

## تأثیر تیمار سالیسیلیک اسید بر گیاه توتون (*Nicotiana rustica*) تحت تنش خشکی

قادر حبیبی<sup>۱\*</sup>، زینب صادق‌پور<sup>۲</sup> و رقیه حاجی‌بلند<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران ۳۶۹۷-۱۹۳۹۵، ایران

<sup>۲</sup> گروه زیست‌شناسی گیاهی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

### چکیده

خشکی از طریق تغییر در فتوسنتز و رفتار روزنه‌های گیاهان، باعث افت قابل ملاحظه تولیدات گیاهی می‌شود. از آنجا که کاربرد برون‌زای سالیسیلیک اسید می‌تواند موجب افزایش تحمل تنش خشکی از طریق بهبود مسیرهای متابولیک و افزایش فتوسنتز خالص شود، بررسی حاضر با هدف تعیین تأثیر کاربرد سالیسیلیک اسید (۵/۵ میلی‌مولار) تحت تنش خشکی (۵۰ درصد ظرفیت مزرعه) در گیاه توتون (*Nicotiana rustica*) رشد یافته در شرایط گلخانه‌ای و در بستر پرلیت انجام شد. در این آزمایش، ۲۸ روز خشکی باعث کاهش معنی‌دار سرعت تثبیت دی‌اکسید کربن و شاخص هدایت روزنه‌ای و در نتیجه افت قابل ملاحظه وزن خشک اندام هوایی و ریشه و طول ریشه در گیاه توتون شد. با وجود این، شاخص‌های مربوط به واکنش‌های نوری فتوسنتز از جمله کارآیی بیشینه فتوسیستم II تحت تأثیر خشکی قرار نگرفت که علت آن استعداد برگ‌های این گیاه در افزایش مؤثر خاموش‌شدگی غیرفتوشیمیایی و نقش این افزایش در حفاظت نوری فتوسیستم‌ها بود. خشکی بیشتر از طریق تأثیر بر عوامل روزنه‌ای باعث محدودیت فتوسنتز و رشد در این گیاه شد. کاربرد برگی سالیسیلیک اسید در شرایط خشکی موجب تقویت اثر خشکی در افزایش غلظت آمینو اسید کل در گیاه توتون گردید. با وجود این، علیرغم افزایش محافظ‌های اسمزی و غلظت کلروفیل a توسط سالیسیلیک اسید، به علت افزایش تعرق در گیاهان تحت تنش خشکی بدون افزایش قابل توجه فتوسنتز، این هورمون نتوانست باعث تخفیف آثار زیانبار تنش خشکی در کاهش رشد گیاه توتون شود.

**واژه‌های کلیدی:** سالیسیلیک اسید، توتون، خاموش‌شدگی غیرفتوشیمیایی، خشکی، فتوسنتز، سرعت تعرق، کلروفیل a

مقدمه  
که تولید ماده خشک و عملکرد گیاهان را کاهش

می‌دهد. کاهش بارندگی در سال‌های اخیر به دنبال

خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است

افزایش فتوسنتز خالص و کاهش تعرق در گیاه کلم (Fariduddin *et al.*, 2003) شده است؛ همچنین، گزارش‌هایی دال بر تأثیر بر جذب یون‌ها در اثر کاربرد برون‌زای سالیسیلیک اسید وجود دارد (Hayat and Ahmad, 2007).

گزارش‌ها در مورد تأثیر کاربرد سالیسیلیک اسید بر پاسخ گیاه به تنش خشکی نسبتاً زیاد است (Hayat *et al.*, 2008؛ Kadioglu *et al.*, 2011). تأثیر کاربرد سالیسیلیک اسید در تخفیف تنش خشکی در گوجه‌فرنگی (Hayat *et al.*, 2008) و گندم (Hussein *et al.*, 2007) مطالعه شده است. در این گیاهان، تخفیف تنش خشکی توسط سالیسیلیک اسید اغلب از طریق افزایش سرعت فتوسنتز و بهبود روابط آبی انجام گرفت (Hayat *et al.*, 2010). از سوی دیگر، شیوه افزودن (محلول پاشی برگ یا افزودن به محیط ریشه)، غلظت به کار رفته، مرحله نموی و نیز گونه گیاه در نوع پاسخ القا شده توسط سالیسیلیک اسید برون‌زا تأثیرگذار است (Horváth *et al.*, 2007؛ Hayat *et al.*, 2010). هر چند پژوهش‌های فراوانی پیرامون اثر سالیسیلیک اسید بر تخفیف تنش خشکی در گیاهان و نیز سازوکارهای این اثر انجام شده است، اما پاسخ گیاهان به سالیسیلیک اسید و تنش خشکی و سازوکارهای درگیر در این پاسخ از یک گونه به گونه‌ای دیگر و حتی از رقمی به رقم دیگر متفاوت است. از آنجا که درباره تأثیر تیمار سالیسیلیک اسید در گیاه توتون تحت تنش خشکی تحقیقی انجام نگرفته است، سازوکارهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی اثر سالیسیلیک اسید در این گیاه ناشناخته مانده است. این موضوع که آیا خشکی از

تغییرات اقلیمی در بخش‌های قابل توجهی از کره زمین، دسترسی به آب برای کشاورزی را به مهم‌ترین چالش برای تولیدات گیاهی در این مناطق تبدیل کرده است (Hasanuzzaman *et al.*, 2012). همچنین، پیشروی خشکی در کشورهایی مانند ایران که همواره منطقه کم بارانی بوده است، ضرورت اتخاذ شیوه‌هایی برای مقابله با این معضل را دوچندان کرده است. شناسایی روش‌هایی که موجب تخفیف اثر تنش خشکی شود و تا حد ممکن از افت عملکرد گیاهان جلوگیری نماید، می‌تواند یکی از روش‌های مقابله با این معضل باشد (Kadioglu *et al.*, 2011؛ Wang *et al.*, 2004).

سالیسیلیک اسید یک ترکیب فنلی و شبه هورمونی است و نقش آن به عنوان یک مولکول علامتی در پاسخ‌های گیاهان به عوامل محیطی نشان داده شده است. این ترکیب درای تأثیرات متابولیسمی متنوع نظیر: افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیداتیو (Nazar *et al.*, 2011؛ Syeed *et al.*, 2011؛ Khan *et al.*, 2012) و تأثیر روی تنفس و تمامیت غشاها است (Hayat *et al.*, 2010). تأثیر کاربرد برون‌زای سالیسیلیک اسید در افزایش تحمل تنش‌های مختلف زیستی و غیرزیستی بررسی شده است (Hayat *et al.*, 2010؛ Kadioglu *et al.*, 2011). سالیسیلیک اسید موجب افزایش تحمل تنش ناشی از پرتوهای فرابنفش در گیاه بادرنجبویه می‌شود (Pourakbar and Abedzadeh, 2014). کاربرد برون‌زای سالیسیلیک اسید موجب افزایش تحمل تنش شوری در گیاه جو (El Tayeb, 2005) و درمنه کوهی (Rezayatmand *et al.*, 2013)، افزایش غلظت رنگیزه‌های برگ،

طریق عوامل روزنه‌ای یا غیرروزنه‌ای یا هر دو باعث افت فتوسنتز و رشد توتون می‌شود و توتون در پاسخ به تنش خشکی چگونه غلظت محافظ‌های اسمزی را افزایش و رفتار روزنه‌ها را تغییر می‌دهد و آیا به کارگیری سالیسیلیک اسید می‌تواند باعث افزایش تحمل تنش خشکی در گیاه توتون و تخفیف آثار زیانبار تنش اکسیداتیو حاصل از خشکی شود، از جمله پرسش‌های مطرح شده در پژوهش حاضر است. بنابراین، تلاش شد تا از طریق تعیین تغییر در غلظت رنگیزه‌های مختلف برگ شامل کلروفیل‌های a و b، کاروتنوئید، آنتوسیانین و فلاونوئید، قند محلول، نشاسته، آمینو اسید کل، شاخص‌های مختلف فلئورسانس کلروفیل و شاخص‌های تبادل گاز برگ شامل: شدت تثبیت دی‌اکسید کربن، شدت تعرق و درجه گشودگی روزنه‌ها، اثر تیمار سالیسیلیک اسید بر تحمل خشکی گیاه توتون بررسی شود.

## مواد و روش‌ها

از بذر گیاه توتون (*Nicotiana rustica* L.) رقم باسماس (Basmás) تهیه شده از مرکز تحقیقات کشاورزی استان آذربایجان غربی استفاده شد. بذور به مدت ۵ تا ۷ دقیقه با هیپوکلریت سدیم تجاری ۵ درصد ضدعفونی شده، به دفعات با آب مقطر شستشو داده شد. بذور ضدعفونی شده، جهت جوانه‌زنی روی پرلیت مرطوب و در تاریکی قرار گرفتند. دانه‌رُست‌های سه روزه به روشنایی در گلخانه با شرایط کنترل شده، منتقل و با محلول غذایی هوگلند (Hoagland and Arnon, 1950) و آب مقطر آبیاری شدند. پس از یک هفته پیش

کشت، گیاهان به گلدان‌های دو لیتری منتقل شدند و دو تیمار آبیاری شامل شاهد (آبیاری در حد ظرفیت مزرعه‌ای) و خشکی (آبیاری در حد ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) آغاز شد. همزمان با آغاز اعمال خشکی، دو تیمار محلول پاشی شامل: شاهد (محلول پاشی با آب مقطر) و سالیسیلیک اسید نیز آغاز شد. سالیسیلیک اسید (تهیه شده از شرکت Merck آلمان) با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار و در سه نوبت با فاصله یک هفته، به طور یکنواخت در محیط نیمه تاریک روی برگ‌ها محلول پاشی شد و پس از خشک شدن سطح برگ، گیاهان مجدداً به شرایط روشنایی گلخانه انتقال یافتند. حجم محلول غذایی استفاده شده به ازای هر گیاه از ۱۰۰ میلی‌لیتر در هفته آغاز و در مراحل پایانی رشد به ۳۰۰ میلی‌لیتر در هفته رسید. افزودن آب یا محلول غذایی برای رساندن گلدان‌ها به ظرفیت مزرعه‌ای مورد نظر، پس از توزین روزانه انجام می‌گرفت. گیاهان در شرایط گلخانه با دوره روشنایی ۱۶/۸ ساعت، رطوبت ۳۰/۴۰ درصد و دمای ۱۹/۲۸ درجه سانتیگراد (به ترتیب در دوره روشنایی/تاریکی) و شدت نور ۴۰۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه رشد کردند. هشت هفته پس از آغاز تیمار، گیاهان برداشت شدند.

برای تعیین وزن خشک، نمونه‌ها در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت در آون خشک شدند، سپس، وزن آنها تعیین گردید. سنجش شاخص‌های فلئورسانس کلروفیل و تبادل گاز روی سومین برگ جوان، پیش از برداشت و توزین گیاهان انجام شد و سنجش رنگیزه‌ها و متابولیت‌ها روی نمونه‌های تازه برداشت شده یا نگهداری شده در ازت مایع انجام شد.

آلومینیومی قرار گرفته، تا زمان سنجش در ازت مایع نگهداری شدند. استخراج ماده مورد نظر با استفاده از استون روی یخ و با هاون چینی سرد انجام شد. ۲۴ ساعت پس از استخراج در استون ۱۰۰ درصد، غلظت کلروفیل و کاروتنوئیدها توسط اسپکتروفتومتر (مدل Shimadzu AA-6500، شرکت Shimadzu، ژاپن) تعیین شد. جذب در طول موج‌های ۶۶۲، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری و غلظت کلروفیل‌های a، b و کل و کاروتنوئیدها محاسبه شد (Lichtentaler and Wellburn, 1985).

#### سنجش قندهای محلول و نشاسته: برای سنجش

کربوهیدرات‌ها، عصاره گیاهی با استفاده از بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (اسیدیته ۷/۵) استخراج شد. محلول روشن‌آور برای سنجش قند محلول کل با استفاده از معرف آنترون سولفوریک و رسوب حاصل برای سنجش نشاسته با استفاده از معرف یدین-HCl مورد استفاده قرار گرفت. رسوب حاصل در دی متیل سولفو کسید و هیدروکلریک اسید ۸ نرمال (۱:۴ حجمی) حل شد و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰g سانتیفریوژ شد. معرف یدین، عصاره گیاهی و آب مقطر به نسبت ۱:۱:۵ در لوله شیشه‌ای ریخته شد و پس از ۱۵ دقیقه جذب نمونه‌ها در دمای محیط در ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. نتایج بر حسب میلی‌گرم بر گرم FW ثبت شد. برای تهیه محلول‌های استاندارد از غلظت‌های ۰ تا ۱۰ میلی‌گرم نشاسته استفاده شد. برای سنجش قند محلول کل از معرف آنترون سولفوریک استفاده شد. معرف آنترون سولفوریک و عصاره گیاهی

#### سنجش شاخص‌های فلئورسانس کلروفیل و

شاخص‌های تبادل گاز: برای تعیین فلئورسانس کلروفیل، از دستگاه فلئورسانس سنج (مدل OSF1، شرکت Opti-Sciences ADC، انگلستان) استفاده شد. شاخص‌های فلئورسانس کلروفیل در برگ‌های سازش یافته با تاریکی شامل  $F_0$  (فلئورسانس پایه) و  $F_m$  (فلئورسانس بیشینه) و همین شاخص‌ها در برگ‌های سازش یافته با روشنایی شامل  $F_t$  (شدت فلئورسانس پایه) و  $F_{ms}$  (شدت فلئورسانس بیشینه) اندازه‌گیری شد. سپس، محاسبات لازم برای به دست آوردن سایر شاخص‌ها از جمله کارآیی بیشینه فتوشیمیایی فتوسیستم II ( $F_v/F_m$ )، نسبت فلئورسانس متغیر به پایه ( $F_v/F_0$ )، ظرفیت برانگیختگی فتوسیستم II ( $F'_v/F'_m$ )، خاموش‌شدگی فتوشیمیایی ( $q_p$ ) و غیرفتوشیمیایی (NPQ) انجام شد (Krall and Edwards, 1992). برای اندازه‌گیری شاخص‌های مختلف تبادل گاز فتوستتزی از دستگاه تبادل گاز پرتابل (قابل حمل) کالیبره شونده (مدل LCA4, ADC، شرکت Bioscientific LTD، انگلستان) استفاده شد. شاخص‌های اندازه‌گیری شده شامل: شدت فتوستتزی (A) بر حسب میکرومول بر متر مربع بر ثانیه، تعرق (E) بر حسب میلی‌مول بر متر مربع بر ثانیه و هدایت روزنه ای ( $g_s$ ) بر حسب مول بر متر مربع بر ثانیه بود.

#### سنجش رنگیزه‌های برگ: برای سنجش مقدار

رنگیزه‌ها، نمونه‌های گیاهی با آب دو بار تقطیر شستشو روی کاغذ صافی خشک شدند. پس از اندازه‌گیری وزن تر (تقریباً ۲۰۰ میلی‌گرم)، نمونه‌ها درون ورقه

فلوئورسانس متغیر به پایه  $(F_v/F_0)$ ، کارآیی بیشینه فتوسیستم II  $(F_v/F_m)$ ، کارآیی عملی فتوسیستم II  $(F'_v/F'_m)$  و خاموش شدگی فتوشیمیایی (qP) به غیر از خاموش شدگی غیرفتوشیمیایی (NPQ) به طور معنی دار تحت تأثیر دو تیمار خشکی و سالیسیلیک اسید قرار نگرفتند، اما سالیسیلیک اسید در تیمار خشکی موجب افزایش معنی دار در خاموش شدگی غیرفتوشیمیایی شد (جدول ۱).

سرعت تثبیت دی اکسید کربن، تحت تأثیر تیمار خشکی کاهش یافت، اما سالیسیلیک اسید موجب افزایش جزئی آن شد. شدت تعرق تحت تأثیر خشکی قرار نگرفت، اما تیمار سالیسیلیک اسید موجب افزایش معنی دار آن شد. هدایت روزنه‌ای هر چند در شرایط تنش خشکی کمتر از شاهد بود، اما تیمار سالیسیلیک اسید موجب افزایش جزئی در آن شد (شکل ۲).

تنش خشکی بر غلظت قندهای محلول در اندام هوایی اثر معنی دار نداشت، اما غلظت آنها را در ریشه کاهش داد. تیمار سالیسیلیک اسید موجب افزایش معنی دار غلظت نشاسته در اندام ریشه شد. غلظت آمینو اسیدها به طور معنی دار تحت تأثیر دو تیمار خشکی و سالیسیلیک اسید قرار گرفتند و خشکی موجب افزایش جزئی آن شد. در حالی که تیمار سالیسیلیک اسید غلظت آمینو اسیدها را در اندام هوایی و ریشه‌ها به طور معنی دار و مؤثر افزایش داد. غلظت پروتئین‌های محلول به طور قابل توجهی تحت تأثیر هیچ کدام از دو تیمار مورد نظر تغییر نکرد (جدول ۲).

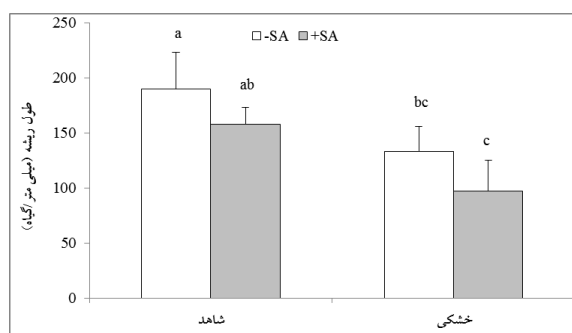
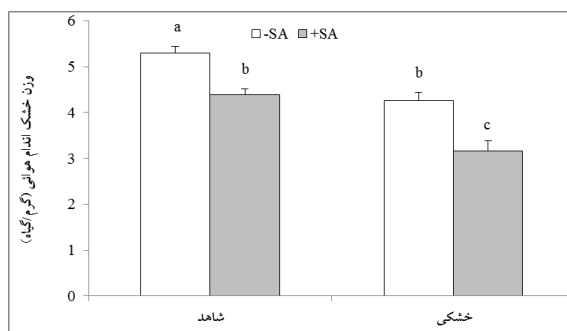
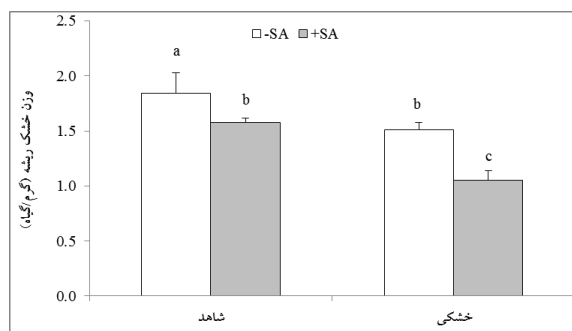
به نسبت ۵:۱ درون لوله‌های آزمایش شیشه‌ای ریخته شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد در حمام آب گرم قرار گرفت. پس از سرد شدن، جذب در ۶۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای تهیه محلول‌های استاندارد از غلظت‌های ۰ تا ۱۸ میلی گرم گلوکز استفاده شد (Magné et al., 2006).

**تحلیل داده‌ها:** آزمایش در طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو سطح آبیاری و دو سطح محلول پاشی با سالیسیلیک اسید هر کدام با چهار تکرار اجرا شد. تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار سیگما استات (نسخه ۳/۰۲) و آزمون توکی در سطح پنج درصد انجام شد.

## نتایج

تیمار خشکی موجب کاهش معنی دار در وزن خشک اندام هوایی، ریشه و طول ریشه شد. تیمار سالیسیلیک اسید نتوانست از کاهش معنی دار در وزن خشک اندام هوایی، ریشه و طول ریشه ممانعت کند، به طوری که کمترین وزن خشک و طول ریشه در گیاهان تحت تنش خشکی و تیمار شده با سالیسیلیک اسید مشاهده شد (شکل ۱).

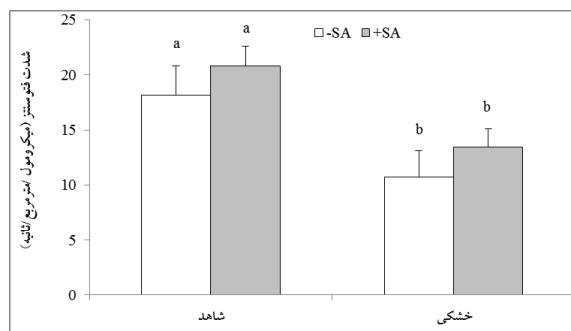
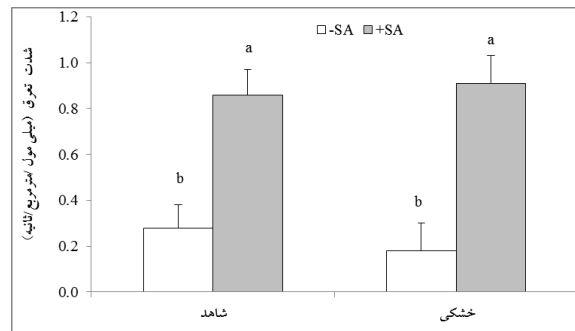
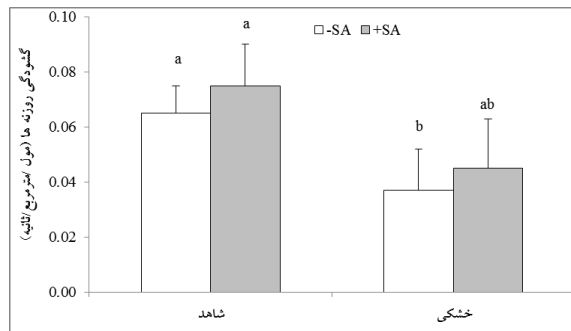
غلظت کلروفیل a تحت تأثیر خشکی قرار نگرفت، اما تیمار سالیسیلیک اسید موجب افزایش معنی دار آن شد. تأثیر تیمار سالیسیلیک اسید در مورد سایر رنگیزه‌ها نیز از این الگو تبعیت نمود، اما این تأثیر جزئی بوده، از نظر آماری معنی دار نبود (جدول ۱). هیچ کدام از شاخص‌های فلوئورسانس کلروفیل شامل نسبت



شکل ۱- وزن خشک اندام هوایی و ریشه و طول ریشه در گیاه توتون (*Nicotiana rustica* L.) در شرایط شاهد و خشک، در غیاب و حضور سالیسیلیک اسید پس از چهار هفته رشد. مقادیر، میانگین ۴ تکرار  $\pm$  StD (انحراف معیار) است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح  $P < 0.05$  است.

جدول ۱- غلظت (میلی گرم بر گرم وزن تر) رنگیزه‌های مختلف برگ شامل کلروفیل‌های a و b، کاروتنوئید، آنتوسیانین و فلاونوئید و شاخص‌های مختلف فلوروسانس کلروفیل شامل نسبت فلوروسانس متغیر به پایه  $(F_v/F_0)$ ، کارایی بیشینه فتوسیستم II  $(F_v/F_m)$ ، کارایی عملی فتوسیستم II  $(F'_v/F'_m)$ ، خاموش‌شدگی فتوشیمیایی (qP) و غیرفتوشیمیایی (qN) در گیاه توتون (*Nicotiana rustica* L.) در شرایط شاهد و خشک، در غیاب و حضور سالیسیلیک اسید پس از چهار هفته رشد. مقادیر، میانگین ۴ تکرار  $\pm$  StD (انحراف معیار) است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح  $P < 0.05$  است.

تیمارها	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئید	آنتوسیانین	فلاونوئید
شاهد -SA	1/97 ± 0/12 <sup>b</sup>	0/68 ± 0/10 <sup>a</sup>	151 ± 7 <sup>a</sup>	26/8 ± 4/63 <sup>a</sup>	0/20 ± 0/013 <sup>a</sup>
شاهد +SA	2/37 ± 0/17 <sup>a</sup>	0/83 ± 0/09 <sup>a</sup>	177 ± 16 <sup>a</sup>	30/7 ± 2/22 <sup>a</sup>	0/21 ± 0/019 <sup>a</sup>
خشکی -SA	1/9 ± 0/12 <sup>b</sup>	0/63 ± 0/09 <sup>a</sup>	165 ± 19 <sup>a</sup>	28/2 ± 9/07 <sup>a</sup>	0/21 ± 0/019 <sup>a</sup>
خشکی +SA	2/7 ± 0/20 <sup>a</sup>	0/82 ± 0/17 <sup>a</sup>	173 ± 11 <sup>a</sup>	39/2 ± 5/46 <sup>a</sup>	0/29 ± 0/03 <sup>a</sup>
تیمارها	$F_v/F_0$	$F_v/F_m$	$F'_v/F'_m$	qP	NPQ
شاهد -SA	1/57 ± 3/42 <sup>a</sup>	0/83 ± 0/03 <sup>a</sup>	0/75 ± 0/07 <sup>a</sup>	0/87 ± 0/05 <sup>a</sup>	0/14 ± 0/07 <sup>b</sup>
شاهد +SA	1/23 ± 4/67 <sup>a</sup>	0/82 ± 0/03 <sup>a</sup>	0/77 ± 0/05 <sup>a</sup>	0/98 ± 0/13 <sup>a</sup>	0/26 ± 0/18 <sup>ab</sup>
خشکی -SA	1/87 ± 4/71 <sup>a</sup>	0/82 ± 0/07 <sup>a</sup>	0/75 ± 0/01 <sup>a</sup>	0/91 ± 0/04 <sup>a</sup>	0/24 ± 0/04 <sup>ab</sup>
خشکی +SA	1/23 ± 4/81 <sup>a</sup>	0/77 ± 0/07 <sup>a</sup>	0/79 ± 0/01 <sup>a</sup>	0/93 ± 0/04 <sup>a</sup>	0/41 ± 0/06 <sup>a</sup>



شکل ۲- شاخص‌های تبادل گاز برگ شامل شدت تثبیت دی اکسید کربن، شدت تعرق و هدایت روزنه‌ای در گیاه توتون (*Nicotiana rustica* L.) که در شرایط شاهد و خشکی در غیاب و یا در حضور سالیسیلیک اسید به مدت چهار هفته رشد کرده است. مقادیر، میانگین ۴ تکرار  $\pm$  StD (انحراف معیار) است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح  $P < 0.05$  است.

جدول ۲- غلظت (میلی گرم/گرم وزن تر) قند محلول کل، نشاسته، آمینو اسید کل و پروتئین محلول در اندام هوایی و ریشه گیاه توتون (*Nicotiana rustica* L.) که در شرایط شاهد و خشکی در غیاب و یا در حضور سالیسیلیک اسید به مدت چهار هفته رشد کرده است. مقادیر، میانگین ۴ تکرار  $\pm$  StD (انحراف معیار) است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح  $P < 0.05$  است.

اندام هوایی				تیمارها
پروتئین	آمینو اسیدها	نشاسته	قند محلول	
$16/78 \pm 2/98^a$	$0/24 \pm 0/01^b$	$3/96 \pm 0/49^a$	$60/0 \pm 4/87^{ab}$	-SA
$17/02 \pm 1/95^a$	$0/41 \pm 0/03^a$	$3/20 \pm 0/30^a$	$66/9 \pm 1/66^a$	+SA
$18/38 \pm 1/32^a$	$0/34 \pm 0/03^{ab}$	$3/26 \pm 0/32^a$	$53/3 \pm 2/6^b$	-SA
$18/98 \pm 1/25^a$	$0/44 \pm 0/02^a$	$3/07 \pm 0/27^a$	$55/3 \pm 4/2^b$	+SA
ریشه				تیمارها
$7/58 \pm 0/96^a$	$0/64 \pm 0/09^b$	$7/33 \pm 0/20^b$	$66/44 \pm 3/31^a$	-SA
$8/06 \pm 0/31^a$	$0/65 \pm 0/01^b$	$7/76 \pm 0/23^b$	$66/03 \pm 1/98^a$	+SA
$8/57 \pm 0/18^a$	$0/75 \pm 0/04^{ab}$	$7/63 \pm 0/25^b$	$56/91 \pm 2/49^b$	-SA
$8/49 \pm 0/63^a$	$0/80 \pm 0/06^a$	$8/49 \pm 0/11^a$	$57/41 \pm 0/26^b$	+SA

## بحث

خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که تولیدات گیاهی را کاهش می‌دهد. با وجود این، برخی گونه‌های گیاهی قادرند با اتخاذ برخی راهبردها موجب افزایش سازگاری با شرایط خشکی و نیز افزایش قدرت جذب آب از طریق ریشه‌ها شوند. یکی از این روش‌ها، کاهش سطح تعرق (برگ‌ها) و افزایش سطح جذبی (وزن و طول ریشه و افزایش انشعابات) است. افزایش طول ریشه در شرایط تنش خشکی در تعدادی از گونه‌ها گزارش شده است (Bandurska and Stroinski, 2005) و بررسی‌ها تأثیر آبیسیک اسید را به عنوان یک تنظیم‌کننده رشد روی افزایش نسبت ریشه به اندام هوایی نشان داده است (Prokić and Stikić, 2011). در بررسی حاضر، برخلاف گزارش‌های پیشین، در گیاه توتون رشد ریشه افزایش نیافت و طول ریشه در شرایط خشکی کمتر از شرایط آبیاری کامل بود. از سوی دیگر، گزارش‌هایی دال بر تأثیر سالیسیلیک اسید بر افزایش طول ریشه از طریق تحریک منطقه مریستمی وجود دارد (Shakirova et al., 2003) که در بررسی حاضر نیز مشاهده نشد. در مجموع، با در نظر گرفتن شاخص‌های رشد، تیمار سالیسیلیک اسید نتوانست اثر تنش خشکی را تخفیف دهد، به طوری که مقدار وزن خشک و طول ریشه در تیمار همزمان خشکی و سالیسیلیک اسید هم‌افت کرد. تأثیر سالیسیلیک اسید بستگی زیادی به گونه، شرایط کاربرد و غلظت کاربرد دارد. با توجه به این که غلظت به کار رفته در بررسی حاضر در همان محدوده‌ای بود که در مورد سایر گیاهان کمترین غلظت به کار رفته به شمار می‌رود (Hayat et al., 2010)، کم اثر بودن

سالیسیلیک اسید روی شاخص‌های رشد در این آزمایش را نمی‌توان به غلظت بالای این ترکیب نسبت داد. باید در نظر داشت که گزارش‌هایی دال بر تأثیر منفی سالیسیلیک اسید بر رشد گیاهان وجود دارد. می‌توان نتیجه گرفت که مشابه اثر کاربرد سایر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه که بستگی زیادی به گونه و نیز تعادل هورمونی آن گونه در شرایط شاهد یا تنش دارد (Vanacker et al., 2001؛ Horváth et al., 2007)، کاربرد سالیسیلیک اسید نیز به عنوان یک ترکیب شبه هورمونی به عوامل علامت‌رسان و تعادل سایر تنظیم‌کننده‌ها بستگی دارد و در گیاه توتون کاربرد سالیسیلیک اسید موجب بهبود رشد نمی‌شود.

تأثیر مستقیم سالیسیلیک اسید در افزایش رنگیزه‌ها دور از انتظار نیست، زیرا افزایش مختصر در شاخص‌های فلونورسانس کلروفیل که نمی‌تواند به کاهش سطح برگ نسبت داده شود به طور غیرمستقیم دال بر بهبود ساختارهای فتوسنتزی تحت تأثیر تیمار سالیسیلیک اسید است (Hayat et al., 2010). افزایش غلظت کلروفیل *a* توسط سالیسیلیک اسید در بررسی حاضر با یافته‌های Usha و Singh (۲۰۰۳) در گیاه گندم که افزایش غلظت رنگیزه‌ها را تحت تأثیر سالیسیلیک اسید در شرایط خشکی نشان دادند، منطبق بود.

خشکی می‌تواند با آسیب رساندن به مرکز تولید اکسیژن و تجزیه اجزای پلی‌پپتیدی فتوسیستم II در نهایت به غیرفعال شدن PSII منجر شود (Kawakami et al., 2009؛ Zhang et al., 2011). این تغییر با تحریک تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) باعث مهار نوری و بروز آسیب اکسیداتیو در اجزای داخلی سلول‌ها می‌شود (Anjum et al., 2011). گیاهان برای



مختلف بر اساس سازوکارهای مختلفی انجام می‌گیرد و در برخی گیاهان، جلوگیری از اتلاف آب مهم‌تر است و نقش هورمون سالیسیلیک اسید در جلوگیری از اتلاف آب به همین علت، مثبت است. اما در گیاه توتون برخلاف انتظار، موجب افزایش تعرق شد که باز هم تأکیدی بر تفاوت‌های بین گونه‌ای است و نشان‌دهنده این است که سالیسیلیک اسید لزوماً موجب کاهش تعرق نمی‌شود. در تأیید نتایج بررسی حاضر، گزارش شده است که کاربرد هورمون سالیسیلیک اسید در ذرت و لویا باعث افزایش گشودگی روزنه و افزایش تعرق می‌شود (Khan *et al.*, 2003). با توجه به تأثیر شبه هورمونی سالیسیلیک اسید باز هم می‌توان این آثار متضاد را در ارتباط با تعادل سایر تنظیم‌کننده‌ها و نیز تفاوت‌های بین گونه‌ای در مقدار پایه سایر تنظیم‌کننده‌ها و مسیرهای علامت‌دهی مشاهده کرد.

برخلاف بسیاری دیگر از گونه‌ها، غلظت قندهای محلول در گیاه توتون تحت تأثیر تنش خشکی افزایش نیافت. این افزایش می‌توانست موجب افزایش فشار اسمزی و در نتیجه افزایش قدرت جذب آب شود، چنانچه در مورد گیاه سیب‌زمینی گزارش شده است (Selim *et al.*, 2012). افزایش نشاسته در ریشه تحت تأثیر سالیسیلیک اسید می‌تواند به کاهش رشد و کاهش مصرف قندهای انتقال یافته از اندام هوایی و ذخیره آنها به صورت نشاسته نسبت داده شود. با وجود این، غلظت آمینو اسیدها تحت تأثیر همزمان خشکی و تیمار سالیسیلیک اسید افزایش یافت. آمینو اسیدهای آزاد نیز مشابه قندهای محلول می‌توانند به عنوان محافظ اسمزی موجب افزایش توانایی جذب آب شوند. سازوکار تأثیر سالیسیلیک اسید در تغییر غلظت آمینو اسیدهای آزاد

جلوگیری از آسیب فتوسیستم II و تولید مولکول‌های ROS، سازوکارهایی دارند که از جمله آنها می‌توان به افزایش خاموش‌شدگی غیرفتوشیمیایی فلورسانس کلروفیل طی انتقال الکترون (NPQ) و تحریک سنتز رنگیزه‌های حفاظتی نظیر کاروتنوئید و آنتوسیانین اشاره کرد (Huang *et al.*, 2010). در این راستا، نتایج پژوهش حاضر مشخص کرد که گیاه توتون تنها از طریق مکانیسم اول یعنی افزایش دادن NPQ با تنش خشکی مقابله کرده و از آسیب فتوسیستم II ممانعت کرده است که بهترین شاهد برای این گفته، عدم تغییر کارایی بیشینه فتوسیستم II در تیمار خشکی در نتایج حاصل از این آزمایش بود.

مهم‌ترین تأثیر خشکی بستن روزنه‌ها و کاهش تعرق است، این پاسخ هر چند موجب کاهش اتلاف آب می‌شود، اما با کاهش دسترسی به دی‌اکسید کربن اتمسفر و کاهش فتوسنتز، مهم‌ترین عامل کاهش تولید ماده خشک در گیاهان تحت تنش خشکی است (Boughalleb and Hajlaoui, Gunes *et al.*, 2007). در بررسی حاضر، علیرغم کاهش هدایت روزنه‌ای در گیاهان تحت تنش خشکی، تعرق کمتر از گیاهان آبیاری شده نبود. تیمار سالیسیلیک اسید موجب افزایش هدایت روزنه‌ای، افزایش تعرق و افزایش جزئی فتوسنتز شد. هر چند سالیسیلیک اسید به عنوان کاهش‌دهنده تعرق و افزایش‌دهنده سازگاری با شرایط خشکی شناخته شده است (Bandurska and Stroinski, 2005؛ Alam *et al.*, 2013)، اما گزارش‌هایی نیز در مورد افزایش تعرق و اتلاف آب تحت تأثیر تنش خشکی وجود دارد (Janda *et al.*, 2007). پاسخ به خشکی و سازگاری در گونه‌های

همکاران (۲۰۰۳) به عنوان دو استشنا در ذرت و لوییا گزارش کرده‌اند، لزوماً موجب کاهش تعرق نمی‌شود. در بررسی حاضر، هورمون سالیسیلیک اسید موجب افزایش گشودگی روزنه شد اما علیرغم افزایش جزئی فتوستتر، به دلیل افزایش همزمان تعرق و اتلاف آب این افزایش جزئی در تثبیت دی اکسید کربن نتوانست نقشی در افزایش بیومس داشته باشد. در نتیجه، هورمون سالیسیلیک اسید نتوانست باعث تخفیف آثار زیانبار تنش خشکی در کاهش رشد گیاه توتون شود.

### سپاسگزاری

نگارندگان از کارشناس آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی گروه زیست‌شناسی گیاهی دانشگاه تبریز بابت همکاری صمیمانه در انجام این تحقیق سپاسگزاری می‌نمایند.

مشخص نیست و ممکن است مربوط به تغییر در فعالیت نترات ردوکتاز باشد (Singh and Usha, 2003).

### جمع‌بندی

بررسی حاضر نشان داد که خشکی از طریق تأثیر بر عوامل روزنه ای باعث کاهش معنی‌دار فتوستتر و در نتیجه رشد در توتون می‌شود، اما به خاطر سازگاری این گیاه در بالا بردن خاموش شدگی غیرفتوشیمیایی فلورسانس کلروفیل طی انتقال الکترون، از آسیب رسیدن به فتوسیستم II ممانعت شد. سازوکار غالب هورمون سالیسیلیک اسید در تخفیف تنش‌ها، کاهش اتلاف آب از طریق کاهش تعرق است. در گیاه توتون برخلاف انتظار، هورمون موجب افزایش تعرق شد که تأکیدی بر تفاوت‌های بین گونه‌ای است و نشان داد که هورمون سالیسیلیک اسید مشابه آنچه که Khan و

### منابع

- Alam, M. M., Hasanuzzaman, M., Nahar, K. and Fujita, M. (2013) Exogenous salicylic acid ameliorates short-term drought stress in mustard (*Brassica juncea* L.) seedlings by up-regulating the antioxidant defense and glyoxalase system. *Australian Journal of Crop Science* 7(7): 1053-1063.
- Anjum, S. A., Xie, X. and Wang, L. (2011) Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research* 6(9): 2026-2032.
- Bandurska, H. and Stroinski, A. (2005) The effect of salicylic acid on barley response to water deficit. *Acta Physiologiae Plantarum* 27(3): 379-386.
- Boughalleb, F. and Hajlaoui, H. (2011) Physiological and anatomical changes induced by drought in two olive cultivars (cv Zalmati and Chemlali). *Acta Physiologiae Plantarum* 33: 53-65.
- El Tayeb, M. A. (2005) Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Journal of Plant Growth Regulation* 45: 215-224.
- Fariduddin, Q., Hayat, S. and Ahmad, A. (2003) Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity and seed yield in *Brassica juncea*. *Photosynthetica* 41: 281-284.
- Gunes, A., Inal, A., Bagci, E. G. and Coban, S. (2007) Silicon mediated changes on some physiological and enzymatic parameters symptomatic of oxidative stress in barley grown in sodic-B toxic soil. *Journal of Plant Physiology* 164: 807-811.
- Hasanuzzaman, M., Hossain, M. A., da Silva, J. A. T. and Fujita, M. (2012) Plant responses and tolerance

- to abiotic oxidative stress: antioxidant defenses is a key factors. In: Crop stress and its management: perspectives and strategies (Eds. Bandi, V., Shanker, A. K., Shanker, C. and Mandapaka, M.) 261-316. Springer, Berlin.
- Hayat, Q., Hayat, S., Irfan, M. and Ahmad, A. (2010) Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: a review. *Environmental and Experimental Botany* 68: 14-25.
- Hayat, S. and Ahmad, A. (2007) Salicylic acid a plant hormone. Springer, Dordrecht.
- Hayat, S., Hasan, S. A., Fariduddin, Q. and Ahmad, A. (2008) Growth of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in response to salicylic acid under water stress. *Journal of Plant Interactions* 3(4): 297-304.
- Hoagland, D. R. and Arnon, D. I. (1950) The water culture method for growing plants without soil. California Agricultural Experimental Station Circular 347, Berkeley.
- Horváth, E., Szalai, G. and Janda, T. (2007) Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signalling. *Journal of Plant Growth Regulation* 26: 290-300.
- Huang, H., Zhang, Q. and Zhao, L. (2010) Lutein plays a key role in the protection of photosynthetic apparatus in Arabidopsis under severe oxidative stress? *Pakistan Journal of Botany* 42: 2765-2774.
- Hussein, M. M., Balbaa, L. K. and Gaballah, M. S. (2007) Salicylic acid and salinity effects on growth of maize plants. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 3(4): 321-328.
- Janda, T., Horvath, G., Szalai, G. and Paldi, E. (2007) Role of salicylic acid in the induction of abiotic stress tolerance. In: Salicylic acid, a plant hormone (Eds. Hayat, S. and Ahmad, A.) Springer, Dordrecht.
- Kadioglu, A., Saruhan, N., Sağlam, A., Terzi, R. and Acet, T. (2011) Exogenous salicylic acid alleviates effects of long term drought stress and delays leaf rolling by inducing antioxidant system. *Journal of Plant Growth Regulation* 64: 27-37.
- Kawakami, K., Umenab, Y., Kamiyab, N. and Shen, J. (2009) Location of chloride and its possible functions in oxygen-evolving photosystem II revealed by X-ray crystallography. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 106: 8567-8572.
- Khan, M. I. R., Syeed, S., Nazar, R. and Anjum, N. A. (2012) An insight into the role of salicylic acid and jasmonic acid in salt stress tolerance. In: Phytohormones and abiotic stress tolerance in plants (Eds. Khan, N. A., Nazar, R., Iqbal, N. and Anjum, N. A.) 277-300. Springer, New York.
- Khan, W., Prithviraj, B. and Smith, D. L. (2003) Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. *Journal of Plant Physiology* 160: 485-492.
- Krall, J. P. and Edwards, G. E. (1992) Relationship between photosystem II activity and CO<sub>2</sub> fixation in leaves. *Physiologia Plantarum* 86: 180-187.
- Lichtentaler, H. K. and Wellburn, A. R. (1985) Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11: 591-592.
- Magné, C., Saladin, G. and Clément, C. (2006) Transient effect of the herbicide flazasulfuron on carbohydrate physiology in *Vitis vinifera*. *Chemosphere* 62: 650-657.
- Nazar, R., Iqbal, N., Syeed, S. and Khan, N. A. (2011) Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under salt stress by enhancing nitrogen and sulfur assimilation and antioxidant metabolism differentially in two mungbean cultivars. *Journal of Plant Physiology* 168: 807-815.
- Pourakbar, L. and Abedzadeh, M. (2014) Effects of UV-B and UV-C radiation on antioxidative enzymes activity of *Melissa officinalis* and influences of salicylic acid in UV-stress ameliorations.

- Iranian Journal of Plant Biology 21: 23-34 (in Persian).
- Prokić, L. and Stikić, R. (2011) Effects of different drought treatments on root and shoot development of the tomato wild type and *flacca* mutant. Archives of Biological Science Belgrade 63(4): 1167-1171.
- Rezayatmand, Z., Khavari-Nejad, R. A. and Asghari, G. (2013) The effect of salicylic acid on some of physiological and biochemical parameters of *Artemisia aucheri* Boiss. under salt stress. Iranian Journal of Plant Biology 16: 57-70 (in Persian).
- Selim, E. M., Shedeed, S. I., Asaad, F. F. and El-Neklawy, A. F. (2012) Interactive effects of humic acid and water stress on chlorophyll and mineral nutrient contents of potato plants. Journal of Applied Sciences Research 8: 531-537.
- Shakirova, M. F., Sakhabutdinova, A. R., Bezrukova, M. V., Fatkhutdinova, R. A. and Fatkhutdinova, D. R. (2003) Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. Plant Science 164(3): 317-322.
- Singh, B. and Usha, K. (2003) Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. Journal of Plant Growth Regulation 39: 137-141.
- Syeed, S., Anjum, N. A., Nazar, R., Iqbal, N., Masood, A. and Khan, N. A. (2011) Salicylic acid-mediated changes in photosynthesis, nutrients content and antioxidant metabolism in two mustard (*Brassica juncea* L.) cultivars differing in salt tolerance. Acta Physiologiae Plantarum 33: 877-886.
- Vanacker, H., Lu, H., Rate, D. N. and Greenberg, J. T. (2001) A role for salicylic acid and NPR1 in regulating cell growth in Arabidopsis. The Plant Journal 28: 209-216.
- Wang, Y. S., Wang, J., Yang, Z. M., Wang, Q. Y., Lu, B., Li, S. Q., Lu, Y. P., Wang, S. H. and Sun, X. (2004) Salicylic acid modulates aluminum-induced oxidative stress in roots of *Cassia tora*. Acta Botanica Sinica 46: 819-828.
- Zhang, L., Zhang, Z. and Gao, H. (2011) Mitochondrial alternative oxidase pathway protects plants against photoinhibition by alleviating inhibition of the repair of photodamaged PSII through preventing formation of reactive oxygen species in *Rumex* K-1 leaves. Physiologiae Plantarum 143: 396-407.

## Effect of salicylic acid on tobacco (*Nicotiana rustica*) plant under drought conditions

Ghader Habibi <sup>1\*</sup>, Zienab Sadeghipour <sup>2</sup> and Roghieh Hajiboland <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Biology, Payame Noor University, PO BOX 19395-3697 Tehran, Iran

<sup>2</sup> Department of Plant Sciences, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

### Abstract

Drought stress impact photosynthesis and stomatal conductance, and may reduce the overall production capacity of plants. Since exogenous application of salicylic acid (SA) can partially alleviate the negative effects of drought stress by improving the metabolism pathways and increase the net photosynthesis in plants, the main objective of this study was to clarify the roles of SA in enhancing 28 days tobacco (*Nicotiana rustica* Basmas) tolerance to drought stress (50% FC). The results indicated that foliar application of SA (0.5 mM) influenced negatively net CO<sub>2</sub> assimilation rate and stomatal conductance and led to reduction of shoot and root dry masses. In contrast, the stress did not reduce significantly the maximal quantum yield of photosystem II (PSII). This can be explained by enhancement of efficiency for dissipation of excess photon energy in the PSII antenna, determined as non-photochemical quenching, and consequently further protection of PSII from photodamage. Thus, under more drought stress, the reduction of photosynthesis of tobacco plants was due mainly to reduction of stomatal conductance. Under water-deficient conditions, plants showed an increase in chlorophyll a and amino acids concentrations in the leaves when treated with SA while this change for net photosynthesis was negligible. Our results indicated that the foliar application of SA had no ameliorative effect on tobacco growth under drought stress, because its effect on elevation of transpiration rate did not increase net photosynthesis under drought condition.

**Key words:** Salicylic acid, *Nicotiana rustica*, Non-photochemical quenching, Drought, Photosynthesis, Transpiration rate, Chlorophyll a

---

\* Corresponding Author: gader.habibi@gmail.com