

تأثیر اسید سالیسیلیک بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی چمن لولیوم (*Lolium perenne* cv. Numan) تحت تنش خشکی

سیده مهسا حسینی^{۱*}، محسن کافی^۲ و مسعود ارغوانی^۳

۱. کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران

۲. استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

۳. استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۴/۲۹ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۷/۲۶)

چکیده

چمن لولیوم یا رای گراس چندساله گیاهی با نام علمی *Lolium perenne* L. از خانواده گندمیان است که در طراحی فضای سبز اهمیت بسیاری دارد. هدف از انجام این پژوهش، بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک بر بهبود برخی از ویژگی‌های رشدی و بیوشیمیایی گیاه لولیوم تحت تنش خشکی بود. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. تیمارهای مورد بررسی در این آزمایش، اسید سالیسیلیک در سه سطح (۰، ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌مولار) و تنش خشکی در سه سطح (۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) بود. نتایج نشان داد تنش خشکی سبب افزایش میزان نشت یونی و تجمع پرولین شده اما میزان سبزینه (کلروفیل)، محتوای نسبی آب و میزان وزن خشک ریشه و رشد شاخساره را کاهش داد. کاربرد برگه اسید سالیسیلیک تحت تنش خشکی در ۱/۵ میلی‌مولار، میزان سبزینه و محتوای نسبی آب را افزایش و نشت یونی و تجمع پرولین را کاهش داد. همچنین بالاترین میزان وزن خشک ریشه و رشد شاخساره از پاشش اسید سالیسیلیک در غلظت ۰/۷۵ میلی‌مولار به دست آمد. با توجه به نتایج به دست آمده، کاربرد برگه تیمارهای اسید سالیسیلیک توانست اثرگذاری‌های منفی ناشی از تنش خشکی را بر شاخص‌های رشدی و بیوشیمیایی چمن لولیوم بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، سبزینه، محتوای نسبی آب، نشت یونی.

مقدمه

(Ahmad, 2007). گزارش‌های پرشماری وجود دارد که نقش اسید سالیسیلیک را به عنوان یک مولکول پیام‌رسان مهم در پاسخ‌های گیاه به تنش‌های گوناگون زیستی و غیرزیستی تأیید کرده است (El-Tayeb, 2005). در سال‌های اخیر نشان داده شده است که کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک در غلظت‌های غیر سمی برای گیاهان در تقابل با تنش‌های زیستی و غیرزیستی مؤثر است (Xu & Tian, 2008). اسید سالیسیلیک با غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار برموداگراس را به پاسخ‌های دفاعی و

لولیوم یا رای گراس (Ray grass) با نام علمی *Lolium perenne* L. یک چمن سردسیری و چندساله بوده که پاخوری به نسبت خوبی دارد و به دلیل، سرعت استقرار و رشد به نسبت خوب آن یک جزء ترکیبی مهم در تولید بذر چمن‌های مخلوط است (Amiri Nasab et al., 2013). اسید سالیسیلیک یا بتا هیدروکسی اسید (BHA) با فرمول مولکولی $C_7H_6O_3$ یک ترکیب فنولی و جزو تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی قوی است (Hayat &

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر اسید سالیسیلیک بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و ریخت‌شناختی (مورفولوژیکی) چمن لولیوم تحت شرایط تنش خشکی، آزمایشی طی سال‌های ۱۳۹۱-۱۳۹۲ در یکی از گلخانه‌های واقع در تولیدات گل و گیاه شهرداری منطقه ۴ استان تهران انجام شد. کاشت بذرها، چمن در گلدان‌هایی (با ارتفاع ۲۸ سانتی‌متر و دهانه ۱۸ سانتی‌متر) که با مخلوطی از خاک زراعی با بافت لومی و کود دامی پوسیده پر شده بود، انجام شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در چهار تکرار انجام شد. پس از کاشت بذرها، چمن به‌صورت روزانه و به مقدار کافی تا زمان آغاز اعمال تیمارها آبیاری شدند. تا هنگام آغاز تیمارها، چمن‌ها به‌صورت هر دو هفته یک‌بار در ارتفاع ۵-۶ سانتی‌متری به‌صورت یکنواخت با قیچی سربرداری شد و به مدت هشت ماه اجازه داده شد تا به‌طور کامل استقرار پیدا کنند. تغذیه چمن‌ها به‌طور منظم همراه با آب آبیاری هفته‌ای یک‌مرتبه با کود شیمیایی کریستالون با نسبت ۲۰:۲۰:۲۰ NPK و با غلظت سه گرم در لیتر انجام شد. با استقرار کامل چمن‌ها محلول اسید سالیسیلیک در سه غلظت (۰، ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌مولار) که در آزمایشگاه تهیه شده بود، هم‌زمان با تنش خشکی روی چمن‌هایی که یک روز پیش از اعمال تیمار، سرزنی شده بودند به‌صورت هر دو هفته یک‌بار و در طول مدت آزمایش شش مرتبه و به روش پاشش روی برگ‌ها به‌طور یکنواخت محلول پاشی شد. تنش خشکی نیز در سه سطح به‌صورت حفظ رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی به‌عنوان تیمار شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)، اعمال تنش ملایم کمبود آب در ۷۵ درصد ظرفیت زراعی و تنش به‌نسبت قوی آب در ۵۰ درصد ظرفیت زراعی اعمال شد. طول و وزن خشک‌ریشه، میزان رشد شاخساره، محتوای نسبی آب، نشت یونی، مقدار سبزینه و میزان تجمع پرولین در شش نوبت اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری طول و وزن خشک‌ریشه

در پایان آزمایش ریشه‌ها از گلدان‌ها خارج و پس از شستشوی کامل، از اندام‌های هوایی جدا و اندازه‌گیری

حفاظتی وادار می‌کند و مقاومت به دمای پایین را در برموداگراس بهبود می‌بخشد (Zhang *et al.*, 2009). اسید سالیسیلیک به‌وسیلهٔ یاخته‌های ریشه تولید می‌شود و نقش محوری در تنظیم فرآیند فیزیولوژیکی مختلف مانند رشد، تکامل گیاه، ریشه‌دهی، جذب یون‌ها، نورساخت (فتوسنتز) و جوانه‌زنی ایفا می‌کند (El-Tayeb, 2005). در شرایط تنش خشکی، اسید سالیسیلیک سبب افزایش ارتفاع گیاه ذرت شد، درحالی‌که در شرایط بدون تنش، تیمار با اسید سالیسیلیک نتیجهٔ معکوس بر ارتفاع گیاه داشت (Mehrabiyani Moghaddam, 2011). افزایش معنی‌داری در رشد، محتوای رنگدانه‌ای و میزان نورساخت در ذرت پاشش (اسپری‌شده) با اسید سالیسیلیک نیز گزارش شده است (Khodary, 2004). در آزمایشی روی گیاه گندم خشکی سبب کاهش محتوای نسبی آب برگ شد و با تیمار گیاهان توسط اسید سالیسیلیک به‌صورت خیساندن بذر و محلول‌پاشی روی برگ‌ها، افزایش معنی‌داری در میزان محتوای نسبی آب نسبت به گیاه شاهد مشاهده شد (Mehrabiyani Moghaddam, 2011). خشکی یکی از مهم‌ترین عامل‌های محیطی محدودکننده در تولید، کیفیت و ماندگاری چمن‌هاست که نیاز آبی آن همواره موردتوجه بوده، زیرا رفع این نیاز در ماه‌های گرم سال در مناطق خشک و نیمه‌خشک، مانند بسیاری از مناطق ایران به‌ویژه در ماه‌های گرم سال بسیار دشوار و پرهزینه است (Huang, 2008). تنش خشکی باعث کاهش سبزینه (کلروفیل)، محتوای نسبی آب، وزن تر و خشک و افزایش نشت یونی دانهٔ ذرت شد و همهٔ روش‌های تیماری اسید سالیسیلیک، سبب افزایش این صفات شده و نشت یونی را کاهش داد (Hayat *et al.*, 2010). بنابراین استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی به‌منظور افزایش مقاومت به تنش‌ها به‌ویژه تنش خشکی توصیه شده است. مدیریت مناسب و درک پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی چمن در شرایط تنش خشکی نقش مهمی در به‌کمینه رساندن چالش‌های چمن‌کاری در نواحی خشک و نیمه‌خشک دارد. هدف از انجام این پژوهش بررسی تأثیر اسید سالیسیلیک بر ویژگی‌های کمی و کیفی رای گراس چندساله تحت تنش خشکی است.

از سرد شدن در دمای اتاق، دوباره هدایت الکتریکی محلول اندازه‌گیری شد. میزان نشت یونی به‌صورت درصد، از تقسیم هدایت الکتریکی اولیه بر هدایت الکتریکی یاخته‌های مرده محاسبه شد.

$$\frac{EC1}{EC2} \times 100$$

میزان سبزینه کل

اندازه‌گیری سبزینه برگ‌ها برابر روش Hiscox & Israelsta (1979) و با اندکی تغییر انجام شد. بدین ترتیب که استخراج سبزینه با خیساندن در حدود ۰/۱ گرم نمونه تازه، درون ۱۰ میلی‌لیتر دی متیل سولفوکسید در دمای ۶۵ درجه سلسیوس و در تاریکی به مدت سی دقیقه انجام شد. جذب عصاره در ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر توسط طیف‌سنج نوری (اسپکتروفتومتر) اندازه‌گیری و میزان سبزینه با استفاده از فرمول Arnon (1949) به ترتیب زیر محاسبه شد.

$$Cb = 0.0229 D645 - 0.00468 D663$$

$$Ca = 0.0127 D663 - 0.00269 D645$$

$$CT = Ca + Cb = 0.0202 D645 + 0.00802 D663$$

در این فرمول‌ها، Ca، Cb و Ct به ترتیب میزان سبزینه a، میزان سبزینه b و میزان سبزینه کل بر پایه گرم در لیتر است. D645 و D663 به ترتیب میزان جذب در طول موج ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر است.

میزان پرولین برگ‌ها

برای اندازه‌گیری میزان پرولین از روش Bates *et al.* (1973) و با اندکی تغییر استفاده شد. به‌طور خلاصه، ۰/۱ گرم نمونه تازه با استفاده از نیتروژن مایع خرد شده و با ۲ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد هموزن شد. پس از بیست دقیقه سانتریفوژ با شدت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه، ۰/۵ میلی‌لیتر از روشناور به همراه ۲ میلی‌لیتر اسید نین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک به مدت یک ساعت درون آب جوش قرار داده شد و پس از اینکه واکنش درون یخ به پایان رسید با اضافه کردن ۲ میلی‌لیتر تولوئن جذب مایع رنگی حاوی پرولین در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه طیف‌سنج نوری اندازه‌گیری و میزان پرولین

طول کلی ریشه توسط خط‌کش انجام شد. سپس به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس خشک و در نهایت وزن خشک آن توسط ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد (He *et al.*, 2005).

اندازه‌گیری رشد شاخساره

برای اندازه‌گیری رشد شاخساره پس از هر سربرداری، چمن‌های چیده شده به مدت ۴۸ ساعت در آون (مدل BFS400) با دمای ۷۰ درجه سلسیوس خشک و وزن خشک آن‌ها محاسبه شد. میزان رشد شاخساره از مجموع وزن خشک چمن‌های چیده در طول آزمایش و وزن خشک بخش هوایی چمن‌ها در پایان آزمایش به دست آمد (Qian *et al.*, 2000).

محتوای نسبی آب برگ‌ها

محتوای نسبی آب برگ‌ها بر پایه روش Barrs & Weatherley (1962) برابر فرمول زیر محاسبه شد:

$$RWC = \frac{(FW-DW)}{(SW-DW)} \times 100$$

در این فرمول FW برابر است با وزن تر نمونه‌های برگ، که پس از اندازه‌گیری وزن تر، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر در دمای اتاق خیسانده شده و پس از آن نمونه‌ها بی‌درنگ با دستمال کاغذی خشک و وزن برگ‌ها دوباره محاسبه شد (SW). سپس نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۸۵ درجه سلسیوس خشک شده و وزن خشک آن‌ها (DW) محاسبه شد.

نشت یونی یا الکترولیتی

پایداری غشای یاخته‌ای با استفاده از اندازه‌گیری نشت یونی از بافت برگ‌ها ارزیابی شد. به‌منظور محاسبه نشت یونی، از روش Wang & Huang (2004) و با اندکی تغییر استفاده شد بدین ترتیب که، نمونه‌های برگ (در حدود ۰/۱ گرم وزن تر) با آب مقطر شسته شده و در ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت روی دستگاه لرزا (شیکر) قرار داده شدند. سپس هدایت الکتریکی محلول اندازه‌گیری شد پس از آن لوله‌های آزمایش حاوی نمونه به مدت بیست دقیقه در آب جوش ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند و پس

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که طول و وزن خشک‌ریشه، میزان رشد شاخساره، محتوای نسبی آب، نشت یونی، مقدار سبزینه، میزان تجمع پرولین تحت تأثیر سطوح مختلف اسید سالیسیلیک، سطوح مختلف خشکی و اثر متقابل اسید سالیسیلیک و خشکی در سطح آماری ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول‌های ۱ و ۲).

با استفاده از منحنی‌های استاندارد پرولین محاسبه شد.

تجزیه آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.2 انجام شد و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد و رسم نمودار به کمک نرم‌افزار Excel انجام شد.

جدول ۱. تأثیر اسید سالیسیلیک، تنش خشکی و اثر متقابل آن‌ها بر رشد شاخساره، طول ریشه و وزن خشک‌ریشه لولیوم پرنه (*Lolium perenne* L.)

Table 1. Effects of salicylic acid, drought stress and their interaction on shoot growth, root length and root dry weight of (*Lolium perenne* L.)

| Variation Source | Degree of freedom | Shoot growth | Root length | Root dry weight |
|---------------------------------|-------------------|--------------|-----------------------|-----------------|
| Salicylic acid | 2 | 10.57** | 32.4444 ^{ns} | 12.8971** |
| Drought Stress | 2 | 30.33** | 4.7778 ^{ns} | 16.5146** |
| Drought Stress × Salicylic acid | 4 | 4.92** | 5.1111 ^{ns} | 15.8986** |
| Experimental error | 27 | 2.23 | 26.8148 | 2.1446 |
| Coefficient of Variation (%) | - | 10.32 | 13.83 | 21.48 |

*, **, ns: Non significant, Significant at 5 and 1%, Respectively.

ns و * و **: به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

جدول ۲. تأثیر اسید سالیسیلیک، تنش خشکی و اثر متقابل آن‌ها بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی لولیوم پرنه (*Lolium perenne* L.)

Table 2. Effects of salicylic acid, drought stress and their interaction on on physiological characteristics of (*Lolium perenne* L.)

| Variation Source | Degree of freedom | Electrolyte leakage | Total chlorophyll rate | Proline accumulation | Relative water content |
|---------------------------------|-------------------|---------------------|------------------------|----------------------|------------------------|
| Salicylic acid | 2 | 28.3692** | 93.9468** | 6130.38** | 925.70** |
| Drought Stress | 2 | 31.2738** | 89.1050** | 6535.61** | 1021.76** |
| Salicylic acid × Drought Stress | 4 | 3.3779** | 6.4966** | 804.79** | 172.04** |
| Experimental error | 241 | 0.0283 | 0.2437 | 4.96 | 1.0485 |
| Coefficient of Variation (%) | - | 5.14 | 5.25 | 5.55 | 1.26 |

*, **, ns: Non significant, Significant at 5 and 1%, Respectively.

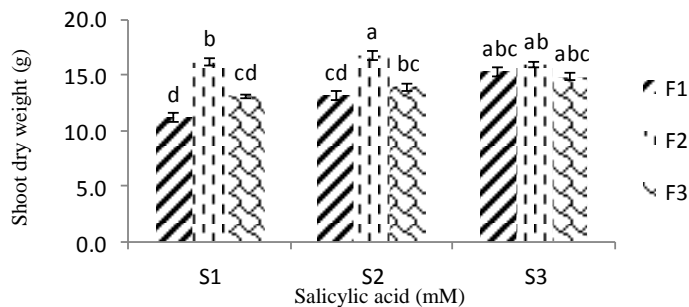
ns و * و **: به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

فعالیت‌های ناشی از دراز شدن یاخته‌ای توزیع فعال مواد نورساختی را باعث می‌شود که این امر در تنظیم توسعه ریشه و شاخساره مؤثر خواهد بود (Jalili Marandi, 2010). در شرایط خشکی اسید سالیسیلیک باعث بسته شدن روزنه‌ها، حفظ فشار آماس و افزایش نورساخت شده و در نهایت سبب دراز شدن یاخته‌ای و بزرگ شدن یاخته‌ها و رشد گیاهان افزایش می‌یابد (Khodary, 2004). افزایش در وزن تر و خشک برگ‌های گیاه *Brassic juncea* که با اسید سالیسیلیک در غلظت‌های پایین پاشش شده بودند، نسبت به تیمار شاهد و دیگر تیمارهای با غلظت‌های بالای اسید سالیسیلیک، مشاهده شد (Fariduddin et al., 2003). نتایج این پژوهش با نتایج Batlang (2006) همخوانی دارد.

میزان رشد شاخساره

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داده است که تیمار ۰/۷۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و ۰/۷۵ درصد ظرفیت زراعی با ۱۶/۷۵ گرم نسبت به شاهد (۱۱/۲۰) گرم رشد شاخساره افزایش داشته است (شکل ۱). اسید سالیسیلیک در این بررسی در غلظت میانه تأثیر بسیار مثبتی داشت. کمبود آب موجب کاهش رشد اندام‌های هوایی و ریشه گیاه می‌شود و خشکی خاک، فعالیت تارهای کشنده^۱ ریشه را متوقف می‌کند. می‌توان این‌گونه استنباط کرد که اسید سالیسیلیک نقش مهمی در تنظیم رشد و نمو گیاه و پاسخ به تنش‌های محیطی دارد. همچنین این تنظیم‌کننده رشد گیاهی با تأثیر بر

1. Root hairens



شکل ۱. اثر متقابل اسید سالیسیلیک و تنش خشکی بر رشد شاخساره

F₁: ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی؛ F₂: ۷۵ درصد ظرفیت زراعی؛ F₃: ۵۰ درصد ظرفیت زراعی

S₁: شاهد؛ S₂: ۰/۷۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک؛ S₃: ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک

Figure 1. Interaction of salicylic acid and drought stress on shoot growth.

F₁: 100% of field capacity; F₂: 75% of field capacity; F₃: 50% of field capacity.

S₁: Control; S₂: 0.75 (mM) of salicylic acid; S₃: 1.5 (mM) of salicylic acid.

منجر به افزایش رشد گیاه می‌شود (Hamada & Al-Hakimi, 2001). خاصیت افزایش رشد ریشه باعث شده است که اسید سالیسیلیک به‌عنوان یک فیتوهورمون مقرون‌به‌صرفه، مؤثر و مهم شناخته شود که باعث افزایش رشد ریشه در سبزی‌های مهم اقتصادی مانند هویج، تربچه و چغندر می‌شود (Hayat *et al.*, 2010).

میزان نشت یونی

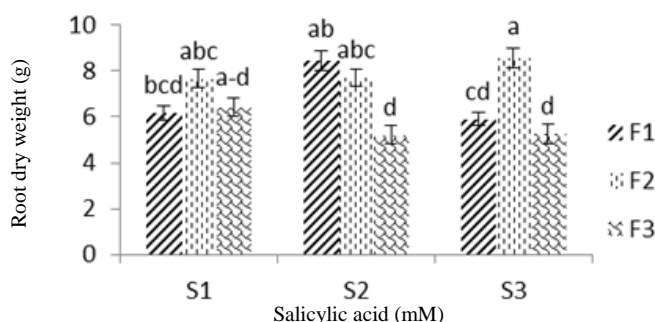
نتایج به‌دست‌آمده از اندازه‌گیری نشت یونی نشان داد که در سطوح مختلف خشکی اسید سالیسیلیک در هر دو غلظت ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌مولار اثر معنی‌داری در کاهش این فراسنجه نسبت به شاهد داشته است (شکل ۳). بنابراین در این پژوهش افزایش در غلظت اسید سالیسیلیک تأثیری کاهنده در میزان نشت یونی داشت. استفاده از اسید سالیسیلیک توسط افزایش میزان پلی‌آمین‌های پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین و دیگر ترکیب‌های محافظت‌کننده یاخته باعث افزایش و ثبات شاخص پایداری غشای برگ شده و با کنترل تراوایی غشا از نشت یونی جلوگیری می‌کند (Rajou *et al.*, 2003). بررسی‌ها نشان داده است که اسید سالیسیلیک موجب جلوگیری از آسیب به اسیدهای چرب و کاهش نفوذپذیری غشاء و حفاظت از غشاء تیلوکوئیدی در زمان تنش خشکی می‌شود و این تأثیر به‌احتمال با کاهش مقدار هیدروژن پراکسید^۱ انجام می‌دهد. از سوی دیگر

طول و وزن خشک‌ریشه

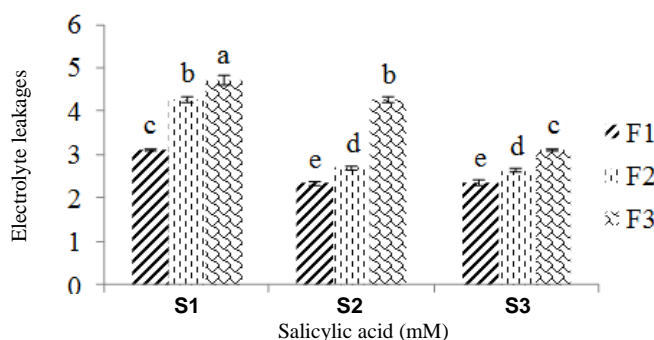
نتایج مقایسه میانگین‌ها بر طول ریشه اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ولی نتایج ناشی از اندازه‌گیری وزن خشک‌ریشه نشان داد که تحت شرایط تنش خشکی اسید سالیسیلیک در غلظت ۱/۵ میلی‌مولار اثر معنی‌داری در افزایش این فراسنجه (پارامتر) نسبت به شاهد داشته است. همچنین تیمار ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و ۰/۷۵ درصد ظرفیت زراعی با ۸/۵۶ گرم وزن خشک‌ریشه بر گلدان برترین تیمار بود (شکل ۲). در این بررسی تنش خشکی ملایم باعث بهبود وزن خشک‌ریشه و توسعه ریشه شد. علت این امر را می‌توان به این موضوع نسبت داد که کمبود ملایم آب باعث افزایش رشد ریشه می‌شود و اندام‌های هوایی (یوسته با اندام زمینی) تا هنگامی که آب از راه ریشه تأمین شود می‌توانند به کار خود ادامه دهند. ریشه‌ها هم تا هنگام تأمین مواد نورساختی از اندام‌های هوایی به کار خود ادامه می‌دهند و در صورت کمبود آب، تعادل یادشده تغییر یافته و توسعه برگ‌ها با دشواری روبه‌رو می‌شود (Jalili Marandi, 2010). اسید سالیسیلیک میزان تقسیم یاخته‌ای را در مریستم انتهایی ریشه‌های دانه‌های گندم افزایش داده که این نیز سبب افزایش در رشد گیاهان شد. همچنین تیمار اسید سالیسیلیک سبب تجمع هورمون ایندول استیک اسید در دانه‌های گندم شد (Sakhabutdinova *et al.*, 2003). افزایش رشد نظام ریشه‌ای و حفظ سلامت آن به‌وسیله اسید سالیسیلیک باعث جذب بیشتر آب و مواد غذایی شده که در نهایت

1. H₂O₂

اسید سالیسیلیک باعث کاهش نشت یونی غشاء یاخته‌ای در گیاه گوجه‌فرنگی شده است (Stevens *et al.*, 2006).
 نتایج همسانی توسط Khan *et al.* (2010) گزارش شد که با یافته‌های به‌دست‌آمده از این پژوهش موافق است.



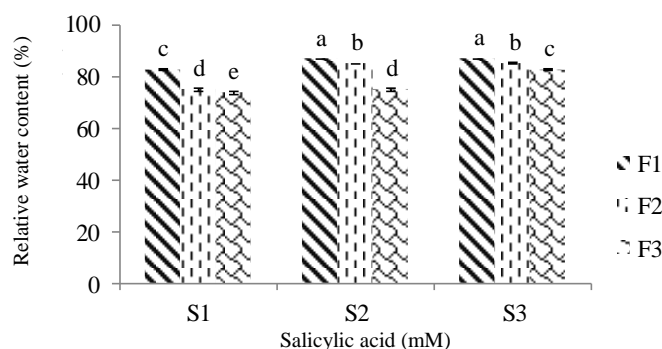
شکل ۲. تأثیر متقابل اسید سالیسیلیک و تنش خشکی بر وزن خشک‌ریشه
 F₁: ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی؛ F₂: ۷۵ درصد ظرفیت زراعی؛ F₃: ۵۰ درصد ظرفیت زراعی
 S₁: شاهد؛ S₂: ۰/۷۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک؛ S₃: ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک
 Figure 2. Interaction salicylic acid and drought stress on root dry weight.
 F1: 100% of field capacity; F2: 75% of field capacity; F3: 50% of field capacity.
 S1: Control; S2: 0.75 (mM) of salicylic acid; S3: 1.5(mM) of salicylic acid.



شکل ۳. تأثیر متقابل اسید سالیسیلیک و تنش خشکی بر میزان نشت یونی
 F₁: ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی؛ F₂: ۷۵ درصد ظرفیت زراعی؛ F₃: ۵۰ درصد ظرفیت زراعی.
 S₁: شاهد؛ S₂: ۰/۷۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک؛ S₃: ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک.
 Figure 3. Interaction of salicylic acid and drought stress on electrolyte leakage.
 F1: 100% of field capacity; F2: 75% of field capacity; F3: 50% of field capacity.
 S1: Control; S2: 0.75 (mM) of salicylic acid; S3: 1.5(mM) of salicylic acid.

تنظیم باز و بسته شدن روزنه‌ها، واکنش متقابل با دیگر تنظیم‌کننده رشد گیاهی مثل ABA و جلوگیری از دست رفتن آب در اثر تعرق باعث افزایش محتوای نسبی آب می‌شود (Kafi *et al.*, 2009). در گیاه جو، گیاهانی که تحت تنش خشکی با اسید سالیسیلیک تیمار شده بودند در مقایسه با گیاهانی که با اسید سالیسیلیک تیمار نشده بودند، وزن خشک و محتوای نسبی آب بیشتری را نشان دادند (Habibi, 2012). نتایج این پژوهش با نتایج He *et al.* (2005) موافق است.

محتوای نسبی آب
 نتایج به‌دست‌آمده از اندازه‌گیری محتوای نسبی آب نشان داد که اسید سالیسیلیک در هر دو غلظت ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌مولار اثر معنی‌داری در افزایش این فراسنجه نسبت به شاهد داشته است. همچنین غلظت ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک در سطوح مختلف خشکی نسبت به دیگر غلظت‌ها مؤثرترین در افزایش میزان محتوای نسبی آب برگ‌ها بوده است (شکل ۴). می‌توان این‌گونه استنباط کرد که اسید سالیسیلیک با نگهداری و حفظ آماس و تورم (تورژسانس) یاخته‌ای،



شکل ۴. تأثیر متقابل اسید سالیسیلیک و تنش خشکی بر محتوای نسبی آب برگ‌ها
 F1: ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی؛ F2: ۷۵ درصد ظرفیت زراعی؛ F3: ۵۰ درصد ظرفیت زراعی.
 S1: شاهد؛ S2: ۰/۷۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک؛ S3: ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک.
 Figure 4. Interaction of salicylic acid and drought stress on relative water content
 F1: 100% of field capacity; F2: 75% of field capacity; F3: 50% of field capacity.
 S1: Control; S2: 0.75 (mM) of salicylic acid; S3: 1.5(mM) of salicylic acid.

قابلیتی دارد که می‌تواند یک طیف گسترده از پاسخ‌های سوخت‌وسازی (متابولیکی) در گیاهان همچون تغییرپذیری نورساختی را ایجاد کند. رنگدانه (پيگمان)های نورساختی در گیاهچه گندمی که بذر آن تحت تیمار اسید سالیسیلیک در غلظت کم قرار گرفته بود افزایش یافت (Hayat *et al.*, 2010). پاشش میزان کمی از اسید سالیسیلیک و استیل اسید سالیسیلیک روی برگ‌ها منجر به افزایش نورساخت و عملکرد در سویا و ذرت شد (Wajahatullah *et al.*, 2003). نتایج این پژوهش با نتایج Huang (2008) همخوانی دارد.

میزان پرولین برگ

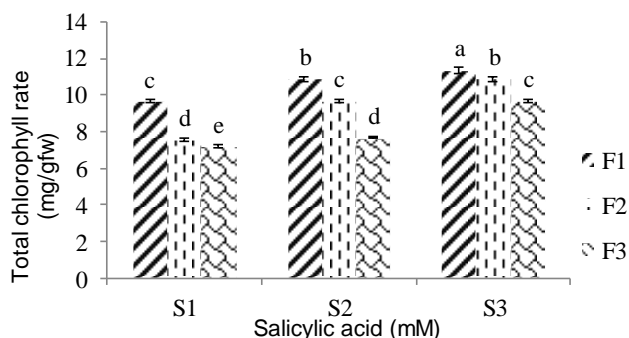
نتایج به‌دست‌آمده از اندازه‌گیری میزان تجمع پرولین نشان داد در سطوح مختلف تنش خشکی، افزایش در غلظت اسید سالیسیلیک سبب کاهش در میزان تجمع پرولین شد و غلظت ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک مؤثرترین غلظت در کاهش میزان این فراسنجه بوده است (شکل ۶). گیاه در معرض تنش خشکی اقدام به تولید اسمولیت‌های آلی مانند پرولین می‌کند. پرولین به‌عنوان یک ماده محلول سبب کاهش پتانسیل اسمزی، حفظ آماس یاخته‌ای، حفاظت و پایداری سامانه‌های غشایی، جلوگیری از تجزیه پروتئین و در نهایت کاهش اثرگذاری منفی تنش می‌شود. در نتیجه در شرایط تنش (استرس) از هدر رفت آب بیشتر از یاخته‌ها جلوگیری کرده و از آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد می‌کاهد (Kafi *et al.*,

میزان سبزینه برگ‌ها

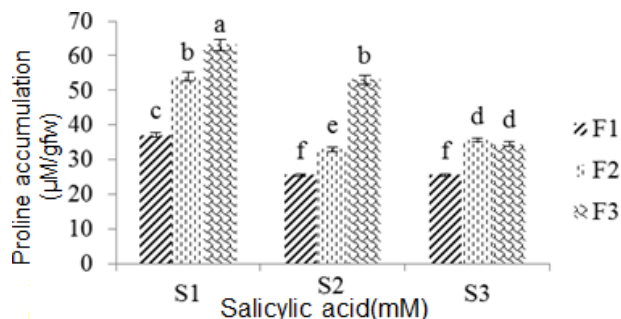
نتایج به‌دست‌آمده از اندازه‌گیری سبزینه نشان داد که تحت شرایط تنش خشکی اسید سالیسیلیک در هر دو غلظت ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌مولار اثر معنی‌داری در افزایش این فراسنجه نسبت به شاهد داشته است ولی غلظت ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک نسبت به دیگر غلظت‌ها با ۱۱/۳۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه مؤثرتر بوده است. همچنین در سطوح مختلف تنش خشکی، افزایش در غلظت اسید سالیسیلیک سبب افزایش در میزان سبزینه کل شد (شکل ۵). خشکی باعث کاهش مقاومت کلروپلاست، آسیب دیدن ساختار کلروپلاست، کاهش فعالیت آنزیم ساخت (سنتر) کننده سبزینه (گلوتامات لیگاز) و افزایش فعالیت زینبار آنزیم سازنده پرولین (گلوتامات کیناز) و اختلال در تنظیم باز و بسته شدن روزنه‌ها می‌شود (Jalili Marandi, 2010). لذا تیمار با اسید سالیسیلیک از اتفاقات بالا جلوگیری می‌کند و با توسعه کلروپلاست و افزایش فعالیت گلوتامات لیگاز و بهبود شاخص‌ها و سازوکارهای مرتبط با ساخت سبزینه باعث بهبود آن‌ها می‌شود (Abraham *et al.*, 2008). تنظیم سازوکار باز و بسته شدن روزنه‌ها و حفظ ساختار کلروپلاست در نتیجه تیمار با این تنظیم‌کننده رشد گیاهی می‌توان از دلایل افزایش سبزینه دانست (Khan, 2010; Rajou *et al.*, 2006). این حقیقت پذیرفته شده است که اسید سالیسیلیک

نمی‌یابد (Jalili Marandi, 2010). اسید سالیسیلیک سبب تنظیم میزان پرولین در ساقه و ریشه گیاه فلفل می‌شود و رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Elwan & El-Hamahmy, 2009). نتایج همسانی توسط Steinke & Stier (2004) به دست آمد که با یافته‌های ناشی از این پژوهش موافق است.

به علت تأثیر تعدیل‌کننده اسید سالیسیلیک در تنش اکسایش (اکسیداتیو)، این هورمون باعث بسته شدن روزنه‌ها و حفظ آب یاخته در مقابل تنش می‌شود. در نتیجه با جلوگیری از ایجاد شرایط تنش با تنظیم‌کننده رشد گیاهی اسید سالیسیلیک، گیاه نیازی به تولید پرولین نداشته لذا پرولین تجمع



شکل ۵. تأثیر متقابل اسید سالیسیلیک و تنش خشکی بر میزان سبزینه کل
 F1: ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی؛ F2: ۷۵ درصد ظرفیت زراعی؛ F3: ۵۰ درصد ظرفیت زراعی.
 S1: شاهد؛ S2: ۰/۷۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک؛ S3: ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک.
 Figure 5. Interaction of salicylic acid and drought stress on total chlorophyll rate
 F1: 100% of field capacity; F2: 75% of field capacity; F3: 50% of field capacity.
 S1: Control; S2: 0.75 (mM) of salicylic acid; S3: 1.5(mM) of salicylic acid.



شکل ۶. تأثیر اسید سالیسیلیک و تنش خشکی بر میزان پرولین
 F1: ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی؛ F2: ۷۵ درصد ظرفیت زراعی؛ F3: ۵۰ درصد ظرفیت زراعی.
 S1: شاهد؛ S2: ۰/۷۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک؛ S3: ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک.
 Figure 6. Interaction of salicylic acid and drought stress on proline accumulation.
 F1: 100% of field capacity; F2: 75% of field capacity; F3: 50% of field capacity.
 S1: Control; S2: 0.75 (mM) of salicylic acid; S3: 1.5(mM) of salicylic acid.

در هر دو غلظت‌های ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌مولار در زمان‌های حد واسط تیرماه تا اواخر مردادماه توانست کیفیت چمن‌های تحت تنش را بالا ببرد، بنابراین با توجه به ارزان‌قیمت بودن اسید سالیسیلیک و نداشتن تأثیر سوء زیست‌محیطی می‌توان با کاربرد این هورمون آبیاری کمتر را نیز توصیه کرد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد در شرایط تنش کاربرد اسید سالیسیلیک به صورت محلول‌پاشی برگ‌ی منجر به بهبود صفات کمی و کیفی گیاهان شده است به طوری که اثرگذاری منفی ناشی از تنش را کاهش داده و بر مقاومت چمن افزود. همچنین اسید سالیسیلیک

REFERENCES

1. Abraham, S., Abdul Jaleel, C., Chang-Xing, Z., Somasundaram, R., Azooz, M.M., Manivannan, P. & Panneerselvam, R. (2008). Regulation of Growth and Metabolism by Paclobutrazol and ABA in *Sesamum indicum* L. Under Drought Condition. *Journal of Molecular Science*, 3(2), 57-66.
2. Amiri Nasab, K., Ghasemnezhad, M., Zakizadeh, H. & Biglouei, M.H. (2013). The Application of drought pre-conditioning is a method to increase deficit irrigation tolerance in two turfgrass species, tall fescue (*Festuca arundinacea*) and creeping bentgrass (*Agrostis stolonifera*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 47(2), 132- 138. (in Farsi)
3. Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24(5), 1-15.
4. Barrs, H. D. & Weatherly, P. E. (1962). A reexamination of the relative turgidity techniques for estimating water deficits in leaves. *International Journal Agriculture biology*, 15(8), 413-428.
5. Bates, L. S., Waldren, R. P. & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, 39(4), 205-207.
6. Batlang, U. (2006). *Studies with triazoles to alleviate drought stress in greenhouse-grown Maze (Zea mays) seedlings*. Master of Science thesis. (pp. 110-123).
7. El-Tayeb, M. A. (2005). Responses of Barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation*, 45(6), 215-255.
8. Elwan, M. W. M. & El-Hamahmy, M. A. M. (2009). Improved productivity and quality associated with salicylic acid application in greenhouse pepper. *Horticulture Science*, 122(10), 521-526.
9. Fariduddin, Q., Hayat, S. & Ahmad, A. (2003). Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity and seed yield in *Brassica juncea*. *Photosynthetica*, 41(5), 281-284.
10. Habibi, Gh. (2012). Exogenous salicylic acid alleviates oxidative damage of barley plants under drought stress. *Acta Biologica Szegediensis*, 5(2), 57-63.
11. Hamada, A. M. & Al-Hakimi, A. M. A. (2001). Salicylic acid versus salinity drought induced stress on Wheat seedlings. *Rostlinna Vyroba*, 47(7), 444- 450.
12. Hayat, Q., Hayat, S., Irfan, M. & Ahmad, A. (2010). Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. *Horticulture Science*, 68(8), 14-25.
13. Hayat, S. & Ahmad, A. (2007). *Salicylic acid a plant hormone*. Springer. ISBN 1402051832. 401P.
14. He, Y., Liu, Y., Cao, W., Huai, M., Xu, B. & Huang, B. (2005). Effects of Salicylic Acid on heat tolerance associated with antioxidant metabolism in *Kentucky Bluegrass*. *Science Society of America*, 32(5), 988-995.
15. Hiscox, J. D. & Israelstam, G. F. (1979). A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Crop Science*, 57(4), 1332-1334.
16. Huang, B. (2008). Mechanisms and strategies for improving drought resistance in turfgrass. *Acta Horticulturae*, 783(3), 221-228.
17. Jalili Marandi, R. (2010). *Physiology of environmental stresses in plants*. University of Azarbayjan Gharbi. (pp. 98-103). (in Farsi)
18. Kafi, M., Borzoei, A., Salehi, M. & Kamandi, A. (2009). *Physiology of environmental stresses in plants*. University of Mashhad. (pp. 58-89). (in Farsi)
19. Khan, N. A., Syeed, S., Masood, A., Nazar, R. & Iqbal, N. (2010). Application of salicylic acid increases contents of nutrients and antioxidative metabolism in mungbean and alleviates adverse effects of salinity stress. *International Journal of Plant Biology*, 1(5), 1-8.
20. Khodary, S. E. R. (2004). Effect of salicylic acid on the growth photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed Maize plant. *International Journal Agriculture Biology*, 23(6), 5-8.
21. Mehrabiyan Moghaddam, N., Arvin, M. J., Khajavinezhad, Gh. & Maghsodi, K. (2011). Effect of Salicylic Acid on growth and forage and grain yield of Maize under drought stress in field conditions. *Seed and Plant Production Journal*, 27(1), 41-55.
22. Qian, Y. L., Engelke, M. C. & Foster, M. J. V. (2000). Salinity effects on *Zoysigrass* cultivars and experimental lines. *Crop Science*, 40(4), 488-492.
23. Rajou, L., Belghazi, M., Hugué, R., Robin, C., Moreau, A., Job, C. & Job, D. (2006). Proteomic investigation of the effect of salicylic acid on *Arabidopsis* seed germination and establishment of early defense mechanisms. *Plant Physiology*, 141(8), 910-923.
24. Sakhabutdinova, A. R., Fatkhutdinova, D. R., Bezrukova, M. V. & Shakirova, F. M. (2003). Salicylic acid prevents the damaging action of stress factors Wheat plants. *Journal of Plant Physiology*, 32(5), 314-319.

25. Steinke, K. & Stier, J.C. (2004). Influence of Trinexapac-ethyl on cold tolerance and nonstructural carbohydrates of shadedsupine *Bluegrass*. *Acta Horticulturae*, 61(5), 200-215.
26. Stevens, J., Senaratna, T. & Sivasithamparam, K. (2006). Salicylic acid induces salinity tolerance in Tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): associated changes in gas exchange, water relations and membrane stabilization. *Plant Growth Regulation*, 49(6), 77-83.
27. Wajahatullah, K., Balakrishnan, P. & Donald, L.S. (2003). Photosynthetic responses of Corn and Soybean to foliar application of salicylic acid. *Journal of Plant Physiology*, 160(4), 485-492.
28. Wang, Z. & Huang, B. (2004). Physiological Recovery of Kentucky bluegrass from simultaneous drought and heat stress. *Crop Science*, 44, 1729-1736.
29. Xu, X. & Tian, S. (2008). Salicylic acid alleviated pathogen- induced oxidative stress in harvested Sweet cherry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 49(2), 397-410.
30. Zhang, X., Schmidt, R.E. & Ervin, E. H. (2009). Impact of Salicylic Acid on *Bermudagrass* freezing tolerance associated with Absciscic Acid and antioxidant metabolism. *International Turfgrass Society*, 11(4), 893-902.

Effect of salicylic acid on physiological and morphological characteristics of *Lolium perenne* cv. Numan under drought stress

Seyedeh Mahsa Hosseini^{1*}, Mohsen Kafi² and Masoud Arghavani³

1. Former M. Sc. Student, Faculty of Agriculture, Science and Research Branch of Azad Islamic University, Tehran, Iran

2. Professor, Faculty of Agriculture, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

3. Assistant Professor, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Iran

(Received: Jul. 20, 2014 - Accepted: Oct. 18, 2014)

ABSTRACT

Perennial Rygrass (*Lolium perenne* cv. "Numan") belongs to Poaceae family as an important lawn in landscape design. The objective of this research was to evaluate effects of different concentrations of salicylic acid to enhance the growth and biochemical characteristics of *Lolium perenne* L. under drought conditions. Factorial experimental design was arranged in a completely randomized block design with four replications. Treatments consist of SA at 3 levels (0, 0.75 and 1.5 mM) and drought stress at 3 levels (50, 75 and 100 % FC). Results showed that drought stress increased the electrolyte leakage and proline accumulation, however decreased chlorophyll rate, relative water contents, root dry weight and shoot growth. Foliar application of SA at the 1.5 mM increased chlorophyll rate and relative water content, but decreased electrolyte leakage and proline accumulation under drought stress. SA application also resulted in highest root dry weight and shoot growth at the 0.75 mM. Based on the present results, foliar application of SA treatments can ameliorate the negative effects of drought stress on the growth and biochemical characteristics of *Lolium perenne* cv. "Numan".

Keywords: Chlorophyll, electrolyte leakage, proline, relative water contents.

* Corresponding author E-mail: hosseinim3@gmail.com

Tel: +98 9215675730