



## تأثیر روش‌های کاربرد و غلظت‌های مختلف ۵- آمینولولینیک اسید بر القای مقاومت به سرما در گیاهچه‌های سویا

الهه منافی<sup>۱</sup>، \*سیدعلی محمد مدرس ثانوی<sup>۲</sup>، مجید آقا علیخانی<sup>۳</sup> و سیدمرتضی مدرس وامقی<sup>۴</sup>  
<sup>۱</sup>دانشجوی کارشناسی ارشد، استاد و استادیار گروه زراعت، دانشگاه تربیت مدرس،  
<sup>۲</sup>کارشناس گروه بیماری‌شناسی، دانشگاه تربیت مدرس  
تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۶؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۳/۱۲

### چکیده

ترکیب شیمیایی ۵- آمینولولینیک اسید در غلظت‌های بالا اثرات علف‌کشی دارد، اما در غلظت‌های پایین‌تر مانند تنظیم‌کننده‌های رشد عمل می‌کند و باعث ایجاد مقاومت به تنش‌های گوناگون از جمله سرما و شوری می‌گردد. بنابراین بررسی کاربرد خارجی ۵- آمینولولینیک اسید در القای مقاومت به سرما در گیاهچه‌های سویا (*Glycine max L.*) در دانشگاه تربیت مدرس در سال‌های ۹۰-۱۳۸۹ به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار صورت گرفت. ۵- آمینولولینیک اسید در غلظت‌های (۰، ۰/۳، ۰/۶ و ۰/۹ میلی‌مولار) از طریق دو روش پیش‌تیمار کردن بذر و محلول‌پاشی در مرحله ۴ برگگی به کار برده شد. آزمایش در ۲ بخش شامل اعمال تنش و بدون تنش سرما (به ترتیب  $T_1=10$  و  $T_2=25$  درجه سانتی‌گراد) صورت گرفت. اعمال تنش سرما (۱۰ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۷۲ ساعت، پس از پیش‌تیمار کردن بذر و محلول‌پاشی صورت گرفت. تنش سرما محتوی نسبی آب برگ، کلروفیل، هدایت روزنه‌ای و فتوسنتز را کاهش داد ولی تجمع پرولین و نشت الکترولیت افزایش یافت. ۵- آمینولولینیک اسید در غلظت ۰/۳ میلی‌مولار با افزایش کلروفیل، هدایت روزنه‌ای، محتوی نسبی آب برگ و فتوسنتز و به دنبال آن افزایش در ارتفاع، وزن تر و خشک، گیاه را در برابر تنش سرما حفظ کرد. کاربرد این ماده فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز را به‌ویژه در شرایط تنش سرما افزایش داد. در اکثر صفات محلول‌پاشی ۵- آمینولولینیک اسید به پیش‌تیمار کردن بذر، برتری داشت. به عبارتی کاربرد خارجی شبه‌هورمون ۵- آمینولولینیک اسید در کاهش صدمات حاصل از سرما بدون هیچ‌گونه اثرات کاهشی روی رشد گیاه سویا مؤثر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: ۵- آمینولولینیک اسید، پیش‌تیمار کردن بذر، تنش سرما، سویا، محلول‌پاشی

\*مسئول مکاتبه: [modaresa@modares.ac.ir](mailto:modaresa@modares.ac.ir)

## مقدمه

بیش تر گیاهان حتی در محدوده عادات رشدی طبیعی خود در معرض تغییرات دمایی، شامل تغییرات فصلی و دوره‌ای قرار می‌گیرند که ممکن است تنفس، فتوسنتز و رشد آن‌ها را محدود نماید. از صدمات حاصل از تنش سرما می‌توان آسیب به غشاهای سلولی (زینگ و راجاشکار، ۲۰۰۱)، کاهش تنفس سلولی و افزایش گونه‌های فعال اکسیژن، افزایش محتوی آبسیزیک اسید (نایار و همکاران، ۲۰۰۵) را نام برد. سویا گیاهی حساس به سرما، محتاج گرما و نور فراوان است. حداقل دما برای رشد آن ۱۰ درجه سانتی‌گراد، دمای کشنده ۲- درجه سانتی‌گراد و دمای مطلوب رشد حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. حساسیت گیاه سویا به دماهای شبانه زیر ۱۵ درجه سانتی‌گراد باعث کاهش رشد، توسعه و عملکرد این گیاه می‌گردد (ون‌هیردن و همکاران، ۲۰۰۳). دمای حداقل ۸ درجه سانتی‌گراد برای یک شب، جهت جلوگیری از تشکیل غلاف کافی می‌باشد. در نواحی نیمه‌سرد و نیز سرد، تأخیر در کاشت، موجب بر خورد دوران رسیدگی دانه به سرمای آخر فصل می‌گردد، که نه تنها باعث نقصان وزن دانه و درصد روغن آن می‌شود، بلکه خطر سرمازدگی محصول را افزایش می‌دهد (خواجه‌پور، ۲۰۰۶).

۵- آمینولولینیک اسید ترکیبی کلیدی برای ساخت مواد پورفیرینی مانند کلروفیل، هم و فیتوکروم‌ها می‌باشد (ونگ و همکاران، ۲۰۰۴). از مؤثرترین صفات متأثر از سرما، کاهش میزان کلروفیل و فتوسنتز می‌باشد (کوک و همکاران، ۲۰۱۰). کارایی این ماده به میزان زیادی به غلظت و زمان کاربرد آن بستگی دارد، برای مثال در غلظت‌های بالا (بیش از ۵ میلی‌مولار)، خاصیت علف‌کشی و در غلظت‌های پایین (کم‌تر از ۳ میلی‌مولار)، باعث افزایش مقاومت به سرما (کورکمز و کورکمز، ۲۰۰۹) و شوری (ژنگ و همکاران، ۲۰۰۶) در گیاهان می‌شود. پاسخ گیاهان به دماهای پایین و یا بالا می‌تواند با مسدود کردن مسیر ساخت ۵- آمینولولینیک اسید در ارتباط باشد، چرا که بیوستز این ماده، یک مسیر وابسته به دما می‌باشد. پژوهش‌هایی برای بررسی کاربرد خارجی این ماده به‌عنوان بهبوددهنده رشد و عملکرد گیاهان مختلف، صورت گرفته است. برای مثال، کاربرد ۵- آمینولولینیک اسید در غلظت‌های پایین به‌طور برجسته عملکرد جو، سیر، سیب‌زمینی، لوبیا و تربچه را افزایش می‌دهد و یا کاربرد آن بیوستز کلروفیل و ظرفیت فتوسنتزی را در کاهوی چینی افزایش داد (ممون‌امبرین و همکاران، ۲۰۰۹). با توجه به حساسیت گیاه سویا به دماهای پایین و عدم کاشت آن در مناطق با سرماهای دیررس بهاره و فصل رشد کوتاه‌تر به دلیل کاهش عملکرد، یافتن راهکارهایی برای ایجاد مقاومت به سرما در گیاه سویا برای کاشت آن در این‌گونه مناطق اهمیت بالایی دارد. یافتن

غلظت مناسب از ۵- آمینولولینیک اسید و همچنین مقایسه میان دو روش کاربرد (بذر مال و محلول پاشی) این ماده برای افزایش مقاومت به سرما در گیاه سویا از جمله اهداف مورد نظر در این پژوهش بوده است.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس در سال‌های ۹۰-۱۳۸۹ صورت گرفت. پژوهش به صورت فاکتوریل سه عاملی (دما، سطوح غلظت و روش کاربرد) در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با ۳ تکرار اجرا گردید. آزمایش در ۲ بخش شامل اعمال تنش و بدون تنش سرما (به ترتیب  $T_1=10$  و  $T_2=25$  درجه سانتی‌گراد) صورت گرفت. روش کاربرد شامل بذر مال ( $P_1$ ) و محلول پاشی ( $P_2$ ) و سطوح غلظت ۵- آمینولولینیک اسید شامل ( $C_1=0$ ،  $C_2=0.3$ ،  $C_3=0.6$  میکرومول) بودند. پژوهش در دستگاه اتافک رشد مدل STC1300، با طول روز و شب، ۱۶ و ۸ ساعت و دمای ۲۸ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد به ترتیب برای شب و روز، با شدت نور ۱۷۵ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه، انجام شد. محیط کشت گلدان‌هایی به ارتفاع ۱۵ و قطر ۱۲ سانتی‌متر بود که با پیت و پرلیت ضد عفونی شده به نسبت ۱:۳ پر شدند. همه گلدان‌ها از نظر وزن و ارتفاع سطح خاک یکسان بودند.

در این پژوهش رقم ۰۳۲ سویا تهیه شده از مرکز کشت مورد بررسی قرار گرفت. بذور ابتدا به مدت ۲ دقیقه در محلول ۱۰ سی‌سی هیپوکلریت سدیم ۳۰ درصد و سپس به همین مدت در ۷۵ سی‌سی اتانول ۹۸ درصد که به حجم رسانیده شده بودند ضد عفونی و پس از شستشو با آب مقطر، در شرایط آزمایشگاه خشک شده و برای اعمال تیمارهای مختلف ۵- آمینولولینیک اسید (بذر مال و محلول پاشی) به دو قسمت تقسیم گردیدند.

با انجام پیش‌آزمونی طول دوره ۳ ساعت برای قرار گرفتن بذور در محلول‌های مورد نظر تعیین شد. پیش‌آزمون در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و عدم وجود نور و با طول دوره‌های زمانی ۱۸، ۱۲، ۶، ۴ و ۳ ساعت انجام گرفت. ملاک این انتخاب بررسی‌های ظاهری شامل جذب محلول توسط بذر (تورم بذر)، عدم پارگی پوسته بذر و ظهور ریشه‌چه بود. سپس بذور در غلظت‌های ذکر شده از ۵- آمینولولینیک اسید به مدت ۳ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و عدم وجود نور پیش‌تیمار شدند. پس از طی این دوره بذور با آب مقطر آبکشی و به مدت ۲۴ ساعت در شرایط آزمایشگاه

خشک شده و همزمان با بذور پیش تیمار نشده در عمق ۳ سانتی متر به فاصله ۵ سانتی متر از هم در گلدان‌ها کشت گردید. پس از سبزشدن بذور، گلدان‌ها مرتب با آب مقطر و محلول غذایی B&D آبیاری شدند. میزان آبیاری و تعداد دفعات برای تمامی گلدان‌ها یکسان بود. در شروع مرحله ۴ برگی روی نیمی از گیاهچه‌ها محلول پاشی ۵- آمینولولینیک اسید (در غلظت‌های اشاره شده) صورت گرفت. در محلول پاشی روی گیاهچه‌ها، هر دو سطح رویی و زیرین برگ با محلول به‌طور کامل خیس گردید. در این تیمار برای جلوگیری از ورود اضافات محلول به خاک و ایجاد خطای آزمایشی، سطح خاک با استفاده از کاغذهای حوله‌ای پوشیده شد. ۳ روز پس از اعمال تیمارهای محلول پاشی، نیمی از گیاهان (تیمار بذری، محلول پاشی به برگ) به مدت ۷۲ ساعت در تنش سرما (۱۰ درجه سانتی گراد)، قرار گرفتند و نیمی دیگر از گیاهان به رشد خود در شرایط دمایی قبل (۲۵ درجه سانتی گراد) ادامه دادند و هیچ‌گونه تنش دمایی پس از محلول پاشی اعمال نگردید. به منظور بررسی‌های ظاهری و واکنش‌های آنزیمی به تنش سرما، ۷۲ ساعت بعد از اعمال تنش از برگ سوم همه واحدهای آزمایش نمونه‌گیری صورت گرفت. همچنین صفات مورفولوژیک (روی همه گیاهان داخل هر گلدان اندازه‌گیری و سپس میانگین آن‌ها (تک‌بوته) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

**اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی:** محتوی نسبی آب برگ بر حسب درصد از رابطه (۱) و تعیین پایداری غشا با استفاده از اندازه‌گیری تراوش الکتروولیت انجام گرفت.

$$(1) \quad [(وزن تازه برگ - وزن خشک) \div (وزن اشباع - وزن خشک)] \times 100$$

برای اندازه‌گیری تراوش الکتروولیت ۰/۱ گرم برگ تازه در ۱۰ سی سی آب دیونیزه در لوله درب‌دار ریخته شد. درب آن را بسته و در حمام آب با ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت قرار گرفت. سپس هدایت الکتریکی ( $EC_1$ ) با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری هدایت الکتریکی اندازه‌گیری شد. پس از آن نمونه‌ها در ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد برای ۲۰ دقیقه اتوکلاو گردید تا بافت‌ها کشته شده و الکتروولیت آن‌ها خارج شود. نمونه‌ها پس از خنک شدن تعیین هدایت الکتریکی گردید ( $EC_2$ ). تراوش الکتروولیت با استفاده از رابطه (۲) بیان شد:

$$(2) \quad EL = EC_2 / EC_1 \times 100$$

محتوی کلروفیل، سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بر طبق روش (گیانوپولیتیز و رایز، ۱۹۹۷) و فعالیت آنزیم کاتالاز به روش (ککمک و هورست، ۱۹۹۱)، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل JBC-CINTRA6 ساخت کشور استرالیا و اندازه‌گیری پرولین با کمک روش ارایه شده توسط بیتس و همکاران (۱۹۷۳)، صورت گرفت. تعیین هدایت روزنه‌ای و فتوستنز توسط دستگاه اندازه‌گیری فتوستنز (Portable photosynthesis system) مدل LI-6400 XT ساخت کشور آمریکا انجام شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون کم‌ترین اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح ۵ درصد صورت گرفت.

### نتایج و بحث

**نشت الکترولیت:** به غیر از اثر روش کاربرد، اثر اصلی و متقابل عوامل آزمایشی بر نشت الکترولیت معنی‌دار بود (جدول ۱). با کاهش دما و عدم کاربرد ۵- آمینولولینیک اسید در سویا به دلیل آسیب به غشای سیتوپلاسمی میزان نشت الکترولیت‌ها افزایش یافت. اما با کاربرد این ماده، بر میزان پایداری غشاها افزوده شد (جدول ۲). نشت الکترولیت گیاهچه‌های سویا در معرض تنش سرما با افزایش غلظت ۵- آمینولولینیک اسید تا ۰/۶ میلی‌مولار، کاهش یافت و افزایش معنی‌دار نشت الکترولیت به دنبال ادامه افزایش غلظت به ۰/۹، مشاهده شد. کم‌ترین مقدار نشت الکترولیت در تیمارهای بدون تنش سرما و محلول‌پاشی ۰/۳ میلی‌مولار از این ماده مشاهده شد. اما اختلاف معنی‌داری بین سطوح غلظت ۵- آمینولولینیک اسید در این سطح تنش سرما مشاهده نشد (جدول ۲). نتیجه بیانگر آن است که تیمار گیاه سویا با ماده نام‌برده در پیش‌گیری از ایجاد خسارت توسط سرما بر غشاهای سلولی مؤثر است. میزان نشت الکترولیت با شدت صدمه وارد شده به سلول‌های گیاهی در اثر سرما متناسب است (کورکمز و کورکمز، ۲۰۰۹). در این مطالعه، افزایش نشت الکترولیت در پی تنش سرما نسبت به شاهد با نتایج حاصل از پژوهش‌های دیگر هماهنگی دارد (شوانز و پل، ۲۰۰۱). تنش سرما با ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن سبب ایجاد یک تنش ثانویه اکسیداتیو و در نتیجه افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، سیالیت غشا و نشت الکترولیت می‌گردد. کاهش همبستگی غشا و افزایش نشت الکترولیت توسط سرما در گیاه گندم گزارش شده است (پوکاکی و همکاران، ۱۹۹۱). به نظر می‌رسد این ماده در زدودن گونه‌های فعال اکسیژن با در نظر گرفتن نقش ۵- آمینولولینیک اسید در بیوستنز هم (این ماده یک

عنصر کلیدی برای فعالیت سیتوکروم C در زنجیره تنفس میتوکندری‌ها است) و افزایش فعالیت مولکول‌های زیستی با ساختار هم (مانند کاتالاز)، دخالت دارد. نشت الکترولیت با محتوی نسبی آب برگ همبستگی مثبت و با هدایت روزنه‌ای و فتوسنتز همبستگی منفی معنی‌داری داشت (جدول ۴). بدین ترتیب با کاهش هدایت روزنه‌ای و فتوسنتز و افزایش محتوی نسبی آب برگ، نشت الکترولیت افزایش یافت.

**محتوی کلروفیل:** به غیر از اثر روش کاربرد، اثر اصلی و متقابل عوامل آزمایشی بر محتوی کلروفیل معنی‌دار بود (جدول ۱). بیش‌ترین مقدار کلروفیل در تیمارهای بذرمال شده با غلظت ۰/۳ میلی‌مولار ۵- آمینولولینیک اسید و رشدیافته در هر دو شرایط وجود و عدم وجود تنش سرما، مشاهده شد. کم‌ترین مقدار کلروفیل مربوط به تیمارهای با مصرف بذرمال ۰/۹ میلی‌مولار ماده نام‌برده در شرایط تنش سرما بود (جدول ۲). با اعمال تنش سرما و عدم مصرف ۵- آمینولولینیک اسید محتوی کلروفیل به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش یافت. در شرایط تنش و غیرتنش و با اعمال تیمار بذرمال، افزایش غلظت به بیش از ۰/۳ میلی‌مولار، کاهش محتوی کلروفیل را سبب شد، اما در شرایط غیرتنش اختلافی مشاهده نشد. در شرایط غیرتنش و محلول‌پاشی ۵- آمینولولینیک اسید، کاهش در محتوی کلروفیل کل نسبت به شاهد قابل مشاهده است (جدول ۲). این افزایش و کاهش‌ها در محتوی کلروفیل با کاربرد ۵- آمینولولینیک اسید را از یک طرف می‌توان به نقش آن در تنظیم کلروفیل و هم در غلظت‌های پایین و از طرف دیگر به احتمال ایجاد تنش اکسیداتیو در نتیجه تولید گونه‌های فعال اکسیژن توسط غلظت‌های بالای آن، نسبت داد. افزایش میزان کلروفیل با کاربرد میزان مناسب ۵- آمینولولینیک گزارش شده است (بالستراسه و همکاران، ۲۰۱۰). دلیل این افزایش کلروفیل در شرایط تنش و غیرتنش به نقش ۵- آمینولولینیک اسید برای ساخت مواد پورفیرینی مانند کلروفیل، هم و فیتوکروم‌ها نسبت داده شده است (ونگ و همکاران، ۲۰۰۴). بیوسنتز ۵- آمینولولینیک اسید، مسیری وابسته به دما می‌باشد، بنابراین در هنگام تنش سرما، که مسیر ساخت این ماده و به دنبال آن تولید کلروفیل متوقف می‌شود، کاربرد ۵- آمینولولینیک اسید می‌تواند باعث ادامه مسیر ساخت کلروفیل شده و از کاهش آن در شرایط سرما جلوگیری کند. محتوی کلروفیل کل با وزن تر اندام هوایی و فتوسنتز رابطه مثبت و معنی‌داری داشت. بدین‌صورت که با افزایش محتوی کلروفیل، وزن تر اندام هوایی و فتوسنتز افزایش یافت (جدول ۴).

**فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز:** تیمارهای دمایی و غلظت‌های ۵- آمینولولینیک اسید و اثر متقابل آن‌ها بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تأثیرگذار بودند (جدول ۱). سرما باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز شد (جدول ۳). کم‌ترین میزان فعالیت این آنزیم، در تیمار شاهد در شرایط بدون اعمال تنش سرما و عدم کاربرد ۵- آمینولولینیک اسید، دیده شد. تیمارهای متأثر از تنش سرما با کاربرد ۰/۶ میلی‌مولار از این ماده، بیش‌ترین فعالیت این آنزیم را دارا بودند. با افزایش غلظت بیش از ۰/۶، فعالیت این آنزیم روند کاهشی داشت. گرچه این اختلاف بین غلظت‌های ۰/۶ و ۰/۹ میلی‌مولار، معنی‌دار نبود (جدول ۳). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از مهم‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است که در شرایط تنش‌های محیطی افزایش فعالیت آن، در بیش‌تر گیاهان گزارش شده است. هنگام تنش سرما در گیاه سویا میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌عنوان یک راه‌کار دفاعی در برابر گونه‌های فعال اکسیژن بالا می‌رود، اما این افزایش برای مقابله با این تنش اکسیداتیو کافی نیست (بالستراسه و همکاران، ۲۰۱۰). افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در اثر کاربرد غلظتی برابر با ۲۵ و ۵۰ قسمت در میلیون از ۵- آمینولولینیک اسید گزارش شده است (کورکمز و کورکمز، ۲۰۰۹). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برای سمیت‌زدایی از گونه‌های فعال اکسیژن، با دریافت انرژی از مولکول‌های پرنانرژی مانند NADPH (نیکوتین آمید آدنین دی‌نوکلئوتید فسفات) که از محصولات چرخه فتوسنتز است، عمل می‌کنند (آسادا، ۱۹۹۹). در هنگام تنش سرما و اختلال در فتوسنتز گیاه، با کاربرد غلظتی مناسب از ۵- آمینولولینیک اسید، میزان فتوسنتز و در واقع تولید این مولکول‌های پرنانرژی را افزایش داده و از این طریق فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نیز به‌طور غیرمستقیم بهبود می‌یابد. از طرفی این ماده در ساخت هم‌نقش کلیدی دارد و کاربرد خارجی آن فعالیت سوپراکسید دیسموتاز را که از هم ساخته شده است، افزایش می‌دهد.

**فعالیت آنزیم کاتالاز:** اثر اصلی و متقابل عوامل آزمایشی بر فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار بود (جدول ۱). بیش‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش سرما و کاربرد ۰/۶ میلی‌مولار، ۵- آمینولولینیک اسید به‌صورت محلول‌پاشی دیده شد (جدول ۲). در شرایط تنش افزایش غلظت ۵- آمینولولینیک اسید تا ۰/۶ در هر دو روش کاربرد افزایش فعالیت کاتالاز را سبب شد. اما افزایش بیش‌تر غلظت کاهش فعالیت کاتالاز را به‌دنبال داشت، به‌طوری‌که تیمارهای نام‌برده

اختلاف معنی‌داری با عدم کاربرد این ماده نداشتند. در شرایط غیرتنش کاربرد بذرمال ۵- آمینولولینیک اسید با غلظت ۰/۶ میلی‌مولار کاهش در فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد ایجاد کرد. اثرهای مثبت آنزیم‌های اکسیدانی مانند کاتالاز در دماهای پایین مشاهده شده است (وو و همکاران، ۲۰۰۴). آنزیم کاتالاز در زدودن گونه‌های فعال اکسیژن نقش دارد. افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط سرما و با کاربرد ۵- آمینولولینیک اسید با غلظتی مناسب در گیاه سویا گزارش شده است (بالستراسه و همکاران، ۲۰۱۰). در توجیه این افزایش می‌توان به نقش این ماده در بیوسنتز مولکول‌های هم اشاره کرد و از آنجایی‌که آنزیم‌هایی چون کاتالاز از هم تشکیل یافته‌اند (نیشیهارا و همکاران، ۲۰۰۳)، با کاربرد ۵- آمینولولینیک اسید میزان هم و در نتیجه فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش می‌یابد.

**محتوی پرولین:** اثر اصلی و متقابل عوامل آزمایشی بر محتوی پرولین معنی‌دار بود (جدول ۱). پرولین، قندهای محلول و آمینواسیدها در شرایط تنش در گیاهان به روش‌های مختلف شامل تنظیم اسمزی سلول، سم‌زدایی از گونه‌های اکسیژن فعال، حفظ سیالیت غشا از تثبیت آنزیم‌ها و پروتئین‌ها محافظت می‌کنند (اشرف و فولاد، ۲۰۰۷). در تمامی تیمارها با افزایش غلظت نسبت به عدم کاربرد ۵- آمینولولینیک اسید، افزایش پرولین مشاهده شد. بیش‌ترین میزان پرولین در تیمار با غلظت ۰/۹ میلی‌مولار ۵- آمینولولینیک اسید و کاربرد بذرمال آن در شرایط تنش سرما مشاهده شد (جدول ۲). با اعمال تنش، کاربرد بذرمال ۵- آمینولولینیک اسید نسبت به محلول‌پاشی افزایش بیشتری را در محتوی پرولین ایجاد کرد. در شرایط عدم تنش و محلول‌پاشی ۵- آمینولولینیک اسید غلظت‌های ۰/۳ و ۰/۹ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری نداشتند. افزایش پرولین به‌دنبال تنش سرما که از جمله نتایج به‌دست آمده در این پژوهش بود که با نتایج یادقاری و همکاران (۲۰۰۸)، مبنی بر افزایش معنی‌دار غلظت پرولین در مواجهه با سرما در گیاه سویا مطابقت دارد. این مسأله که افزایش پرولین یک سیستم دفاعی محسوب می‌شود و یا این که فقط یکی از علائم تنش می‌باشد، مورد بحث قرار گرفته است (تاتار و همکاران، ۲۰۱۰). افزایش محتوی پرولین در شرایط کاهش دما و افزایش بیش‌تر آن در صورت کاربرد ۵- آمینولولینیک اسید نیز گزارش شده است (کورکمز و کورکمز، ۲۰۰۹). چگونگی افزایش پرولین با کاربرد ۵- آمینولولینیک اسید هم‌چنان بی‌پاسخ است. به‌نظر



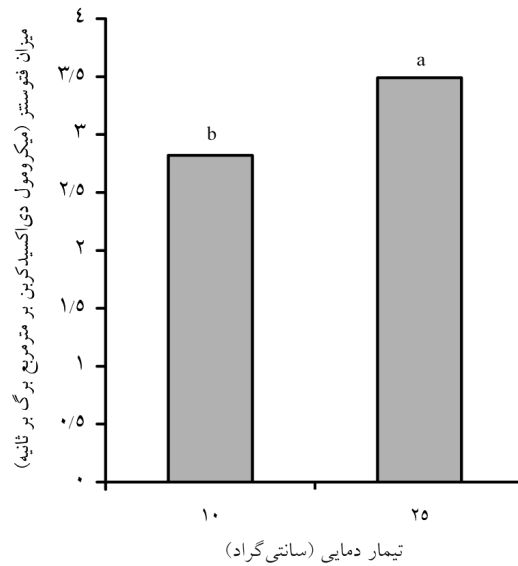
می‌رسد، این ماده در مسیر بیوستتزی پرولین دخیل است. محتوی پرولین با سوپراکسید دیسموتاز رابطه مثبت و معنی‌داری داشت (جدول ۴)، به‌طوری‌که با افزایش پرولین سوپر اکسید دیسموتاز نیز افزایش یافت.

**محتوی نسبی آب برگ:** تیمارهای دمایی و غلظت‌های ۵- آمینولولینیک اسید و اثر متقابل آن‌ها بر میزان محتوی نسبی آب برگ مؤثر بودند (جدول ۱). بر هم‌کنش غلظت ۵- آمینولولینیک اسید و دما نشان می‌دهد که محتوی نسبی آب برگ در شرایط تنش (۱۰ درجه سانتی‌گراد) نسبت به شاهد (۲۵ درجه سانتی‌گراد) ۷۶ درصد کاهش می‌یابد. بیش‌ترین محتوی نسبی آب برگ در تیمار با مصرف ۰/۶ میلی‌مولار از این ماده در شرایط غیرتنش، مشاهده شد که نسبت به شاهد (غلظت صفر) ۱۹ درصد افزایش نشان داد (جدول ۳). با اعمال تنش سرما تیمار گیاهان با ۰/۶ میلی‌مولار ۵- آمینولولینیک اسید بیش‌ترین محتوی نسبی آب برگ را ایجاد کرد که نسبت به شاهد (غلظت صفر) ۷۲ درصد افزایش یافت. کاهش محتوی نسبی آب برگ در تنش سرمایی احتمالاً به‌دلیل کاهش هدایت هیدرولیکی ریشه و یا تنظیم اسمزی می‌باشد. این فرضیه با نتایج گزارش‌های پیشین مبنی بر کاهش برداشت آب در ریشه در دماهای پایین (ویلکینسان و همکاران، ۲۰۰۱)، همخوانی دارد. آروکا و همکاران (۲۰۰۱) کاهش در محتوی نسبی آب برگ در گیاه ذرت تحت تنش سرما را به‌دلیل افزایش دهیدراسیون بیان کرد. محتوی نسبی آب برگ با وزن خشک اندام هوایی همبستگی مثبت و با سوپراکسید دیسموتاز رابطه منفی و معنی‌داری داشت و با افزایش آن وزن خشک اندام هوایی افزایش و سوپراکسید دیسموتاز کاهش یافت (جدول ۴).

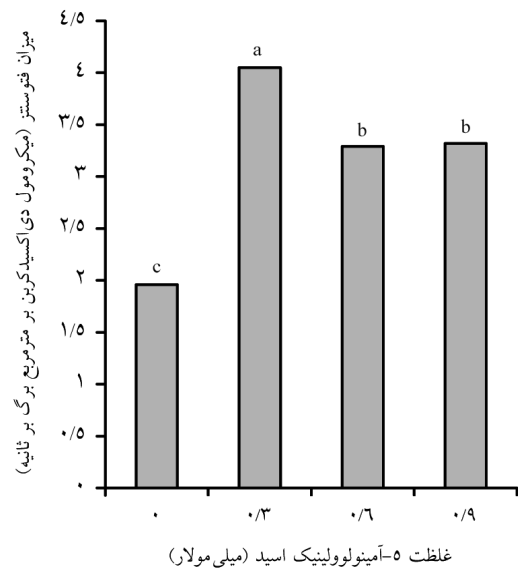
**میزان هدایت روزنه‌ای:** اثر اصلی و متقابل عوامل آزمایشی بر میزان هدایت روزنه‌ای معنی‌دار بود (جدول ۱). کم‌ترین میزان هدایت روزنه‌ای به تیمارهای بدون مصرف ۵- آمینولولینیک اسید و در معرض سرما اختصاص داشت. در شرایط تنش سرما و کاربرد بذرمال و محلول‌پاشی این ماده، تیمار با غلظت ۰/۶ میلی‌مولار بیش‌ترین هدایت روزنه‌ای را نشان داد (جدول ۲). این در حالی بود که با افزایش غلظت، کاهش هدایت روزنه‌ای مشاهده شد. در تنش سرما غلظت‌های مختلف محلول‌پاشی ۵- آمینولولینیک اسید تأثیری معنی‌دار بر هدایت روزنه‌ای نداشت. در شرایط غیرتنش و هر دو روش کاربرد، استفاده از محلول‌های غلیظ ۵- آمینولولینیک اسید باعث افزایش هدایت روزنه‌ای در

گیاهان شد. افزایش برداشت مواد تغذیه‌ای مانند نیتروژن، پتاسیم و کلسیم با کاربرد ۵- آمینولولینیک اسید گزارش شده است (واتانابه و همکاران، ۲۰۰۶). دلیل افزایش هدایت روزنه‌ای با کاربرد ۵- آمینولولینیک اسید می‌تواند به دنبال افزایش برداشت یون پتاسیم باشد که در باز و بسته شدن روزنه دخیل است (کورکمز و کورکمز، ۲۰۰۹).

**فتوستت:** تیمارهای دمایی و غلظت‌های ۵- آمینولولینیک اسید بر میزان فتوستت تأثیرگذار بودند (جدول ۱). میزان فتوستت با کاهش دما کاهش معنی‌داری یافت (شکل ۱) و افزایش آن در پی کاربرد ۵- آمینولولینیک اسید مشاهده شد (شکل ۲). به طوری که تیمار کاربرد ۰/۳ میلی مولار ۵- آمینولولینیک اسید بیش‌ترین مقدار فتوستت در سویا را به همراه داشت. با افزایش غلظت، میزان فتوستت با وجود برتری نسبت به شاهد، کاهش یافت. براساس پژوهش‌های انجام شده میان افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و فتوستت خالص ارتباط وجود دارد (نیشهارا و همکاران، ۲۰۰۳). تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن از کارایی فتوسیستم I ممانعت می‌کنند. با افزایش آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، از این تجمع و کاهش کارایی فتوسیستم I جلوگیری می‌شود و به این ترتیب میزان فتوستت در شرایط تنش افزایش می‌یابد. در پژوهش‌های بسیاری بهبود فتوستت به افزایش در میزان کلروفیل در گیاه با کاربرد ۵- آمینولولینیک اسید نسبت داده شده است (ونگ و همکاران، ۲۰۰۴). البته بیان شده است که این ماده به تنهایی میزان کلروفیل را افزایش نمی‌دهد اما در صورت تیمار شدن هم‌زمان با مواد تغذیه‌ای، فتوستت نیز افزایش می‌یابد. از طرفی مشاهده شده است که کاربرد ۵- آمینولولینیک اسید میزان فتوستت را بدون افزایش در محتوی کلروفیل افزایش می‌دهد (لیو و همکاران، ۲۰۰۶). بنابراین افزایش در میزان فتوستت با کاربرد این ماده را تنها نمی‌توان به افزایش در محتوی کلروفیل نسبت داد. به احتمال زیاد سایر راه‌کارهای دخیل در فتوستت، در این امر تأثیرگذار هستند. برای مثال تأثیر کاربرد این ماده روی برداشت مواد تغذیه‌ای، هدایت روزنه‌ای و سایر فاکتورها می‌تواند در افزایش فتوستت در پی داشته باشند. میزان فتوستت با وزن تر و خشک اندام هوایی و وزن تر ریشه همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت. بدین ترتیب که با افزایش فتوستت، وزن تر اندام هوایی و ریشه و وزن خشک اندام هوایی اضافه شد (جدول ۴).



شکل ۱- تأثیر دماهای مختلف روی فتوسنتز برگ سویا.



شکل ۲- تأثیر غلظت‌های مختلف ۵-آمینولولینیک بر میزان فتوسنتز برگ سویا.

**صفات وزن خشک و زیست توده:** تیمارهای دمایی و غلظت‌های ۵- آمینولولینیک اسید و اثر متقابل آن‌ها بر وزن تر اندام هوایی معنی‌دار بود در حالی‌که وزن خشک اندام هوایی فقط تحت تأثیر عوامل اصلی شامل دما و غلظت قرار گرفت (جدول ۱). اعمال سرما وزن تر اندام هوایی را در گیاهان تیمار نشده به شدت کاهش داد (جدول ۳). بالاترین وزن تر اندام هوایی در هر دو شرایط وجود و عدم وجود تنش سرما مربوط به تیمار کاربرد ۰/۳ میلی‌مولار ۵- آمینولولینیک اسید در معرض تنش سرما بود. وزن خشک اندام هوایی تحت تیمار سرما، کاهش یافت (شکل ۳). با کاربرد ۰/۳ میلی‌مولار از این ماده افزایش وزن خشک نسبت به شاهد مشاهده شد اما با افزایش بیش‌تر غلظت با وجود برتری نسبت به شاهد، کاهش در وزن خشک اندام هوایی پدیدار گشت (شکل ۴). نتایج مشابهی در مورد وزن خشک ریشه مانند کاهش در شرایط سرما و افزایش در پی تیمار با ۵- آمینولولینیک اسید به دست آمد (جدول ۳). وزن تر ریشه تحت تأثیر هیچ‌کدام از تیمارها قرار نگرفت ولی تیمارهای دمایی و غلظت‌های ۵- آمینولولینیک اسید و اثر متقابل آن‌ها بر وزن خشک ریشه تأثیرگذار بودند (جدول ۱). نتایج نشان داد که تیمار با ماده برده اثرهای مخرب ناشی از سرما را کاهش داده و رشد و تجمع توده خشک گیاه در پی افزایش محتوی کلروفیل و جذب دی‌اکسیدکربن را بهبود می‌بخشد. افزایش در وزن تر و خشک به میزان فتوسنتز مؤثر روی تولید و تسهیم مواد فتوسنتزی، نسبت داده می‌شود. اثر ۵- آمینولولینیک اسید روی انتقال مواد آوند آبکش در توجیه این افزایش نیز قابل قبول است. نتایجی مشابه، مبنی بر بهبود میزان رشد و فتوسنتز با کاربرد ۵- آمینولولینیک اسید در غلظت‌های پایین وجود دارد (واتانابه و همکاران، ۲۰۰۶).

الیه منافی و همکاران

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک مورد بررسی در گیاهچه‌های سویا تحت تأثیر غلظت و روش‌های کاربرد مختلف ۵- آمینولولینیک اسید در دو تیمار دمایی مختلف.

میانگین مربعات							درجه آزادی	منابع تغییر
هدایت روزنه‌ای	محتوی نسبی آب برگ	پرولین	کاتالاز	سوپراکسید دیسموتاز	کلروفیل	نشت الکترولیت		
۰/۰۰۰۰۴ <sup>ns</sup>	۰/۴۴۰۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۹۱۴ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۵۵ <sup>ns</sup>	۰/۶۴۸۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۲۰۰ <sup>ns</sup>	۲۱/۹۱۷ <sup>ns</sup>	۲	تکرار
۰/۰۰۵۰ <sup>**</sup>	۲۲۹/۸۵۴ <sup>**</sup>	۷۱۲/۱۳۵ <sup>**</sup>	۲/۰۰۰۸ <sup>**</sup>	۳۷/۲۵۰۴ <sup>**</sup>	۰/۴۰۴ <sup>**</sup>	۱۹۸۹۴/۹۸ <sup>**</sup>	۱	دما (T)
۰/۰۰۱۲ <sup>**</sup>	۰/۶۱۳ <sup>ns</sup>	۲۴۸/۹۸ <sup>**</sup>	۱/۲۰۲۰ <sup>**</sup>	۰/۰۱۵۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۲۳۱ <sup>ns</sup>	۳۶/۱۵۷ <sup>ns</sup>	۱	روش کاربرد (P)
۰/۰۰۱۶ <sup>**</sup>	۵/۶۲۷ <sup>**</sup>	۴۶۷/۳۸ <sup>**</sup>	۳/۶۰۶۲ <sup>**</sup>	۷/۸۷۰۱ <sup>**</sup>	۰/۴۰۷ <sup>**</sup>	۲۶۶۲/۱۹ <sup>**</sup>	۳	غلظت (C)
۰/۰۰۲۲ <sup>**</sup>	۰/۲۱۶ <sup>ns</sup>	۲۰/۷۷۸ <sup>**</sup>	۰/۶۵۵۲ <sup>**</sup>	۰/۲۷۶۲ <sup>ns</sup>	۰/۴۶۲ <sup>**</sup>	۶۹/۰۲۴ <sup>*</sup>	۱	T × P
۰/۰۰۱۹ <sup>**</sup>	۰/۲۹۸ <sup>**</sup>	۸۸/۷۳۳ <sup>**</sup>	۰/۱۲۱۵ <sup>*</sup>	۱/۹۵۵۱ <sup>*</sup>	۰/۷۸۰ <sup>**</sup>	۲۴۱۵/۷۶ <sup>**</sup>	۳	T × C
۰/۰۰۰۹ <sup>**</sup>	۰/۰۵۸۹ <sup>ns</sup>	۶۹/۰۸۹ <sup>**</sup>	۱/۹۵۰۲ <sup>**</sup>	۰/۰۳۸۹ <sup>ns</sup>	۰/۱۰۲ <sup>**</sup>	۳۷/۳۹ <sup>*</sup>	۳	P × C
۰/۰۰۰۴۹ <sup>**</sup>	۰/۱۰۳۵ <sup>ns</sup>	۶/۵۱۳ <sup>**</sup>	۱/۵۷۱۰ <sup>**</sup>	۰/۰۹۳۲ <sup>ns</sup>	۰/۲۵۲ <sup>**</sup>	۴۰/۷۶۳ <sup>*</sup>	۳	T × P × C
۰/۰۰۰۰۵	۰/۱۵۲	۰/۳۶۶	۰/۰۲۸۹	۰/۵۱۶۹	۰/۰۱۷۲	۱۱/۵۵۶	۳۰	خطای آزمایشی
۱۷/۸۵	۱۰/۹۸	۴/۲۲۱	۱۱/۱۵۰	۲۰/۰۶	۶/۱۴۶	۱۰/۱۶۲		ضریب تغییرات

ns و \*\* به ترتیب معنی‌داری در سطح ۵ درصد، ۱ درصد و عدم معنی‌داری می‌باشد.

ادامه جدول ۱-

میانگین مربعات					درجه آزادی	منابع تغییر
وزن خشک ریشه	وزن تر ریشه	وزن خشک اندام هوایی	وزن تر اندام هوایی	فتوستنز		
۰/۰۲۲۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۲ <sup>ns</sup>	۰/۲۴۸ <sup>ns</sup>	۰/۱۴۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۶۷۳ <sup>ns</sup>	۲	تکرار
۰/۴۴۷ <sup>**</sup>	۰/۰۱۲۶ <sup>ns</sup>	۶/۰۵۴ <sup>**</sup>	۲/۴۵۲ <sup>**</sup>	۵/۴۳۴ <sup>**</sup>	۱	دما (T)
۰/۰۰۰۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۱۶۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۷۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۱۰۷ <sup>ns</sup>	۰/۱۱۹ <sup>ns</sup>	۱	روش کاربرد (P)
۰/۳۲۹ <sup>**</sup>	۰/۰۹۳۲ <sup>ns</sup>	۶/۵۶۰ <sup>**</sup>	۱۲/۰۵۷ <sup>**</sup>	۹/۱۱۸ <sup>**</sup>	۳	غلظت (C)
۰/۰۰۰۰۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۴۶۴ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۰۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۶۴۴ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۴ <sup>ns</sup>	۱	T × P
۰/۰۳۸۷ <sup>*</sup>	۰/۰۰۹۹ <sup>ns</sup>	۰/۳۹۸ <sup>ns</sup>	۳/۳۱۶ <sup>**</sup>	۰/۸۴۵ <sup>ns</sup>	۳	T × C
۰/۰۰۱۹۶ <sup>ns</sup>	۰/۰۵۸۲ <sup>ns</sup>	۰/۰۱۱۶ <sup>ns</sup>	۰/۱۰۰۵ <sup>ns</sup>	۰/۲۶۹ <sup>ns</sup>	۳	P × C
۰/۰۰۱۸۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۲۶۸ <sup>ns</sup>	۰/۱۰۰۸ <sup>ns</sup>	۰/۳۰۰۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۳۱ <sup>ns</sup>	۳	T × P × C
۰/۰۱۰۶	۰/۰۴۴۴	۰/۱۶۲	۰/۱۶۶	۰/۲۹۷	۳۰	خطای آزمایشی
۲۶/۲۶	۱۸/۴۸	۲۵/۲۹	۹/۴۴	۱۷/۲۹۵		ضریب تغییرات

ns و \*\* به ترتیب معنی‌داری در سطح ۵ درصد، ۱ درصد و عدم معنی‌داری می‌باشد.

نشریه تولید گیاهان زراعی، جلد هفتم (۲)، ۱۳۹۳

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیک مورد بررسی در گیاهچه‌های سویا تحت تأثیر غلظت و روش‌های کاربرد مختلف ۵- آمینولولینیک اسید در دو تیمار دمایی مختلف.

هدایت روزنه‌ای (میکرومول آب بر مترمربع بر ثانیه)	پرولین (میلی گرم بر گرم تر برگ)	کاتالاز (تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین بر دقیقه)	کلروفیل (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)	نشت الکترولیت (درصد)	غلظت (میلی مولار)	روش کاربرد	دما (درجه سانتی گراد)
۰/۰۱۶ <sup>c</sup>	۹/۰۲ <sup>f</sup>	۱/۳۸ <sup>bcd</sup>	۱/۷۶ <sup>d</sup>	۸۸/۸۳ <sup>a</sup>	۰		
۰/۰۴۸ <sup>b</sup>	۱۸/۲۹ <sup>de</sup>	۱/۷۲ <sup>b</sup>	۲/۷۲۳ <sup>a</sup>	۶۵/۸۵ <sup>ab</sup>	۰/۳	بذر مال	
۰/۰۸۳ <sup>a</sup>	۲۲/۸۸ <sup>b</sup>	۲/۴۵ <sup>a</sup>	۱/۹۴۹ <sup>cd</sup>	۲۳/۶۷ <sup>c</sup>	۰/۶		۱۰ درجه
۰/۰۲۲ <sup>c</sup>	۲۹/۰۶ <sup>a</sup>	۱/۲۱ <sup>d</sup>	۱/۴۲۸ <sup>c</sup>	۴۸/۷۰ <sup>۷c</sup>	۰/۹		سانتی گراد
۰/۰۱۵ <sup>c</sup>	۹/۲۵ <sup>f</sup>	۱/۲۹ <sup>cd</sup>	۱/۷۷ <sup>d</sup>	۸۵/۲۷۳ <sup>a</sup>	۰		
۰/۰۱۹ <sup>c</sup>	۱۷/۱۴ <sup>c</sup>	۱/۶۵ <sup>bc</sup>	۲/۴۰۹ <sup>bcd</sup>	۶۵/۷۴۷ <sup>b</sup>	۰/۳	محلول پاشی	
۰/۰۲۶ <sup>c</sup>	۱۸/۵۹ <sup>d</sup>	۲/۶۸ <sup>a</sup>	۲/۰۵۱ <sup>fg</sup>	۱۵/۸۲۷ <sup>c</sup>	۰/۶		
۰/۰۱۵ <sup>c</sup>	۲۱/۳۱ <sup>c</sup>	۱/۴۷ <sup>bcd</sup>	۲/۲۳۲ <sup>bc</sup>	۳۶/۵۶۳ <sup>d</sup>	۰/۹		
۰/۰۴۳ <sup>c</sup>	۴/۲۵۴ <sup>f</sup>	۱/۱۳۵ <sup>cd</sup>	۲/۳۷۰ <sup>b</sup>	۱۳/۸۶۰ <sup>ab</sup>	۰		
۰/۰۴۰ <sup>c</sup>	۶/۷۳ <sup>d</sup>	۰/۹۱ <sup>e</sup>	۲/۱۷۶ <sup>cd</sup>	۱۲/۰۷۳ <sup>b</sup>	۰/۳	بذر مال	
۰/۰۵۴ <sup>b</sup>	۲۴/۴۱ <sup>a</sup>	۰/۷۲ <sup>f</sup>	۲/۲۱۳ <sup>c</sup>	۱۲/۰۴۰ <sup>b</sup>	۰/۶		۲۵ درجه
۰/۰۵۸ <sup>b</sup>	۱۸/۳۰ <sup>b</sup>	۱/۴۲۰ <sup>b</sup>	۲/۶۲۰ <sup>a</sup>	۱۳/۰۶۷ <sup>ab</sup>	۰/۹		سانتی گراد
۰/۰۴۲ <sup>c</sup>	۳/۹۰ <sup>f</sup>	۰/۶۳ <sup>f</sup>	۲/۴۴۹ <sup>b</sup>	۱۵/۳۰۳ <sup>a</sup>	۰		
۰/۰۲۷ <sup>d</sup>	۵/۸۸ <sup>e</sup>	۱/۲۷۲ <sup>c</sup>	۲/۲۰۵ <sup>c</sup>	۱۱/۶۶۷ <sup>b</sup>	۰/۳	محلول پاشی	
۰/۰۵۶ <sup>b</sup>	۱۴/۳۲ <sup>c</sup>	۳/۴۷۴ <sup>a</sup>	۱/۶۹۷ <sup>c</sup>	۱۲/۰۶۰ <sup>b</sup>	۰/۶		
۰/۰۸۶ <sup>a</sup>	۶/۱۱ <sup>de</sup>	۱/۰۱۷ <sup>de</sup>	۲/۰۶۷ <sup>d</sup>	۱۴/۶۶ <sup>a</sup>	۰/۹		

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون، فاقد اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات مورد بررسی در گیاهچه‌های سویا تحت تأثیر غلظت و روش‌های کاربرد مختلف ۵- آمینولولینیک اسید در دو تیمار دمایی مختلف.

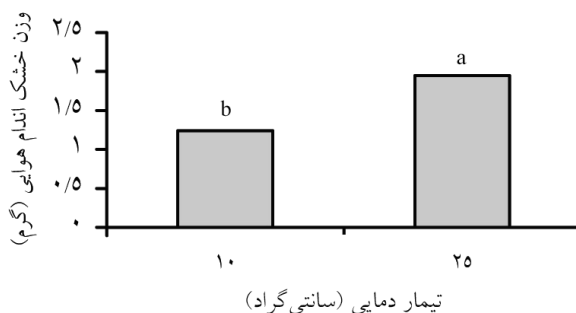
وزن خشک ریشه (گرم/ گیاه)	وزن تر اندام هوایی (گرم/ گیاه)	سوپراکسید دیسموتاز (تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین بر دقیقه)	محتوی نسبی آب برگ (درصد)	غلظت (میلی مولار)	دما (درجه سانتی گراد)
۰/۱۹ <sup>e</sup>	۲/۳۸ <sup>d</sup>	۲/۹۲ <sup>cd</sup>	۱/۱۸ <sup>fg</sup>	۰	
۰/۲۴ <sup>e</sup>	۵/۶۹ <sup>a</sup>	۴/۰۹ <sup>b</sup>	۱/۵۰ <sup>f</sup>	۰/۳	۱۰
۰/۳۰ <sup>de</sup>	۴/۶۲ <sup>b</sup>	۵/۵۵ <sup>a</sup>	۲/۰۴ <sup>e</sup>	۰/۶	درجه سانتی گراد
۰/۴۴ <sup>bc</sup>	۳/۶۶ <sup>c</sup>	۵/۲۹ <sup>a</sup>	۰/۷۴ <sup>g</sup>	۰/۹	
۰/۲۵ <sup>e</sup>	۴/۳۹ <sup>b</sup>	۲/۱۷ <sup>d</sup>	۵/۵۴ <sup>c</sup>	۰	
۰/۳۹ <sup>cd</sup>	۵/۴۱ <sup>a</sup>	۲/۵۷ <sup>cd</sup>	۶/۱۲ <sup>b</sup>	۰/۳	۲۵
۰/۵۳ <sup>b</sup>	۴/۷۸ <sup>b</sup>	۲/۹۶ <sup>cd</sup>	۶/۶۱ <sup>a</sup>	۰/۶	درجه سانتی گراد
۰/۷۷ <sup>a</sup>	۳/۵۹ <sup>c</sup>	۳/۱۱ <sup>c</sup>	۴/۶۸ <sup>d</sup>	۰/۹	

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون، فاقد اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

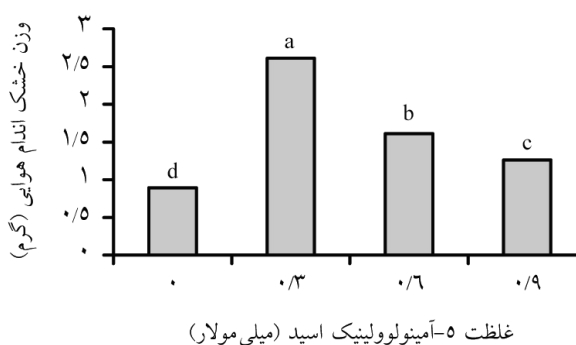
جدول ۴- همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده روی گیاه سویا.

صفات اندازه‌گیری شده	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰
وزن تر اندام هوایی (۱)	۱									
وزن خشک اندام هوایی (۲)	۰/۷۲**	۱								
وزن تر ریشه (۳)	۰/۶۳**	۰/۴۴	۱							
محتوی نسبی آب برگ (۴)	۰/۳۶	۰/۵۶*	۰/۲۸	۱						
نشت الکترولیت (۵)	-۰/۴۱	-۰/۳۶	-۰/۲۹	-۰/۷۶**	۱					
کلروفیل کل (۶)	۰/۵۵*	۰/۳۵	۰/۰۴	۰/۲۲	-۰/۳۰	۱				
هدایت روزنه‌ای (۷)	۰/۱۸	۰/۱۴	۰/۳۴	۰/۴۸	-۰/۵۵*	۰/۱۹	۱			
فتوستنز (۸)	۰/۷۲**	۰/۸۰**	۰/۵۶*	۰/۴۲	-۰/۵۵*	۰/۵۰*	۰/۴۵	۱		
سوپراکسید دیسموتاز (۹)	۰/۰۳	-۰/۳۲	۰/۱۵	-۰/۷۰**	۰/۱۷	-۰/۱۵	-۰/۰۶	۰/۰۴	۱	
پرولین (۱۰)	۰/۰۸	-۰/۱۵	۰/۱	-۰/۴۳	۰/۱۰	-۰/۰۳	-۰/۰۰۵	۰/۱۰	۰/۷۷**	۱

بدون علامت، \* و \*\* به ترتیب بیانگر غیرمعنی دار و معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد می‌باشند.



شکل ۳- تأثیر تیمار دمایی بر وزن خشک اندام هوایی سویا.



شکل ۴- تأثیر غلظت‌های مختلف ۵-آمینولولینیک اسید بر وزن خشک اندام هوایی سویا.

### نتیجه گیری کلی

این آزمایش نشان داد که در اکثر صفات مورد بررسی محلول پاشی ۵- آمینولولینیک اسید نسبت به پیش تیمار کردن بذر، برتری داشت. بدین ترتیب کاربرد خارجی شبه هورمون ۵- آمینولولینیک اسید در کاهش صدمات حاصل از سرما بدون هیچ گونه اثرات کاهشی روی رشد گیاه سویا مؤثر می باشد.

### منابع

1. Aroca, R., Tognoni, F., Irigoyen, J.J., Diaz, M.S., and Pardossi, A. 2001. Different root low temperature response of two maize genotypes differing in chilling sensitivity. *Plant Physiol. Bioch.* 39: 1067-1073.
2. Asada, K. 1999. The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of oxygen and dissipation of excess photons. *Annual Review of plant physiology and Plant Mol. Biol.* 50: 601-639.
3. Ashraf, M., and Foolad, M.R. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environ. Exp. Bot.* 59: 206-216.
4. Balestrasse, K.B., Tomaro, L.M., Batlle, A., and Noriega, G.O. 2010. The role of 5-aminolevulinic acid in the response to cold stress in soybean plants. *Phytochemistry.* 71: 2038-2045.
5. Bates, L.S., Waldern, R.P., and Teave, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil.* 39: 205-207.
6. Cakmak, I., and Horst, W. 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glysin max*). *Plant Physiol.* 83: 463-468.
7. Giannopolitis, C., and Ries, S. 1997. Superoxid desmutase. I. Occurrence in higher plant. *Plant Physiol.* 59: 309-314.
8. Khajehpoor, M.R. 2006. *Industrial Plants*. Esfahan Publication. (In Farsi)
9. KOÇ, E., İşlek, C., and ÜSTÜN, A.S. 2010. Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annum* L.) varieties. *G. U. J. Sci.* 23: 1. 1-6.
10. Korkmaz, A., and Korkmaz, Y. 2009. Promotion by 5-aminolevulinic acid of pepper seed germination and seedling emergence under low-temperature stress. *Sci. Hort. Ams.* 119: 98-102.
11. Liu, W.Q., Kang, L., and Wang, L.J. 2006. Effect of 5-aminolevulinic acid (ALA) on photosynthesis and its relationship with antioxidant enzymes of strawberry leaves. *Acta Bot. Boreal. Occident. Sin.* 26: 57-62.
12. Memon Ambreen, S., Hou, X., Wang, L., and Li, Y. 2009. Promotive effect of 5-amino levulinic acid on chlorophyll, antioxidative enzymes and photosynthesis of pakchoi (*Brassica campestris* ssp. *Chinensis* var. *communis* Tsen et Lee). *Acta Physiol. Plant.* 31: 51-57.



13. Nayar, H., Bains, T.S., and Kumar, S. 2005. Cold stressed chickpea seedlings: effect of cold acclimation, calcium and abscisic acid on cryoprotective solutes and oxidative damage. *Environ. Exp. Bot.* 54: 3. 275-285.
14. Nishihara, E., Kondo, Parvez, M.M., Takahashi, K., Watanabe, K., and Tanaka, K. 2003. Role of 5-aminolevulinic acid (ALA) on active oxygen-scavenging system in NaCl-treated spinach (*Spinacia oleracea*). *Plant Physiol.* 160: 1085-1091.
15. Pukacki, P.M., Kendall, E.J., and McKersie, B.D. 1991. Membrane injury during freezing stress to winter wheat (*Triticum aestivum* L.) crowns. *Plant Physiol.* 138: 516-521.
16. Schwanz, P., and Polle, A. 2001. Differential stress responses of antioxidative systems to drought in pendunculate oak (*Quercus robur*) and maritime pine (*Pinus pinaster*) grown under high CO<sub>2</sub> concentrations. *J. Exp. Bot.* 52: 354. 133-143.
17. Tatar, O., Brueck, H., Gevrek, M.N., and Asch, F. 2010. Physiological responses of two Turkish rice (*Oryza sativa* L.) varieties to salinity. *Turk. J. Agric. For.* 34: 451-459.
18. Van Heerden, P.D.R., Krüger, G.H.J., Loveland, J.E., Parry, M.A.J., and Foyer, C.H. 2003. Dark cold imposes metabolic restrictions on photosynthesis in soybean. *Plant Cell Environ.* 26: 323-337.
19. Wang, L.J., Jiang, W.B., and Huang, J. 2004. Promotion of 5-aminolevulinic acid on photosynthesis of melon (*Cucumis melo*) seedlings under low light and chilling stress conditions. *Physiol. Plant.* 121: 258-264.
20. Watanabe, K., Nishihara, E., Watanabe, S., Tanaka, T., Takashi, K., and Takeuchi, Y. 2006. Enhancement of growth and fruit maturity in 2-year-old grapevines cv. Delaware by 5-aminolevulinic acid. *J. Plant Growth Regul.* 49: 35-42.
21. Wilkinson, S., Clephan, A.L., and Davies, W.J. 2001. Rapid low temperature-induced stomatal closure occurs in cold-tolerant *Commelina communis* leaves but not in cold-sensitive tobacco leaves, via a mechanism that involves apoplastic calcium but not abscisic acid. *Plant Physiol.* 126: 1566-1578.
22. Wu, J.H., Yang, L., and Sun, G.R. 2004. Generation of activated oxygen and change of cell defense enzyme activity in leaves of maize seedling under the stress of low temperature. *BBR.* 4: 456-459.
23. Xing, W., and Rajashekar, C.B. 2001. Glycine betaine involvement in freezing tolerance and water stress in *Arabidopsis thaliana*. *Environ. Exp. Bot.* 46: 1. 21-28.
24. Yadeghari, L.Z., Heidari, R., and Carapetian, J. 2008. The influence of cold acclimation on proline, malondialdehyde (MDA), Total protein and pigments contents in soybean (*Glycine max*) seedlings. *Res. J. Biol. Sci.* 3: 1. 74-79.
25. Zhang, Z.J., Li, H.Z., Zhou, W.J., Takeuchi, Y., and Yoneyama, K. 2006. Effect of 5-aminolevulinic acid on development and salt tolerance of potato (*Solanum tuberosum* L.) microtubers in vitro. *Plant Growth Regul.* 49: 27-34.



## Effect of concentration and application methods of 5-aminolevulinic acid on inducing cold resistance of Soybean

E. Manafi<sup>1</sup>, \*S.A.M. Modarres-Sanavy<sup>2</sup>, M. Agha Alikhani<sup>3</sup>  
and S.M. Modares Vameghi<sup>4</sup>

<sup>1,2,3</sup>M.Sc. Student, Professor and Assistant Prof., Dept. of Agronomy, Tarbiat Modares University, <sup>4</sup>Dept. of Plant Pathology, Tarbiat Modares University

Accepted: 2014/04/26; Received: 2014/06/02

### Abstract

5-aminolevulinic acid (5-ALA) chemical composition has herbicide behavior in high concentration, While, it acts as a growth regulator at low concentrations and causes resistance to various stresses including cold and salinity. Therefore the exogenous application of 5-aminolevulinic acid was investigated to induce cold stress tolerance in young soybean plants (*Glycine max* L.). The experiment was conducted as a randomized complete block design at Tarbiat Modares University, with three replications in 2010-2011. 5-ALA was applied at different concentrations (0, 0.3, 0.6 and 0.6 mM) by seed priming and foliar application at V<sub>4</sub> stage. The experiment was conducted at two temperature treatments (T<sub>1</sub>=10, T<sub>2</sub>=25 °C). After 5-ALA application, the plants were in V<sub>4</sub> stage subjected to cold stress at 10±0.5 °C for 72 h. Cold stress significantly decreased plant growth, relative water content, chlorophyll, photosynthesis and stomatal conductivity while increased electrolyte leakage and proline accumulation. 5-ALA at low concentration (0.3 mM) protected plants against cold stress, by enhancing; plant height, shoot fresh and dry weight, chlorophyll content, photosynthesis, stomatal conductivity as well as relative water content. Superoxide dismutase and catalase activities also increased by application of 5-ALA especially under cold stress condition. In most cases, 5-ALA applied by foliar application method was better than seed priming method. In the other words 5-ALA, which is considered as an endogenous plant growth regulator, could be used effectively to protect soybean plants from the damaging effects of cold stress without any adverse effect on the plant growth.

**Keywords:** 5-aminolevulinic acid, Cold stress, Foliar application, Seed priming, Soybean

---

\* Corresponding Author; Email: modaresa@modares.ac.ir