّی برای اندازه‌گیری حساسیت به سرما در گونه‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد (Colom & Vazzana, 2001). در این آزمایش سرما باعث کاهش میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل شد که احتمالاً به علت خسارت ناشی از رادیکال‌های آزاد می‌باشد. تیمار گیاهان با سالیسیلیک اسید باعث افزایش میزان رنگدانه‌ها شد که احتمالاً به دلیل تأثیر سالیسیلیک اسید بر میزان تولید رادیکال‌های آزاد می‌باشد که در نتیجه از تخریب کلروفیل جلوگیری می‌شود. Popova et al. (1997) گزارش کردند که سالیسیلیک اسید باعث افزایش مقدار کلروفیل در گیاهان Polyrriza و Spirodella شد.

کاروتنوئیدها: سالیسیلیک اسید به طور معنی‌داری باعث افزایش میزان کاروتنوئید در هر دو رقم کلزا شد اما این افزایش وابسته به غلظت سالیسیلیک اسید بود به‌طوری‌که در رقم حساس غلظت ۴۰۰ میکرومول سالیسیلیک اسید باعث کاهش مقدار این رنگدانه گردید به‌نحوی که مقدار این رنگدانه از گیاه شاهد نیز کمتر شد (جدول ۵). این در حالی بود که در غلظت ۲۰۰ میکرومول میزان کارتنوئید افزایش ۱۳/۱۵ درصدی نسبت به عدم مصرف داشت. بیشترین مقدار کاروتنوئید در رقم مقاوم در غلظت ۱۰۰ میکرومول با ۲۹/۷۸ درصد افزایش بود (جدول ۵). نتایج این تحقیق نشان داد که تیمار با سالیسیلیک اسید (در غلظت‌های کم تا متوسط) باعث افزایش میزان کاروتنوئیدها در هر دو رقم می‌شود (جدول ۳) که احتمالاً به خاطر خاصیت آنتی‌اکسیدانت کاروتنوئید می‌باشد. کاروتنوئیدها قادرند انرژی زیاد طول موج‌های کوتاه را گرفته و اکسیژن منفرد را به سه‌تایی تبدیل کنند و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولیدشده نقش آنتی‌اکسیدانت خود را بروز دهند (Inze & Montagu, 2000). به نظر می‌رسد افزایش میزان کاروتنوئیدها در اثر استفاده از سالیسیلیک اسید باعث افزایش مقاومت گیاه در برابر خسارت اکسیداتیو شود. Lidon et al. (2001) دریافتند که دمای زیر ۱۰ درجه سانتی‌گراد باعث کاهش میزان کاروتنوئید در برگ‌های ذرت می‌شود در حالی که میزان این رنگدانه در برگ‌های علف گندمی که تحت همین تیمار بود افزایش یافت. همچنین Moharekar et al. (2003) گزارش کردند که سالیسیلیک اسید باعث فعال شدن تولید کاروتنوئیدها و زانتوفیل در گیاهچه‌های گندم می‌شود.

مالون‌دی‌آلدئید: محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید به طور معنی‌داری باعث کاهش MDA در اندام هوایی و ریشه شد (جدول ۵). اثر رقم در میزان MDA در ریشه در سطح ۵ درصد معنی‌دار نشد (جدول ۳) اما غلظت محلول معنی‌دار بود به‌طوری‌که با افزایش غلظت از میزان MDA کاسته شد (جدول ۵). تیمار ۴۰۰ میکرومول دارای کمترین میزان MDA در اندام هوایی رقم مقاوم بود به‌طوری‌که باعث کاهش ۵۴/۸۸ میزان این صفت نسبت به عدم مصرف شد (جدول ۵) اما در رقم حساس تیمار ۴۰۰ میکرومول از اثر بخشی سالیسیلیک اسید کاست به‌طوری‌که باعث افزایش MDA در اندام هوایی رقم حساس گردید (جدول ۵) و غلظت ۲۰۰ میکرومول با ۱۰/۸۳ کاهش دارای کمترین میزان MDA بود. در این تحقیق سالیسیلیک اسید باعث کاهش MDA شد (جدول ۵) که علت آن می‌تواند کاهش اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد ناشی از تنش توسط سالیسیلیک اسید باشد که به این وسیله از صدمه به اسیدهای چرب غیر اشباع و کاهش نفوذ پذیری غشاء جلوگیری نموده در نتیجه باعث حفاظت از غشاء تیلاکوئیدی در زمان تنش می‌شود (Borsanio et al., 2001). نتایج این تحقیق با نتایج Wang et al. (2009) که نشان از کاهش MDA است، مطابقت داشت. نتایج نشان‌دهنده آن است که پیش تیمار با سالیسیلیک اسید باعث کاهش و یا به تعویق انداختن خسارت اکسیداتیو ناشی از تنش سرما می‌شود. علاوه بر این گزارش شده است که سالیسیلیک اسید عامل کاهش مالون دی‌آلدئید تولید شده در تنش شوری در برگ‌ها و ریشه‌های بوته‌های جو می‌باشد (El-Tayeb, 2005).

قندهای محلول: سالیسیلیک اسید باعث افزایش قندهای محلول در اندام هوایی گیاه شد به‌طوری‌که افزایش غلظت سالیسیلیک اسید باعث تجمع بیشتر قند گردید و بیشترین غلظت قندهای مانوز، زایلوز و گلوکز در رقم حساس و غلظت ۴۰۰ میکرومول مشاهده شد که این افزایش در قند گلوکز ۵۸/۹۸ درصدی بود، اما در رقم مقاوم این افزایش تا غلظت ۲۰۰ میکرومول (معادل با ۶/۷۰ درصد) بود و غلظت هر سه قند در غلظت ۴۰۰ میکرومول کاهش یافتند (جدول ۶). اعتقاد بر این است که در بسیاری از گیاهانی که توانایی افزایش قندهای محلول را در اندام خود دارند توانایی مقاومت در برابر سرمای سخت را دارند (Guy et al., 1992). تجمع ساکارز و دیگر قندهای ساده که در اثر سازگاری به سرما اتفاق می‌افتد در پایداری غشاء نیز نقش دارد و باعث حفاظت غشا در مقابل خسارت انجماد می‌شود. به نظر می‌رسد سالیسیلیک اسید به وسیله افزایش میزان قند، توانایی مقاومت گیاه را در برابر سرما افزایش می‌دهد.

Guy et al. (1992) مشاهده کردند که سرمای ۵ درجه سانتی‌گراد باعث افزایش قندهای ساکارز، گلوکز و فروکتوز در گیاه اسفناج شد. ساکارز بیشترین قندی بود

جدول ۵- مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده تحت تأثیر رقم کلزا و غلظت سالیسیلیک اسید

رقم	غلظت	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل a+b	پرولین	کارتنوئید	MDA در ریشه	MDA در اندام هوایی	آنتوسیانین
RGS (حساس)	۰	۰/۵۹۶۶e	۰/۳۴۶۶d	۰/۹۴۳۳f	۱/۴۳۹۷e	۰/۳۲۹۵e	۱/۱۴۳۳۳b	۱/۲۰۶۶۷b	۰/۰۰۸۴b
RGS (حساس)	۱۰۰	۰/۸۹۶۶e	۰/۳۳۳۳d	۱/۲۳۰۰e	۱/۴۸۱۱de	۰/۳۴۶۰e	۰/۸۵۰۰۰cd	۱/۱۴۶۶۷c	۰/۰۰۸۱c
RGS (حساس)	۲۰۰	۱/۰۳۶۶c	۰/۳۳۰۰d	۱/۳۶۶۶d	۱/۶۶۹۹cde	۰/۳۷۱۷d	۰/۸۲۰۰۰de	۱/۰۷۶۶۷d	۰/۰۰۷۵cd
RGS (حساس)	۴۰۰	۰/۳۴۶۶f	۰/۱۸۸۸e	۰/۵۳۵۵g	۱/۸۱۰۴bc	۰/۱۹۰۲f	۰/۸۹۰۰۰c	۱/۲۹۳۳۳a	۰/۰۰۶۹d
Licord (مقاوم)	۰	۰/۸۴۰۰d	۰/۴۱۶۶c	۱/۲۵۶۶e	۱/۷۶۶۳cbd	۰/۳۳۵۵e	۱/۲۷۶۶۷a	۱/۳۳۶۶۷a	۰/۰۰۸۶b
Licord (مقاوم)	۱۰۰	۱/۲۸۳۳a	۰/۵۸۶۶a	۱/۸۷۰۰۰a	۱/۹۹۴۸b	۰/۴۷۱۹a	۰/۸۳۰۰۰de	۰/۹۰۰۰۰e	۰/۰۱۰۸a
Licord (مقاوم)	۲۰۰	۱/۱۸۶۶b	۰/۴۵۳۳b	۱/۶۴۰۰b	۳/۵۴۵۷a	۰/۴۵۲۸b	۰/۷۸۰۰۰e	۰/۶۹۳۳۳f	۰/۰۰۷۴cd
Licord (مقاوم)	۴۰۰	۰/۹۹۰۰c	۰/۴۷۰۰b	۱/۴۶۰۰c	۱/۵۶۶۵ced	۰/۳۹۲۲c	۰/۸۱۰۰۰de	۰/۶۰۶۶۷g	۰/۰۰۷۰d

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون، فاقد اختلاف آماری معنی‌داری در سطح ۵ درصد می‌باشند.

واحد غلظت: میکرومول، واحد کلروفیل و پرولین: میلی‌گرم بر گرم وزن تر، واحد آنتوسیانین: میکرومول بر سانتی‌متر و واحد MDA: میلی‌مول بر سانتی‌متر

که تغییر کرد. افزایش قند می‌تواند به علت افزایش فعالیت آنزیم ساکارز فسفات سینتتاز باشد که در دمای پایین به طور معنی‌داری افزایش یافت.

میزان قندهای محلول در ریشه کلزا تا حدودی متفاوت از اندام هوایی بود. بیشترین میزان قند در ریشه از رقم حساس و با غلظت ۲۰۰ میکرومول به دست آمد در حالی که غلظت ۴۰۰ میکرومول باعث کاهش میزان قند گردید (جدول ۶).

فلاونوئید: نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که به طور کلی مصرف سالیسیلیک اسید باعث افزایش مقدار فلاونوئید به عنوان یک ماده آنتی‌اکسیدانت ثانویه در هر دو رقم شد (جدول ۶). بیشترین غلظت فلاونوئید ۲۷۰ در غلظت ۲۰۰ میکرومول در رقم حساس مشاهده شد اما با افزایش غلظت از مقدار آن کاسته شد. کمترین مقدار آن در رقم مقاوم با غلظت ۴۰۰ میکرومول بدست آمد (جدول ۶) که نشان‌دهنده خسارت ناشی از غلظت زیاد سالیسیلیک اسید می‌باشد. میزان فلاونوئید ۳۰۰ و ۳۳۰ نیز با افزایش غلظت زیاد شد (جدول ۶) که بیشترین مقدار فلاونوئید ۳۰۰ و ۳۳۰ در رقم مقاوم با غلظت ۱۰۰ میکرومول مشاهده شد که با افزایش غلظت از مقدار این رنگدانه‌ها کاسته شد. کمترین مقدار فلاونوئید ۳۰۰ و ۳۳۰ در رقم حساس و غلظت صفر بود که در این رقم نیز افزایش غلظت باعث افزایش مقدار این دو فلاونوئید شد (جدول ۶). فلاونوئیدها جز متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که به طور کلی به عنوان مواد آنتی‌اکسیدانت شناخته شده‌اند (Ververidis et al., 2007). به نظر می‌رسد افزایش این رنگدانه توسط سالیسیلیک اسید از طریق پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن از تنش‌های اکسیداتیو جلوگیری کرده و باعث افزایش مقاومت در گیاه می‌شود (Khan et al., 2003).

آنتوسیانین: بیشترین میزان آنتوسیانین با ۲۰/۳۷ درصد افزایش نسبت به عدم مصرف در تیمار ۱۰۰ میکرومول و در رقم مقاوم مشاهده شد (جدول ۵) این در حالی بود که غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ باعث کاهش میزان این رنگدانه شد (جدول ۵). تیمار سالیسیلیک اسید در رقم حساس باعث کاهش ۱۶/۸۵ درصدی میزان این رنگدانه شد (جدول ۵). آنتوسیانین نیز مشابه فلاونوئیدها یک رنگیزه محافظ می‌باشد که گیاه را در شرایط تنش، به خصوص تنش نوری محافظت می‌کند افزایش میزان آنتوسیانین در رقم مقاوم نشان‌دهنده توانایی سالیسیلیک اسید در افزایش مقاومت گیاه در برابر خسارت اکسیداتیو و رادیکال آزاد است (جدول ۵). Danuta et al. (1999) گزارش کردند که برگ‌های کلزا زمانی که به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۵- درجه سانتی‌گراد رشد کردند دارای مقدار آنتوسیانین

جدول ۶- مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده تحت تأثیر رقم کلزا و غلظت سالیسیلیک اسید

رقم	غلظت	فلاونوئید ۲۷۰	فلاونوئید ۳۰۰	فلاونوئید ۳۳۰	زایلوز در اندام هوایی	مانوز در اندام هوایی	گلوکز در اندام هوایی	زایلوز در ریشه	مانوز در ریشه	گلوکز در ریشه
RGS (حساس)	۰	۰/۰۷۵۹d	۰/۰۶۴۴f	۰/۰۸۵۶f	۳/۹۳۷۹f	۴/۰۹۷۱f	۵/۱۸۵۹f	۶/۰۵۴۹e	۷\۱۱۳۵c	۹/۵۸۱۷c
RGS (حساس)	۱۰۰	۰/۰۷۳۲d	۰/۰۸۱۱e	۰/۱۰۸۱d	۶/۵۷۰۴e	۷/۰۱۱۷e	۹/۲۳۱۹e	۷/۳۱۷۴d	۶/۹۳۴۱c	۸/۹۴۳۰c
RGS (حساس)	۲۰۰	۰/۱۱۴۰a	۰/۰۸۳۹ed	۰/۱۱۷۷c	۷/۷۱۵۱bc	۸/۳۳۹۳bc	۱۰/۹۰۲۸c	۹/۴۵۱۱a	۱۰/۲۴۸۳a	۱۳/۶۹۴۹a
RGS (حساس)	۴۰۰	۰/۰۷۰۸d	۰/۰۹۷۵c	۰/۱۲۵۹b	۸/۷۳۱۰a	۹/۳۹۰۷a	۱۲/۶۳۴۵a	۸/۲۷۳۷c	۸/۸۶۰۷b	۱۱/۹۴۹۹b
Licord (مقاوم)	۰	۰/۰۹۰۵c	۰/۰۷۹۱e	۰/۰۹۴۱e	۷/۵۰۹۴cd	۸/۰۱۳۶a	۱۰/۷۲۰۵c	۹/۱۶۹۸ab	۹/۶۵۳۶ab	۱۲/۶۲۵۳ab
Licord (مقاوم)	۱۰۰	۰/۱۱۲۳a	۰/۱۱۲۸a	۰/۱۴۵۴a	۷/۴۹۱۶cd	۸/۳۵۷۲bc	۱۰/۶۴۸۹c	۸/۹۵۹۴ab	۹/۹۱۳۳b	۱۳/۳۳۷۶a
Licord (مقاوم)	۲۰۰	۰/۱۰۴۴b	۰/۱۰۵۶b	۰/۱۴۵۳a	۷/۹۹۷۶b	۸/۵۵۳۳b	۱۱/۴۹۹۴b	۹/۰۵۸۹ab	۹/۷۵۷۴a	۱۳/۰۹۴۵ab
Licord (مقاوم)	۴۰۰	۰/۰۵۰۹e	/۰۸۹۲d	۰/۱۲۱۴bc	۷/۱۵۸۱b	۷/۵۹۱۸d	۱۰/۱۵۴۵d	۸/۸۵۰۱b	۹/۶۰۹۳ab	۱۲/۸۶۳۹ab

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون، فاقد اختلاف آماری معنی‌داری در سطح ۵ درصد می‌باشند.

واحد غلظت: میکرومول، واحد فلاونوئیدها: میکرو مول بر سانتی‌متر و واحد قندها میکرو گرم بر گرم بافت تازه

بالاتری نسبت به گیاه شاهد بودند.

پرولین: به طور کلی محلول‌پاشی گیاهان با سالیسیلیک اسید باعث افزایش میزان پرولین در هر دو رقم شد که بیشترین میزان پرولین در رقم مقاوم با غلظت ۲۰۰ میکرومول سالیسیلیک اسید مشاهده شد (جدول ۳). در رقم مقاوم بیشترین میزان پرولین در غلظت ۲۰۰ میکرومول سالیسیلیک اسید با ۵۰/۲۸ درصد افزایش نسبت به عدم مصرف مشاهده شد. اما میزان پرولین در رقم حساس با میزان غلظت سالیسیلیک اسید رابطه مستقیم داشت به‌طوری‌که در غلظت ۴۰۰ میکرومول با ۲۰/۹۹ افزایش بیشترین میزان پرولین را داشت. تجمع پرولین که به علت کاهش تبدیل پرولین به پروتئین که ناشی از تخریب پروتئین سینتتاز است منجر به افزایش پرولین می‌شود که در نتیجه باعث کاهش رشد می‌شود (Ashraf & Foolad, 2007). در این تحقیق نیز سالیسیلیک اسید باعث افزایش میزان پرولین گیاه شد که می‌تواند منجر به افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش شود. Apostolova et al. (2008) مشاهده کردند که سرما باعث افزایش پرولین در گندم بهاره شد. تجمع پرولین در مواجهه با تنش شوری (Reza et al., 2006) و H_2O_2 نیز گزارش شده است (Basaga, 1989). کاربرد ۰/۵ میلی‌مول سالیسیلیک اسید باعث افزایش پرولین و کاهش اثرات مخرب شوری بر رشد عدس شد و می‌تواند باعث بهبود مقاومت به شوری شود (Neelam & Preeti, 2009).

تأثیرات منفی که دمای پایین برکلروپلاست و فتوسنتز دارد سبب کاهش توان دستگاه فتوسنتزی و اختلال در انتقال الکترون از فتوسیستم دو به فتوسیستم یک و گیرنده اصلی الکترون ($NADP^+$) شده که در نهایت الکترون به مولکول اکسیژن منتقل می‌شود و در این زمان بالا بودن میزان کلروفیل باعث افزایش میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود که یکی از راهکارهای گیاهان برای کاهش تولید این رادیکال‌ها، افزایش فعالیت آنزیمی به نام کلروفیلاز می‌باشد که باعث تجزیه کلروفیل می‌شود اما از طرفی توانایی حفظ کلروفیل توسط گیاه تحت استرس می‌تواند سبب بهبود وضعیت رویش گیاهچه شود. همانطور که در جدول مقایسه میانگین (جدول ۵) نشان داده شد، میزان کلروفیل در ارقام کلزای مورد مطالعه کاهش یافت اما در ارقام مقاوم کاهش کمتری در میزان کلروفیل مشاهده شد که نشان می‌دهد رقم مقاوم توانسته است که با مقدار کلروفیل بیشتر و با استفاده از سازوکار دفاعی بهتر نسبت به رقم حساس، از تولید و اثرات منفی دمای پایین جلوگیری کرده و با داشتن فتوسنتز و انرژی بیشتر باعث افزایش تحمل نسبت به تنش سرما شوند.

گیاهان حاوی مولکول رنگدانه متنوعی‌اند که این رنگدانه‌ها، نوری را که به لحاظ فیزیولوژیک مفید است جذب می‌کنند. کلروپلاست حاوی مقادیر زیادی از کاروتن‌ها و زانتوفیل‌ها می‌باشد. کارتنوئیدها گروهی از رنگدانه‌های نارنجی و زردند که محلول در چربی بوده و در غشاء کلروپلاست یافت می‌شوند. وظیفه آنها جمع آوری انرژی و حفاظت نوری می‌باشد. کارتنوئیدها از راه ترکیب برگشت پذیر با رادیکال‌های اکسیژن و تشکیل زانتوفیل‌ها، مانع از تخریب کلروفیل‌ها می‌شوند. همچنین گیاهان در طبیعت، ترکیب ثانویه‌ای تولید می‌کنند که به عنوان راهبردهای دفاعی در مقابل تنش‌های محیطی از آنها استفاده می‌نمایند (Amal & Aly, 2008). برخی از این ترکیب‌های ثانویه دارای ویژگی جذب نوری هستند و سلول‌ها را از اثرات مضر پرتوهای انرژی محافظت می‌کنند. گیاهان با تجمع متابولیت‌های ثانویه نظیر فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها در ساختار خود، برای مقابله با شرایط تنش‌های محیطی آماده شده و مقاوم می‌شوند. این ترکیبات جزء آنتی‌اکسیدانت‌های غیرآنزیمی محسوب می‌شوند که دارای خاصیت خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد هستند. میزان متابولیت‌های ثانویه در گیاهانی که تحت تأثیر تنش قرار گرفته‌اند، بیشتر از حالت عدم تنش می‌باشد (Khan et al., 2003). فلاونوئیدها جزء متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که به طور کلی به عنوان مواد آنتی‌اکسیدانت شناخته شده‌اند (Ververidis et al., 2007). آنتوسیانین یکی دیگر از رنگیزه‌های محافظ می‌باشد که گیاه را در شرایط تنش، به خصوص تنش نوری محافظت می‌کند و همراه با فلاونوئیدها به دلیل محلول بودن در آب، در واکوئل‌ها وجود دارند. افزایش میزان رنگدانه‌های آنتی‌اکسیدانت غیرآنزیمی توسط سالیسیلیک اسید در رقم مقاوم می‌تواند نشان‌دهنده

توانایی این اسید در افزایش مقاومت گیاه در برابر خسارت اکسیداتیو و رادیکال آزاد باشد. به نظر می‌رسد افزایش این رنگدانه‌ها توسط سالیسیلیک اسید از طریق پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن، از تنش‌های اکسیداتیو جلوگیری کرده و باعث افزایش مقاومت در گیاه می‌شود.

تجزیه اکسیداتیوی لیپیدها را پراکسید شدن لیپید می‌گویند، فرآیندی که در آن رادیکال‌های آزاد منجر به صدمه دیدن لیپیدها می‌شود. پایداری غشاء سلولی به طور گسترده به منظور نشان دادن میزان مقاومت استفاده می‌شود و پایداری بالای غشاء سلولی با مقاومت آنها به تنش‌های غیرزنده همبستگی دارد. بر اساس نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر، افزایش میزان MDA امری طبیعی بوده که دور از انتظار نمی‌باشد و حفاظت از غشاء سلول یکی از سازوکارهای دفاعی مهمی است که باعث زنده ماندن گیاهان در شرایط سرد می‌شود.

گیاهان سازوکارهای دفاعی مختلفی برای بقاء تحت شرایط تنش‌های محیطی دارند. تجمع ترکیباتی با وزن مولکولی پایین، pH خنثی و بسیار حل شونده که در غلظت‌های زیاد غیرسمی می‌باشند، از جمله سازوکارهای عمومی گیاهان برای کاهش خسارت می‌باشد که باعث حفظ فشار اسمزی و همچنین تثبیت ساختار پروتئین و غشاء تحت تنش شده و نقش مهمی در سازگاری سلول به تنش‌های مختلف دارند. بر اساس تحقیقات پیشین، قندهای محلول می‌توانند نقش مهمی در تنظیم اسمزی سلول‌ها ایفا نمایند و برخی گیاهان مانند کلزا از طریق تجمع مقدار زیادی مواد محافظت‌کننده اسمزی مانند قندهای محلول می‌توانند به طور چشمگیری نسبت به تنش‌های دمای پایین، شوری و خشکی مقاومت نشان داده و ظرفیت پایین در تجمع محافظت‌کننده‌های اسمزی مانند قندها یکی از دلایل ضعف گیاهان در شرایط دمای پایین عنوان شده است (Koster & Leopoid, 1988). از طرفی تنش دمای پایین می‌تواند سبب بروز خسارت در غشای سلولی و ایجاد اختلال در انتقال مولکول‌ها و یون‌ها از طریق کانال‌ها و پمپ‌های موجود در غشاء گردد که این امر می‌تواند یکی از دلایل مهم ناتوانی ارقام در انتقال قندها از برگ به ریشه و افزایش میزان قند در برگ گیاهان باشد (Gilla et al., 2001). کمتر بودن میزان قند در رقم حساس، احتمالاً به علت آسیب و اختلال بیشتر در انتقال قندهای محلول از سلول‌های مزوفیلی برگ به سمت خارج سلول می‌باشد. پرولین یکی دیگر از ترکیبات محلول می‌باشد که تحت تنش سرما به مقدار زیادی تولید آن افزایش می‌یابد (Ashraf & Foolad, 2007). تجمع ترکیبات حل شونده سازگار، باعث افزایش اسمولاریته سلول شده و می‌تواند جریان آبی را هدایت و میزان خروج آن را کاهش دهد و همچنین در محافظت از غشاهای تیلاکوئیدی کلروپلاست در برابر رادیکال‌های آزاد ناشی از آسیب‌های محیطی مفید باشد. به نظر می‌رسد سالیسیلیک اسید به وسیله افزایش میزان قندها و پرولین، مقاومت گیاه را در برابر سرما افزایش داده است.

سالیسیلیک اسید جزء ترکیبات فنولیک بوده که در ارتباط با بهبود وضعیت گیاهان با استفاده از ترکیبات فنولیک تحقیقات زیادی انجام شده و نتایج آنها نشان داده که استعمال خارجی ترکیبات فنولیک (از جمله سالیسیلیک اسید) منجر به فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت می‌شود که وابسته به تولید NADPH از طریق چرخه پنتوز فسفات می‌باشد، در نتیجه ترکیبات فنولیک توانایی افزایش در میزان NADPH را دارا می‌باشند (Patrick et al., 2000). با این که تولید NADPH منبعی از انرژی برای گیاه و فعالیت سیستم دفاعی آن در شرایط تنش می‌باشد اما یک احیا کننده ضعیف است که مقدار زیاد آن و ناتوانی گیاه در مصرف کردن آن در شرایط تنش (به علت بسته شدن روزنه‌ها و توقف ورود CO_2 به درون مرکز فتوسنتز) احتمال خسارت دیدن اندام‌های سلولی را به همراه دارد. بنابراین استفاده از غلظت‌های بالای سالیسیلیک اسید نه تنها برای گیاه مفید نمی‌باشد، بلکه توانایی وارد کردن خسارت به گیاه را نیز دارا می‌باشد که نتایج تحقیقات گذشته نیز این مطلب را نشان داده‌اند (Horváth et al., 2007).

از طرفی سالیسیلیک اسید با تأثیری که بر فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانت سوپر اکسید دیسموتاز دارد می‌تواند باعث تبدیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن به پر اکسید هیدروژن شود (Dat et al., 1998). با این که پر اکسید هیدروژن خود یک ماده مخرب می‌باشد ولی در

شرایط تنش، نقش پیک را در غلظت‌های پایین ایفا می‌کند و می‌تواند مفید باشد. بنابراین اگر گیاه نتواند با استفاده از آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز میزان پراکسیدهیدروژن را کنترل کنند، این ماده نقش مخرب خواهد داشت (Dat et al., 1998).

به طور کلی نتایج این آزمایش نشان داد که سایسیسلیک اسید اثر مثبتی بر رفع تنش سرما داشته است و احتمالاً می‌توان توصیه نمود که غلظت ۲۰۰ میکرومول سبب کاهش خسارت اکسیداتیو می‌شود و از این جهت استفاده آن به صورت محلول‌پاشی در مزارعی که با تنش مواجه هستند ضمن بررسی‌های بیشتر قابل توصیه می‌باشد.

REFERENCES

1. Amal, A. M. & Aly, A. A. (2008). Alteration of some secondary metabolites and enzymes activity by using exogenous antioxidant compound in onion plants growth under seawater salt stress. *American-eurasian Journal of Science Research*, 3, 139-146.
2. Andrews, J. R., Fryer, M. J. & Baker, N. R. (1995). Characterization of chilling effects on photosynthetic performance of maize crops during early season growth using chlorophyll fluorescence. *Journal Experimental Botany*, 46, 1195-1203.
3. Apostolova, P., Yordanova, R. & Popova, L. (2008). Response of antioixidative defence system to lowtemperature stress in two wheat ultivar. *Gen Appl Plant Physiology, Special Issue*, 34(3-4), 281-294.
4. Ashraf, M. & Foolad, M. R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59, 206-216.
5. Basaga, H. S. (1989). Biochemical aspects of free radicals. *Biochemistry of Cell Biology*, 68, 989-998.
6. Bates, L. S., Waldern, R. P. & Teave, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.
7. Bezrukova, M., Sakhabutdinova, V. Fatkhutdinova, R., Kyldiarova, R. A., Shakirova, I. & Sakhabutdinova, F. A. R. (2001).The role of hormonal changes in protective action of salicylic acid on growth of wheat seedlings under water deficit. *Agrochemiya (Russ)*, 2, 51-54.
8. Borsanio, O., Valpuesta, V. & Botella, M. A. (2001). 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.
9. Colom, M. R. & Vazzana, C. (2001). Drought stress effects on three cultivars of Eragrostis curvula: photosynthesis and water relations. *Plant Growth Regulation*, 34, 195-202.
10. Danuta, S., Alain, M. B. & Kacperska, A. (1999). Phenylpropanoid and anthocyanin changes in low-temperature treated winter oilseed rape leaves. *Plant Physiology Biochemical*, 37(6), 491-496.
11. Dat, J. F., Lopez, D., Foyer, H. & Scott, I. M. (1998). Parallel changes in H_2O_2 and catalase during thermotolerance induced by salicylic acid or heat acclimation in mustard seedlings. *Plant Physiology*, 116, 1351-1357.
12. Dubiso, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers P. A. & Smith, F. (1965). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Annual Chemical*, 28, 350-356.
13. Elste, E. F. (1982). Oxygen activation and oxygen toxicity. *Annalu Review Plant Physiology*, 33, 69-73.
14. El-Tayeb, M. A. (2005). Response of barley Gains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation*, 45, 215-225.
15. Gilla, P. K., Sharma, A. D., Singh, P. & Bhullar, S. S. (2001). Effect of various abiotic stresses on the growth, soluble sugers and water relations of sorghum seedlings grown in light and dark. *Plant Physiology*, 27(1-2), 72-84.
16. Guy, L., Joan, L., Huber, A. & Steven, C. Huber. (1992). Sucrose phosphate synthase and sucrose accumulation at low temperature. *Plant Physiology*, 100, 502-508.
17. Heath, R. L. & Packer, L. (1969). Photoperoxidation in isolated choloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125, 189-198.
18. Horváth, E., Szalai, G. & Janda, T. (2007). Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. *Plant Growth Regulation*, 26, 290-300.
19. Howarth, C. J. & Ougham, H. J. (1993). Gene expression under temperature stress. *New Phytologist*, 125, 1-26.
20. Hughes, M. A. & Dunn, M. A. (1990). The effect of temperature on plant growth and development. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 8, 161-88.
21. Inze, D. & Montagu, M. V. (2000). *Oxidative stress in plants*. Cornawall. Great Britain. 321 pages.
22. Janda, T., Szalai, G., Tari, I. & Paldi, E. (1999). Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants. *Planta*, 208, 175-180.

23. Krizek, D. T., Kramer G. F., Upadhyaya, A. & Mirecki, R. M. (1993). UV- B response of cucumber seedling grown under metal halid and high pressure sodium/deluxe lamps. *Physiology of Plant*, 88, 350-358.
24. Khan, W., Prithiviraj, B. & Smith, D. L. (2003). Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. *Plant Physiology*, 160, 485-92.
25. Klessig, D. F. & Malamy, J. (1994). The salicylic acid signal in plants. *Plant Mo1ecular Biology*, 26, 1439-1458.
26. Koster, K. L. & Leopoid, A. C. (1988). Sugars and desiccation tolerwheatance in seeds. *Plants Physiology*, 96, 302-304.
27. Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350- 382.
28. Lidon, F. C., Loureiro, A. S., Vieira, D. E., Bilho, E. A., Nobre, P. & Costa, R. (2001) Photoinhibition in chilling stressed wheat and maize. *Photosynthetica*, 39(2), 161-166.
29. Markowski, A, Augustyniak, G. & Janowiak, F. (1990). Sensitivity of different species of field crops to chilling temperature: 3 ATP content and electrolyte leakage from seedling leaves. *Physiol Plant*, 12, 167-173.
30. Mishra, A. & Choudhuri, M. A. (1999). Effect of salicylic acid on heavy metal-induced membrane deterioration mediated by lipoxygenase in rice. *Biology Plant*, 42, 409-415.
31. Moharekar, S. T., Lokhande, S. D., Hara, T., Tanaka, R., Tanaka, A. & Chavan, P. D. (2003). Effect of salicylic acid on chlorophyll and carotenoid contents of wheat and moong seedlings. *Photosynthetica*, 41, 315-317.
32. Morris, K., Mackerness, S. A. H. & Page, T. (2000). Salicylic acid has a role in regulating gene expression during leaf senescence. *Plant Journal*, 23, 677-685.
33. Neelam, M. & Saxena, P. (2009). Effect of salicylic acid on proline metabolism in lentil grown under salinity stress. *Plant Science*, 177, 181-189.
34. Patrick, Mc Cue., Zuoxing, Z., Jennifer, L. P. & Kalidas, S. (2000). A model for enhanced pea seedling vigour following low pH and salicylic acid treatments. *Process Biochemistry*, 35, 603-613.
35. Peltzer, D., Dreyer, E. & Polle, A. (2002). Differrential temperature dependencies of antioxidative enzymes in two contrasting species. *Plant Physiology and Biochemistr*, 40, 141-150.
36. Popova, L., Pancheva, T. & Uzunova, A. (1997) Salicylic acid: properties, biosynthesis and physiological role. *Plant Physiology*, 23, 85-93.
37. Raskin, K. (1992). Role of salicylic acid in plants. *Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology*, 43, 439-463.
38. Reza, S., Heidari, R., Zare, S. & Norastehnia, A. (2006). Antioxidant response of two salt-stressed barley varieties in the presence or absence of exogenous proline. *Gen Appl Plant Physiology*, 32(3-4), 233-251.
39. Senaratna, T., Touchell. D., Bunn, E. & Dixon, K. (2000). Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plant. *Plant Growth Regulation*, 30, 157-161.
40. Shakirova, F. M. & Bezrukova, M. V. (1997). Induction of wheat resistance against environmental salinization by salicylic acid. *Biology Bulletin*, 24, 109-112.
41. Srivastava, M. K. & Dwivedi, U. N. (2000). Delayed ripening of banana fruit by salicylic acid. *Plant Science*, 158, 87-96.
42. Upadhyaya, H., Khan, M. H. & Panda, S. K. (2006). Hydrogen peroxide induces oxidative stress in detached leaves of *Oryza sativa* L. *Gen Appl Plant Physiology*, 33(1-2), 83-95.
43. Ververidis, F., Trantas, E., Douglas, C., Vollmer, G., Kretzschmar, G. & Panopoulos, N. (2007). Biotechnology of flavonoids and other phenylpropanoid-derived natural products. Part I: Chemical diversity, impacts on plant biology and human health. *Biotechnology Journal*, 2(10).
44. Wang, Y., Yang, Z. M., Zhang, Q. F. & Li, J. L. (2009). Enhanced chilling tolerance in *Zoysia matrella* by pre-treatment with salicylic acid, calcium chloride, hydrogen peroxide or 6-benzylaminopurine. *Biologia Plantarum*, 53(1), 179-182.
45. Zhao, S. Y. & Blumwald, E. (1998). Changes in oxidation-reduction state and antioxidant enzymes in the roots of jack pine seedlings during cold acclimation. *Physiology Plant*, 104, 134-142.