

اثر سالیسیلیک اسید بر رنگدانه‌های فتوسنتزی و فلورسانس کلروفیل گیاه همیشه بهار در شرایط تنش شوری^۱

Effect of Salicylic Acid on Photosynthetic Pigments and Chlorophyll Fluorescence of Pot Marigold under Salt Stress Conditions

فاطمه دهقان نیری، وحیدرضا صفاری* و علی اکبر مقصودمود^۲

چکیده

شوری پس از خشکی از مهم‌ترین و متداول‌ترین تنش‌های محیطی در جهان و ایران است. سالیسیلیک اسید به عنوان یک ترکیب مفید نقش مهمی در مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی دارد. رنگدانه‌های فتوسنتزی مسئول جذب انرژی تابشی و تبدیل آن به شکل‌های انرژی احیا کننده و سایر فرایندهای متابولیکی گیاه هستند. به منظور بررسی تأثیر سالیسیلیک اسید در کاهش اثر زیان‌بار شوری بر رنگدانه‌های فتوسنتزی و فلورسانس کلروفیلی گیاه همیشه بهار، آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کامل تصادفی با پنج سطح شوری (۱، ۳، ۵، ۷ و ۹ دسی زیمنس بر متر) و سه سطح سالیسیلیک اسید (۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر) با پنج تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه باهنر کرمان در سال ۹۱ انجام شد. نتیجه‌ها نشان داد که تنش شوری سبب کاهش ویژگی‌هایی همچون وزن خشک گل، کلروفیل a، b و کل، فلورسانس بیشینه، عملکرد کوانتومی، ارتفاع شاخساره و طول ریشه به ترتیب حدود ۲۲، ۷، ۹۱، ۳۵، ۴۰، ۳۱، ۳۰ و ۲۵٪ نسبت به شاهد شد. تنش شوری فلورسانس کمینه را به مقدار ۴۶٪ نسبت به شاهد افزایش داد. کاربرد سالیسیلیک اسید سبب بهبود نسبی اثر نامطلوب شوری شد. واژه‌های کلیدی: تنش شوری، سالیسیلیک اسید، عملکرد کوانتومی، فلورسانس بیشینه، همیشه بهار.

مقدمه

تنش شوری یکی از عامل‌های تنش‌زای محیطی در کشاورزی است (۲۵). به گزارش فائو (۲۰۰۸) بیش از ۶٪ زمین‌های جهان که حدود ۴۰۰ میلیون هکتار از زمین‌های جهان را شامل می‌شود، زیر تأثیر شوری هستند (۱۵). از عامل‌های ایجاد کننده شوری، تجمع بیش از حد ماده‌های قابل حل در محلول خاک، استفاده از آب‌های شور در آبیاری و مدیریت نامناسب آبیاری مزرعه‌ها است (۱۲). سیستم فتوسنتزی گیاهان به دلیل تغییر در محتوای کلروفیل‌ها و ساختار کلروپلاست‌ها به طور قابل توجهی از شوری اثر می‌گیرند (۸). شوری از فعالیت آنزیم‌های کلیدی فتوسنتز همچون RuBP carboxylase-oxygenase و PEP کربوکسیلاز جلوگیری می‌کند. بسته شدن روزنه‌ها در اثر شوری سبب کاهش فتوسنتز و تثبیت کربن می‌شود (۲۷).

یکی از شاخص‌های تهییج انرژی در ساختارهای فتوسنتزی برگ، فلورسانس کلروفیل است که یک سیستم تشخیصی غیر مخرب و سریع برای ارزیابی مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی است (۲۷). ویژگی‌های مورد استفاده در تعیین مقدار فلورسانس کلروفیل، فلورسانس اولیه (F_0) و فلورسانس بیشینه (F_M) می‌باشند. اختلال در کارایی کوانتومی فعالیت فتوسیستم II ناشی از افزایش در مقدار فلورسانس اولیه (F_0) و کاهش در فلورسانس بیشینه (F_M) می‌باشد (۲۶). کارایی کوانتومی فتوسیستم II، سالم بودن غشای تیلاکوئید را نشان

۱- تاریخ دریافت: ۹۳/۹/۵

تاریخ پذیرش: ۹۵/۴/۳۰

۲- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیارهای علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (safari@uk.ac.ir)

می‌دهد. هنگامی فلورسانس بیشینه کلروفیلی صورت می‌گیرد که مولکول‌های کوئینون که در فتوسیستم II گیرنده الکترون هستند، در وضعیت اکسید شده باشد، مرکز واکنش فتوسیستم II باز بوده و پذیرنده‌های الکترون که به ترتیب شامل کوئینون، Q_A و Q_B می‌باشند، آماده باشند تا انرژی جذب شده را به P_Q و از P_Q به فتوسیستم I انتقال دهند و صرف تولید ATP و NADPH کنند. با افزایش درجه احیا شدن به تدریج، پذیرش الکترون کمتر می‌شود و فلورسانس افزایش می‌یابد. مرکزهای احیای فتوسیستم II به تدریج بسته می‌شوند تا جایی که انتقال الکترون به فتوسیستم I دیگر صورت نمی‌گیرد (۲، ۲۶). بیشینه عملکرد کوانتومی PSII به صورت نسبت فلورسانس متغییر ($F_M - F_0$) به بیشینه فلورسانس ($F_M - F_0 / F_M$) نشان داده می‌شود (۶). در بیشتر گیاهان آسیب‌های وارده بر فتوسیستم II اولین نشانه بروز تنش در برگ است، زیرا آسیب‌پذیرترین بخش دستگاه فتوسنتزی گیاه در برابر آسیب‌های ناشی از نور، فتوسیستم II می‌باشد (۷).

از جمله رنگدانه‌های فتوسنتزی کلروفیل‌های a و b هستند که نقش مهمی در فتوسنتز بازی می‌کنند. تغییر در مقدار سیستم رنگدانه‌ای، تغییرها در فتوسنتز را مشخص می‌کند (۱۷). در گیاه مرزنگوش دیده شده است که مقدار کلروفیل‌های برگ در اثر شوری آب آبیاری کاهش معنی‌داری یافتند (۴). در اسفناج کلروفیل‌های a، b و کل با افزایش شوری کاهش پیدا کرد (۳۰). گیاهان در شرایط تنش همچون تنش شوری، گونه‌های فعال اکسیژن (ROSها) را تولید می‌کنند که با تخریب ساختار یاخته‌ای سبب آسیب به میتوکندری و کلروپلاست می‌شوند (۱).

سالیسیلیک اسید در گیاهان نوعی پیام‌آور شیمیایی است که نقش مؤثر آن در سازوکارهای دفاعی گیاه به خوبی ثابت شده است (۱). نقش سالیسیلیک اسید در تحمل گیاهان به تنش‌های غیر زنده همچون خشکی، سرما، گرما، تنش اسمزی، فلزهای سنگین (۳۲) و شوری گزارش شده است (۱۲). سالیسیلیک اسید نقش مهمی در تنظیم رشد گیاه، نمو، برهمکنش بین اندام‌های گیاهی و پاسخ به تنش‌های محیطی بازی می‌کند؛ علاوه بر این نقش آن در تنژگی بذر، عملکرد میوه، گلیکولیز، ایجاد گرما در هنگام گلدهی، جذب و حمل و نقل یون‌ها و سرعت فتوسنتز آشکار شده است (۱۳). فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به طور مستقیم یا غیر مستقیم از سالیسیلیک اسید اثر می‌گیرد و از گیاه در برابر تنش شوری محافظت می‌کند (۳۳). محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید در گیاه خردل هندی با غلظت 10^{-5} مولار سبب افزایش مقدار کلروفیل شد (۹). همچنین محلول‌پاشی برگساره‌ای سالیسیلیک اسید سبب افزایش طول ریشه در سویا شد (۱۳). در آزمایشی گلدانی محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید بر برگ‌های گندم سبب بهبود ویژگی‌های رشدی همچون ارتفاع، تعداد برگ، سطح برگ، قطر و وزن ساقه شد (۱۴).

گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) از تیره کلاپرک‌سانان، گیاهی یک‌ساله با گل‌های زرد (۱۸) و یک گیاه مهم دارویی و زینتی است (۳۴). این گیاه بومی مصر و مدیترانه است که در منطقه‌های معتدل در سراسر جهان (۲۹) به طور وسیع در باغ‌ها و فضای سبز کشت می‌شود (۵). عصاره به‌دست آمده از گل همیشه بهار طیف وسیعی از اثرهای دارویی همچون التیام زخم، ضد التهاب و ضد باکتری (۳۴)، همچنین روغن دانه آن کاربرد دارویی و صنعتی دارد (۳۹).

این پژوهش به منظور ارزیابی تأثیر سالیسیلیک اسید بر ویژگی‌های رنگدانه‌ها و سیستم فتوسنتزی، وزن خشک گل، ارتفاع شاخساره و طول ریشه این گیاه در شرایط تنش شوری انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۱ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه باهنر کرمان به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کامل تصادفی با پنج تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل پنج سطح شوری (۱، ۳، ۵، ۷ و ۹ دسی زیمنس بر متر هدایت الکتریکی آب آبیاری) و سه سطح محلول‌پاشی برگی سالیسیلیک اسید (۰، ۱۰۰ و ۲۰۰

میلی گرم بر لیتر) بود. هر گلدان با قطر دهانه ۲۵/۵ سانتی متر و ارتفاع ۲۵ سانتی متر، با ۲۵۰۰ گرم خاک با هدایت الکتریکی ۱ دسی زیمنس بر متر عصاره اشباع خاک پر شد.

بذرهای همیشه بهار پس از کشت، در مرحله ۴ برگی به گلدان‌های اصلی منتقل شدند. در طول دوره رشد گلدان‌ها فقط با آب مقطر آبیاری شدند. برای اعمال شوری به این روش عمل شد که مقدار رطوبت در حد ظرفیت مزرعه (FC) خاک اندازه‌گیری شد که معادل ۱۸٪ بود. سپس مقدارهای نمک کلرید سدیم لازم برای تهیه محلول با هدایت الکتریکی ۱، ۳ و ۵ دسی زیمنس بر متر از رابطه زیر محاسبه (۲۹) و در آب مقطر حل و به گلدان‌ها طی سه مرحله اضافه شد.

$$Y = Ec \times 640$$

که در آن Y: گرم نمک لازم برای یک لیتر آب مقطر و EC: هدایت الکتریکی مورد نظر است. برای شوری ۷ و ۹ دسی زیمنس بر متر به جای ۶۴۰، در رابطه فوق عدد ۸۰۰ جایگزین شد. گرم نمک‌های به دست آمده در آب مقطر حل و به گلدان‌ها طی سه مرحله اضافه شد. محلول پاشی سالیسیلیک اسید، یک هفته پس از تیمار شوری (۵) در ابتدای صبح، بر روی شاخساره انجام و پس از ۱۰ روز تکرار شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک گل، زمانی که گل‌ها کامل باز شدند، برداشت و در خشک‌کن با دمای ۷۰ درجه سلسیوس خشک شدند تا وزن آنها ثابت شد. سپس به وسیله ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم وزن خشک اندازه‌گیری و ثبت شد. برای اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل، یک برگ توسط ورقه آلومینیومی به مدت ۳۰ دقیقه پوشانده و به تاریکی عادت داده شد. سپس سنسور دستگاه (Junior PAMWaltz- Germany) به آن متصل و با روشن نمودن دستگاه نور در طول موج ۶۹۵ نانومتر از راه فیبر نوری به برگ تابیده شد. سطح نور (PFD) چگالی جریان فوتون) ۴۰۰ میکرومول فوتون در مترمربع در ثانیه و زمان تابیدن نور ۵ ثانیه برای تمامی تیمارها انتخاب شد که در مورد هر تیمار ۱۰ بار تکرار شد. عملکرد کوانتومی فتوسیستم از رابطه زیر محاسبه شد.

$$F_V/F_M = (F_M - F_0)/F_M$$

که در آن FV/FM: عملکرد کوانتومی فتوشیمیایی، FM: فلورسانس بیشینه و F0: فلورسانس کمینه است. برای اندازه‌گیری کلروفیل‌های a، b و کل حدود ۳۰ روز پس از اعمال تنش و محلول پاشی سالیسیلیک اسید، ۲۰۰ میلی گرم وزن تر نمونه در ۱۵ میلی لیتر استون ۸۰٪ سائیده و سپس عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در سانتیفریوژ با دور ۲۷۰۰ قرار داده شد. سپس ۳ میلی لیتر عصاره رویی برداشته و مقدار جذب آن‌ها در طول موج ۶۶۳/۲ و ۶۴۶/۸ نانومتر به کمک اسپکتروفتومتر (UV-VIS - مدل Cary50) خوانده شد. غلظت رنگدانه‌ها با استفاده از روش لیچنتنالر (۲۰) محاسبه و بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر گزارش شد. داده‌های آزمایش توسط نرم افزارهای SAS و MSTAT-C تجزیه و نمودارهای آن به کمک Excel رسم شد. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

نتایج و بحث

ویژگی‌های ریخت‌شناسی

با توجه به نتیجه‌های به دست آمده، شوری و سالیسیلیک اسید در سطح احتمال یک درصد تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک گل‌ها داشتند اگرچه برهمکنش آن‌ها معنی‌دار نبود (جدول‌های ۱ و ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش سطح شوری وزن خشک گل‌ها نیز روند کاهشی نشان داد. به گونه‌ای که در بالاترین سطح شوری (۹ دسی زیمنس بر متر) وزن خشک گل ۲۲٪ نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد (جدول ۱).

با توجه به نتیجه‌ها به کارگیری سالیسیلیک اسید موجب افزایش وزن خشک گل‌ها شد، به گونه‌ای که کاربرد سالیسیلیک اسید در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سبب افزایش وزن خشک گل به ترتیب حدود ۸ و ۵٪ نسبت به شاهد شد (جدول ۲).

جدول ۱- مقایسه میانگین ویژگی‌های ارزیابی شده در سطح‌های مختلف شوری.

Table 1. Comparison of average of the traits evaluated at different levels of salinity.

شوری Salt concentration (dS m ⁻¹)	وزن خشک گل Flower dry matter (g)	فلورسانس کمینه Minimum fluorescence (f ₀)	فلورسانس بیشینه Maximum fluorescence(f _m)
1	0.109 a†	247.27 e	1814 a
3	0.104 ab	316.6 d	1742.47 a
5	0.099 bc	345 c	1613.47 b
7	0.096 c	394.33 b	1467.13 c
9	0.085 d	461.07 a	1246.4 d

† Means in each column, followed by at least one letter in common are not significantly different at the 5% probability level using Duncan's multiple range test.

† میانگین‌هایی که در هر ستون، حرف مشترک دارند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول ۲- مقایسه میانگین ویژگی‌های ارزیابی شده در سطح‌های مختلف سالیسیلیک اسید.

Table 2. Comparison of average of the traits evaluated at different levels of salicylic acid.

سالیسیلیک اسید salicylic acid (mg l ⁻¹)	وزن خشک گل Flower dry matter (g)	فلورسانس کمینه Minimumfluorescence (f ₀)	فلورسانس بیشینه Maximumfluorescence(f _m)
0	0.094 b†	374.56 a	1474.72 c
100	0.103 a	333.96 c	1678.6 a
200	0.099 a	350.04 b	1587.56 b

† Means in each column, followed by at least one letter in common are not significantly different at the 5% probability level using Duncan's multiple range test.

† میانگین‌هایی که در هر ستون، حرف مشترک دارند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

در مورد ارتفاع شاخساره، اثر شوری و برهمکنش شوری و سالیسیلیک اسید در سطح احتمال ۱٪ و اثر سالیسیلیک اسید نیز در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار شد. ارتفاع شاخساره در بالاترین سطح شوری نسبت به شاهد ۴۰٪ کاهش یافت. همچنین کاربرد غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سالیسیلیک اسید، به ترتیب ارتفاع شاخساره را به مقدار ۳۰ و ۸٪ نسبت به شاهد افزایش دادند. بیشترین ارتفاع شاخساره به طول ۲۲/۳ سانتی‌متر در کاربرد همزمان پایین‌ترین سطح شوری و غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سالیسیلیک اسید و کمترین ارتفاع شاخساره با ۹/۲۸ سانتی‌متر در بالاترین سطح شوری بدون کاربرد سالیسیلیک اسید مشاهده شد (شکل ۱).

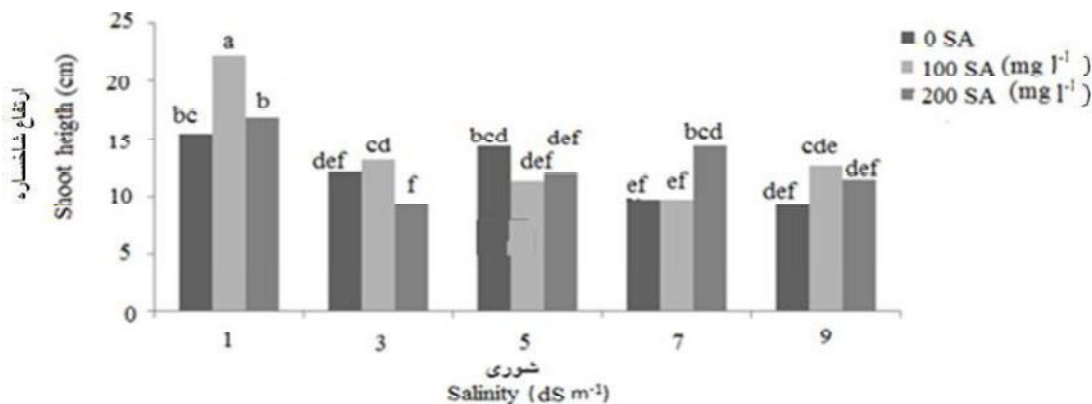


Fig. 1. Interactions effects of salinity and salicylic acid (SA) on shoot height.

شکل ۱- برهمکنش شوری و سالیسیلیک اسید (SA) بر ارتفاع شاخساره.

همچنین اثر شوری، سالیسیلیک اسید و برهمکنش آن‌ها بر طول ریشه‌ها در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بودند. نتیجه‌ها نشان داد که با افزایش سطح شوری طول ریشه‌ها کاهش یافت، به گونه‌ای که در بیشترین غلظت شوری (۹ دسی زیمنس بر متر) طول ریشه‌ها ۲۵٪ نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد (شکل ۲). این در حالی بود که کاربرد سالیسیلیک اسید مانع کاهش قابل توجه این ویژگی در سطح‌های مختلف شوری شد. این نتیجه‌ها نشان داد که استفاده از سالیسیلیک اسید در شرایط شوری سبب افزایش رشد و ارتفاع گیاه شده است. کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید در گندم مانع از کاهش اکسین‌ها و سایتوکینین‌ها در سطح‌های مختلف شوری و در نتیجه سبب بهبود تقسیم یاخته‌ای در مریستم ریشه و افزایش عملکرد گیاه شد (۱۳).

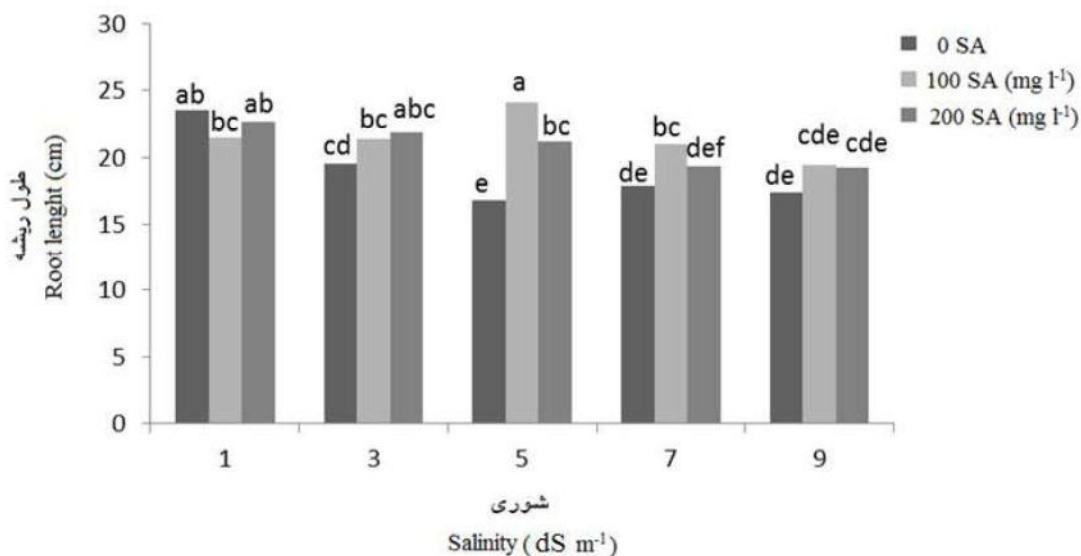


Fig. 2. Interactions effects of salinity and salicylic acid on root length.

شکل ۲- میانگین برهمکنش شوری و سالیسیلیک اسید بر طول ریشه.

این ویژگی سبب شده است تا از سالیسیلیک اسید به عنوان یک هورمون گیاهی مقرون به صرفه، مؤثر و پر اهمیت به منظور افزایش رشد ریشه برای تولید اقتصادی سبزی‌های ریشه‌ای و سالادی استفاده شود (۱۳). پاسخ به شوری به صورت دو مرحله رشدی دیده می‌شود؛ در مرحله اول بعد از قرار گرفتن گیاه در معرض شوری به

سرعت کاهش رشد اتفاق می‌افتد. این پاسخ به دلیل تغییرهای اسمزی خارج از ریشه است که سبب تغییر در رابطه‌های آبی یاخته می‌شود. اثر اسمزی ابتدا توانایی جذب آب در گیاه را کاهش می‌دهد که این اثر شبیه به تنش خشکی در گیاه است (۱۹). دومین اثر بسیار کندتر است و چندین روز، هفته یا ماه ممکن است به طول بینجامد که نتیجه آن تجمع نمک در برگ‌ها است که منجر به سمیت نمک در گیاه به ویژه برگ‌های پیرتر می‌شود. این سمیت نمک می‌تواند باعث کاهش فتوسنتز کل سطح برگ (۱۹) و به دنبال آن کاهش رشد شاخساره و ریشه گیاه شود (۵).

مقدار کلروفیل‌های a, b و کل

نتیجه‌های حاصل از پژوهش نشان داد که اثر شوری، سالیسیلیک اسید و برهمکنش آن‌ها بر رنگدانه‌های فتوسنتزی در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. شوری سبب کاهش این رنگدانه‌ها شد، به‌طوری که در بالاترین سطح شوری (۹ دسی زیمنس بر متر) مقدار کلروفیل‌های a, b و کل به ترتیب حدود ۷، ۹۱ و ۳۵٪ نسبت به پایین‌ترین سطح شوری (۱ دسی زیمنس بر متر) کاهش یافت (شکل‌های ۳، ۴ و ۵). شوری به دلیل تغییر در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه مانند فتوسنتز، کاهش مقدار کلروفیل‌ها، کاهش هدایت روزنه‌ای، کاهش فعالیت رابیسکو و افزایش نسبت کلروفیل‌های a/b، بر رشد گیاه تأثیر می‌گذارد (۱۶). کاهش در مقدار کلروفیل در شرایط شوری در اسفناج (۳۰)، سرخارگل (۳۱) و گونه‌های آتریپلکس نیز گزارش شده است (۲۲). کاهش در مقدار کلروفیل می‌تواند مربوط به تجمع یون‌های سدیم و کلر باشد که سبب جلوگیری از ساخت رنگدانه‌ها می‌شود (۲۲). پژوهشگرها بیان کردند که در شرایط تنش از بین کمپلکس‌های دریافت کننده نور، کلروفیل b آسیب بیشتری می‌بیند که باعث کاهش آن در کلروپلاست‌ها و افزایش نسبت کلروفیل‌های a به b در شرایط تنش خواهد شد (۲۵). در گزارشی دیگر نیز نشان داده شده است که تنش غلظت کلروفیل b را بیشتر از کلروفیل a کاهش می‌دهد (۳). کاهش مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی در شرایط شوری می‌تواند بیشتر به دلیل تخریب ساختار کلروپلاست و دستگاه فتوسنتزی، اکسیداسیون نوری کلروفیل‌ها به دلیل تخریب کلروفیل‌ها به وسیله آنزیم کلروفیل‌لاز و گونه‌های اکسیژن فعال تولید شده در طی تنفس نوری (۲۲) و جلوگیری از ساخت کلروفیل‌های جدید باشد (۳۸).

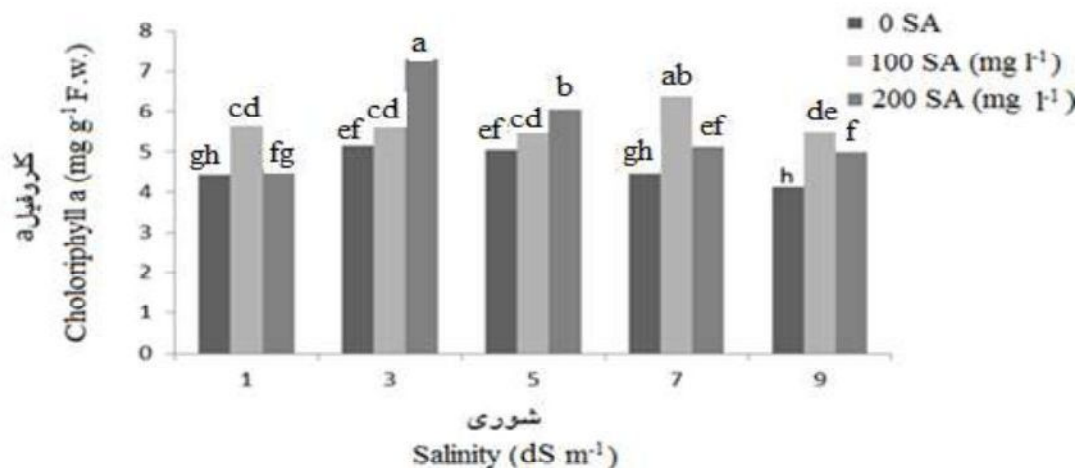


Fig. 3. Interactions effects of salinity and salicylic acid on chlorophyll a.

شکل ۳- اثر برهمکنش شوری و سالیسیلیک اسید بر کلروفیل a.

در این پژوهش کاربرد سالیسیلیک اسید سبب افزایش رنگدانه‌ها شد (شکل‌های ۳، ۴ و ۵). غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سالیسیلیک اسید سبب افزایش بیشتر کلروفیل‌های a, b و کل به ترتیب ۲۰، ۲۱ و ۲۸٪ نسبت به شاهد شد.

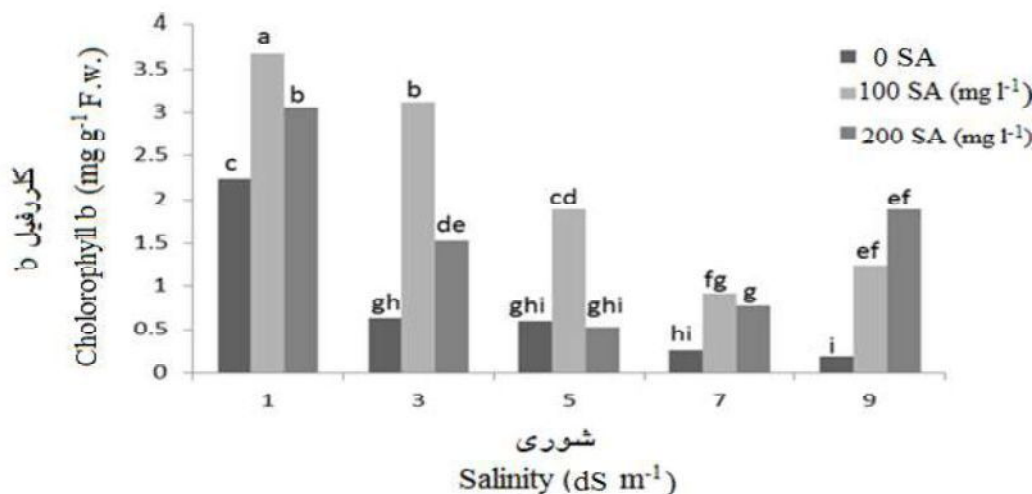


Fig. 4. Interactions effects of salinity and salicylic acid on chlorophyll b.

شکل ۴- اثر برهمکنش شوری و سالیسیلیک اسید بر کلروفیل b.

این واقعیت به خوبی ثابت شده است که سالیسیلیک اسید پاسخ متابولیکی وسیعی در گیاهان ایجاد می‌کند و همچنین بر ویژگی‌های فتوسنتزی و رابطه‌های آبی گیاه اثر می‌گذارد. در گزارشی نشان داده شده است که غوطه‌وری بذر به صورت پیش تیمار در غلظت 10^{-5} مولار سالیسیلیک اسید در شرایط بدون تنش سبب افزایش مقدار رنگدانه‌ها در دانه‌های گندم شد در صورتی که غلظت‌های بالاتر سالیسیلیک اسید سبب بهبود این ویژگی نشد (۹).

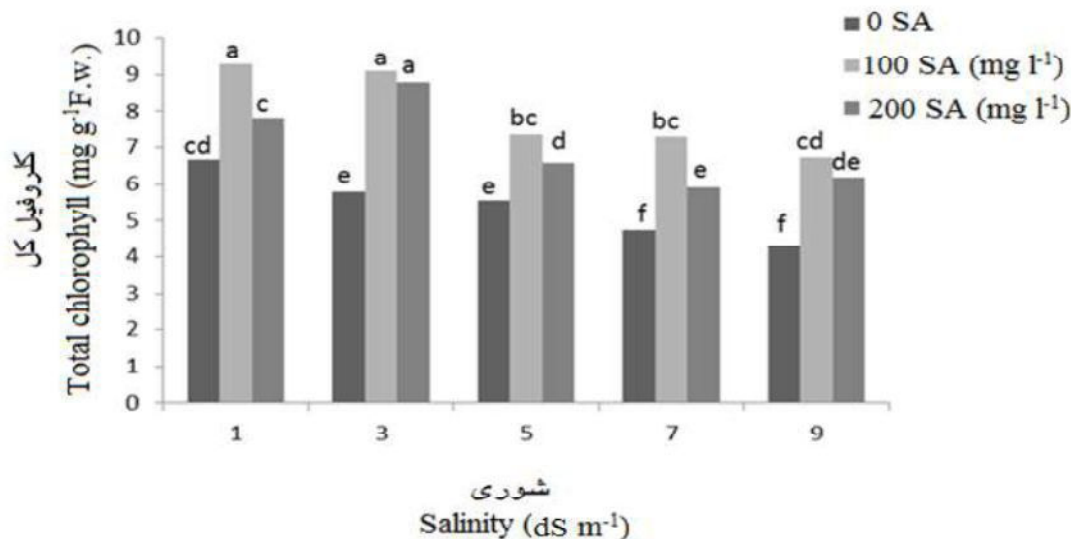


Fig. 5. Interactions effects of salinity and salicylic acid on total chlorophyll.

شکل ۵- اثر برهمکنش شوری و سالیسیلیک اسید بر کلروفیل کل.

محلول‌پاشی گیاه کلزا با غلظت سالیسیلیک اسید 10^{-5} مولار نیز به طور معنی‌داری مقدار کلروفیل‌ها را افزایش داد، هر چند غلظت‌های بالاتر اثر بازدارنده داشت (۱۲).

بیشترین مقدار کلروفیل‌های a، ۷/۲۷ میلی گرم بر گرم در شوری ۳ دسی زمینس بر متر و با کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سالیسیلیک اسید و کمترین مقدار آن ۴/۱۲ و در شوری ۹ دسی زمینس بر متر و بدون کاربرد

سالیسیلیک اسید بود (شکل ۳). بیشترین مقدار کلروفیل‌های b ($3/68$ میلی گرم بر گرم) نیز، در پایین‌ترین سطح شوری با کاربرد غلظت 100 میلی‌گرم بر لیتر سالیسیلیک اسید و کمترین مقدار ($0/19$ میلی گرم بر گرم) در بالاترین سطح شوری و بدون کاربرد سالیسیلیک اسید بود. بیشترین مقدار کلروفیل‌های کل در پایین‌ترین سطح شوری و کاربرد غلظت 100 میلی‌گرم بر لیتر سالیسیلیک اسید و کمترین مقدار آن در بالاترین سطح شوری و بدون کاربرد سالیسیلیک اسید مشاهده شد (شکل ۴). مشابه این پژوهش، شوری در جو، کلروفیل a و b را کاهش داد، ولی محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید با غلظت 50 میکرومولار در شوری 150 میلی مولار سبب افزایش کلروفیل‌های a و b شد (10). سالیسیلیک اسید به دلیل اثر بر ساخت کلروفیل‌ها و اثر محرک بر ظرفیت فتوسنتزی، از راه انگیزش فعالیت آنزیم ریبسکو در افزایش سطح عملکرد فتوسنتز نقش دارد (11).

فلورسانس کمینه، بیشینه و عملکرد کوانتومی

نتیجه‌های این پژوهش نشان داد اثر شوری و سالیسیلیک اسید بر فلورسانس کلروفیل کمینه، بیشینه و عملکرد کوانتومی در سطح احتمال 1% معنی‌دار شد. برهمکنش شوری و سالیسیلیک اسید فقط در عملکرد کوانتومی در سطح احتمال 1% معنی‌دار شد ولی در فلورسانس کلروفیل کمینه و بیشینه معنی‌دار نبود (جدول‌های ۱ و ۳). با افزایش سطح‌های شوری فلورسانس بیشینه و عملکرد کوانتومی کاهش و فلورسانس کمینه افزایش یافت. در بیشترین سطح شوری فلورسانس بیشینه حدود 30% نسبت به شاهد کاهش ولی فلورسانس کمینه 46% نسبت به شاهد افزایش یافت (جدول ۱). در فلورسانس کمینه کاربرد سالیسیلیک اسید سبب کاهش مقدار آن شد. کاربرد سالیسیلیک اسید 100 و 200 میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب سبب کاهش 10 و 6 درصدی فلورسانس کمینه نسبت به شاهد شد (جدول ۲). فلورسانس بیشینه در کاربرد سالیسیلیک اسید 100 و 200 میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب 12 و 7% نسبت به شاهد افزایش یافت. در مطالعه‌ای که بر روی گیاه جو انجام شد، مشخص شد که انتقال الکترون بعد از اعمال تنش شوری کاهش یافت در حالی که مقدار انرژی جذب شده ثابت باقی مانده بود (16)، که این دو موضوع منجر به آسیب دیدن دستگاه فتوسنتزی می‌شود. تنش‌هایی نظیر شوری و خشکی به دلیل آسیب به دستگاه فتوسنتزی به خصوص فتوسیستم (II) و جدا نمودن برخی از پلی‌پپتیدها از آن، مسدود شدن زنجیره انتقال الکترون در حضور غلظت‌های بالای نمک از جمله کلر (24) و با تأثیر منفی که بر برخی از پروتئین‌های کمپلکس کینون می‌گذارند، ظرفیت پذیرش و انتقال الکترون را کاهش می‌دهند و در نتیجه سیستم به سرعت به بیشینه فلورسانس (F_m) می‌رسد که نتیجه آن کاهش فلورسانس متغیر (F_v) خواهد بود (37). کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم (II) به صورت نسبت F_v/F_m بیان می‌شود، بنابراین تنش‌های محیطی با تأثیر بر فتوسیستم (II) باعث کاهش این نسبت می‌شوند. کاهش‌های مشاهده شده در کارایی عملکرد کوانتومی فتوسیستم (II)، اشاره به کاهش سرعت انتقال الکترون در زنجیره انتقال الکترون کلروپلاستی دارد و کاهش پذیرنده‌های الکترون ممکن است باعث افزایش احتمال تولید رادیکال‌های واکنش‌پذیر شود، که این رادیکال‌های آزاد می‌توانند به اجزای فتوسیستم (II) آسیب وارد نمایند (21). کند بودن روند کاهشی پتانسیل عملکرد کوانتوم (F_v/F_m) نشانه افزایش مقدار حفاظت نوری است (29).

اگرچه با افزایش سطح‌های شوری عملکرد کوانتومی نیز کاهش یافت اما کلیه سطح‌های کاربرد سالیسیلیک اسید سبب افزایش عملکرد کوانتومی شد. تأثیر مثبت سالیسیلیک اسید بر عملکرد فتوسیستم (II) و بیشینه عملکرد فتوسیستم (II) در گیاهان خیار در شرایط تنش گرما (36)، گیاه کنف در شرایط تنش کادمیوم (35) و لوبیا در شرایط تنش خشکی (23) گزارش شده است. در این پژوهش اگرچه کاربرد سالیسیلیک اسید در پایین‌ترین سطح شوری تفاوت معنی‌داری در عملکرد کوانتومی ایجاد نکرده بود، اما با افزایش سطح شوری این هورمون گیاهی مانع از کاهش قابل توجه این ویژگی شد. کمترین مقدار عملکرد کوانتومی نیز با مقدار $0/584$ در شوری 9 دسی زیمنس بر متر و بدون کاربرد سالیسیلیک اسید به دست آمد (شکل ۶).

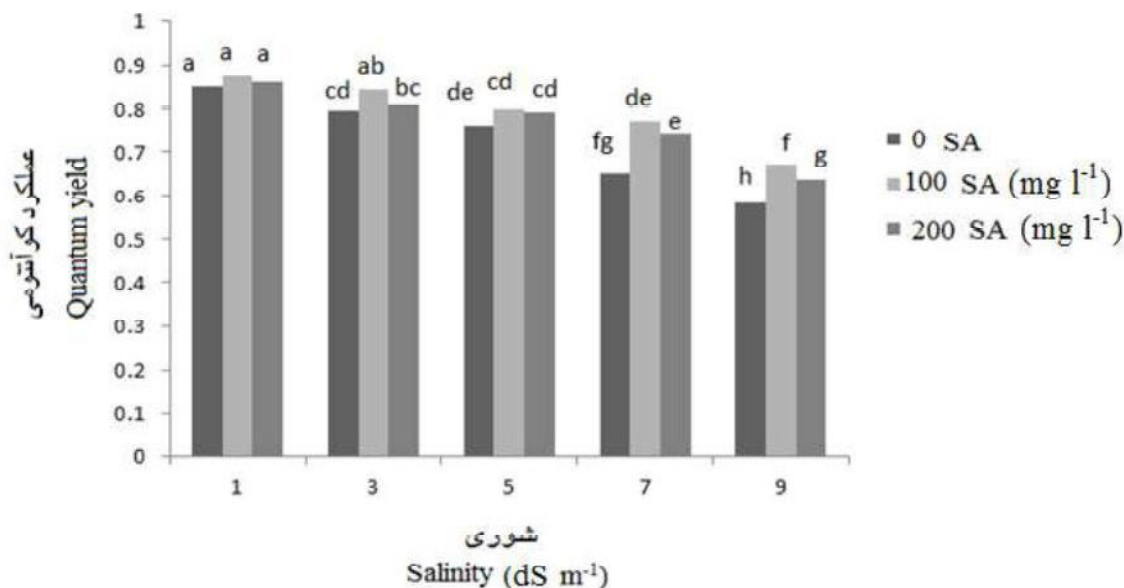


Fig. 6. Interactions effects of salinity and salicylic acid on quantum yield.

شکل ۶- اثر برهمکنش شوری و سالیسیلیک اسید بر عملکرد کوانتومی.

نتیجه‌گیری

نتیجه‌های به دست آمده در این پژوهش نشان داد که، تنش شوری موجب کاهش قابل توجه رنگدانه‌های فتوسنتزی همچنین کاهش فلورسانس بیشینه و ارتفاع گیاه شد. سطح‌های بالای شوری نیز موجب کاهش عملکرد کوانتومی شد. کاربرد سالیسیلیک اسید به دلیل نقش دفاعی خود، سبب افزایش وزن خشک کل، ارتفاع شاخساره، طول ریشه، کلروفیل a، b و کل، فلورسانس بیشینه و عملکرد کوانتومی نسبت به شاهد شد. با افزایش سطح‌های شوری فلورسانس کمینه افزایش پیدا کرد اما کاربرد سطح‌های مختلف سالیسیلیک اسید سبب کاهش این ویژگی شد.

References

منابع

1. Aftab, T., M. Masroor, A., Khan, J.A. Teixeira da Silva, M. Idrees, M. Naeem and Moinuddin. 2011. Role of salicylic acid in promoting salt stress tolerance and enhanced artemisinin production in *Artemisia annua* L. J. Plant Growth Regul. 30:425-435.
2. Amirjan, M.R., A. Iranbakhsh, and M.H. Abnosi. 2008. Molecular mechanism of photosynthesis. Arak University Publication. (In Persian).
3. Ashraf, M.Y., A.R. Azmi, A.H. Khan and S.A. Ala. 1994. Effect of water on total phenols, peroxidase activity and chlorophyll content in wheat. Acta Physiol. Plantarum 16:185-191.
4. Baatour, O., R. Kaddour, W. Aidi Wannes, M. Lachaal and B. Marzouk. 2009. Salt effects on the growth, mineral nutrition, essential oil yield and composition of marjoram (*Origanum majorana*). Acta Physiol. Plantarum 32:45-51.

5. Bayat, H., M. Alirezaie and H. Neamati. 2012. Impact of exogenous salicylic acid on growth and ornamental characteristics of calendula (*Calendula officinalis* L.) under salinity stress. J. Stress Physiol. Biochem. 8:258-267.
6. Behra, R.K., P. Mishra and N.K. Choudhury. 2002. High irradiance and water stress induce alterations in pigment composition and chloroplast activities of primary wheat leaves. J. Plant Physiol. 159:967-973.
7. Bhardway, R. and G. Singhal. 1981. Effect of water stress on photochemical activity of chloroplasts during greening etiolated barley seedling. Plant Cell Physiol. 22:155-162.
8. Doganlar, Z.B., K. Demir, H. Basak and I. Gul. 2010. Effects of salt stress on pigment and total soluble protein contents of three different tomato cultivars. African J. Agr. Res. 5:2056-2065.
9. Fariduddin, Q., S. Hayat and A. Ahmad. 2003. Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity and seed yield in *Brassica juncea*. Photosynthetica 41:281-284.
10. Fayez, K.A. and S.A. Bazaid. 2014. Improving drought and salinity tolerance in barley by application of salicylic acid and potassium nitrate. J. Saudi Soc. Agr. Sci. 13:45-55.
11. Gautam, Sh. and P.K. Singh. 2009. Salicylic acid-induced salinity tolerance in corn grown under NaCl stress. Acta Physiol. Plant. 31:1185-1190.
12. Gunes, A., A. Inal, M. Alpaslan, F. Eraslan, E. Guneri Bagci and N. Cicek. 2007. Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) grown under salinity. J. Plant Physiol. 164:728-736.
13. Hayat, Q., Sh. Hayat, M. Irfan and A. Ahmad. 2010. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. Environ. Exp. Bot. 68:14-25.
14. Hussein, M.M., L.K. Balbaa and M.S. Gaballah. 2007. Salicylic acid and salinity effects on growth of maize plants. Research J. Agr. Biol. Sci. 3:321-328.
15. Iqbal, N., Sh. Umar, N.A. Khan and M.I.R. Khan. 2014. A new perspective of phytohormones in salinity tolerance: Regulation of proline metabolism. Environ. Exp. Bot. 100:34-42.
16. Kalaji, H .M. Govindjee, K. Bosa, J. Koscielniak and K. Zuk-Golaszewska. 2011. Effects of salt stress on photosystem II efficiency and CO₂ assimilation of two Syrian barley landraces. Environ. Exp. Bot. 73:64-72.
17. Keshtehgar, A., Kh. Rigi and M.R. Vazirimehr. 2013. Effects of salt stress in crop plants. Inter. J. Agr. Crop Sci. 5:2863-2867.

18. Khalid, K.A. and J.A. Teixeira da silva. 2012. Biology of *Calendula officinalis* Linn: focus on pharmacology, biological activities and agronomic practices. Medicinal Aromatic plant Sci. Biotech. 6:12-27.
19. Lauchli, A. and S.R. Grattan. 2007. Plant growth and development under salinity stress. In: Jenks, M.A., Hasegawa, P.M. and Jain, S.M: Advances in Molecular Breeding Toward Drought and Salt Stress Tolerant Crops, chapter 1. Springer Netherlands, 1:817.
20. Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods Enzym. 148:350-382.
21. Lu, C., N. Qiu, Q. Lu, B. Wang and T. Kuango. 2002. Does salt stress lead to increased susceptibility of photosystem II to photoinhibition and changes in photosynthetic pigment composition in halophyte *Sueda salsa* grown outdoors? Plant Sci. 163:1063-1068.
22. Nedjimi, B. 2014. Effects of salinity on growth, membrane permeability and root hydraulic conductivity in three saltbush species. Biochem. Systematics Ecol. 52:4-13.
23. Nelson, B.M.N. and A.B.D. Maria. 2006. Physiological and biochemical response of common bean varieties treated with salicylic acid under water stress. Crop Breed. Appl. Biotech. 6:269-277.
24. Neocleous, D. and M. Vasilakakis. 2007. Effects of NaCl stress on red raspberry (*Rubus idaeus* L. Autumn Bliss). Sci. Hort. 112:282-289.
25. Oufdou, K., L. Benidire, L. Lyubenova, L. Daoui, Z. Fatemi and P. Schröder. 2014. Enzymes of the glutathione-ascorbate cycle in leaves and roots of rhizobia-inoculated fababean plants (*Vicia faba* L.) under salinity stress. Eur. J. Soil Biol. 60:98-103.
26. Paknejad, F., M. Nasri and H.R. Tohid Moghadam. 2007. Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence parameters, chlorophyll content and grain yield of wheat cultivars. J. Biol. Sci. 7:841-847.
27. Percival G. and A. Henderson. 2003. An assessment of the freezing tolerance of urban trees using chlorophyll fluorescence. J. Hort. Sci. Biotech. 78:254-260.
28. Rady, M.M. 2012. A novel organo-mineral fertilizer can mitigate salinity stress effects for tomato production on reclaimed saline soil. South African J. Bot. 81:8-14.
29. Ramiz, B. and F. Morales. 1994. Chlorophyll fluorescence as a possible tool for salinity tolerance screening in barley. J. Plant Physiol. 104:667-673.
30. Ratnakar, A. and A. Rai. 2013. Alleviation of the effects of NaCl salinity in spinach (*Spinacia oleracea* L. var. All Green) using plant growth regulators. J. Stress Physiol. Biochem. 9:122-128.

31. Sabra, A., F. Daayf and S. Renault. 2012. Differential physiological and biochemical responses of three Echinacea species to salinity stress. *Sci. Hortic.* 135:23-31.
32. Saidi, I., M. Ayouni, A. Dhieb, Y. Chtourous, W. Chaibi and W. Djebali. 2013. Oxidative damages induced by short-term exposure to cadmium in bean plants: Protective role of salicylic acid. *South African J. Bot.* 85:32- 38.
33. Sakhabutdinova, A.R., D.R. Fatkhutdinova and F.M. Shakirova. 2004. Effect of salicylic acid on the activity of antioxidant enzymes in wheat under conditions of salination. *Appl. Biochem. Microbiol.* 40:501-505.
34. Sedghi, M., R. SeyedSharifi, A.R. Pirzad and B. Amanpour-Balaneji. 2012. Phytohormonal regulation of antioxidant systems in petals of drought stressed pot Marigold (*Calendula officinalis* L.). *J. Agr. Sci. Technol.* 14:869-878.
35. Shi, G.R., Q.S. Cai, Q.Q. Liu and L. Wu. 2009. Salicylic acid-mediated alleviation of cadmium toxicity in hemp plants in relation to cadmium uptake, photosynthesis, and antioxidant enzymes. *Acta Physiol. Plantarum* 31:969-977.
36. Shi, Q., Z. Bao, Z. Zhu, Q. Ying and Q. Qian. 2006. Effects of different treatments of salicylic acid on heat tolerance, chlorophyll fluorescence and antioxidant enzyme activity in seedlings of *Cucumis sativa* L. *J. Plant Growth Regul.* 48:127-135.
37. Stepien, P. and G. Klobus. 2006. Water relations and photosynthesis in *Cucumis sativus* L. leaves under salt stress. *Biol. Plantarum* 50:610-616.
38. Sultan, A. 2005. Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. *Environ. Exp. Bot.* 42:211-220.
39. Torbaghan, M.E. 2012. Effect of salt stress on germination and some growth parameters of marigold (*Calendula officinalis* L.). *Plant Sci.* 1:7-19.

Effect of Salicylic Acid on Photosynthetic Pigments and Chlorophyll Fluorescence of Pot Marigold under Salt Stress Conditions

F. Dehghan Niri, V.R. Saffari* and A.A. Moghsoudi Moud¹

Salt stress is the second important environmental stress around the world and in Iran. Salicylic acid has been shown to play an important role in stress tolerance of plants. Photosynthetic pigments are responsible for radiation energy absorption and converting to reducing energy and other metabolic processes. In order to investigate the effects of salicylic acid on reducing the detrimental effects of salinity on photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence of pot marigold, an experiment was conducted in the research greenhouse of SB University of Kerman as a factorial based on RCBD with 5 replication. Results showed that salt stress decreased flower dry matter, chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll content, maximum fluorescence, quantum yield, plant height and root length to 22, 7, 91, 35, 30, 31, 40 and 35 percent compare to the control condition. Salt stress increased minimum fluorescence to 46 percent compare to the control condition. Application of salicylic acid reduces the detrimental effects of salt stress in all plant characteristics.

Key Words: Salinity, Salicylic acid, Quantum yield, Maximum fluorescence, pot marigold.

1. Former M.Sc. Student and Associate Professors of Horticulture, College of Agriculture, Shahid Bahonar University, Kerman, I.R.Iran, respectively.

*Corresponding author, Email: (safari@uk.ac.ir)