

## تأثیر اسید سالیسیلیک در بهبود خسارت تنش سرمازدگی در هیبرید ذرت سینگل کراس ۴۰۰ (*Zea mays L.*)

محسن طریق الاسلامی<sup>۱</sup>، محمد کافی<sup>۱\*</sup>، احمد نظامی<sup>۱</sup> و رضا ضرغامی<sup>۲</sup>

گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران. <sup>۲</sup> عضو هیئت علمی پژوهشکده بیوتکنولوژی (ابری) کرج، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۹/۲۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۱۲/۱۲)

### چکیده:

تنش سرمازدگی معمولاً بیشتر در گیاهان مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری و یا گیاهان رشد یافته در این مناطق مشاهده می شود. به طور کلی، گیاهان این مناطق از جمله ذرت در دوره رشد فعال خود و در طی مراحل اولیه نمو بسیار حساس به تنش سرمازدگی می باشند. به همین منظور آزمایشی برای بررسی تأثیر تنش سرما زدگی و اسید سالیسیلیک بر فعالیت صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی هیبرید ذرت سینگل کراس ۴۰۰، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. تنش سرمازدگی در دو سطح (عدم تنش سرمازدگی (شاهد) و تنش سرمازدگی در دمای پنج درجه سانتیگراد در مرحله چهار برگه به مدت ۱۲ ساعت) و سه غلظت محلول پاشی اسید سالیسیلیک (عدم محلول پاشی (شاهد)، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرو مولار) در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد در شرایط تنش سرمازدگی غلظت مالون دی آلدئید، دی تیروزین و پرولین افزایش و غلظت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز کاهش یافت. محلول پاشی ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرو مولار اسید سالیسیلیک باعث کاهش اثرات تنش سرمازدگی شد. در شرایط تنش سرمازدگی نشت الکترولیت افزایش و محتوی آب نسبی، وزن خشک و سطح برگ کاهش پیدا کرد. محلول پاشی باعث افزایش محتوی کلروفیل گردید. همچنین همبستگی معنی داری بین میزان خسارت سرما، تیمار اسید سالیسیلیک و صفات مورد بررسی وجود داشت که نشان دهنده پاسخ مثبت گیاهچه ذرت نسبت به کاربرد اسید سالیسیلیک در شرایط تنش سرمازدگی بود. بیشترین میزان پرولین مربوط به محلول پاشی ۴۰۰ میکرو مولار اسید سالیسیلیک به میزان ۳۹/۵ میکرومول در گرم وزن تر بود.

واژه های کلیدی: آنتی اکسیدانت، کاتالاز، کلروفیل، گیاهچه ذرت، مالون دی آلدئید، محلول پاشی اسید سالیسیلیک

### مقدمه:

معتدله به دلیل برخورد زمان برداشت گیاه با سرمای زودرس پاییزه گیاه دچار خسارت می شود، به همین علت کاشت زود هنگام ذرت به عنوان یکی از راهکارهای احتمالی بهبود تولید این گیاه ذکر شده است (کافی و همکاران، ۱۳۸۳). در این وضعیت نیز تنش سرمازدگی در ابتدای فصل ممکن است رشد گیاه را تحت تأثیر قرار دهد. به همین دلیل اطلاع از واکنش ذرت به تنش سرمازدگی در این مرحله از اهمیت خاصی برخوردار است (Arvin and Donnelly, 2008). اسید

خسارت ناشی از سرما در مراحل حساس رشد و نمو گیاهان یکی از عوامل مهم کاهش عملکرد گیاهان زراعی است (Wang and Adams, 1980). بسیاری از گونه های گیاهی به ویژه گونه های مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری مانند ذرت در معرض دمای پایین، ولی بالای صفر آسیب می بینند (احمدی و همکاران، ۱۳۸۳). ذرت به عنوان منبع اصلی تأمین انرژی در تغذیه طیور از اهمیت ویژه ای برخوردار می باشد. در مناطق

بررسی اثر آن بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گل اطلسی مشاهده کردند که فعالیت در دماهای کمتر کاهش می‌یابد. این نتیجه می‌تواند به دلیل تولید کمتر رادیکال‌های آزاد در دمای پایین و یا کلاً متابولیسم کمتر در دمای پایین باشد (Pennycooke *et al.*, 2005). نتایج کریمی (۱۳۹۳) بر روی گل میخک مشابه نتایج ذکر شده باعث کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در شرایط تنش دمایی بود. همچنین اسدی و همکاران (۱۳۹۴) نتایج مشابهی بر روی سر خار گل بدست آوردند. Farooq و همکاران (۲۰۰۸) بر روی ذرت، Karlidag و همکاران (۲۰۰۹) بر روی توت فرنگی و Tao و همکاران (۲۰۰۹) بر روی خیار تخفیف اثرات سرما توسط اسید سالیسیلیک را از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از جمله کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز گزارش کردند. Senaratna و همکاران (۲۰۰۱) اثرات تنش اکسیداتیو ناشی از سرما و خشکی در دو گیاه لوبیا و گوجه فرنگی را مورد بررسی قرار دادند، نتایج آن‌ها نشان داد که به کار بردن اسید سالیسیلیک به صورت خارجی در شرایط تنش، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز را بهبود می‌بخشد Janda و همکاران (۲۰۰۱) طبق یک تحقیق مشابه نیز میزان فعالیت این دو آنزیم را تحت تنش سرما در گیاه ذرت گزارش کردند. هدف از این آزمایش بررسی تأثیر اسید سالیسیلیک بر فعالیتهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در مرحله چهار برگی ذرت سینگل کراس ۴۰۰ تحت شرایط تنش سرمازدگی بود.

#### مواد و روش‌ها:

این تحقیق در سال ۱۳۹۴ به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد به اجرا درآمد. طی آن اثر تنش سرمازدگی در دو تیمار (عدم تنش (شاهد) و تنش سرمازدگی (دمای پنج درجه سانتی‌گراد) در مرحله چهار برگی) محلول پاشی اسید سالیسیلیک در سه غلظت (محلول پاشی با آب مقطر (شاهد)، محلول پاشی ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرو

سالیسیلیک می‌تواند در ایجاد مقاومت به سرما و تأثیر بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و سوخت و ساز و متابولیسم پراکسید هیدروژن نقش داشته باشد (Janda *et al.*, 2003). اسید سالیسیلیک و سایر مشتقات فنلی در ایجاد مقاومت گیاهان به انواع تنش‌های زیستی و غیرزیستی مؤثرند. این اسید جزئی از مسیرهای سیگنالی است که به وسیله برخی تنش‌های زیستی و غیرزیستی در گیاه القا می‌شود (Raskin, 1991). اسید سالیسیلیک به عنوان نوعی تنظیم‌کننده رشد، در رشد گیاه، القای گلدهی، حرکت مواد و فتوسنتز مؤثر است (Hayat and Ahmad, 2007). غلظتهای مختلف اسید سالیسیلیک و مدت زمان تأثیرگذاری آن واکنش‌های متعددی را در گیاه سبب می‌شود (Hare and Cress, 2004, Senaratna *et al.*, 2003).

مقدار پرولین آزاد در بسیاری از گیاهان در واکنش به تنش‌های محیطی مانند تنش سرمازدگی به مقدار زیادی افزایش می‌یابد و سبب تثبیت غشا در هنگام تنش سرما می‌شود (Ranney, 1991). تجمع پرولین آزاد اغلب با مقاومت گیاهان در وضعیت تنش‌های زیاد به ویژه دمای کم در ارتباط است (Ranney, 1991). پرولین نقش مهمی در متابولیسم گیاهان تحت تنش دارد و در تنظیمات اسمزی سلول و نیز در محافظت پروتئین‌ها نیز مؤثر است (Yelonsky, 1979). وقتی بافت‌های گیاهی در معرض سرما قرار می‌گیرند تولید مولکول‌های گونه‌های فعال اکسیژن در آن‌ها افزایش می‌یابد. این مولکول‌ها می‌توانند باعث تخریب پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک سلول‌ها و در نهایت غشاهای زیستی شوند. سلول‌های گیاهی برای کاهش اثرات تخریبی این مولکول‌ها، فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانت خود از جمله آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) را افزایش می‌دهند (Apel and Hirt, 2004). وقتی اسید سالیسیلیک در غلظت‌های مناسب اعمال می‌شود، این هورمون باعث بالا رفتن توان سیستم آنتی‌اکسیدانت بافت‌های گیاهی از طریق فعال کردن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز می‌شود (Cao *et al.*, 2010, Luo *et al.*, 2012).

Pennycooke و همکاران (۲۰۰۵) با کاربرد تیمار دمایی و

کاملاً توسعه یافته از هر بوته جدا شد و در ویال‌های حاوی ۵۰ میلی لیتر آب دوبار تقطیر شده قرار گرفتند. پس از گذشت ۲۴ ساعت از قرار گیری نمونه‌ها در دمای آزمایشگاه، هدایت الکتریکی با استفاده از دستگاه EC متر (مدل Jenway) اندازه گیری شد ( $EC_1$ ). به منظور اندازه‌گیری کل نشت الکترولیت‌ها پس از مرگ سلول‌ها، نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو با فشار یک بار و دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها در شرایط آزمایشگاه قرار داده شده و پس از ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی آنها اندازه‌گیری شد ( $EC_2$ ). با استفاده از معادله ۲ درصد نشت الکترولیت‌ها محاسبه شد.

$$EL\% = (EC_1 / EC_2) \times 100 \quad \text{معادله (۲)}$$

اندازه‌گیری میزان کلروفیل نسبی برگ با استفاده از دستگاه کلروفیل متر دستی (SPAD Konica Minolta, Spad-502) در مرحله چهارم برگی در پنج زمان (۱، ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز پس از تنش سرمازدگی) انجام شد. به این منظور از کلیه برگ‌های گیاهچه، به این صورت که میزان کلروفیل آنها از محل میانه برگ گیاهچه ثبت شد. جهت تعیین سطح برگ (از دستگاه سطح برگ سنج) و وزن خشک پس از سه هفته سه گیاهچه از هر گلدان برداشت شده و صفات مذکور اندازه‌گیری گردید. پس از خروج گیاهان از اتاقک سرما خسارت سرمازدگی با توجه به ظاهر گیاه پس از اعمال تنش در طول یک هفته با توجه به تغییر رنگ و نکروزه شدن درجه‌بندی گردید. به این صورت که گیاهچه کاملاً سالم درجه یک، کلروزه شدن نوک برگ‌ها درجه دو، کلروزه شدن برگ‌ها و پایین ساقه درجه سه، تغییر رنگ و نکروزه شدن درجه چهار و گیاه کاملاً نکروزه درجه پنج در نظر گرفته شد (نظامی و همکاران، ۱۳۸۹). تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار MSTAT-C صورت گرفت و برای رسم نمودارها از نرم افزار EXCEL استفاده شد. میانگین‌ها در سطح ۵ درصد نیز با استفاده از آزمون LSD مقایسه شدند.

### نتایج و بحث:

**مالون دی آلدئید:** اثرات تنش سرمازدگی و اسید سالیسیلیک بر میزان مالون دی آلدئید در سطح یک درصد معنی‌دار بود

مولار) در نظر گرفته شد. در تاریخ اول اردیبهشت دو عدد بذر در گلدان‌های کاغذی حاوی مخلوطی از ماسه، پرلیت، خاک مزرعه و خاکبرگ به نسبت مساوی و در عمق پنج سانتیمتری کشت گردید و تا زمان استقرار کامل گیاه آبیاری به صورتی که سطح خاک گلدان‌ها رطوبت مورد نیاز را حفظ کند صورت پذیرفت. تا مرحله چهارم برگی گیاهچه‌ها در شرایط گلخانه قرار داشتند و در این مرحله برای اعمال تنش سرمازدگی گیاهچه‌های ذرت به داخل اتاقک سرد انتقال داده شدند. ۲۴ ساعت قبل از انتقال گیاهچه‌ها به اتاقک سرد توسط اسید سالیسیلیک محلول پاشی گردید. دمای اتاقک در شروع آزمایش ۲۵ درجه سانتیگراد بود و پس از قرار دادن نمونه‌ها با سرعت دو درجه سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت و در دمای پنج درجه به مدت ۱۲ ساعت باقی ماند. کلیه اندازه‌گیری‌های صورت گرفته ۲۴ ساعت پس از تنش سرمازدگی صورت گرفت.

میزان مالون دی آلدئید (MDA): به روش گو و همکاران (Guo et al., 2005) و بيو مارکر دی تیروزین از روش اورهنل و همکاران (Orhanl et al., 2004) اندازه‌گیری شد. همچنین آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) با استفاده از روش مینامیا و یوشیکاوا (Minami and Yoshikawa, 1979) و فعالیت آنزیم گلو تاتیون پر اکسیداز (GPX) از روش پاگلیا (Paglia, 1987)، آنزیم کاتالاز (CAT) با استفاده از روش آبی (Aebi, 1984) و اندازه‌گیری پرولین به روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) انجام شد.

برای اندازه‌گیری محتوای آب نسبی، برگ جوان و توسعه یافته انتخاب گردید و سپس دو قطعه هم اندازه به میزان دو سانتیمتری تهیه و پس از توزین وزن تر نمونه‌ها، قطعات برگی در پتری دیش حاوی آب مقطر به مدت ۱۲ ساعت، اشباع و توزین شده، سپس نمونه‌های توزین شده در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفته و وزن خشک آنها تعیین گردید. سپس محتوای آب نسبی از معادله ۱ محاسبه شد.

$$RWC = \frac{W_w - D_w}{W_{sw} - D_w} \quad \text{معادله (۱)}$$

$W_w$  = وزن تر برگ،  $D_w$  = وزن خشک برگ،  $W_{sw}$  = وزن تر اشباع برگ

به منظور تعیین درصد نشت الکترولیت ابتدا جواترین برگ

جدول ۱- منابع تغییر، درجه آزادی و میانگین مربعات اثر تنش سرما زدگی و اسید سالیسیلیک بر آنزیمهای آنتی اکسیدانت، پرولین، نشت الکترولیت و محتوی آب نسبی ذرت در شرایط گلخانه ای

منابع تغییر	درجه آزادی	مالون دی آلدهید	دی تیروزین	سوپراکسید دیسموتاز	گلوتاتیون پراکسیداز	کاتالاز	پرولین
تنش سرمازدگی	۱	۶۰/۸۶۷**	۴/۰۲۳**	۰/۳۲۵*	۰/۰۰۴ <sup>ns</sup>	۰/۰۶۱*	۱۶۰/۳۲۴**
اسید سالیسیلیک	۲	۳۸۶/۶۸۵**	۸/۵۷۲**	۱/۱۹۶**	۰/۶۲۸**	۰/۸۸۴**	۶۱۳/۹۹۸**
سرما×سالیسیلیک	۲	۱/۵۹۱ <sup>ns</sup>	۰/۳۰۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۱۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۴۹ <sup>ns</sup>	۰/۰۱۲ <sup>ns</sup>	۰/۸۹۵ <sup>ns</sup>
خطای آزمایش	۱۲	۸/۳۹۴	۰/۵۴۴	۰/۰۴۰	۰/۰۲۳	۰/۰۲۵	۹/۸۴۵
ضریب تغییرات	-	۱۲/۴۶	۹/۴۵	۷/۵۸	۱۱/۳۷	۱۰/۴۳	۱۰/۷۸

ns، \*، \*\* به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح پنج و یک درصد.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات تنش سرما زدگی و اسید سالیسیلیک بر آنزیمهای آنتی اکسیدانت و پرولین ذرت در شرایط گلخانه‌ای

تیمار	مالون دی آلدهید (μmol g <sup>-1</sup> fw)	دی تیروزین (nMol g <sup>-1</sup> fw)	سوپراکسید دیسموتاز (Umg <sup>-1</sup> Protein)	گلوتاتیون پراکسیداز (Umg <sup>-1</sup> Protein)	کاتالاز (μmol g <sup>-1</sup> fw)	پرولین (μmol g <sup>-1</sup> fw)
تنش سرمازدگی						
عدم تنش سرمازدگی (شاهد)	۲۱/۴ <sup>b</sup>	۷/۳۳ <sup>b</sup>	۲/۷۸ <sup>a</sup>	۱/۳۴ <sup>a</sup>	۱/۵۶ <sup>a</sup>	۲۶/۱ <sup>b</sup>
تنش سرمازدگی	۲۵/۱ <sup>a</sup>	۸/۲۷ <sup>a</sup>	۲/۵۱ <sup>b</sup>	۱/۳۱ <sup>a</sup>	۱/۴۵ <sup>b</sup>	۳۲/۱ <sup>a</sup>
اسید سالیسیلیک						
عدم محلول پاشی (شاهد)	۳۱/۴ <sup>a</sup>	۹/۰۶ <sup>a</sup>	۲/۲۲ <sup>c</sup>	۱/۰۱ <sup>c</sup>	۱/۱۵ <sup>c</sup>	۱۹/۳ <sup>c</sup>
۲۰۰ میکرو مولار	۲۳/۰ <sup>b</sup>	۷/۶۶ <sup>b</sup>	۲/۶۰ <sup>b</sup>	۱/۳۱ <sup>b</sup>	۱/۴۶ <sup>b</sup>	۲۸/۵ <sup>b</sup>
۴۰۰ میکرو مولار	۱۵/۳ <sup>c</sup>	۶/۶۸ <sup>c</sup>	۳/۱۱ <sup>a</sup>	۱/۶۵ <sup>a</sup>	۱/۹۱ <sup>a</sup>	۳۹/۵ <sup>a</sup>

میانگین‌های هر عامل که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد باهم تفاوت معنی داری ندارند.

اکسیداسیون اسیدهای چرب می باشد و می تواند به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید غشای سلولی که در اثر تولید گونه های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species) بوجود می آید مورد توجه قرار گیرد. اسید سالیسیلیک باعث بالا رفتن توان سیستم آنتی اکسیدانت بافت های گیاهی از طریق فعال کردن آنزیم های آنتی اکسیدانت سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز می شود و در نهایت میزان مالون دی آلدهید را در گیاهان تحت تنش کاهش می دهد (Popova et al., 2007).

**دی تیروزین:** تنش سرمازدگی باعث افزایش (۱۲/۸ درصد) معنی دار (در سطح یک درصد) فعالیت دی تیروزین نسبت به شاهد شد و کاربرد ۴۰۰ میکرو مولار اسید سالیسیلیک منجر به

(جدول ۱). غلظت مالون دی آلدهید در شرایط تنش سرمازدگی نسبت به عدم تنش (شاهد) ۱۷/۳ درصد افزایش پیدا کرد. محلول پاشی اسید سالیسیلیک با غلظت ۴۰۰ میکرو مولار سبب کاهش ۵۰ درصدی غلظت مالون دی آلدهید نسبت به عدم محلول پاشی (شاهد) شد (جدول ۲). پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی از طریق تجمع مالون دی آلدهید موجب ایجاد آسیب سرمازدگی در گیاهان می گردد و تیمار اسید سالیسیلیک با کاهش مالون دی آلدهید می تواند با جلوگیری از پراکسیداسیون چربیها آسیب سرمازدگی را کاهش دهد (Asgharia and Aghdam, 2010). Hodges و همکاران (۱۹۹۹) بیان کردند مالون دی آلدهید محصول نهایی

یک آنزیم از بین برنده یون سوپراکسید افزایش می یابد (Mittova et al., 2004). این افزایش فعالیت، احتمالاً می تواند سمیت زدایی یون سوپراکسید را افزایش داده و با تبدیل یون سوپراکسید به پراکسید هیدروژن و اکسیژن مولکولی سبب کاهش آسیب های اکسیداتیو حاصله از آن شود. در توافق با این نتایج، بسیاری از پژوهش ها افزایش فعالیت آنزیم سوپر اکسید را، در کاهش تنش اکسیداتیو در شرایط سرما نشان دادند، Ortega و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که تحت تنش سرما فعالیت آنزیم های متفاوت جاروکننده ROS از جمله افزایش می یابد. Jing- Hua و همکاران (۲۰۰۸) در هندوانه و Kang and Saltveit (۲۰۰۲) در ذرت نیز، به نتایج مشابهی دست یافتند.

**گلوپروتئین پراکسیداز:** اثر تنش سرمازدگی بر گلوپروتئین پراکسیداز معنی دار نبود اما اثر اسید سالیسیلیک در سطح یک درصد بر این آنزیم معنی دار بود. (جدول ۲). بیشترین میزان فعالیت گلوپروتئین پراکسیداز مربوط به تیمار کاربرد ۴۰۰ میکرو مولار اسید سالیسیلیک بود که ۶۳ درصد بیشتر از تیمار شاهد بود (جدول ۲). این آنزیم کاهش پراکسید هیدروژن را با استفاده از گلوپروتئین احیا شده (GSH) کاتالیز می کند و بدین وسیله از سلولها در برابر آسیب های ناشی از اکسایش حفاظت می کند. در واقع متابولیسم گلوپروتئین یکی از مکانیسم های دفاعی ضد اکسنده و ضروری می باشد (Stewart, 1982). بین مقادیر گلوپروتئین پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز همبستگی مثبت و معنی داری ( $r=0/85^{**}$ ) وجود داشت. همچنین این آنزیم با دی تیروزین و مالون دی آلدئید همبستگی منفی و معنی داری نشان داد (جدول ۵). طبق نظرات محققان مشخص گردیده است که میزان گلوپروتئین پراکسیداز در مواجهه با تنش سرما کاهش یافته است (Eugenia et al., 2003). نتایج مشابهی مبنی بر کاهش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان در دمای پایین گزارش شده است (Hassan and Mahfouz, 2012).

**فعالیت کاتالاز:** تنش سرمازدگی باعث کاهش معنی دار کاتالاز نسبت به تیمار عدم تنش سرمازدگی شد (جدول ۲). بیشترین میزان فعالیت کاتالاز مربوط به تیمار کاربرد ۴۰۰ میکرو

کاهش ۲۶/۳ درصدی دی تیروزین نسبت به عدم کاربرد آن شد (جدول ۲). بین مقادیر دی تیروزین و مالون دی آلدئید همبستگی مثبت و بسیار معنی داری ( $r=0/81^{**}$ ) مشاهده شد (جدول ۵) که نشان دهنده افزایش مقادیر دی تیروزین با افزایش مالون دی آلدئید است. در بررسی Hodges و همکاران (۱۹۹۹) نیز مشاهده شد که بین دی تیروزین و مالون دی آلدئید همبستگی مثبت وجود دارد. در زمان بروز تنش های محیطی آزاد شدن رادیکالهای آزاد، باعث تخریب پروتئین ها می شود. در این حالت اسیدهای آمینه آزاد شده و از اتصال دو اسید آمینه تیروزین، دی تیروزین ایجاد می شود (Dhindsa et al, 1980). ذکر شده است که افزایش این ترکیب نشان دهنده اثرات مخرب تنش های محیطی، از جمله تنش خشکی، بر پروتئین ها می باشد (Dhindsa et al, 1980). و لذا به نظر می رسد که آسیب وارده به غشا سلول ها تحت تاثیر تنش سرما (افزایش مالون دی آلدئید) منجر به بروز تنش اکسیداتیو در گیاه شده و به دنبال آن مقادیر دی تیروزین افزایش یافته است.

**سوپراکسید دیسموتاز:** اثر تنش سرمازدگی و اسید سالیسیلیک بر میزان سوپر اکسید دیسموتاز معنی دار بود (جدول ۱). تنش سرما سبب کاهش ۱۴/۷ درصدی سوپراکسید دیسموتاز نسبت به تیمار عدم تنش سرمازدگی شد (جدول ۲). همچنین استفاده از اسید سالیسیلیک با غلظت ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرو مولار به ترتیب منجر به افزایش غلظت سوپراکسید دیسموتاز (به ترتیب ۱۴/۶ و ۲۸/۶ درصد) نسبت به عدم کاربرد آن شد (جدول ۲). بین مقادیر سوپر اکسید دیسموتاز و دی تیروزین با مالون دی آلدئید همبستگی منفی و بسیار معنی داری ( $r= -0/89^{**}$  و  $r= -0/78^{**}$ ) مشاهده شد (جدول ۵). کاربرد اسید سالیسیلیک در زمان تنش سرمازدگی آنزیمهای آنتی اکسیدانت از جمله سوپر اکسید دیسموتاز را فعال می کند و از این طریق تحمل در برابر تنش سرمازدگی را افزایش می دهد (Wang et al., 2006). تنش سرما موجب افزایش تولید آنیون های مخرب از جمله آنیون های سوپر اکسید در میتوکندری سلول و خسارت اکسیداتیو می شود. در چنین شرایطی، فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز به عنوان

پرویلین به عنوان یک سازوکار مقاومت در برابر تنش سرمازدگی در گیاهان مطرح می باشد. در گیاهان پرویلین تجمع یافته در پاسخ به تنش سرمازدگی نقش مهمی در سمیت زدایی انسجام غشای سلولی ایفا می کند (Yadegari et al., 2007). Apostolova و همکاران (۲۰۰۸) مشاهده کردند که سرما باعث افزایش پرویلین در گندم بهاره شد. Fabro و همکاران (۲۰۰۴) گزارش نمودند اسید سالسیلیک می تواند منجر به افزایش بیوسنتز و تجمع پرویلین گردد افزایش میزان پرویلین می تواند منجر به افزایش مقاومت به تنش سرمازدگی شود.

**محتوی نسبی آب برگ:** اثر تنش سرمازدگی و محلول پاشی اسیدسالسیلیک بر محتوی آب نسبی معنی دار بود (جدول ۳). تنش سرما سبب کاهش ۱۶/۳ درصدی محتوی آب نسبی برگ نسبت به تیمار عدم تنش سرما شد (جدول ۴). کاربرد ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرو مولار اسید سالسیلیک نیز منجر به افزایش محتوی نسبی آب برگ (به ترتیب ۷/۸ و ۱۲/۸ درصد) نسبت به تیمار عدم محلول پاشی شد (جدول ۴). محتوی آب نسبی همبستگی معنی داری با میزان مالون دی آلدئید، دی تیروزین، سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز، کاتالاز و پرویلین داشت (جدول ۵). محتوای نسبی آب برگ بالاتر به معنای توانایی برگ در حفظ مقادیر بیشتری آب در شرایط تنش است که از طریق قابلیت تنظیم اسمزی و یا توانایی ریشه در جذب آب حاصل می شود (Kiara and Roy, 1999).

**نشت الکترولیت:** اثر تنش سرمازدگی بر میزان نشت الکترولیت معنی دار بود (جدول ۳). به طوری که بر اثر سرما، میزان نشت الکترولیت ها ۱۳ درصد افزایش یافت (جدول ۴). از آنجا که تنش سرما سبب اختلال در غشای سلولی و به دنبال آن نشت الکترولیتها از سلول می شود، لذا اندازه گیری میزان نشت از بافت های تحت تنش، معیار قابل قبولی برای مقاومت به تنش سرمازدگی است (Wongsheree et al., 2008). همچنین با بررسی جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) مشخص شد که اثر محلول پاشی اسید سالسیلیک بر درصد نشت الکترولیت ها معنی دار بود. به طوری که حداکثر درصد نشت الکترولیت ها در تیمار عدم محلول پاشی به دست آمد و میزان نشت الکترولیت

مولار اسید سالسیلیک بود که ۶۶/۱ درصد بیشتر از تیمار عدم محلول پاشی بود (جدول ۲). بین کاتالاز با سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز همبستگی مثبت و معنی داری ( $r=0/85^{**}$  و  $r=0/77^{**}$ ) وجود داشت، در حالی که بین مقادیر کاتالاز با مالون دی آلدئید و دی تیروزین همبستگی منفی و معنی داری مشاهده شد (جدول ۵). اسیدسالسیلیک با تغییر فعالیت آنزیمهای سوپر اکسیددیسموتاز و کاتالاز باعث بهبود گیاه در شرایط تنش سرمازدگی می کند (Horvath et al., 2007) اسید سالسیلیک باعث بالا رفتن توان سیستم آنتی اکسیدانت بافت های گیاهی از طریق فعال کردن آنزیم های آنتی اکسیدانت سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز می شود و در نهایت میزان مالون دی آلدئید را در گیاهان تحت تنش کاهش می دهد (Popova et al., 2007). Shima و همکاران (۲۰۰۳) عنوان کردند که کاهش آنزیم کاتالاز پدیده ای است که در بسیاری از گونه های گیاهی در اثر تنش اکسیداتیو روی می دهد. این محققین نشان دادند که در ارقام گندم، برنج و خیار همبستگی بسیار بالایی بین افزایش اسید سالسیلیک و کاهش فعالیت کاتالاز وجود دارد و چنین نتیجه گیری کردند که فعالیت کاتالاز در گیاهان تحت تأثیر تنش، یک امر ضروری برای غلبه بر آسیب های ناشی از تنش می باشد، به ویژه زمانی که فعالیت آنزیم کاتالاز یک عامل محدود کننده برای مهار گونه های فعال اکسیژن می گردد.

**پرویلین:** اثر تنش سرمازدگی و اسیدسالسیلیک بر میزان پرویلین در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۱). تنش سرمازدگی سبب افزایش ۲۳ درصدی پرویلین نسبت به عدم تنش سرمازدگی شد (جدول ۲). بیشترین میزان پرویلین مربوط به تیمار کاربرد ۴۰۰ میکرو مولار اسید سالسیلیک بود که ۵۱/۱ درصد بیشتر از تیمار شاهد بود (جدول ۲). بین مقادیر پرویلین با سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و کاتالاز همبستگی مثبت و معنی داری ( $r=0/88^{**}$ ،  $r=0/86^{**}$  و  $r=0/90^{**}$ ) مشاهده شد. در صورتی که بین پرویلین با مالون دی آلدئید و دی تیروزین همبستگی مثبت و معنی داری ( $r=0/92^{**}$  و  $r=0/82^{**}$ ) وجود داشت (جدول ۵). تجمع

جدول ۳- منابع تغییر، درجه آزادی و میانگین مربعات اثر تنش سرما زدگی و اسید سالیسیلیک بر نشت الکترولیت، محتوی آب نسبی و وزن خشک ذرت در شرایط گلخانه ای

منابع تغییر	درجه آزادی	محتوی آب نسبی	نشت الکترولیت	وزن خشک برگ	وزن خشک ساقه	وزن خشک کل
تنش سرمازدگی	۱	۸۸۴/۸۰۲**	۳۸۹/۲۰۵**	۰/۶۴۲**	۰/۰۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۵۸۷**
اسید سالیسیلیک	۲	۱۷۵/۹۵۲**	۴۷/۵۷۴**	۰/۱۵۳**	۰/۰۳۵ <sup>ns</sup>	۰/۲۴۹**
سرما×سالیسیلیک	۲	۷/۷۸۴ <sup>ns</sup>	۴/۶۸۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۸**	۰/۰۰۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۱۸ <sup>ns</sup>
خطای آزمایش	۱۲	۳/۶۸۷	۳/۷۴۱	۰/۰۰۱	۰/۰۱۳	۰/۰۱۱
ضریب تغییرات	-	۲/۴۳	۲/۵۵	۲/۱۸	۶/۷۷	۳/۸۴

ns، \*، \*\* به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح پنج و یک درصد.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات تنش سرما زدگی و اسید سالیسیلیک بر نشت الکترولیت، محتوی آب نسبی و اوزان خشک در شرایط گلخانه

تیمار	محتوی آب نسبی (%)	نشت الکترولیت (%)	وزن خشک برگ (g)	وزن خشک ساقه (g)	وزن خشک کل (g)
تنش سرمازدگی					
عدم تنش سرمازدگی (شاهد)	۸۶/۱ <sup>a</sup>	۷۱/۲ <sup>b</sup>	۱/۲۰۱ <sup>a</sup>	۱/۶۸۶ <sup>a</sup>	۲/۸۸۷ <sup>a</sup>
تنش سرمازدگی	۷۲/۱ <sup>b</sup>	۸۰/۵ <sup>a</sup>	۰/۸۲۳ <sup>b</sup>	۱/۷۰۲ <sup>a</sup>	۲/۵۲۶ <sup>b</sup>
اسید سالیسیلیک					
عدم محلول پاشی (شاهد)	۷۳/۴ <sup>c</sup>	۷۸/۹ <sup>a</sup>	۰/۸۴۵ <sup>c</sup>	۱/۶۳ <sup>a</sup>	۲/۴۷ <sup>b</sup>
۲۰۰ میلی مولار	۷۹/۶ <sup>b</sup>	۷۵/۵۵ <sup>b</sup>	۱/۰۳ <sup>b</sup>	۱/۷۷ <sup>a</sup>	۲/۸۰ <sup>a</sup>
۴۰۰ میلی مولار	۸۴/۲ <sup>a</sup>	۷۳/۳ <sup>b</sup>	۱/۱۶ <sup>a</sup>	۱/۶۸ <sup>a</sup>	۲/۸۴ <sup>a</sup>

میانگین‌های که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد باهم تفاوت معنی‌داری ندارند.

نیا، (۱۳۸۹). در این مطالعه همبستگی معنی‌داری ( $r=0.86^{**}$ ) بین درصد نشت الکترولیت ها و میزان خسارت گیاهان وجود داشت (جدول ۵). به عبارت دیگر با افزایش درصد نشت الکترولیتها، میزان خسارت گیاهان کاهش یافته است. با وجود اینکه در مطالعه حاضر جهت ارزیابی نشت الکترولیت‌ها از برگ گیاهان ۲۴ ساعت پس از سرمازدگی استفاده شد و سرمازدگی گیاهان پس از یک هفته مورد ارزیابی قرار گرفت، ولی همبستگی بین دو پارامتر مورد مطالعه نشان دهنده این است که احتمالاً استفاده از شاخص نشت الکترولیت‌ها در تخمین تحمل به سرمازدگی این گیاه از اعتبار نسبتاً مناسبی برخوردار باشد. در برخی از آزمایشات نشت الکترولیت همبستگی بسیار بالایی با بروز خسارتهای قابل مشاهده در گیاه داشته است. کانسلون و

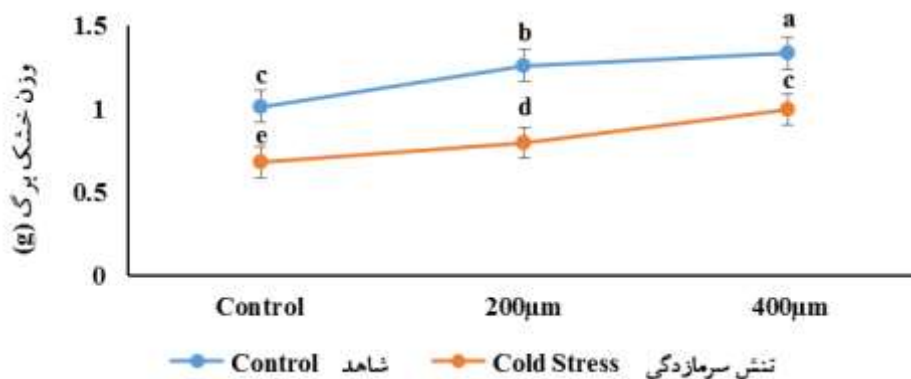
در تیمارهای محلول پاشی با اسید سالیسیلیک در یک گروه آماری قرار گرفتند. تیمار اسید سالیسیلیک موجب کاهش نشت الکترولیت می‌گردد (Wang et al., 2006). Rab و Saltveit (۱۹۹۶) بیان کردند که تنش سرما موجب افزایش نشت الکترولیت‌ها می‌شود و غلظت ترکیب‌های مضر اکسیژن افزایش می‌یابد. تجمع این ترکیبات سمی ممکن است منجر به پراکسیداسیون لیپیدی غشا سلولی و اندامک‌ها شود که در نهایت موجب اختلالات فیزیولوژیکی و بروز صدمات تنش سرما در گیاهان می‌شود (Takac, 2004). در آزمایشی بر روی گیاهچه ذرت در شرایط تنش سرما میزان نشت الکترولیت افزایش یافت (علی و همکاران، ۱۳۸۹). نتایج مشابهی نیز در مطالعه بر روی ارقام گلرنگ گزارش شده است (نظامی و ناقدی

جدول ۵- همبستگی میزان آنزیمهای آنتی اکسیدانت، پرولین، نشت الکترولیت، محتوی آب نسبی و میزان کلروفیل، هیبرید ذرت سینگل کراس ۴۰۰ در شرایط گلخانه ای

	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷
۱	۱/۰۰																
۲	۰/۸۳ <sup>***</sup>	۱/۰۰															
۳	-۰/۸۹ <sup>***</sup>	-۰/۸۸ <sup>***</sup>	۱/۰۰														
۴	-۰/۸۹ <sup>***</sup>	-۰/۷۷ <sup>***</sup>	-۰/۸۵ <sup>***</sup>	۱/۰۰													
۵	-۰/۸۵ <sup>***</sup>	-۰/۸۳ <sup>***</sup>	-۰/۸۵ <sup>***</sup>	-۰/۸۷ <sup>***</sup>	۱/۰۰												
۶	-۰/۸۲ <sup>***</sup>	-۰/۸۲ <sup>***</sup>	-۰/۸۰ <sup>***</sup>	-۰/۸۶ <sup>***</sup>	-۰/۸۸ <sup>***</sup>	۱/۰۰											
۷	-۰/۷۸ <sup>***</sup>	-۰/۷۴ <sup>***</sup>	-۰/۷۳ <sup>***</sup>	-۰/۷۵ <sup>***</sup>	-۰/۵۸ <sup>***</sup>	-۰/۷۳ <sup>***</sup>	۱/۰۰										
۸	-۰/۷۳ <sup>***</sup>	-۰/۶۳ <sup>***</sup>	-۰/۶۵ <sup>***</sup>	-۰/۳۴ <sup>*</sup>	-۰/۵۸ <sup>***</sup>	-۰/۶۵ <sup>***</sup>	-۰/۹۰ <sup>***</sup>	۱/۰۰									
۹	-۰/۷۱ <sup>***</sup>	-۰/۷۶ <sup>***</sup>	-۰/۷۳ <sup>***</sup>	-۰/۵۲ <sup>**</sup>	-۰/۶۱ <sup>***</sup>	-۰/۷۷ <sup>***</sup>	-۰/۹۱ <sup>***</sup>	-۰/۹۱ <sup>***</sup>	۱/۰۰								
۱۰	-۰/۶۴ <sup>**</sup>	-۰/۶۴ <sup>**</sup>	-۰/۶۲ <sup>**</sup>	-۰/۶۵ <sup>**</sup>	-۰/۶۶ <sup>**</sup>	-۰/۷۶ <sup>**</sup>	-۰/۶۶ <sup>**</sup>	-۰/۶۶ <sup>**</sup>	-۰/۶۴ <sup>**</sup>	۱/۰۰							
۱۱	-۰/۶۹ <sup>***</sup>	-۰/۶۹ <sup>***</sup>	-۰/۶۳ <sup>***</sup>	-۰/۴۵ <sup>**</sup>	-۰/۶۵ <sup>***</sup>	-۰/۸۱ <sup>***</sup>	-۰/۸۳ <sup>***</sup>	-۰/۸۸ <sup>***</sup>	-۰/۹۰ <sup>***</sup>	-۰/۴۷ <sup>**</sup>	۱/۰۰						
۱۲	-۰/۷۸ <sup>***</sup>	-۰/۸۰ <sup>***</sup>	-۰/۸۷ <sup>***</sup>	-۰/۶۵ <sup>**</sup>	-۰/۷۳ <sup>***</sup>	-۰/۸۹ <sup>***</sup>	-۰/۷۴ <sup>**</sup>	-۰/۵۵ <sup>**</sup>	-۰/۳۳ <sup>**</sup>	-۰/۳۸ <sup>**</sup>	-۰/۶۳ <sup>**</sup>	۱/۰۰					
۱۳	-۰/۸۶ <sup>***</sup>	-۰/۸۶ <sup>***</sup>	-۰/۸۷ <sup>***</sup>	-۰/۵۶ <sup>**</sup>	-۰/۶۵ <sup>***</sup>	-۰/۷۷ <sup>***</sup>	-۰/۷۹ <sup>***</sup>	-۰/۷۵ <sup>***</sup>	-۰/۷۰ <sup>***</sup>	-۰/۶۴ <sup>**</sup>	-۰/۶۱ <sup>***</sup>	-۰/۸۶ <sup>***</sup>	۱/۰۰				
۱۴	-۰/۴۵ <sup>**</sup>	-۰/۴۸ <sup>**</sup>	-۰/۵۵ <sup>**</sup>	-۰/۴۹ <sup>**</sup>	-۰/۳۳ <sup>**</sup>	-۰/۵۴ <sup>**</sup>	-۰/۸۰ <sup>***</sup>	-۰/۸۵ <sup>***</sup>	-۰/۸۰ <sup>***</sup>	-۰/۸۰ <sup>***</sup>	-۰/۶۷ <sup>**</sup>	-۰/۳۴ <sup>*</sup>	-۰/۶۱ <sup>***</sup>	۱/۰۰			
۱۵	-۰/۵۱ <sup>**</sup>	-۰/۵۷ <sup>**</sup>	-۰/۵۴ <sup>**</sup>	-۰/۳۰ <sup>**</sup>	-۰/۵۲ <sup>**</sup>	-۰/۵۷ <sup>**</sup>	-۰/۸۸ <sup>***</sup>	-۰/۹۲ <sup>***</sup>	-۰/۸۸ <sup>***</sup>	-۰/۶۶ <sup>**</sup>	-۰/۸۹ <sup>***</sup>	-۰/۴۸ <sup>*</sup>	-۰/۷۷ <sup>**</sup>	-۰/۸۳ <sup>**</sup>	۱/۰۰		
۱۶	-۰/۵۰ <sup>**</sup>	-۰/۶۱ <sup>***</sup>	-۰/۵۷ <sup>**</sup>	-۰/۴۱ <sup>**</sup>	-۰/۶۰ <sup>**</sup>	-۰/۷۷ <sup>**</sup>	-۰/۸۱ <sup>***</sup>	-۰/۸۲ <sup>***</sup>	-۰/۸۷ <sup>**</sup>	-۰/۶۳ <sup>**</sup>	-۰/۷۸ <sup>**</sup>	-۰/۴۸ <sup>*</sup>	-۰/۸۳ <sup>**</sup>	-۰/۷۵ <sup>**</sup>	-۰/۷۴ <sup>**</sup>	۱/۰۰	
۱۷	-۰/۶۱ <sup>***</sup>	-۰/۷۰ <sup>***</sup>	-۰/۵۶ <sup>**</sup>	-۰/۳۳ <sup>**</sup>	-۰/۵۴ <sup>**</sup>	-۰/۶۴ <sup>**</sup>	-۰/۷۸ <sup>**</sup>	-۰/۸۶ <sup>***</sup>	-۰/۸۴ <sup>**</sup>	-۰/۸۸ <sup>***</sup>	-۰/۸۴ <sup>**</sup>	-۰/۵۹ <sup>**</sup>	-۰/۷۹ <sup>**</sup>	-۰/۸۳ <sup>**</sup>	-۰/۸۴ <sup>**</sup>	-۰/۷۴ <sup>**</sup>	۱/۰۰

شماره ها به ترتیب نشانگر ۱-سالون دی آلدئید، ۲- دی تیروزین، ۳- سوپراکسیداسمتاز، ۴- گلوتاتیون پراکسیداز، ۵- کاتالاز، ۶- پرولین، ۷-محتوی آب نسبی، ۸-نشت الکترولیت، ۹-وزن خشک برگ، ۱۰-وزن خشک ساقه، ۱۱-وزن خشک کل، ۱۲- عدد کلروفیل متر ۱، ۱۳-عدد کلروفیل متر ۲، ۱۴-عدد کلروفیل متر ۳، ۱۵-عدد کلروفیل متر ۴، ۱۶-عدد کلروفیل متر ۵، ۱۷-خسارت سرما





شکل ۱- اثر متقابل تنش سرمازدگی و سالیسیلیک اسید بر وزن خشک برگ هیبرید ذرت سینگل کراس ۴۰۰. از سمت چپ به ترتیب عدد اول: ۲۰۱- عدم تنش سرمازدگی (شاهد) و تنش سرمازدگی و عدد دوم ۲، ۱ و ۳- عدم محلول پاش اسید سالیسیلیک، محلول پاشی ۲۰۰ میکرو مولار و ۴۰۰ میکرو مولار اسید سالیسیلیک

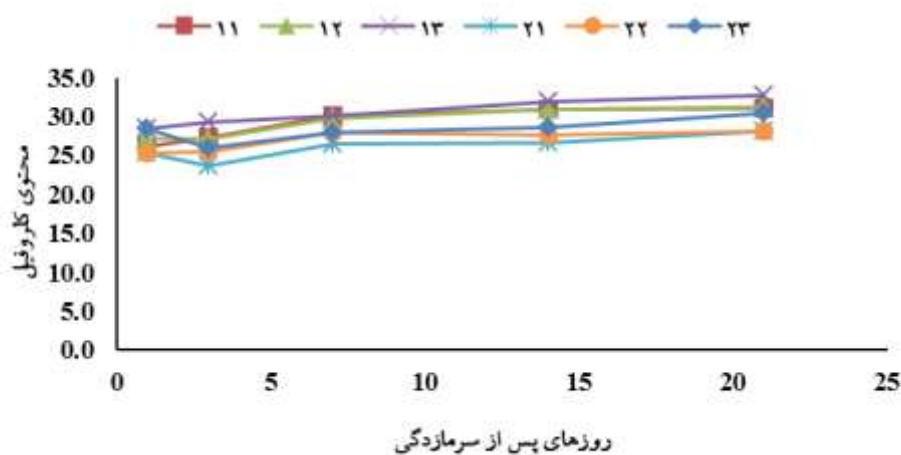
گلوکاتایون پراکسیداز، کاتالاز، پرولین، محتوی آب نسبی، نشت الکترولیت و وزن خشک برگ و ساقه همبستگی معنی داری داشت (جدول ۵). تیمار گیاهان با اسید سالیسیلیک باعث افزایش رشد و سرعت فتوسنتز می شود (Wang et al., 2006). کاربرد اسید سالیسیلیک بصورت محلول پاشی باعث افزایش بیوماس در گیاه سویا می شود (Eraslan et al., 2007). طبق گزارش Khan و همکاران (۲۰۰۳) اسید سالیسیلیک باعث افزایش وزن خشک در گیاه ذرت و لویا گردید، به این صورت که میزان فتوسنتز کل گیاه افزایش یافته و باعث تجمع ماده خشک در گیاه می شود.

**کلروفیل:** با بررسی روند محتوی کلروفیل در مراحل مختلف مشخص گردید محلول پاشی اسید سالیسیلیک باعث افزایش کلروفیل در شرایط تنش سرمازدگی شده است. (شکل ۲). همچنین روند گیاهچه در پنج مرحله اندازه گیری نشان دهنده بهبود میزان کلروفیل در برگ های پیر بود. در تمامی مراحل همبستگی منفی معنی داری بین محتوی کلروفیل با میزان خسارت سرمازدگی وجود داشت (جدول ۵). محتوی کلروفیل در شرایط تنش سرمازدگی طبق آزمایشی که بر روی گیاهچه های ذرت انجام شد کاهش پیدا کرد (علی و همکاران، ۱۳۸۹). که این نتایج با تحقیق صورت گرفته مطابقت داشت.

**خسارت سرمازدگی:** در بررسی های گیاهچه ها به مدت سه

همکاران (Concellon et al., 2007) نیز گزارش دادند که بین آثار ظاهری تنش سرما روی میوه های بادنجان و نشت الکترولیت همبستگی وجود داشت. مقادیر بالای نشت یونی نشان دهنده عدم توانایی غشاء در حفظ ترکیبات درون سلولی، خروج بیشتر الکترولیت ها از غشاء و خسارت به غشاء سلولی می باشد.

**وزن خشک:** اثر تنش سرمازدگی و محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر وزن خشک برگ و وزن خشک کل گیاه در سطح یک درصد معنی دار بود ولی این دو عامل تاثیر معنی داری بر وزن ساقه نداشتند (جدول ۳). اعمال تنش سرمازدگی سبب کاهش وزن برگ و کل گیاه (به ترتیب ۳۱/۵ و ۱۲/۵ درصد) نسبت به عدم تنش شد (جدول ۴). کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار سبب افزایش وزن خشک برگ (به ترتیب ۱۷/۹ و ۲۷/۱ درصد) و گیاه (به ترتیب ۱۱/۸ و ۱۳ درصد) نسبت به عدم کاربرد آن شد (جدول ۴). اثر متقابل تنش سرما و کاربرد اسید سالیسیلیک بر وزن خشک برگ در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۳)، به طوری که بیشترین وزن خشک برگ در تیمار عدم تنش سرمازدگی و کاربرد ۴۰۰ میکرو مولار اسید سالیسیلیک با افزایشی ۲۵ درصدی نسبت به تنش سرمازدگی با کاربرد ۴۰۰ میکرو مولار اسید سالیسیلیک بود (شکل ۱). وزن خشک کل با میزان مالون دی آلدئید، دی تیروزین، سوپراکسید دیسموتاز،



شکل ۲- روند محتوی کلروفیل هیبرید ذرت سینگل کراس ۴۰۰ تحت تاثیر تنش سرما و کاربرد سالیسیلیک اسید از سمت چپ به ترتیب عدد اول : (۱) -۲- عدم تنش سرمزدگی (شاهد) و تنش سرمزدگی و عدد دوم ۲، ۱ و ۳- عدم محلول پاش اسید سالیسیلیک، محلول پاشی ۲۰۰ میکرو مولار و ۴۰۰ میکرو مولار اسید سالیسیلیک

آنزیم‌ها با افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش‌های محیطی همبستگی دارد. از طرفی به نظر می‌رسد افزایش بیوماس در اثر استفاده از اسید سالیسیلیک بخاطر فعالیت آنتی اکسیدانی این ماده در غشا سلولی باشد. محلول پاشی سالیسیلیک اسید باعث افزایش مقدار بیوماس در گیاهچه‌های ذرت شد. با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک مقادیر بیوماس افزایش یافت از طرفی می‌توان گفت اسید سالیسیلیک با افزایش میزان کلروفیل در برگ‌هایی که در آغاز فرآیند پیری هستند، می‌تواند سبب افزایش فتوسنتز و در نتیجه افزایش رشد شود. می‌توان گفت محلول پاشی اسید سالیسیلیک برای کاهش تنش سرمزدگی برای گیاهچه‌های هیبرید ذرت سینگل کراس ۴۰۰ که با این شرایط مواجه می‌شوند راهکار مناسبی می‌باشد.

هفته پس از تنش سرمزدگی و با توجه به صفات مورد بررسی در جدول همبستگی (جدول ۵) نشان دهنده همبستگی مثبت و معنی‌داری با مالون دی آلدئید، دی‌تروزین و نشت الکترولیت و با بقیه صفات مورد آزمایش همبستگی منفی و معنی‌داری وجود داشت.

#### نتیجه‌گیری:

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که قرار گرفتن هیبرید ذرت سینگل کراس ۴۰۰ در معرض تنش سرمزدگی موجب بروز خسارت در گیاهچه ذرت شد. احتمالاً تنش سرما باعث افزایش تنش اکسیداتیو در بافت‌های گیاهی می‌شود و گیاه برای مقابله با اثرات تنش اکسیداتیو فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت خود را افزایش می‌دهد. میزان افزایش فعالیت این

#### منابع:

- احمدی، ع.، احسان زاده، پ.، و جباری، ف. (۱۳۸۳) مقدمه ای بر فیزیولوژی گیاهی. انتشارات دانشگاه تهران .
- اسدی صنم، س.، زواره، م.، پیردشتی، ه.، سفیدکن، ف.، و نعمت زاده، ق. (۱۳۹۴) بررسی پاسخ های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاه دارویی سرخار گل (*Echinacea purpurea* (L) Moench) به تنش دمای پایین. فرآیند و کارکرد گیاهی ۴ : ۲۸-۱۱.
- علی، س.، اسلامی، س.، بهدانی، م.، و جامی الاحمدی، م. (۱۳۸۹) تأثیر کاربرد خارجی گلاسیسین بتائین در افزایش تحمل به سرما در گیاهچه های ذرت. مجله نشریه پژوهشهای زراعی ایران ۸ : ۹۴۵-۹۳۹.

کافی، م.، برزوئی، ا.، صالحی، م.، کمندی، ع.، معصومی، ع. و نباتی، ج. (۱۳۸۳) فیزیولوژی تنشهای محیطی در گیاهان. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.

کریمی، م. (۱۳۹۳) اثر دمای پایین و تیمارهای بازدارنده اتیلن روی فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان و اتیلن تولیدی در میخک مینیاتوری (*Dianthus caryophyllus* L.). فرآیند و کارکرد گیاهی ۳: ۶۸-۵۹.

نظامی، ا.، صداقت خواه، ح.، پارسا، ح.، پارسا، م.، و باقری، ع. (۱۳۸۹) ارزیابی کشت پاییزه ژنوتیپهای نخود متحمل به سرما در شرایط آبیاری تکمیلی در مشهد. مجله پژوهشهای زراعی ایران ۳: ۴۲۳-۴۱۵.

Aebi, H. (1984) Catalase in Vitro. In Methods in Enzymology; Packer, L., Ed.; Academic Press Inc.: San Diego, California, USA.

Apel, K. and Hirt, H. (2004) Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annual Review Plant Biology 55:373-399.

Apostolova, P., Yordanova, R. and Popova, L. (2008). Response of antioxidative defence system to low temperature stress in two wheat cultivars. Gen. Appl. Plant Physiology, Special Issue 34:281-294.

Arvin, M. J., and Donnelly, D. J. (2008) Screening potato cultivars and wild species to abiotic stresses using an electrolyte leakage bioassay. Journal of Agriculture Science Technology 10:33-42.

Asgharia, M. R and Aghdam, M. S. (2010) Impact of salicylic acid on post-harvest physiology of horticultural crops. Trends in Food Science and Technology 21:502-509.

Bates, L. S., Waldern R. P. and Tear, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plants Physiology 39: 205-207.

Cao, S. F., Hu, Z. C., Zheng, Y. H. and Lu, B. H. (2010) Synergistic effect of heat treatment and salicylic acid on alleviating internal browning in cold-stored peach fruit. Postharvest Biology and Technology 58: 93-97.

Concellon, A., Anon, M. C. and Chaves, A. R. (2007). Effect of low temperature storage on physical and physiological characteristics of eggplant fruit (*Solanum melongena* L.). LWT-Food Science and Technology 40: 389-396.

Dhindsa, R.S., Dhindsa, P.P., and Thorpe, T.A. (1980) Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid-peroxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. Experimental Botany 32: 93-101.

Eraslan, F., Inal, A., Gunes, A., and Alpaslan, M. (2007) Impact of exogenous salicylic acid on growth, antioxidant activity and physiology of carrot plants subjected to combined salinity and boron toxicity. Scientia Horticulturae 113: 120-128.

Eugenia, M., S. Nunes, and G. Ray Smith. (2003) Electrolyte leakage assay capable of quantifying freezing resistance in rose clover. Crop Science 43: 1349-1357.

Fabro, G., Kovacs, I., Pavet, V., Szabados, L. and Alvarez, M. E. (2004) Proline accumulation and AtP5CS2 gene activation are induced by plantpathogen incompatible interactions in Arabidopsis. Mol. Plant-Microbe Interact 17: 343-350.

Farooq, M., Aziz, T., Basra, S. M. A., Cheema, M. A., Rehman, H. (2008) Chilling tolerance in hybrid maize induced by seed priming with salicylic acid. Journal Agronomy and Crop Science 194 : 161-168.

Guo, Z., Tan, H., Zhu, Z., Lu, S. and Zhou, B. (2005) Effect of intermediates on ascorbic acid and oxalate biosynthesis of rice and in relation to its stress resistance. Biotechnology Laboratory for Turfgrass and Forages, College of Life Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China. Plant Physiology Biochemistry 43: 955-965.

Hare, P. D. and Cress, W. A. (2004) Implications of stress induced proline accumulation in plant. African Journal of Biotechnology 9:1008-1015.

Hassan, F. A. S. and Mahfouz, S. A. (2012) Effect of 1- methylcyclopropene (1-MCP) on the postharvest senescence of coriander leaves during storage and its relation to antioxidant enzyme activity. Scientia Horticulturae 141: 69-75.

Hayat, S and Ahmad, A. (2007) Salicylic Acid: A Plant Hormone. Springer, Dordrecht. The Netherlands.

Horvath, E., Szalai, G. and Janda, T. (2007) Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. Journal of Plant Growth Regulation 26: 290-300.

Hodges, D., Delong, J. M., Forney, C. F. and Prange, R. K. (1999) Improving the thiobarbituric acidreactive substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. Planta 207: 604-611.

Kang, H. M. and Saltveit, M. E. (2002) Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling leaves and roots are differentially affected by salicylic acid. Physiologia Plantarum 115: 571-576.

Karlidag, H., Yildirim, E., Turan, M. (2009) Exogenous applications of salicylic acid affect quality and yield of strawberry grown under antifrost heated greenhouse conditions. Journal Plant Nutrition Soil Science 172 : 270-276.

- Khan, W., Prithviraj, B. and Smith, D.L. (2003) Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. *Plant Physiology* 160: 485–492.
- Kiara, D.V. and Roy, D. N. (1999) Oxidative stress and antioxidative defense with an emphasis on plants antioxidants. *Environmental Reviews* 7:31-51.
- Luo, Z., Wu, X., Xie, Y., Chen, C. (2012) Alleviation of chilling injury and browning of postharvest bamboo shoot by salicylic acid treatment. *Food Chemistry* 131 : 456-461.
- Janda, T., Szalai, G., Gonzalez, R. K., Veisz, O. and Paldi, E. (2003) Comparative study of frost tolerance and antioxidant activity in cereals. *Plant Science* 164: 301-306.
- Jing-Hua, Y., Gao, Y., Li, Y. M., Qi, X. H. and Zhang, M. F. (2008) Salicylic acid-induced enhancement of cold tolerance through activation of antioxidative capacity in watermelon. *Scientia Horticulturae* 118: 200–205.
- Minami, M., and Yoshikawa, H. (1979) A simplified assay method of superoxide dismutase activity for clinical use. *Clinica Chimica Acta* 92: 337–342.
- Mittova, V., Guy, M., Tal, M. and Volokita, M. (2004) Salinity up-regulates the antioxidative system in root mitochondria and peroxisomes of the wild salttolerant tomato species *Lycopersicon pennellii*. *Journal of Experimental Botany* 55: 1105–1113.
- Ortega, F. and Peragon, J. (2009) The response of phenylalanine ammonia-lyase, polyphenol oxidase and phenols to cold stress in the olive tree (*Olea europaea* L. cv. Picual). *Journal of the Science of Food Agriculture* 89: 1565–1573.
- Orhanl, H., Vermeulen, N. P. E., Tump, C., Zappey, H., Meerman, J. H. N. (2004) Simultaneous determination of tyrosine, phenylalanine and deoxyguanosine oxidation products by liquid chromatography–tandem mass spectrometry as non-invasive biomarkers for oxidative damage. *Chromato* 799: 245–254.
- Paglia, D. (1987) Studies on the quantitative and qualitative characterization of glutathione peroxidase. *Journal Lab Medicin* 70:158-165.
- Pennycooke, J. C., Cox, S. and Stushnoff, C. (2005) Relationship of cold acclimation, total phenolic content and antioxidant capacity with chilling tolerance in petunia (*Petunia x hybrid*). *Environmental and Experimental Botany* 53:225- 232.
- Popova, L., Maslenkova, L., Yordanova, R., Krantev, A., Szalai, G. and Janda, T. (2008) Salicylic acid protects photosynthesis against cadmium toxicity in pea plants. *Plant Physiology* 34: 133-148
- Takac, T. (2004) The relationship of antioxidant enzymes and some physiological parameters in maize during chilling. *Journal of Plant Soil and Environment* 50: 27-32.
- Tao, L., Hong, F., Xin, S., Lin, D. Q., Fan, Z., Guo, L. H., Hui, L. H. (2010) The alternative pathway in cucumber seedlings under low temperature stress was enhanced by salicylic acid *Plant Growth Regulation* 60: 35-42.
- Rab, A. and Saltveit, M. E. (1996) Differential chilling sensitivity in cucumber seedling. *Plant Physiology* 96: 375-382.
- Ranney, T. G., Bassuk, N. L. and Whitlow, T. H. (1991) Osmotic adjustment and solute constituents in leaves and roots of water-stressed cherry trees. *The American Society for Horticultural Science* 116: 684-688.
- Raskin, I. (1992) Role of salicylic acid in plants. *Annual Review Plant Physiology* 43: 439-463.
- Senaratna, T., Merrit, D., Dixon, K., Bunn, E., Touchell, D. and Sivasithamparam, K. (2003) Benzoic acid may act as the functional group in salicylic acid and derivatives in the induction of multiple stress tolerance in plants. *Plant Growth Regulation* 39: 77-81.
- Shim, I.-S., Momose, Y., Yamamoto, A., Kim, D. W. and Usui, K. (2003) Inhibition of catalase activity by oxidative stress and its relationship to salicylic acid accumulation in plants. *Plant Growth Regulation* 39: 285-292
- Stewart, C. R. (1982) In physiology and Biochemistry of drought Resistance in plants, et. L.G. poley and D. Aspinall. New York. Academic.
- Yadegari, L. Z., Heidari, R. and Carapetian, J. (2007) The influence of cold acclimation on proline, malondialdehyde, total protein and pigments contents in soybean (*Glycine max*) seedlings. *Biology Science* 7:1436–1441.
- Yelonsky, G. (1979) Accumulation of free proline in citrus leaves during cold hardening of young tree in controlled temperature regimes. *Plant Physiology* 64: 425-427.
- Wang, C.Y. and Adams, D.O. (1980) Ethylene production by chilled cucumbers (*Cucumis sativus* L.). *Plant Physiology* 66: 841- 843.
- Wang, L., Chen, S., Kong, W., Li, S. and Archbold, D. D. (2006) Salicylic acid pretreatment alleviates chilling injury and effects the antioxidant system and heat shock proteins of peaches during cold storage. *Postharvest Biology and Technology* 41: 244-251.
- Wongsheree, T., Ketsa, S. and Van Doorn, W. G. (2008) The relationship between chilling injury and membrane damage in lemon basil (*Ocimum×citriodourum*) leaves. *Postharvest Biology and Technology* 51:91-96.