اثر محلول‌پاشی پرولین و اسید سالیسیلیک بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی سویا (*Glycine max* L.) تحت شرایط آبیاری با آب شور

حمیده غفاری و محمودرضا تدین*

گروه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۸/۱۹، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۱۲/۷)

چکیده

شوری یکی از موانع اصلی افزایش تولید محصولات زراعی است. بر این اساس، به منظور ارزیابی محلول‌پاشی پرولین و اسید سالیسیلیک در کاهش اثرات شوری بر گیاه سویا (*Glycine max* L.)، آزمایشی به صورت اسپیلیت پلات در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار در سال ۱۳۹۵ در جعبه‌های کاشت در فضای باز دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد اجرا شد. عامل اصلی شامل آبیاری با آب شور و با هدایت‌های الکتریکی ۲ (آب مزرعه)، ۵ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر و عامل فرعی محلول‌پاشی با ۱۰ میلی‌مولار پرولین، اسید سالیسیلیک ۳ میلی مولار، ترکیب پرولین ۱۰ میلی‌مولار با اسید سالیسیلیک ۳ میلی‌مولار و شاهد (محلول‌پاشی با آب) بودند. نتایج نشان داد اثرات اصلی سطح شوری ۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر کلرید سدیم به ترتیب باعث افزایش و کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی نسبت به شاهد شدند. تحت تنش شوری محتوای پرولین و قندهای محلول افزایش یافتند، در حالیکه شاخص پایداری غشا و محتوای نسبی آب برگ کاهش یافتند. اثر متقابل سطوح شوری و تیمارهای محلول‌پاشی نشان داد که سطح ۵ دسی‌زیمنس بر متر کلرید سدیم و تیمار ترکیبی پرولین و اسید سالیسیلیک بالاترین محتوای کلروفیل b، کاروتنویید و پرولین را با افزایش به ترتیب ۹۳، ۵۳ و ۱۴۳ درصد نسبت به شاهد داشتند. شاخص پایداری غشا و محتوای نسبی آب در سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و محلول‌پاشی با آب به ترتیب کاهش ۶۳ و ۳۸ درصدی نسبت به شاهد داشتند. بنابراین محلول‌پاشی پرولین ۱۰ میلی‌مولار به همراه اسید سالیسیلیک ۳ میلی‌مولار بر شاخص‌های فیزیولوژیک سویا به عنوان بهترین تیمار جهت کاهش اثرات سمی شوری شناخته شد. بنابراین، کاربرد پرولین به عنوان املاح سازگار در تنظیم اسمزی گیاه و اسیدسالیسیلیک نقش حفاظتی از طریق واکنش‌های فیزیولوژیکی تحت تنش شوری مؤثر می‌باشد.

کلمات کلیدی: پرولین، رنگیزه‌های فتوسنتزی، شاخص پایداری غشا، قندهای محلول

مقدمه

شوری، ۷ درصد از زمین‌های دنیا یعنی حدود ۹۳۰ میلیون هکتار را تحت تأثیر قرار داده و روز به روز این مناطق شور در حال گسترش می‌باشند. براساس آمار موجود، ایران پس از چین، هند و پاکستان بیشترین درصد اراضی زراعی شور را در سطح جهان دارا می‌باشد (پاشایی و همکاران، ۱۳۹۳). گیاهانی که در خاک‌های شور رشد می‌کنند، به دلیل خواص اسمزی، علاوه بر تنش شوری با تنش کم آبی مواجه شده که این عامل سبب کاهش سرعت رشد گیاه می‌شود. این پدیده موجب اختلال در تقسیم سلول و بزرگ شدن سلول‌ها شده و تمام

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: Mrtadayon@yahoo.com

واکنش‌های متابولیک گیاه تحت تأثیر قرار می‌گیرد. همچنین افزایش یون‌های سدیم و کلر موجب کاهش جذب یون‌های ضروری از جمله پتاسیم، کلسیم، آمونیوم و نیترات شده و از فعالیت آنزیم‌ها کاسته و ساختار غشا را بر هم می‌زند (Kaya *et al.*, 2006). به طور کلی تنش شوری با ایجاد تنش یونی، تنش اسمزی و تنش اکسیداتیو موجب تغییرات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و شیمیایی متعددی در گیاهان می‌شود و رشد، فتوسنتز، سنتز پروتئین، متابولیسم لیپید، تنفس و تولید انرژی را تحت تأثیر خود قرار می‌دهد (Parida and Das, 2005).

سویا گیاهی یکساله از خانواده بقولات و زیرخانواده پروانه‌آسا است. سویا به واسطه داشتن درصد بالای پروتئین و روغن و همچنین توانایی تثبیت نیتروژن بالا (۱۷ تا ۱۲٤ کیلوگرم در هکتار در سال) یکی از مهم‌ترین لگوم‌های دانه‌ای به شمار می‌رود. سویا گیاه زراعی است که در برابر شوری مقاومت چندانی ندارد، از این‌رو آبهای شور به ویژه در زمین‌هایی که با محدودیت زهکشی و انباشت نمک روبرو هستند، سبب کاهش عملکرد آن می‌شود (پاشایی و همکاران، ۱۳۹۳). با توجه به اینکه تولید بخش قابل توجهی از گیاهان زراعی با مشکل آب یا خاک شور مواجه است، به‌کارگیری روش‌هایی که امکان رشد و حصول عملکرد مطلوب تحت چنین شرایطی را برای گیاهان فراهم کند، اهمیت بالایی دارد.

کارایی کاربرد تنظیم کننده‌های رشد گیاهی روی شاخساره گیاهان در مقابل انواع تنش های زنده و غیرزنده ثابت شده است. اسید سالیسیلیک یا اورتوهیدروکسی بنزوئیک اسید وابسته به گروهی از ترکیبات فنلی هستند و نقش محوری در فرآیندهای فیزیولوژیک مختلف مانند رشد و نمو گیاه و فتوسنتز ایفا می‌کنند (Rivas-San Vicente and Plasencia, 2011). نتایج برخی پژوهش‌ها نشان داده است که سطح اسید سالیسیلیک درونی و فعالیت آنزیم سنتز کننده اسید سالیسیلیک (SA) یعنی بنزوئیک اسید ۳ هیدروکسی‌لاز توسط شوری در گیاهچه برنج ساخته می‌شود. که نشان دهنده آن است که SA در پاسخ به شوری نقش دارد (Sawada *et al.*, 2006). بهنام نیا و شنوایی (۱۳۹۲) در گیاه شیرین بیان هم گزارش کردند که کاربرد غلظت‌های پایین (۱ میلی مولار) اسید سالیسیلیک بیشترین اثر مثبت را بر روی بازدارندگی کلرید سدیم داشت و توانست در بین پارامترهای بیوشیمیایی مقدار آنتوسیانین‌ها را در مقایسه با نمونه شاهد و شرایط تنش افزایش دهد. دلاوری و همکاران (۱۳۹۱) تأثیر اسید سالیسیلیک بر مقاومت گیاه ریحان سبز به تنش شوری را بررسی کردند و نتیجه گرفتند در حضور اسید سالیسیلیک اثرات شوری کاهش می‌یابد. Deef (۲۰۰۷) هم در گندم گزارش کرد که کاربرد سالیسلیک اسید رشد را درگندم افزایش داد، اثرات شوری را مهار کرد و دربین دو غلظت مختلف، غلظت پایین تر آن (۱ میلی مولار) تأثیر بیشتری داشت. شهبازی‌زاده و همکاران (۱۳۹٤) بیان کردند اسید سالیسیلیک در شرایط شوری باعث افزایش سرعت فتوسنتز در گیاه سویا شده است. در سویا افزایش مقدار رنگدانه‌ها و افزایش میزان فتوسنتز تحت اثر تیمار سالیسیلات ایجاد شده است.

کمبود آب و شوری موجب تغییرات گسترده در تقسیم کربن و نیتروژن در گیاهان می‌گردد. مریستم، بافت‌های در حال توسعه و اندام‌های تولیدمثلی معمولا اسیدهای آمینه را وارد می‌کنند تا رشد و توسعه خود را تضمین کنند. پرولین یکی از این اسیدهای آمینه است که وزن ملکولی کم و قابلیت انحلال بالایی دارد و در شرایط تنش غیر زنده بسته به گونه و شدت تنش در غلظت‌های خیلی کم در حد میلی‌مولار تجمع می‌یابد و این غلظت، به دلیل افزایش سنتز و کاهش تجزیه آن در این شرایط است (Kishor *et al.*, 2005). کاربرد خارجی پرولین باعث حفظ پتانسیل اسمزی در سلول گیاه می‌شود (Ali *et al.*, 2008). همچنین Yan و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند محلول پاشی پرولین، میزان کاهش محتوای کلروفیل و فتوسنتز خالص را تحت تنش شوری در برگ‌های هندوانه تقلیل داد. محلول‌پاشی پرولین کاهش در فعالیت فتوسنتزی و روابط آبی برگ را در طول تنش شوری در *Olea europaea* L. تقلیل داد و میزان این کاهش به غلظت پرولین بستگی داشت. این به خوبی مشخص شده که پرولین، گیاهان را در برابر تنش از طریق استقرار انتقال الکترون میتوکندریایی کمپلکس II، غشاها و پروتئین‌ها و آنزیم‌هایی مانند رابیسکو حفظ می‌کند (Hayat *et al.*, 2012).

بنابراین استفاده از ترکیباتی که ضمن آلوده‌نکردن محیط زیست به طور مؤثری، اثرات شوری را بر رشد و تولیدات کشاورزی کاهش دهند، در راستای اهداف این مطالعه هستند. با توجه به اینکه هر ساله منابع آبهای شیرین در حال شورشدن بوده و خاک‌های زمین‌های زراعی در معرض انباشت نمک و شوری شدت می‌یابد که می‌تواند بر تولید گیاه مهم و راهبردی سویا اثر نامطلوب گذارد. از این رو، هدف از این مطالعه بررسی اثر اسید سالیسیلیک و پرولین در شرایط آبیاری با آب شور و تیمار ترکیبی پرولین و اسید سالیسیلیک به‌منظور مقایسه این دو تیمار بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاه سویا می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تیمارها و طراحی طرح: این تحقیق در فضای آزاد دانشگاه شهرکرد در سال ۱۳۹۵ بر روی گیاه سویا (*Glycine max* L.) (رقم سامان با گروه رسیدگی زودرس) در جعبه‌های کاشت به ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ سانتی‌متر انجام شد. آزمایش به صورت اسپیلیت پلات در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار طراحی و اجرا شد. پس از تهیه بذر سویا از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج، بذور با هیپوکلریدسدیم ۰/۵ درصد به مدت ۵ دقیقه استریل شدند و دو مرتبه با آب مقطر دیونیزه شستشو داده شدند. برای خاک جعبه‌های کاشت از ترکیب خاک مزرعه و خاکبرگ با نسبت ۱:۳ استفاده شد. در هر جعبه ۸ عدد بذر کاشته شد و پس از استقرار گیاهچه‌ها و در مرحله ۳ برگی بوته‌های اضافی تنک شدند و در هر جعبه تنها ٤ گیاه نگه‌داشته شد. نیاز کودی مزرعه بر حسب نتایج آزمون خاک (جدول ۱) صورت گرفت. تا قبل از شروع اعمال تیمارها، آبیاری با آب با شوری نرمال (با هدایت الکتریکی ۲ دسی‌زیمنس بر متر) انجام گرفت. عامل اصلی شامل آبیاری با آب شور و با هدایت‌های الکتریکی ۲ (آب مزرعه)، ۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر و عامل فرعی شامل پرولین ۱۰ میلی‌مولار، اسید سالیسیلیک ۳ میلی مولار، ترکیب اسید سالیسیلیک ۳ میلی‌مولار با پرولین ۱۰ میلی‌مولار، و شاهد (محلول‌پاشی با آب) (شهبازی‌زاده و همکاران (۱۳۹٤) و Jasim و همکاران (۲۰۱۲)) بود. محلول‌پاشی روی گیاه در مرحله ٤ برگی به میزانی انجام گرفت که برگ‌ها کاملاً خیس شده و قطرات محلول از برگ بریزد.

اعمال تیمارهای شوری و محلول‌پاشی: پس از دوره استقرار گیاهان و زمانی که گیاهان به مرحله ٤ برگی رسیدند، محلول‌پاشی ترکیبات آغاز شد و در دو مرحله و با فاصله زمانی ۷ روز صورت گرفت. گیاهان شاهد تنها بوسیله آب خالص محلول‌پاشی شدند. ۷ روز بعد از محلول‌پاشی دوم با افزودن تدریجی کلریدسدیم به آب آبیاری، اعمال شوری انجام شد. آبیاری با آب شور به فاصله زمانی هر سه روز یکبار صورت گرفت پس از هر بار آبیاری زه‌آب ۵ جعبه از هر تیمار بطور تصادفی برداشت و میزان قابلیت هدایت الکتریکی آنها با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری قابلیت هدایت الکتریکی (مدل Cyberscan Singapore) اندازه‌گیری شد و در مواردی که میزان قابلیت هدایت الکتریکی محلول ورودی بیشتر بود آبشویی با آب مقطر انجام گرفت. در طی روز زه آبهای خارج شده به خاک هر جعبه برگشت داده شد تا غلظت نمک در خاک براساس مقادیر تیمارها ثابت باقی بماند. رطوبت خاک در محدوده ظرفیت زراعی مزرعه نگه داشته شد. مقدار آب مورد نیاز هر جعبه با وزن کردن جعبه و اختلاف وزن آن در شرایط آبیاری شده و خشک بدست آمد.

اندازه‌گیری صفات: در مرحله گلدهی صفات زیر اندازه گیری شدند.

رنگیزه‌های فتوسنتزی: برای سنجش غلظت رنگیزه‌های a، b، کلروفیل کل و کاروتنویید از روش Arnon (۱۹۹٦) و آنتوسیانین از روش Sims and Gamon (۲۰۰۲) استون ۸۰٪ استفاده شد. استخراج کلروفیل از برگ بالغ و فعال با کمک استون ۸۰٪ انجام شد. سپس حجم محلول با استون به ۲۵ میلی لیتر رسید. محلول حاصل بمدت ۱۰ دقیقه با سرعت ٤۰۰۰ rpm سانتریفوژ و جذب نوری در طول موج‌های (abs) ٦٦۳، ٦٤٦، ٤۷۰ و ۵۳۷ نانومتر، بوسیله اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. مقدار کلروفیل بر حسب میلی

جدول ۱- نتایج تجزیه خاک

عمق خاک (cm)	pH	EC (dS m^{-1})	OC	نیتروژن کل (%)	فسفر قابل جذب	پتاسیم قابل جذب (mg/kg)	شن	سیلت (%)	رس	بافت
۰-۳۰	۷/۷	۰/٤۱	۱/۱۱	۰/۱۲	۱۷/۱	٤٥٨	۲٦	۳٤	۳۹	لومی رسی

گرم کلروفیل در گرم برگ تازه تخمین زده شد.

کلروفیل a (mg g^{-1}) = (12.7 × abs 663) - (2.6×abs 646) mL acetone/ mg

کلروفیل b (mg g^{-1}) = (22.9 × abs 646) - (4.68 × abs 663) mL acetone/mg

کلروفیل کل (mg g^{-1}) = (7.05 × Chl a) + (18.09 × Chl b) mL acetone/mg

کاروتنویید (mg g^{-1}) = (1000 × abs 470) - (1.9 × abs 663) - (63.14 × abs 646) /214

آنتوسیانین (mg g^{-1}) = (81.73 × abs 537) - (6.97 × abs 646) - (2.228 × abs 663) mL acetone/mg

پایداری غشای سلولی: برای تعیین پایداری غشای سیتوپلاسمی از روش اندازه گیری نشت الکترولیتی استفاده شد (Valentovic *et al*., 2006). برای این کار، ۲۰۰ میلی‌گرم برگ از هر گلدان انتخاب و در ویال های حاوی آب دوبار تقطیر شده قرار داده شد. بعد از ٢٤ ساعت، نشت الکترولیت‌ها توسط دستگاه هدایت‌سنج (ECمتر) (مدل Cyberscan Singapore) اندازه‌گیری شد (EC_1). به منظور اندازه‌گیری میزان کل نشت الکترولیت‌ها در اثر مرگ سلول، ویال ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد در اتوکلاو قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها به محیط آزمایشگاه انتقال داده و بعد از رسیدن دمای نمونه‌ها به دمای محیط، دوباره نشت الکترولیت‌های نمونه‌ها اندازه‌گیری شدند (EC_2). در نهایت میزان نشت یونی از رابطه زیر به‌دست آمد:

میزان نشت یونی = $[1 - (EC_1 / EC_2)] \times 100$

پرولین: برای اندازه گیری پرولین محتوای بافت برگ از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. ۰/۵ گرم از بافت برگ در هاون چینی کاملاً کوبیده شد تا به حالت خمیری در آید. سپس ۱۰ میلی لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد به آن اضافه شد و محتوی هاون از کاغذ صافی عبور داده شد. به ۲ میلی لیتر محلول، ۲ میلی لیتر اسید نااین هیدرین (۱۲۵ میلی گرم نااین‌هیدرین + ۲ میلی لیتر اسید فسفریک ٦ مولار + ۳ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال + ۲ میلی لیتر اسیداستیک) اضافه شد. محتوی حاصل مخلوط شد و در حمام آب جوش در دمای ۱۰۰درجه سانتیگراد به مدت ۱ ساعت گذاشته شد و سپس لوله‌های محتوی محلول حاصل در یخ قرار داده، پس از یکی شدن دمای آن با دمای محیط به آن ٤ میلی لیتر تولوئن اضافه گردید و به مدت ۲۰-۱۵ ثانیه بهم زده شدند. استانداردهای پرولین را در مقادیر۰، ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۳ و ۰/۰٤ میکرومول بر میلی لیتر تهیه شد، نمونه‌های حاصل و استانداردها در طول موج ٥۲۰ نانومتر با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد.

محتوای نسبی آب برگ (RWC): نمونه‌برداری در برگ‌های جوان کاملاً توسعه‌یافته انجام و نمونه‌ها بلافاصله درون یخ قرار گرفته و در آزمایشگاه وزن تر آنها با ترازوی دقیق اندازه‌گیری شدند. سپس تمامی نمونه‌ها در آب مقطر قرار داده شد و به مدت ٢٤ ساعت در یخچال با دمای ٤ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد از ٢٤ ساعت وزن اشباع برگ‌ها اندازه‌گیری و برگ‌ها به مدت ٢٤ ساعت دیگر در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار گرفتند و وزن خشک هر کدام اندازه‌گیری شد و مقدار آب نسبی برگ از طریق معادله زیر محاسبه گردید (Banchio *et al*., 2008):

(وزن تر- وزن خشک)(وزن تورژسانس- وزن خشک)×۱۰۰

غلظت قندهای محلول: برای اندازه‌گیری میزان قندهای محلول از روش Dubois و همکاران (۱۹٥٦) استفاده شد. در ابتدا، برای تهیه عصاره الکلی، ۰/۱ گرم از ماده خشک گیاهی به همراه ۱۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد داغ در داخل هاون چینی کوبیده و له شد. سپس سوسپانسیون همگن شده از کاغذ

صافی عبور داده شد و ۵ میلی‌لیتر سولفات روی ۵ درصد و ٤/۷ میلی‌لیتر هیدروکسیدباریم ۰/۳ درصد به آن اضافه شد و مجدد صاف گردید. در مرحله بعد ۲ میلی‌لیتر از محلول صاف شده به لوله‌های جدید منتقل شد و ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و بلافاصله ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۹۸ درصد به آن اضافه شد. در این مرحله ماده رنگی که به رنگ زرد تا قهوه‌ای تیره است تشکیل شد و واکنش خاتمه یافت. در انتها میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. غلظت قندهای محلول با استفاده از منحنی استاندارد تهیه شده با غلظت‌های مشخص گلوکز (۰ تا ۱۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و لحاظ کردن حجم الکل استفاده شده جهت عصاره‌گیری تعیین شد. از ترکیب الکل، فنل و اسید سولفوریک به‌عنوان شاهد استفاده گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS صورت گرفت، مقایسه میانگین‌ها با آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد و هم‌چنین مقایسه میانگین برهمکنش تیمارها با نرم‌افزار MSTAT-C، ترسیم نمودارها با نرم افزار Excel و همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده (آزمون پیرسون در سطح احتمال ۵ درصد) با نرم‌افزار SPSS version 23.0 انجام شد.

نتایج و بحث

تحمل شوری تابعی از فعالیت یک اندام یا یک صفت گیاهی نیست، بلکه برآیندی از تعداد زیادی صفات مهم گیاهی است (Munns and Teste, 2008)، لذا بررسی صفات فیزیولوژیک جهت یافتن مکانیسم‌های دخیل در تحمل شوری ضروری می‌باشد.

نتایج تجزیه واریانس برای صفات مورد بررسی نشان داد محتوای کلروفیل، کاروتنویید، آنتوسیانین، پرولین، غلظت قندهای محلول، شاخص پایداری غشا و محتوای نسبی آب برگ در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر شوری و تیمارهای محلول‌پاشی اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول ۲). اثر متقابل سطوح شوری در تیمارهای محلول‌پاشی برای صفات آنتوسیانین، شاخص پایداری غشا و محتوای نسبی آب برگ در سطح یک درصد و برای صفات محتوای کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنویید، پرولین برگ و غلظت قندهای محلول در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت درحالیکه برای صفت کلروفیل کل تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری مشاهده نشد (جدول ۲).

محتوای کلروفیل: مقایسه میانگین‌ها نشان داد تیمار ۵ دسی‌زیمنس بر متر شوری منجر به افزایش غلظت کلروفیل a، b و کل شد، این در حالی است که تیمار شوری ۱۰ دسی-زیمنس بر متر باعث کاهش محتوای کلروفیل a، b و کل نسبت به شاهد شد، این کاهش برای کلروفیل a، ۳۷ درصد و برای کلروفیل b و کل، ۳٦ درصد نسبت به تیمار شاهد بود (جدول ۳). براین اساس Ashraf و Naqvi (۱۹۹۲) نشان دادند که تنش شوری شدید، موجب تخریب کلروپلاست، تغییر تعداد و اندازه‌ی کلروپلاست‌ها و کاهش کلروفیل شد. نتایج هر دو مطالعه با یافته‌های این آزمایش مطابقت دارد. همه تیمارهای محلول‌پاشی باعث افزایش محتوای کلروفیل شدند، با این حال، بالاترین محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل مربوط به تیمار ترکیبی پرولین و اسید سالیسیلیک به ترتیب با افزایش ۵۳، ۲۸ و ۳٦ درصد نسبت به محلول‌پاشی با آب بود (جدول ۳). براساس تحقیقات انجام شده توسط Mittler (۲۰۰۲) کاربرد محلول‌پاشی برگی اسید سالیسیلیک منجر به افزایش رنگدانه‌ها در کلزا شده است. از دلایل بهبود پارامترهای رشد تحت تأثیر تیمار اسیدسالیسیلیک را می‌توان تأثیر SA بر دستگاه فتوسنتزی و حفاظت از دستگاه فتوسنتزی، مقدار فتوسنتز، فعالیت آنزیم روبیسکو، مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی، کاهش تنش اکسیداتیو و نشت یونی و افزایش همبستگی غشاهای زیستی نام برد (Popova *et al*., 2009). مقایسات میانگین اثر متقابل سطوح شوری و تیمارهای محلول‌پاشی حاکی از آن است که بالاترین محتوای کلروفیل a مربوط به تیمار شاهد + محلول‌پاشی ترکیب پرولین و اسید سالیسیلیک با افزایش ۵۸ درصدی بوده است، در حالیکه کمترین میزان محتوای کلروفیل a در تیمار ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر + محلول

جدول ۲- تجزیه واریانس محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و پرولین بر صفات محتوای کلروفیل، کاروتنویید، آنتوسیانین، شاخص پایداری غشا و محتوای نسبی آب گیاه سویا تحت شرایط آبیاری شور

منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنویید	آنتوسیانین	پرولین	قندهای محلول	شاخص پایداری غشا	محتوای نسبی آب
تنش شوری	۲	۰/۵٤**	۰/۲۸**	۲۰۷/٤**	۳۱/۲**	۰/۰٤۵**	۵/۰۸۱**	٤٦٦/۳**	۲٤۰۰/۲**	۸٦۲/٤**
خطای a	۹	۰/۰۰۷	۰/۰۰۱	۰/۲۵۵	۰/۱۰۲	۰/۰۰۰۲	۰/۰۳٤	۲/۳۲	۲٤/۹۲	۷/۸۱
محلول‌پاشی	۳	۰/۱۷**	۰/۰۱٤**	۲۵/٤۸**	۷/۰۲**	۰/۰۰۷**	۱/۸۹**	۹٤/۳۹**	۲۷۱/۱**	۵۳/۷۵**
شوری × محلول‌پاشی	٦	۰/۰۱*	۰/۰۰۵*	۱/۳۳^{ns}	۰/۳۳۳*	۰/۰۰۷**	۰/۱۳۱*	۲۰/۱۰*	۱۵۱/۷**	۲۸/۹۸**
خطای b	۲۷	۰/۰۰۵	۰/۰۰۱	۰/۸۵۵	۰/۱۰۲	۰/۰۰۰۲	۰/۰۳۹	٤/۵۸	۱۵/٤۲	٤/۰۳
ضریب تغییرات		۷/۳	۷/۹	۵/۹	۳/۸	۵/٦۷	٦/۳۱	٤/۱٤	۵/۸٤	۳/۲۱

ns، * و ** به ترتیب بیانگر معنی‌دار نبودن، معنی‌دار بودن در سطوح ۵ درصد و ۱ درصد

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و پرولین بر صفات محتوای کلروفیل، کاروتنویید، آنتوسیانین، شاخص پایداری غشا و محتوای نسبی آب گیاه سویا تحت شرایط آبیاری شور.

عامل آزمایشی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنویید	آنتوسیانین
	میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ				
سطوح شوری					
۲ دسی‌زیمنس بر متر (شاهد)	۱/۱۰^{a}	۰/٤۷^{b}	۱٦/۲۲^{b}	۸/۸۳^{b}	۰/۲۱^{b}
۵ دسی‌زیمنس بر متر	۱/۱۷^{a}	۰/٦۸^{a}	۲۰/۵۳^{a}	۱۰/۱۱^{a}	۰/۳۳^{a}
۱۰ دسی‌زیمنس بر متر	۰/٦۹^{b}	۰/۳۰^{c}	۱۰/۳۹^{c}	٦/۲٤^{c}	۰/۲۰^{b}
محلول‌پاشی					
شاهد (محلول‌پاشی با آب)	۰/۷۸^{d}	۰/٤۳^{c}	۱۳/۳٦^{d}	٦/۹۹^{d}	۰/۲۰^{b}
پرولین ۱۰ میلی‌مولار	۰/۹۵^{c}	۰/٤٦^{b}	۱٤/۹۵^{c}	۸/۲۳^{c}	۰/۲۵^{a}
پرولین ۱۰ میلی‌مولار + اسیدسالیسیلیک ۳ میلی‌مولار	۱/۱۹^{a})	۰/۵۵^{a}	۱۸/۲۱^{a}	۹/۵٦^{a}	۰/۲۷^{a}
اسید سالیسیلیک ۳ میلی‌مولار	۱/۰۵^{b}	۰/۵۰^{ab}	۱٦/۳۲^{b}	۸/۷۹^{b}	۰/۲٦^{a}

در هر ستون و برای هر واحد آزمایشی، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارد.

پاشی با آب با کاهش ۵۰ درصد نسبت به تیمار شاهد + محلول‌پاشی با آب مشاهده شد (جدول ٤). بیشترین محتوای کلروفیل b مربوط به تیمار ۵ دسی‌زیمنس بر متر + محلول-پاشی ترکیب پرولین و اسید سالیسیلیک و کمترین در تیمار ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر شوری + محلول‌پاشی با آب بود که به ترتیب افزایش ۹۳ و کاهش ٤۰ درصدی نسبت به تیمار شاهد + محلول‌پاشی با آب داشتند (جدول ٤). شهبازی‌زاده و همکاران (۱۳۹٤) در مطالعه خود بر گیاه سویا نشان دادند مقدار رنگیزه‌ها در گیاهان سویای تیمار شده با اسید سالیسیلیک ۳ میلی‌مولار افزایش یافته است. همچنین Yan و

جدول ٤- مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح شوری و تیمارهای محلول‌پاشی بر صفات محتوای کلروفیل، کاروتنویید و آنتوسیانین گیاه سویا

سطوح شوری	محلول‌پاشی	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنویید	آنتوسیانین
		میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ			
۲ دسی‌زیمنس بر متر (شاهد)	شاهد (محلول‌پاشی با آب)	۰/۹۰^{de}	۰/٤۳^{c}	۷/٦٦^{d}	۰/۱٦۲^{ef}
	پرولین ۱۰ میلی‌مولار	۰/۹٦^{d}	۰/٤٦^{c}	۸/۸۲^{c}	۰/۱۹۲^{e}
	پرولین ۱۰ میلی‌مولار + اسیدسالیسیلیک ۳ میلی‌مولار	۱/٤۲^{a}	۰/۵۰^{c}	۹/۹۵^{b}	۰/۲٤۰^{d}
	اسید سالیسیلیک ۳ میلی‌مولار	۱/۱٤^{bc}	۰/٤۹^{c}	۸/۹۱^{c}	۰/۲٤۲^{d}
۵ دسی‌زیمنس بر متر	شاهد (محلول‌پاشی با آب)	۱/۰۰^{cd}	۰/٦۲^{b}	۸/۷۵^{c}	۰/۲۷٤^{c}
	پرولین ۱۰ میلی‌مولار	۱/۱۸^{b}	۰/٦۱^{b}	۹/۷۸^{b}	۰/٤۳٤^{a}
	پرولین ۱۰ میلی‌مولار + اسیدسالیسیلیک ۳ میلی‌مولار	۱/۲۹^{ab}	۰/۸۳^{a}	۱۱/٦۹^{a}	۰/۳۱۲^{b}
	اسید سالیسیلیک ۳ میلی‌مولار	۱/۲۳^{b}	۰/٦٦^{b}	۱۰/۲۳^{b}	۰/۳۱۲^{b}
۱۰ دسی‌زیمنس بر متر	شاهد (محلول‌پاشی با آب)	۰/٤۵^{g}	۰/۲٦^{d}	٤/۵۸^{f}	۰/۱۳٤^{f}
	پرولین ۱۰ میلی‌مولار	۰/۷۱^{f}	۰/۳۰^{d}	٦/۰۹^{e}	۰/۱۵۰^{ef}
	پرولین ۱۰ میلی‌مولار + اسیدسالیسیلیک ۳ میلی‌مولار	۰/۸۵^{def}	۰/۳۲^{d}	۷/۰٦^{d}	۰/۲٦۲^{cd}
	اسید سالیسیلیک ۳ میلی‌مولار	۰/۷۷^{ef}	۰/۳٤^{d}	۷/۲۳^{d}	۰/۲۳٦^{d}

در هر ستون و برای هر واحد آزمایشی، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارد.

همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند تنش شوری باعث کاهش معنی‌دار محتوای کلروفیل مورد مطالعه شد، در حالیکه در کرت‌های تحت محلول‌پاشی پرولین کاهش محتوای کلروفیل تحت شرایط شوری به طور معنی‌داری کم بود.

محتوای کاروتنویید و آنتوسیانین: مقایسه میانگین‌ها نشان داد درصد محتوای کاروتنویید و آنتوسیانین در تیمار ۵ دسی‌زیمنس بر متر افزایش یافت، این افزایش برای کاروتنویید و آنتوسیانین به ترتیب ١٤ و ۵۷ درصد نسبت به تیمار شاهد بود، در حالیکه در تیمار ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر کاروتنویید و آنتوسیانین به ترتیب ۲۹ و ۵ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش یافتند (جدول ۳). کاروتنوییدها یکی از مهمترین آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی هستند که همراه با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، گونه‌های فعال اکسیژن را خنثی می‌کنند. کاروتنوییدها از طریق دریافت مازاد انرژی کلروفیل‌های برانگیخته، تولید اکسیژن تکی در کلروپلاست سلول‌های فتوسنتزکننده را کاهش می‌دهند (Abogadallah, 2010). افزایش این رنگدانه‌ی کلیدی در شرایط شور، ظرفیت حفاظت نوری و آنتی‌اکسیدانی گیاه را بهبود می‌بخشد (Parida *et al.*, 2007). کاهش محتوای کاروتنوییدها تحت شرایط شوری بالا می‌تواند به دلیل اکسیدشدن آن‌ها توسط اکسیژن فعال و تخریب ساختار آن‌ها باشد (رمضان‌نژاد و همکاران، ۱۳۹۲). تیمار محلول‌پاشی ترکیب پرولین و اسید سالیسیلیک در بین تیمارهای محلول-پاشی با افزایش کاروتنویید و آنتوسیانین به ترتیب ۳۷ و ۳۵ درصدی نسبت به محلول‌پاشی با آب بیشترین تغییر را داشتند (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح شوری و تیمارهای محلول‌پاشی حاکی از آن است که بالاترین محتوای کاروتنویید در سطح ۵ دسی‌زیمنس بر متر + محلول پاشی ترکیب پرولین و اسید سالیسیلیک و کمترین در سطح ۱۰

دسی‌زیمنس بر متر + محلول‌پاشی با آب بود که به ترتیب افزایش ۵۳ درصدی و کاهش ٤٠ درصدی نسبت به تیمار شاهد + محلول‌پاشی با آب داشتند (جدول ٤). بیشترین محتوای آنتوسیانین در سطح شوری ۵ دسی‌زیمنس بر متر + محلول‌پاشی ۱۰ میلی‌مولار پرولین و کمترین در سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر + محلول‌پاشی با آب بود که به ترتیب افزایش ١٦٧ درصدی و کاهش ۱۷ درصدی نسبت به تیمار شاهد + محلول‌پاشی با آب را نشان دادند (جدول ٤). بهنام نیا و شنوایی (۱۳۹۲) گزارش کردند که کاربرد غلظت‌های پایین (۱ میلی مولار) اسید سالیسیلیک بیشترین اثر مثبت را بر روی بازدارندگی کلرید سدیم داشت و توانست در بین صفات بیوشیمیایی مقدار آنتوسیانین‌ها را در مقایسه با نمونه شاهد و شرایط تنش افزایش دهد. در مطالعه Bakry و همکاران (۲۰۱٤) بر گیاه بزرک (*Linum usitatissimum* L.) نشان دادند محلول‌پاشی پرولین باعث افزایش محتوای کاروتنویید و کلروفیل تحت سطوح شوری شد، که با یافته‌های این مطالعه مطابقت داشت.

غلظت اسمولیت‌ها در گیاه سویا: شوری منجر به افزایش غلظت پرولین و قندهای محلول کل برگ شد، ولی این افزایش غلظت برای پرولین با افزایش سطوح شوری به صورت خطی نبود (جدول ۵). بیشترین افزایش غلظت پرولین در سطح شوری ۵ دسی‌زیمنس بر متر و افزایش ٦٤ درصدی و کمترین افزایش در سطح ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر و افزایش ۲۱ درصدی نسبت به شاهد مشاهده شد (جدول ۵). در حالیکه بیشترین افزایش غلظت قندهای محلول در سطح ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر با افزایش ۳۵ درصدی نسبت به شاهد مشاهده شد. پرولین یکی از رایج‌ترین محلول‌های سازگار است که در بیشتر گیاهان زراعی تحت تنش شوری و خشکی تجمع می‌یابد. برخی از محققین معتقدند (Shalata and Tal, 1998) افزایش سطح پرولین نشانه آسیب وارد شده به گیاه تحت تنش است نه شاخصی از تحمل شوری. همچنین نقش حفاظتی پرولین به‌غیر از تنظیم اسمزی مربوط به توانایی این ماده در حفظ پایداری غشاهای سلولی و پروتئین‌ها، مهار کردن گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و بافر کردن پتانسیل احیایی سلول، تحت شرایط تنش است. مکانیسم مولکولی مهار ROSها توسط پرولین مربوط به ویژگی‌های بیوشیمیایی پیرولیدین است، که پرولین را بطور مؤثری قادر می‌سازد با اکسیژن تکی و گروه هیدروکسیل واکنش دهد و اثرات مخرب ROS ها بر مولکول‌های مهمی نظیر DNA و آنزیم‌ها را خنثی کند (Matysik *et al.*, 2002). علاوه بر این طبق گزارش Skopelitisو همکاران (۲۰۰٦) ROS های تولید شده طی تنش‌های غیر زیستی می‌توانند علامتی برای بیان گلوتامات دهیدروژناز آنیونی که تشکیل گلوتامات (پیش ساز پرولین) را کاتالیز می‌کند باشند.

محافظت‌کننده‌های اسمزی مثل قندها و قندهای الکلی از طریق کمک به پایداری ساختار غشاها و پروتئین‌ها از گیاه در برابر تنش اسمزی محافظت می‌کنند (Valliyodan and Nguyen, 2006). تصور می‌شود قندها با گروه‌های قطبی غشاها برهمکنش دارند و مانع از بین رفتن غشاها می‌شوند (Bartels and Sunkar, 2005). افزایش تجزیه کربوهیدرات-های نامحلول و تبدیل آنها به قندهای محلول، تولید مواد اسمتیک از مسیرهای غیرفتوسنتزی، توقف رشد، کاهش در انتقال (صادرات) مواد و فعالسازی آنزیم ساکارز فسفات سنتاز و افزایش سنتز ساکارز از جمله دلایل افزایش سطوح قندهای محلول در گیاهان تحت تنش هستند (خاکشور و همکاران، ۱۳۹۰) که با یافته‌های این مطالعه مطابقت دارد.

بین تیمارهای محلول‌پاشی، بالاترین میزان پرولین و قندهای محلول در تیمار ترکیب پرولین و اسید سالیسیلیک بود که به ترتیب افزایش ٥٤ و ۲۰ درصدی نسبت به تیمار محلول پاشی با آب داشتند (جدول ۵). طبق گزارشات Khodary (۲۰۰٤) اسید سالیسیلیک به علت تعدیل در کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی و احتمالاً با حفظ ساختار و فعالیت روبیسکو باعث افزایش مقدار قندها می‌شود. مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح شوری و تیمارهای محلول‌پاشی برای محتوای پرولین و قندهای محلول نشان داد که همه تیمارها نسبت به تیمار شاهد + محلول‌پاشی با آب افزایش یافتند.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثرات محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و پرولین بر صفات پرولین، قندهای محلول، شاخص پایداری غشا و محتوای نسبی آب گیاه سویا تحت شرایط آبیاری شور

عامل آزمایشی	پرولین برگ	قندهای محلول کل برگ	شاخص پایداری غشا	محتوای نسبی آب
	میکرومول بر گرم وزن تر برگ	میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ	درصد	
سطوح شوری				
۲ دسی‌زیمنس بر متر (شاهد)	۲/۴۳^{c}	۴۳/۲۶^{c}	۸۲/۰۳^{a}	۷۰/۸۵^{a}
۵ دسی‌زیمنس بر متر	۳/۹۹^{a}	۵۳/۴۶^{b}	۷۱/۵۴^{b}	۶۵/۴۱^{b}
۱۰ دسی‌زیمنس بر متر	۲/۹۴^{b}	۵۸/۲۰^{a}	۴۸/۱۹^{c}	۵۰/۷۸^{c}
محلول‌پاشی				
شاهد (محلول‌پاشی با آب)	۲/۳۱^{c}	۴۶/۵۵^{c}	۵۸/۰۲^{c}	۶۶/۳۲^{a}
پرولین ۱۰ میلی‌مولار	۳/۴۰^{ab}	۵۳/۳۷^{ab}	۶۶/۵۳^{b}	۶۰/۹۲^{bc}
پرولین ۱۰ میلی‌مولار + اسیدسالیسیلیک ۳ میلی‌مولار	۳/۵۶^{a}	۵۵/۸۴^{a}	۷۱/۸۵^{a}	۵۹/۳۷^{c}
اسید سالیسیلیک ۳ میلی‌مولار	۳/۲۱^{b}	۵۰/۸۲^{b}	۷۲/۶۰^{a}	۶۲/۷۸^{b}

در هر ستون و برای هر واحد آزمایشی، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارد.

بیشترین افزایش محتوای پرولین در سطح ۵ دسی‌زیمنس بر متر + محلول‌پاشی ترکیب پرولین و اسید سالیسیلیک و کمترین در سطح ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر + محلول‌پاشی با آب بدست آمد که به ترتیب افزایش ۱۴۳ و ۱۲ درصدی نسبت به شاهد نشان دادند (جدول ۶). بیشترین محتوای قندهای محلول در سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر + ترکیب پرولین و اسید سالیسیلیک مشاهده شد که افزایش ۷۳ درصدی نسبت به شاهد داشت (جدول ۶). همچنین Bakry و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند محتوای قندهای محلول و پرولین در گیاه بزرک تحت محلول‌پاشی پرولین نسبت به محلول‌پاشی با آب افزایش یافتند و این باعث ایجاد مقاومت گیاه تحت شرایط تنش می‌شود.

شاخص پایداری غشا و محتوای نسبی آب برگ: مقایسه میانگین صفات مرتبط به شاخص پایداری غشا و محتوای نسبی آب برگ حاکی از آن است که با افزایش سطوح شوری، کاهش یافتند (جدول ۵)، این کاهش برای سطح ۱۰ دسی-زیمنس بر متر بیشتر بود که به ترتیب کاهش ۴۱ و ۲۸ درصدی نسبت به شاهد نشان دادند (جدول ۵). یکی از آسیب‌های جدی تنش شوری خسارت به غشاهای سلولی و رهاسازی یون‌ها از سلول به فضای بین سلولی است. این پدیده نتیجه تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن است که منجر به پراکسیداسیون لیپید و در پی آن افزایش نفوذ پذیری غشاء و خسارت به سلول می‌شود (آذری و همکاران، ۱۳۹۱). کاهش در محتوای نسبی آب در گیاهان تحت تنش‌هایی نظیر شوری ممکن است اشاره به دلیل از دست رفتن فشار تورگر (تورژسانس) که در نتیجه محدودشدن دسترسی آب برای سلول باشد (Karimi *et al*., 2005).

در بین تیمارها محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک بالاترین درصد پایداری غشا را داشت که اختلاف معنی‌داری با محلول پاشی ترکیب پرولین و اسید سالیسیلیک نداشت که به ترتیب

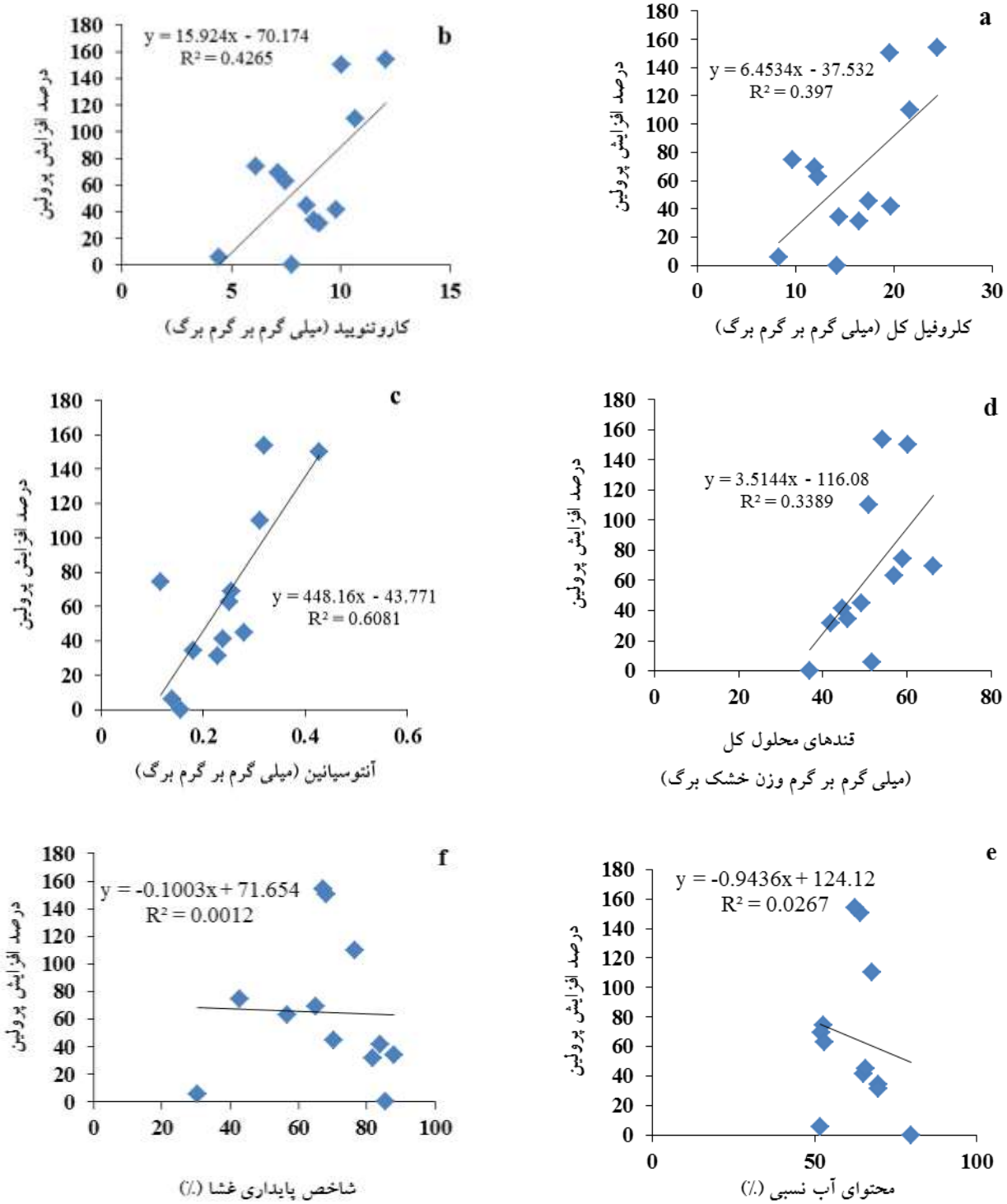
جدول ٦- مقایسه میانگین اثر متقابل محلول‌پاشی و سطوح شوری بر صفات محتوای کلروفیل، کاروتنویید، آنتوسیانین، شاخص پایداری غشا و محتوای نسبی آب گیاه سویا

سطوح شوری	محلول‌پاشی	پرولین	قندهای محلول	شاخص پایداری غشا	محتوای نسبی آب
		میکرومول بر گرم وزن تر برگ	میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ	درصد	
۲ دسی‌زیمنس بر متر (شاهد)	شاهد (محلول‌پاشی با آب)	۱/۹٤^{h}	۳۸/۸۵^{g}	۷۷/۸^{bc}	۸۰/۷^{ab}
	پرولین ۱۰ میلی‌مولار	۲/٦۱^{f}	٤٦/٤٥^{ef}	۸۷/۰^{a}	٦۷/٥^{bcd}
	پرولین ۱۰ میلی‌مولار + اسیدسالیسیلیک ۳ میلی‌مولار	۲/٦۸^{ef}	٤٥/۱٥^{ef}	۸۲/۰^{ab}	٦٤/۱^{cd}
	اسید سالیسیلیک ۳ میلی‌مولار	۲/٤۸^{fg}	٤۲/٦۰^{fg}	۸۱/۳^{ab}	۷۱/۱^{b}
٥ دسی‌زیمنس بر متر	شاهد (محلول‌پاشی با آب)	۲/۸۱^{def}	٤۸/۹۰^{de}	٦۷/۲^{de}	٦۸/۰^{bc}
	پرولین ۱۰ میلی‌مولار	٤/۳۸^{ab}	٥۷/٦۰^{b}	۷۱/۲^{cd}	٦٤/۷^{cd}
	پرولین ۱۰ میلی‌مولار + اسیدسالیسیلیک ۳ میلی‌مولار	٤/۷۲^{a}	٥٥/۱٥^{bc}	۷۰/۱^{cd}	٦۳/۰٥^{d}
	اسید سالیسیلیک ۳ میلی‌مولار	٤/۰٦^{b}	٥۲/۲۰^{cd}	۷۷/۷^{bc}	٦٥/۹۰^{cd}
۱۰ دسی‌زیمنس بر متر	شاهد (محلول‌پاشی با آب)	۲/۱۷^{gh}	٥۱/۹۰^{cd}	۲۹/۱^{g}	٥۰/۲٥^{e}
	پرولین ۱۰ میلی‌مولار	۳/۲۳^{cd}	٥۷/۰٥^{bc}	٤۱/٤^{f}	٥۰/٥٥^{e}
	پرولین ۱۰ میلی‌مولار + اسیدسالیسیلیک ۳ میلی‌مولار	۳/۲۸^{c}	٦۷/۲۲^{a}	٦۳/٥^{de}	٥۰/۹٥^{e}
	اسید سالیسیلیک ۳ میلی‌مولار	۳/۰۸^{cde}	٥۷/٦٥^{b}	٥۸/۸^{e}	٥۱/۳٥^{e}

در هر ستون و برای هر واحد آزمایشی، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح ٥ درصد اختلاف معنی داری ندارد.

افزایش ۲٥ و ۲٤ درصدی نسبت به محلول‌پاشی با آب داشتند (جدول ٥). همه تیمار محلول‌پاشی باعث کاهش محتوای نسبی آب برگ شدند با این حال محلول‌پاشی ترکیب پرولین و اسیدسالیسیلیک کاهش ۱۰ درصدی محتوای نسبی آب برگ نسبت به تیمار محلول‌پاشی با آب را نشان داد (جدول ٥). در مطالعه Zhao و همکاران (۱۹۹۲) بیان کردند که گیاهان با جذب یون، پتانسیل آبی خود را در سطح پایین‌تری حفظ می‌کنند که این عمل به سازش، افزایش رشد و افزایش محتوای آب گیاهان کمک می‌کند. گیاهانی که در شرایط سریع‌تر به حالت تعدیل اسمزی می‌رسند، با محیط اطراف خود سریع‌تر سازگار شده و می‌توانند محتوای نسبی آب برگ و پتانسیل آب بافت‌های خود را با جذب بهتر آب حفظ کنند.

مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح شوری و تیمارهای محلول‌پاشی نشان داد بالاترین شاخص پایداری غشا در تیمار شاهد + محلول‌پاشی ۱۰ میلی‌مولار پرولین بود که افزایش ۱۲ درصدی نسبت به تیمار شاهد + محلول‌پاشی با آب نشان داد، در حالیکه کمترین میزان در سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر + محلول‌پاشی با آب بود که کاهش ٦۳ درصدی نسبت به شاهد + محلول‌پاشی با آب بود (جدول ٦). تیمار شاهد بالاترین محتوای نسبی آب برگ را داشت، در حالیکه کمترین محتوای نسبی آب برگ مربوط به سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر + محلول‌پاشی با آب بود که کاهش ۳۸



شکل ۱- رابطه بین درصد افزایش پرولین با صفات مورد بررسی.

درصدی نسبت به تیمار شاهد + محلول‌پاشی با آب داشت (جدول ٦).

شواهد نشان می‌دهد ROS ها نقش مهمی در کنترل مسیرهای ترارسانی علامت درون سلولی برای بسیاری از فرآیندهای سلولی دارد (رمضان‌نژاد و همکاران، ۱۳۹۲). هنگامی‌که ROS لیپیدها را هدف قرار می‌دهد، فرآیند پراکسیداسیون لیپید آغاز شده و پراکسیداسیون لیپید پایداری غشای سلول را بر هم می‌زند. در نتیجه‌ی این امر، ترکیبات

محلول ضروری به خارج از اندامک‌ها نشت پیدا کرده و باعث آشفتگی عملکرد غشایی و برهم‌زدن تعادل متابولیسی سلول می‌شود. بنابراین پایداری غشای سلولی یک شاخص مهم مقاومت گیاهان نسبت به تنش می‌باشد (رمضان‌نژاد و همکاران، ۱۳۹۲). بر این منظور Khan و همکاران (۲۰۰۳) مشاهده کردند که در شرایط تنش تیمار اسید سالیسیلیک باعث افزایش قندهای محلول در برگ‌های سویا شد و به این ترتیب به افزایش پایداری غشا کمک می‌کند. پیش تیمار گیاهان گندم با اسید سالیسیلیک به مدت ٢٤ ساعت، گیاه را در برابر آسیب‌های ناشی از شوری محافظت می‌کند و نشت الکترولیت‌ها را به طور چشمگیری کاهش می‌دهد (رمضان‌نژاد و همکاران، ۱۳۹۲).

افزایش سطح پرولین برگ نشانه‌ی آسیب واردشده به گیاه تحت تنش است، تجمع پرولین به گیاه کمک می‌کند تا بتواند در دوره کوتاهی بعد از اعمال تنش زنده بماند و گیاه را قادر می‌سازد تا بعد از رفع تنش رشد خود را بازیابی کند و اثر مثبتی بر عملکرد خواهد گذاشت. درصورتیکه در تنش طولانی مدت آثار مفید تجمع پرولین عمل نخواهد کرد و حتی اثر منفی بر عملکرد خواهد گذاشت (Sanchez *et al.*, 1998). رابطه همبستگی افزایش درصد پرولین با هر یک از صفات محتوای کلروفیل کل (R^2 =۰/٤۰)، کاروتنویید (R^2 =۰/٤۳)، آنتوسیانین (R^2 =۰/٦۱)، قندهای محلول کل (R^2 =۰/۳٤)، شاخص پایداری غشا (R^2 = -۰/۰۰۱) و محتوای نسبی آب برگ (R^2 = -۰/۰۳) نشان داده شد (شکل ۱). بنابراین نتایج نشان می‌دهد افزایش درصد پرولین رابطه منفی با شاخص پایداری غشا و محتوای نسبی آب برگ داشت و شاخص پایداری غشا و محتوای نسبی آب برگ کاهش یافتند و باعث آسیب به گیاه می‌شود و افزایش درصد پرولین بیشترین همبستگی با آنتوسیانین داشت.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه اثرات منفی تنش شوری بر صفات فیزیولوژی سویا مشاهده شد. چرا که بالا رفتن غلظت نمک پتانسیل آب خاک منفی شده و جذب آب برای گیاه مشکل می‌سازد. ضمن اینکه شوری باعث کاهش رشد گیاه سویا می‌گردد استفاده از ترکیباتی مانند پرولین و اسید سالیسیلیک راه حل نسبتا مناسب و سازگار با محیط زیست برای کمک به حل این مشکل می‌باشد. در مجموع نتایج نشان داد که شاخص‌های فیزیولوژیک سویا با افزایش غلظت نمک در سطوح بالای شوری کاهش یافتند. محلول‌پاشی دو ترکیب پرولین ۱۰ میلی-مولار و اسید سالیسیلیک ۳ میلی‌مولار توانست اثرات منفی شوری بر گیاه سویا را کاهش دهد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه شهرکرد که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند صمیمانه تشکر می‌نمایم.

منابع

آذری، آ.، مدرس ثانوی، س. ع. م.، عسکری، ح.، قناتی، ف.، ناجی، ا. م. و علیزاده ب. (۱۳۹۱) اثر تنش شوری بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک دو گونه کلزا و شلغم روغنی (*Brasssica napus* and *B. rapa*). علوم زراعی ایران ١٤: ۱۳۵-۱۲۱.

بهنام نیا، م. و شنوایی زارع، ا. (۱۳۹۲) اثرات اسید سالیسیلیک بر گیاهچه شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) در شرایط شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی ۲: ٨٤-۷۳.

پاشایی، خ.، رئیسی، س.، معصومی، ع.، مصطفوی، ا. و شاه کوه محلی، ا. (۱۳۹۳) اثر سطوح مختلف تنش شوری بر برخی صفات مورفولوژیک و عملکرد ارقام سویا. پژوهشنامه گیاهان دانه روغنی ایران ۳: ۸۸-۷۵.

رمضان‌نژاد، ر.، لاهوتی، م. و گنجعلی، ع. (۱۳۹۲) اثر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک روی برخی از شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ارقام حساس و مقاوم نخود تحت تنش خشکی. مجله اکوفیزیولوژی گیاهی ۱۲: ٢٤-۳٦.

دلاوری پاریزی، م.، باقیزاده، ا.، انتشاری، ش. و منوچهری خ. (۱۳۹۱). مطالعه تأثیر اسید سالیسیلیک بر مقاومت و القای تنش اکسیداتیو در گیاه ریحان سبز (*Ocimum basilicum* L.) تحت تنش شوری. مجله زیست شناسی گیاهی ۱۲: ۲۵- ۳۶.

خاکشور مقدم، ز.، لاهوتی، م. و گنجعلی، ع. (۱۳۹۰) بررسی اثرات تنش خشکی از پلی اتیلن گلایکول بر جوانه‌زنی و خصوصیات مورفوفیزیولوژیک گیاه شوید (*Anethum graveolens* L.). نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی) ۲۵: ۱۹۳-۱۸۵.

شهبازی زاده، ا.، موحدی دهنوی، م. و بلوچی، ح .ر. (۱۳۹٤) تأثیر محلول پاشی اسید سالیسیلیک و آسکوربیک اسید بر برخی صفات فیزیولوژیک سویا (رقم ویلیامز) تحت تنش شوری. مجله فرآیند و کارکرد گیاهی ٤: ۲۲-۱۵.

Abogadallah, G. M. (2010) Antioxidative defense under salt stress. Plant Signal Behav 5: 369-374.

Ali, Q., Ashraf, M. U., Shahbaz, M. and Humera, H. A. (2008) Ameliorating effect of foliar applied proline on nutrient uptake in water stressed maize (*Zea mays* L.) plants. Pakistan Journal of Botany 40:211-219.

Arnon, I. (1996) Crop production in dry regions (eds. Hill, L.) Pp.650. London.

Ashraf, M. M. and Naqvi, I. (1992) Effect of varying Na^{+}/Ca^{2+} ratios in saline sand culture on some physiological parameters of four Brassica species. Acta Physiological Plantarum 14: 197- 205.

Bakry, B. A., Taha, M. H., Abdelgawad, Z. A. and Abdallah, M. M. S. (2014) The Role of humic acid and proline on growth, chemical constituents and yield quantity and quality of three Flax cultivars grown under saline soil conditions. Agricultural Sciences 5: 1566-1575

Bartels, D. and Sunkar, R. (2005) Drought and salt tolerance in plants. Critical Reviews in Plant Sciences 24:23-58.

Banchio, E., Bogino, P. C., Zygadlo, J. and Giordano, W. (2008) Plant growth promoting rhizobacteria improve growth and essential oil yield in *Origanum majorana* L. Biochemical Systematics Ecology 36: 766–771.

Bates, L. S., Walden, R. P. and Teave I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 39:205-207.

Deef, H. E. (2007). Influence of salicylic acid on stress tolerance during seed germination of *Triticu aestivum* and *Hordeum vulgare*. Advanced Biomedical Research 1:40-48.

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related subtances. Analytical Chemistry 28: 350-356.

Hayat, Sh., Hayat, Q., Alyemeni, M. N., Wani, A. Sh., Pichtel, J. and Ahmad, A. (2012) Role of proline under changing environments. A review. Plant Signaling. Behavior. 7: 1456-1466.

Jasim, A. H., Abu Al- Timmen, W. M. and Al- Alwani, B. A. (2012). Effect of salt stress, application of salicylic acid and proline on enzymes activity of sweet pepper (*Capsicum annum* L.). Protection of environment and water quality: the basis for agricultural production. Food Security and sustainable development 285- 297.

Karimi, G., Ghorbanli, M., Heidari, H., Khavarinejad, R. A., and Assareh, M. H. (2005) The effects of NaCl on growth, water relations, osmolytes and ion content in *Kochia prostrata*. Biologia Plantarum 49: 301-304.

Kaya, M. D., Okci, G., Atak, M., Cikili, Y. and Kolsarici, O. (2006) Seed treatment to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). European Journal of Agronomy 24: 291- 295.

Khan, W., Balakrishnan, P. and Smith, D. L. (2003) Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. Journal of Plant Physiology 160: 485-492.

Khodary, S. E. A. (2004) Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt-stressed maize plants. International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology 6: 5- 8.

Kishor, P. K., Sangam, S., Amrutha, R. N., Laxmi, P. S., Naidu, K. R., Rao, K. R., Rao, S., Reddy, K. J., Theriappan, P. and Sreenivasulu, N. (2005) Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. Current Science 88:424-38.

Matysik, J., Alia, B. and Mohanty, P. (2002) Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. Current Science 82: 525-532.

Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. Trends in Plant Science 7: 9- 15.

Munns, R. and Tester, M. (2008) Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology 59: 651-681.

Parida, A. K., Dagaonkar, V. S., Phalak, M. S., Umalkar, G. V. and Aurangabadkar, L. P. (2007) Alterations in photosynthetic pigments, protein and osmotic components in cotton genotypes subjected to short-term drought stress followed by recovery. Plant Biotechnology Reports 1: 37–48.

Parida, A. K. and Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicology and Environmental Safety 60: 324-349.

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.

Rivas-San Vicente, M. and Plasencia, J. (2011) Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development. Journal of Experimental Botany 62:3321-38.

Sanchez, F. J., Manzanares, M., De Andres, E. F., Tenorio, J. L. and Ayerbe, L. (1998). Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. Field Crops Research 59: 225-235.

Sawada, H., Shim, I. S. and Usui, K. (2006) Induction of benzoic acid 2-hydroxylase and salicylic acid biosynthesis—modulation by salt stress in rice seedlings. Plant Science 171:263–270.

Shalata, A. and Tal, M. (1998) The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in the leaf of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *lycopersicon pennellii*. Physiologia Plantarum 104: 169-174.

Sims, D. A. and Gamon, J. A. (2002) Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. Remote Sensing of Environment 81: 337 - 354.

Skopelitis, D. S., Paranychianakis, N. V., Paschalidis, K. A., Pliakonis, E. D., Delis, I. D. and Yakoumakis, D. I. (2006) Abiotic stress generates ROS that signal expression of anionic glutamate dehydrogenases to form glutamate for proline synthesis in tobacco and grapevine. Plant Cell 18: 2767-2781.

Valentovic, P., Luxova, M., Kolarovic, L. and Gasparikova, O. (2006) Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relations in two maize cultivars. Plant Soil and Environment 52: 186-191.

Valliyodan, B. and H. T. Nguyen, H. T. (2006) Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants. current opinion plant biology 9:189-195.

Yan, Z., Guo, S., Shu, S., Sun, J. and Tezuka, T. (2011) Effects of proline on photosynthesis, root reactive oxygen species (ROS) metabolism in two melon cultivars (*Cucumis melo* L.) under NaCl stress. African Journal of Biotechnology 10:18381-18390.

Zhao, K. F. and Harris, P. J. (1992) The effects of isosmotic salt and water stresses on the growth of halophyte and non-halophyte. Journal of Plant Physiology 139: 761- 763.