دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

"مقاله پژوهشی"

مطالعه تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های لوبیا در پاسخ به محلول‌پاشی برگی اسید سالسیلیک تحت شرایط تنش خشکی

منیژه سبکدست نودهی[۱] و جمشید مرادی[۲]

۱- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، (نویسنده مسوول: sabokdast@ut.ac.ir)
۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۵/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۹
صفحه: ۱۱۷ تا ۱۲۶

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: تنش خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل مهم محدودکننده رشد گیاهان به‌شمار می‌رود. اسید سالیسیلیک یک ترکیب فنلی تولید شده توسط گیاه است که نقش مهمی در تنظیم فرایندهای مختلف گیاه دارد. تحقیقات نشان داده است که کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک می‌تواند تحمل گیاه در برابر برخی تنش‌های غیرزنده از جمله تنش اسمزی، خشکی، شوری، ازن و اشعه ماورای بنفش را افزایش دهد. هدف از اجرای این پژوهش بررسی برهم‌کنش تنش خشکی و محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی در ژنوتیپ‌های لوبیا بود.

مواد و روش‌ها: این پژوهش در سال ۱۴۰۰-۱۳۹۹ به‌صورت فاکتوریل در در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در گلخانه گروه زراعت و اصلاح نباتات واقع در پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران اجرا شد. سطوح مختلف خشکی در دو سطح ۸۰٪ و ۵۰٪ ظرفیت زراعی، فاکتور ژنوتیپ شامل دو ژنوتیپ لوبیای معمولی (ناز و ۱۶۷) برگزیده از آزمون مزرعه‌ای و عامل اسید سالیسیلیک در دو سطح شامل عدم مصرف اسید سالیسیلیک (شاهد) و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک (به‌میزان ۱میلی‌مولار) مورد مطالعه قرار گرفتند. پس از اعمال تیمارها صفاتی مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد تنش خشکی موجب کاهش معنی‌داری در نشت یونی و افزایش معنی‌داری در میزان نشت یونی، پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید در هر دو ژنوتیپ گردید. این تغییرات تحت تنش خشکی در ژنوتیپ ناز به مراتب بیشتر از ژنوتیپ ۱۶۷ بود. محلول‌پاشی برگی اسید سالیسیلیک موجب کاهش میزان مالون دی‌آلدئید، نشت یونی و پراکسید هیدروژن و افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پرولین و محتوای نسبی در تمام سطوح خشکی گردید. کاهش این تغییرات در محلول‌پاشی برگی توسط سالسیلیک اسید در ژنوتیپ ناز به مراتب بیشتر از ژنوتیپ ۱۶۷ بود.

نتیجه‌گیری: نتایج پژوهش نشان داد که محلول‌پاشی برگی اسید سالیسیلیک توانست با حفظ بهتر وضعیت آبی برگ (محتوای نسبی آب برگ گیاه)، حفظ بهتر پایداری غشاء سلولی (با کاهش نشت یونی و مالون دی‌آلدهید)، افزایش بیشتر میزان محلول پرولین و همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، اسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز) در هر دو ژنوتیپ لوبیا تحت شرایط تنش خشکی، باعث کاهش تأثیرات منفی تنش خشکی شده و درنتیجه گیاه را مقاوم‌تر می‌سازد. بنابراین،با توجه به نتایج این پژوهش کاربرد محلول پاشی برگی ۱ میلی مولار سالسیلیک اسید برای کاهش اثرات منفی تنش خشکی در لوبیا پیشنهاد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: استرس خشکی، پایداری غشاء، پرولین، سوپر اکسید دیسموتاز، لوبیا

مقدمه

حبوبات یکی از مهم‌ترین منابع پروتئینی در رژیم غذایی بشر است. میزان پروتئین حبوبات در حدود دو برابر غلات بوده که می‌تواند به‌عنوان مکمل پروتئین غلات در رژیم غذایی جای گیرد. در بین حبوبات، لوبیا از نظر سطح زیر کشت و تولید مقام اول را در جهان دارا است. این محصول مهم اقتصادی همواره تحت اثر تنش‌های محیطی نظیر خشکی قرار دارد، به خصوص اینکه این تنش به صورت انفرادی و برهم‌کنش با سایر تنش‌های محیطی نظیر شوری، گرما و سرما باعث افت شدید عملکرد می‌شود (۳۲). گیاهان پس از درک شرایط تنش، پیام‌هایی را به جریان‌های مختلف متابولیک سلولی می‌فرستند تا ژن‌های دفاعی فعال شوند. مولکول‌های زیادی از جمله سالسیلیک اسید به عنوان انتقال‌دهنده پیام در شرایط تنش معرفی شده‌اند. سالسیلیک اسید ژن‌های دخیل درعکس العمل گیاهان به تنش‌های زیستی و غیرزیستی را القاء می‌کند. آن‌ها از طریق فعال کردن فرآیندهایی شامل بسته شدن روزنه‌ها، تنظیم هدایت آبی و تنظیم فرآیندهای توسعه‌ای در تحمل شرایط تنش موثر هستند (۲۵).

پرهزینه بودن کارهای اصلاحی، وجود تنوع کم ارقام برای هر منطقه و شرایط آب و هوایی، همچنین دخالت ژن‌های متعدد و اثر افزایشی آن‌ها در پاسخ به تنش خشکی باعث می‌شود که اصلاح رقم برای مناطق خشک به کندی انجام شود. بنابراین، استفاده از روش‌های جایگزین مانند کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در شرایط بروز تنش‌های محیطی می‌تواند توجیه پذیر باشد (۴۶). از طرف دیگر، امروزه استفاده از مواد طبیعی که مخاطرات محیطی کمتری نیز دارند در جهت افزایش مقاومت به انواع مختلف تنش‌های محیطی رو به افزایش است که یکی از این مواد طبیعی اسید سالسیلیک است. اسید سالسیلیک در تعداد زیادی از گیاهان در سلول‌های ریشه تولید می‌شود و به‌عنوان ماده‌ای شبه هورمونی، نقش مهمی در رشد و نمو گیاهان ایفا می‌کند (۲۲). اسیدسالسیلیک نقش محوری در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف مانند رشد و نمو گیاه، جذب یون‌ها، فتوسنتز و جوانه‌زنی، رسیدگی و پاسخ‌های دفاعی ایفا می‌کند (۲۹). اسید سالسیلیک ویژگی‌های فیزیولوژیکی و زیست شیمیایی گیاهان تحت تنش‌های غیرزیستی را تنظیم نموده و سبب مقاومت آن‌ها در برابر بیماری‌ها می‌شود (۱۵).

اسیدسالسیلیک به عنوان یک سیگنال مولکولی مهم در نوسانات گیاهی در پاسخ به تنش‌های محیطی شناخته شده است و در تنش‌های غیرزیستی به ویژه تنش خشکی در گیاهان افزایش پیدا می‌کند و سبب افزایش محتوای رنگیزه‌ها

در شرایط تنش می‌شود. اسید سالسیلیک اثر خود را بر فتوسنتز از طریق عوامل روزنه‌ای، رنگیزه‌ها و ساختار کلروپلاست و آنزیم‌های دخیل در مراحل فتوسنتز اعمال می‌کند (۸). گزارش شده است که اسیدسالسیلیک فرایندهای فیزیولوژیکی در گیاهان را تنظیم و عوارض جانبی تنش را کاهش می‌دهد و می‌تواند اثر نامطلوب تنش را بهبود بخشد (۴۵).

در مطالعه صورت گرفته توسط کلوندی و همکاران (۲۱) نشان داده شده که تیمار اسید سالسیلیک در شرایط تنش‌های محیطی از جمله تنش خشکی می‌تواند با حفظ بهتر پتانسیل آب گیاه با تولید محلول‌های سازگار و تنظیم اسمزی، حفظ بازدهی فتوسنتز در سطح بهینه (با جلوگیری از تجزیه رنگدانه‌های فتوسنتزی و تنظیم هدایت روزنه‌ای)، حفظ پایداری غشاء سلولی (با جلوگیری ازپراکسیده شدن لیپیدها) و افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی سلولی (سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی) در گندم باعث رشد بهینه و عملکرد مناسب گیاه گردد. صادقی‌پور و آقایی (۳۶) نیز نتایج مشابهی در ارتباط با پیش تیمار بذر لوبیا با اسید سالسیلیک تحت تنش خشکی بدست آوردند.

با توجه به مطالب عنوان شده، درک مکانیسم‌های مقاومت گیاهان نسبت به این تنش در سطوح مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی می‌تواند راهی در جهت افزایش عملکرد گیاهان در شرایط نامطلوب محیطی باشد. بنابراین در بررسی حاضر سعی شده است تا اثرات محلول پاشی برگی اسید سالسیلیک بر تغییرات فیزیولوژیکی، میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی شامل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، اسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز در دو ژنوتیپ لوبیا تحت شرایط تنش خشکی مورد ارزیابی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثرات محلول پاشی سالسیلیک اسید بر روی برخی صفات فیزیولوژیکی ژنوتیپ‌های لوبیا، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار در گلخانه گروه زراعت و اصلاح نباتات واقع در پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران در سال۱۴۰۰-۱۳۹۹ انجام شد. سه فاکتور مورد مطالعه شامل سالسیلیک اسید در دو سطح صفر و ۱ میلی مولار، خشکی در دو سطح ۸۰٪ و ۴۰٪ ظرفیت زراعی (FC) و فاکتور ژنوتیپ شامل دو ژنوتیپ لوبیای معمولی، ناز (حساس به خشکی) و ۱۶۷ (مقاوم به خشکی) بودند که بر اساس آزمایشات مزرعه‌ای انتخاب شدند (۳۷). بذرها از بانک ژن پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران تهیه شدند. پنج عدد بذر در گلدان‌های استوانه‌ای با قطر دهانه ۲۰ و ارتفاع ۳۰ سانتی متر و حاوی ۱۰ کیلوگرم خاک لومی کشت شد و پس از سبز شدن به سه عدد گیاهچه در هر گلدان کاهش یافت. تیمار تنش خشکی در مرحله چهار برگی براساس درصد رطوبت وزنی اعمال شد. محلول پاشی در مرحله رویشی، چهار هفته پس از کاشت با اسپری دستی بر روی برگ و ساقه گیاه در دو روز متوالی انجام شد. گلدان‌های شاهد با همین میزان آب مقطر محلول پاشی شدند. سپس برداشت نمونه جهت بررسی صفات مورد نظر انجام گرفت.

محتوای نسبی آب برگ[1] تیمارها بر اساس معادله زیر محاسبه شد (۴۳).

$$RWC = (FW- DW)/ (TW - DW) \times 100$$

که در آن FW، TW و DW به ترتیب وزن تر، اشباع و خشک برگ(گرم) است.

برای ارزیابی میزان آسیب غشاء بافت گیاهی تحت تیمار، از آخرین برگ توسعه یافته تعداد پنج عدد پانچ تهیه و در ۲۵ سی سی آب مقطر دی یونیزه قرار گرفت. نمونه‌ها به مدت سه ثانیه بهم زده شد و سپس هدایت الکتریکی آن با EC متر اندازه گیری شد. بعد از گذشت ۱۲ ساعت مجدداً هدایت الکتریکی قرائت و با استفاده از معادله زیر میزان نشت یونی بافت برحسب درصد محاسبه گردید(۱۳).

$$\text{درصد نشت یونی}^{2} = (EC1 / EC2) \times 100$$

میزان پرولین برگ با استفاده از روش بتس و همکاران (۱) اندازه‌گیری و با توجه به منحنی استاندارد پرولین در دستگاه طیف سنج نوری در طول موج ۵۲۰ نانومتر غلظت پرولین تعیین شد. میزان مالون دی‌آلدهید (MDA) به عنوان شاخص پراکسیداسون لیپید بر اساس روش هیت و همکاران (۱۷) انجام گردید. میزان مالون دی‌آلدئید بر حسب نانو مول در گرم وزن ترمحاسبه شد. برای سنجش میزان پراکسید هیدروژن ابتدا مقدار ۰/۱گرم از نمونه را خرد نموده و به آن پنج میلی لیتر محلول اسید تری کلرواستیک یک درصد اضافه شد. نمونه هموژنیزه شده در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژشد. ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی سانتریفوژ شده به ۰/۵ میلی‌لیتر محلول بافرفسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار (pH=7) و یک میلی‌لیتر محلول یک مولار یدید پتاسیم اضافه گردید. محتوی پراکسید هیدروژن با توجه به نمودار استاندارد و تعیین جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۴۲).

برای تهیه عصاره آنزیمی به ۰/۱ گرم نمونه برگی پودر شده یک میلی‌لیتر بافر فسفات سرد با pH =7.6 حاوی EDTA 0.01mM و PVP 1% اضافه شد و به مدت ۲۰ ثانیه ورتکس شدند. نمونه‌ها سپس با دور g ۱۵۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰دقیقه سانتریفیوژ و محلول رویی برای سنجش میزان فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و گایاکول پراکسیداز استفاده شد (۳). برای ارزیابی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) جذب نمونه و کنترل در طول موج ۵۶۰ نانومتر ثبت گردید. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بر مبنای جذب در میلی‌گرم پروتئین بیان شد (۳۸). در پایان، آنالیز واریانس و مقایسه میانگین‌ها به روش توکی، به کمک نرم‌افزارهای SAS 9.2 و Spss 19 انجام گرفت.

نتایج و بحث

محتوای نسبی آب برگ: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده تنش خشکی، ژنوتیپ و

1- Relative Water Content, RWC
2- Electrolyte Leakage Index, ELI

هورمون سالسیلیک اسید و اثرات متقابل ژنوتیپ و تنش و هورمون و تنش در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). نتایج مربوط به اثرات متقابل هورمون وتنش (شکل A ۱) نشان داد با اعمال تنش خشکی محتوای نسبی برگ به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. همچنین مشخص شد تیمار هورمونی به طور معنی‌داری باعث حفظ بیشتر محتوای نسبی آب برگ در تمامی سطوح خشکی گردید. بیشترین افزایش میزان محتوای نسبی آب در حضور هورمون درسطح خشکی ۴۰ درصد زراعی (۲۲ درصد) مشاهده شد (شکل A ۱).

کاهش محتوای نسبی آب و بسته شدن روزنه‌ها اولین تأثیر تنش خشکی بوده که در ساخت مواد فتوسنتزی ایجاد اختلال کرده و موجب کاهش عملکرد دانه می‌شود. سینگ و سینگ (۴۰) در بررسی اثر تنش خشکی بر سورگوم و ذرت در شرایط مزرعه‌ای گزارش کردند که افزایش شدت تنش خشکی سبب کاهش محتوای نسبی آب برگ می‌شود. مهرابیان مقدم و همکاران (۲۸) بیان نمودند اسید سالسیلیک در شرایط تنش خشکی باعث افزایش محتوای آب نسبی در ذرت می‌گردد. به نظر می‌رسد اسید سالیسیلیک از طریق تجمع اسمولیت‌ها در داخل سلول، بالا بردن نسبت ریشه به ساقه، تحریک تولید اسید آبسیزیک و کاهش هدایت روزنه‌ای، رطوبت نسبی گیاه را در شرایط تنش خشکی بهبود می‌بخشد (۱۹).

آسیب سلولی، نشت یونی: غشاءهای بیولوژیکی نخستین هدف بسیاری از تنش‌های غیرزنده هستند. حفظ و ثبات غشاءها تحت تنش آبی، جزء اصلی تحمل خشکی در گیاهان است (۲). پایداری غشاء سلولی و متعاقب آن آسیب به غشاء سلولی در شرایط تنش شاخص فیزیولوژیکی است که به طور گسترده‌ای برای ارزیابی تحمل به خشکی به کار می‌رود (۳۴). نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده تنش خشکی، ژنوتیپ و هورمون سالسیلیک اسید و نیز اثرات متقابل هورمون و تنش خشکی در سطح احتمال یک درصد برای این صفت معنی‌دار بود (جدول۱). همان‌طور که در شکل (B ۱) مشخص است با افزایش شدت تنش خشکی نشت الکترولیت افزایش یافت که بیانگر کاهش پایداری غشاء بود و بیشترین مقدار آن در سطح ۴۰ درصد ظرفیت زراعی (۷۴/۸۵ درصد) ملاحظه شد (شکل B ۱). از طرف دیگر گیاهان محلول پاشی شده با سالسیلیک اسید از نشت یونی کمتری در مقایسه با گیاهان تیمار نشده برخوردار بودند (شکل B ۱) که می‌تواند بیانگرتأثیر این ماده بر روی بهبود وضعیت غشاهای سلولی در برابر آسیب گونه‌های فعال اکسیژن باشد بیشترین کاهش نشت الکترولیت در حضور هورمون در سطح خشکی ۴۰ درصد ظرفیت زراعی(۱۱ درصد) نسبت به کنترل مشاهده شد.در نتایجی مشابه اسیدسالیسیلیک میزان نشت الکترولیت گیاه گوجه فرنگی را ۳۰ درصد کاهش داده بود (۴۰).

مالون دی‌آلدئید: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثرات ساده تنش خشکی، ژنوتیپ و محلول پاشی برگی سالسیلیک اسید و نیز اثرات متقابل آن‌ها بر میزان مالون دی‌آلدهید در ژنوتیپ‌های لوبیا معنی‌دار بود. براساس جدول ۲، میزان مالون دی‌آلدهید برگ در ژنوتیپ‌های لوبیا با اعمال تنش خشکی به طور معنی‌دار افزایش یافت به طوری‌که میزان آن در ژنوتیپ حساس ناز از ۹/۵۵ نانو مول بر گرم وزن تازه در شرایط بدون تنش به ۱۳/۸۹ نانو مول بر گرم وزن تازه در شرایط تنش خشکی شدید (۴۰درصد ظرفیت زراعی) افزایش یافت. با محلول پاشی برگی با سالسیلیک اسید کاهش ۵۵ درصدی در میزان مالون دی‌آلدئید در ژنوتیپ حساس ناز در سطح خشکی ۴۰ درصد ظرفیت زراعی حاصل شد (جدول ۲).

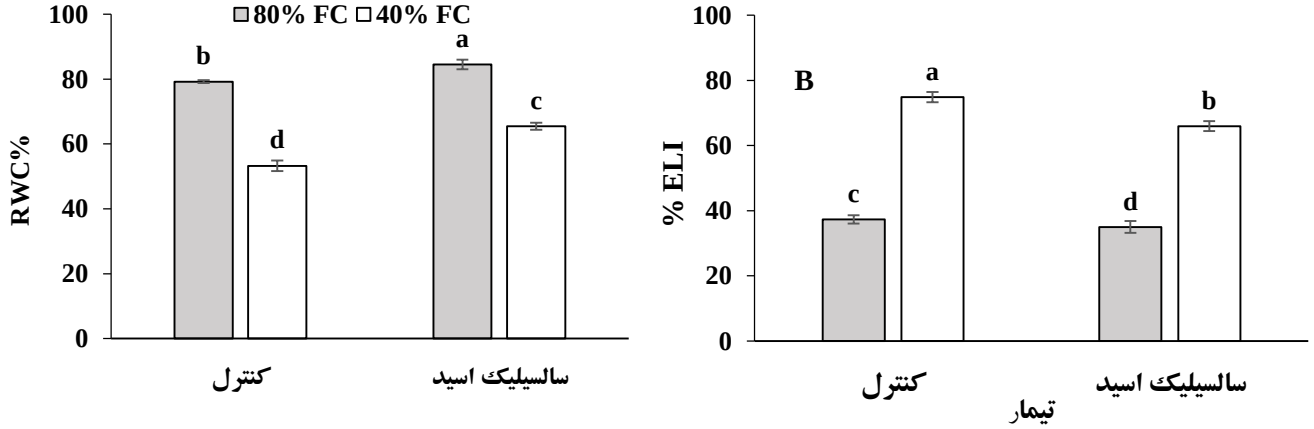
افزایش میزان نشت یونی و مالون دی‌آلدهید در پاسخ به تنش خشکی قبلاً هم توسط دست‌نشان و همکاران (۵) در لوبیا گزارش شده است. تحت تنش خشکی، غشاء سلولی پایداری خود را از دست داده و در صورت قرارگرفتن برگ در یک محیط آبی مواد محلول از سلول‌های آن به بیرون تراوش می‌کند، لذا پایداری غشاء به‌وسیله ارزیابی تراوش یون‌ها از آن ارزیابی می‌شود. به نظر می‌رسد که پایداری غشاء سلولی در تنش‌ها با سنتز پروتئین‌های شوک گرمایی و ویژگی‌های سیستم فتوسنتزی، از جمله آنزیم‌های کلیدی و غشاءهای تیلاکوئیدی مرتبط است. افزایش شدت و مدت زمان تنش خشکی باعث ایجاد اختلال شدیدتر در فعالیت‌های بیولوژیک غشاء سلولی، کاهش سیالیت آن و غیرفعال سازی یا کاهش سرعت پمپ شدن یون‌های غشائی می‌شود، بنابراین بر میزان نشت یون‌ها نیز اضافه می‌شود. تنش خشکی یک سری تغییرات را در فسفولیپیدهای غشاء ایجاد می‌کند و اسیدهای چرب غیراشباع، افزایش می‌یابند. در تنش‌های شدید بعضی از قسمت‌های فسفولیپیدهای دولایه‌ای غشاء، حالت هگزاگونال (شش وجهی) پیدا کرده و ساختار غشاء به ساختار منفذدار با مقاومت کم تبدیل شده و محتویات سلول به بیرون ریخته می‌شود در این شرایط مقدار ماده تری هالوز که وظیفه استحکام غشای سلولی را دارد، کاهش می‌یابد. به طورکلی تنش خشکی باعث افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها و درنهایت کاهش شاخص پایداری غشای سلول در گیاهان مختلف می‌شود (۹،۲۰).

محتوی مالون دی‌آلدهید شاخصی از میزان خسارت تنش اکسیداتیو است. تخریب غشاهای سلول یکی از پیامدهای مستقیم کمبود آب است. به عبارت دیگر بین میزان مالون دی‌آلدهید و شدت تنش خشکی رابطه مستقیمی وجود دارد. افزایش مالون دی‌آلدهید در بافت برگ در شرایط تنش خشکی نشان می‌دهد که سازوکارهای ترمیم سلولی باسازوکارهای تخریب حاصل از کمبود آب که می‌توانند بر تجزیه و بازیابی لیپیدهای غشاء تأثیر بگذارند، همگام نمی‌شوند؛ به‌ویژه در اثر تنش خشکی، پراکسیداسیون گلیکولیپیدهای تیلاکوئید کلروپلاستی و به دنبال آن تولید دی‌آسیل گلیسرول، تری‌آسیل گلسیرول و اسیدهای چرب آزاد اتفاق می‌افتد و درنتیجه میزان مالون دی‌آلدهید در بافت گیاهی افزایش می‌یابد (۱۴،۴۱).

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در دو ژنوتیپ لوبیا تحت تنش خشکی و محلول‌پاشی با اسید سالسیلیک
Table 1. Analysis of variance of the studied traits for two common bean genotypes under drought stress and spraying salicylic acid

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات								
		محتوای نسبی آب RWC	نشت یونی ELI	پرولین PRO	مالون دی آلدئید MDA	سوپر اکسید دسموتاز SOD	کاتالاز CAT	اسکوربات پراکسیداز APX	گایاکول پراکسیداز GPX	آب اکسیژنه H_2O_2
خشکی	۱	۳۸۸۶/۲۷**	۱۴۲۰۲/۳۴**	۱/۶۶**	۲۵۳/۲۳**	۴۸۷۰/۲۵**	۳۳۵/۰۰۲**	۹/۹۶**	۰/۱۹۲*	۶۵۷/۱۲**
ژنوتیپ	۱	۰۰۴ ۲۰۸/**	۰/۰۱۳**	۰/۱**	۳/۰۵**	۴۴۴/۶۹**	۱۲۱/۳۲**	۱۵/۵۵**	۰/۰۷۱۹*	۱۳۹/۴**
هورمون	۱	۱۹۳/۲۴**	۹۲/۲۶**	۰/۰۷**	۱۷/۱۳**	۱۳۹/۷۴**	۴۷۷/۷۳**	۳۲/۲۷**	۰/۰۴۶*	۶/۳۸**
خشکی×ژنوتیپ	۱	۷/۱۳**	۰/۰۱۳^{ns}	۰/۱**	۳/۰۵**	۲۷۷/۹۲**	۱۶۷/۲۸**	۲/۳۷**	۰/۰۱۸*	۴۳۵/۶**
خشکی×هورمون	۱	۹۱/۷۸**	۲۲/۶۸**	۰/۱۶**	۵/۴۵**	۲۴۲/۴۱**	۲۲۸/۴۸**	۳/۹۲۰**	۰/۰۲۱*	۸/۷۰**
ژنوتیپ×هورمون	۱	۱/۴^{ns}	۴/۷۳^{ns}	۰/۰۰۷*	۱/۵۲**	۱۸/۶۲**	۸/۹۷^{ns}	۲/۶۱**	۰/۰۲۵*	۱۵/۴۶**
خشکی× ژنوتیپ× هورمون	۱	۹/۹۱^{ns}	۵/۶۲^{ns}	۰/۰۰۸*	۱/۲۵**	۱۸/۵۲**	۶/۴۹^{ns}	۱/۲۲**	۰/۰۱۰*	۳۰/۸۹**
خطا	۱۶	۳/۵۴	۳/۷۸	۰/۰۰۲	۰/۲	۱/۸۲	۳/۲۶	۰/۰۹۵	۰/۰۰۰۰۸۷	۰/۶۶
ضریب تغییرات(٪)		۲/۶۳	۳/۶۲	۱۰/۶۳	۶/۱	۴/۳۷	۶/۹۵	۷/۴۸	۶/۳۷	۷/۹۹

**، * ،ns: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد می‌باشد



شکل ۱- مقایسه میانگین محتوای آب نسبی (A) و میزان نشت یونی (B) تحت تأثیر تنش خشکی و محلول‌پاشی اسید سالسیلیک
حروف متفاوت در بالای ستون‌ها اختلاف معنی‌دار تیمارها بر اساس آزمون توکی در سطح ۵ درصد را نشان می‌دهد.
Figure 1. Mean comparison of RWC (A) and ELI (B) under drought stress and spraying salicylic acid.
Different letters are plotted based on the Tukey's test at 5 ٪ probability

در بررسی صورت گرفته توسط کرانتو و همکاران (۲۳) مشخص شد که سالسیلیک اسید از افزایش میزان مالون دی‌آلدهید برگ گیاه ذرت تحت تنش خشکی جلوگیری نمود. بیان شده است که سالسیلیک اسید با بالا نگه‌داشتن سطح فعالیت آنتی‌اکسیداتیوی سلول (مانند افزایش حاصل از فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی) مانع اثر ROSهای حاصل از تنش خشکی بر غشاء سلولی گیاه گوجه فرنگی شده و درنتیجه از پراکسیده شدن لیپیدهای غشاء و نشت یونی جلوگیری می‌کنند (۱۶).

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل اسید سالسیلیک (SA) و تنش خشکی در ژنوتیپ‌های لوبیا
Table 2. Means comparison of the interaction salicylic acid (SA) and drought stress in common bean genotype

ژنوتیپ	سطوح خشکی (FC)	اسید سالیک (۱ میلی مولار)	MDA (nmole gr $^{-1}$ FW)	پرولین (µmol gr $^{-1}$ FW)	H_2O_2 (µmolg $^{-1}$)	SOD (U mg^{-1} protein)	GPX (U mg^{-1} protein)	APX (U mg^{-1} protein)
ناز	٪۸۰	-SA	۹/۵۵± ۰/۳۴^{c}	۰/۲۵± ۰/۰۰۵^{f}	۲۰/۶۳± ۰/۶۵^{a}	۴/۸۳± ۰/۴g	۰/۶۷± ۰/۰۲^{e}	۲/۲۶± ۰/۱۵e^{f}
		+ SA	۵/۰۹± ۰/۱^{f}	۰/۳۸± ۰/۰۰۷^{e}	۱۸/۵± ۰/۴۷^{f}	۵/۳± ۰/۳۵^{f}	۰/۸۷± ۰/۰۲۸^{ca}	۳/۱۳± ۰/۲۵^{c}
	٪۴۰	- SA	۱۳/۸۹± ۰/۲۷^{a}	۰/۵± ۰/۰۰۷^{a}	۵۶/۴± ۰/۶۷^{a}	۱۸/۷± ۰/۵۶^{a}	۰/۴۴± ۰/۰۴^{f}	۱/۹۳± ۰/۱^{fg}
		+ SA	۶/۲۱± ۰/۱۷^{e}	۰/۶± ۰/۰۱^{c}	۴۶/۰۳± ۰/۷۶^{b}	۲۲/۳± ۰/۷^{b}	۰/۷۷± ۰/۰۰۹^{a}	۳/۹۶± ۰/۱۲^{b}
۱۶۷	٪۸۰	- SA	۸/۸۶± ۰/۱۴^{a}	۰/۴۳± ۰/۰۰۷^{de}	۱۹/۷± ۰/۴۴^{e}	۶/۳± ۰/۴^{e}	۰/۹۶± ۰/۰۰۷^{c}	۲/۹۴± ۰/۲^{ca}
		+ SA	۴/۵۹± ۰/۲۲^{g}	۰/۷۹± ۰/۰۳^{b}	۱۸/۶۷± ۰/۲۱^{f}	۸/۷± ۰/۳^{a}	۱/۱۵± ۰/۰۳۹^{bc}	۴/۱۱± ۰/۲^{a}
	٪۴۰	- SA	۱۰/۲۱± ۰/۲۳^{b}	۰/۷۴± ۰/۰۰۴^{b}	۴۵/۸±۰/۷۲^{b}	۹/ ۱±۰/۳^{a}	۱/۳۱ ±۰/۰۲۶^{b}	۲/۳۹±۰/۲^{ae}
		+ SA	۵/۴۷± ۰/۲^{f}	۱± ۰/۰۰۷^{a}	۳۱/۱± ۰/۶^{c}	۱۱/۹۶± ۰/۵۸^{c}	۱/۴۷± ۰/۰۳۴^{a}	۳/۹۳± ۰/۰۹^{b}

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک، در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند

پرولین: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثرات ساده تنش خشکی، ژنوتیپ و محلول پاشی برگی سالسیلیک اسید و نیز اثرات متقابل آن‌ها بر میزان پرولین در ژنوتیپ‌های لوبیا معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (جدول۲) نشان داد با افزایش تنش خشکی میزان پرولین افزایش یافت. البته این افزایش در رقم ناز نسبت به رقم ۱۶۷ به طور قابل توجهی بیشتر بود. همچنین مشخص شد محلول‌پاشی سالسیلیک اسید سبب حفظ بیشتر پرولین در تمامی سطوح تنش خشکی گردید. بیشترین میزان پرولین (۱ میگروگرم بر گرم وزن تازه برگ) در ژنوتیپ ۱۶۷ درسطح خشکی ۴۰ درصد ظرفیت زراعی و محلول‌پاشی سالسیلیک اسید حاصل شد (جدول۲). مطابق با نتایج بررسی حاضر پروین و همکاران (۳۳) در گندم و مراد شاهی و همکاران (۲۹) در کلزا نشان دادند که اعمال تنش خشکی باعث افزایش معنی‌دار میزان پرولین گردید. پرولین یک اسید آمینهٔ قابل حل در آب است که دو نقش اساسی در شرایط تنش دارد نخست اینکه افزایش سنتز و تجمع آن پاسخ متابولیکی گیاه تحت تنش است (۲۶). همچنین افزایش پرولین محلول در شرایط تنش نشانهٔ سازگاری و افزایش مقاومت گیاه است که با کمک در تنظیم روابط آبی درون سلولی مخزن نیتروژن پتانسیل اسمزی سیتوپلاسم را کاهش می‌دهد و همچنین غشاءها و پروتئین‌ها را از آسیب غلظت‌های بالای گونه‌های فعال اکسیژن محافظت می‌کند (۲۶). سنتز پرولین در برگ‌ها تحت شرایط پتانسیل آبی کم، ناشی از ترکیب افزایش بیوسنتز و اکسیداسیون آهسته در میتوکندری است (۱۰). همچنین به پرولین آزاد برخی نقش‌های فیزیولوژیکی از قبیل تثبیت ماکرومولکول‌ها، مخزنی برای عامل احیاءکنندهٔ اضافی و ذخیرهٔ کربن و نیتروژن برای استفاده پس از ترمیم کمبود آب نسبت داده شده است (۲۷). پرولین در ادامهٔ مسیر متابولیسم نیتروژن ساخته می‌شود و منبع مهم نیتروژن در شرایط تنش به شمار می‌رود. با توجه به نقش اسیدسالیسیلیک در توسعهٔ ریشه و متابولیسم نیتروژن، می‌توان افزایش تجمع پرولین را از آثار اسیدسالسیلیک در نظر گرفت (۷). همچنین در مطالعه نازار و همکاران (۳۱) گزارش شد که تحت شرایط تنش خشکی سالسیلیک اسید با القاء آنزیم سنتزکننده پرولین و مهار آنزیم سنتزکننده اتیلن، آمینوسیکلوپروپان کربوکسیلیک اسید ACC سنتتاز باعث افزایش تولید پرولین در خردل می‌شود که با نتایج حاضر مطابقت دارد.

هیدروژن پراکسید: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثرات ساده تنش خشکی، ژنوتیپ و محلول‌پاشی برگی سالسیلیک اسید و نیز اثرات متقابل آن‌ها بر میزان هیدروژن پراکسید در ژنوتیپ‌های لوبیا معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین‌داده‌ها (جدول ۲) نشان داد با افزایش تنش خشکی میزان هیدروژن پراکسید در هر دو ژنوتیپ افزایش یافت اما میزان افزایش در ژنوتیپ ناز به مراتب بیشتر از ژنوتیپ ۱۶۷ بود. محلول پاشی برگی با سالسیلیک اسید توانست به طور معنی‌داری از افزایش هیدوژژن پراکسید برگ جلوگیری نماید. کمترین میزان هیدروژن پراکسید (۳۱/۱ میکرومول بر گرم) در ژنوتیپ ۱۶۷ در سطح خشکی۴۰ درصد ظرفیت زراعی و محلول پاشی با اسید سالسیلیک حاصل شد (جدول ۲).

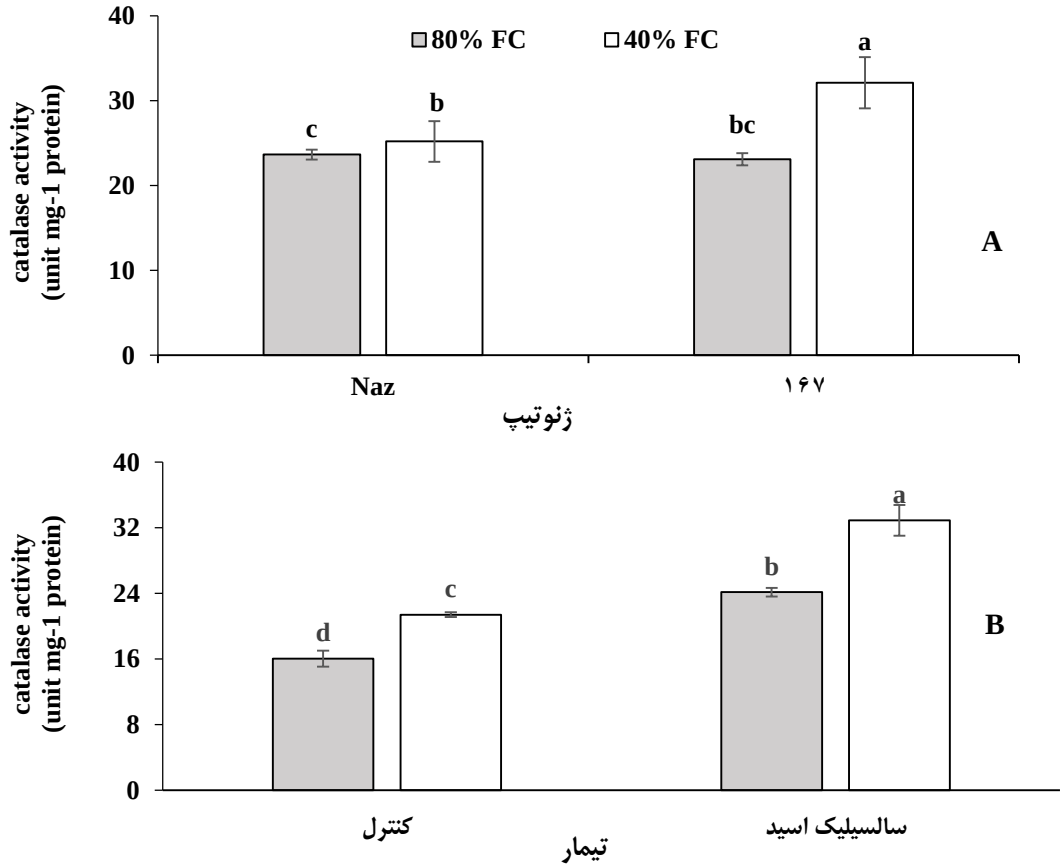
افزایش مقدار هیدروژن پراکسید تحت شرایط تنش خشکی نتیجه اختلال در تعادل تولید رادیکال‌های آزاد و فعالیت آنتی اکسیدانی است. تیمار سالیسیلیک اسید با افزایش فعالیت پراکسیداز و کاتالاز ریشه موجب کاهش مقدار پراکسیداسیون لیپیدها و مقدار هیدروژن پراکسید و حفاظت بیشتر از غشاءهای سلولی و رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌شود که در جو گزارش شده است (۱۲).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

کاتالاز: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده تنش خشکی، ژنوتیپ و هورمون سالسیلیک اسید و نیز اثرات متقابل هورمون و تنش خشکی، هورمون و ژنوتیپ در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۱). همان‌طور که در (شکل ۲) مشخص است با اعمال تنش خشکی فعالیت آنزیم کاتالاز به طور معنی‌داری افزایش یافت البته در ژنوتیپ ۱۶۷ این افزایش (۳۹ درصد) بیشتر از ژنوتیپ ناز بود. همچنین بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (۳۲/۹ جذب در میلی‌گرم پروتئین) در ژنوتیپ ۱۶۷ در سطح خشکی ۴۰ درصد طرفیت زراعی و محلول پاشی با سالسیلیک اسید (۱ میلی‌مولار) حاصل شد.

سوپر اکسیددیسموتاز (SOD): مطابق جدول ۱، اثرات ساده و اثرات متقابل و سه گانه تنش خشکی، ژنوتیپ و محلول‌پاشی برگی سالسیلیک اسید بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید

دیسموتاز معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز برگ در هر دو ژنوتیپ‌های لوبیا گردید (جدول ۲). این افزایش در ژنوتیپ ناز در سطح تنش ۴۰ درصد ظرفیت زراعی بیشتر از ژنوتیپ ۱۶۷ بود. یشترین میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (۲۳/۳ جذب در میلی‌گرم پروتئین) در ژنوتیپ ناز در سطح خشکی ۴۰ درصد ظرفیت زراعی و محلول پاشی با اسید سالسیلیک (۱ میلی‌مولار) حاصل شد (جدول ۲).



شکل ۲- اثر متقابل ژنوتیپ و تنش خشکی (A) سالسیلیک اسید و تنش خشکی (B) بر فعالیت آنزیم کاتالاز
Figure 2. Interaction between genotype and drought stress (A) salicylic acid and drought stress (B) on catalase activity

آسکوربات پراکسیداز: مشخص شد که فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تأثیر اثرات ساده و همچنین اثرات متقابل تنش خشکی و محلول‌پاشی برگی سالسیلیک اسید قرار گرفت (جدول۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز برگ در هر دو ژنوتیپ‌های لوبیا گردید (جدول ۲). این افزایش در ژنوتیپ ناز در سطح تنش ۴۰ درصد ظرفیت زراعی بیشتر از ژنوتیپ ۱۶۷ بود. همچنین مشخص شد که محلول‌پاشی برگی سالسیلیک اسید توانست میزان فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز را در ژنوتیپ ناز به میزان ۱۰۵ درصد در سطح خشکی ۴۰ درصد ظرفیت زراعی افزایش دهد (جدول ۲).

گایاکول پراکسیداز: مطابق جدول ۱، اثرات ساده و اثرات متقابل و سه گانه تنش خشکی، ژنوتیپ و محلول‌پاشی برگی سالسیلیک اسید بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بر خلاف ژنوتیپ ۱۶۷ تنش خشکی باعث کاهش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در ژنونیپ ناز شد (جدول ۲). محلول‌پاشی برگی سالسیلیک اسید توانست میزان فعالیت آنزیم گایاکول پر اکسیداز را در ژنوتیپ ناز به میزان ۷۵ درصد در سطح خشکی ۴۰ درصد ظرفیت زراعی افزایش دهد (جدول ۲). هم‌راستا با نتایج بررسی حاضر رضای نیا و همکاران (۳۵) بیان نمودند که فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز در طول تنش خشکی در

نخود افزایش پیدا کرد. تنش‌های محیطی تثبیت CO_2 را در گیاهان محدود می‌کند و به دنبال آن تولید $NADP^+$ توسط چرخه کلوین کاهش می‌یابد، درنتیجه به دلیل برانگیختگی زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی، رادیکال‌های اکسیژن تنها و سوپراکسید، تولید می‌شود (۶). تنش خشکی موجب ایجاد ROSهایی مانند سوپراکسید هیدروژن، رادیکال هیدروکسید و اکسیژن می‌شود. این اکسیژن‌های فعال شده سیتوزولی، موجب اختلال در متابولیسم از طریق خسارت اکسیداتیو بر لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود و فعالیت آنزیم‌های اکسیدانت مانند کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز را تحت تنش افزایش می‌دهد. سطح ROS، آغازگرپاسخ‌های سیگنالی مانند فعال سازی آنزیم‌ها، بیان ژن، مرگ برنامه‌ریزی شده سلول و آسیب‌های سلولی است. کاتالاز از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مهم در پراکسی‌زوم‌ها می‌باشد که H_2O_2 را به آب تبدیل می‌کند (۱۴). از آنجایی که کاتالاز، H_2O_2 را بدون هیچ نیروی احیایی تجزیه می‌کند، آنزیم را برای حذف رادیکال H_2O_2 در گیاهان بسیار مناسب می‌سازد. کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز کارآمدترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان هستند. افزایش فعالیت این آنزیم‌ها باعث افزایش مقاومت به تنش‌ها از جمله تنش خشکی می‌شود. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز اولین خط دفاعی در مقابل ROS و پالاینده اصلی رادیکال سوپراکسید است. این آنزیم نقش کلیدی در تنظیم غلظت رادیکال سوپراکسید و پراکسید دارد. تجمع رادیکال‌های آزاد به دلیل کاهش مکانیسم‌ها یا حذف‌کننده آن‌ها صورت می‌گیرد. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز رادیکال‌های سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن و اکسیژن تبدیل می‌کند و به این ترتیب غلظت سوپراکسید را در حد پایین نگه می‌دارد. افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در شرایط تنش‌های زیستی به علت افزایش تولید رادیکال سوپراکسید در این شرایط است که باعث فعال شدن مسیرهای انتقال پیام در سلول می‌شود و در نهایت بیان ژن‌های رمزکننده آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را افزایش می‌دهد (۲۴). بنابراین افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در شرایط تنش منجر به تعدیل قابل توجه رادیکال سوپراکسید می‌شود تا خسارت‌های ناشی از آن نیز کمتر شود (۹) که با نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر همخوانی دارد.

در آزمایش صورت گرفته توسط گرامی و همکاران (۱۱) در گیاه رازیانه مشخص شد که تیمار سالسیلیک اسید باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز گردید که با نتایج بررسی حاضر همخوانی دارد. همچنین، چاوشی و همکاران (۴) گزارش نمودند که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز در اثر تیمار سالسیلیک اسید در گیاه گلرنگ تحت تنش خشکی افزایش یافت. براساس شواهد موجود سالسیلیک اسید به‌عنوان مولکول هشداردهنده در شرایط نامساعد محیطی فعالیت می‌کند و می‌تواند باعث بکار انداختن سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاه گردد (۱۷).

نتیجه‌گیری کلی

در بررسی حاضر مشخص شد که تنش خشکی باعث کاهش محتوای نسبی آب و کلروفیل کل برگ لوبیا گردید. از طرف دیگر، میزان نشت یونی، مالون دی‌آلدهید، پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به طور معنی‌داری در پاسخ به تنش خشکی افزایش یافت. این تغییرات در ژنوتیپ ناز به مراتب بیشتر از ژنوتیپ ۱۶۷ بود. در این میان، محلول‌پاشی برگی سالسیلیک توانست با حفظ بهتر وضعیت آبی برگ (محتوای نسبی آب برگ گیاه)، حفظ بهتر پایداری غشاء سلولی (با کاهش نشت یونی و مالون دی‌آلدهید)، افزایش بیشتر میزان محلول پرولین و همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، اسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز) در هر دو ژنوتیپ لوبیا تحت شرایط تنش خشکی، باعث کاهش تأثیرات منفی تنش خشکی شده و در نتیجه گیاه را مقاوم‌تر می‌سازد. بنابراین، با توجه به نتایج این پژوهش کاربرد محلول پاشی برگی ۱ میلی‌مولار سالسیلیک اسید برای کاهش اثرات منفی تنش خشکی در لوبیا پیشنهاد می‌شود.

منابع

1. Bates, L.S., R.P. Waldren and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for waterstress studies. Plant and Soil, 39: 205-207.
2. Bajji, M., J. Kinet and S. Lutts. 2002. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stres tolerance test in durum wheat. Plant Growth Regulation. 36: 61-70.
3. Beauchamp, C.O. and I. Fridovich 1971. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Annual Review of Biochemistry, 44: 276-287.
4. Chavoushi, M., F. Najafi, A. Salimi and S.A.H. Angaji. 2019. Effects of salicylic acid on antioxidant enzymes activities of safflower under drought stress Journal of Plant Process and Function, 33(8): 263-275.
5. Dastneshan, S., M.R. Bihamta, A. Abbasi and M. Sabokdast 2019. The Effect of Different Levels of Drought Stress on some Physiological Traits and Chlorophyll Fluorescence of Bean Genotypes (Phaseolus Vulgaris L.). Journal of Crop Breeding, 11(31): 92-104 (In Persian).
6. Dmitrieva, V.A., E.V. Tyutereva and O.V. Voitsekhovskaja 2020. Singlet oxygen in plants: Generation, detection, and signaling roles. International Journal of Molecular Sciences, 21: 3237.

7. Egert, M. and M. Tevini. 2002. Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). Enviromental Experimental Botany, 48: 43-49.
8. Ghai, N., R.C Setia and N. Setia. 2002. Effect of paclobutrazol and salicylic acid on chlorophyll content, hill activity and yield components in Brescia napus L. (cv. GSL-1). Phytomorphology, 52: 83-87.
9. Gupta, A., A. Rico-Medina and A.I. Cano-Delgado. 2020. The physiology of plant responses to drought. Science, 368: 266-269.
10. Gomes, F.P., M.A. Oliva, M.S. Mielke, A.A.F. Almeida and L.A. Aquino. 2010. Osmotic adjustment, proline accumulation and membrane stability in leaves of *Cocos nuciera* submitted to drought stress. Scientia Horticulturae, 126: 379-384.
11. Gerami, M., V. Akbarpour and A. Mohammadian. 2019. The Effect of Putrescine and Salicylic Acid on Physiological Characteristics and Antioxidant in Stevia Rebaudiana B. Under Salinity Stress. Journal of Crop Breeding, 11(29): 40-54 (In Persian).
12. Habibi, G. 2012. Exogenous salicylicacid alleviates oxidative damageof barley plants under drought stress. Acta Biologica Szegediensis, 56: 57-63.
13. Hamed, K.B., A. Castagna, E. Salem, A. Ranieri and C. Abdelly. 2007. Sea fennel (*Crithmum maritimum* l.) under salinity conditions: a comparison of leaf and root antioxidant responses. Plant Growth Regulation, 53(3): 185-194.
14. Hasanuzzaman, M., M.B. Bhuyan, F. Zulfiqar, A. Raza, S.M. Ohsin, J.A. Mahmud, M. Fujita and V. otopoulos. 2020. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. Antioxidants, 9: 681.
15. Hashempour, A., M. Ghasemzhad, G. Fotouhi and M.M. Sohani. 2014. The physiological and biochemical response to freezing stress olive plants treated with salicylic acid. Russian Journal. Plant Physiology, 61(4): 443-450.
16. Hayat, S., S.A. Hasan, Q. Fariduddin and A. Ahmad. 2008. Growth of tomato (*Lycopersicom esculentum*) in response to salicylic acid under water stress. Journal of Plant Interactions, 3(4): 297-304.
17. Heath R.L. and L. Parker. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics, 125: 189-198.
18. Hussain, I., R. Rasheed, M. Arslan, A. Muhammad Mohsin, S. M.A. Shah, A. Rashid, M. Akram, J. Nisar and M. Riaz. 2020. Foliar Applied Acetylsalicylic Acid Induced Growth and Key-Biochemical Changes in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Under Drought Stress. Dose-Response, 18(4): 1-13.
19. Kadioglu, A., N. Saruhan, A. Saglam, R. Terzi and T. Acet. 2011. Exogenous salicylic acid alleviates effects of long term drought stress and delays leaf rolling by inducing drought stress and delays leaf rolling by inducing antioxidant system. Plant. Growth. Regulation, 64: 27-37.
20. Kapoor, D., S. Bhardwaj, M. Landi, A. Sharma, M. Ramakrishnan and A. Sharma. 2020. The impact of drought in plant metabolism: How to exploit tolerance mechanisms to increase crop production. Applied Sciences, 10: 5692.
21. Khalvandi, M., A. Siosemardeh, E. Roohi and S. Keramati. 2021. Salicylic acid alleviated the effect of drought stress on photosynthetic characteristics and leaf protein pattern in winter wheat. Heliyon, 7: e05908.
22. Khan, M.I., M. Fatma, T.S. Per, N.A. Anjum and N.A. Khan. 2015. Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. Plant Science Journal, 6: 462.
23. Krantev, A., R. Yordanova, T. Janda, Szalai and L. Popova 2008. Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. Journal of Plant Physiology, 165: 920-931.
24. Laxa, M.M. Liebthal, W. Telman, K. Chibani and K.J. Dietz. 2019. The Role of the Plant Antioxidant System in Drought Tolerance *Antioxidants*, 8(94): 1-32.
25. Mafakheri A., A. Siosemardeh, B. Bahramnejad, P.C. Struik and Y. Sohrabi. 2011. Effect of drought stress and subsequent recovery on protein, carbohydrate contents, catalaseand peroxidase activities in three chickpeas (*Cicer arietinum* L.) cultivars. Australian Journal of Crop Scince, 5: 1255-1260.
26. Manivannan, P., C.A. Jaleel, B. Sankar, A. Kishorekumar, R. Somasundaram, G.M.A Lakshmanan and R. Panneerselvam. 2007. Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. Colloids Surfaces B Biointerfaces, 59: 141-149.
27. Maggio, A., S. Miyazaki, P. Veronese, T. Fujita, J.I. Ibeas and B. Damsz. 2002. Does proline accumulation play an active role in stress-induced growth reduction? Plant Journal, 31: 699-712.
28. Mehrabian, N., M. Arvin, R. Khajavinejad and K. Maghsoodi. 2011. Effect of salicylic acid on growth and forage and grain yield of maize under drought stress. Seed Plant Improvment Journal, 27: 41-55.
29. Miura, K. and Y. Tada. 2014.Regulation of water, salinity and cold stress responses by salicylic acid. Plant Science, 5: 410.
30. Moradshahi, A., B. Salehi Eskandari and B. Kholdbarin. 2004. Physiological responses of rape (*Brassica napus*) to drought stress in vitro conditions. Iranian Journal of Science and Technology, 28 (A1): 181 (In Persian).

31. Nazar, R., S. Umar, N.A. Khan and O. Sareer. 2015. Salicylic acid supplementation improves photosynthesis and growth in mustard through changes in proline accumulation and ethylene formation under drought stress. South African Journal Botany, 98: 84-94.
32. Pfeiffer, W.H. and B. McClafferty. 2007. HarvestPlus: Breeding crops for better nutrition. Crop Science, 47(S3): S88-S10.
33. Parveen, A.M.A. Ashraf, I. Hussain, S. Perveen, R. Rasheed, Q. Mahmood, S. Hussain, A. Ditta, A. Hashem, A.B. F. Arjani, A.A. Alqarawi and E.F.A. Allah. 2021. Promotion of Growth and Physiological Characteristics in Water-Stressed Triticum aestivum in Relation to Foliar-Application of Salicylic Acid. Water, 13(1316): 1-17.
34. Premachandra, G.S., H. Saneoka, M. Kanaya and S. Ogata 1991. Cell membrane stability and leaf surface wax content as affected by increasing water deficits in maize. Journal of Experiment Botany. 42: 167-171.
35. Rezaeinia, M., M.R. Bihamta, S.A. Peighambari and A. Abbasi. 2019. Effect of Drought Stress on Antioxidant Enzymes Activities and Some Physiological Traits in Chickpea (*Cicer Arietinum* L.). Journal of Crop Breeding, 11(30): 11-22 (In Persian).
36. Sadeghipour, O. and P. Aghaei. 2012. Impact of exogenous salicylic acid application on some traits of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under water stress conditions. International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 4(11): 685-690.
37. Sabokdast, M., M. Dashtaki and Y. Sassani. 2019. Evaluation of responses of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes to drought stress using different stress tolerance indices. Iranian Journal Field Crop Science, 50: 1-9.
38. Sheng, Wu, Q., Y. Ning Zou and R. Xue Xia 2006. Effect of water stress and arbuscular mycorrhizal fungi on reactiveoxygen metabolism and antioxidant production by citrus (*Citrus tangerine*) roots. Europian Journal of Soil Biology, 42: 166-172.
39. Singh, B.R. and B.P. Singh 1995.Agronomic and physiological responses of sorghum, maize and pearl millet to irrigation. Field. Crop. Research, 42: 57-67.
40. Smirnoff, N. 1993. The role of active oxygen in response of plants to water deficit and desiccation. New Phytologist, 125: 27-58.
41. Stevens J., T. Senaratna and K. Sivasithamparam. 2006. Salicylic Acid Induces Salinity Tolerance in Tomato (Lycopersicon esculentum cv. Roma): Associated Changes in Gas Exchange, Water Relations and Membrane Stabilisation. Journal of Plant Growth Regulation, 49: 77-83.
42. Velikova, V., I. Yordanov and A. Edreva. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. Plant Science, 151: 59-66.
43. Wahbi, S., R. Wakrim, B. Aganchich, H. Tahi and R. Serraj. 2005. Effects of partial rootzone drying (PRD) on adultolive tree (*Olea europaea*) in field conditions under arid climate; I. Physiological and agronomic responses. Agriculture, Ecosystems and Environment, 106: 289-301.
44. Yavas, I. and A. Unay. 2016. Effects of zinc and salicylic acid on wheat under drought stress. Journal of Animal and Plant Science, 26(4): 1012-101.
45. Yazdanpanah, S., A. Baghizadeh and F. Abbassi. 2011. The interaction between drought stress and salicylic and ascorbic acids on some biochemical characteristics of Satureja hortensis. African Journal of Agronomy, 6: 798-807.

Study of the Physiological and Biochemical Changes of Common Bean in Response to Foliar Application of Salcylic Acid under Drought Stress Conditions

Manijeh Sabokdast Nodehi[1] and Jamshid Moradi[2]

1- Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Collage of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, (Corresponding author: sabokdast@ut.ac.ir)
2- Gratuated M.Sc. Student, of Department of Agronomy and Plant Breeding, Collage of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran
Received: 9 August, 2021 Accepted: 30 Novmber, 2021

Extended Abstract

Introduction and Objective: Drought stress is one of the most important factors limiting plant growth. Salicylic acid is a phenolic compound produced by plants that plays an important role in regulating various plant processes. Research has shown that external application of salicylic acid can increase plant tolerance to some abiotic stresses such as osmotic stress, drought, salinity, ozone and ultraviolet rays. The aim of this study was to investigate the interaction of drought stress and foliar application of salicylic acid on some physiological and biochemical parameters in bean genotypes.

Material and Methods: To investigate the effect of salicylic acid on the physiological and biochemical trait of bean genotypes under drought stress, a factorial experiment based on randomized complete block design with three replicates was performed at 2020 in the research greenhouse of Agronomy and Plant Breeding, of the College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran in Karaj. The treatments included two genotyps of common bean (167drought tolerant and Naz drought sensitive), two levels of drought stress, 80% of field capacity (as control), and 40% of field capacity (severe drought stress) as well as two concentrations of salicylic acid 0, 1 mM. After applying the treatments, various physiological and biochemical traits were evaluated.

Results: The results showed that drought stress significantly reduced ion leakage and significantly increased ion leakage, hydrogen peroxide and malondialdehyde in both genotypes. These changes under drought stress were far greater in Naz genotype than in genotype 167. Foliar application of salicylic acid reduced the amount of malondialdehyde, ion leakage and hydrogen peroxide and increased the activity of antioxidant enzymes, proline and relative content at all drought levels. The reduction of these changes in leaf foliar application by salicylic acid in Naz genotype was much greater than genotype 167.

Conclusion: The results showed that that foliar application of salicylic acid was able to maintain the leaf water status (relative leaf water content), maintain cell membrane stability (by reducing ion and malondialdehyde leakage), increase the amount of compatible solutions (proline) as well as increasing the Antioxidant enzymes activity (superoxide dismutase, catalase, ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase) in both bean genotypes and thus, reduce the negative effects of drought stress and make the plant more resistant. Therefore, the foliar application of 1 mM salicylic acid can be used to reduce the destructive effects of drought stress on bean genotypes.

Keywords: Common bean, Drought stress, Membrane stability, Prolins, Superoxide dismutase