



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

رضوان رمضان نژاد<sup>۱</sup>، مهرداد لاهوتی<sup>۲</sup>، علی گنجعلی<sup>۲</sup>

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

### چکیده

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

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

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

۲- عضو هیات علمی دانشگاه فردوسی مشهد

## مقدمه

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

تنش به هر عامل زیستی و غیر زیستی گفته می شود که در چرخه زندگی گیاه ایجاد اختلال نماید. تنش ها به عنوان عوامل محدود کننده رشد گیاهان و تولید محصولات زراعی جهان مطرح می باشند (عابدی و همکاران، ۲۰۱۲). خشکی یکی از مهمترین تنش های محیطی محدودکننده تولید در گیاهان زراعی در سرتاسر جهان است (امیدی و همکاران، ۲۰۱۲). سیدیک و همکاران (۱۹۹۹) گزارش کردند که خشکی به عنوان مهم ترین فاکتور کنترل کننده عملکرد محصولات، تقریباً روی کلیه فرآیندهای رشد گیاه تاثیر گذار است. از جمله اینکه تنش خشکی باعث کاهش میزان کلروفیل در مرحله رویشی و زایشی می شود. کاهش در میزان کلروفیل باعث

کاهش ظرفیت دریافت نور در گیاه شده و در نتیجه تولید گونه های اکسیژن فعال (ROS) حاصل از دریافت انرژی مازاد نوری، با تخریب رنگیزه های فتوسنتزی در شرایط تنش خشکی، کمتر می شود (مفاخری و همکاران، ۲۰۱۱).

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

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

## مواد و روش ها

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

از سطوح اضافه می شد (خزائی و همکاران، ۱۳۸۷). بعد از ۲ هفته از اعمال تنش، SA با غلظت های ۰/۷ mM و ۰ mM (آب مقطر) روی گیاهان اسپری شد. همچنین دقت شد که محلول SA تمام سطوح گیاهان را بپوشاند. اسپری ۳ مرتبه و در فواصل ۱۰ روزه صورت گرفت. سپس زمانیکه گیاهان به مرحله گلدهی رسیدند، برداشت شده و از بخش هوایی آنها به منظور سنجش و ارزیابی شاخص های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی استفاده شد.

**سنجش شاخص پایداری غشاء:** برای این منظور از روش سیارام و سریواستاوا (۲۰۰۵) استفاده شد. به این ترتیب که از هر گلدان ۲ عدد برگ به میزان ۰/۱ گرم جدا کرده و در دو سری لوله آزمایش مجزا قرار داده شد. سپس در هر لوله ۱۰ میلی آب مقطر ریخته و لوله ها در حمام آب گرم (بن ماری) قرار گرفتند. لوله های آزمایش سری اول به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد و لوله های سری دوم به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. بعد از این مدت لوله ها از بن ماری خارج و در دمای اتاق سرد شدند. سپس هدایت الکتریکی آنها با استفاده از دستگاه EC متر مدل JENWAY اندازه گیری شد. شاخص پایداری غشا با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (سیارام و سریواستاوا، ۲۰۰۵):

$$MSI = (1 - EC_{40} / EC_{100}) \times 100$$

شاخص پایداری غشاء = MSI

EC<sub>40</sub> = هدایت الکتریکی نمونه در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد

EC<sub>100</sub> = هدایت الکتریکی نمونه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد

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

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

**کاشت بذر و اعمال تیمارهای آزمایشی:** ابتدا بذور سالم دو ژنوتیپ مورد نظر انتخاب و به تعداد ۵ عدد و با فواصل ۳ سانتی متر از یکدیگر در داخل گلدانها کاشته شدند. سپس ظرفیت زراعی خاک گلدانها تعیین و به همان میزان آبیاری شدند و گلدانها در اتاقک رشد قرار گرفتند. به دلیل زیاد بودن بذور داخل گلدانها ۴ روز بعد از رشد گیاهچه ها، تعداد گیاهچه های هر گلدان به ۳ عدد کاهش یافت. اعمال تنش خشکی ۲ هفته بعد از رشد گیاهچه ها صورت گرفت. تنش خشکی شامل ۴ سطح (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی (شاهد)، ۷۵٪ ظرفیت زراعی، ۵۰٪ ظرفیت زراعی و ۲۵٪ ظرفیت زراعی) بود. جهت اعمال سطوح تنش خشکی از روش وزنی استفاده شد. به این ترتیب که ابتدا یکی از گلدان های آزمایش با نسبت ۲ به ۱ خاک به ماسه پر شده و توزین شد. سپس گلدان از آب اشباع شد، و برای جلوگیری از تبخیر، سطح گلدان توسط یک پلاستیک پوشیده شد. با خروج آب ثقلی وزن گلدان به طور مرتب کم شد تا زمانیکه وزن آن ثابت ماند (نشان دهنده رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی). با تفاضل وزن اخیر و وزن خاک خشک مقدار آب لازم برای رسیدن خاک هر گلدان به حد ظرفیت زراعی مشخص و سطوح ۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ این مقدار آب نیز محاسبه شد و در طول دوره آزمایش برای سطوح مختلف رطوبتی گلدان ها مورد استفاده قرار گرفت. بدین منظور گلدان ها روزانه وزن می شد و مقدار آب لازم برای رسیدن به هر کدام

در ژنوتیپ MCC441 شاخص پایداری غشاء به طرز معنی داری بیشتر از ژنوتیپ MCC358 می باشد (جدول ۲). افزایش سطح تنش خشکی شاخص پایداری غشاء گیاه را کاهش داد که این کاهش در سطح تنش ۲۵٪ بیشترین مقدار خود را نسبت به شاهد داشت (جدول ۲). بررسی اثر متقابل تنش  $\times$  ژنوتیپ نشان داد که در ژنوتیپ MCC358 در تمام سطوح تنش و در ژنوتیپ MCC441 در سطح تنش ۵۰٪ و ۲۵٪ شاخص پایداری غشاء به طرز معنی داری نسبت به شاهد کاهش یافت. در هر دو ژنوتیپ مزبور کمترین شاخص پایداری غشاء مربوط به سطح تنش ۲۵٪ بود. همچنین در سطح تنش ۲۵٪ کاهش شاخص پایداری غشاء نسبت به شاهد در ژنوتیپ MCC441 بیشتر بود که نشان می دهد این ژنوتیپ حساسیت بیشتری نسبت به تنش نشان داده است (جدول ۳). بر اساس مقایسه میانگین داده ها تیمار SA توانست میزان شاخص پایداری غشاء را در دو ژنوتیپ به طرز معنی داری تغییر دهد. این تغییر در دو ژنوتیپ یکسان نبود. به طوریکه در ژنوتیپ MCC358 بیشترین مقدار شاخص پایداری غشاء در شاهد و در ژنوتیپ MCC441 در تیمار SA مشاهده شد (شکل ۱). شواهد نشان می دهد ROSها نقش مهمی در کنترل مسیرهای ترانسانی علامت درون سلولی برای بسیاری از فرآیندهای سلولی دارد (وندروسکالو و همکاران، ۲۰۰۷). و قتیکه ROS لیبیدها را هدف قرار می دهد، فرآیند پراکسیداسیون لیبید آغاز شده و پراکسیداسیون لیبید پایداری غشا سلول را بر هم می زند. در نتیجه ی این امر، ترکیبات محلول ضروری به خارج از اندامکها نشت پیدا کرده و باعث آشفته گی عملکرد غشایی و بر هم زدن تعادل متابولیسمی سلول می شود. بنابراین پایداری غشای سلولی یک شاخص مهم مقاومت گیاهان نسبت به

سنگش میزان کلروفیل و کاروتینوئید مطابق روش لیچنتالر (۱۹۸۷) از هر گلدان ۰/۲ گرم برگ بریده و با ۴ میلی لیتر استن ۸۰ درصد خوب سائیده شد. عصاره به دست آمده بعد از عبور از کاغذ صافی به لوله آزمایش منتقل شد. سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه انجام شد. محلول شفاف بالایی به سلولهای ویژه منتقل گردید و جذب آن در طول موجهای ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر جذبی مدل PLUS-3000 خوانده شد. از استن ۸۰ نیز به عنوان شاهد استفاده شد. برای به دست آوردن میزان کلروفیل کل و کلروفیل های a و b و کاروتینوئید از فرمولهای زیر استفاده شد (فاضلیان و اسرار، ۱۳۹۰).

$$\text{Chl. a} = (12.25 \text{ A}663.2 - 2.79 \text{ A}646.8)$$

$$\text{Chl. b} = (21.21 \text{ A}646.8 - 5.1 \text{ A}663.2)$$

$$\text{Chl. T} = \text{Chl. a} + \text{Chl. b}$$

$$\text{Car} = ((1000 \text{ A}470 - 1.8 \text{ Chl. a} - 85.02$$

$$\text{Chl. b}) / 198)$$

### آنالیزهای آماری

تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SAS انجام گرفت. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال خطای ۵ درصد ( $p < 0/05$ ) صورت گرفت و نمودارها و جدول ها توسط نرم افزار EXCEL رسم گردید.

### نتایج و بحث

#### شاخص پایداری غشاء

بر اساس نتایج آنالیز واریانس اثر تنش و اثر متقابل ژنوتیپ  $\times$  تنش و SA  $\times$  ژنوتیپ بر شاخص پایداری غشاء در سطح آماری ۱٪ و اثر ژنوتیپ و همچنین اثر متقابل تنش  $\times$  SA  $\times$  ژنوتیپ بر شاخص پایداری غشاء در سطح آماری ۵٪ معنی دار شد. اثر SA به تنهایی بر شاخص پایداری غشاء معنی دار نشد (جدول ۱). مقایسه میانگین داده ها نشان داد که

(۲۰۰۷) نشان دادند پیش تیمار گیاهان گندم با SA به مدت ۲۴ ساعت، گیاه را در برابر آسیب های ناشی از شوری محافظت می کند و نشت الکترولیت ها را به طور چشمگیری کاهش می دهد.

تنش می باشد (وندروسکالو و همکاران، ۲۰۰۷). خان و همکاران (۲۰۱۱) مشاهده کردند که در شرایط تنش خشکی تیمار SA باعث افزایش قندهای محلول در برگ های گندم هگزاپلوئید شده و به این ترتیب به افزایش پایداری غشا کمک می کند. احمد و حیات

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

شاخص	کاروتینوئید	نسبت کلروفیل	کلروفیل کل	کلروفیل b	کلروفیل a	درجه آزادی	منبع تغییرات
پایداری غشا (%)	mg/g FW	a/b	mg/g FW	mg/g FW	mg/g FW		
۳۰/۸*	۱/۳۰۰**	۳۷/۸۰*	۲/۱۱۲۶*	۶/۰۷۰۵*	۱/۲۰۳۳ ns	۱	ژنوتیپ
۲۴۷/۶۹**	۲/۱۸۹۱**	۴/۱۰ ns	۱۹/۳۷۱**	۲/۳۶۹۷**	۸/۶۸۳۸**	۳	تنش
۱/۳۳ns	۰/۹۹۱۸**	۰/۵۸ ns	۱/۱۴۳۹ ns	۰/۰۰۷۷ ns	۰/۹۶۳۳ ns	۱	SA
۴۵/۹۱**	۰/۳۷۸۵*	۱۰/۶۷*	۰/۷۹۴۶ ns	۱/۱۹۶۱**	۰/۷۹۲۷ ns	۳	ژنوتیپ × تنش
۱۹۲/۰**	۰/۹۹۱۸**	۴/۵۶ ns	۰/۵۱۸۸ ns	۰/۳۳۱۶**	۰/۰۵۳۳ ns	۱	SA × ژنوتیپ
۱۵/۷۲ns	۰/۰۶۳۵ ns	۱/۴۴ ns	۱/۵۸۱۵ ns	۰/۱۰۰۲ ns	۰/۷۹۲۲ ns	۳	SA × تنش
۱۸/۶۱ns	۰/۴۸۹۱**	۰/۹۹ ns	۰/۳۷۰۸ ns	۰/۰۹۳۰ ns	۰/۵۶۲۷ ns	۳	ژنوتیپ × تنش × SA
۷/۰۸	۰/۰۵۰۶	۱/۶۰	۰/۳۶۷۶	۰/۰۳۵۷	۰/۲۹۰۲	۳۲	خطا

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

### رنگیزه های فتوسنتزی

داری بر میزان کلروفیل a در هیچ یک از دو ژنوتیپ نداشت.

نتایج آنالیز واریانس داده ها نشان داد که اثر ژنوتیپ، تنش و اثر متقابل تنش × ژنوتیپ و SA × ژنوتیپ بر محتوای کلروفیل b در سطح آماری ۱٪ معنی دار بود (جدول ۱). بر اساس مقایسه میانگین داده ها ژنوتیپ MCC358 کلروفیل b بیشتری نسبت به MCC441 داشت (جدول ۲). تنش خشکی محتوای کلروفیل b را به طرز معنی داری کاهش داد (جدول ۲). این کاهش در محتوای کلروفیل b در دو ژنوتیپ در سطوح تنش ۵۰٪ و ۲۵٪ معنی دار بود. اما تاثیر تنش خشکی بر کاهش محتوای کلروفیل b در دو ژنوتیپ یکسان نبود. بر اساس نتایج به دست آمده

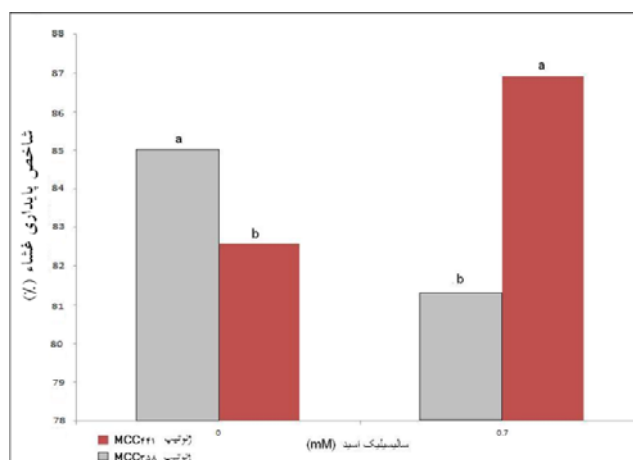
بر اساس نتایج آنالیز واریانس داده ها تاثیر تنش خشکی بر محتوای کلروفیل a گیاه در سطح آماری ۱٪ معنی دار شد (جدول ۱). بر اساس مقایسه میانگین داده ها تنش خشکی در سطح ۵۰٪ و ۲۵٪ محتوای کلروفیل a برگ را به طرز معنی داری کاهش داد. اما در سطح تنش ۷۵٪ یک افزایش معنی دار در محتوای کلروفیل a نسبت به شاهد مشاهده شد. بیشترین مقدار کلروفیل a مربوط به تنش ۷۵٪ و کمترین مقدار آن مربوط به تنش ۲۵٪ بود. نتایج مقایسه میانگین ها نشان داد که تنش خشکی در سطح ۵۰٪ و ۲۵٪ باعث کاهش معنی دار کلروفیل a در دو ژنوتیپ مورد بررسی شده است (جدول ۲). تیمار SA تاثیر معنی

یکسان نبود. تیمار SA توانست تنها در ژنوتیپ MCC441 تاثیر معنی داری بر محتوای کلروفیل b داشته باشد، که این تاثیر به صورت یک افزایش معنی دار در این رنگیزه مشاهده شد. بنابراین مشخص شد که تاثیر تیمار SA بر میزان کلروفیل b در ژنوتیپ MCC441 بیشتر بوده است (شکل ۲).

تنش خشکی محتوای کلروفیل b را در ژنوتیپ MCC358 با شدت بیشتری نسبت به شاهد کاهش داد. به نظر می رسد که تاثیر تنش خشکی بر محتوای کلروفیل b در ژنوتیپ MCC358 بیشتر بود (جدول ۳). مقایسه میانگین داده ها نشان داد که تاثیر تیمار SA بر محتوای کلروفیل b در دو ژنوتیپ

جدول ۲- اثر ژنوتیپ، تنش خشکی و اسیدسالیسیلیک (SA) بر صفات مورد بررسی دو ژنوتیپ نخود. میانگین های دارای حروف مشابه در مورد هر صفت اختلاف آماری معنی داری با یکدیگر ندارند (دانکن  $\alpha=0/05$ )

شاخص	کاروتینوئید	نسبت	کلروفیل کل	کلروفیل b	کلروفیل a	درجه آزادی	منبع تغییرات
پایداری غشا (%)	mg/g FW	کلروفیل a/b	mg/g FW	mg/g FW	mg/g FW		
۸۳/۱۶b	۳/۲۵a	۴/۱۶b	۸/۸۴a	۱/۸۷a	۶/۹۵a	MCC358	ژنوتیپ
۸۴/۷۵a	۲/۹۲b	۵/۹۴a	۸/۴۲b	۱/۱۶b	۷/۲۶a	MCC441	
۸۸/۷۵a	۳/۶۸a	۴/۲۱b	۹/۵۴a	۱/۹۸a	۷/۵۳b	۱۰۰	ظرفیت زراعی (%)
۸۵/۵۰b	۳/۱۰b	۵/۱۰ab	۹/۸۰a	۱/۸۱b	۷/۹۹a	۷۵	
۸۳/۶۶b	۲/۸۴c	۵/۵۱a	۸/۰۶b	۱/۲۱c	۶/۸۷c	۵۰	اسید سالیسیلیک (mM)
۷۷/۹۱c	۲/۷۲c	۵/۳۸a	۷/۱۰c	۱/۰۷c	۶/۰۳d	۲۵	
۸۳/۷۹a	۲/۹۴b	۴/۹۲a	۸/۴۷a	۱/۵۰a	۶/۹۶a	۰	۰/۷
۸۴/۱۲a	۳/۲۳a	۵/۱۸a	۸/۷۸a	۱/۵۳a	۷/۲۵a		



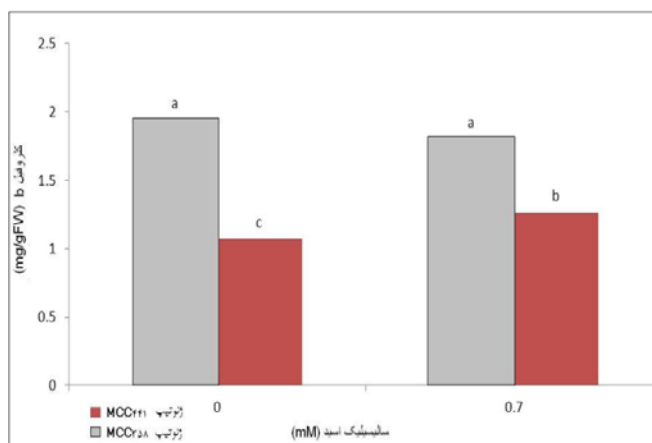
شکل ۱- مقایسه میانگین تاثیر اسید سالیسیلیک بر شاخص پایداری غشا در ژنوتیپ های نخود (MCC441 و MCC358). میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می باشند، مطابق آزمون دانکن ( $P < 0/05$ ) تفاوت معنی داری ندارند.

سطح آماری ۵٪ معنی دار بود (جدول ۱). ژنوتیپ MCC358 محتوای کلروفیل کل بالاتری نسبت به

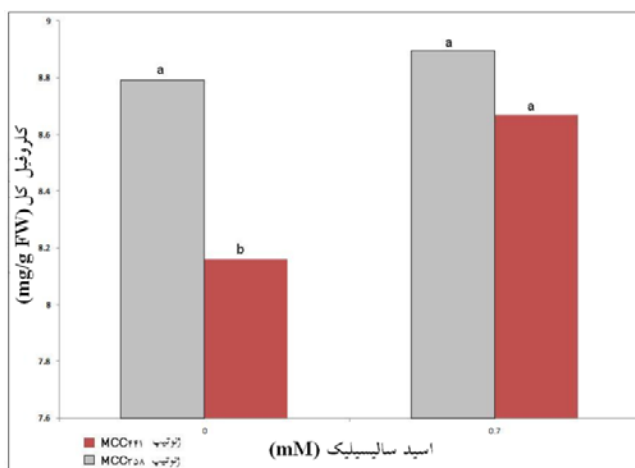
بر اساس نتایج آنالیز واریانس اثر ساده تنش و اثر متقابل تنش  $\times$  SA بر محتوای کلروفیل کل در

محتوای کلروفیل کل گیاه مربوط به شرایط بدون تنش بوده است. به نظر می رسد که SA نتوانسته است در شرایط تنش خشکی تاثیر معنی داری بر محتوای کلروفیل کل گیاه داشته باشد. تیمار SA تنها توانست باعث افزایش معنی دار محتوای کلروفیل کل در ژنوتیپ MCC441 شود (شکل ۳).

ژنوتیپ MCC441 داشت (جدول ۲). تنش خشکی باعث کاهش میزان کلروفیل کل شد که این کاهش در سطح تنش ۷۵٪ نسبت به شاهد معنی دار نبود (جدول ۲). همچنین تنش خشکی باعث کاهش محتوای کلروفیل کل در سطح ۵۰٪ و ۲۵٪ در دو ژنوتیپ مورد بررسی شد (جدول ۳). بررسی اثر متقابل تنش  $\times$  SA نشان داد که بیشترین تاثیر SA بر



شکل ۲- مقایسه میانگین تاثیر اسید سالیسیلیک بر محتوای کلروفیل b در ژنوتیپ های نخود (MCC358 و MCC441). میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می باشند، مطابق آزمون دانکن ( $P < 0.05$ ) تفاوت معنی داری ندارند.



شکل ۳- مقایسه میانگین تاثیر اسید سالیسیلیک بر محتوای کلروفیل کل در ژنوتیپ های نخود (MCC358 و MCC441). میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می باشند، مطابق آزمون دانکن ( $P < 0.05$ ) تفاوت معنی داری ندارند.

در سطح آماری ۱٪ معنی دار بود (جدول ۱). بر اساس مقایسه میانگین داده ها نسبت کلروفیل a/b در

بر اساس نتایج آنالیز واریانس اثر اصلی ژنوتیپ و اثر متقابل تنش  $\times$  ژنوتیپ بر نسبت کلروفیل a/b

ارقام نخود شد. نیاشیرو و همکاران (۲۰۰۱) نیز کاهش معنی دار محتوای کلروفیل a و b را در رقم گندم تأیید کرده‌اند. در مطالعه‌ای که کاپدان و همکاران (۲۰۰۷) انجام دادند، مشخص شد که تیمار SA ( $10^{-2}$ ،  $10^{-4}$  و  $10^{-6}$  مول/لیتر) باعث افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b و کاروتینوئید) در گیاهان گندم تحت تنش شوری و شاهد می‌شود. همچنین تورکی و همکاران (۲۰۰۵) نیز گزارش دادند که اسپری کردن SA بر روی گیاه لوبیا باعث افزایش کلروفیل a، b و کاروتینوئیدها تحت شرایط کنترل و شرایط تنش می‌شود. کاهش در کلروفیل در شرایط تنش خشکی به دلیل آسیب به کلروپلاست توسط گونه های اکسیژن فعال رخ می‌دهد. به نظر می‌رسد که در شرایط تنش ملایم کاهش میزان فتوسنتز گیاه در درجه اول ناشی از بسته شدن روزنه ها باشد، اما در شرایط محدودیت آبی اثر روزنه ای ممکن است با افزایش مقاومت مزوفیلی و تأثیر سوئی که تنش بر غشای تیلاکوئید می‌گذارد، تشدید شود (خان و همکاران، ۲۰۰۳).

ژنوتیپ MCC441 بیشتر از ژنوتیپ MCC358 بود (جدول ۲). تنش خشکی باعث افزایش نسبت کلروفیل a/b در دو ژنوتیپ مورد بررسی شد. این افزایش در نسبت کلروفیل a/b در ژنوتیپ MCC441 در سطح تنش ۷۵٪ و در ژنوتیپ MCC358 در سطح تنش ۵۰٪ و ۲۵٪ معنی دار بود. بر اساس این نتایج می‌توان نتیجه گرفت که تنش‌های شدیدتر (۵۰٪ و ۲۵٪) تأثیر بیشتری بر نسبت کلروفیل a/b در ژنوتیپ MCC441 نسبت به ژنوتیپ MCC358 داشته است (جدول ۳). اشرف و همکاران (۱۹۹۴) گزارش کرده‌اند که تنش خشکی کلروفیل a را بیشتر از کلروفیل b کاهش می‌دهد و به این ترتیب باعث افزایش نسبت کلروفیل a/b می‌شود. تیمار SA در ژنوتیپ MCC358 باعث افزایش نسبت کلروفیل a/b شد. تیمار SA در هیچ یک از دو ژنوتیپ تأثیر معنی داری بر محتوای کلروفیل نداشت. بر طبق گزارش مفاخری و همکاران (۲۰۱۰) تنش خشکی در مرحله رویشی به طور معنی داری باعث کاهش محتوای کلروفیل a، b و کلروفیل کل در

جدول ۳- اثر متقابل تنش خشکی و ژنوتیپ بر صفات مورد بررسی دو ژنوتیپ نخود. میانگین‌های دارای حروف مشابه در مورد هر صفت اختلاف آماری معنی داری با یکدیگر ندارند (دانکن  $\alpha=0/05$ )

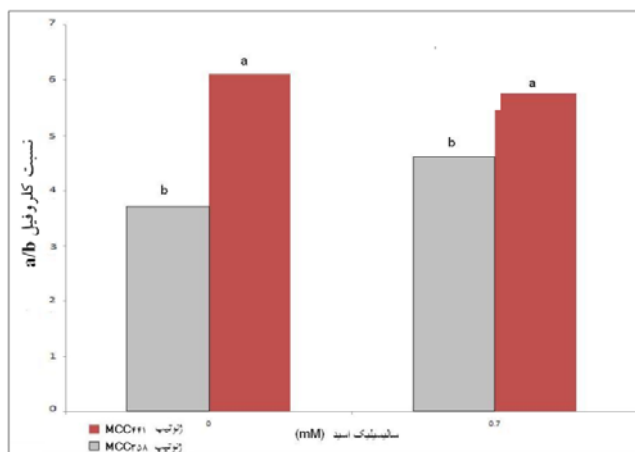
ژنوتیپ	ظرفیت زراعی (%)	کلروفیل a (mg/g FW)	کلروفیل b (mg/g FW)	کلروفیل کل (mg/g FW)	نسبت کلروفیل a/b	کاروتینوئید (mg/g FW)	شاخص پایداری غشا (%)
MCC358	۱۰۰	۲/۶۲ a	۷/۴۱ b	۱۰/۰۹ a	۳/۰۰ c	۳/۶۸ a	۸۸/۳۳a
MCC358	۷۵	۲/۴۲ a	۷/۵۱ b	۹/۹۴ a	۳/۰۶ c	۳/۵۱ a	۸۲/۱۶bc
MCC358	۵۰	۱/۳۱ bc	۶/۶۸ cd	۷/۹۹ cd	۵/۰۸ b	۲/۹۱ b	۸۲/۸۳b
MCC358	۲۵	۱/۱۴ bcd	۶/۱۸ de	۷/۳۲ de	۵/۵۱ b	۲/۹۰ b	۷۹/۳۳cd
MCC441	۱۰۰	۱/۳۴ b	۷/۶۵ b	۸/۹۹ b	۵/۴۳ b	۳/۶۸ a	۸۹/۱۶a
MCC441	۷۵	۱/۱۹ bcd	۸/۴۶ a	۹/۶۶ ab	۷/۱۳ a	۲/۷۰ bc	۸۸/۸۳a
MCC441	۵۰	۱/۱۲ cd	۷/۰۶ bc	۸/۱۳ c	۵/۹۵ b	۲/۷۶ bc	۸۴/۵۰b
MCC441	۲۵	۱/۰۰ d	۵/۸۸ e	۶/۸۹ e	۵/۲۲ b	۲/۵۵ c	۷۹/۳۳cd



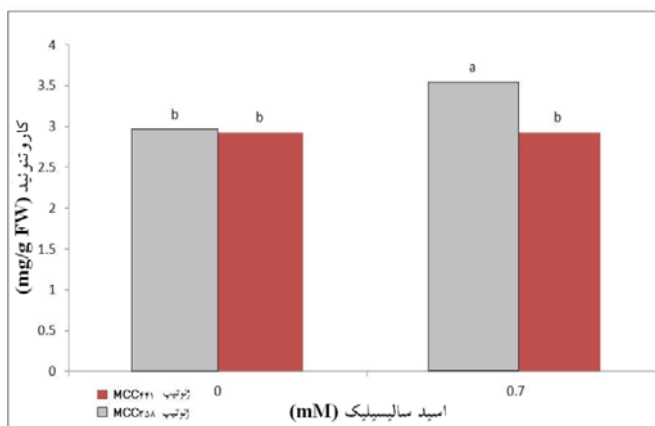
باشد، در واقع کاروتینوئیدها از طریق فروکش کردن سریع وضعیت برانگیخته کلروفیل، حفاظت نوری را انجام می دهد. در شرایط تنش مقدار کاروتینوئیدها کاهش یافته و نمی توانند نقش حفاظتی خود را انجام دهند، ولی کاهش آن ها نسبت به کلروفیل ها کمتر است (بانندی یوپادهیای و همکاران، ۱۹۹۹). کاهش محتوای کاروتینوئیدی می تواند به دلیل اکسید شدن آن ها توسط اکسیژن فعال و تخریب ساختار آن ها باشد (بانندی یوپادهیای و همکاران، ۱۹۹۹). از طرفی مطالعات دیگری افزایش میزان کاروتینوئیدها را در شرایط تنش خشکی نشان می دهند. به عنوان مثال وانگ و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کرده اند که میزان کاروتینوئیدها در برگهای گندم زمستانه تحت تنش خشکی افزایش می یابد. بنابراین به نظر می رسد که تاثیر تنش خشکی بر میزان کاروتینوئیدها یکسان نباشد. نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که تیمار SA باعث افزایش میزان کاروتینوئیدها شد که این افزایش در ژنوتیپ MCC358 نسبت به شاهد بیشتر از ژنوتیپ دیگر بود (شکل ۵). در رابطه با تاثیر SA بر محتوای رنگریزه های فتوسنتزی حیات و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که در گیاه *Brassica juncea* افزایش شاخص رشد و رنگریزه های فتوسنتزی در پاسخ به پیش تیمار SA با غلظت  $10^{-5}$  مول ممکن است مربوط باشد به القای پاسخ های آنتی اکسیدانی، که سلول را از آسیب های اکسیداتیو ناشی از تنش محافظت می کند، مربوط باشد. در چنین شرایطی گیاه به منظور ادامه جذب آب، از طریق تجمع ترکیبات اسمزی از جمله کربوهیدرات های محلول و پرولین، پتانسیل اسمزی خود را کاهش می دهد و به عبارت دیگر تنظیم اسمزی صورت می گیرد.

بر اساس نتایج آنالیز واریانس اثرهای اصلی ژنوتیپ، تنش، SA و اثر متقابل تنش  $\times$  ژنوتیپ، SA  $\times$  ژنوتیپ و تنش  $\times$  SA  $\times$  ژنوتیپ بر محتوای کاروتینوئیدهای گیاه در سطح آماری ۱٪ معنی دار شد. (جدول ۱).

بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده ها میزان کاروتینوئید در ژنوتیپ MCC358 بیشتر از ژنوتیپ MCC441 بود (جدول ۲). تنش خشکی محتوای کاروتینوئید گیاه را کاهش داد که این کاهش در سطوح تنش ۵۰٪ و ۲۵٪ نسبت به شاهد بیشتر بود (جدول ۲). در ژنوتیپ MCC441 تمام سطوح تنش باعث کاهش معنی دار کاروتینوئیدها نسبت به شاهد شدند. اما این سطوح تنش از لحاظ آماری تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند. در ژنوتیپ MCC358 کاهش معنی دار کاروتینوئیدها مربوط به سطوح تنش ۵۰٪ و ۲۵٪ نسبت به شاهد بود. بر اساس نتایج به دست آمده تنش خشکی توانست باعث کاهش بیشتر محتوای کاروتینوئید گیاه نسبت به شاهد در ژنوتیپ MCC441 شود. بنابراین تاثیر پذیری ژنوتیپ MCC441 در شرایط تنش خشکی بیشتر از ژنوتیپ دیگر بوده است. تیمار SA به تنهایی توانست میزان کاروتینوئیدها را به طرز معنی داری نسبت به شاهد افزایش دهد (جدول ۲). برهمکنش SA و ژنوتیپ نشان داد که تیمار SA تنها باعث افزایش معنی دار محتوای کاروتینوئید در ژنوتیپ MCC358 شده است و SA نتوانست بر میزان کاروتینوئید ژنوتیپ MCC441 تاثیر معنی داری داشته باشد. (شکل ۴). بانندی یوپادهیای (۱۹۹۹) بیان کرده است که نقش اصلی کاروتینوئیدها خاموش سازی مستقیم کلروفیل سه تایی و جلوگیری از تولید اکسیژن یک تایی و در نهایت جلوگیری از آسیب اکسیداتیو می



شکل ۴- مقایسه میانگین تاثیر اسید سالیسیلیک بر نسبت کلروفیل a/b در ژنوتیپ های نخود (MCC441 و MCC358). میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می باشند، مطابق آزمون دانکن ( $P < 0.05$ ) تفاوت معنی داری ندارند.



شکل ۵- مقایسه میانگین تاثیر اسید سالیسیلیک بر میزان کاروتنوئید در ژنوتیپ های نخود (MCC441 و MCC358)، میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می باشند، مطابق آزمون دانکن ( $P < 0.05$ ) تفاوت معنی داری ندارند.

### نتیجه گیری

MCC441 بود و احتمالاً MCC441 نسبت به MCC358 از نظر میزان تحمل شرایط تنش خشکی حساسیت بیشتری دارد و MCC358 مقاومت بیشتری را در شرایط تنش زا از خود نشان می دهد.

### سپاسگزاری

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

بر طبق مشاهدات حاصل می توان گفت با وجود اینکه تنش خشکی توانست در برخی از پارامترهای اندازه گیری شده در ژنوتیپ MCC358 نسبت به ژنوتیپ MCC441 تغییرات بیشتری اعمال کند، اما در مجموع تاثیر تنش خشکی بر ژنوتیپ MCC441 بیشتر بود. از طرفی تیمار SA (0.7 mM) در شرایط تنش خشکی در بهبود صفات تغییر یافته در این شرایط بر ژنوتیپ MCC358 بیشتر از

## منابع

- خزاعی، ح. م، پارسا. ف، حسین پناهی. ۱۳۸۷. اثرات تلقیح نژادهای بومی ریزوبیوم بر گرهزایی ژنوتیپ های دسی و کابلی نخود تحت رژیم های مختلف رطوبتی در مرحله رشد رویشی (*Cicer arietinum* L.). مجله پژوهش‌های زراعی ایران، جلد ۶، شماره ۱، ۸۹-۹۷
- فاضلیان، ن. و ز، اسرار. ۱۳۹۰. تأثیر برهمکنش آرسنیک و سالیسیلیک اسید بر رشد و برخی از شاخصهای فیزیولوژیک (*Matricaria recutita* L.) گیاه بابونه، مجله زیست شناسی گیاهی، جلد ۳، شماره ۸، ۱-۱۰
- Abedi, T. and H. Pakntyat. 2010. Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.). Czech J. Gen. Plant Breed. 16: 27-34.
- Amborabe, B.E. and P. Fleurat-Lessard. 2002. Antifungal effects of salicylic acid and other benzoic acid derivatives towards *Eutypa lata*: structure-activity relationship. Plant Physiol. Biochem. 40:1051
- Amiri A., S.R. Parsa, M. Nezami and A. Ganjeali. 2011. The effects of drought stress at different phenological stages on growth indices of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in greenhouse conditions. J. Puls. Res. 1: 69-84
- Hayat, S., A. Masood, M. Yusef, Q. Fariduddin and A. Ahmad. 2009. Growth of Indian mustard (*Brassica juncea* L.) in response to salicylic acid under high-temperature stress. Braz J. Plant Physiol. 21:187- 195
- Kang, G. 2003. Salicylic acid changes activities of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> metabolizing enzymes and increases the chilling tolerance of banana seedlings. Environ. Exp. Bot. 50:9-15
- Khan W., P. Balakrishnan and D.L. Smith. 2003. Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. J. Plant Physiol. 160: 485-492
- Khodabakhsh F., R. Amooaghaie, A. Mostajeran and G. Emtiazi. 2010. Effect of hydro and osmopriming in two commercial chickpea cultivars on germination, growth parameters and nodules number in salt stress condition. J. Plant Biol. 2: 147-153
- Lichtenthaler. H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods Enzymol. 148:350-382
- Mafakheri A., A. Siosemardeh, B. Bahramnejad, P.C. Struik and Y. Sohrabi. 2011. Effect of drought stress and subsequent recovery on protein, carbohydrate contents, catalase and peroxidase activities in three chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. Aust. J. Crop Sci. 5: 1255-1260
- Millan T., H. J. Clarke, K. H. M. Siddique, H. K. Buhariwalla, P. M. Gaur, K. Jagdish, Gil J., Kahl G., and P. Winter. 2006. Chickpea molecular breeding: New tools and concepts. Euphytica. 147: 81-103
- Nyachiro, J.M., F.R. Clarke, R.M. DePauw, R.E. Knox and K.C. Armstrong. 2002. Temperature effects on seed germination and expression of seed dormancy in wheat. Euphytica. 126: 123-127
- Omidi H., F. Movahadi and S.H. Movahadi. 2012. The effect of salicylic acid and scarification on germination characteristics and proline, protein and soluble carbohydrate content of *Prosopis farcta* L.) seedling under salt stress. Rang. Des. Res. 18: 608-623
- Sairam R.K., G.C. Srivastava, S. Agarwal and R.C. Meena. 2005. Differences in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes. Biol. Plant. 49: 85-91

- Siddique , M.R.B., A. Hamid and M.S. Islam. 1999. Drought stress effects on photosynthetic rate and leaf gas exchange of wheat. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*. 40: 141-145
- Wang L., L. Fan, W. Loescher, W. Duan, G.Liu, J. Cheng, H. Luo and S. Li. 2010. Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under heat stress and accelerates recovery in grapevine leaves. *BMC Plant Biol*. 10: 34-48

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

R. Ramezannezhad<sup>1</sup>, M. Lahouti<sup>2</sup>, A. Ganjali<sup>2</sup>

Received: 2012-10-28 Accepted: 2013-4-27

### Abstract

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

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

---

1- Graduated Student, Ferdosi University of Mashhad

2- Academic Staff, Ferdosi University of Mashhad