

## پاسخ فیزیولوژیکی گیاهچه‌های ذرت (*Zea mays* "Mv500") به دماهای خارج از آستانه گیاه

### در غلظت‌های سالیسیلیک اسید

نرگس دولتمند شهری<sup>۱\*</sup>، ایرج طهماسبی<sup>۲</sup> و مسعود حق شناس<sup>۳</sup>

(۱) دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران.

(۲) استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران.

(۳) دانشجوی دکتری گروه باغبانی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

\*نویسنده مسئول: nargesdolatmand@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۲/۰۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۰۱

#### چکیده

به منظور بررسی پاسخی فیزیولوژیکی گیاهچه‌های ذرت به دماهای خارج از آستانه گیاه در غلظت‌های سالیسیلیک اسید، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار (شرایط کنترل شده اتافک رشد) در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه کردستان در سال ۱۳۹۲ اجرا شد. عامل اول پنج سطح دما (۲۵، ۳۰، ۳۵، ۴۰ و ۴۵ درجه سلسیوس) و عامل دوم چهار سطح محلول پاشی سالیسیلیک اسید (صفر، ۱/۵، ۲/۵ و ۵ میلی مولار) بود. نتایج بیانگر اثر معنی‌دار سالیسیلیک اسید، دما ( $P < 0.01$ ) و برهم‌کنش این دو عامل بر ظرفیت فتوسنتزی (سطح و وزن خشک برگ، رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل)) و صفات بیوشیمیایی (نشست یونی برگ و پرولین) بود. محتوای نسبی رطوبت برگ تحت برهم‌کنش دما و سالیسیلیک اسید قرار نگرفت. با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید محتوای نسبی رطوبت برگ روندی افزایشی و با افزایش دما روندی کاهشی داشت. بر اساس نتایج برهم‌کنش تحت دماهای بالاتر از ۳۵ درجه سلسیوس (۴۰ و ۴۵ درجه سلسیوس) ظرفیت فتوسنتزی و محتوای نسبی رطوبت برگ کاهش و نشست یونی و پرولین افزایش یافت. نتایج همچنین نشان داد تا دمای ۳۵ درجه سلسیوس افزایش غلظت سالیسیلیک اسید تا پنج میلی مولار و تحت دماهای ۴۰ و ۴۵ درجه سلسیوس، تا ۲/۵ میلی مولار باعث بهبود سطح برگ، رنگیزه‌های فتوسنتزی و افزایش پرولین بود. با توجه به نتایج کلی تحت دماهای خارج از آستانه تحمل، گیاهچه‌های ذرت دچار تنش شدید شدند و سالیسیلیک اسید تا غلظت ۲/۵ میلی مولار تا حدودی باعث تعدیل تنش گرمایی شد. پیشنهاد می‌شود این آزمایش پس از چند بار تکرار آزمایشگاهی در سطح مزرعه تحت تاریخ‌های مختلف کشت از نظر دمایی اجرا شود.

واژه‌های کلیدی: پرولین، تنش دمای بالا، رنگیزه‌های فتوسنتزی و سالیسیلیک اسید.

## مقدمه

غلزات، مهم‌ترین گیاهان زراعی کره زمین و تأمین کننده ۷۰ درصد غذای مردم جهان هستند (امام، ۱۳۸۵). ذرت (*Zea mays* L.) گیاهی چهارکربنه ( $C_4$ ) از غلزلات مهم مناطق گرمسیری و معتدل جهان می‌باشد که از نظر سطح زیر کشت بعد از گندم دومین و از نظر تولید اولین غله در جهان در سال ۲۰۱۳ بوده است (FAO, 2013). ذرت گیاهی است که در شرایط مناسب محیطی و رشدی دارای کارایی بالا بوده، اما بسیار حساس به خشکی و گرمای زیاد می‌باشد. مناسب‌ترین محدوده دمایی برای رشد مطلوب و دستیابی به پتانسیل عملکرد گیاه ذرت، ۳۰-۲۵ درجه سلسیوس است، اما به‌طور متوسط ۲۰-۱۵ درصد پتانسیل تولید ذرت جهان هرساله به علت تنش‌های آب و هوایی وابسته به دما کاهش می‌یابد (Chen *et al.*, 2012). دمای جهانی هوا در اثر فعالیت‌های انسان، تغییر در غلزلت  $CO_2$  و گازهای گلخانه‌ای همچون متان، کلروفلورو کربن و نیتروس اکسیداز در قرن اخیر به میزان تقریبی ۰/۵ درجه سلسیوس افزایش یافته و پیش‌بینی می‌شود که تا سال ۲۱۰۰ این میزان به ۱/۸ تا ۴/۵ درجه سلسیوس برسد (Khan *et al.*, 2013a). طی پژوهشی محققان روند داده‌های ماهانه، فصلی و سالانه‌ی حدافل و حداکثر دما را برای غرب کشور ایران بررسی کردند و بیان داشتند که در اکثر این ایستگاه‌ها روند افزایشی دما مشاهده شد (Tabari *et al.*, 2011). این تغییرات دمایی که اغلب با تابش زیاد، خشکی و باد شدید همراه است منجر به ایجاد تنش گرما و سبب بروز مشکلات عدیده‌ای در زمینه کشاورزی همچون شور شدن زمین‌های زراعی، خشکسالی، عدم دسترسی به مواد مغذی، سمیت فلزی و تغییرات آب و هوایی در سراسر جهان شد (Devasirvatham *et al.*, 2012; Anjum *et al.*, 2014). تنش گرمایی با ایجاد تغییرات غیر قابل برگشت در گیاه، سبب تغییرات مورفولوژیکی، آناتومیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهان می‌شود که این عوامل رشد و نمو گیاهان را تحت اثر قرار داده و ممکن است عملکرد اقتصادی محصول را نیز کاهش دهند (Wahid *et al.*, 2014; Sibozza *et al.*, 2007). ذرت دارای آستانه تحمل بالایی در مقابل گرما می‌باشد، به‌طوری‌که بیش‌ترین رشد ذرت را در محیط‌هایی می‌توان انتظار داشت که شب خنک و دمای برگ در روز ۳۳-۳۰ درجه سلسیوس می‌باشد، اما در صورتی‌که گیاه ذرت در معرض دما بالاتر قرار گیرد، تنفس گیاه بیش‌تر شده و تولید مواد فتوسنتزی کاهش می‌یابد (احمدی و میرحاجی، ۱۳۹۱) و یا با قرار دادن کوتاه مدت ذرت تحت دمای ۴۰ درجه سلسیوس ممکن است در فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه اختلال ایجاد شود (Dinler *et al.*, 2014). طی پژوهشی محققان اظهار داشتند که قرار دادن ژنوتیپ‌های ذرت و برنج تحت تنش دمای بالا (۳۵-۳۰، ۴۰-۳۵، ۴۵-۴۰ درجه سلسیوس) برای ۱۱ روز مانع از رشد گیاه، کاهش آب برگ و محتوای کلروفیل شد و نشب یونی را افزایش داد (Kumar *et al.*, 2012). با این حال جهت تعدیل تنش دمایی در گیاه سازوکارهای ملکولی و بیان ژن القاء می‌شود (Sibozza *et al.*, 2014; Kazemi-Shahandashti *et al.*, 2014).

تجمع پرولین یکی از سازوکارهای درگیر در انطباق گیاهان با تنش می‌باشد، افزایش پرولین در شرایط تنش باعث محافظت غشای سلولی، پروتئین‌ها، آنزیم‌های سیتوپلاسمی و مهار گونه‌های فعال اکسیژن و حذف رادیکال‌های آزاد شد (Liang *et al.*, 2013). مطالعه‌های انجام شده بر مرحله گیاهچه‌ای سورگوم (*Sorghum bicolor*) نشان داد که محتوای پرولین افزایش معنی‌داری طی تنش گرمایی داشت (Gosavi *et al.*, 2014). دستگاه فتوسنتزی در گیاهان حساس به گرما می‌باشد، بیوسنتز کلروفیل، سرعت فتوسنتز خالص، فعالیت آنزیم روبیسکو و مرکز فتوسیستم II اولین هدف از آسیب‌های دمایی در گیاهان هستند (Sinsawat *et al.*, 2004). کاهش و تغییر در میزان کلروفیل گیاه تحت تنش گرمایی در گیاهچه‌های ذرت گزارش شده است (عطارزاده و همکاران، ۱۳۹۶). طبق بررسی‌های دیگری بر ذرت، میزان کلروفیل a و b برگ با افزایش دما از ۳۵ به ۴۰ درجه سلسیوس کاهش معنی‌داری داشت (Yuzbasioglu *et al.*, 2017). تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه نقش مهمی در تنظیم فرآیندهای رشد گیاهان و شبکه‌های سیگنال دهنده ایفا می‌کنند، زیرا آن‌ها به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم در طیف گسترده‌ای از پاسخ و تحمل به تنش‌های زنده و غیر زنده در گیاهان دخیل هستند (Khan *et al.*, 2012; Asgher *et al.*, 2015). سالیسیلیک اسید (SA) ترکیب فنولی است که در تنظیم فرآیندهای مهم فیزیولوژیکی گیاهی همچون فتوسنتز، متابولیسم نیتروژن، متابولیسم پرولین، تولید گلیسین بتائین، سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی، اثر بر تنفس، تمامیت غشاها و روابط آبی گیاه در شرایط تنش‌های زیستی و غیرزیستی نقش دارد (Khan *et al.*, 2014; Rajeshwari and Bhuvaneshwari, 2017). گزارش‌های متعددی مبنی بر نقش سالیسیلیک اسید بر کاهش اثر منفی ناشی از تنش‌های خشکی (Fayez and Bazaid, 2014)، گرما (Wang *et al.*, 2010)، سرما (Siboza *et al.*, 2014)، شوری (Nazar *et al.*, 2015) و فلزات سنگین (Zhang *et al.*, 2015) در دسترس می‌باشد. عطارزاده و همکاران (۱۳۹۳) در آزمایشی مربوط به اثر تنش دما و اسید سالیسیلیک بر صفات فیزیولوژیک ذرت اعلام نمودند که محتوای کلروفیل برگ با کاربرد ۵۰ میکرومول سالیسیلیک اسید تحت تنش دمایی افزایش معنی‌داری داشت و تنش گرمایی باعث افزایش محتوای پرولین برگ شد. بررسی‌های دیگری نشان داد که سالیسیلیک اسید باعث افزایش پارامترهای رشد و رنگیزه‌های فتوسنتزی ذرت در شرایط تنش دمای بالا شد (Hayat *et al.*, 2009). با توجه به تغییرات اقلیمی در ایران به‌ویژه در مناطق غرب کشور و افزایش دما این مناطق به بالاتر از آستانه تحمل گیاه، هم‌چنین از طرفی دیگر با توجه به گزارش‌های موجود بر نقش سالیسیلیک اسید در ایجاد مقاومت به تنش‌های زیستی و غیر زیستی، آزمایشی به‌صورت کنترل شده در اتاقک رشد با هدف بررسی پاسخ فیزیولوژیکی گیاهچه‌های ذرت به دماهای خارج از آستانه گیاه در غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید انجام گرفت. با توجه به تغییرات اقلیمی در ایران به‌ویژه در مناطق غرب کشور و افزایش دما این مناطق به بالاتر از آستانه تحمل گیاه و با توجه به اینکه در مناطق سردسیر همچون

کردستان ذرت به صورت گیاهی علوفه‌ای یکساله تابستانه در اواخر خرداد و یا اوایل تیر بعد از برداشت گیاهان زمستانه کشت می‌شود، ممکن است مرحله گیاهچه‌ای گیاه با دمای بالاتر از تحمل گیاه مصادف باشد. هم‌چنین از طرفی دیگر با توجه به گزارش‌های موجود بر نقش سالیسیلیک اسید در ایجاد مقاومت به تنش‌های زیستی و غیر زیستی، آزمایشی به صورت کنترل شده در اتاقک رشد با هدف بررسی پاسخ فیزیولوژیکی گیاهچه‌های ذرت به دماهای خارج از آستانه گیاه در غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید انجام گرفت.

### مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت کنترل شده در اتاقک رشد (ژرمیناتور) در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان به منظور بررسی پاسخ فیزیولوژیکی گیاهچه‌های ذرت (*Zea mays* L.) به دماهای خارج از آستانه در غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید، به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار طراحی و اجرا شد (جدول ۱). فاکتور اول پنج سطح دما ۲۵، ۳۰، ۳۵، ۴۰ و ۴۵ درجه سلسیوس و فاکتور دوم شامل چهار سطح محلول پاشی سالیسیلیک اسید (SA) شامل غلظت‌های یک و نیم، دو و پنج میلی‌مولار به همراه یک تیمار شاهد (بدون کاربرد سالیسیلیک اسید) بود. هیبرید ذرت کشت شده سینگل کراس "Mv500" از گروه متوسط رس تولید مجارستان بود که از شرکت قاصدک سبز کرمانشاه تهیه شد.

جدول ۱: بیشینه دمای گرم‌ترین ماه‌های سال در استان کردستان طی سال‌های ۱۳۸۵-۱۳۹۵ (سازمان هواشناسی کشور)

سال	۱۱ خرداد - ۹ تیر		۱۰ تیر - ۹ مرداد		۱۰ مرداد - ۹ شهریور	
	روز	دما	روز	دما	روز	دما
۱۳۸۵	۱۶	۳۹	۲۰	۴۱/۶	۵	۴۱/۸
۱۳۸۶	۱۶	۳۹	۱۴	۳۹/۶	۱۰	۴۰
۱۳۸۷	۲۸	۴۰/۲	۱۲	۴۲	۴	۴۲/۲
۱۳۸۸	۳۰	۳۹/۶	۱۳	۴۰/۸	۱۹	۴۰/۶
۱۳۸۹	۱۴	۳۹/۶	۸	۴۲	۲۱	۴۰/۲
۱۳۹۰	۱۸	۳۸/۶	۹	۴۲/۷	۳	۴۱/۴
۱۳۹۱	۱۶	۳۷/۴	۲۲	۴۰	۱۵	۴۱/۸
۱۳۹۲	۱۶	۳۹/۸	۱۶	۴۲	۱۸	۳۹/۸
۱۳۹۳	۲۹	۳۹/۶	۱۷	۴۲	۱۱	۴۱/۲
۱۳۹۴	۳۰	۴۱	۱	۴۲/۶	۲۰	۴۱/۸
۱۳۹۵	۲۸	۳۸/۴	۲۴	۴۱/۸	۱۰	۴۱

جهت اجرای آزمایش ابتدا تعداد ۱۰-۱۲ عدد بذر ذرت درگلدان‌های پلاستیکی (حجم دو لیتری)، حاوی خاک از جنس لومی شنی (جدول ۲) کشت و در ژرمیناتور یا اتاقک رشد (ساخت شرکت GROUC تهران) تحت شرایط نوری (۱۶:۸) (نور/تاریکی) با شدت نور ۱۷۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه، رطوبت نسبی  $65 \pm 2$  درصد، و دمای  $(16 \pm 2)$  (۲۳±۲) درجه سلسیوس (تاریکی/ نور) نگهداری و هر روز آبیاری شدند (جدول ۲). به دلیل زمان کوتاه آزمایش و نیاز به مرحله

گیاهچه‌ای ذرت جهت آزمایش هیچ گونه کودی به گلدان‌ها اضافه نشد. بعد از ۱۰ روز نگهداری گیاهچه‌ها با ارتفاع ۲۵-۲۰ سانتی‌متر در مرحله سه برگه، تحت تیمارهای مورد نظر به مدت سه روز قرار گرفتند، به این صورت که ابتدا توسط سالیسیلیک اسید محلول پاشی شده و سپس جهت اعمال دماهای بالاتر از ۲۵ درجه سلسیوس مجدداً به اتاقل رشد منتقل و روزانه سه ساعت (اوج دمای بالا در روز بین ساعات ۱۵-۱۲ بعدازظهر) در معرض دماهای مورد نظر قرار گرفتند. با توجه به اینکه در مزرعه دما برای هر تیمار نمی‌تواند مشخص و کنترل شود و چون در این بررسی آزمایش تحت برهمکنش سالیسیلیک اسید و دما قرار گرفته باید ابتدا جهت کاهش درصد خطای بیش‌تر در اتاقل رشد انجام گیرد و سپس بعد از چند بار تکرار به صورت مزرعه‌ای اجرا شود، زیرا انجام دماهای مختلف در مزرعه کار پیچیده‌ای است و درصد خطا بسیار افزایش می‌یابد.

جدول ۲: ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک گلدان‌ها

عمق (سانتی-متر)	نیتروژن (درصد)	فسفر (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	پتاسیم (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	pH	Ec (دسی زمینس بر متر)	کربن آلی (درصد)	آهن (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	مس (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	روی (میلی-گرم بر کیلوگرم)	شن (درصد)	لای (درصد)	رس (درصد)
۰-۳۰	۰/۰۷	۶/۸	۲۶۰	۸/۰۵	۰/۷۰	۰/۷۰	۹/۳۸	۱/۱۳	۶/۷	۴۴	۳۱	۲۵

### اندازه‌گیری‌ها

#### سطح و وزن خشک برگ

جهت اندازه‌گیری سطح برگ و وزن خشک برگ، ابتدا سه گیاهچه از هر گلدان از سطح خاک قطع و پس از اندازه‌گیری سطح برگ گیاهچه‌ها توسط دستگاه سطح برگ سنج (Li-Cor, Model 7 Li-1300; USA) میانگین‌گیری و به عنوان سطح برگ هر بوته در هر واحد آزمایشی ثبت شد. سپس برگ‌های هر تیمار داخل آون با دمای ۷۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند و بعد از توزین و میانگین‌گیری هر سه بوته به عنوان وزن خشک برگ هر بوته در هر واحد آزمایشی محاسبه شد.

#### کلروفیل a و b و کل

جهت سنجش کلروفیل a, b و کلروفیل کل، از برگ‌های کاملاً توسعه یافته بالغ از هر واحد آزمایشی به‌طور تصادفی نمونه‌برداری و ۰/۵ گرم از نمونه‌ها پس از هضم توسط استن ۸۰ درصد و سانتیفریوژ نمودن، مقدار جذب هر نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV/VIS Lambda25) در طول موج‌های ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸ نانومتر به ترتیب برای

کلروفیل a و b قرائت و بر اساس رابطه‌های (۱، ۲ و ۳) مقادیر رنگیزه‌ها برحسب میکروگرم بر گرم وزن تر محاسبه شد (Lichtenthaler and Wellburn, 1983).

رابطه ۱: Chlorophyll a = (12.25 X A<sub>663.2</sub>) - (2.79 X A<sub>646.8</sub>)

رابطه ۲: Chlorophyll b = (21.21 X A<sub>646.8</sub>) - (5.1 X A<sub>663.2</sub>)

رابطه ۳: Total Chlorophyll (a+b) = (7.15 X A<sub>663.2</sub> + 18.71 X A<sub>646.8</sub>)

#### محتوای نسبی آب<sup>۱</sup> (RWC)

رای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب چهار یا پنج قطعه از برگ تازه به قطر یک سانتی‌متر برش و توزین شدند<sup>۲</sup> (FW)، سپس نمونه‌ها در پتری‌دیش همراه مقداری آب مقطر به میزان ۱۰ سی‌سی به مدت چهار ساعت در انکوباتور در دمای چهار درجه سلسیوس قرار داده شده و مجدداً توزین شدند<sup>۳</sup> (TW) در انتها نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در آون در دمای ۷۲ درجه سلسیوس قرار داده و مجدداً توزین شد<sup>۴</sup> (DW). سپس با استفاده از رابطه ۴ محتوای نسبی آب برگ محاسبه شد (Ritchie et al., 1990).

رابطه ۴:  $RWC = (FW - DW) / (TW - DW) \times 100$

#### نشت یونی برگ

برای اندازه‌گیری نشت یونی برگ، یک گرم از بافت تازه برگ پس از شستشو با آب دوبار تقطیر و خردکردن به فالكون حاوی ۲۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر منتقل و پس از ۲۴ ساعت (در شرایط بدون نور و دمای ۲۵ درجه سلسیوس) هدایت الکتریکی محلول یا نشت یونی نمونه‌ها (EL<sub>1</sub>) با دستگاه EC متر (Aqualytic sensdirect, CD24) قرائت شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس اتوکلاو شده و پس از خنک شدن مجدد هدایت الکتریکی یا نشت یونی محلول (EL<sub>2</sub>) قرائت و درصد نشت یونی برگ بر اساس رابطه ۵ محاسبه شد (Luttos et al., 1996).

رابطه ۵:  $EL (\%) = (EL_1 / EL_2) \times 100$

#### پرولین

جهت سنجش میزان پرولین ۰/۱ گرم از بافت تر برگ را در ۱۰ میلی‌لیتر محلول سه درصد اسید سولفوسالیسیلیک ساییده و عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ (Hermle Z216 MK)، شد. سپس دو میلی‌لیتر از مایع رویی را با دو میلی‌گرم معرف نین هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک خالص مخلوط کرده و یک ساعت در دمای

<sup>1</sup> Relative water content

<sup>2</sup> Fresh Weight

<sup>3</sup> Turgor Weight

<sup>4</sup> Dry Weight

۱۰۰ درجه سلسیوس حمام آب گرم، قرار گرفت. بعد از این مدت، جهت قطع انجام کلیه واکنش‌ها، لوله‌های محتوی مخلوط را در حمام یخ، سرد شد، سپس چهار میلی‌لیتر تولون به مخلوط اضافه شد و لوله‌ها میکس شده بعد از ۲۰-۱۵ ثانیه، دو لایه کاملاً مجزا در آن‌ها تشکیل شدند. از لایه رنگی فوقانی که حاوی تولون و پرولین بود، برای اندازه‌گیری غلظت پرولین استفاده شد. جذب مقدار مشخصی از این ماده رنگی در طول موج ۵۲۰ نانومتر تعیین شد و مقدار پرولین در هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد، تعیین شد (Bates et al., 1973).

### محاسبه‌های آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9.2 و آزمون مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از روش دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت. شکل‌ها نیز توسط برنامه Excel رسم شدند.

### نتایج و بحث

#### سطح برگ

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر اثر معنی‌دار دما، سالیسیلیک اسید ( $P < 0.01$ ) و برهمکنش این دو عامل ( $P < 0.05$ ) بر سطح برگ بود (جدول ۳).

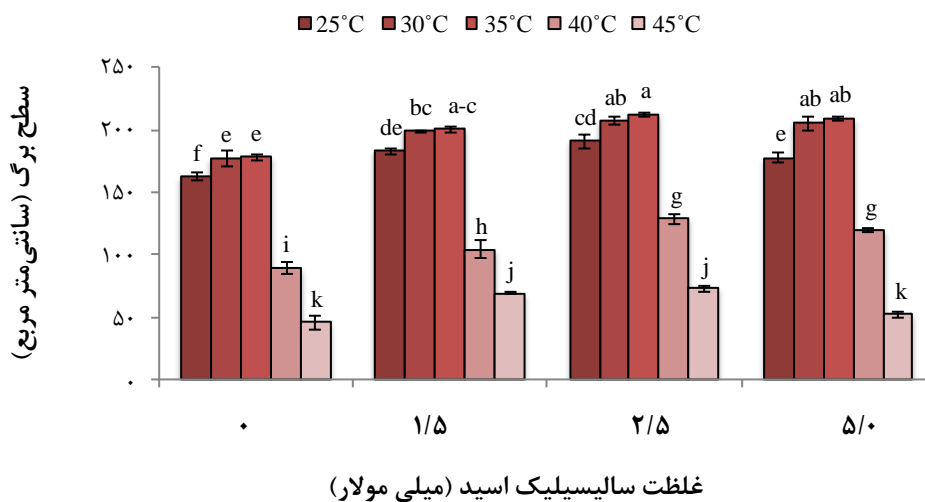
جدول ۳: نتایج تجزیه واریانس اثر سالیسیلیک اسید و دما بر ویژگی‌های برگ، رنگی‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل) و صفات بیوشیمیایی (محتوای نسبی آب برگ، پایداری غشای سلول، پرولین) گیاهچه‌های ذرت رقم "Mv500"

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		سطح برگ	وزن خشک برگ	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	محتوای نسبی آبی برگ
دما	۴	۴۵۴۰/۱۰۱**	۰/۷۷**	۵۰/۴۴**	۱۰/۷۷**	۱۰۹/۶**	۳۸۳۳/۰۲**
سالیسیلیک اسید	۳	۲۶۳۱/۶۴**	۰/۱۱**	۳/۷۲**	۰/۳۷**	۶/۳۳**	۴۲/۰۴**
دما × سالیسیلیک اسید	۱۲	۱۰۷/۱۹*	۰/۰۱**	۰/۴۷**	۰/۰۶۷**	۰/۱۸۶**	۱/۹ <sup>ns</sup>
خطای آزمایشی	۴۰	۴۴/۶۱	۰/۰۰۲	۰/۰۴۱	۰/۰۲۴	۰/۰۶۵	۵/۲۰
ضریب تغییرات (CV)		۴/۴۸	۸/۲۶	۶/۴۸	۱۲/۴۴	۵/۷۷	۳/۷۵

ns، \* و \*\*: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد.

بر اساس مقایسه میانگین تیمارها در هر سطح از غلظت سالیسیلیک اسید با افزایش دما تا ۳۵ درجه سلسیوس سطح برگ روندی افزایشی داشت، اما گیاهچه‌ها تحت دمای بیش‌تر از ۳۵ درجه سلسیوس کاهش معنی‌داری داشتند، به‌طوری‌که در دمای ۴۵ درجه سلسیوس گیاهچه‌ها دارای کم‌ترین سطح برگ بودند. نتایج هم‌چنین نشان داد که در هر دما با کاربرد و افزایش غلظت سالیسیلیک اسید سطح برگ افزایش معنی‌داری نسبت به غلظت صفر داشت. البته ناگفته نماند که در دمای ۴۵ درجه سلسیوس تا غلظت ۲/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید افزایش و در غلظت پنج میلی‌مولار کاهش یافت، طوری‌که با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری از نظر سطح برگ نداشت (شکل ۱). تنش در دماهای بالاتر از حد آستانه تحمل

گیاه باز دارنده رشد و نمو گیاه است (Wahid, 2007). افزایش دمای محیط باعث تبخیر بیش‌تر آب از گیاه شده به‌طوری‌که با بهم خوردن تعادل بین جذب و دفع آب از گیاه، روزنه‌ها بسته و آب کم‌تری جذب گیاه می‌شود. جلوگیری از رشد همراه با بسته شدن روزنه‌ها جزء اولین پاسخ‌های گیاهان به خشکی و کمبود آب است (Klamkowski and Treder, 2006)، زیرا با کاهش جذب آب، فشار تورژسانس سلولی تقلیل یافته که کاهش رشد و توسعه سلول به‌ویژه در برگ‌ها (شکل ۱) را به دنبال خواهد داشت. با توجه به نتایج به‌دست آمده از این بررسی کاهش سطح برگ در دمای ۴۵ درجه سلسیوس تا غلظت ۲/۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید بهبود یافت، سالیسیلیک اسید با حفظ روابط آبی گیاه و عملکرد روزنه‌ها (Barkosky and Einhellig, 1993)، می‌تواند سطح برگ در گیاه را افزایش دهد. طی بررسی‌های عبداللهی و شکاری (۱۳۹۳) بر گندم، کاربرد سالیسیلیک اسید موجب بهبود وضعیت آبی گیاه و افزایش محتوای نسبی آب شد که نتیجه در توسعه سطح برگ داشت، نتایج این پژوهشگران هم راستا با نتایج حاصل از این بررسی بود. سالیسیلیک اسید از طریق افزایش آسیمیالت‌های محلول همچون پرولین در سلول باعث افزایش محتوای نسبی آب شده و با حفظ فشار اسمزی منجر به افزایش فتوسنتز و رشد گیاه شد (Hasegawa *et al.*, 2000). اثر تحریکی سالیسیلیک اسید بر رشد می‌تواند به‌دلایلی مانند افزایش میزان تقسیم در مناطق مریستمی و رشد سلولی باشد (Shakirova *et al.*, 2003). وقتی سلول‌های برگ به‌طور موقت آب خود را از دست بدهند. با گذشت زمان سرعت تقسیم و طویل شدن سلول‌ها کاهش یافته و در نتیجه، این تغییرات منجر به کوچک‌تر شدن اندازه نهایی برگ‌ها خواهد شد (Munns, 2002).



شکل ۱: مقایسه میانگین برهم‌کنش سالیسیلیک اسید در دما بر سطح برگ ذرت رقم "Mv500"

میانگین‌هایی دارای حروف مشترک در هر ستون، بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد می‌باشند.



## وزن خشک برگ

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان‌دهنده اثر معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) دما، سالیسیلیک اسید و هم‌چنین برهم‌کنش این دو عامل بر وزن خشک برگ بود (جدول ۳). با توجه به نتایج مقایسه میانگین تیمارها در هر سطح از غلظت سالیسیلیک اسید تا دمای ۳۵ درجه سلسیوس وزن خشک برگ افزایش معنی‌داری داشت، اما در دمای بیش‌تر از ۳۵ درجه سلسیوس وزن خشک برگ کاهش معنی‌داری داشت، طوری‌که در دمای ۴۵ درجه سلسیوس گیاهچه‌ها کم‌ترین وزن خشک برگ را داشتند. نتایج هم‌چنین نشان داد که در دمای ۳۵ درجه وزن خشک برگ تا غلظت پنج میلی‌مولار افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد داشت، اما وزن خشک برگ تحت دماهای ۴۰ و ۴۵ درجه سلسیوس تا ۲/۵ میلی‌مولار افزایش و با غلظت ۵ میلی‌مولار کاهش داشت (جدول ۴). به‌نظر می‌رسد برهم‌کنش غلظت بالای اسید سالیسیلیک همراه با افزایش تنش گرما اثر منفی بر گیاه داشته که نشان‌دهنده‌ی تخریب ساختمان کلروفیل برگ ذرت در تیمارهای مورد استفاده و عدم تولید مواد فتوسنتزی می‌باشد. تولید ماده خشک گیاه وابستگی قوی با سطح برگ و فتوسنتز دارد و برای رسیدن به وزن خشک بیش‌تر باید سطح برگ گیاه جهت فتوسنتز بیش‌تر حفظ شود. با توجه به نتایج پژوهش حاضر با افزایش دما به بالاتر از تحمل گیاه سطح برگ کاهش یافت که نتیجه در کم شدن وزن خشک برگ (جدول ۴) داشت. بنابراین سطح برگ بیش‌تر نقش مهمی در طول دوره تنش دارد، زیرا کربن بیش‌تری جهت فتوسنتز و تولید کربوهیدرات جذب می‌شود (Porwanto, 2003). از طرفی دیگر با افزایش دما و بسته شدن روزنه‌ها نیز جذب کربن و تولید کربوهیدرات کاهش می‌یابد. سالیسیلیک در شرایط دمای بالا با حفظ رطوبت از طریق افزایش محتوای نسبی آب برگ (شکل ۲ب)، در توسعه و رشد سطح برگ (شکل ۱) مؤثر بوده و به ثبات فتوسنتز در این شرایط کمک می‌کند که نتیجه در تولید ماده خشک بیش‌تر دارد. نتایج بررسی‌های محققان نشان داد محلول‌پاشی ذرت شیرین با سالیسیلیک اسید باعث کاهش تنش خشکی و تعدیل و افزایش وزن خشک گیاه شد حبیب پور و همکاران (۱۳۹۴)، که با نتایج حاصل از این بررسی در یک راستا بود. طی پژوهشی محققان اظهار داشتند که سالیسیلیک اسید با افزایش جذب دی‌اکسید کربن و میزان فتوسنتز در افزایش وزن خشک گیاه مؤثر بوده است (Fariduddin et al., 2003).

## رنگی‌های فتوسنتزی

اثر دما، سالیسیلیک اسید و برهم‌کنش آن‌ها بر کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل معنی‌داری ( $P < 0.01$ ) شد (جدول ۳). با توجه به نتایج مقایسه میانگین تیمارها، مقدار رنگی‌های فتوسنتزی در هر سطح از غلظت سالیسیلیک اسید تا دمای ۳۵ درجه سلسیوس افزایش معنی‌داری داشت، اما با افزایش دما به ۴۰ و ۴۵ درجه سلسیوس دچار کاهش شد. هم‌چنین نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تا دمای ۳۵ درجه سلسیوس افزایش غلظت سالیسیلیک اسید تا پنج میلی-

مولار باعث افزایش مقدار رنگیزه های فتوسنتزی شد، اما تحت دماهای بالاتر مقدار رنگیزه ها تا غلظت ۲/۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید افزایش داشت و با غلظت بیش تر کاهش یافت (جدول ۴). فتوسنتز یکی از مهم ترین فرایندهای فیزیولوژیکی حساس به تنش گرمایی در گیاهان سبز می باشد (Weis and Berry, 1988). که واکنش فتوشیمیایی در غشای تیلاکوئید استروما کلروپلاست به عنوان مکان های اولیه صدمه در دمای بالا بیان شده است (Wise et al., 2004). طی پژوهشی محققان کاهش محتوای کلروفیل a و b برگ را تحت افزایش دما از ۳۵ به ۴۵ درجه سلسیوس در ذرت گزارش کردند (Yuzbasioglu et al., 2017)، که با نتایج حاصل از این بررسی (جدول ۴) مطابقت دارد. به نظر می رسد که گیاهچه های ذرت طی دماهای بالاتر از آستانه تحمل (۴۰ و ۴۵ درجه سلسیوس)، جهت جلوگیری از تبخیر هرچه بیش تر آب گیاه و حفظ محتوای نسبی آب برگ، در طی سه ساعته دمای بالا روزه های خود را بسته نگه می دارند که با بسته شدن روزه ها انتقال الکترون در فتوسیستم II دچار اختلال شده که در این وضعیت الکترون اضافی ناشی از فتولیز آب، باعث تولید اکسیژن فعال و خسارت به غشای سلولی از طریق پراکسید شدن چربی ها، پروتئین ها و کاهش محتوای کلروفیل گیاه شد. یکی دیگر از عوامل کاهش دهنده مقدار کلروفیل تحت تنش می تواند به دلیل رقابت بین آنزیم کاتالیز کننده پرولین (گلوتامات لیگاز) و اولین آنزیم مسیر بیوسنتز کلروفیل باشد که سبب شده که تا پیش ساز گلوتامات بیش تر به مصرف پرولین برسد و در نتیجه بیوسنتز کلروفیل با محدودیت مواجه شود (رامک و همکاران، ۱۳۸۴). بنابراین با توجه به نقش فتوسنتز در تداوم رشد گیاه، دوام فتوسنتز و حفظ کلروفیل برگ در شرایط تنش از جمله شاخص های فیزیولوژیک متحمل به تنش محسوب می شود. سالیسیلیک اسید به عنوان یک تنظیم کننده رشد گیاهی، اثر مثبتی در آنزیم های دخیل در فتوسنتز و افزایش ظرفیت فتوسنتزی دارد (Khan et al., 2003). نقش اسید سالیسیلیک در حفاظت از ساختمان کلروفیل تحت تنش های محیطی در مطالعه های مختلفی گزارش شده است (Popova et al., 2009; Idrees et al., 2010). اثرات سالیسیلیک اسید بر گیاهان تحت اثر غلظت های مختلف آن تغییر می کند، به طوری که در غلظت های مناسب با کاهش تخریب رنگیزه های فتوسنتزی، افزایش توان آنتی اکسیدانی سلول و سنتز پروتئین های جدید از دستگاه فتوسنتزی حمایت می کند (Popova et al., 2003). با توجه به نتایج این بررسی همان گونه که ذکر شد سالیسیلیک اسید تحت دمای خارج از آستانه تحمل گیاه غلظت بیش تر از ۲/۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید اثر معنی داری بر مقدار کلروفیل نداشت. در تأیید نتایج حاضر محققان دیگری نیز اظهار داشتند که غلظت پایین سالیسیلیک اسید باعث بهبودی ویژگی های فتوسنتزی می شود (Nazar et al., 2011). زیرا با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید، چرخه کلونین با کاهش سنتز روبیسکو و افزایش تجمع NADPH، فنوسنتز را مهار می کند (Janda et al., 2012).

جدول ۴: مقایسه میانگین برهمکنش سالیسیلیک اسید در دما بر وزن خشک برگ و رنگیزه‌های فتوسنتزی ذرت رقم

“Mv500”

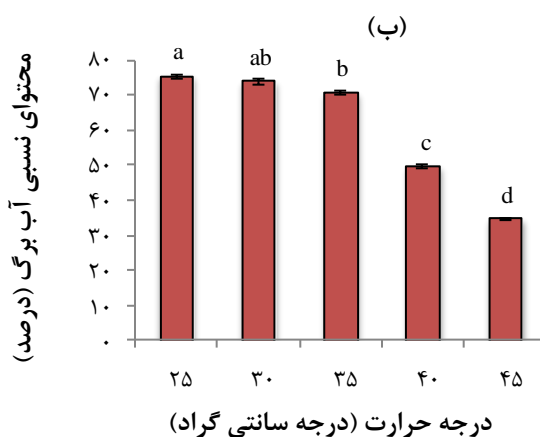
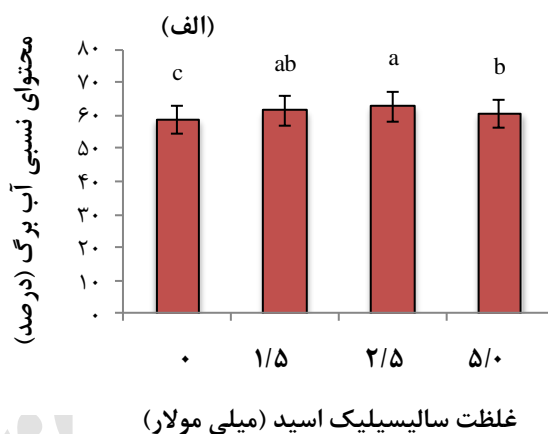
سالیسیلیک اسید (میلی‌مول)	دما (سلسیوس)	وزن خشک برگ (گرم)	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم وزن تر)
	۲۵	۰/۴۸±۰/۰۶ †† d	۳/۱۱±۱/۴۷ h	۱/۴۷±۰/۱۵ c	۴/۶۲±۰/۱۷ f
	۳۰	۰/۶۲±۰/۰۳ c	۳/۸۱±۱/۵۶ g	۱/۵۶±۰/۱۲ c	۵/۴۱±۰/۱۳ e
صفر (شاهد)	۳۵	۰/۶۵±۰/۰۰۶ c	۳/۹۱±۱/۶ g	۱/۵۹±۰/۱ c	۵/۵۵±۰/۰۴ e
	۴۰	۰/۳۹±۰/۰۰۵ e	۰/۸۷±۰/۲۵ k	۰/۲۵±۰/۰۴ de	۱/۱۳±۰/۱۱ i
	۴۵	۰/۲۲±۰/۰۰۸ g	۰/۶۸±۰/۱۳ kl	۰/۱۳±۰/۰۳ de	۰/۸۲±۰/۱۳ ij
	۲۵	۰/۷۱±۰/۰۴ bc	۴/۴۸±۱/۸۶ ef	۱/۸۶±۰/۱۳ b	۶/۴±۰/۰۱ d
	۳۰	۰/۸۶±۰/۰۱ a	۴/۸۵±۲/۰۶ d	۲/۰۶±۰/۱۳ ab	۶/۹۷±۰/۱۶ bc
۱/۵	۳۵	۰/۸۹±۰/۰۱ a	۵/۲۳±۲/۲۱ a-c	۲/۲۱±۰/۱۸ a	۷/۵۱±۰/۳۳ a
	۴۰	۰/۴۶±۰/۰۰۸ d	۱/۳۸±۰/۲۸ j	۰/۲۸±۰/۰۱ de	۱/۶۷±۰/۰۶ h
	۴۵	۰/۲۷±۰/۰۰۵ fg	۰/۲۷±۰/۰۰۹ k	۰/۱۸±۰/۰۰۶ de	۱/۰۸±۰/۰۰۷ i
	۲۵	۰/۷۶±۰/۰۳ bc	۴/۹۲±۱/۸۶ cd	۱/۸۶±۰/۰۷ b	۶/۸۴±۰/۱۵ c
	۳۰	۰/۸۹±۰/۰۰۵ a	۵/۱۵±۲/۱ b-d	۲/۱±۰/۰۵ ab	۷/۳۱±۰/۰۷ ab
۲/۵	۳۵	۰/۹۲±۰/۰۰۵ a	۵/۵۸±۰/۱۸ a	۲/۱۲±۰/۰۷ ab	۷/۷۷±۰/۱۴ a
	۴۰	۰/۴۸±۰/۰۱ d	۱/۹۷±۰/۰۷ i	۰/۴۱±۰/۰۵ d	۲/۴±۰/۱۱ g
	۴۵	۰/۲۹±۰/۰۰۳ fg	۰/۵۸±۰/۰۴ kl	۰/۰۹±۰/۰۰۹ e	۰/۶۸±۰/۰۰۵ ij
	۲۵	۰/۷۴±۰/۰۰۸ b	۴/۲۶±۰/۱۹ f	۱/۹۹±۰/۱ ab	۶/۳۱±۰/۲۹ d
	۳۰	۰/۸۴±۰/۰۴ a	۴/۷۹±۰/۱ de	۲/۰۶±۰/۰۹ ab	۶/۹۱±۰/۱۶ bc
۵	۳۵	۰/۸۷±۰/۰۱ a	۵/۴۱±۰/۱۷ ab	۲/۲±۰/۰۵ a	۷/۶۷±۰/۱۹ a
	۴۰	۰/۳۳±۰/۰۰۶ ef	۰/۷۱±۰/۰۶ kl	۰/۲۱±۰/۰۱ de	۰/۹۳±۰/۰۰۶ ij
	۴۵	۰/۲۲±۰ g	۰/۴۳±۰/۰۱ l	۰/۰۸±۰/۰۰۲ e	۰/۵۲±۰/۰۱ j

† میانگین‌هایی دارای حروف مشترک در هر ستون، بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد می‌باشند.  
†† بیانگر خطای استاندارد (Mean ± SEM) می‌باشد.

محتوای نسبی آب برگ

با توجه به نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها، محتوای نسبی آب برگ به‌طور معنی‌داری ( $P < 0.01$ ) در واکنش به دما و سالیسیلیک اسید قرار گرفت، این در حالی بود که برهم‌کنش این دو عامل اثری بر این صفت نداشت (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین تیمارها نشان می‌دهد که با کاربرد و افزایش غلظت سالیسیلیک اسید تا ۲/۵ میلی‌مولار محتوای نسبی برگ افزایش ۶/۴۲ درصدی و معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد داشت، اما با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید از ۲/۵ تا پنج میلی‌مولار محتوای نسبی رطوبت برگ دارای کاهش ۳/۴ درصدی و معنی‌داری بود (شکل ۲الف). بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها با افزایش دمای نگهداری گیاهچه‌ها محتوای نسبی آب برگ ابتدا تغییری نداشت، اما از دمای ۳۵ درجه سلسیوس دارای روندی کاهشی بود، به‌طوری‌که تحت دمای ۴۵ درجه سلسیوس کاهش ۵۳/۸۵ درصدی و معنی‌داری نسبت به دمای ۲۵ درجه سلسیوس داشت (شکل ۲ب). تنش دمای به‌شدت پتانسل آبی گیاه را تحت اثر قرار می‌دهد (Mavi and Tupper, 2004)، به‌طوری‌که با افزایش دما تبخیر و تعرق گیاه روند صعودی پیدا کرده و بدان جهت بر نیروی ترمودینامیکی محیط ریشه در جذب آب افزوده می‌شود، اما در دماهای خارج از آستانه تحمل گیاه با تخریب ساختار و مکانیسم‌های خود تنظیمی سلول و افزایش نشت الکترولیت (شکل ۳) و بسته شدن روزنه‌ها، تعادل میان آب جذب شده

و آب از دست رفته (شیب هیدروستاتیک)، به هم خورده و گیاه دچار تنش آبی نیز شد. بنابراین حتی در صورت ثبات فراهمی آب، محیط ریشه و مطلوب بودن رطوبت نسبی هوا، تنش دمایی باعث کاهش بیش تر آب گیاه شد (Wahid *et al.*, 2007). طی بررسی های انجام شده توسط محققان محتوای نسبی آب برگ و وزن تر گیاه تحت تنش دمای بالا کاهش معنی داری داشت (Rodriguez *et al.*, 2015) که با نتایج حاصل از این بررسی مطابقت دارد. محققان طی آزمایشی بر روی ذرت نتیجه گرفتند که مصرف ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک در شرایط تنش موجب افزایش محتوای آب نسبی شد، در حالی که با مصرف ۲۰۰ میلی گرم در لیتر این مقدار کاهش یافت (Rao *et al.*, 2012). در مطالعه دیگری بر گندم پژوهشگران دریافتند که محتوای نسبی آب با تیمار توسط سالیسیلیک اسید افزایش یافت (Agarwal *et al.*, 2005)، که با نتایج حاصل از این بررسی مبنی بر افزایش محتوای نسبی آب برگ تحت تیمار سالیسیلیک اسید نسبت به تیمار شاهد، مطابقت دارد. افزایش محتوای نسبی آب ممکن است وابسته به نقش سالیسیلیک اسید در تجمع آسیمیلات های سازگار در گیاهان تحت شرایط تنش باشد (Hasegawa *et al.*, 2000).

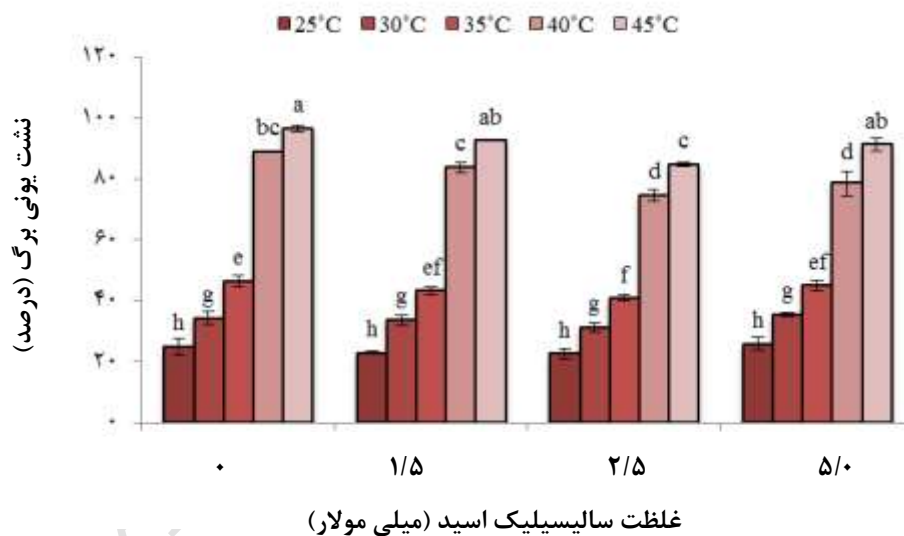


شکل ۲: نتایج مقایسه میانگین اثر سالیسیلیک اسید (الف) و دما (ب) بر محتوای نسبی آب برگ ذرت رقم "Mv500"

میانگین هایی دارای حروف مشترک در هر ستون، بیانگر عدم اختلاف معنی دار براساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد می باشند.

### نشت یونی برگ

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان دهنده اثر معنی‌دار دما و سالیسیلیک اسید ( $P < 0.01$ ) و هم‌چنین برهم‌کنش این دو عامل ( $P < 0.05$ ) بر نشت یونی برگ بود (جدول ۳). بر اساس نتایج مقایسه میانگین تیمارها بیش‌ترین نشت یونی برگ مربوط به عدم استفاده از سالیسیلیک اسید و دمای ۴۵ درجه سلسیوس با ۹۶/۴۸ درصد بود. با توجه به نتایج به‌دست آمده از این پژوهش در هر سطح از غلظت سالیسیلیک اسید با افزایش دما نشت یونی برگ افزایش معنی‌داری داشت و گیاهچه‌های نگهداری شده تحت دمای ۴۵ درجه سلسیوس بیش‌ترین نشت یونی را در برگ‌های خود داشتند. نتایج هم‌چنین نشان‌داد که تا دمای ۳۵ درجه سلسیوس کاربرد و افزایش غلظت سالیسیلیک اسید اثر معنی‌داری بر کاهش نشت یونی برگ نداشت. اما در دمای ۴۰ درجه سلسیوس با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید نشت یونی برگ کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد داشت. در دمای ۴۵ درجه سلسیوس نیز با مصرف ۲/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید نشت یونی برگ کاهش ۱۲/۲۳ درصدی و معنی‌داری نسبت به عدم مصرف سالیسیلیک اسید داشت (شکل ۳).



شکل ۳: مقایسه میانگین برهم‌کنش سالیسیلیک اسید در دما بر نشت یونی برگ ذرت رقم "Mv500"

میانگین‌هایی دارای حروف مشترک در هر ستون، بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد می‌باشند.

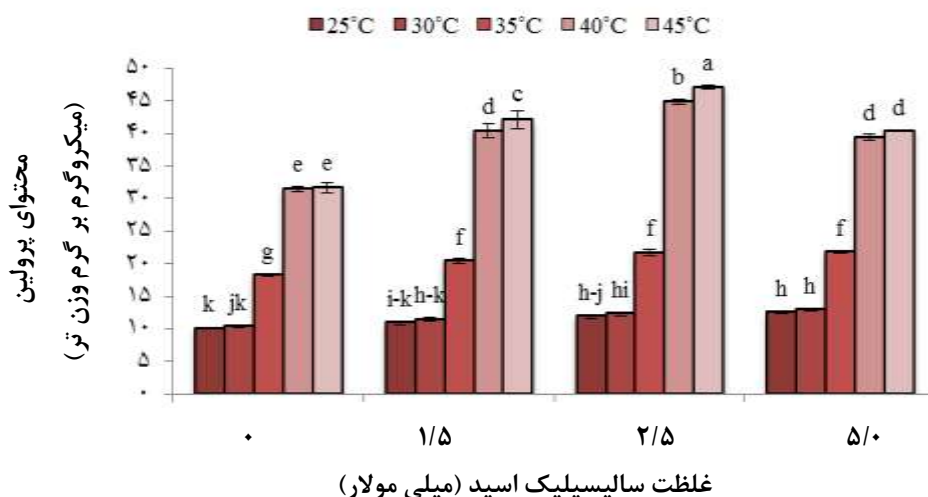
از نظر فیزیولوژیکی نشت یونی مربوط به دیواره سلولی می‌باشد که تحت دمای مطلوب رشد گیاه تغییری نداشته و شاید در دراز مدت تحت اثر قرار گیرد. عدم اثر معنی‌دار سالیسیلیک اسید تا دمای ۳۵ درجه سلسیوس بر نشت یونی برگ می‌تواند به دلیل شرایط مطلوب دمایی برای ذرت باشد، که نشت یونی صورت نگرفته که سالیسیلیک اسید مانع از نشت یونی شد. تحت تنش گرمایی غشاء سلولی یکی از اولین بخش‌های گیاهی است که آسیب می‌بیند که در اثر آن، نشت-پذیری غشای سلولی افزایش می‌یابد (Liu and Huang, 2000). در این پژوهش همان‌گونه که مشاهده شد تحت دمای

۴۵ درجه سلسیوس بدون استفاده از سالیسیلیک اسید برگ‌ها دارای بیش‌ترین مقدار نشت الکترولیت بودند (شکل ۳). نشت الکترولیت می‌تواند به‌واسطه انرژی جنبشی و حرکت مولکول‌ها در عرض غشای سلولی و گسستگی باندهای شیمیایی درون غشاهای بیولوژیکی باشد که موجب افزایش سیالیت غشای سلولی می‌شود. پایداری غشای سلولی به‌عنوان ابزاری جهت تعیین مقاومت در برابر تنش‌های محیطی مطرح می‌شود (Saneoka *et al.*, 2004). آسیب به غشاهای سلولی در تنش‌های مختلف محیطی از جمله گرما به‌دلیل افزایش پراکسیداسیون لیپیدها می‌باشد (Wahid, 2007). تیمار گیاهان توسط سالیسیلیک اسید قبل از اعمال تنش، می‌تواند موجب کاهش سطح پراکسیداسیون لیپید و نشت الکترولیتی غشاء شود (Shakirova, 2007). محققان طی بررسی‌هایی نشان دادند که تحت تنش بالای خشکی مصرف سالیسیلیک اسید باعث کاهش ۲۰ درصدی نشت یونی برگ ذرت شد نفی زاده و کبیری (۱۳۹۵) که با نتایج حاصل از این بررسی مبنی بر اثر مثبت سالیسیلیک اسید بر کاهش نشت الکترولیتی غشای سلول تحت تنش‌های محیطی مطابقت دارد. به‌نظر می‌رسد سالیسیلیک اسید از طریق اثر بر روی پلی آمین‌هایی نظیر پوترسین، اسرمین و اسپرمیدین و هم‌چنین ایجاد کمپلکس‌های پایدار از غشاء محافظت کرده و مانع از آسیب به غشای سلولی می‌شود (Nemeth *et al.*, 2002).

### پرولین

محتوای پرولین برگ با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها به‌طور معنی‌داری ( $P < 0.01$ ) تحت اثر دما و سالیسیلیک اسید و برهم‌کنش این دو عامل قرار گرفت (جدول ۳). با توجه به نتایج مقایسه میانگین تیمارها برگ گیاهچه‌های محلول-پاشی شده با غلظت ۲/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید تحت دمای ۴۵ درجه سلسیوس نگهداری دارای بیش‌ترین میزان پرولین (۴۷/۱۳ میکروگرم بر گرم وزن تر) بودند. در هر سطح از غلظت سالیسیلیک اسید با افزایش دمای نگهداری به ۴۰ و ۴۵ درجه محتوای پرولین برگ افزایش زیاد و معنی‌داری نسبت به عدم مصرف سالیسیلیک اسید داشت. هم‌چنین با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها تحت دماهای ۲۵ و ۳۰ درجه سلسیوس محتوای پرولین گیاهچه‌ها با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید تغییر معنی‌داری نداشت. اما در دماهای ۴۰ و ۴۵ درجه سلسیوس با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید تا ۲/۵ میلی‌مولار میزان پرولین افزایش و با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید به ۵ میلی‌مولار کاهش معنی‌داری داشت (شکل ۴). افزایش پرولین در گیاهان به‌هنگام تنش، نوعی سازوکار دفاعی محسوب می‌شود. طی مطالعاتی همبستگی مثبتی بین تجمع پرولین و مقاومت به تنش‌های محیطی گزارش شده است (Saruhan *et al.*, 2012). پرولین با تنظیم اسمزی، جلوگیری از تخریب آنزیم، حفظ و سنتز پروتئین مقاومت گیاه را در برابر تنش‌ها بالا می‌برد (Maggio *et al.*, 2002; Ashraf and Foolad, 2007). کاربرد اسید سالیسیلیک در مقابل تنش می‌تواند باعث افزایش میزان پرولین در گیاه شد (Khosravi *et al.*, 2011). طی بررسی‌های متعددی توسط محققان محتوای پرولین برگ تحت تنش خشکی، با

کاربرد سالیسیلیک اسید افزایش یافت (Mafakheri *et al.*, 2010; Pospisilova, 2011). که با نتایج حاصل از این بررسی بر ذرت تحت تنش گرمایی مطابقت دارد. تجمع پرولین ناشی از سالیسیلیک اسید، گیاهان را از تنش گرمایی توسط افزایش پتانسیل آب از طریق افزایش پتانسیل اسمزی و کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از تنش گرما محافظت می‌کند (Khan *et al.*, 2013b) و با حفظ فشار اسمزی منجر به افزایش فتوسنتز و رشد گیاه شد.



شکل ۴: مقایسه میانگین برهم‌کنش سالیسیلیک اسید در دما بر محتوای پرولین برگ ذرت رقم “Mv500” میانگین‌هایی دارای حروف مشترک در هر ستون، بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد می‌باشند.

### نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج کلی از این بررسی تحت دماهای خارج از آستانه تحمل، گیاهچه‌های ذرت دچار تنش گرمایی شدند و سالیسیلیک اسید تا غلظت ۲/۵ میلی مولار با افزایش محتوای پرولین برگ و از طریق افزایش تنظیم اسمزی باعث بهبود محتوای نسبی شده و با اثر بر ظرفیت فتوسنتزی منجر به تحمل گیاه در برابر تنش گرمایی شد و از این طریق تا حدودی کاهش رشد تحت دمای بالا را جبران کرد. با توجه به این که این پژوهش در سطح کنترل شده آزمایشگاه و در سطح خیلی کوچکی انجام گرفته، توصیه می‌شود که در سطح بزرگ‌تر و در مزرعه تحت تاریخ‌های مختلف کشت از نظر دمایی جهت کسب نتیجه دقیق‌تر صورت گیرد.

### منابع

- احمدی، م. و میرحاجی، ه. ۱۳۹۱. ارزیابی تأثیرات تنش‌های گرمایی در کشت ذرت (مطالعه موردی استان قزوین)، مجله علوم محیطی، سال نهم، شماره ۳، ص ۱۱۹-۱۲۸.
- امام، ی. ۱۳۸۵. زراعت غلات. انتشارات دانشگاه شیراز. ۱۹۰ صفحه.

حبیب‌پور، س. س.، نادری، ا.، لک، ش.، فرجی، ه. و مجدم، م. ۱۳۹۴. اثر سالیسیلیک اسید بر عملکرد و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی هیبریدهای ذرت شیرین در شرایط تنش کمبود آب. مجله فیزیولوژی و بیوشیمیایی گیاهی ایران، دوره ۱، شماره ۲، ص ۱-۱۵.

رامک، م.، خاوری نژاد، ر.، حیدری شریف آباد، ح.، رفیعی، م. و خادمی، ک. ۱۳۸۴. تأثیر تنش آب بر میزان ماده خشک و رنگیزه‌های فتوسنتزی در دو گونه اسپرس. فصلنامه پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، سال چهاردهم، شماره ۲، ص ۸۰-۹۱.

عبداللهی، م. و شکاری، ف. ۱۳۹۳. تغییرات فیزیولوژیک در گیاهان گندم بر اثر تیمار بذری با سالیسیلیک اسید تحت شرایط کشت دیر هنگام. فصلنامه علمی پژوهشی زیست‌شناسی کاربردی، دوره ۲۷، شماره ۱، ص ۶۲-۴۵.

عطارزاده، م.، بلوچی، ح. ر.، رجایی، م. و پولادی، ف. ۱۳۹۶. تأثیر پیش تیمار آبسزیک اسید در القای تحمل به تنش گرما در گیاهچه‌های ذرت (*Zea mays* L.). مجله تنش‌های محیطی در علوم زراعی، جلد ۱۰، شماره ۴، ص ۶۵۳-۶۴۱.

عطارزاده، م.، ترابی، ب. و مداح حسینی، ش. ۱۳۹۳. ارزیابی برهم‌کنش اسید سالیسیلیک اسید و دمای بالا بر برخی صفات فیزیولوژیک ذرت (*Zea mays* L.). نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، جلد ۱۲، شماره ۴، ص ۷۱۸-۷۲۶.

مهدویان، ک. ۱۳۹۶. اثر غلظت‌های متفاوت سالیسیلیک اسید بر تحمل شوری گیاهچه جو (*Hordeum vulgare* L.). فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، سال نهم، شماره ۳۶، ص ۱۳۶-۱۲۱.

نقی‌زاده، م. و کبیری، ر. ۱۳۹۵. اثر برگ‌پاشی با سالیسیلیک اسید بر برخی از ویژگی‌های فیزیولوژیکی ذرت (*Zea mays* L.) در شرایط تنش خشکی. فصلنامه تنش‌های محیطی در علوم زراعی، جلد ۹، شماره ۴، ص ۳۱۵-۳۲۷.

Agarwal, S., Sairam, K. R., Srivastava, G. C., Aruna, T. and Meena, C. R. 2005. Role of ABA, Salicylic acid, calcium and hydrogen peroxide on antioxidant enzyme induction in wheat seedlings. *Plant Science*, 169 (3): 559-570.

Anjum, N. A., Gill, S. S. and Gill, R. 2014. Plant adaptation to environmental change: significance of amino acids and their derivatives, 1st Edn. Wallingford: CABI. 344 p.

Asgher M., Khan, M. I. R., Anjum, N. A. and Khan, N. A. 2015. Minimizing toxicity of cadmium in plants—role of plant growth regulators. *Protoplasma*, 252(2): 399–413.

Ashraf, M. and Foolad, M. R. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59(2): 206–216.



**Barkosky, R. R. and Einhellig, F. A. 1993.** Effects of salicylic acid on plant-water relationships. *Journal of Chemical Ecology*, 19 (2): 237-247.

**Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. 1973.** Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1): 205-207.

**Chen, J., Xu, W., Velten, J., Xin, Z. and Stout, J. 2012.** Characterization of maize inbred lines for drought and heat tolerance. *Journal of Soil and Water Conservation*, 67 (5): 354-364.

**Devasirvatham, V., Gaur, P. M., Mallikarjuna, N., Raju, T. N., Trethowan, R. M. and Tan, D. K. Y. 2012.** Effect of high temperature on the reproductive development of chickpea genotypes under controlled environments. *Functional Plant Biology*, 39 (12): 1018-1009.

**Dinler, B. S., Demir, E. and Kompe, Y. O. 2014.** Regulation of auxin, abscisic acid and salicylic acid levels by ascorbate application under heat stress in sensitive and tolerant maize leaves. *Acta Biologica Hungarica*, 65 (4): 469-80.

**FAO. 2013.** Agricultural production statistics. 2013. Available online at: <http://faostat3.fao.org/compare/E>.

**Fayez, K. A. and Bazaid, S. A. 2014.** Improving drought and salinity tolerance in barley by application of salicylic acid and potassium nitrate. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 13 (1): 45-55.

**Fariduddin, Q., Hayat, S. and Ahmad, A. 2003.** Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity, and seed yield in *Brassica juncea*. *Photosynthetica*, 41(2): 281-284.

**Gosavi, G. U., Jadhav, A. S., Kale, A. A., Gadakh, S. R., Pawar, B. D. and Chimote, V. P. 2014.** Effect of heat stress on proline, chlorophyll content, heat shock proteins and antioxidant enzymes activity in sorghum (*Sorghum bicolor*) at seedling stage. *Indian Journal of Biotechnology*, 13:356-63.

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

**Hayat, S., Masood, A., Yusef, M., Fariduddin, Q. and Ahmad, A. 2009.** Growth of Indian *Zea mays* in response to salicylic acid under high-temperature stress. *Braz Journal Plant Physiology*, 21(3):187- 195.

**Idrees, M., Khan, M. M. A., Aftab, T., Naeem, M. and Hashmi, N. 2010.** Salicylic acid-induced physiological and biochemical changes in lemongrass varieties under water stress. *Journal of Plant Interactions*, 5(4): 293-303.

**Janda, K., Hideg, E., Szalai, G., Kovacs, L. and Janda, T. 2012.** Salicylic acid may indirectly influence the photosynthetic electron transport. *Journal of Plant Physiology*, 169(10): 971-978.

**Kazemi-Shahandashti, S. S., Maali-Amiri, R., Zeinali, H., Khazaei, M., Talei, A., Ramezanzpour, S. S. 2014.** Effect of short-term cold stress on oxidative damage and transcript accumulation of defense-related genes in chickpea seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 171 (13): 1106–1116.

**Khan, W., Prithviraj, B. and Smith, D. L. 2003.** Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. *Journal of Plant Physiology*, 160 (5): 485-492.

**Khan, M. I. R., Iqbal, N., Masood, A. and Khan N. A. 2012.** Variation in salt tolerance of wheat cultivars: role of glycinebetaine and ethylene. *Pedosphere*, 22(6): 746–754.

**Khan, M. I. R., Asgher, M. and Khan, N. A. 2013a.** Rising temperature in the changing environment: a serious threat to plants. *Climate Change and Environmental Sustainability*, 1 (1): 25–36.

**Khan, M. I. R., Iqbal N., Masood A., Per T. S. and Khan N. A. 2013b.** Salicylic acid alleviates adverse effects of heat stress on photosynthesis through changes in proline production and ethylene formation. *Plant Signaling and Behavior*, 8 (11): e26374.

**Khan, M. I. R., Asgher M. and Khan N. A. 2014.** Alleviation of salt-induced photosynthesis and growth inhibition by salicylic acid involves glycinebetaine and ethylene in mungbean (*Vigna radiata* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 80 (1): 67–74.

**Khosravi, S., Baghizadeh, A. and Nezami, M. T. 2011.** The salicylic acid effect on the *Salvia officianlis* L. sugar, protein and proline contents under salinity (NaCl) stress. *Journal Stress Physiology Biochemistry*, 7 (4): 80-87.

**Klamkowski, K. and Treder, W . 2006.** Morphological and physiological responses of strawberry plants to water stress. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 71 (4): 159-165.

**Kumar, S., Gupta, D. and Nayyar, H. 2012.** Comparative response of maize and rice genotypes to heat stress: status of oxidative stress and antioxidants. *Acta Physiologia Plantarum*, 34: 75-86.

**Liang, X., Zhang, L., Natarajan, S. K. and Becker, D. F. 2013.** Proline Mechanisms of Stress Survival. *Antioxid Redox Signal* 20, 19 (9): 998–1011.

**Lichtenthaler, H. and Wellburn, A. 1983.** Determinations of total carotenoids and chlorophylls b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11(5): 591–592.

**Liu, X. and Huang. B. 2000.** Heat stress injury in relation to membrane lipid peroxidation in creeping Bentgrass. *Crop Science*, 40 (2): 503-510.

**Luttos, 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*, 78(3): 389 – 398.

**Mafakheri, A., Siosemardeh, A., Bahramnejad, B., Struik, P. C. and Sohrabi, Y. 2010.**

Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chick pea cultivars. Australian Journal of Crop Science, 4(8): 580-585.

**Maggio, A., Miyazaki, S., Veronese, P., Fujita, T., Ibeas, J. I., Damsz, B., Narasimhan, M. L., Hasegawa, P. M., Joly R. J. and Bressan R. A. 2002.** Does proline accumulation play an active role in stress-induced growth reduction? Plant Journal, 31(6):699-712.

**Mavi, H. S. and Tupper, G. J. 2004.** Agrometeorology: principles and applications of climate studies in agriculture. New York: Haworth Press, 50-64.

**Munns, R. 2002.** Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell and Environment, 25(2): 239-250

**Nazar, R., Iqbal, N., Syeed, S. and Khan, N. A. 2011.** Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under salt stress by enhancing nitrogen and sulfur assimilation and antioxidant metabolism differentially in two mungbean cultivars. Journal of Plant Physiology, 168(8): 807-815.

**Nazar, R., Umar, S. and Khan, N. A. 2015.** Exogenous salicylic acid improves photosynthesis and growth through increase in ascorbate-glutathione metabolism and S assimilation in mustard under salt stress, Plant Signaling and Behavior. 10(3): e1003751.

**Nemeth, M., Janda, T., Horvath, E., Páldi, E. and Szalai, G. 2002.** Exogenous salicylic acid increases polyamine content but may decrease drought tolerance in maize. Plant Science, 162(4): 569-574.

**Popova, L., Ananieva, E., Haristova, V., Christov, K., Georgiera, K., Alexieva, E. and Stoinova, Zh. 2003.** Salicylic acid and methyl jasmonate-induced protection on photosynthesis to paraquat oxidative stress. Bulgarian Journal of Plant Physiology, 133-152.

**Popova, L. P., Maslenkova, L. T., Yordanova, R. Y., Ivanova, A. P., Krantev, A. P., Szalai, G. and Janda, T. 2009.** Exogenous treatment with salicylic acid attenuates cadmium toxicity in pea seedlings. Plant Physiology and Biochemistry, 47(3): 224-231.

**Porwanto, E. 2003.** Photosynthesis activity of soybean (*Glycin max* L.) under drought stress. Agronomy Journal, 5 (1): 1-18.

**Pospisilova, J. 2011.** Responses of transgenic tobacco plants with increased proline content to drought and/or heat stress. American Journal of Plant Sciences, 2: 318-324.

**Rao, R., Qayyum, A., Razzaq, A., Ahmad, M., Mahmood, I. and Sher, A. 2012.** Role of foliar application of salicylic acid and l- tryptophan in droughe tolerance of maze. Journal of Animal & Plant Sciences, 22 (3): 768-772.

**Rajeshwari, V. and Bhuvaneshwari, V. 2017.** Salicylic acid induced salt stress tolerance in plants. International Journal of Plant Biology and Research, 5 (3): 1067-1072.

**Ritchie, S. W., Nguyen, H. T. and Scott Holaday, A. 1990.** Leaf water content and gas-

exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science*, 30(1): 105–111.

**Rodriguez, V. M., Soengas, P. M., Villaverde, V. A., Sotelo, T., Cartea, M. E. and Velasco, P. 2015.** Effect of temperature stress on the early vegetative development of *Brassica oleracea* L. *BMC Plant Biology*, 15 (145): 2-9.

**Saneoka, H., Moghaieb, R. E. A., Premachandra, G. S. and Fujita, K. 2004.** Nitrogen nutrition and water stress effects on cell membrane stability and leaf water relations in *agrostis palustris* huds. *Environmental and Experimental Botany*, 52 (2): 131-138.

**Saruhan, N., Saglam, A. and Kadioglu, A. 2012.** Salicylic acid pretreatment induces drought tolerance and delays leaf rolling by inducing antioxidant systems in maize genotypes. *Acta Physiologiae Plantarum*, 34 (1): 97–106.

**Shakirova, F. M. 2007.** Role of hormonal system in the manifestation of growth promoting and antistress action of salicylic acid. In: S. Hayat, and A. Ahmad, eds. *Salicylic Acid – A Plant Hormone*. pp. 69–89 Springer, Dordrecht, the Netherlands.

**Shakirova, F. M., Sakhabutdinova, A. R., Bezrukova, M. V., Fathutdinova, R. A. and Fathutdinova, D. R. 2003.** Changes in hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Plant Science*, 164 (3): 317–322.

**Siboza, X. I., Bertling, I. and Odindo, A. O. 2014.** Salicylic acid and methyl jasmonate improve chilling tolerance in cold-stored lemon fruit (*Citrus limon*). *Journal of Plant Physiology*, 171 (18): 1722-1731.

**Sinsawat, V., Leipner, J., Stamp, P. and Fracheboud, Y. 2004.** Effect of heat stress on the photosynthetic apparatus in maize (*Zea mays* L.) grown at control or high temperature. *Environmental and Experimental Botany*, 52 (2): 123– 129.

**Tabari, H. and Hosseinzadeh-Talae, P. 2011.** Recent trends of mean maximum and minimum air temperatures in the western half of Iran. *Journal of Meteorological Atmosphere Physics*, 111 (3-4): 121–131.

**Wahid, A. 2007.** Physiological implications of metabolites biosynthesis in net assimilation and heat stress tolerance of sugarcane (*Saccharum officinarum*) sprouts. *Journal of Plant Research*, 120 (2):219-28.

**Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M. and Foolad, M. R. 2007.** Heat tolerance in plants: An overview. *Environmental and Experimental Botany*, 61 (3):199-223.

**Wang, L. J., Fan, L., Loescher, W., Duan, W., Liu, G. J., Cheng, J. S., Luo, H. B. and Li, S. H. 2010.** Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under heat stress and accelerates recovery in grapevine leaves. *BMC Plant Biology*, 10 (34): 2-10.

**Weis, E. and Berry, J. A. 1988.** Plants and high temperature stress. in: long, S.P. and

woodward, F.I., eds., plants and temperature, the company of biologists ltd., Cambridge. 329-346.

**Wise, R. R., Olson, A. J., Schrader, S. M. and Sharkey, T. D. 2004.** Electron transport is the functional limitation of photosynthesis in field-grown Pima cotton plants at high temperature. *Plant Cell Environment*, 27 (6): 717-724.

**Yuzbasioglu, E., Dalyan, E. and Akpınar, I. 2017.** Changes in photosynthetic pigments, anthocyanin content and antioxidant enzyme activities of maize (*Zea mays* L.) seedlings under high temperature stress conditions, *Trakya University Journal of Natural Sciences*, 18 (2): 97-104.

**Zhang, Y., Xu, S., Yang, S. and Chen, Y. 2015.** Salicylic acid alleviates cadmium-induced inhibition of growth and photosynthesis through upregulating antioxidant defense system in two melon cultivars (*Cucumis melo* L.). *Protoplasma*, 252(3): 911-924. <http://www.irimo.ir/far/wd/2703>.

Archive of SID