

اثر اسید سالیسیلیک بر الگوی بیان ژن‌های کدکننده آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در گندم نان بهاره (*Triticum aestivum* L.) تحت شرایط تنش

کم آبی

The effect of salicylic acid foliar application on the expression pattern of genes encoding antioxidant enzymes of spring bread wheat (*Triticum aestivum* L.) under water deficit conditions

معروف خلیلی^{۱*}، مهدی یداللهی^۲، حمزه حمزه^۳

۱- دانشیار، بخش بیوتکنولوژی و اصلاح نباتات، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۳- استادیار، بخش تحقیقات جهاد کشاورزی، همدان، ایران

Khalili M^{*1}, Yadollahi M², Hamze H³

1- Associate Professor, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Payame Noor University, Tehran, Iran

2- MSc Graduate, Department of Crop Science and Biotechnology, Payam-e Noor, Tehran, Iran

3- Assistant Professor, Agricultural and Natural Resources Research Center of Hamedan

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: makhalili@pnu.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۶ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۱۸)

چکیده

این تحقیق با هدف بررسی الگوی بیان ژن‌های کدکننده آنزیم‌های آنتی اکسیدانت تحت شرایط تنش کم آبی در گندم نان بهاره انجام گرفت، طرح به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سال ۱۴۰۰ به اجرا درآمد. در این مطالعه صفات زراعی، صفات مرتبط با آنزیم و فعالیت آنتی اکسیدانت و همچنین مقدار بیان ژن تحت تأثیر آبیاری و اسید سالیسیلیک اندازه‌گیری شدند. در این بررسی بین سطوح آبیاری و اسید سالیسیلیک از لحاظ اثر بر کلیه صفات اختلاف معنی‌داری دیده شد، بین تیمارهای اثر متقابل نیز از لحاظ اثر بر کلیه صفات به غیر از طول سنبله و وزن هزار دانه اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. مقایسه تیمارهای برهمکنش نشان داد محلول پاشی ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک تحت تیمار آبیاری ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه بالاترین ارتفاع بوته (۶۴/۷۶ سانتی‌متر)، تعداد پنجه در بوته (۳/۷۱)، تعداد دانه در سنبله (۲۱/۲)، عملکرد ماده خشک (۱۵/۱۴ گرم/بوته) و عملکرد دانه (۱۰/۶۸ گرم/بوته)، کلروفیل a (۸/۶۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، کلروفیل b (۲/۶۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، کارتنوئید (۴/۱۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) را به خود اختصاص داد. در حالی که بالاترین محتوی پروتئین برگ (۰/۵۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، فنل برگ (mg Galic acid/g)، فعالیت آنزیم کاتالاز (۹۷/۰۹ mMolH₂O₂/min mg protein)، آسکروبات پراکسیداز (۸۲/۹DW)، فعالیت آنزیم کاتالاز (۱۲۰/۰۳ mMolH₂O₂/min mg protein)، سوپراکسید دیسموتاز (۳۳۰/۸۹ mMolH₂O₂/min mg protein) به تیمار محلول پاشی یک میلی‌گرم اسید سالیسیلیک تحت شرایط ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه اختصاص یافت، در این بررسی تنش کم آبی و محلول پاشی اسید سالیسیلیک اثر هم‌افزایی در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت داشتند. بالاترین مقدار بیان ژن‌های سوپر اکسید دیسموتاز، پلی فنل اکسیداز و کاتالاز به تیمار محلول پاشی ۱ و ۲ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و بالاترین مقدار بیان ژن آسکروبات پراکسیداز به تیمار محلول پاشی ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک تحت تیمار آبیاری ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی

سوپراکسید دیسموتاز

عملکرد دانه

کلروفیل

کم آبی

مقدمه

گندم یکی از مهم‌ترین محصولات زراعی جهان است که در سال ۲۰۲۰ بیش‌ترین سطح زیر کشت با میزان ۲۲۱/۳۳ میلیون هکتار (با تولید کل ۷۶۶/۰۳ میلیون تن) را در سراسر جهان به خود اختصاص داد. در همین سال در ایران سطح زیر کشت گندم ۶/۷۰ میلیون هکتار و تولید آن ۱۶/۷۵ میلیون تن بود (USDA 2020). کاهش عملکرد محصولات زراعی بر اثر تنش‌های غیرزنده بین ۵۱ الی ۸۲ درصد تخمین زده شده است (Cooke and Leishman 2016). اغلب گیاهان در معرض تنش‌های محیطی قرار می‌گیرند و کمبود آب یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزنده در محدود ساختن و تولید محصول در سرتاسر جهان به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک است (FAO 2022). تنش کم آبی از نظر زمان، دوره و شدت قابل پیش‌بینی نمی باشد. عکس‌العمل گیاه به تنش کم آبی بسیار پیچیده است که شامل تعدادی از فرآیندهای فیزیولوژیکی در سطوح مختلف سلولی و همچنین برهمکنش صفات مختلف با واکنش‌هایی در کل سطح گیاه است. (Motazed et al. 2019; Sarto et al. 2017; Gupta et al. 2017). تنش خشکی همانند دیگر تنش‌های محیطی موجب القای تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مانند رادیکال‌های سوپراکسید (O_2^-)، هیدروکسیل (OH)، پرهیدروکسی (H_2O_2)، الکوزی (RO) و دیگر عوامل غیر رادیکالی مانند پراکسید هیدروژن و اکسیژن یکتایی در اندام‌ها و سلول‌های گیاهی می‌شوند (Singh-Gill and Motazed et al. 2019; Tuteja 2010; Shukla et al. 2015). گونه‌های اکسیژن فعال در غلظت‌های کم می‌توانند نقش تنظیم‌کننده برخی از واکنش‌های سلولی در گیاه باشند و نقش پیام‌رسان‌های ثانویه را داشته باشند. این عوامل در غلظت‌های بالا برای گیاه مضر بوده و موجب اکسیداسیون و تخریب ملکول‌های زیستی مانند پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و چربی‌ها در داخل سلول شوند (Kruk et al. 2005). در زمان مواجهه با تنش‌های مختلف به خصوص کم‌آبی، گیاهان از سازکارهای مختلفی جهت پاکسازی اکسیژن‌های واکنش‌گر و حفاظت خود در برابر اثرات مضر این مواد استفاده می‌کنند (Abid et al. 2018)، محتوای گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر در سیستم‌های بیولوژیک به‌وسیله دو نوع دفاع آنتی‌اکسیدانتی شامل روش‌های آنزیمی و غیر آنزیمی

تنظیم می‌شود. سیستم آنزیمی مانند آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز و سیستم غیرآنزیمی در بر گیرنده آسکوربیک اسید، گلوتاتیون، توکوفرول و ... می‌باشند (Shoqian and Roozbehani 2017). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی می‌توانند به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم منجر به افزایش تحمل به تنش در گندم شوند. در این رابطه، نژاد و همکاران (Nezhad et al. 2012) رابطه مسقیم و معنی‌داری بین افزایش سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی و عملکرد دانه در گندم را گزارش کردند، (Farooq et al. 2014). Farooq et al. (2014) اظهار داشتند که افزایش سطح آنتی‌اکسیدانت‌ها به‌واسطه جاروب گونه‌های اکسیژن فعال منجر به بهبود تحمل تنش خشکی خواهند شد. علاوه براین، تجمع فنولوژیک و پرولین به‌عنوان یکی از مهم‌ترین استراتژی‌های اصلی در کاهش اثرات نامطلوب تنش خشکی هستند (Farooq et al. 2014). تکنیک بیان ژن علاوه بر اینکه جهت غربالگری افراد کاربرد دارد، می‌تواند مقدار بیان ژن‌های درگیر در مقدار مقاومت و تحمل به تنش‌های مختلف سنجیده شود. و اطلاعات مفید دیگری در رابطه با سازوکارهای ژنهای مورد بررسی برای محققان فراهم آورد (Pour-Aboughadareh and Khalili. 2022).

یکی از روش‌های افزایش سنتز این متابولیت‌ها به‌کارگیری محرک‌های رشد می‌باشد. محرک‌ها ترکیباتی با منشاء زیستی و غیرزیستی هستند که سیستم دفاعی گیاه را تحریک کرده و موجب تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه می‌شوند (Gong et al. 2008). محرک‌های غیرزیستی از جمله اشعه ماورای بنفش، نمک، فلزات سنگین و بعضی از ترکیبات شیمیایی مانند جاسمونیک اسید و اسید سالیسیلیک نیز با هدف افزایش تولید این ترکیبات مورد بررسی قرار گرفته‌اند، نقش اسید سالیسیلیک بر افزایش تحمل گیاه در برابر عوامل بیماری‌زا و سایر عوامل تنش‌زا به‌خوبی شناخته شده است. اخیراً نقش این ماده به‌عنوان یک ترکیب پیام‌رسان در فعال‌سازی واکنش گیاهان آشکار شده است (Hayat et al. 2010). به‌علت نقشی که اسیدسالیسیلیک به‌عنوان یک محرک دارد و باعث افزایش بیان ژن‌های مسیرهای بیوسنتزی متابولیت‌های ثانویه می‌شود، مورد توجه ویژه‌ای قرار گرفته است (Park et al. 2009). مطالعات زیادی نشان داده که در تحریک تولید بسیاری از متابولیت‌ها مانند ترپنوئیدها، مشتقات کومارین، آلکالوئیدها و

(2007). در تحقیقی الگوی بیان ژن‌های آنتی اکسیدان تحت شرایط تنش کم آبی در خویشاوندان وحشی گندم مورد بررسی قرار گرفت، در این تحقیق بیان ژن‌ها به صورت معنی‌داری تحت تأثیر تنش کم آبی، رقم و اثر متقابل دو تیمار قرار گرفت، در این تحقیق بیان ژن‌های APX، MnSOD و GPX به مقدار ۹/۵۵، ۱۲/۶۴ و ۱۰/۱۸ برابر در مقایسه با شرایط آبیاری نرمال افزایش نشان داد، در این بررسی مقدار بیان ژن در ارقام مختلف نیز الگوی مشابهی نشان نداد به طوری که بیان ژن‌های مرتبط با خصوصیات آنتی اکسیدانی در گونه‌های *Ae. tauschii*، *Ae. cylindrica* و *speltoides* در مقایسه با دیگر ارقام و رقم مقاوم شاهد در شرایط تنش خشکی بیشتر بود (Ahmadi and Pour-Aboughadareh 2018). پژوهش فوق با هدف مطالعه اثر تنش خشکی، محلول پاشی اسید سالیسیلیک و اثرات متقابل بر میزان بیان ژن‌های مرتبط با فعالیت آنتی اکسیدان در گندم نان بهاره اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گل‌خانه و آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار به صورت کشت در گلدان در سال ۱۴۰۰ انجام شد. عامل اول سطوح مختلف آبیاری در سه سطح ۷۵، ۱۰۰ و ۵۰ درصد نیاز آبی و عامل دوم محلول پاشی اسید سالیسیلیک در سه سطح صفر، ۱ و ۲ میلی‌مولار بود.

جهت اعمال تیمارهای آبیاری مقدار آب ثقلی خروجی از گلدان‌ها در بازه‌های زمانی معینی اندازه‌گیری شد، تقریباً پس از گذشت ۲۴ ساعت میزان آب ثقلی خروجی متوقف شد، تحت این شرایط گلدان‌ها توزین شده و وزن آن به عنوان ظرفیت زراعی (۱۰۰ درصد آب مورد نیاز گیاه) در نظر گرفته شد. بر این اساس مقدار آب لازم برای تیمارهای ۷۵ و ۵۰ درصد مورد نیاز گیاه بر اساس روش وزنی برآورد شده و در تیمارهای مربوطه اعمال شد. در مرحله پنجه دهی تیمارهای اسید سالیسیلیک به صورت محلول پاشی بر روی بوته‌های گندم با غلظت‌های ۱ و ۲ میلی‌مولار انجام گرفت در بوته‌های شاهد از آب مقطر برای

فلاونوئیدها اسید سالیسیلیک نقش دارد (Shoqian and Roozbehani 2017). افزایش میزان آنتوسیانین در تیمارهای اسید سالیسیلیک نشان‌دهنده پتانسیل اسید سالیسیلیک در افزایش تحمل گیاه در برابر خسارت تنش اکسیداتیو و رادیکال‌های آزاد است (Park et al. 2009). گزارش شده است که گیاهانی که دارای سطوح بالاتری از فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان هستند، مقاومت بیشتری را به آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تنش‌های غیر زیستی نشان می‌دهند (White and Brown 2010). یان و همکاران (Yan et al. 2014) در مطالعه‌ای نشان دادند که فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز، در اثر تنش کم آبی افزایش پیدا می‌کند، در حالی که فعالیت کاتالاز کاهش پیدا می‌کند. در مطالعه ما و همکاران (Ma et al. 2016) با تشدید تنش کم آبی بر محتوی پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در بوته‌های گندم افزوده شد با این حال محلول پاشی سیلیکون مقدار آسکروبات پراکسیداز و ترکیبات فنلی را تحت شرایط تنش کم آبی به صورت چشم‌گیری افزایش داد. آن‌ها به کمک تکنیک *real-time PCR* نشان دادند محلول پاشی سیلیکون بیان ژن برای سه ژن آنزیم آنتی اکسیدان (کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پلی فنل اکسیداز)، چهار ژن چرخه *ASC-GSH* و پنج ژن مسیر بیوستز فلاونوئید در مقایسه با تیمار شاهد تحت شرایط تنش کم آبی بهبود بخشید. این نتایج بیانگر آن است که امکان دارد اسید سالیسیلیک دارای مسیرهای پیام‌رسانی مشترک با واسطه تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن باشد. به هر حال حفاظت از گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو توسط اسید سالیسیلیک با افزایش در آنزیم‌های آنتی اکسیدان همبستگی مثبتی داشته است و فعالیت این آنزیم‌ها سطح نهایی رادیکال‌های آزاد و پراکسید هیدروژن در گیاه در لثر تیمار با اسید سالیسیلیک کاهش یافته است (Guo et al. 2014; WD 2005). تحقیقات مختلفی نشان می‌دهد که اسید سالیسیلیک بر تبادلات گازی و محتوی نسبی آب گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Stevens et al. 2006) تجمع پرولین برگ را افزایش می‌دهد و تحمل گیاه را در برابر تنش‌های اکسیداتیو را افزایش می‌دهد (Nazar et al. 2011). اثر اسید سالیسیلیک تا حد زیادی بستگی به عوامل ژنتیکی، محیط رشد گیاه دارد (Idrees et al. 2010) همچنین سطح و زمان کاربرد آن دارد (Horváth et al.

برای حذف آلودگی‌های احتمالی DNA ژنومی از RNAهای استخراج شده، تمامی RNAها با استفاده از کیت DNase1 شرکت Ferments بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده تیمار شدند واکشن سنتز cDNA نیز با استفاده از کیت Hyper Script شرکت GeneAll مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت. برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در زمان واقعی، از کیت RealQ Plus 2X Master Mix Green (5000850-1250) استفاده شد در ابتدا به منظور تعیین کارایی هر جفت آغازگر در واکنش Real-Time PCR برای هر جفت آغازگر چندین ضریب رقت در نظر گرفته شده پس از تعیین بهترین غلظت آغازگر و cDNA واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در زمان واقعی با استفاده از دستگاه (MiniOpticon) Bio-RAD Real-time PCR انجام خواهد گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌های با استفاده از نرم افزار سس انجام گرفت. میانگین‌های به دست آمده با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی دار و در سطح احتمال پنج درصد با یکدیگر مقایسه آماری شدند. در نهایت نمودارها به کمک نرم افزار اکسل ترسیم شدند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد در این مطالعه اختلاف سطوح اسید سالیسیلیک در سطح احتمال یک درصد بر روی کلیه صفات زراعی (به غیر از تعداد دانه در سنبله) و اختلاف بین سطوح کم آبی برای کلیه صفات و اثر متقابل دو تیمار (به غیر از صفات طول سنبله و وزن هزار دانه) معنی دار بودند (جدول ۲).

محلول پاشی استفاده شد. نمونه‌ها برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و پلی‌فنل اکسیداز در مرحله قبل از سنبله دهی انجام گرفت، نمونه‌ها از برگ پرچم هر یک از بوته‌های گندم تهیه شدند. جهت تهیه عصاره آنزیمی بر اساس روش مک‌آدم و همکاران (Mac-Adam et al. 1992) انجام شد. جهت اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز روش رایموند و همکاران (Raymond et al. 1993) مورد استفاده قرار گرفت. سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز SOD بر اساس روش (Giannopolitis et al. 1977) سنجش شد. جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش (Chance and Maehley 1955) استفاده شد. برای تعیین غلظت پروکلین، روش (Bates 1973) به کار رفت. علاوه بر صفات مذکور عملکرد، ارتفاع بوته، طول سنبله، تعداد پنجه، تعداد دانه در سنبله و وزن هزار دانه بوته‌های انتخابی اندازه‌گیری شدند. نمونه‌ها بعد از اعمال تیمارهای تنش کم آبی و ۱۲ ساعت پس از محلول پاشی اسید سالیسیلیک تهیه شدند و تا زمان استخراج RNA در دمای ۸۲- درجه سلسیوس نگهداری شدند. تمام وسایل مورد نیاز برای استخراج RNA برای پیشگیری از اثر آنزیم RNase و تجزیه RNA ابتدا استریل شدند. تانک الکتروفورز و کاست مورد نیاز برای ژل RNA نیز با استفاده از محلول SDS یک درصد و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) ضد عفونی و در نهایت با آب مقطر شستشو داده شدند. از کیت RNX- PlusTM شرکت سینا ژن برای استخراج RNA استفاده شد. به منظور اطمینان از کمیت و کیفیت RNA و تعیین غلظت آن از دستگاه نانودرآپ (Scientific, 2000c) استفاده شده سپس بررسی کیفیت RNA کل استخراج شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز یک درصد صورت گرفت.

¹ SAS.9.4

² Excel

جدول ۱- نام و توالی آغازگرهای (پرایمرها) اولیگونوکلوئیدی مورد استفاده جهت تکثیر ژن در این تحقیق

ژن	پرایمر	(5' - 3') توالی	رفرنس توالی
TaSOD	Sod-F Sod-R	5'-AAGCACCACGCCACCTAC-3' 5'-TGGGCTTGAGGTTCTTCC-3'	TAU72212
TaAPX	Apx-F Apx-R	5'-CTGACAGCGTTCAAGGTAT-3' 5'-GTTGGACGGATGGTACTGA-3'	AJ006358
TaCAT	Cat-F Cat-R	5'-GTTGGACGGATGGTACTGA-3' 5'-AAGACGGTGCCTTTGGGT-3'	X94352
TAPPO	PPO-F PPO-R	5'-CGATCTACGCCAACAGGTCGTC-3' 5'-CACTGGAGTCAAGGTCGGTCAGCA-3'	AY515506

یکی از نقش‌هایی که برای اسید سالیسیلیک در گیاه در نظر گرفته‌اند نقش آن در سنتز پروتئین کیناز است، این پروتئین وظیفه تقسیم سلولی، تمایز و همچنین ریخت زایی سلول را بر عهده دارد. این آنزیم با تنظیم مراحل مختلف رشد و نمو گیاه نقش قابل توجهی در افزایش تقسیم سلول و افزایش ارتفاع گیاه دارد. افزایش در ارتفاع تحت تیمار اسید سالیسیلیک در تحقیقات دیگر نیز به اثبات رسیده است (Shibli et al. 2007; Hayat et al. 2010). کاربرد اسید سالیسیلیک تحت شرایط تنش کم آبی مقدار هورمون‌های گیاهی را تغییر داده و سازکارهای محافظت گیاهان در برابر تنش را فعال می‌کند (Fahad et al. 2015)، افزایش عملکرد دانه در تیمارهای کاربرد اسید سالیسیلیک و تحت شرایط مختلف آبیاری در مطالعه حاضر را می‌توان به نقش این ماده در بهبود فتوسنتز، انتقال مؤثر مواد فتوسنتزی، تلقیح گل‌ها، جلوگیری از سقط گل‌ها و افزایش دوره پر شدن دانه‌ها که در نهایت موجب افزایش عملکرد دانه می‌شود نسبت داد (Gao et al. 2012). افزایش عملکرد دانه در شرایط ۱۰۰ درصد مورد نیاز گیاه همراه با

محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک می‌تواند به دلیل افزایش فتوسنتز و ماده سازی در این تیمار باشد که در این شرایط مواد فتوسنتزی و مواد غذایی بیشتری از منابع (برگ‌ها) به دانه (مخازن) انتقال یافته و موجب افزایش عملکرد دانه شده است. اسید سالیسیلیک بر فتوسنتز و رشد گیاه تحت شرایط تنش اثر مثبت دارد. درواقع، این ماده از طریق توسعه واکنش‌های ضد تنشی، نظیر افزایش تجمع پرولین، باعث تسریع در بهبود رشد پس از رفع تنش می‌شود (Wu et al. 2008). (Noreen et al. 2017) در تحقیقی بر روی گندم نشان دادند محلول‌پاشی ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید سالیسیلیک موجب افزایش عملکرد دانه تحت شرایط تنش کم آبی شد و مقدار مقاومت گیاه به تنش خشکی را بهبود بخشید. بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها اختلاف بین سطوح آبیاری و اثر متقابل آبیاری در محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر روی کلیه خصوصیات فیزیولوژیکی و آنزیمی و اثر محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر روی کلیه صفات (به‌غیر از کلروفیل a) معنی‌دار بودند (جدول ۳).

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات زراعی مورد بررسی تحت تیمارهای آبیاری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک

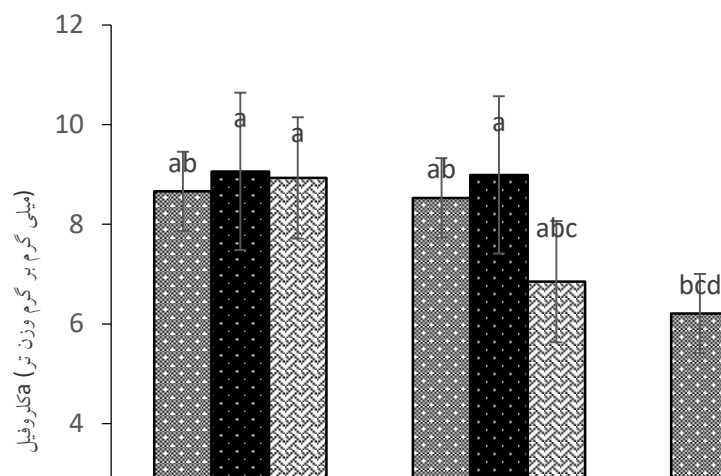
میانگین مربعات							
درجه آزادی	ارتفاع بوته	تعداد سنبله در بوته	طول سنبله	تعداد دانه در سنبله	وزن هزاردانه	عملکرد خشک بوته	عملکرد دانه
آبیاری	۲	۳۸۲/۳۲*	۱۲/۹۵**	۷/۰۰**	۳۳/۴۲**	۵۰/۶۵**	۷۸/۲۴**
سالیسیلیک اسید	۲	۲۷۲۷/۱۶**	۲/۰۴**	۷/۲۹**	۲/۱۳ ^{ns}	۹۴/۴۶**	۱۳/۶۴**
آبیاری × سالیسیلیک	۴	۲۹۵/۳۲*	۰/۴۲**	۰/۴۲ ^{ns}	۵/۴۹*	۲۳/۴۳ ^{ns}	۳/۶۳**
خطا	۱۸	۹۷/۳۶	۰/۰۵	۰/۹۲	۱/۳۴	۲۵/۴۳	۰/۶۳
ضریب تغییرات	-	۱۵/۴۴	۹/۸۶	۱۲/۷۳	۶/۳۴	۱۸/۳۰	۱۳/۱۶

ns، * و ** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد آماری

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات مرتبط با خصوصیات فیزیولوژیکی و آنزیمی در گندم تحت تیمارهای آبیاری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک

میانگین مربعات							
درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کارتونوید	پرولین	فنل کل	فلانوئید	کاتالاز
آبیاری	۲	۳۶/۵۸**	۲/۰۲**	۵/۳۰**	۰/۰۳۷**	۳۴۹۴/۳۲**	۷۸۵/۸۴**
سالیسیلیک اسید	۲	۲/۱۵ ^{ns}	۰/۵۴**	۱/۴۲**	۰/۰۰۲۹**	۳۹۷/۵۰**	۹۵/۹۹**
آبیاری × سالیسیلیک	۴	۲/۴۲*	۰/۳۵**	۱/۵۴*	۰/۰۰۲۰**	۲۳۸/۳۳*	۷۵/۵۴**
خطا	۱۸	۰/۷۹	۰/۰۴	۰/۱۵	۰/۰۰۰۴	۶۶/۱۵	۱۵/۳۹
ضریب تغییرات (%)	-	۱۲/۰۹	۱۰/۳۹	۱۴/۶۹	۴/۵۵	۱۵/۲۶	۱۵/۸۸

ns، * و ** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد آماری



شکل ۱- مقایسه میانگین تیمارهای اثر متقابل آبیاری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر محتوی کلروفیل a در بوته گندم

کلروفیل b کاسته شد اما محلول پاشی ۱ و ۲ میلی مولار اسید سالیسیلیک تحت شرایط آبیاری ۷۵ و ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه و محلول پاشی ۱ میلی مولار تحت تیمار ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه توانست به صورت معنی داری بر محتوی کلروفیل برگ بیافزاید. یکی از دلایل کاهش محتوی کلروفیل‌ها، رقابت آنزیم گلوتامیل کیناز (آنزیم کاتالیز کننده پرولین) و آنزیم گلوتامات لیگاز (اولین آنزیم مسیر بیوستز کلروفیل) در شرایط تنش کم آبی است که موجب می‌شود تا پیش‌ساز گلوتامات، بیشتر به مصرف پرولین برسد و در نتیجه بیوستز کلروفیل با کاهش روبرو شود (Ramak et al. 2014). اسید سالیسیلیک با افزایش فعالیت آنزیم‌های درگیر در فتوسنتز و همچنین کاهش مقدار گونه‌های فعال اکسیژن با تحت تأثیر قرار دادن فرآیندهای بیوشیمیایی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی منجر به افزایش محتوای کلروفیل در گیاه تیمار شده می‌شود (Dolatmand shahri and Haghshenas 2016).

در مطالعه حاضر، کاربرد اسید سالیسیلیک موجب افزایش محتوی کلروفیل در گیاهان تحت تنش کم آبی شد که بیانگر نقش این ماده در تخفیف اثرات تنش است. می‌توان اظهار داشت محلول پاشی اسید سالیسیلیک به عنوان یک پروسه مقاوم سازی عمل نموده است و با افزایش پتانسیل آنتی‌اکسیدانی در سلول مقدار پراکسیداسیون لیپیدها را کاهش داد و موجب حفاظت بیشتر از غشاءهای سلولی و فتوسنتزی و رنگیزه‌های فتوسنتزی و مانع از تخریب کلروفیل شده است (Farahbakhsh and Pasandipour 2017).

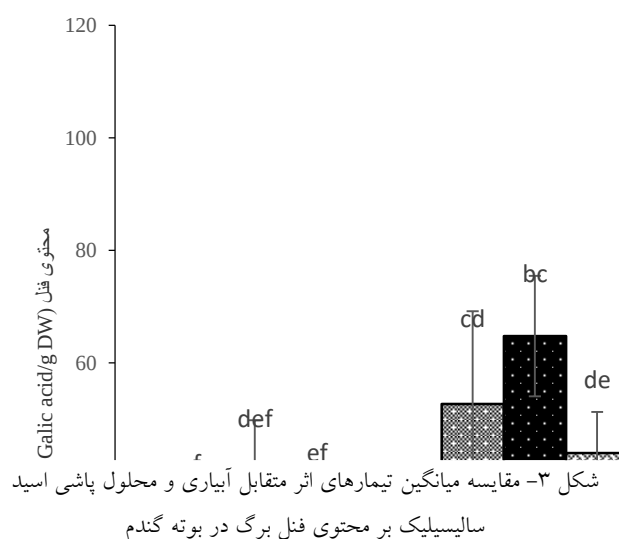
در بین تیمارهای اثر متقابل آبیاری با محلول پاشی اسید سالیسیلیک تیمارهای آبیاری ۱۰۰ و ۷۵ درصد نیاز آبی گیاه همراه با هر سه سطح محلول پاشی اسید سالیسیلیک بیشترین محتوی کلروفیل a را به خود اختصاص دادند، این در حالی بود که کمترین محتوی کلروفیل a به تیمار ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه همراه با هر سه سطح محلول پاشی اسید سالیسیلیک اختصاص داشت (شکل ۱). کاهش میزان کلروفیل در تیمار شاهد اسید سالیسیلیک در شرایط ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه می‌تواند به دلیل کاهش سنتز کلروفیل و همچنین ناشی از تخریب و تجزیه آن توسط رادیکال‌های آزاد باشد میزان کلروفیل در گیاهان یکی از عوامل مهم در حفظ ظرفیت فتوسنتزی است کاهش فعالیت فتوسیستم II، کاهش فعالیت آنزیم روبیسکو و مهار سنتز ATP، موجب می‌شود که تشکیل رادیکال‌های آزاد یا همان گونه‌های اکسیژن آزاد در کلروپلاست‌ها افزایش یابد (Farzaneh et al. 2013). گونه‌های اکسیژن فعال که در شرایط تنش کم آبی ایجاد می‌شوند به کلروپلاست آسیب وارد کرده و از این طریق موجب کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل می‌شوند، مطالعات متعددی حاکی از آن است که اسید سالیسیلیک فتوسنتز را از طریق اثر بر محتوی کلروفیل (Fariduddin et al. 2003)، ترکیبات کارتنوئید (Gao et al. 2012) و ضریب هدایت روزنه‌ای (Khokon et al. 2011) تحت تأثیر قرار می‌دهد.

نتایج مقایسات میانگین تیمارهای اثر متقابل از نظر محتوی کلروفیل b نشان داد با افزایش شدت تنش کم آبی از محتوی

اسیمیلات‌های محلول همچون پرولین در سلول، موجب حفظ فشار اسمزی، توسعه فتوسنتزی و افزایش رشد و توسعه گیاهان تیمار شده می‌شود (Agati et al. 2012).

نتایج مقایسات میانگین تیمارهای اثر متقابل از لحاظ محتوی فنل کل نشان داد محلول پاشی ۱ و ۲ میلی‌مولار تحت شرایط آبیاری ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه بالاترین محتوی فنل کل را به خود اختصاص دادند، در حالیکه تیمار محلول پاشی یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک تحت شرایط آبیاری ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه کمترین محتوی فنل کل را به خود اختصاص داد، نتایج همچنین نشان داد تحت شرایط آبیاری ۷۵ درصد محلول پاشی سطح ۲ میلی‌مولار و تحت شرایط تحت شرایط آبیاری ۵۰ درصد محلول پاشی ۱ و ۲ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به صورت معنی‌داری بر محتوی فنل برگ افزود. در این مطالعه تحت شرایط آبیاری ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه بین تیمارهای کاربرد و عدم کاربرد اسید سالیسیلیک اختلاف معنی‌دار دیده نشد (شکل ۳).

■ ۲ میلی‌مولار ■ ۱ میلی‌مولار

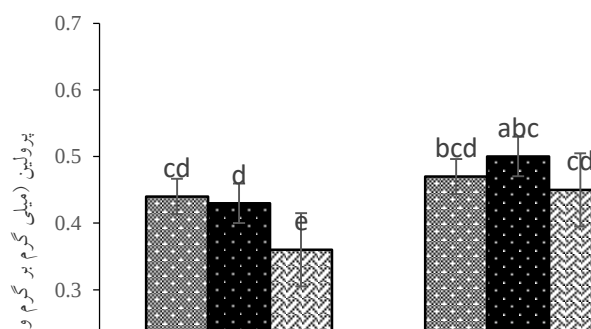


مقایسه میانگین تیمارهای اثر متقابل آبیاری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک حاکی از آن بود که کاربرد یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک تحت شرایط آبیاری ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه با متوسط ۴/۱۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بالاترین محتوی کارتنوئید را به خود اختصاص داد، هر چند اختلاف بین تیمار مذکور و تیمار شاهد و کاربرد ۲ میلی‌مولار از لحاظ آماری معنی‌دار نبود.

همان‌طوری که مشاهده می‌شود در تحقیق حاضر تنش کم آبی از محتوی کارتنوئید کاست، این کاهش می‌تواند به دلیل تجزیه بتاکاروتن و تشکیل زآزانتین در چرخه زانتوفیل باشد (Sultana et al. 1999). افزایش محتوی کارتنوئید تحت شرایط تنش کم آبی در مطالعه ال تایب (EL-Tayeb 2005) نیز گزارش شده است.

نتایج مقایسات میانگین ترکیبات تیماری از نظر محتوی پرولین نشان داد با افزایش شدت تنش کم آبی به صورت معنی‌داری بر محتوی پرولین افزوده شد. در این بررسی هر سه تیمار محلول پاشی اسید سالیسیلیک تحت شرایط ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه بیشترین محتوی پرولین را به خود اختصاص دادند هر چند بین تیمار مذکور و تیمار کاربرد ۲ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک تحت تیمار آبیاری ۷۵ درصد مورد نیاز گیاه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در این مطالعه تیمار شاهد اسید سالیسیلیک تحت شرایط ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه کمترین محتوی پرولین را به خود اختصاص داد. در این بررسی تنها تحت شرایط آبیاری ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه کاربرد اسید سالیسیلیک به صورت معنی‌داری بر محتوی پرولین افزود، تحت دیگر شرایط آبیاری بین تیمار شاهد و تیمارهای کاربرد سالیسیلیک اسید اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (شکل ۲).

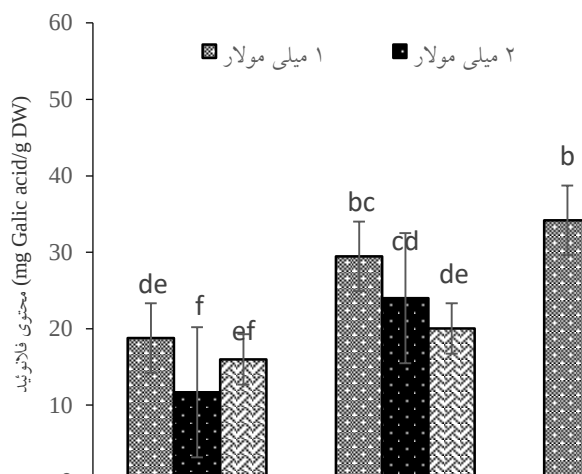
■ ۲ میلی‌مولار ■ ۱ میلی‌مولار



شکل ۲- مقایسه میانگین تیمارهای اثر متقابل آبیاری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر محتوی پرولین برگ در بوته گندم

اسید سالیسیلیک با القای برهم‌کنش‌های حفاظتی به کمک هورمون اسید آبسزیک موجب تجمع پرولین در گیاه می‌شود (Bayan et al. 2014). گزارش‌های مختلفی نشان داده است تیمار اسید سالیسیلیک با افزایش محتوی نسبی آب از طریق افزایش

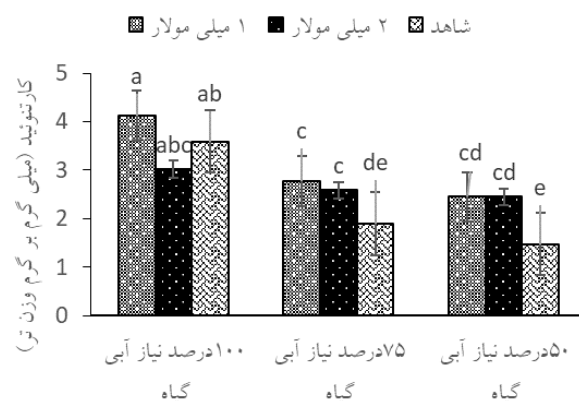
مقدار فعالیت نیز به تیمار آبیاری ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه همراه با هر سه سطح محلول پاشی اسید سالیسیلیک اختصاص یافت. نتایج همچنین نشان داد اگر چه با تشدید تنش کم آبی بر مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز افزوده شد اما تحت شرایط آبیاری ۱۰۰ و ۷۵ درصد نیاز آبی گیاه بین تیمار شاهد و تیمارهای کاربرد اسید سالیسیلیک اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، اما تحت شرایط آبیاری ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه محلول پاشی دو سطح ۱ و ۲ میلی‌مولار به صورت معنی‌داری بر مقدار فعالیت آنزیم مذکور افزود (شکل ۵). (El-Esawiet al. (2017) نشان دادند محلول پاشی اسید سالیسیلیک در شرایط تنش شوری با افزایش محتوی فنول کل، کلروفیل، کربوهیدرات‌ها و پروتئین اثر تنش شوری را بر خصوصیات رشدی گیاه تعدیل کرد. آن‌ها همچنین ثابت کردند که اسید سالیسیلیک مسیر مکانیسم آنزیمی آنتی اکسیدانی را تحریک کند و مقدار فعالیت آنزیم‌های کاتالاز CAT، سوپراکسید دیسموتاز SOD و آسکوربات پراکسیداز در حضور اسید سالیسیلیک به صورت چشم گیری افزایش نشان داد، در مطالعه (Gondor et al. 2016) تیمار اسید سالیسیلیک به صورت معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت نظیر کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز افزود.



شکل ۵- مقایسه میانگین تیمارهای اثر متقابل آبیاری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز در بوته گندم

مقایسات میانگین ترکیبات تیماری از لحاظ محتوی فلاونوئید نشان داد تحت تیمار آبیاری ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه و محلول پاشی ۲

در این تحقیق کمترین محتوی کارتنوئید با متوسط ۱/۴۸ میلی گرم بر گرم وزن تر به تیمار شاهد اسید سالیسیلیک تحت تیمار آبیاری ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه اختصاص یافت. لازم به ذکر است که تحت شرایط آبیاری ۷۵ و ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه کاربرد هر دو سطح ۱ و ۲ میلی‌مولار توانست به صورت معنی‌داری بر محتوی کارتنوئید بیافزاید (شکل ۴).

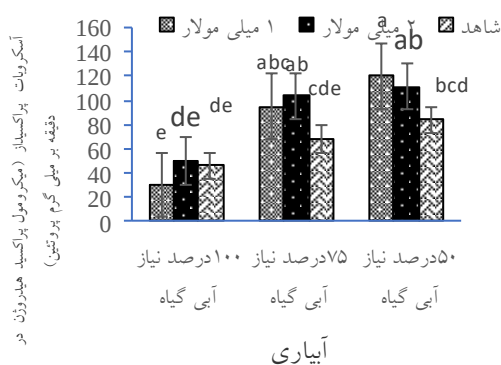


شکل ۴- مقایسه میانگین تیمارهای اثر متقابل آبیاری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر محتوی کارتنوئید در بوته گندم

عقیده بر این است که ترکیبات فنلی یکی از ترکیبات آنتی اکسیدانی هستند که با مکانیسم‌های مختلفی نظیر جاروب کردن رادیکال‌های آزاد و قطع کردن واکنش‌های زنجیره‌وار اکسایشی، دادن هیدروژن، خاموش کردن اکسیژن یکتایی، کلات کردن یون‌های فلزی یا قرارگرفتن به عنوان پیش ماده آنزیم‌های پراکسیداز نقش آنتی اکسیدانی خود را ایفا می‌کند. افزایش ترکیبات پلی‌فنلی در شرایط تنش با ساختار ژنتیکی گیاه و محیط رشد آن در ارتباط است به طور کلی تنش غیرزیستی موجب تجمع ترکیبات پلی فنلی در گیاه می‌شود. این ترکیبات قدرت رقابت دارند و در فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهان شرکت می‌کنند (Tian and Lei 2006). در مطالعه ای بر روی ارقام گندم (El-Esawi et al. (2017) نشان دادند تیمار اسید سالیسیلیک به صورت معنی‌داری ترکیبات فنلی در برگ را افزایش داد.

نتایج مقایسه میانگین تیمارهای اثر متقابل از نظر مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد محلول پاشی ۱ و ۲ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک تحت شرایط آبیاری ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه بالاترین مقدار فعالیت آنزیم مذکور با به خود اختصاص دادند کمترین

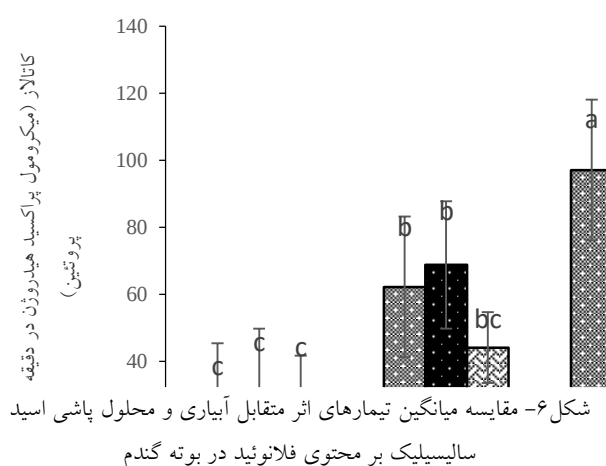
شرایط آبیاری ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه همراه با هر سه تیمار محلول پاشی اسید سالیسیلیک مشاهده شد و بین این سه تیمار اختلاف معنی‌دار نبود (شکل ۷). لازم به ذکر است که تحت شرایط آبیاری ۷۵ درصد نیاز آبی گیاه محلول پاشی سطح ۲ میلی‌مولار و آبیاری ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه محلول پاشی یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک توانست مقدار فعالیت آنزیم آسکروبات پراکسیداز را در مقایسه با تیمار شاهد به صورت معنی‌دار افزایش دهد. افزایش فعالیت آنزیم های آسکروبات پراکسیداز، کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز تحت تنش کم آبی در مطالعات (Gong et al. 2005) و (Gong et al. 2008) در گندم گزارش شده است. در مطالعه (Ma et al. 2016) محلول پاشی سیلیکون تحت شرایط تنش کم آبی مقدار فعالیت آنزیم آسکروبات پراکسیداز را در برگ پرچم گندم افزایش داد.



شکل ۷- مقایسه میانگین تیمارهای اثر متقابل آبیاری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر مقدار فعالیت آسکروبات پراکسیداز در بوته گندم

نتایج مقایسه میانگین تیمارهای اثر متقابل از لحاظ مقدار فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نشان داد هر چند تحت شرایط آبیاری ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه محلول پاشی ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک بالاترین مقدار فعالیت سوپراکسید دیسموتاز را به خود اختصاص داد اما بین تیمار مذکور و تیمار محلول پاشی ۲ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک تحت شرایط ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه اختلاف معنی‌دار دیده نشد. (شکل ۸). در طی فرآیند پاکسازی رادیکال‌های آزاد آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز نقش مهمی در خنثی کردن اثرات سمی ترکیبات ROS دارند، این آنزیم

میلی‌مولار اسید سالیسیلیک بالاترین محتوی فلاونوئید برگ به دست آمد در حالی‌که تحت تیمار بیاری ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه و محلول پاشی ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک کمترین محتوی فلاونوئید برگ ثبت شد، نتایج همچنین نشان داد تحت شرایط آبیاری ۱۰۰ و ۷۵ درصد نیاز آبی گیاه کاربرد محلول پاشی ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و تحت شرایط آبیاری ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه محلول پاشی هر دو سطح ۱ و ۲ میلی‌مولار توانستند به صورت معنی‌داری بر محتوی فلاونوئید برگ بیفزایند (شکل ۶). فلاونوئیدها یکی از فعال‌ترین متابولیت‌های ثانویه در گیاهان هستند. آن‌ها یک سیستم آنتی اکسیدانی ثانویه را تشکیل می‌دهند که در نتیجه کاهش فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی فعال می‌شوند (Agati et al. 2012). آن‌ها می‌توانند با مکان‌یابی و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد قبل از آسیب رساندن به سلول‌ها، به عنوان جاذب ROS عمل کنند و بنابراین برای گیاهان تحت شرایط محیطی نامطلوب مهم هستند (Løvdalet al. 2010). افزایش قابل توجهی در سطح فلاونوئیدها به دنبال تنش‌های زیستی و غیر زیستی مانند زخم، خشکسالی، سمیت فلزات و تنش کمبود عناصر غذایی مشاهده شده است (Gill and Tuteja 2010; Agati et al. 2012).

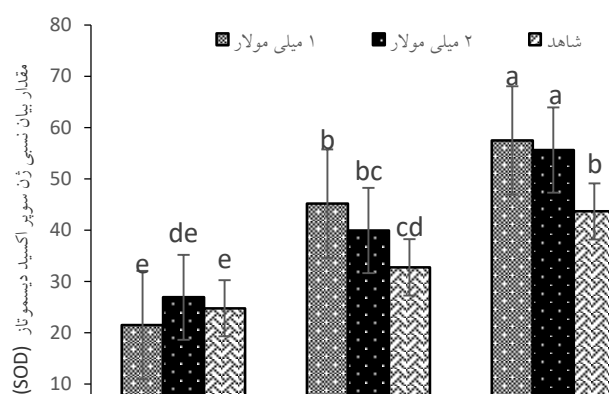


شکل ۸- مقایسه میانگین تیمارهای اثر متقابل آبیاری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر محتوی فلاونوئید در بوته گندم

نتایج مقایسات میانگین نشان داد تحت شرایط آبیاری ۵۰ و ۷۵ درصد نیاز آبی گیاه محلول پاشی سطوح ۱ و ۲ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک بالاترین مقدار فعالیت آنزیم آسکروبات پراکسیداز را به خود اختصاص دادند، کمترین مقدار فعالیت این آنزیم تحت

تیمارهای اثر متقابل از لحاظ اثر بر بیان ژن‌های مرتبط با سوپراکسید دیسموتاز نشان داد با تشدید تنش کم آبی از تیمار ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه به ۵۰ درصد نیاز آبی به صورت معنی داری بر مقدار بیان این ژن‌ها افزوده شد، در این بررسی بالاترین مقدار بیان ژن‌های مرتبط با اسید سالیسیلیک تحت تیمار ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه همراه با محلول پاشی ۱ و ۲ میلی گرم اسید سالیسیلیک مشاهده شد، کمترین مقدار نیز به تیمار محلول پاشی ۱ میلی مولار و شاهد اسید سالیسیلیک تحت شرایط ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه اختصاص یافت، نتایج همچنین نشان داد هر کدام از تیمارهای آبیاری واکنش متفاوتی به محلول پاشی اسید سالیسیلیک از نظر مقدار بیان ژن‌های مرتبط با سوپراکسید دیسموتاز نشان دادند به طوری که تحت شرایط ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه بین تیمارهای محلول پاشی و تیمار شاهد اختلاف معنی داری دیده نشد (شکل ۱۰). اسید سالیسیلیک به عنوان یک عامل کلیدی در القای تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی و بیماری‌ها نقش دارد. پس از وقوع تنش، گیاهان با القای مقاومت اکتسابی سیستمیک که با افزایش میزان اسید سالیسیلیک درونی گیاه همراه است مسیرهای پیام رسانی وسیعی از جمله رونویسی ژن‌های رمزکننده پروتئین‌های وابسته تنش و آنزیم‌های دخیل در سنتز فیتوالکسین‌ها و پمپ‌های ناقل ABC-transporter را فعال می‌سازند (Sugano et al. 2010).

رادیکال‌ای آزاد (O_2^-) را به H_2O_2 تبدیل کرده و نقش حیاتی در سازوکارهای دفاعی در برابر تشکیل رادیکال‌های هیدورکسیل (OH) را بازی می‌کند، پراکسید هیدروژن تولید شده در مراحل بعدی توسط آنزیم‌هایی مانند کاتالاز و آسکروبات پراکسیداز پاکسازی می‌شود (Benavides et al. 2005). (Mutlu et al. 2016) نشان دادند تیمار اسید سالیسیلیک تحت شرایط تنش دمایی اثر مخرب دمای پایین را با افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز و پلی فنل اکسیداز بر گیاه جو تعدیل کرد.



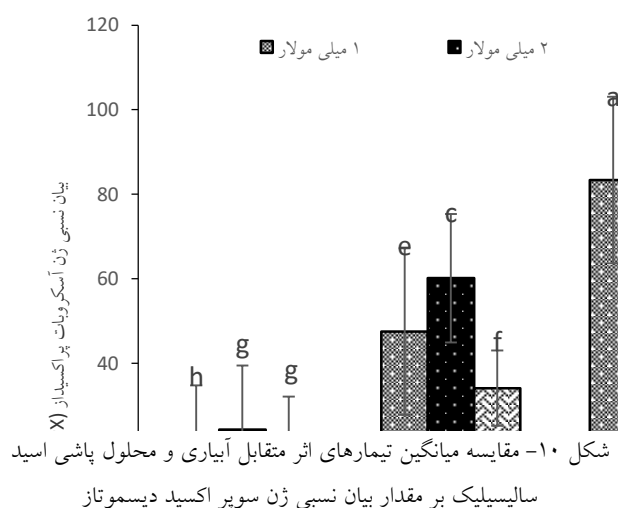
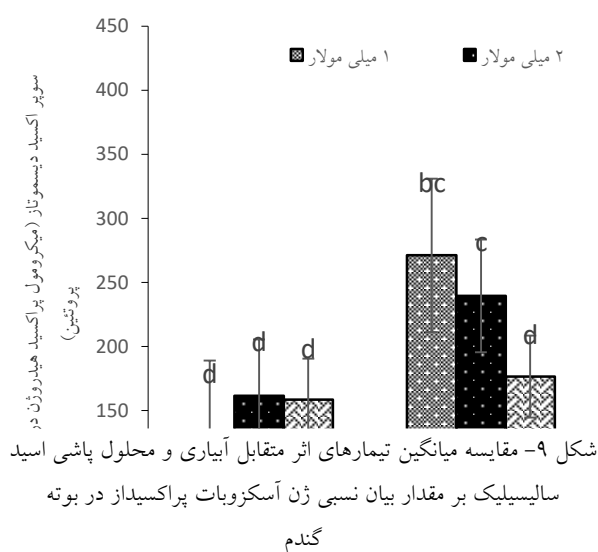
شکل ۸- مقایسه میانگین تیمارهای اثر متقابل آبیاری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر مقدار فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در بوته گندم

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۴) مقدار بیان ژن‌های در صفات مورد مطالعه، منابع تغییر آبیاری و اسید سالیسیلیک و اثر متقابل مربوطه معنی دار بودند. مقایسه میانگین

جدول ۴- تجزیه واریانس مقدار بیان ژن‌های مرتبط با خصوصیات آنتی اکسیدانی تحت تیمارهای آبیاری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک

منابع تغییر	درجه آزادی	کاتالاز (CAT)	بیان ژن سوپر اکسید دیسموتاز (MnSOD)	بیان ژن آسکروبات پراکسیداز (APX)	بیان ژن پلی فنل اکسیداز (PPO)
آبیاری	۲	۵۵۵/۷۰ ^{***}	۱۷۵۰/۰۰ ^{***}	۵۶۴۶/۷۷ ^{***}	۱۱۵۲۵/۶ ^{***}
سالیسیلیک اسید	۲	۵۹/۴۶ ^{***}	۱۶۴/۱۲ ^{***}	۶۴۰/۰۳ ^{***}	۱۰۱۷/۷ ^{***}
آبیاری × سالیسیلیک	۴	۲۵/۱۸ [*]	۷۱/۹۴ [*]	۳۲۷/۶۰ ^{***}	۴۸۱/۴ ^{***}
خطا	۱۸	۷/۱۷	۱۸/۳۹	۸/۱۷	۹۰/۴
ضریب تغییرات (%)	-	۱۵/۸۷	۱۱/۱۰	۶/۱۷	۱۱/۴۹

ns, * و ** به ترتیب عدم معنی داری و معنی داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد آماری



نتایج مقایسات میانگین تیمارهای اثر متقابل نشان داد با افزایش شدت تنش کم آبی از ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه به ۵۰ درصد نیاز آبی به صورت معنی داری بر مقدار بیان ژن در کلیه سطوح اسید سالیسیلیک افزوده شد، همچنین به غیر از شرایط ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه در دو شرایط ۷۵ و ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه محلول پاشی اسید سالیسیلیک در هر دو سطح ۱ و ۲ میلی مولار به صورت معنی داری بر مقدار بیان ژن کاتالاز افزود. نتایج همچنین نشان داد تحت شرایط ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه محلول پاشی ۱ و ۲ میلی مولار اسید سالیسیلیک بالاترین مقدار بیان ژن و تحت شرایط ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه محلول پاشی ۱ میلی مولار اسید سالیسیلیک، کمترین مقدار بیان ژن را به خود اختصاص داد (شکل ۱۲). در مطالعه‌ای بر روی گندم (Rahimi Jarihani and 2021).

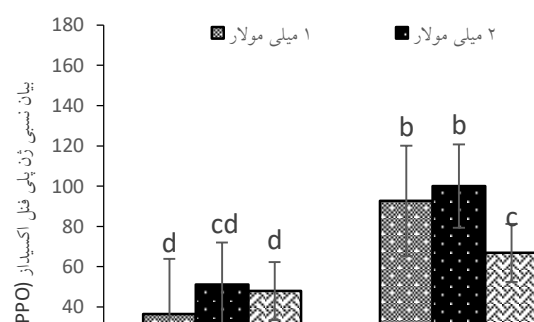
بر اساس نتایج مقایسه میانگین تیمارهای اثر متقابل آبیاری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک بالاترین مقدار بیان ژن آسکروبیات پراکسیداز (APX) به تیمار محلول پاشی ۱ میلی مولار اسید سالیسیلیک تحت شرایط آبیاری ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه اختصاص داد، این در حالی بود که کمترین مقدار بیان ژن مذکور به تیمار محلول پاشی ۱ میلی مولار اسید سالیسیلیک تحت شرایط ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه اختصاص یافت. نتایج مقایسات میانگین همچنین نشان داد تحت شرایط ۷۵ درصد نیاز آبی گیاه محلول پاشی ۱ و ۲ میلی مولار اسید سالیسیلیک مقدار بیان ژن آسکروبیات پراکسیداز را به ترتیب ۱/۳۹ و ۱/۱۷۶ برابر و تحت شرایط ۵۰ درصد نیاز آبی ۱/۵۵ و ۱/۴۱ برابر در مقایسه با تیمار شاهد افزایش دادند (شکل ۹). در مطالعه‌ای بیان ژن آسکروبیات پراکسیداز تحت تأثیر محلول پاشی روی قرار گرفت و با تشدید تنش کمبود روی بر مقدار فعالیت آن افزوده شد (Rahimi Jarihani and Abdollahi Mandoulakani 2021).

نتایج مقایسه میانگین ترکیبات تیماری نشان داد با تشدید تنش کم آبی از ۱۰۰ به ۵۰ درصد نیاز آبی به صورت معنی داری بر مقدار بیان ژن پلی فنل اکسیداز افزود، به طوری که بالاترین مقدار بیان ژن مذکور به محلول پاشی ۱ و ۲ میلی مولار اسید سالیسیلیک تحت تیمار ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه اختصاص داشت، کمترین مقدار بیان ژن پلی فنل اکسیداز نیز به تیمار محلول پاشی ۱ میلی مولار و تیمار شاهد اسید سالیسیلیک اختصاص داشت، نتایج همچنین نشان داد اگرچه تنش کم آبی بر مقدار بیان ژن پلی فنل اکسیداز افزود اما محلول پاشی اسید سالیسیلیک تحت شرایط ۷۵ و ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه به صورت معنی داری بیان این ژن را تسریع نمود (شکل ۱۲). (Ma et al. 2016) در بررسی اثر محلول پاشی سیلیکون بر واکنش دفاعی گندم در برابر تنش خشکی اظهار داشتند محلول پاشی سیلیکون تحت شرایط تنش کم آبی بیان ژن سه ژن آنزیم آنتی اکسیدان (کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پلی فنل اکسیداز)، چهار ژن چرخه ASC-GSH، و پنج ژن مسیر بیوستز فلاونوئید در مقایسه با تیمار شاهد افزایش داد.

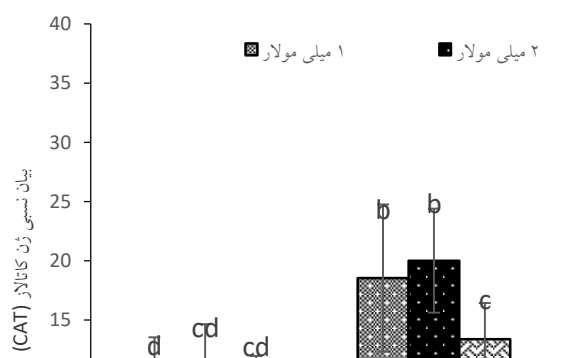
نتیجه‌گیری کلی

در این مطالعه با تشدید تنش کم آبی به‌صورت معنی‌داری از عملکرد دانه کاسته شد یکی از روش‌هایی که در سال‌های اخیر برای بهبودی عملکرد دانه تحت شرایط نامساعد محیطی مورد توجه قرار گرفته است محلول‌پاشی محرک‌های رشد و الیستورها است، در بررسی حاضر استفاده از اسید سالیسیلیک تحت هر سه شرایط آبی به‌صورت معنی‌داری بر عملکرد دانه افزود. در تحقیق حاضر تنش کم آبی و اسید سالیسیلیک اثر هم‌افزایی در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت داشتند، تحت شرایط تنش کم آبی رادیکال‌های آزاد در داخل بافت‌های گیاه تولید می‌شوند گیاه برای پاکسازی این عناصر فعال سیستم آنتی اکسیدانتی خود را فعال می‌کند، می‌توان نتیجه گرفت محلول پاشی اسید سالیسیلیک با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان به گیاه در پاکسازی رادیکال‌های آزاد کمک می‌کند و از این طریق باعث بهبود خصوصیات رشدی گیاه تحت شرایط تنش کم آبی شده است. از طرفی تحت شرایط تنش کم آبی و کاربرد اسید سالیسیلیک مقدار بیان ژن‌های مرتبط با آنزیم‌های آنتی اکسیدانت به‌صورت معنی‌داری بالا رفت و می‌توان نتیجه گرفت که هم شرایط تنش و هم کاربرد اسید سالیسیلیک موجب القاء ژن‌های مسئول پاسخ به شرایط نامساعد محیطی شده و مقدار رونویسی و بیان این ژن‌ها را در گیاه افزایش داده است و از این طریق، از گیاه در برابر شرایط نامساعد کم آبی حفاظت کرده‌اند. افزایش بیان این ژن‌ها موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت شده و از این طریق اکسیژن‌های واکنش‌گر در داخل سلول پاکسازی شده و در نهایت از محتوی رنگدانه‌های فتوسنتزی محافظت شده کارایی فتوسنتز بالا رفته و عملکرد دانه تحت شرایط تنش کم آبی در مقایسه با شاهد افزایش نشان داده است.

Abdollahi Mandoulakani نشان دادند محلول پاشی عنصر روی به صورت معنی‌دار بیان ژن کاتالاز را در گندم تحت تأثیر قرار داد آن‌ها نشان دادند تحت شرایط کمبود عنصر روی بیان ژن‌های مرتبط با آنزیم کاتالاز به صورت معنی‌داری افزایش نشان دادند. افزایش بیان ژن‌های دفاعی گیاه و برخی از آنتی اکسیدانت‌ها در واکنش به تنش‌های زیستی در مطالعه (Makandar et al. 2012) نیز گزارش شده است. در تحقیقی بر روی روزماری (El-Esawi et al. 2017) اثر سطوح مختلف اسید سالیسیلیک را بر واکنش گیاه به تنش شوری مورد مطالعه قرار دادند آن‌ها نشان دادند که بیان ژن‌های کدکننده آنزیم‌های APX و SOD در زرماری‌های تیمار شده با اسید سالیسیلیک و تحت شرایط شوری به‌صورت معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد افزایش نشان داد.



شکل ۱۱- مقایسه میانگین تیمارهای اثر متقابل آبیاری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر مقدار بیان نسبی ژن کاتالاز در بوته گندم



شکل ۱۲- مقایسه میانگین تیمارهای اثر متقابل آبیاری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر مقدار بیان نسبی ژن پلی فنل اکسیداز در بوته گندم

منابع

- Ahmadi J, Pour-Aboughadareh AR (2018) Expression pattern of anti-oxidant genes in wheat wild relatives under water deficit stress Modern genetic journal 3: 353-361.
- Abid M, Ali S, Qi LK, Zahoor R, Tian Z, Jiang D, Sinder JL, Dai T (2018) Physiological and biochemical changes during drought and recovery periods at tillering and jointing stages in wheat (*Triticum aestivum* L.). Scientific Reports-Nature 8:4615.
- Agati G, Azzarello E, Pollastri S, Tattini M (2012) Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. Plant Sci 196:67-76.
- Bayan M, Amini F, Askari M (2014) Effect of salicylic acid on organic osmolites accumulation and antioxidant activity of nitraria shoberi under drought stress conditions. Journal of Plant Production 20: 177- 188.
- Cooke J, Leishman MR (2016) Consistent alleviation of abiotic stress with silicon addition: a meta-analysis. Functional Ecology 30:1340-1357.
- Dehghani H, Khodadadi M (2018) Breeding of plants to tolerance abiotic stresses: drought and salinity. First edition, University Publication Center 164p.
- El-Esawi AM, HO Elansary, Na A El-Shanhorey5 AM E Abdel-Hamid, HM. Ali and M S Elshikh (2017) Salicylic Acid-Regulated Antioxidant Mechanisms and Gene Expression Enhance Rosemary Performance under Saline Conditions, Front. Physiol 1-14.
- El-Tayeb MA (2005) Response of barley gains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regulation 45: 215-225.
- FAO World Food and Agriculture. Statistical Yearbook. Available online: <http://www.fao.org/3/i3107e/i3107e.pdf> (accessed on 20 May 2022).
- 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: 281-284.
- Farooq M, M Hussain, KHM Siddique (2014) Drought stress in wheat during flowering and grain-filling periods. Crit. Rev. Plant Sci 33:331-349.
- Gao Z, Meng C, Zhang X, Xu D, Miao X, Wang Y, et al. (2012) Induction of salicylic acid (SA) on transcriptional expression of eig ht carotenoid genes and astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis*. Enzyme Microb. Technol. 51: 225-230.
- Gong HJ, Chen KM, Zhao ZG, Chen GC, Zhou WJ (2008) Effects of silicon on defense of wheat against oxidative stress under drought at different developmental stages. Biol Plant 52:592-596.
- Gupta PK, HS Balyan, V Gahlaut (2017) QTL Analysis for drought tolerance in wheat: present status and future possibilities. Agron 7: 1-21.
- Hayat Q, Hayata SH, Irfan M and Ahmad A (2010) Effect of exogenous salicylic acid under changing environment. A review. Environmental and Experimental Botany 68: 14-25.
- Horváth E, Szalai G, Janda T (2007) Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. J. Plant Growth Regul. 26:290-300.
- Idrees M, Khan MMA, Aftab T, Naeem M, Hashmi N (2010) Salicylic acid-induced physiological and biochemical changes in lemongrass varieties under water stress. Journal of Plant Interaction 5:293-303.
- Ma D, D Sun, C Wang, H Qin, H Ding, Y Li and T Guo (2016) Silicon Application Alleviates Drought Stress in Wheat Through Transcriptional Regulation of Multiple Antioxidant Defense Pathways. Journal of Plant Growth Regulation 35:1-10.
- Mirmohammadi-Maibody SAM, Golabadi M, Golkar P (2015) Plant breeding for drought stress tolerance. Jihad Daneshgahi, Isfahan Industrial Branch 232p.
- Motazedi S, Sefazadeh S, Haghparast R, Zakerin HR, Jabbari H (2019) Identification of effective traits on grain yield of bread wheat genotypes in rainfed and supplementary irrigation. Journal of Crop Breeding 11: 68-87.
- Nazar R, Iqbal N, Syeed S, Khan NA (2011) Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under salt stress by enhancing nitrogen and sulfur assimilation and antioxidant metabolism differentially in two mungbean cultivars. J. Plant Physiol. 168:807-815.
- Nezhad KZ, Weber WE, Roder MS, Sharma S, Lohwasser U, Meyer RC, Saal B, Borner A (2012) QTL analysis for thousand-grain weight under terminal drought stress in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Euphytica 186: 127-138.
- Park H, H Yeon Seok, B Kyung Park, S Ho Kim (2008) Overexpression of Arabidopsis ZEP enhances tolerance to osmotic stress. Biochemical and Biophysical Research Communications 375: 80-85.
- Pour-Aboughadareh Alireza, Marouf Khalili, Peter Pocza and Tiago Olivoto .2022. Stability Indices to Deciphering the Genotype-by-Environment Interaction (GEI) Effect: An Applicable Review for Use in Plant Breeding Programs.plants pp,1-24.
- Sarto MVM, Sarto JRW, Rampim L, Bassegio D, da Costa PF, Inagaki, AM (2017) Wheat phenology and yield under drought: a review. Australian Journal Crop Science 11, 941-946.
- Shoqian M, Roozbehani A (2017) The effect of salicylic acid foliar application on morphological traits, yield and yield components of red beans under drought tension conditions. Crop Physiology Journal. Islamic Azad University of Ahvaz 9: 131-147.
- Shukla S, Singh K, Patil RV, Kadam S, Bharti S, Prasad P, Singh NK (2015) Genomic regions associated with grain yield under drought stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). Euphytica 2: 449-467.
- 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 Regul 49:77-83.

United states Department of Agriculture, world agricultural production. 2020.

Wen PF, Chen JY, Wan SB, Kong WF, Zhang P, Wang W, Zhan J, Pan QH, Hung WD (2005) Salicylic acid activates phenylalanine ammonia-lyase in grape berry in response to high temperature stress. *Plant Growth Regulation* 55: 1-10.

wheat (*Triticum aestivum* L.) var. Shahriar under water deficit stress. *Research on Crops* 13: 37-45.

White PJ, Brown PH (2010) Plant nutrition for sustainable development and global health. *Ann. Bot* 105 1073–1080. 10.1093/aob/mcq085 .

Wu FZ, WK Bao, FL Li, N Wu (2008) Effects of water stress and nitrogen supply on leaf gas exchange and fluorescence parameters of *Sophora davidii* seedling. *Photosynthetica* 46: 40-48.

Yan H, Jia H, Chen X, Hao L, An H, Guo X (2014) The cotton WRKY transcription factor GhWRKY17 functions in drought and salt stress in transgenic *Nicotiana benthamiana* through ABA signaling and the modulation of reactive oxygen species production. *Plant Cell Physiol* 55 2060–2076. 10.1093/pcp/pcu133.

Zang X, S Komatsu (2007) A proteomics approach for identifying osmotic-stress-related proteins in rice. *Phytochemistry* 68 :426-437.

Zhang SG, JY Gao, JZ Song (1999) Effects of calicylic acid and aspirin on wheat seed germination under salt stresses. *Plant Physiol* 35: 29-32

Dolatmand shahri N, M. Haghshenas (2017) Effects of diferent amounts of soil moisture in diferent salicylic acid levels on enzymes activity and morpholophysiological characteristics of alfaalfa. *Crop Physiology Journal* 9: 99-118. (In Persian).

Farahbakhsh, H., and F. Salarpour Gharba. 2014. Effect of drought stress and salicylic acid on physical and physiological properties of the plant. *Journal of Crops Improvement* 13: 778- 794. (In Persian).

Rahimi Jarihani L, B Abdollahi Mandoulakani (2021) Expression pattern of catalase, ascorbate peroxidase and polyphenol oxidase encoding genes under soil Zn deficiency in bread wheat, *Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology)* 34:105-116.