مقاله پژوهشی

پاسخ دانهال‌های مکزیکن لایم (*Citrus aurantifolia* cv. Mexican lime) به اسیدسالیسیلیک در شرایط تنش شوری

راضیه خواجه[۱]، مصطفی قاسمی[۲]*، عبدالمجید میرزاعلیان‌دستجردی[۳] و غلامرضا دمی‌زاده[۴]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۲/۱۹- تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۶/۲۶)

چکیده

به منظور بررسی اثر اسیدسالیسیلیک بر تحمل به شوری دانهال‌های مکزیکن لایم، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در شرایط گلخانه‌ای اجرا شد. فاکتورها شامل شوری (۰، ۲۰ ، ۴۰ و ۶۰ میلی‌مولار کلریدسدیم) و اسیدسالیسیلیک (۰، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) با ۴ تکرار بودند. تیمارهای شوری به مدت ۷۰ روز روی دانهال‌های یکساله اعمال گردیدند. در پایان آزمایش، پارامترهای مختلف رشدی مانند وزن خشک برگ، ریشه و ساقه، پارامترهای فیزیولوژیکی مانند محتوای نسبی آب برگ و درصد نشت یونی و پارامترهای بیوشیمیایی مانند میزان کلروفیل، پرولین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز مورد ارزیابی قرار گرفتند. به طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که شوری بر متابولیسم گیاه لیمو اثر منفی گذاشت به‌طوری که پارامترهایی مانند وزن خشک برگ، ساقه و ریشه، میزان کلروفیل a، کلروفیل کل و محتوای نسبی آب برگ، با افزایش شوری کاهش یافتند. شوری سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز شد. استفاده از اسیدسالیسیلیک به ویژه غلظت ۰/۵میلی مولار نیز سبب کاهش آثار سوء تنش در شرایط شوری گردید به طوری که سبب افزایش وزن خشک برگ، کلروفیل کل و محتوای نسبی آب برگ در شرایط تنش شوری شد.

کلمات کلیدی: اسیدسالیسیلیک، پرولین، کلروفیل، مکزیکن لایم، نشت‌یونی

۱- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

۲- استادیار پژوهشی بخش زراعی باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان قزوین، قزوین

۳- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

۴- هیئت علمی بخش تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان هرمزگان، بندرعباس

* پست الکترونیک: mostafaghasemi1417@gmail.com

مقدمه

مکزیکن لایم با نام علمی *Citrus aurantifolia cv. Mexican lime* درختچه‌ای است از خانواده مرکبات که سالیان مدیدی در نواحی جنوبی ایران عمدتا در استان‌های هرمزگان (عمدتا در میناب و رودان)، جنوب فارس، بوشهر و بلوچستان کشت می‌شود. این گونه از نظر تجاری حائز اهمیت زیادی برای کشور و به ویژه مناطق جنوبی کشور می‌باشد. طبق آخرین آمار فائو[1] در سال ۲۰۰۸ ایران نهمین تولید کننده لیمو (لایم و لمون) در جهان می‌باشد. مرکبات جزء گیاهان حساس به شوری می‌باشند به طوری که شوری‌های کم تا متوسط نیز باعث کاهش رشد و ایجاد عوارض فیزیولوژیک در آن‌ها می‌شود (استوری و واکر[2]، ۱۹۹۹). به طور کلی در تمامی مرکبات میزان رشد و عملکرد در بالاتر از ۱/۴ دسی-زیمنس بر متر کاهش می‌یابد (جلیلی‌مرندی، ۱۳۸۹).

اسیدسالیسیلیک یا ارتوهیدروکسی‌بنزوئیک اسید یکی از هورمون‌های گیاهی و جزء ترکیبات فنلی است که در همه اندام‌های گیاهی وجود دارد و هنگامی که گیاه با تنش‌های زیستی و غیرزیستی مواجه می‌شود، غلظت این هورمون افزایش یافته و تحمل گیاه به تنش‌ها را القاء می‌کند (کایسر[3] و همکاران، ۲۰۱۰). استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی مانند اسیدسالیسیلیک می‌تواند به عنوان راه حلی کوتاه مدت، برای رفع اثرات منفی تنش‌های مختلف مدنظر قرار گیرد. نتایج تحقیقات انجام شده نشان داده که اسیدسالیسیلیک بر طیف وسیعی از صفات مانند جوانه‌زنی بذر، رشد، اجزای عملکرد، فیزیولوژی و بیوشیمی گیاهان، به ویژه در شرایط شور اثر مثبت داشته است (اشرف[4] و همکاران، ۲۰۱۰؛ قاسمی و همکاران، ۱۳۹۸). کاربرد خارجی اسیدسالیسیلیک، مقاومت به شوری را در گندم (ساکیرووا[5] و همکاران، ۲۰۰۳) و گوجه‌فرنگی (تاری و همکاران[6]، ۲۰۰۲)، مقاومت به خشکی را در گندم (سینگ و یوشا[7]، ۲۰۰۳) و خیار (بیات و همکاران، ۱۳۹۰) بهبود داده است. گزارش شده که اسیدسالیسیلیک بر افزایش عملکرد ریحان و مرزنجوش اثر مثبتی دارد (فاتما[8] و همکاران، ۲۰۰۷). کاربرد خارجی اسیدسالیسیلیک در غلظت-های مناسب، کارآیی سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاهان را افزایش داده و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز را تغییر می‌دهد و از این طریق تحمل گیاه به تنش‌های زیستی و غیرزیستی را افزایش می‌دهد (کایسر و همکاران، ۲۰۱۰). در بررسی حاجی‌وند و رحمتی (۱۳۹۷) نتایج نشان داده شد که کاربرد اسید سالیسیلیک سبب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز بوته انگور در شرایط تنش سرمایی شد. با توجه به حساسیت به شوری نهال لیمو به ویژه در مراحل ابتدایی رشد، این تحقیق با هدف بررسی اثرات اسیدسالیسیلیک بر تحمل به شوری دانهال‌های لیموی رقم مکزیکن لایم و شناسایی بهترین غلظت در شرایط گلخانه انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر اسیدسالیسیلیک بر تحمل به شوری دانهال‌های یکساله مکزیکن لایم، آزمایشی گلدانی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملا تصادفی در شرایط گلخانه اجرا شد. این آزمایش در سال ۱۳۹۵، در گلخانه پژوهشی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان هرمزگان واقع در شهر بندرعباس با طول جغرافیایی "۲۶ °۵۶ شرقی و عرض جغرافیایی "۱۷ °۲۷ شمالی با ۱۰ متر ارتفاع از سطح دریا انجام شد. فاکتورها شامل شوری در چهار سطح (۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌مولار کلریدسدیم) و اسیدسالیسیلیک در سه سطح (۰، ۰/۵، ۱ میلی‌مولار) با ۴ تکرار بودند. دانهال-های انتخابی یکنواخت و طول آن‌ها حدود ۳۰ سانتی‌متر بود. یک هفته قبل و یک هفته بعد از شروع تنش شوری محلول-پاشی دانهال‌های انتخابی با اسید سالیسیلیک انجام شد. تیمارهای تنش شوری به مدت دو ماه روی گیاهان اعمال شد. جهت اجتناب از ایجاد شوک ناشی از شوری، مقادیر نمک در هر یک از تیمارها تدریجا به آب آبیاری اضافه شد تا نهایتا پس از چهار دوره آبیاری، نمک مصرفی به اندازه تیمار مورد نظر رسید. آبیاری دانهال‌های شاهد، با آب آبیاری صورت گرفت

1. FAO
2. Storey and walker
3. Qaiser
4. Ashraf
5. Shakirova
6. Tari
7. Singh and Usha
8. Fatma

گرفت. آبیاری طوری انجام شد که رطوبت گلدان‌ها در حد ظرفیت مزرعه نگه‌داری شود. پارامترهای رویشی شامل وزن خشک برگ، ریشه و ساقه در پایان آزمایش اندازه‌گیری شدند. میزان نشت یونی توسط روش لوتس[1] و همکاران (۱۹۹۶)، کلروفیل توسط روش آرنون[2] (۱۹۴۹) و میزان پرولین نیز براساس روش بیتس[3] و همکاران (۱۹۷۳) یک هفته قبل از پایان آزمایش اندازه‌گیری شدند. محتوای نسبی آب برگ نیز در روز قبل از پایان آزمایش مطابق با روش توصیف شده توسط ریچی[4] و همکاران (۱۹۹۰) روی جوان‌ترین برگ‌های بالغ گیاه اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

تهیه عصاره آنزیمی

برای این منظور یک هفته قبل از پایان آزمایش از گیاهان نمونه‌برداری برگی انجام شد. ۱ گرم برگ گیاهان بعد از ساییده شدن در هاون چینی سرد شده توسط نیتروژن مایع، در میکروتیوب‌ها قرار داده شد. سپس برای استخراج پروتئین محلول برگ، ۳ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات ۰/۱ مولار با pH برابر ۷ به آن‌ها اضافه شد (جهت تهیه محلول بافر، ابتدا محلول یک مولار از هر کدام از نمک‌های $Na_2HPO_4.2H_2O$ و $NaH_2PO_4.2H_2O$ تهیه شد. سپس برای تهیه محلول یک دهم میلی‌مولار، ۲۵ میلی‌لیتر از هر یک از این‌ها را برداشته با هم مخلوط و به حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر رسانده شدند. لوله‌های دارای نمونه برگی و بافر به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. روشناورها به عنوان منبع آنزیمی هستند و طی ۲ الی ۴ ساعت باید قرائت شوند و طی این مدت در یخ نگهداری می شوند.

اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز برای هر نمونه، ۲/۵ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) و پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار (سوبسترا) مخلوط شدند (مخلوط واکنش). مخلوط واکنش در کووت کوارتز ریخته شد و درست قبل از اندازه‌گیری سرعت واکنش، ۳۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به آن اضافه شد. فعالیت آنزیمی با اضافه کردن عصاره به مخلوط واکنش شروع شد. میزان کاهش جذب نور در طول موج ۲۴۰ نانومتر مابین زمان‌های ۱۵ و ۷۵ ثانیه بعد از عصاره اندازه‌گیری شد و سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از محاسبه کاهش جذب H_2O_2 در ۲۴۰ نانومتر انجام شد (دهیندسا[5] و همکاران، ۱۹۸۱). مخلوط واکنش (بدون عصاره آنزیمی) به عنوان کووت شاهد یا بلانک در نظر گرفته شد.

اندازه گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز برای هر نمونه، ۳۰ میکرولیتر از ترکیب آلی گایاکول ۲۰۰ میلی‌مولار و ۲/۵ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات ۰/۰۵ میلی‌مولار (pH=۷) و پراکسید هیدروژن ۰/۳ درصد مخلوط شدند (مخلوط واکنش). مخلوط واکنش در کووت کوارتز ریخته شد و درست قبل از اندازه‌گیری سرعت واکنش، ۳۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به آن اضافه شد. اگر عصاره حاوی آنزیم باشد، آمینواسیدهای آنزیم با پراکسید هیدروژن واکنش نشان می‌دهد و پراکسید هیدروژن (سوبسترا) تجزیه و به آب و اکسیژن تبدیل می‌شود. از آنجا که محل فعال آنزیم مشابه سوبسترا است، تنها سوبسترا می‌تواند به آن متصل شود. اکسیژن حاصل از تجزیه پراکسید هیدروژن نیز با گایاکول (دهنده الکترون) واکنش و تولید رنگ قهوه‌ای می‌کند که می‌توان این رنگ قهوه‌ای را با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری کرد (باکستر و باون[6]، ۱۹۸۸). گایاکول در حالت طبیعی بی‌رنگ است و پس از واکنش با اکسیژن تولید رنگ می‌کند. این ترکیب روی آنزیم اثر ندارد و با آن واکنش نمی‌دهد. به عبارتی سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از گایاکول و اندازه‌گیری میزان جذب تتراگایاکل (حاصل از اکسیدشدن گایاکول) انجام می‌گیرد. میزان جذب تتراگایاکول در لحظه شروع واکنش و پس از یک دقیقه خوانده شد. برای صفر کردن دستگاه، مخلوط واکنش (بدون عصاره آنزیمی) به عنوان کووت شاهد یا بلانک در نظر گرفته شد و میزان جذب با آن صفر شد. میزان قهوه‌ای شدن محلول، سرعت واکنش را نشان می‌دهد. هر چه رنگ تولیدی بیشتر باشد حاکی از فعالیت بیشتر پراکسیداز می‌باشد.

1. Lutts
2. Arnon
3. Bates
4. Ritchie
5. Dhindsa
6. Baxter and Bowen

آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTAT-C و Excel انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با توجه به آزمون دانکن صورت گرفت.

نتایج و بحث

آنالیز واریانس پارامترها

نتایج نشان داد اثر شوری بر همه پارامترهای مورد بررسی به جز مقدار کلروفیلb معنی‌دار بود (جدول ۱). اثر اسید سالیسیلیک نیز بر پارامترهای وزن خشک برگ، کلروفیلa و کلروفیل کل معنی‌دار بود، اما بر پارامترهای وزن خشک ساقه و ریشه، نشت یونی، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز، پرولین، کلروفیلb و محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار نبود. نتایج برهمکنش شوری و اسید سالیسیلیک نیز بر پارامترهای وزن خشک برگ، کلروفیل کل و محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار بود. سایر پارامترها تحت تأثیر برهمکنش شوری و اسیدسالیسیلیک قرار نگرفتند (جدول ۱).

وزن خشک برگ

اثر متقابل شوری و اسیدسالیسیلیک در سطح احتمال ۱ درصد بر وزن خشک برگ معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که از نظر وزن خشک برگ در شوری ۰ ، ۲۰ و ۴۰ میلی‌مولار در سه غلظت اسیدسالیسیلیک تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. اما در شوری ۶۰ میلی‌مولار تفاوت معنی‌داری (در سطح ۱ درصد) مشاهده شد. به‌طوری‌که بیشترین وزن خشک برگ مربوط به غلظت نیم میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و کمترین وزن خشک برگ مربوط به تیمار عدم محلول‌پاشی بود (شکل۱).

وزن خشک ساقه

شوری اثر معنی‌داری (در سطح یک درصد) بر وزن خشک ساقه نشان داد. اما اثر ساده غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و اثر متقابل شوری و اسیدسالیسیلیک معنی‌دار نبود (جدول ۱). بیشترین وزن خشک ساقه در تیمار شوری صفر میلی‌مولار و کمترین وزن خشک ساقه در تیمار شوری ۶۰ میلی‌مولار مشاهده شد. میزان کاهش وزن خشک ساقه نسبت به شاهد، در شوری‌های ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌مولار به ترتیب ۹/۲۲، ۳۰/۷۸ و ۴۰/۲۸ درصد بود (شکل۲).

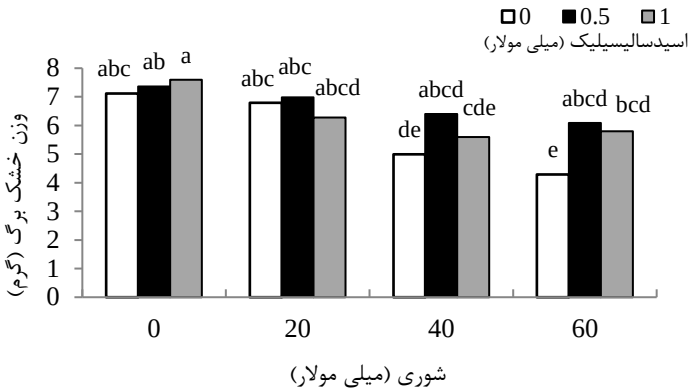
وزن خشک ریشه

شوری اثر معنی‌داری (در سطح یک درصد) بر وزن خشک ریشه داشت. در حالی که اثر ساده اسیدسالیسیلیک و اثر متقابل شوری و اسیدسالیسیلیک بر وزن خشک ریشه معنی‌دار نبود (جدول ۱). بیشترین وزن خشک ریشه در تیمار شوری صفر میلی‌مولار و کمترین وزن خشک ریشه در تیمار شوری ۶۰ میلی‌مولار مشاهده شد. بین تیمارهای مختلف شوری تفاوت معنی‌داری (در سطح یک درصد) وجود داشت. میزان کاهش وزن خشک ریشه نسبت به شاهد، در شوری‌های ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌مولار به ترتیب ۱۸/۱۶، ۳۰/۷۳ و ۴۵/۶۶ درصد بود (شکل ۳).

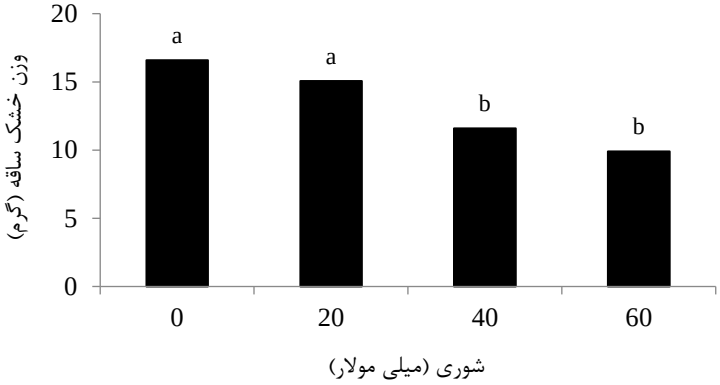
جدول ۱- تجزیه واریانس خصوصیات دانهال های مکزیکن لایم

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات										
		وزن خشک برگ	ورن خشک ساقه	وزن خشک ریشه	نشت یونی	کاتالاز	پراکسیداز	پرولین	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	محتوای نسبی آب برگ
شوری (A)	۳	۳/۸۲۷*	۱۱۳/۱۸۸**	۲۳۴/۳۵۵**	۳۸۳/۲۸۶**	۲۵۶۲/۰۸۸**	۲۵۷/۱۰۴**	۵۸۱۱۷/۹۶**	۰/۱۷۱**	۰/۰۰۱^{ns}	۰/۱۵۹**	۵۰۳۴/۲۵۸**
اسیدسالیسیلیک (B)	۲	۳/۳۴۹*	۳/۹۸۲^{ns}	۹/۹۸۰^{ns}	۸۱/۵۴۳^{ns}	۱۵۴/۴۲۰^{ns}	۰/۱۸۱^{ns}	۷۲۰/۸۷۸^{ns}	۰/۰۳۶**	۰/۰۰۰^{ns}	۰/۰۳۰**	۱۶۲/۳۳۵^{ns}
A*B	۶	۴/۱۶۳**	۲/۳۱۴^{ns}	۳/۵۱۸^{ns}	۱۰/۳۲۳^{ns}	۵۲/۹۱۵^{ns}	۴/۰۴۰^{ns}	۲۱۱۹/۶۳۵^{ns}	۰/۰۰۵^{ns}	۰/۰۰۳^{ns}	۰/۰۰۹*	۲۱۸/۰۲۱*

^{ns} عدم اختلاف معنی دار ، ** اختلاف معنی دار در سطح ۱ درصد و * معنی دار در سطح ۵ درصد



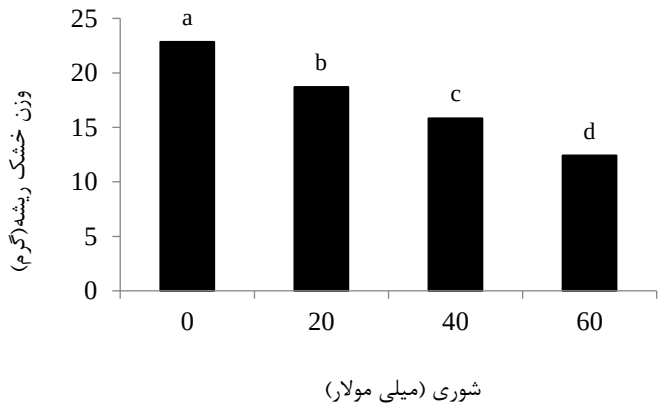
شکل ۱- برهمکنش شوری و اسیدسالیسیلیک بر وزن خشک برگ دانهال های مکزیکن لایم. میانگین ها با حروف مشترک تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.



شکل ۲- اثر ساده شوری بر وزن خشک ساقه دانهال های مکزیکن لایم. میانگین ها با حروف مشترک تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.

نتـایج نشان داد با افزایش شوری، وزن خـشک بخـش هوایی و ریشه گیاه با کاهش معنـی‌داری مواجـه مـی‌شـود. مهمترین واکنش گیاه به افزایش شوری خاک، کاهش رشد است. اولین نشانه شوک اسمزی حاصل از تنش شوری، ریزش ناگهانی برگ‌ها می‌باشد. شوک اسمزی باعث افزایش در تولید ABA، ACC و در نهایت اتیلن در ریشه‌ها و برگ‌ها می‌گردد. شوک اسمزی حاصل، تولید اسیدآبسیزیک و اتیلن را افزایش داده و در نتیجه ریزش برگ‌ها تحریک می‌گردد (لوی و سیورستن[1]، ۲۰۰۴). کاهش وزن برگ می‌تواند به سه دلیل عمده یعنی کاهش در اندازه تک تک برگ‌ها، کاهش در تولید برگ‌های جدید و نهایتا ریزش برگ‌های پیر باشد. در تیمار اسیدسالیسیلیک وزن خشک برگ بیشتر بود. احتمال داده می‌شود که اسیدسالیسیلیک به عنوان تنظیم کننده رشد بالقوه، بتواند سبب بهبود جذب عناصر غذایی در شرایط تنش شوری و خشکی شود که این خود ممکن است افزایش رشد را در پی داشته باشد (الیزابت[2] و همکاران، ۲۰۰۸). با افزایش شوری، میزان آب سلول‌های برگ کاهش می‌یابد که این امر، کاهش سرعت طویل و تقسیم شدن سلول‌ها را به همراه داشته و باعث کوچک‌تر شدن اندازه برگ‌ها و کاهش سطح آن‌ها و درنتیجه کاهش وزن خشک برگ می‌شود (مونز[3]، ۲۰۰۲). شوری بالا ممکن است به علت کاهش جذب آب توسط گیاه، از رشد و طویل شدن ریشه و ساقه جلوگیری کند. در گیاهچه

1. Levy and Syvertsen
2. Elizabeth
3. Munns



شکل ۳- اثر ساده شوری بر وزن خشک ریشه دانهال های مکزیکن لایم. میانگین ها با حروف مشترک تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.

های گندم تحت تنش شوری کاربرد اسیدسالیسیلیک موجب بهبود پارامترهای رشد گردید (دولت‌آبادیان و همکاران، ۱۳۸۷).

نشت یونی

اثر ساده سطوح مختلف شوری بر نشت یونی در سطح یک درصد معنی‌دار بود. اما اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و اثر متقابل شوری و اسیدسالیسیلیک بر نشت یونی معنی‌دار نبود (جدول ۱). بیشترین نشت یونی در شوری ۶۰ میلی‌مولار و کمترین نشت یونی در شوری صفر مشاهده شد. بین سطوح مختلف شوری تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (شکل ۴).

شوری با جایگزینی Na^{+} به جای Ca^{+2} در غشا، نفوذپذیری غشا را تحت تأثیر قرار می‌دهد (سایرام[1] و همکاران، ۲۰۰۵). همچنین وجود یون‌های کلر و سدیم در سلول منجر به تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در سلول شده و می‌توانند متابولیسم نرمال سلولی را از طریق آسیب‌های اکسیداتیو به ماکرومولکول‌های ضروری مثل لیپیدها، نوکلئیک اسیدها و پروتئین‌ها و رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت تأثیر قرار دهند. این امر به ایجاد تغییراتی در نفوذپذیری انتخابی غشاءهای زیستی و نشت مواد از غشاء و تغییر در فعالیت آنزیم‌های باند شده به غشاء منجر خواهد شد (مونز، ۲۰۰۲؛ هاسگاوا[2] و همکاران، ۲۰۰۰). غشاهای سلولی و اندامک‌ها، اولین محل آسیب به سلول‌ها در شرایط تنش توسط گونه‌های فعال اکسیژن هستند. رادیکال‌های سوپر اکسید ایجاد شده در شرایط تنش شوری باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و افزایش محتوای مالون دی-آلدئید و در نتیجه آسیب به غشاهای سلولی می‌شوند (بورسانی[3] و همکاران، ۲۰۰۱).

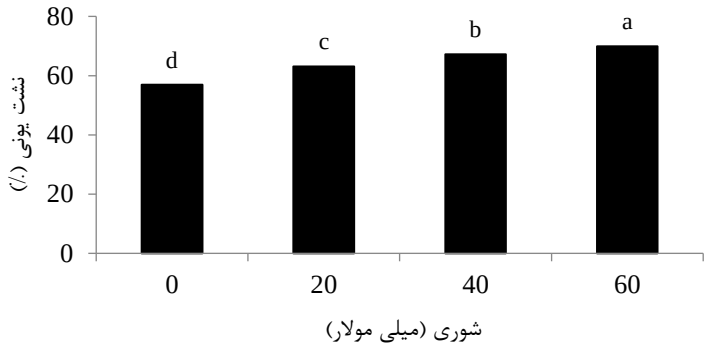
در این پژوهش مشخص شد اسیدسالیسیلیک اثر معنی‌داری بر نشت یونی نداشت اما در برخی گزارش‌ها مشخص شده که کاربرد برون‌زای اسیدسالیسیلیک موجب تعدیل آثار ناشی از تنش شوری می‌شود که می‌توان گفت پاسخ گونه‌های مختلف گیاهی به این ترکیب متفاوت است. بررسی‌ها روی لوبیا و گوجه‌فرنگی نشان داد که اسید سالیسیلیک موجب جلوگیری از صدمه به اسیدهای چرب غشا، کاهش نفوذپذیری غشاء و حفاظت از غشای تیلاکوئیدی در شرایط شوری گردید (سنارانتا[4] و همکاران، ۲۰۰۲).

فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان

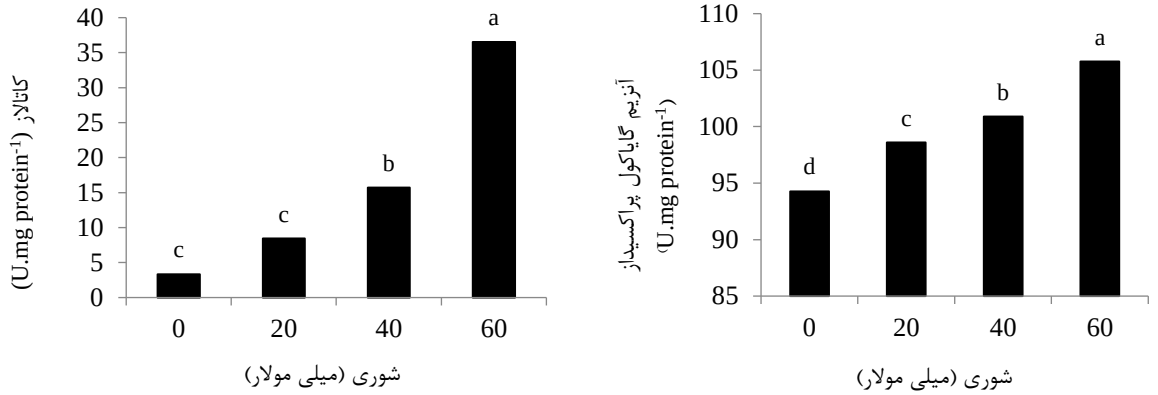
اثر ساده سطوح مختلف شوری بر آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در سطح یک درصد معنی‌دار بود اما اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و اثر متقابل شوری و اسیدسالیسیلیک معنی‌دار نبود (جدول ۱). بیشترین فعالیت کاتالاز و پراکسیداز در شوری ۶۰ میلی‌مولار و کمترین فعالیت در شوری صفر مشاهده شد (شکل ۵).

در طول دوره تنش، تولید انواع اکسیژن فعال، افزایش می‌یابد

1. Sairam
2. Hasegawa
3. Borsani
4. Senaranta



شکل ۴- اثر ساده شوری بر نشت یونی برگ دانهال‌های مکزیکن لایم. میانگین ها با حروف مشترک تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.



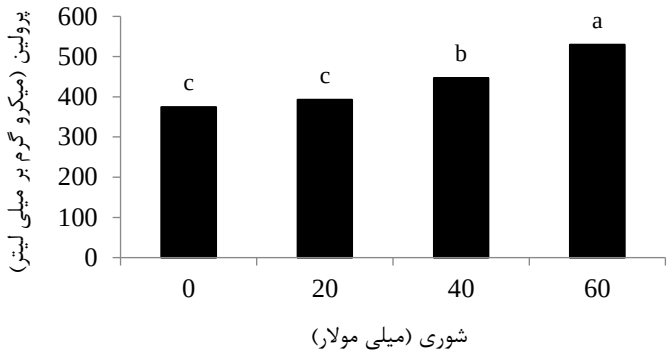
شکل ۵- اثر ساده شوری بر فعالیت کاتالاز و گایاکول پراکسیداز دانهال‌های مکزیکن لایم. میانگین ها با حروف مشترک تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.

(علی[1] و همکاران، ۲۰۰۸). این گونه‌های اکسیژن برای سلول بسیار واکنش‌گر و سمی هستند و در غلظت بالا سبب تنش اکسیداتیو می‌شوند و در غیاب یک مکانیسم حفاظتی قوی، ایجاد شده و به متابولیسم لیپیدها، پروتئین و اسیدنوکلئیک صدمه می‌زنند و به خصوص باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء می‌شوند. گیاهان برای مقابله با آسیب‌های اکسیداتیو از سیستم آنزیمی مانند آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز و سیستم غیرآنزیمی مانند گلوتاتیون و آسکوربات استفاده می‌کنند (میتلر[2]، ۲۰۰۲). تغییر در فعالیت آنزیم به سطح تنش اعمال شده، گونه گیاهی و نوع آنزیم بستگی دارد. نتایج این پژوهش نشان داد که شوری سبب افزایش فعالیت آنزیم‌ها شد. در بررسی آلودسدا کوستا[3] و همکاران (۲۰۰۵) میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز برگ سورگوم تحت شوری افزایش یافت اما از میزان فعالیت کاتالاز کاسته شد.

میزان پرولین

اثر ساده سطوح مختلف شوری بر پرولین در سطح یک درصد معنی‌دار بود اما اثر ساده اسیدسالیسیلیک و اثر متقابل شوری و اسیدسالیسیلیک بر میزان پرولین برگ معنی‌دار نبود (جدول ۱). میزان افزایش پرولین نسبت به شاهد در شوری‌های ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌مولار به ترتیب ۴/۸۸، ۲۵ و ۴۱/۴۳ درصد بود. بین سطوح صفر و ۲۰ میلی‌مولار تفاوت معنی‌دار وجود نداشت

1. Ali
2. Mittler
3. Alvesda Costa



شکل ۶- اثر ساده شوری بر میزان پرولین در دانهال های مکزیکن لایم. میانگین ها با حروف مشترک تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.

ولی سطوح ۴۰ و ۶۰ میلی‌مولار تفاوت معنی‌داری دیده شد (شکل ۶).

افزایش پرولین در گیاهان به هنگام تنش، نوعی سازوکار دفاعی است. پرولین با چندین سازوکار مانند تنظیم اسمزی، جلوگیری از تخریب آنزیم، حفظ و سنتز پروتئین، حذف انواع گونه‌های فعال اکسیژن و تثبیت موقعیت طبیعی ماکرو مولکول‌ها در شرایط تنش، مقاومت گیاه را در برابر تنش‌ها بالا می‌برد (اوزتورک[1] و همکاران، ۲۰۱۲). کوهی‌فایق و همکاران (۲۰۱۳) برخی خصوصیات فیزیولوژیکی زیتون تلخ (*Melia azedarach*) تحت تنش شوری را مورد ارزیابی قرار دادند، نتایج نشان داد که با افزایش غلظت شوری مقدار پرولین و قندهای محلول در اندام‌های هوایی و زیرزمینی به طور معنی‌داری افزایش یافت.

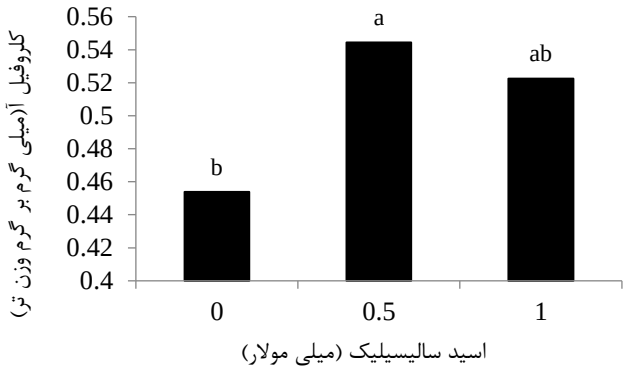
میزان کلروفیل

اثر ساده شوری و اسیدسالیسیلیک بر مقدار کلروفیل a در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. اما اثر متقابل شوری و اسید سالیسیلیک معنی‌دار نبود. مقدار کلروفیل b نیز تحت تأثیر سطوح شوری، اسیدسالیسیلیک و اثر متقابل شوری و اسید سالیسیلیک قرار نگرفت. از نظر کلروفیل کل نیز مشاهده شد اثر ساده شوری و نیز اثر ساده سطوح اسیدسالیسیلیک در سطح ۱درصد و اثر متقابل شوری و اسیدسالیسیلیک در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین و کمترین مقدار کلروفیل a به ترتیب در شوری ۰ و ۶۰ میلی‌مولار مشاهده شد (شکل ۷). در تیمار اسیدسالیسیلیک نیز بیشترین و کمترین مقدار کلروفیل a به ترتیب در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار و صفر مشاهده شد (شکل ۸).

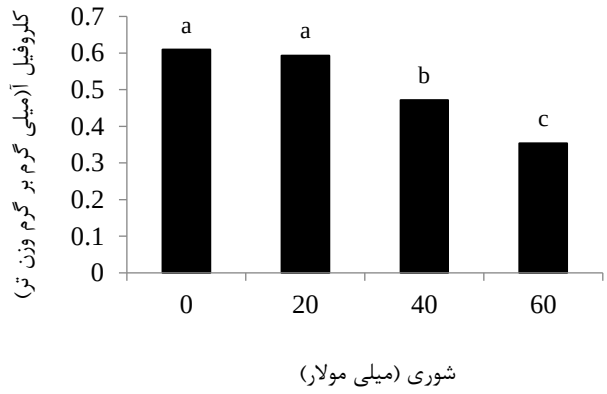
مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و اسیدسالیسیلیک بر کلروفیل کل نشان داد که در شوری صفر میلی‌مولار در سه غلظت اسیدسالیسیلیک تفاوت معنی‌داری دیده نشد. اما در شوری ۲۰ میلی‌مولار بیشترین کلروفیل کل در یک میلی‌مولار اسیدسالیسیلیک و کمترین کلروفیل کل در صفر میلی‌مولار دیده شد. در شوری ۴۰ میلی‌مولار بیشترین کلروفیل کل در غلظت نیم میلی‌مولار و کمترین کلروفیل کل در صفر میلی-مولار دیده شد. در شوری ۶۰ میلی‌مولار بیشترین کلروفیل کل در غلظت نیم میلی‌مولار و کمترین کلروفیل کل در تیمار عدم محلول‌پاشی بود (شکل ۹).

کاهش در غلظت کلروفیل در شرایط تنش یک نشانه بارز از تنش اکسیداتیو است (اگرت و توینی[2]، ۲۰۰۲). این کاهش ممکن است مربوط به از بین رفتن کلروفیل یا کاهش نسبی سنتز کلروفیل و یا هر دوی آن‌ها باشد. همچنین ممکن است در ارتباط با افزایش فعالیت آنزیم‌های کاهش دهنده کلروفیل یا کلروفیلاز باشد (گونز[3] و همکاران، ۲۰۰۷). در گزارش خان[4] (۲۰۰۳) دلیل کاهش میزان کلروفیل به عدم سنتز این ماده و افزایش اتیلن در شرایط تنش نسبت داده شده است. مشاهده شد که

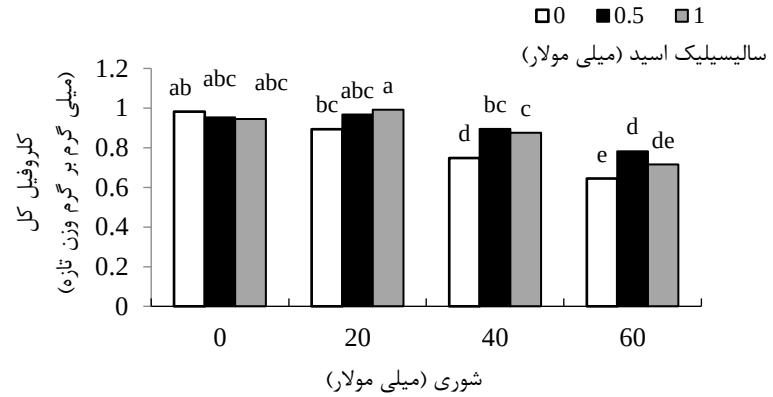
1. Ozturk
2. Egert and Tevini
3. Gunes
4. Khan



شکل ۷- اثر ساده اسید سالیسیلیک بر کلروفیل a در دانهال‌های مکزیکن لایم. میانگین ها با حروف مشترک تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.

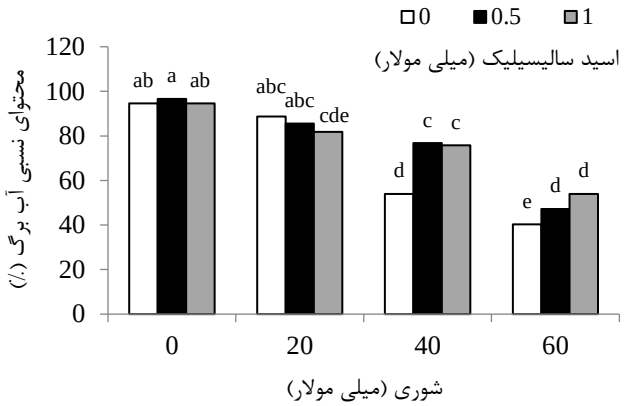


شکل ۸- اثر ساده شوری بر کلروفیل a در دانهال های مکزیکن لایم. میانگین ها با حروف مشترک تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.



شکل ۹- برهمکنش شوری و اسیدسالیسیلیک بر کلروفیل کل دانهال‌های مکزیکن لایم. میانگین ها با حروف مشترک تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.

اسیدسالیسیلیک منجر به افزایش کلروفیل برگ گیاهان مکزین لایم تحت شرایط تنش شوری شد. افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت تیمار اسیدسالیسیلیک را می‌توان به اثر این هورمون بر تحریک مسیر سنتزی این رنگدانه‌ها نسبت داد



شکل ۱۰- برهمکنش شوری و اسید سالیسیلیک بر محتوای نسبی آب برگ دانهال‌های مکزیکن لایم. میانگین ها با حروف مشترک تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.

(گارسیا سانچز[1] و همکاران، ۲۰۰۲). آگراوال و پاندی[2] (۲۰۰۴) گزارش کردند که کاربرد اسیدسالیسیلیک سبب افزایش مقدار کلروفیل گندم گردید. اسیدسالیسیلیک با جلوگیری از تخریب ساختار کلروپلاست در شرایط تنش شوری از کاهش کلروفیل ممانعت می‌کند (خوداری[3] و همکاران، ۲۰۰۴).

محتوای نسبی آب برگ

اثر سطوح مختلف شوری بر محتوای نسبی آب برگ در سطح یک درصد معنی‌دار بود. اما اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک بر محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار نبود. اثر متقابل شوری و اسیدسالیسیلیک نیز بر محتوای نسبی آب برگ در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. در شوری صفر و ۲۰ میلی‌مولار در سه غلظت اسیدسالیسیلیک تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. در شوری ۴۰ و ۶۰ میلی‌مولار تفاوت معنی‌داری مشاهده شد بطوریکه کمترین محتوای آب نسبی برگ مربوط به غلظت صفر میلی‌مولار و بیشترین محتوای آب نسبی برگ مربوط به محلول‌پاشی با اسیدسالیسیلیک بود (شکل ۱۰).

در این پژوهش با افزایش میزان شوری، محتوای نسبی آب برگ کاهش یافت. با توجه به اینکه یکی از آثار تنش شوری جلوگیری از جذب آب و ایجاد تنش خشکی است، می‌توان علت کاهش محتوای رطوبت نسبی را کاهش پتانسیل آب برگ و کاهش جذب آب از ریشه‌ها در شرایط تنش خشکی بیان کرد (کلوم و وازانا[4]، ۲۰۰۳). گزارش شده چنانچه محتوای نسبی آب برگ بالا باشد، گیاه تورم سلولی خود را حفظ کرده و رشد آن تداوم می‌یابد (رائو و مندهم[5]، ۱۹۹۱). افزایش محتوای نسبی آب توسط اسیدسالیسلیک نیز می‌تواند به دلیل نقش اسیدسالیسیلیک در افزایش توان سامانهٔ دفاعی پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی)، کاهش تنش اکسایشی (اکسیداتیو)، افزایش همبستگی، پایداری غشا، تعدیل و تنظیم اسمزی از راه افزایش مقدار پتاسیم به عنوان یون بسیار مهم در حفظ فشار آماس (تورژسانس) یاخته‌ای باشد (بندورسکا و استروینسکی[6]، ۲۰۰۵؛ کورکماز[7] و همکاران، ۲۰۰۷).

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که شوری بر متابولیسم گیاه مکزیکن لایم اثر منفی گذاشت به طوری که پارامترهایی مانند وزن خشک برگ، ساقه و ریشه، میزان کلروفیل و محتوای نسبی آب برگ، با افزایش شوری کاهش یافتند. شوری سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز شد. استفاده از اسیدسالیسیلیک به ویژه غلظت۰/۵میلی‌مولار نیز سبب کاهش آثار سوء تنش در شرایط شوری گردید به طوری که سبب افزایش وزن خشک برگ، کلروفیل کل و محتوای نسبی آب برگ در شرایط تنش شوری شد.

1. Garcia-Sanchez
2. Agarwal and Pandey
3. Khodary
4. Colom and Vazzana
5. Rao and Mendham
6. Bandurska and Stroinski
7. Korkmaz

منابع

بیات، س.، سپهری، ا.، زارع‌ابیانی، ح . و عبدالهی، م.ر. ۱۳۹۰. اثر اسید سالیسیلیک و پاکلوبوترازول بر شاخص‌های رشد و عملکرد ذرت تحت تنش آب. مجله اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، ۲(۱): ۳۴-۴۰.

جلیلی‌مرندی، ر. ۱۳۸۹. فیزیولوژی تنش‌های محیطی و مکانیسم‌های مقاومت در گیاهان باغی (درختان میوه، سبزی‌ها، گیاهان زینتی و گیاهان دارویی). انتشارات جهاد دانشگاهی واحد آذربایجان‌غربی، جلد۱، ۶۳۶ ص.

حاجی‌وند، ش. و رحمتی، م. ۱۳۹۷. تأثیر مواد ضدیخ در شرایط باغی بر مواد بیوشیمیایی موثر در مقاومت به سرمای انگور. نشریه علوم باغبانی، ۳۲(۱): ۱۵۹-۱۷۰.

دولت‌آبادیان ، آ.، مدرس‌ثانوی، س.ع.م. و اعتمادی، ف. ۱۳۸۷. اثر پیش تیمار اسیدسالیسلیلیک بر جوانه‌زنی بذر گندم در شرایط تنش شوری. مجله زیست‌شناسی ایران، ۲۱(۴): ۶۹۲-۷۰۲.

قاسمی، م.، قاسمی، ش.، حسینی‌نسب، ف.س. و رضایی، ن. ۱۳۹۸. بررسی اثر سالیسیلیک‌اسید بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژی گیاه به‌لیمو (*Lippia citriodora*) تحت تنش شوری. مجله علمی تولید گیاهی، ۱۶۳-۱۷۶.

کوهی‌فایق، ش.، حکیمی، م،ح.، مصلح‌آرانی، ا.، میرشمسی، ه. و کیانی، ب. ۲۰۱۳. بررسی اثرات نیتروپروساید سدیم و اسید سالیسیلیک بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی زیتون تلخ تحت تنش شوری. خشکبوم، ۳: ۶۲-۷۱.

Agarwal, S. and Pandey, V. 2004. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. Biologia Plantarum, 48 (4): 555-560.

Ali, B., Hayat, S., Fariduddin, Q. and Ahmad, A. 2008. 24-Epibrassinolide protects against the stress generated by salinity and nickel in Brassica juncea. Chemosphere, 72(9): 1387-1392.

Alvesda Costa, P.H., Azevedo Neto, A.D., Alves Bezerra, M., Tarquinio paisco, J. and Gomes-Filho, E. 2005. Antioxidantive–enzymatic system of two sorghum genotypes differing in salt tolerance. Plant Physiology, 17(4): 353–361.

Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenoxidase in beta vulgaris. Plant physiology, 24(1): 1-15.

Ashraf, M., Akram, N.A., Arteca, R.N. and Foolad, M.R. 2010. The physiological, biochemical and molecular roles of brassinosteroids and salicylic acid in plant processes and salt tolerance. Critical Reviews in Plant Sciences, 29(3): 162-190.

Bandurska, H. and Stroinski, A. 2005. The effect of salicylic acid on barley response to water deficit. Acta Physiolgy Plant, 27: 379-386.

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

Baxter, W.D. and Bowen, W.R. 1988. Experimental cell biology, an integrated laboratory guide and text. 3rd ed. Macmillan Publishing Co, Inc., New York. 217 p.

Borsani, O., Valpuestan, V. and Botella, M.A. 2001. Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in Arabidopsis seedlings. Plant Physiology, 126: 1024-1030.

Colom, M.R. and Vazzana, C. 2003. Photosynthesis and PSII functionality of drought resistant and droughtsansitive weeping lovegrass plants. Environmental and Experimental Botany, 49: 135-144.

Dhindsa, R.S. and Motowe, W. 1981. Drought tolerance in two mosses: Correlation with enzymatic defense against lipid peroxidation. Journal of Experimental Botany, 32: 79–91.

Egert, M. and Tevini, M. 2002. Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). Environmental Experimental Botany, 48: 43-49.

Elizabeth, M.A. and Munn e-Bosch, S. 2008. Salicylic acid may be involoved in the regulation of drought-induced leaf senescence in perennials: A casstudy in field-grown *Salvia officinalis* L. plant. Environmental and Experimental Botany, 64: 105-112.

FAOSTAT. 2008. FAO Primary Crops Statistical Database. FAO, Rome, Italy.

Fatma, A.E. and Gharib, L. 2007. Effect of salicylic acid on the growth, metabolic activites and oil content of basil and majoram. International Journal of Agriculture and Biology, 4: 485-492.

García-Sánchez, F., Jifon, J.L., Carvajal, M. and Syvertsen, J.P. 2002. Gas exchange, chlorophyll and nutrient contents in relation to Na+ and Cl− accumulation in 'Sunburst'mandarin grafted on different rootstocks. Plant Science, 162(5): 705-712.

Gunes, A., Inal, A., Bagci, E.G. and Pilbeam, D.J. 2007. Silicon-mediated changes of some physiological and enzymatic parameters symptomatic for oxidative stress in spinach and tomato grown in sodic-B toxic soil. Plant and Soil, 290(1-2): 103-114.

Hasegawa P.M., Bressan, R.A., Zhu, J.K. and Bohnert, H.J. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 51: 463–499.

Khan, N.A. 2003. NaCl-inhibited chlorophyll synthesis and associated changes in ethylene evolution and anti oxidative enzyme activities in wheat. Biologia plantarum, 47(3): 437-440.

Khodary, S.E.A. 2004. Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt-stressed maize plants. International Journal of Agriculture and Biology, 6: 5-8.

Korkmaz, A., Uzunlu, M. and Demirkiran, A.R. 2007. Treatment with acetyl salicylic acid protects muskmelon seedlings against drought stress. Acta Physiologiae Plantarum, 29: 503-508.

Levy, Y. and Syvertsen, J. 2004. Irrigation water quality and salinity effect in citrus trees. Horticultural. Review, 30: 37-82.

Lutts, S., Kinet, J.M. and Bouharmont, J. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. Annals of Botany, 8: 389-398.

Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science, 7(9): 405-410.

Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. Plant, Cell and Environment, 25: 239-250.

Ozturk, L., Demir, Y., Unlukara, A., Karatas, I., Kurunc, A. and Duzdemir, O. 2012. Effects of long-term salt stress on antioxidant system, chlorophyll and proline contents in pea leaves. Romanian Biotechnological Letters, 17(3): 7227-7236.

Qaiser, H., Shamsul, H., Mohd, I. and Aqil, A. 2010. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment. Environmental and Experimental Botany, 68: 14-25.

Rao, M.S.S. and Mendham, N.J. 1991. Soil-plant-water relations of oilseed rape (*Brassica napus* and *B. campestris*). Journal of *Agricultural Science*, 117: 197-205.

Ritchie, S.W., Nguyen, H.T. and Halody, A.S. 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Science, 30:105-111.

Sairam, R.K., Srivasta, G.C., Agarwal, S. and Meena, R.C. 2005. Difference in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes. Biologia Plantarum, 49(1): 85-91.

Senaranta, T., Touchell, D., Bumm, E. and Dixon, K. 2002. Acetylsalicylic (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. Plant Growth Regul, 30, 157-161.

Shakirova, F.M., Sakhabutdinova, A.R., Bezrukova, M.V., Fatkhutdinova, R.A. and Faatkhutdinova, D.R. 2003. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. Plant Science, 164: 317-322.

Singh, B. and Usha, K. 2003. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. Plant Growth Regulation, 39: 137-141.

Storey, R. and R.R. Walker. 1999. Citrus and salinity. Scientia Horticulturae, 78: 39-81.

Tari, I., Csiszar, J., Szalai, G., Horvath, F., Pecsvaradi, A., Kiss, G., Szepsi, A., Szabo, M. and Erdei, L. 2002. Enzymes activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. Plant Physiology and Biochemistry, 47(7): 570-577.