

برهمنکش اثرات شوری و سالیسیلیک‌اسید بر جوانه‌زنی، رشد و برخی از ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک (*Cicer arietinum L.*)

علی گنجعلی^{۱*}، پروانه ابریشم‌چی^۲ و مریم شوری‌بابی^۳

۱- دانشیار گروه زیست‌شناسی علوم و عضو هیئت علمی گروه بقولات پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- دانشجوی دکتری زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۶/۲۸

چکیده

تحقیقات نشان داده است که سالیسیلیک‌اسید می‌تواند تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی از جمله شوری را بهبود بخشد. مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر سالیسیلیک‌اسید بر صفات مربوط به جوانه‌زنی، رشد و برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی دو ژنوتیپ نخود (MCC789 و MCC414) در مواجهه با تنش شوری در مراحل گیاهچه‌ای و گلدهی انجام شد. این آزمایش در مرحله جوانه‌زنی در پنج سطح شوری شامل صفر، ۳، ۵، ۱۰ و ۱۲ dsm⁻¹ و سه غلظت صفر، ۰/۵ و ۱/۰ میلی‌مولا ر سالیسیلیک‌اسید و در مرحله گیاهچه‌ای و گلدهی شامل سه سطح شوری صفر، ۴ و ۸ dsm⁻¹ و تیمار سالیسیلیک‌اسید با غلظت‌های صفر و ۰/۵ میلی‌مولا به صورت فاکتوریل، در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. نتایج به دست آمده نشان داد که در هر دو ژنوتیپ با افزایش سطح تنش شوری، سرعت جوانه‌زنی کاهش یافت. کاربرد سالیسیلیک‌اسید (۰/۵ میلی‌مولا)، در ژنوتیپ MCC789 در سطح تنش شوری ۳ و ۱۲ dsm⁻¹ بهتر ترتیب، سرعت و درصد جوانه‌زنی را بهبود بخشید. همچنین در سطح تنش شوری ۱۰ dsm⁻¹ استفاده از سالیسیلیک‌اسید (یک و ۰/۵ میلی‌مولا) سرعت جوانه‌زنی را در ژنوتیپ MCC414 افزایش داد. در این ژنوتیپ در شوری ۱۲ dsm⁻¹ سالیسیلیک‌اسید (یک میلی‌مولا) سبب افزایش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه شد و در ژنوتیپ MCC789 استفاده از سالیسیلیک‌اسید (۰/۵ میلی‌مولا) در سطح تنش شوری ۳ dsm⁻¹، طول ساقه‌چه را افزایش داد. در مرحله گیاهچه‌ای کاهش وزن خشک ریشه و ساقه در سطوح مختلف تنش شوری مشاهده شد. در سطح شوری ۴ dsm⁻¹، کاربرد خارجی سالیسیلیک‌اسید در ژنوتیپ MCC789 و MCC414 به ترتیب وزن خشک ساقه و مجموع طول ریشه‌ها را افزایش داد. در مرحله گلدهی، در هر دو ژنوتیپ تنش شوری موجب کاهش شاخص کلروفیل، شاخص پایداری غشاء، میزان تعرق و کارایی فتوسیستم II و افزایش مقاومت روزنده‌ای شد. سالیسیلیک‌اسید در تنش شوری ۸ dsm⁻¹ شاخص کلروفیل را در ژنوتیپ MCC789 و در ژنوتیپ MCC414 شاخص پایداری غشاء را افزایش داد. در هر دو ژنوتیپ سالیسیلیک‌اسید در تنش شوری ۸ dsm⁻¹ سبب کاهش مقاومت روزنده‌ای و افزایش کارایی فتوسیستم II شد. این نتایج می‌تواند گوبای اثر تعدل کننده سالیسیلیک‌اسید بر جوانه‌زنی و فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه نخود تحت تنش شوری باشد. با توجه به نتایج، احتمالاً ژنوتیپ MCC789 نسبت به ژنوتیپ MCC414 از حساسیت بیشتری به تنش شوری برخوردار است.

واژه‌های کلیدی: تنش شوری، سالیسیلیک‌اسید، شاخص پایداری غشاء، کارایی فتوسیستم II، نخود

دانه‌رُست برای اغلب گونه‌های گیاهی بسیار حساس شناخته شده است (Ungar, 1995). اثرات مضر شوری بر جوانه‌زنی ممکن است به علت جذب آب کم و تفاوت در سیالیت ماده ذخیره‌شده و پروتئین‌های ساختاری باشد، همچنین اثرات مهاری شوری بر روی جوانه‌زنی به‌سبب اثر اسمزی و سمی نمک‌ها است (Demir & Mavi, 2008).

تشنج شوری بسیاری از واکنش‌های معمول را در گیاهان به راه می‌اندازد که به آب‌زدایی سلولی همراه با تغییرات اسمزی پیوسته منجر می‌شود. تشنج شوری دارای اثرات سه‌گانه‌ای است

مقدمه

شوری یک عامل مهم و تعیین‌کننده برای رشد و تولید گیاهان است و مقدار آن در سطح کره زمین به سرعت در حال افزایش است، در حال حاضر بیش از ۸۰۰ میلیون هکتار معادل بیش از شش درصد از اراضی جهان متأثر از شوری هستند (FAO, 2011). هرچند که تنش شوری تمام مراحل رشد یک گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد اما مراحل جوانه‌زنی دانه و رشد

* نویسنده مسئول: ganjeali@um.ac.ir، تلفن همراه: ۰۹۱۵۳۰۵۷۶۴۵

می‌شود. سالیسیلیک‌اسید به تنها‌یی یا همراه با NaCl، بهشت بیان ژن SALT را مهار می‌کند (Kim *et al.*, 2004). با توجه به موارد اشاره شده، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر سالیسیلیک‌اسید بر صفات مربوط به جوانه‌زنی، رشد و برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی دو رقم نخود (تیپ دسی و کابلی) در مواجه با تنش شوری در انجام شده است.

مواد و روش‌ها

آزمایش اول (مرحله جوانه‌زنی)

به منظور بررسی تأثیر بر همکنش تنش شوری و سالیسیلیک‌اسید بر صفات مربوط به جوانه‌زنی بذور نخود، آزمایشی در سال ۱۳۹۰ در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. دو ژنوتیپ نخود شامل MCC414 (تیپ کابلی) و MCC789 (تیپ دسی) در پنج سطح شوری شامل صفر، ۳، ۵، ۱۰ و ۱۲ ds m^{-۱} و سه غلظت صفر، ۰/۵ و ۰/۱ میلی مولار سالیسیلیک‌اسید به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل‌اً تصادفی با سه تکرار انجام شد. ابتدا بذرها توسط بنومیل ۲درهزار ضدعفونی و سپس با آب مقطر آبکشی شدند. سپس به مدت سه ساعت در غلظت ۰، ۰/۵ و ۰/۱ میلی مولار سالیسیلیک‌اسید قرار گرفتند و سپس به پتری‌های مربوطه منتقل شدند. مقدار پنج میلی لیتر از محلول‌های NaCl تهیه شده در غلظت‌های مختلف به هر پتری دیش اضافه شد و در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

درصد و سرعت جوانه‌زنی به ترتیب بر اساس معادله‌های ۱ و ۲ محاسبه شدند. دیگر صفات مربوط به جوانه‌زنی شامل طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در روز هفتم پس از کاشت اندازه‌گیری شدند.

$$\text{معادله (1)} \quad Gp \% = \sum Gi / N \times 100$$

$$\text{معادله (2)} \quad GR = \sum Gi / \sum Gi Di$$

در معادلات فوق Gp درصد جوانه‌زنی، Gi تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز آم، N تعداد کل بذرهای، در معادله دوم GR سرعت جوانه‌زنی، Gi تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز آم و Di روز آم از شروع آزمایش است.

آزمایش دوم (مرحله گیاهچه‌ای)

این آزمایش نیز با هدف بررسی برهمکنش سالیسیلیک‌اسید و تنش شوری بر خصوصیات مورفولوژیکی ژنوتیپ‌های نخود در مرحله گیاهچه‌ای انجام شد. آزمایش مشابه آزمایش مرحله قبل به صورت فاکتوریل در قالب طرح

که به اختصار شامل: کاهش پتانسیل آب، عدم تعادل یونی یا اختلال در تعادل یونی و سمیت می‌باشد. این حالت متغیر آب به کاهش رشد اولیه و محدودیت تولید گیاهی منجر می‌شود (Asish Kumar & Anath, 2005). شوری رشد گیاه را به علت تغییر در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی مثل فتوسنتر (Kalaji Guo, 2008)، اختلال انتقال الکترون در زنجیره انتقال الکترونی و کاهش فعالیت فتوسیستم II و تغییر در طیف جذبی کلروپلاست‌ها (Allakhverdiev *et al.*, 2000) و کاهش هدایت روزنہای تحت تأثیر قرار می‌دهد (Parsons & Zekri, 1990). همچنین شوری باعث تخریب ساختار کلروپلاست‌ها و عدم پایداری ترکیب‌های رنگیزه-پروتئین مثل کاروتونوئیدها می‌شود (Singh & Dubey., 1995). بررسی‌ها نشان داده است که در محیط‌های شور، درصد جوانه‌زنی کاهش، رشد رویشی ضعیف و رشد زایشی گیاه به تأخیر می‌افتد (Karen *et al.*, 2002). در برخی گیاهان، شوری متابولیسم اسیدهای نوکلئیک را تحت تأثیر قرار داده و سبب کاهش رشد گیاه شده است. در بافت‌های گوجه‌فرنگی، مقدار DNA در حضور کلوروسیدیم ۰/۸ درصد افزایش اما مقدار RNA و DNA در غلظت‌های سمی نمک (۶ درصد) کاهش یافت. علت این کاهش جلوگیری از تولید و افزایش تعزیزی اسیدهای نوکلئیک است. کلوروسیدیم فرآیندهای همانندسازی و رونویسی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. نوکلئوتیدهای ساده‌تر نیز در پاسخ به تنش شوری تغییر می‌یابند (Allen., 1995).

در سال‌های اخیر شواهد زیادی به دست آمده است که تأیید می‌کند سالیسیلیک‌اسید نقش مهمی در پاسخ به اثرات تنش زیستی و غیرزیستی (مانند دمای بالا و پایین، اشعه UV-B، ازن، فلزات سنگین و ...) ایفا می‌کند. سالیسیلیک‌اسید می‌تواند مقاومت به تنش را ایجاد کند (Senaratna, 2000). خیساندن دانه‌های گندم (*Triticum aestivum* L.) در سالیسیلیک‌اسید ۰/۰۵ میلی مولار اثرات مضر شوری را بر روی رشد دانه‌رُست کاهش می‌دهد و فرآیندهای رشد را به علت افزایش سطح تقسیم سلولی در مریستم رأسی ریشه‌های دانه‌رُست تسريع می‌کند (Shakirova *et al.*, 2003). تیمار سالیسیلیک‌اسید باعث تجمع ABA می‌شود که به علت دارابودن نقش کلیدی در القای سنتز طیفی از پروتئین‌های تنش که تضمین کننده توسعه واکنش‌های ضدتنش است، در ایجاد سازگاری‌های اولیه به تنش سهیم است.

اخیراً مشخص شده است که پروتئین القا شده توسط شوری (SALT)، در سلول‌های پاراپلasmی چوب دسته جات آوندی در رگبرگ‌های بزرگ و کوچک حضور دارد. بیان ژن کُدکننده SALT به دنبال تیمار با NaCl به میزان زیادی تنظیم

دستگاه *Fluorimeter* مدل OS5-FI و از سه برگچه انتهایی هر گیاه استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های آماری در هر آزمایش پس از جمع‌آوری، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. برای پردازش داده‌ها از نرم‌افزارهای JMP و MSTAT-C استفاده شد. مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون چنددامنه دانکن، با احتمال خطای پنچ درصد ($p < 0.05$) انجام شد.

نتایج و بحث

مرحله جوانه‌زنی

نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تنفس شوری کلیدسیدیم تا ۱۲ دسی‌زیمنس در متر در ژنوتیپ MCC414 تأثیر معنی داری بر درصد جوانه‌زنی نداشت، اما در ژنوتیپ MCC789 شوری 12ds m^{-1} در مقایسه با شاهد، درصد جوانه‌زنی بذرها را ۵۵٪ دارد. احتمالاً ژنوتیپ MCC789 نسبت به ژنوتیپ دیگر به شوری حساس‌تر است. واکنش درصد جوانه‌زنی ژنوتیپ MCC414 به غلظت‌های مختلف شوری و سالیسیلیک‌اسید معنی داری نبود. در ژنوتیپ MCC789، در سطح شوری 10 ds m^{-1} در 12ds m^{-1} سالیسیلیک‌اسید به ترتیب با غلظت ۰.۵ و یک میلی‌مولار، درصد جوانه‌زنی را به طور معنی داری افزایش داد (شکل ۱). در این رابطه احتمالاً کاهش جوانه‌زنی در اثر شوری به دلیل مهار مسیرهای تنفسی، فعل نمودن برخی هورمون‌ها، تغییر فعالیت برخی آنزیم‌ها و تغییر تراویی غشاء می‌باشد. شوری از طریق افزایش فشار اسمزی و در نتیجه کاهش جذب آب توسط بذرها و همچنین از طریق اثرات سمی یون‌های سدیم و کلسیم (Rehman *et al.*, 1996) تنش شوری میزان هورمون آبسیزیک‌اسید را در بذر (Erick, 1996) افزایش داده و این طریق مانع جوانه‌زنی می‌شود. شوری از همچنین از طریق تأثیر بر پمپ‌های پروتونی و اختلال در آنها سبب کاهش تقسیم سلولی و طویل شدن سلول می‌شود (El-Tayeb, 2005). (Liu *et al.*, 2003) پیش‌تیمار گیاه جو با سالیسیلیک‌اسید در میزان مقاومت روزنها در درصد جوانه‌زنی دانه‌های جو با افزایش NaCl در محیط کشت کاهش می‌یابد. همچنین این محقق بیان کرد که بذرهای پیش‌تیمار شده با محلول سالیسیلیک‌اسید نسبت به شاهد درصد جوانه‌زنی بیشتری را نشان می‌دهند. از طرف دیگر،

کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. بذرها پس از ضدغفونی، در گلدان‌هایی به حجم ۲/۵ لیتر که از ماسه و خاک باگجه به نسبت ۲:۳ پُر شده بودند، کشت شدند. در هر گلدان پنج عدد بذر کشت شد و پس از اطمینان از سبزشدن به سه گیاه‌چه تقلیل یافت. گلدان‌ها به مدت ۱۰ روز تا سبزشدن با آب معمولی آبیاری شدند، پس از گذشت ۱۰ روز از سبزشدن بذرها، بر اساس نتایج آزمایش قبل، تیمار شوری شامل سه سطح صفر، ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر و سپس تیمار محلول پاشی سالیسیلیک‌اسید در ۲ سطح صفر و ۰/۵ میلی‌مولار بر روی اندام هوایی اعمال شد. به منظور تنظیم سطوح شوری در طول دوره آزمایش، قابلیت هدایت الکتریکی آب خروجی از گلدان‌ها در هر نوبت آبیاری اندازه‌گیری و بر اساس آن سطوح شوری موردنظر برای هر تیمار تنظیم و در طول دوره آزمایش ثابت نگهداشته شد.

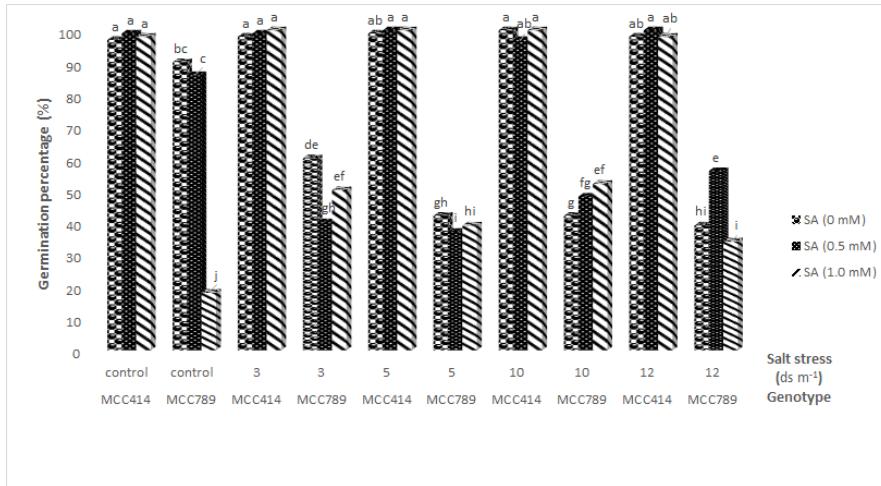
در طول دوره رشد، فتوپریود شامل ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی، درجه حرارت روز و شب به ترتیب ۲۵ و ۱۲ درجه سانتی‌گراد مطابق فصل رشد در محیط طبیعی و شدت نور حدود $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ثابت نگهداشته شد. حدود ۳ روز پس از سبز شدن، گلدان‌ها تحریب و پس از آن بخش هوایی و ریشه گیاه تفکیک شدند. برخی صفات مورفو‌لولژیکی شامل مجموع طول ریشه‌ها، وزن خشک بخش هوایی و ریشه‌ها و سطح برگ اندازه‌گیری شدند. طول ریشه‌ها با دستگاه Root Analyzer تعیین شد. سطح برگ با (Leaf Area Meter) استفاده از دستگاه سنجش سطح برگ (Root Analyzer) سنجش شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک نمونه‌های گیاهی به طور جداگانه در خشک گن ۷۰ درجه سیلیسیوس به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت و سپس با ترازوی دیجیتال توزین شدند.

آزمایش سوم (مرحله گلدهی)

این آزمایش مشابه آزمایش مرحله گیاه‌چهای انجام شد، با این تفاوت که در این مرحله عمدتاً صفات فیزیولوژیکی مورد بررسی قرار گرفتند و گلدان‌ها پس از گذشت ۰-۵ روز از زمان کاشت (زمان گلدهی) برداشت شدند. در این مرحله شاخص کلروفیل با استفاده از دستگاه CCM-200، شاخص پایداری غشاء از روش Sairam *et al.*, 2001، میزان مقاومت روزنها با دستگاه AP4 POROMETER، میزان تعرق و اسミلاسیون دی‌اسیدکربن در یک سانتی‌مترمربع از سطح برگ جوان با LCA4 ADC Bio.Scientific Ltd.، IRGA Ahmed *et al.*, 2002 اندازه‌گیری شد (Fv/Fm). جهت اندازه‌گیری عملکرد فتوسیستم II (Fv/Fm) از

ACCAستنزا اعمال می‌نماید. این احتمال هست که عدم تأثیر مشبیت بر درصد جوانه‌زنی تحت تیمار با سالیسیلیک‌اسید، ناشی از مهار بیوسنتز اتلین باشد. همچنین سالیسیلیک‌اسید از طریق القای سنتز ABA، از جوانه‌زنی بذر جلوگیری می‌کند (Hayat *et al.*, 2007).

عدم تأثیر مثبت سالیسیلیک اسید بر درصد جوانه‌زنی را می‌توان این گونه توضیح داد که با توجه به این که در بسیاری از دانه‌ها اتیلن به عنوان محرك جوانه‌زنی معروف شده است، اما برخی تحقیقات نشان می‌دهد سالیسیلیک اسید نقش مهارکنندگی در بیوسنتر اتیلن دارد و این اثر را از طریق تأثیر بر آنزیم

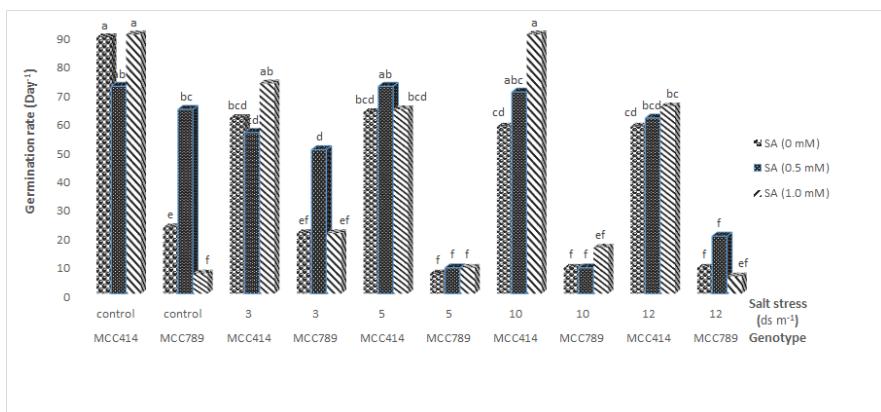


شکل ۱- مقایسه درصد جوانه‌زنی ژنوتیپ‌های نخود در سطوح مختلف شوری و سالیسیلیک اسید

ستون هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می باشند، مطابق آزمون چندامنه‌ای دانکن ($P < 0.05$) تفاوت معنی داری نداشتند.

Fig. 1. Comparison of germination percentage of chickpea genotypes at different levels of salinity and salicylic acid.
Values labeled with the same letter(s) are not different at the 5% significance level according to Duncan's multiple range test.

در هر دو ژنوتیپ با افزایش سطح شوری کاهش معنی داری در سرعت جوانهزنی مشاهده شد و در شرایط غیرشور کاربرد سالیسیلیک اسید تأثیر معنی داری بر سرعت جوانهزنی ژنوتیپ ها نداشت. در ژنوتیپ ۱۴ MCC414 فقط در سطح شوری 10 ds m^{-1} , 10 ds m^{-1} علاظت های $0/5$ و یکمیلی مولار سالیسیلیک اسید به عنوان علاظت های بهینه برای سرعت جوانهزنی مشخص شد. در ژنوتیپ MCC789 در سطوح شوری صفر و 3 ds m^{-1} , تیمار سالیسیلیک اسید $0/5 \text{ mM}$ سرعت جوانهزنی را به صورت معنی داری افزایش داد، در حالی که در بقیه سطوح شوری، سالیسیلیک اسید نتوانست تأثیر افزایشی بر میزان سرعت جوانهزنی داشته باشد (شکل ۲). در رابطه با سرعت جوانهزنی (Kar & De 1994) گزارش کردند که اگر جذب آب توسط بذر دچار اختلال گردد، فرایندهای متابولیکی جوانهزنی در داخل بذر به آرامی انجام خواهد شد و در نتیجه مدت زمان لازم برای خروج ریشه چه از بذر افزایش یافته و سرعت جوانهزنی کاهش می یابد. پیش تیمار بذرها با سالیسیلیک اسید به فعال سازی جوانهزنی و رشد دانه رُست ها منجر می شود که اثر تحریک کنندگی رشد مربوط به سالیسیلیک اسید را می توان به افزایش تقسیم سلولی و گسترش و توسعه سلول های ریشه چه نسبت داد (Shakirova et al., 2002).



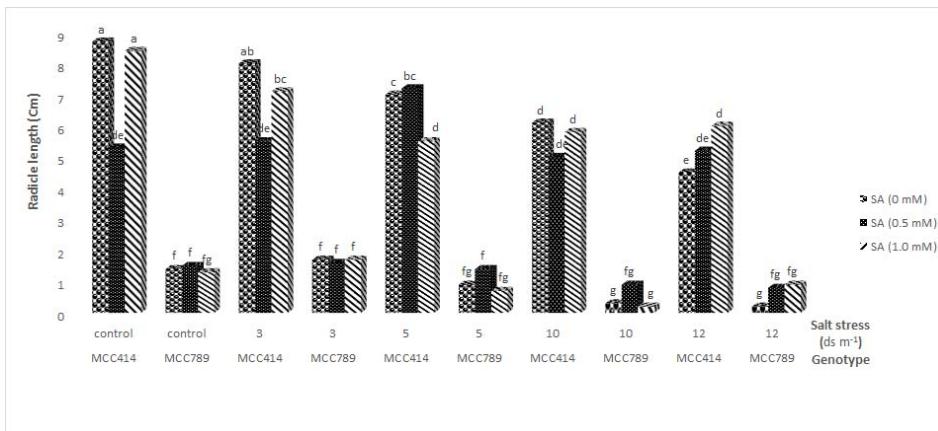
شکل ۲- مقایسه سرعت جوانهزنی ژنوتیپ‌های نخود در سطوح مختلف شوری و سالیسیلیک اسید

ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون چنددامنه‌ای دانکن ($P<0.05$) تفاوت معنی‌داری ندارند.

Fig. 2. Comparison of germination rate of chickpea genotypes at different levels of salinity and salicylic acid
Values labeled with the same letter(s) are not different at the 5% significance level according to Duncan's multiple range test.

تولید ABA در پیش‌سازش گیاهان به تنش‌های مختلف ریستی و غیرریستی مؤثر است، چراکه ABA دارای نقش کلیدی در واکنش‌های حفاظتی گیاهان و القای سنتز طیفی از پروتئین‌های تنشی است (Rock, 2000).

در تحقیقی Hanan (2007) نیز گزارش کرد که تیمار با سالیسیلیک اسید باعث افزایش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در گیاه گندم و جو شد. در این آزمایش پیش‌تیمار با سالیسیلیک اسید منجر به تجمع IAA و ABA و باعث بهبود رشد گندم شد. در آزمایش دیگر مشخص شد که سالیسیلیک اسید از طریق القای



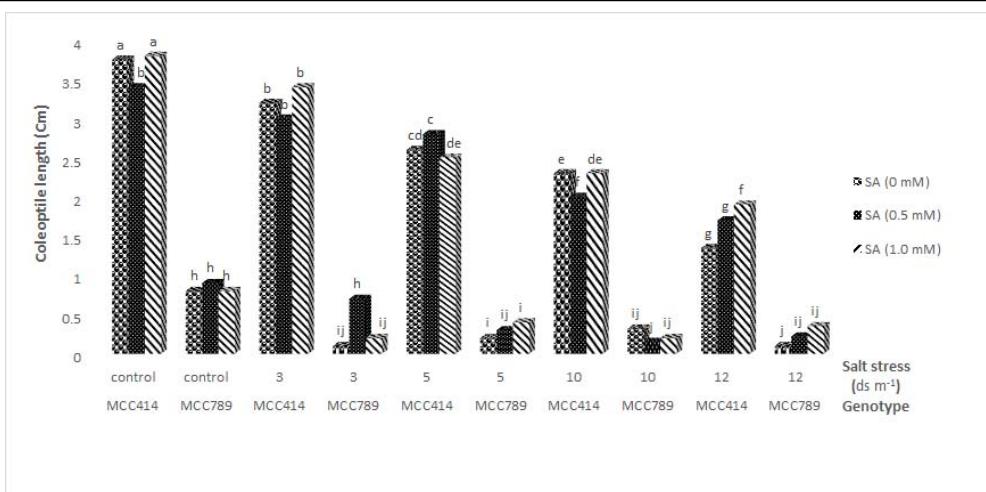
شکل ۳- مقایسه طول ریشه‌چه ژنوتیپ‌های نخود در سطوح مختلف شوری و سالیسیلیک اسید

ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون چنددامنه‌ای دانکن ($P<0.05$) تفاوت معنی‌داری ندارند.

Fig. 3. Comparison of radicle length of chickpea genotypes at different levels of salinity and salicylic acid
Values labeled with the same letter(s) are not different at the 5% significance level according to Duncan's multiple range test.

شوری، سالیسیلیک اسید نتوانست تأثیر معنی‌داری بر این صفت داشته باشد. در ژنوتیپ MCC789 غلظت سالیسیلیک اسید 5 mM فقط در سطح شوری 3 ds/m^2 طول ساقه‌چه را نسبت به شاهد به صورت معنی‌داری افزایش داد (شکل ۴).

در این تحقیق تأثیر تنش شوری بر کاهش طول ساقه‌چه در ژنوتیپ MCC789 نسبت به ژنوتیپ دیگر شدیدتر بود. بررسی اثر متقابل ژنوتیپ، سالیسیلیک اسید و شوری حاکی از آن بود که در ژنوتیپ MCC414 فقط در سطح شوری 12 ds/m^2 غلظت یک میلی‌مولار سالیسیلیک اسید به صورت معنی‌داری طول ساقه‌چه را افزایش داد و در سایر سطوح



شکل ۴- مقایسه طول ساقه چه ژنوتیپ‌های نخود در سطوح مختلف شوری و سالیسیلیک اسید

ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون چندانهای دانکن ($P<0.05$) تفاوت معنی‌داری ندارند.

Fig. 4. Comparison of coleoptile length of chickpea cultivars at different levels of salinity and salicylic acid
Values labeled with the same letter(s) are not different at the 5% significance level according to Duncan's multiple range test.

سیستم ریشه‌ای و جذب بیشتر آب و موادغذایی شده که در نهایت منجر به افزایش رشد گیاه می‌شود (Gutierrez-Coronado et al., 1998).

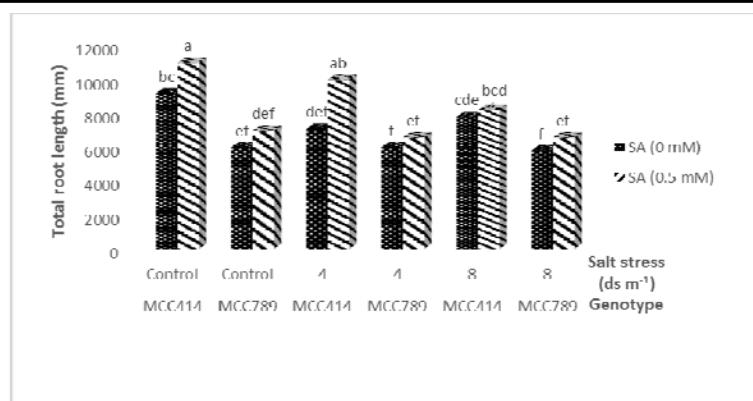
وزن خشک ریشه و ساقه: به طور کلی با افزایش تنش شوری، وزن خشک ریشه در هر دو ژنوتیپ کاهش یافت. تیمار سالیسیلیک اسید نیز تنها در ژنوتیپ MCC789 و در محیط فاقد تنش شوری باعث افزایش وزن خشک ریشه شد (شکل ۶). در ژنوتیپ MCC789 تنش شوری وزن خشک ساقه را در شرایط عدم کاربرد سالیسیلیک اسید به طور متوسط به میزان ۰/۲۲ درصد کاهش داد. کاربرد سالیسیلیک اسید در سطوح شوری صفر و 4ds m^{-1} به صورت معنی‌داری باعث افزایش وزن خشک ساقه شد (شکل ۷).

با افزایش شوری، وزن خشک ریشه و ساقه کاهش یافت که می‌تواند ناشی از کاهش طول ریشه و ساقه باشد. در ترجیحه شوری کاهش یافت که حدود ۸۰ درصد این کاهش رشد به علت کاهش توسعه سطح برگ و ۲۰ درصد به علت کاهش هدایت روزنہ مربوط دانسته اند (Singh & Usha, 2003). اثر مثبت سالیسیلیک اسید بر کلیه صفات رشدی در گیاهان گندم (Shakirova, 2003)، جو (El-Tayeb, 2005) و ذرت (Shakirova, 2003)، (Farooq et al., 2008) گزارش شده است.

مرحله گیاهچه‌ای

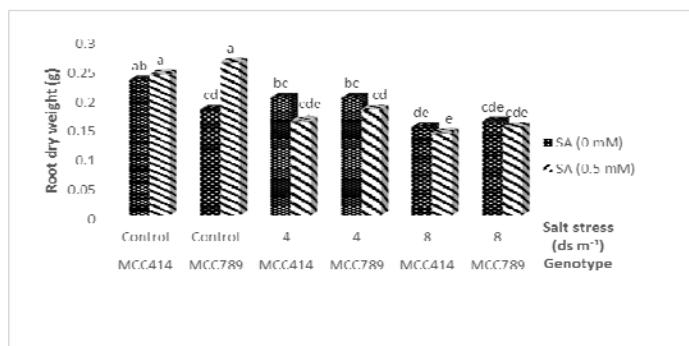
مجموع طول ریشه‌ها: در تیمار شاهد مجموع طول ریشه در ژنوتیپ MCC414 نسبت به ژنوتیپ MCC789 ۱/۵۱ برابر بیشتر بود. تنش شوری فقط در ژنوتیپ MCC414 و سطح شوری 4ds m^{-1} به طور چشمگیری موجب کاهش این مجموع طول ریشه‌ها شد و در ژنوتیپ MCC789 تأثیر معنی‌داری بر روی این صفت نداشت. بررسی اثر متقابل سالیسیلیک اسید، شوری و ژنوتیپ حاکی از آن بود که در ژنوتیپ MCC414 اسیدسالیسیلیک، شوری و ژنوتیپ حاکی از آن بود که در ژنوتیپ MCC789 اسیدسالیسیلیک، شوری و ژنوتیپ در ۰/۲۰ درصد کاهش داد. اثر متقابل سالیسیلیک اسید، شوری و ژنوتیپ در ژنوتیپ MCC789 نشان داد که اسیدسالیسیلیک، در هیچ‌بک از سطوح شوری تأثیر معنی‌داری بر روی مجموع طول ریشه نداشت (شکل ۵).

ویرگی جذب انتخابی در ریشه، مشابه یک فیلتر عبور یون‌ها را کنترل و نسبت مطلوب یون‌های سدیم و پتاسیم را برای فعالیت‌های سلول فراهم می‌سازد (Shabala et al., 2000). هرگونه اختلال در سیستم جذب و انتقال انتخابی مواد به دلیل شرایط شیمیایی نامناسب محلول خاک از طریق ایجاد نسبت نامطلوب K/Na ایجاد مسمومیت می‌کند. نتایج دیگر تحقیقات نشان می‌دهد استفاده از سالیسیلیک اسید به صورت تعذیب برگی باعث افزایش طول ریشه‌های سویا، افزایش رشد



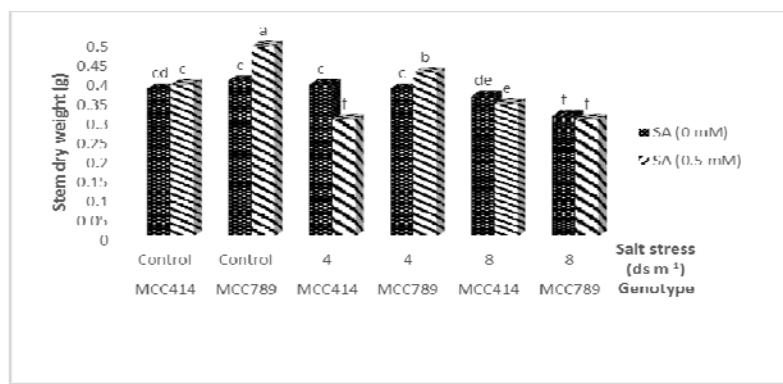
شکل ۵- مقایسه مجموع طول ریشه‌ها در ژنتیپ‌های نخود در سطوح مختلف شوری و سالیسیلیک‌اسید در مرحله گیاهچه‌ای
ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون چنددامنه‌ای دانکن ($P<0.05$) تفاوت معنی‌داری ندارند.

Fig. 5. Comparison of total root length of chickpea genotypes at different levels of salinity and salicylic acid at seedling stage
Values labeled with the same letter(s) are not different at the 5% significance level according to Duncan's multiple range test.



شکل ۶- مقایسه وزن خشک ریشه‌ها در ژنتیپ‌های نخود در سطوح مختلف شوری و سالیسیلیک‌اسید در مرحله گیاهچه‌ای
ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون چنددامنه‌ای دانکن ($P<0.05$) تفاوت معنی‌داری ندارند.

Fig. 6. Comparison of root dry weight of chickpea genotypes at different levels of salinity and salicylic acid at seedling stage
Values labeled with the same letter(s) are not different at the 5% significance level according to Duncan's multiple range test.

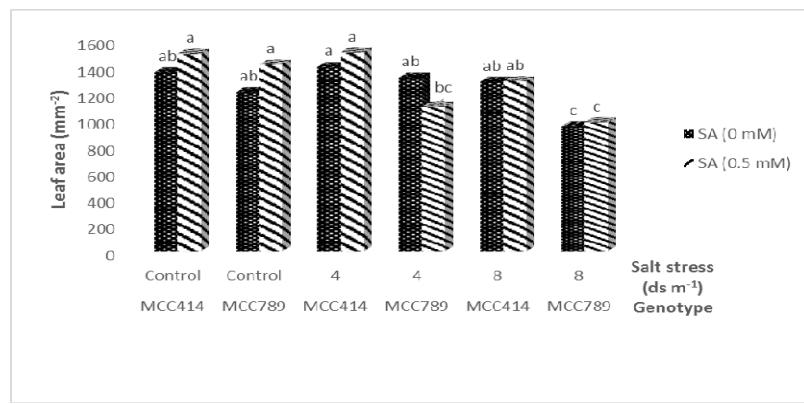


شکل ۷- مقایسه وزن خشک ساقه ژنتیپ‌های نخود در سطوح مختلف شوری و سالیسیلیک‌اسید در مرحله گیاهچه‌ای
ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون چنددامنه‌ای دانکن ($P<0.05$) تفاوت معنی‌داری ندارند.

Fig. 7. Comparison of shoot dry weight of chickpea genotypes at different levels of salinity and salicylic acid at seedling stage
Values labeled with the same letter(s) are not different at the 5% significance level according to Duncan's multiple range test.

پیامد سریع تنش شوری، کاهش میزان توسعه سطح برگ به موازات افزایش غلظت نمک است. کاهش سطح برگ را می‌توان در نتیجه کاهش سرعت گسترش و طویل شدن سلول‌ها و یا کاهش سرعت تقسیم سلولی به علت کم شدن آماں سلولی بیان نمود (Hernandez *et al.*, 1995). به نظر می‌رسد سالیسیلیک‌اسید با افزایش فعالیت آنزیم رو بیسکو و در نتیجه بهبود فتوسنتز، سبب افزایش سطح برگ می‌شود (Du *et al.*, 1981).

سطح برگ: بررسی نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها در شرایط غیرشور، اختلاف معنی‌داری در میزان سطح برگ بین دو ژنوتیپ را نشان نداد. در ژنوتیپ MCC789 در سطح شوری 8 ds m^{-3} نسبت به شرایط غیرشور، کاهش معنی‌دار ۲۳ درصدی در این پارامتر مشاهده شد. می‌توان نتیجه گرفت ژنوتیپ MCC789 نسبت به ژنوتیپ MCC414 حساسیت بیشتری به شوری نشان می‌دهد. در هر دو شرایط کنترل و تنش، تیمار سالیسیلیک‌اسید در هر یک از دو ژنوتیپ، تأثیر معنی‌داری بر روی سطح برگ نشان نداد (شکل ۸).



شکل ۸- مقایسه سطح برگ در ژنوتیپ‌های نخود در سطوح مختلف شوری و سالیسیلیک‌اسید در مرحله گیاهچه‌ای

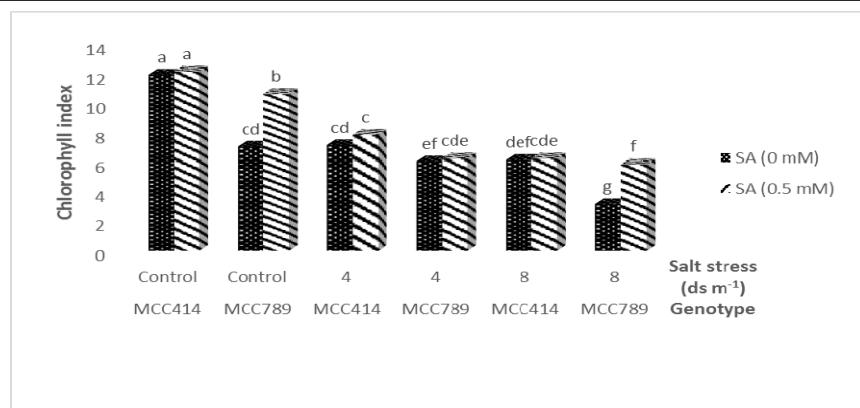
ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون چنددامنهای دانکن ($P < 0.05$) تفاوت معنی‌دار ندارند.

Fig. 8. Comparison of leaf area of chickpea genotypes at different levels of salinity and salicylic acid at seedling stage
Values labeled with the same letter(s) are not different at the 5% significance level according to Duncan's multiple range test.

داده‌شده از طرف پژوهشگران، کاهش میزان کلروفیل می‌تواند ناشی از اثر بازدارندگی یون‌های تجمع یافته در کلروپلاست (Chookhampaeng *et al.*, 2011)، تخریب کلروفیل توسط تنش اکسیداتیو ناشی از شوری (Sevengor *et al.*, 2011) و فعال شدن آنزیم کلروفیلاز یا ناپایدارشدن کمپلکس رنگیزه پروتئین توسط یون‌های شوری و تأثیر منفی در پروتوبورفیرین (Khan, 2003) می‌باشد. سالیسیلیک‌اسید بسته به غلظت، زمان کاربرد و گیاه مورد استفاده دارای آثار دوگانه‌ای است، اما در غلظت‌های مناسب با کاهش تخریب رنگیزه کلروفیل، افزایش توان آنتی‌اکسیدانتی سلول از جمله کاروتونوئیدها و سنتز پروتئین‌های جدید، از دستگاه فتوسنتزی حمایت می‌کند (Popova *et al.*, 2003).

بررسی صفات فیزیولوژیکی گیاه در مرحله رشد زایشی شاخص کلروفیل: نتایج نشان داد تنش شوری 8 ds m^{-3} در ژنوتیپ MCC789 و MCC414، میزان شاخص کلروفیل را نسبت به شرایط غیرشور، به ترتیب به میزان ۵۷ درصد و ۴۴ درصد کاهش داد. سالیسیلیک‌اسید در شرایط غیرشور و شوری 8 ds m^{-3} این شاخص را نسبت به شاهد، به ترتیب به میزان ۱/۴۶ و ۱/۸۷ برابر افزایش داد (شکل ۹).

بررسی‌ها حاکی از آن است که در شرایط تنش شوری میزان کلروفیل کل کاهش می‌یابد که علت آن به کاهش گلوتامات که ماده پیش‌ساخت کلروفیل و پرولین است، مربوط می‌شود. در شرایط تنش شوری، گلوتامات عمدتاً صرف تولید پرولین می‌شود، چراکه در تنش شوری، فعالیت آنزیم گلوتامات‌لیگاز برای تبدیل گلوتامین به پرولین فعال می‌گردد (Molazem *et al.*, 2010).



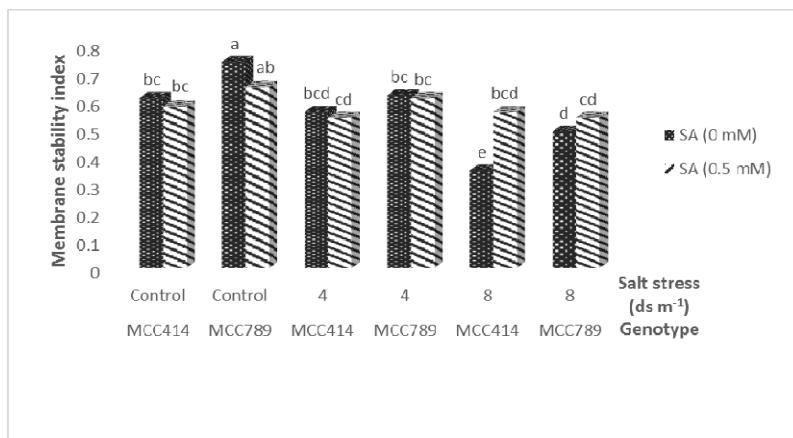
شکل ۹- مقایسه میزان شاخص کلروفیل در ژنتیپ‌های نخود در سطوح مختلف شوری و سالیسیلیک‌اسید در مرحله گلدهی ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون چنددمنهای دانکن ($P<0.05$) تفاوت معنی‌داری ندارند.

Fig. 9. Comparison of chlorophyll index of chickpea genotypes at different levels of salinity and salicylic acid at flowering stage

Values labeled with the same letter(s) are not different at the 5% significance level according to Duncan's multiple range test.

به طور معنی‌داری افزایش دهد (شکل ۱۰). سالیسیلیک‌اسید از طریق اثر بر پلی‌آمین‌هایی مانند پوتربیسین، اسپرمین، اسپرمیدین و همچنین ایجاد کمپلکس‌های پایدار غشاء باعث محافظت از غشا می‌شود (Wahid *et al.*, 2002) (Nemeth *et al.*, 2007) گزارش کردند که پراکسیداسیون لیپید و نفوذپذیری غشاء با تنفس شوری افزایش می‌یابد و این افزایش در گیاهان تیمار شده با سالیسیلیک‌اسید کمتر است.

شاخص پایداری غشاء: در شرایط تنفس شوری، در هر دو ژنتیپ با افزایش سطح شوری، میزان شاخص پایداری غشاء به طور معنی‌داری کاهش یافت. بررسی اثر متقابل ژنتیپ، سالیسیلیک‌اسید و شوری مؤید آن است که سالیسیلیک‌اسید در ژنتیپ MCC789 در هیچ‌یک از سطوح شوری تأثیر معنی‌داری بر روی شاخص پایداری غشاء نداشت و در ژنتیپ MCC414 فقط در سطح شوری 8ds/m توانست شاخص پایداری غشاء را نسبت به شرایط فاقد تیمار سالیسیلیک‌اسید



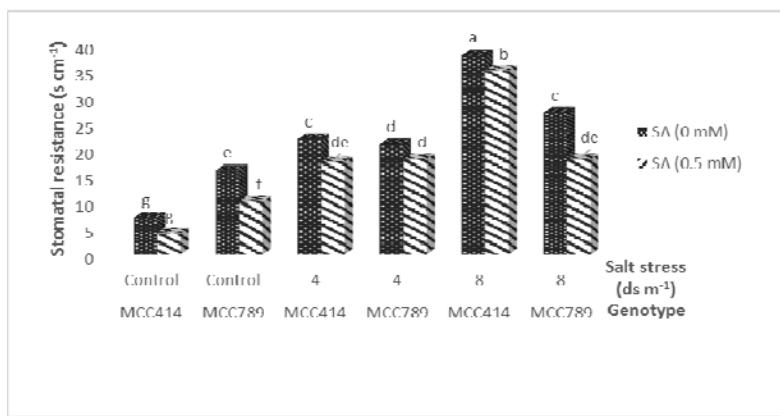
شکل ۱۰- مقایسه شاخص پایداری غشاء در ژنتیپ‌های نخود در سطوح مختلف شوری و کاربرد سالیسیلیک‌اسید در مرحله گلدهی ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون چنددمنهای دانکن ($P<0.05$) تفاوت معنی‌داری ندارند.

Fig. 10. Comparison of membrane stability index of chickpea genotypes at different levels of salinity and salicylic acid at flowering stage

Values labeled with the same letter(s) are not different at the 5% significance level according to Duncan's multiple range test.

به طور معنی‌داری کاهش داد. به طور کلی کاربرد سالیسیلیک‌اسید در تمام سطوح شوری باعث کاهش مقاومت روزنه‌ای شد، ولی این افزایش گاه‌آمیز معنی‌دار نبود (شکل ۱۱). در یک آزمایش کاربرد سالیسیلیک‌اسید باعث کاهش میانگین تعداد روزنه و قطر روزنه شد. در این شرایط مقاومت گیاه در برابر از دستدادن آب افزایش یافت (Hussain *et al.*, 2009).

مقاومت روزنه‌ای: در شرایط شوری در هر دو ژنوتیپ، با افزایش تنش شوری مقاومت روزنه‌ای به طور معنی‌داری افزایش یافت. مقایسه میانگین اثرات متقابل ژنوتیپ، شوری و سالیسیلیک‌اسید نشان داد که در ژنوتیپ MCC414 در شرایط غیرشور، SA تأثیر معنی‌داری بر روی مقاومت روزنه‌ای نداشت اما در سطح شوری ۴ و ۸ ds/m مقاومت روزنه‌ای را نسبت به شاهد کاهش داد. سالیسیلیک‌اسید در ژنوتیپ MCC789 در سطح شوری ۸ ds/m مقاومت روزنه‌ای را نسبت به شاهد



شکل ۱۱- مقایسه مقاومت روزنه‌ای در ژنوتیپ‌های مختلف شوری و سالیسیلیک‌اسید در مرحله گلدهی
ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون چنددانه‌ای دانکن ($P<0.05$) تفاوت معنی‌داری ندارند.

Fig. 11. Comparison of stomatal resistance of chickpea genotypes at different levels of salinity and salicylic acid at flowering stage

Values labeled with the same letter(s) are not different at the 5% significance level according to Duncan's multiple range test.

سالیسیلیک‌اسید در هیچ‌یک از سطوح شوری و شاهد تأثیر معنی‌داری بر این صفت نداشت (شکل ۱۳). کمبود آب ناشی از تنش شوری، از یک طرف با تأثیر بر ساختار غشاء سلول سبب افزایش نفوذپذیری غشاء نسبت به یون‌ها و ماکرومولکول‌ها می‌گردد و از طرف دیگر با افت محتوى رطوبت نسبی و پتانسیل آب برگ زمینه کاهش فتوسنتر در واحد سطح برگ را فراهم آورد (Popova, 2009). در تنش شوری آنچه فتوسنتر را تحت تأثیر قرار می‌دهد، کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتری، کاهش سطح برگ (کاهش سطح فتوسنتری)، کاهش هدایت روزنه‌ای و کاهش هدایت مزوفیلی می‌باشد (Parida & Das, 2005). استفاده از سالیسیلیک‌اسید با جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های کلروفیل‌اکسیداز مانع از تجزیه کلروفیل شده و از این طریق سبب افزایش فتوسنتر می‌شود (Khan *et al.*, 2003). (Delany *et al.*, 1994). در گزارش کردند که کاربرد سالیسیلیک‌اسید در دو گیاه سویا و ذرت میزان فتوسنتر، تعرق و همچنین هدایت CO₂ را افزایش داد. علاوه‌بر این تیمار برگ‌های سویا با سالیسیلیک‌اسید موجب

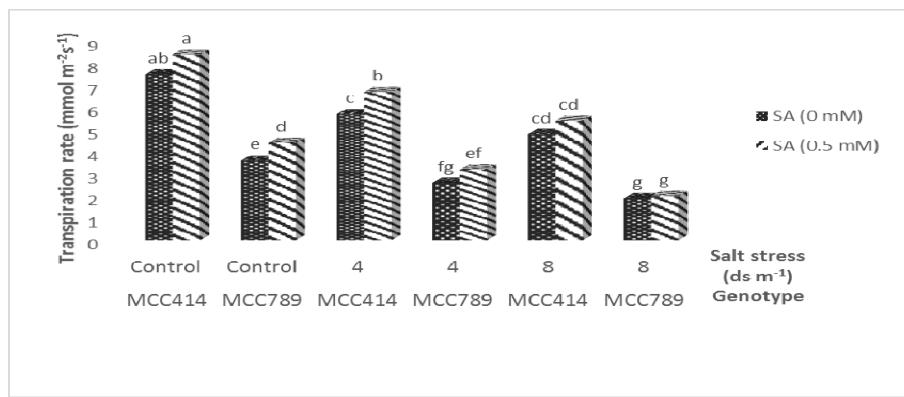
میزان تعرق: در هر دو ژنوتیپ، تنش شوری به صورت معنی‌داری میزان تعرق را کاهش داد (به طور متوسط ۴۳ درصد). در ژنوتیپ ۴ ds/m SA، MCC414 فقط در سطح شوری ۴ و در ژنوتیپ MCC789 در محیط بدون تنش، توانست افزایش معنی‌داری بر مقدار تعرق داشته باشد. به طور کلی کاربرد سالیسیلیک‌اسید در تمام سطوح شوری باعث افزایش تعرق شد، ولی این افزایش اغلب معنی‌دار نبود (شکل ۱۲). کاهش شدید هدایت روزنه‌ای و میزان تعرق، مکانیسم‌های سازشی در شرایط تنش شوری هستند. هالوفیت‌هایی مانند *Beta vulgaris* و *Spartina townsendi* در آستانه مقاومت به شوری، ترکیبی از فتوسنتر کم، تعرق حداقل، مقاومت روزنه‌ای بالا و غلظت CO₂ درونی کم را نشان می‌دهند (Koyro, 2003).

آسیمیلاسیون CO₂: در این پژوهش در شرایط بدون تنش، ژنوتیپ MCC414 نسبت به ژنوتیپ MCC789 میزان تنبیت CO₂ بیشتری داشت (۱/۲ برابر). تنش در هر دو ژنوتیپ به صورت معنی‌داری میزان تنبیت CO₂ را کاهش داد. اثر متقابل ژنوتیپ، SA و شوری نشان داد که در هر دو ژنوتیپ،

(2009) بیان کردند که گیاه آویشن تیمارشده با سالیسیلیک اسید دارای وزن خشک ریشه و بخش هوایی، میزان فتوسنترز، کارآیی مزو菲尔 و کارآیی استفاده از آب بیشتری در مقایسه با گیاهان تحت تنش است.

افزایش کارآیی آب، افزایش میزان تعرق و افزایش غلظت CO_2 درون‌سلولی شد (Pancheva *et al.*, 1996).

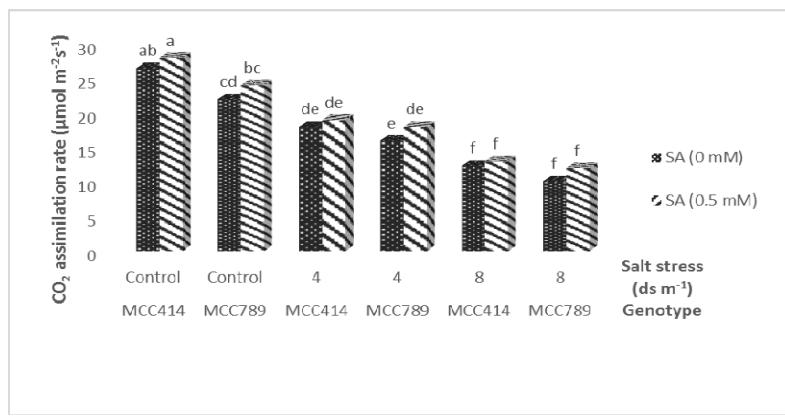
(2004) Khodary بیان کرد که اسپری برگی ذرت با سالیسیلیک اسید، میزان رنگیزه‌ها و همچنین میزان فتوسنترز تحت تنش شوری افزایش داد. Najafian & Khoshkliui



شکل ۱۲- مقایسه میزان تعرق در ژنتیپ‌های نخود در سطوح مختلف شوری و سالیسیلیک اسید در مرحله گلدهی ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون چنددامنه‌ای دانکن ($P<0.05$) تفاوت معنی‌داری ندارند.

Fig. 12. Comparison of transpiration rate of chickpea genotypes at different levels of salinity and salicylic acid at flowering stage

Values labeled with the same letter(s) are not different at the 5% significance level according to Duncan's multiple range test.



شکل ۱۳- مقایسه میزان اسیمیلاسیون دی‌اسیبد کربن در ژنتیپ‌های نخود در سطوح مختلف شوری و سالیسیلیک اسید در مرحله گلدهی ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون چنددامنه‌ای دانکن ($P<0.05$) تفاوت معنی‌داری ندارند.

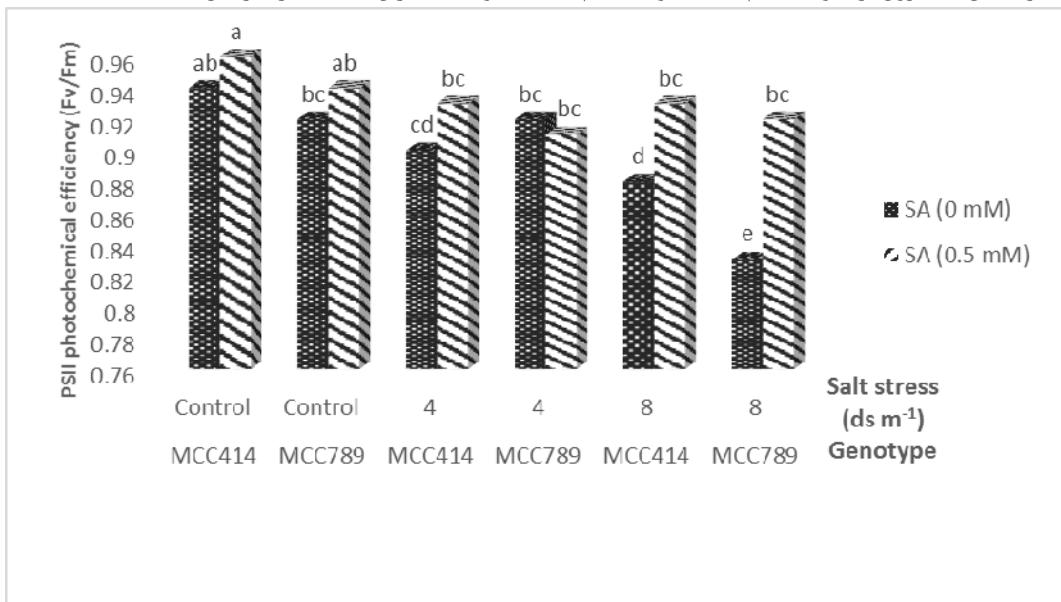
Fig. 13. Comparison of CO_2 assimilation rate of chickpea genotypes at different levels of salinity and salicylic acid at flowering stage

Values labeled with the same letter(s) are not different at the 5% significance level according to Duncan's multiple range test.

تحت تأثیر تنفس شوری مربوط می‌شود. بررسی‌ها نشان داده است که کلرورسدیم میزان تثبیت دی‌اکسیدکربن و فعالیت آنزیم PEP کربوکسیلاز را کاهش، اما فعالیت آنزیم مالات‌دهیدروژنаз را افزایش می‌دهد. تنفس شوری تقریباً از سنتز همه پروتئین‌های القاشونده با نور، از جمله پروتئین D1 ممانعت می‌نماید و دلیل آن بازدارندگی از رونویسی ژن‌های رمزگذار این پروتئین‌ها است و لذا فعالیت فتوسیستم II کاهش می‌یابد (Levitt, 1980). در گندم، تیمار سالیسیلیک‌اسید باعث بهبود میزان Fv/Fm شد (Waseem *et al.*, 2006) Szepesi *et al.* (2005) گزارش کردند که در گیاه گوجه‌فرنگی تحت تنفس خشکی، سالیسیلیک‌اسید با غلظت‌های 10^{-6} و 10^{-7} مولار توانست میزان Fv/Fm را افزایش دهد.

کارآیی فتوسیستم II: در هر دو ژنوتیپ با افزایش تنفس شوری، میزان کارآیی فتوسیستم II بهمیزان چشمگیری کاهش یافت. بررسی اثر متقابل ژنوتیپ، سالیسیلیک‌اسید و شوری حاکی از آن بود که در شوری 8 ds m^{-1} سالیسیلیک‌اسید توانست میزان کارآیی فتوسیستم II را نسبت به شرایط عدم کاربرد سالیسیلیک‌اسید در ژنوتیپ‌های MCC414 و MCC789 بهتر ترتیب بهمیزان $1/10^4$ و $1/10^4$ برابر افزایش دهد. اما در شرایط کنترل (سطح شوری صفر) و شوری 4 ds m^{-1} در هر دو ژنوتیپ سالیسیلیک‌اسید تأثیر معنی‌داری بر میزان کارآیی فتوسیستم II نداشت (شکل ۱۴).

کاهش نسبت Fv/Fm در شرایط تنفس شوری به اختلال ایجادشده در انتقال الکترون از فتوسیستم II به فتوسیستم I



شکل ۱۴- مقایسه میزان کارآیی فتوسیستم II کل در ژنوتیپ‌های نخود در سطوح مختلف شوری و سالیسیلیک‌اسید در مرحله گلدهی ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون چنددانه‌ای دانکن ($P<0.05$) تفاوت معنی‌داری ندارند.

Fig. 14. Comparison of PSII photochemical efficiency (Fv/Fm) of chickpea genotypes at different levels of salinity and salicylic acid at flowering stage

Values labeled with the same letter(s) are not different at the 5% significance level according to Duncan's multiple range test.

فیزیولوژی گیاهی دانشکده علوم پایه و آزمایشگاه فیزیولوژی تنفس‌های پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد که امکانات لازم جهت انجام این آزمایش‌ها را در اختیار ما قرار دادند سپاسگزاری می‌شود.

سپاسگزاری
هزینه‌های این آزمایش از محل اعتبارات متمرکز معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد تأمین شده است که بدین‌وسیله تشكر و سپاس‌گزاری می‌شود. از آزمایشگاه

منابع

1. Ahmed, S., Nawata, E., Hosokawa, M., Domae, Y., and Sakuratani, T. 2002. Alterations in photosynthesis and some antioxidant enzymatic activities of mungbean subjected to waterlogging. *Plant Science* 163: 117-123.
2. Allakhverdiev, S.I., Sakamoto, A., Nishiyama, Y., Inaba, M., and Murata, N. 2000. Ionic and osmotic effects of NaCl-induced inactivation of photosystems I and II in *Synechococcus sp.* *Plant Physiology* 123: 1047-1056.
3. Allen, R.D. 1995. Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. *Plant Physiology* 57: 1049-1054.
4. Asish Kumar Parida, A., and Anath Bandhu Das, A. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60: 324-349
5. Chookhampaeng, S. 2011. The Effect of salt stress on growth, chlorophyll content proline content and antioxidative enzymes of pepper (*Capsicum annuum L.*) seedling. *European Journal of Scientific Research* 49: 103-109.
6. De, F., and Kar, R.K. 1994. Seed germination and seedling growth of mung bean (*Vigna radiata*) under water stress induced by PEG-6000. *Seed Science and Technology* 23: 301-304.
7. Delany, T.P., Uknas, S., Vernooij, B., Friedrich, L., Weymann, K., Negrotto, D., Gaffney, T., Gut-Rella, M., Kessmann, H., Ward, E., and Ryals, J. 1994 . A central role of salicylic acid in plant disease resistance. *Science* 266: 1247-1250.
8. Demir, I., and Mavi, K. 2008. Effect of salt and osmotic stresses on the germination of pepper seeds of different maturation stages. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 51: 897-902.
9. Du, Y.C., Nose, A., Wasano, K., and Ushida, Y. 1981. Responses to water stress of enzyme activities and metabolite levels in relation to sucrose and starch synthesis, the Calvin cycle and the C4 pathway in sugarcane (*Saccharum sp.*). *Australian Journal of Plant Physiology* 25: 253-260.
10. El-Tayeb, M.A. 2005. Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation* 45: 215-224.
11. Erik, T.N., and David, M.O. 1996 . *The Physiology of Plants Under Stress, Abiotic Factors* . Copyright by John Wiley, sons. Inc
12. FAO 2005. Salt affected soils from sea water intrusion: strategies for rehabilitation and management. Report of the Regional Workshop. Bangkok, Thailand, 62 pp.
13. Farooq, M., Aziz, T., Basra, S.M.A., Cheema, M.A., and Rahman, H. 2008. Chilling tolerance in hybrid maize induced by priming whit salicylic acid. *Agronomy Crop Science* 194: 161-168.
14. Gutierrez-Coronado, M.A., Trejo-Lopez, C., and Larque'-Saavedra. 1998. Effects of salicylic acid on growth of roots and shoots in soybean. *Plant Physiology and Biochemistry* 36: 653-665.
15. Hanan, E.D. 2007. Influence of salicylic acid on stress tolerance during seed germination of *Triticum aestivum* and *Hordeum vulgare*. *Biological Research* 1: 40-48.
16. Hayat, S., Ali, B., and Ahmad, A. 2007. Salicylic acid: biosynthesis, metabolism and physiological role in plants. Department of Botany, Aligarh Muslim University, Aligarh, INDIA 46: 1-14.
17. Hernandez, J.A., Olmos, E., Corpas, F.J., Sevilla, F., and Del Rio, L. 1995. Salt-induced oxidative stress in chloroplasts of pea plants. *Plant Science* 105: 151-167.
18. Hussain, M., Farooq, M., Jabran, K., and Wahid, A. 2009. Foliar application of Glycine-betaaine and Salicylic acid improves growth, yield and water productivity of hybrid Sunflower planted by different sowing methods. *Australian Journal of Basic & Applied Science* 196(2): 136-145.
19. Kalaji, M.H., and Guo, P. 2008. Chlorophyll fluorescence: a useful tool in barley plant breedingprograms. In: A. Sanchez and S.J. Gutierrez (Eds.). *Photochemistry Research Progress*. Nova Publishers, NY, USA: 439-463.
20. Welfare, K., Yeo, A.R., and Flowers, T.J. 2002. Effects of salinity and ozone, individually and in combination, on the growth and ion contents of two chickpea (*Cicer arietinum L.*) varieties. *Environmental Pollution* 120: 397-40.

-
21. Khan, N.A. 2003. NaCl inhibited chlorophyll synthesis and associated changes in ethylene evolution and antioxidative enzyme activities in wheat. *Plant Biology* 47: 437-440.
 22. Khodary, S.E.A. 2004. Effect of Salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed msaize plants. *International Journal of Agriculture and Biology* 6: 5-8.
 23. Kim, S.T., Kim, S.G., Hwang, D.H., Kang, S.Y., Koo, S.C., Cho, M.J., and Kang, K.Y. 2004. Expression of a salt-induced protein (SALT) in suspension-cultured cells and leaves of rice following exposure to fungal elicitor and phytohormones. *Plant Cell Report* 23: 256-262.
 24. Koyro, H.W. 2003. Study of potential cash crop halophytes in a quick check system task. *Vegetable Science* 38: 5-17.
 25. Levitt, J. 1980. Responses of Plants to Environmental Stresses (Physiological Ecology): Chilling, Freezing, and High Temperature Stresses .Academic Press, New York.
 26. Liu, D., Jiang, W., and Gao, X. 2003. Effect of cadmium on root growth, cell division and nucleolic in root tipe cells of garlic. *Biological Plant* 47(1): 79-83.
 27. Molazem, D., Qurbanov, E.M., and Dunyamaliyev, S.A. 2010. Role of proline, Na and chlorophyll content in salt tolerance of corn (*Zea mays L.*). *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Science* 9(3): 319-324.
 28. Najafian, S.M., and Khoshkliui, V. 2009. Effect of salicylic acid and salinity in thyme (*Thymus vulgaris L.*): Investigation on changes in gas exchange, water relations and membrane stabilization and biomass accwnulation. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 3(23): 2620-2626.
 29. Nemeth, M., Janda, T., Horvath, E., Paldi, E., and Szalai, G. 2002. Exogenous salicylic acid increase polyamine content but may decrease drought tolerance in maize. *Plant Science* 162 :569-574.
 30. Pancheva, T.V., Popova, L.P., and Uzunova, A.M. 1996. Effect of salicylic acid on growth and photosynthesis in barley plants. *Journal of Plant Physiology* 149: 57-63.
 31. Parida, A.K., and Das, A.B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60: 324-349.
 32. Popova, L.P., Maslenkova, L.T., Yordanova, R.Y., Ivanova, A.P., Krantev, A.P., Szalai, G., and Janda, T. 2009. Exogenous treatment with salicylic acid attenuates cadmium toxicity in pea seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry* 47: 224-231.
 33. Popova, L., Ananieva, V., Hristova, V., Christov, K., Geovgjeva, K., Alexieva, V., and Stoinova, Z. 2003. Salicylic acid and methyl jasmonate induced protection on photosynthesis to paraquat oxidative stress. *Bulgarian Journal of Plant Physiology (Special issue)*: 133-152.
 34. Rehman, S., Harris, P.J.C., Bourne, W.F., and Wikin, J. 1996. The effect of sodium chloride on germination and the potassium and calcium contents of Acacia seeds. *Seed Science and Technology* 25: 45-57.
 35. Rock, C.D. 2000. Pathways to abscisic acid-regulated gene expression. *New Phytologist* 148: 357-396.
 36. Sairam, R.K., Veerabhadra Rao, K., and Srivastava, G.C. 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science* 163: 1037-1046.
 37. Sairam, R., and Saxena, K. 2000. Oxidative stress and antioxidant in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science* 184(1): 55-61.
 38. Senaratna, T., Touchell, D., Bunn, E., and Dixon, K. 2000. Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Plant Growth Regulation* 30: 157-161.
 39. Sevengor, S., Yasar, F., Kusvuran, S., and Ellialtioglu, S. 2011. The effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidative enzymes of pumpkin seedling. *African Journal of Agricultural Research* 21: 4920-4924.
 40. Shabala, S., Babourina, O., and Newman, I. 2000. Ionspecific mechanisms of osmoregulation in bean mesophyll cells. *Journal of Experimental Botany* 51: 1243-1253.
 41. Shakirova, F.M., Sakhbutdinova, 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: 317-322.

-
- 42. Singh, A.K., and Dubey, R.S. 1995. Changes in chlorophyll a and b contents and activities of photosystems I and II in rice seedlings induced by NaCl. *Photosynthetica* 31: 489.
 - 43. Szepesi, Á., Csiszár, J., Bajkán, Sz., Gémes, K., Horváth F., Erdei, L., Deér, A., Simon, L.M., and Tari, I. 2005. Role of salicylic acid pre-treatment on the acclimation of tomato plants to salt- and osmotic stress. *Acta Biologica Szegediensis* 49: 123-125.
 - 44. Ungar, I.A. 1995. Seed germination and seed-bank ecology of halophytes. In: J. Kigel and G. Galili (Eds). *Seed Development and Germination*, Marcel and Dekker Inc., 1995.
 - 45. Wahid, A., Perveen, M., Gelani, S., and Basra, S.M.A. 2007. Pretreatment of seed with H₂O₂ improves salt tolerance of wheat seedlings by alleviation of oxidative damage and expression of stress proteins. *Journal of Plant Physiology* 164: 283-294.
 - 46. Waseem, M., Athar, H.U.R., and Ashraf, M. 2006. Effect of salicylic acid applied through rooting medium on drought tolerance. *Pakistan Journal of Botany* 4(38): 1127-1136.
 - 47. Zekri, M., and Parsons, L.R. 1990. Response of split-root sour orange seedlings to NaCl and polyethylene glycol stresses. *Journal of Experimental Botany* 41(222): 35-40.

Interaction effects of salinity and salicylic acid on germination, growth and some morpho-physiological characteristics of chickpea genotypes (*Cicer arietinum* L.)

Ganjeali^{1*}, A., Abrishamchi², P. & Shooryabi³, M.

1. Associate Professor, Department of Biology; College of Sciences & Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

2. Associate Professor, Biology Department, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad (FUM), Iran

3. PhD. Student in Agronomy, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad (FUM), Iran

Received: 3 February 2015

Accepted: 19 September 2015

DOI: 10.22067/ijpr.v7i2.44059

Introduction

Salinity has various effects on plant growth by affecting physiological processes. The decline in plant productivity under saline condition, frequently linked with the reduction of photosynthetic capability. It has been reported that efficiency of PSII photochemistry (Fv/Fm) of numerous plant species have been decreased due to salt stress studies have shown that salicylic acid (SA) improves resistance of plants to environmental stresses (heat, cold, drought and salt stress). In this relation, convincing data have showed that the SA-induced enhances resistance of plants to the salinity. Therefore, the present study was conducted to estimate salicylic acid effects on germination, growth and some physiological characteristics of two chickpea genotypes (*Cicer arietinum* L.) in salt stress condition.

Materials and Methods

In this research we studied the effects of different concentrations of SA (0.5 and 1 mM), on chickpea genotypes (MCC414, MCC789) during growth stages (germination, seedling and flowering) under salinity stress. Five levels of salinity including 0, 3, 5, 10 and 12 dsm⁻¹ in germination stage and three levels of salinity (0, 4 and 8 dsm⁻¹) at seedling and flowering stages) were employed separately in a factorial experiment based on Randomized Completely Block Design with three replications.

Results and Discussion

Results of means comparison showed that germination rate, significantly decreased under salt stress in both genotypes ($P \leq 0.05$). Under salt stress, increasing the osmotic pressure and the reduction seeds water absorption and the toxic effects of sodium and chlorine ions, can affect seed germination. Exogenous application of SA concentrations (0.5 mM), under salt stress (3 and 12 dsm⁻¹) increased rate and percentage of germination in MCC789 genotype. For MCC414 genotype, the combination of the treatment with salicylic acid (0.5 and 1 mM) and salinity (10 dsm⁻¹) increased significantly germination rate. In same genotype, radicle and coleoptile length increased significantly after treating with SA (1mM) in salt stress (12 dsm⁻¹). Exogenous application of SA concentration (0.5 mM), under salt stress (3 dsm⁻¹) increased coleoptile length in MCC789 genotype ($P \leq 0.05$). Seed priming with SA leads to an activation of germination and seedling growth, while the enhancement of the division of root apical cells are important contribution to the growth stimulating effect of SA. In seedling stage, salinity decreased

* Corresponding Author: ganjeali@um.ac.ir, Mobile: 09153057645

stem and root dry weight. SA and on some salinity levels, significantly increased stem dry weight in MCC789 and total root length in MCC414 genotype ($P \leq 0.05$). The decline in plant productivity under saline condition is frequently linked with the reduction in leaf area and stomatal conductance. Positive effects of SA on growth characteristics, in wheat, barley and maize have been reported. In both genotype, chlorophyll index, transpiration rate, membrane stability index and efficiency of PSII photochemistry significantly decreased and stomatal resistance increased under salt stress in flowering stage. Serious reduction in stomatal conductance and transpiration rate are adaptive mechanisms under salt stress. Halophytes such as *Beta vulgaris* and *Spartina townsendi* have salinity tolerance and show a combination of low photosynthesis, minimal transpiration, high stomatal resistance and low internal CO_2 concentrations. Studies showed chlorophyll contents decreased under saline condition. Biochemical analysis of leaves of different maize cultivars for proline and chlorophyll contents indicated that proline accumulation increased and chlorophyll contents decreased under saline condition. SA application increased chlorophyll index and membrane stability index respectively in MCC789 and MCC414 genotypes. In both genotypes, stomatal resistance, significantly decreased and efficiency of PSII photochemistry increased with SA treatment under salt stress (12 dsm^{-1}) ($P \leq 0.05$). Studies have shown that salicylic acid protects membranes by increasing polyamines such as putrescine, spermine, spermidine, as well as membrane sustainable complexes. In wheat, SA application improves the Fv/Fm. Szepesi *et al.* (2005) reported SA (10^{-6} and 10^{-7} M) could increase Fv/Fm in tomato plants under drought stress.

Conclusion

The results indicated that the modulator effects on salicylic acid on germination and other physiological processes of chickpea genotypes under salt stress.

Key words: Chickpea (*Cicer arietinum* L.), Efficiency of PSII photochemistry, Growth parameters, Membrane stability index, Salicylic acid, Salt stress