نشریه تولید گیاهان زراعی
جلد هفتم، شماره دوم، تابستان ۹۳
۱۵۷-۱۷٤
http://ejcp.gau.ac.ir

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

الهه منافی[۱]، *سیدعلی‌محمد مدرس‌ثانوی[۲]، مجید آقا علیخانی[۳] و سیدمرتضی مدرس‌وامقی[۴]

[۱و۲و۳]دانشجوی کارشناسی‌ارشد، استاد و استادیار گروه زراعت، دانشگاه تربیت مدرس،
[٤]کارشناس گروه بیماری‌شناسی، دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ دریافت: ۹۳/۲/٦ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۳/۱۲

چکیده

ترکیب شیمیایی ۵- آمینولوولینیک 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- آمینولوولینیک اسید در القای مقاومت به سرما در گیاهچه‌های سویا (*Glycine max* L.) در دانشگاه تربیت مدرس در سال‌های ۹۰-۱۳۸۹ به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار صورت گرفت. ۵- آمینولوولینیک اسید در غلظت‌های (۰، ۰/۳، ۰/٦ و ۰/۹ میلی‌مولار) از طریق دو روش پیش‌تیمار کردن بذر و محلول‌پاشی در مرحله ٤ برگی به‌کار برده شد. آزمایش در ۲ بخش شامل اعمال تنش و بدون تنش سرما (به‌ترتیب T_1=۱۰ و T_2=۲۵ درجه سانتی‌گراد) صورت گرفت. اعمال تنش سرما (۱۰ درجه سانتی‌گراد) به‌مدت 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- آمینولوولینیک اسید در غلظت ۰/۳ میلی‌مولار با افزایش کلروفیل، هدایت روزنه‌ای، محتوی نسبی آب برگ و فتوسنتز و به‌دنبال 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- آمینولوولینیک اسید به پیش‌تیمار کردن بذر، برتری داشت. به‌عبارتی کاربرد خارجی شبه‌هورمون ۵- آمینولوولینیک اسید در کاهش صدمات حاصل از سرما بدون هیچ‌گونه اثرات کاهشی روی رشد گیاه سویا مؤثر می‌باشد.

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

* مسئول مکاتبه: modaresa@modares.ac.ir

مقدمه

بیش‌تر 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 برخورد دوران رسیدگی دانه به سرمای آخر فصل می‌گردد، که نه‌تنها باعث نقصان وزن دانه و درصد روغن آن می‌شود، بلکه خطر سرمازدگی محصول را افزایش می‌دهد (خواجه‌پور، ۲۰۰۶).

۵- آمینولوولینیک اسید ترکیبی کلیدی برای ساخت مواد پورفیرینی مانند کلروفیل، هِم و فیتوکروم‌ها می‌باشد (ونگ و همکاران، ۲۰۰٤). از مؤثرترین صفات متأثر از سرما، کاهش میزان کلروفیل و فتوسنتز می‌باشد (کوک و همکاران، ۲۰۱۰). کارایی این ماده به‌میزان 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، ۲۰۰٦) در گیاهان می‌شود. پاسخ گیاهان به دماهای پایین و یا بالا می‌تواند با مسدود کردن مسیر ساخت ۵- آمینولوولینیک اسید در ارتباط باشد، چرا که بیوسنتز 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- آمینولوولینیک اسید در غلظت‌های پایین به‌طور برجسته عملکرد جو، سیر، سیب‌زمینی، لوبیا و تربچه را افزایش می‌دهد و یا کاربرد آن بیوسنتز کلروفیل و ظرفیت فتوسنتزی را در کاهوی چینی افزایش داد (ممون‌آمبرین 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 به‌دلیل 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- آمینولوولینیک اسید و همچنین مقایسه میان دو روش کاربرد (بذرمال و محلول‌پاشی) این ماده برای افزایش مقاومت به سرما در گیاه سویا از جمله اهداف موردنظر 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 به‌صورت 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 (به‌ترتیب T_1=۱۰ و T_2=۲۵ درجه سانتی‌گراد) صورت گرفت. روش کاربرد شامل بذرمال (P_1) و محلول‌پاشی (P_2) و سطوح غلظت ۵- آمینولوولینیک اسید شامل (C_1=۰، C_2=۰/۳، C_3=۰/۶ و C_4=۰/۹ میکرومول) بودند. پژوهش در دستگاه اتاقک رشد مدل STC1300، با طول روز و شب، ۱۶ و ۸ ساعت و دمای ۲۸ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب 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 ضدعفونی 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 به‌مدت 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 ضدعفونی و پس از شستشو با آب مقطر، در شرایط آزمایشگاه خشک شده و برای اعمال تیمارهای مختلف ۵- آمینولوولینیک اسید (بذرمال و محلول‌پاشی) به دو قسمت تقسیم گردیدند.

با انجام پیش‌آزمونی طول دوره ۳ ساعت برای قرار گرفتن بذور در محلول‌های موردنظر تعیین شد. پیش‌آزمون در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و عدم وجود نور و با طول دوره‌های زمانی ۱۸، ۱۲، ۶، ٤ 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- آمینولوولینیک اسید به‌مدت ۳ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و عدم وجود نور پیش‌تیمار شدند. پس از طی این دوره بذور با آب مقطر آبکشی و به‌مدت ٢٤ ساعت در شرایط آزمایشگاه

خشک شده و هم‌زمان با بذور پیش‌تیمار نشده در عمق ۳ سانتی‌متر به فاصله ۵ سانتی‌متر 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 ٤ برگی روی نیمی از گیاهچه‌ها محلول‌پاشی ۵- آمینولوولینیک اسید (در غلظت‌های اشاره شده) صورت گرفت. در محلول‌پاشی 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 محلول‌پاشی، نیمی از گیاهان (تیمار بذری، محلول‌پاشی به برگ) به‌مدت ۷۲ ساعت در تنش سرما (۱۰ درجه سانتی‌گراد)، قرار گرفتند و نیمی دیگر از گیاهان به رشد خود در شرایط دمایی قبل (۲۵ درجه سانتی‌گراد) ادامه دادند و هیچ‌گونه تنش دمایی پس از محلول‌پاشی اعمال نگردید. به‌منظور 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 الکترولیت انجام گرفت.

$$[(\text{وزن تازه برگ} - \text{وزن خشک}) \div (\text{وزن اشباع} - \text{وزن خشک})] \times ۱۰۰ \quad (۱)$$

برای اندازه‌گیری تراوش الکترولیت ۰/۱ گرم برگ تازه در ۱۰ سی‌سی آب دیونیزه در لوله درب‌دار ریخته شد. درب آن را بسته و در حمام آب با ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲ ساعت قرار گرفت. سپس هدایت الکتریکی ($EC_۱$) 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 الکترولیت آن‌ها خارج شود. نمونه‌ها پس از خنک شدن تعیین هدایت الکتریکی گردید ($EC_۱$). تراوش الکترولیت با استفاده از رابطه (۲) بیان شد:

$$EL = EC_۱ / EC_۲ \times ۱۰۰ \quad (۲)$$

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 اسپکتروفتومترمدل JBC-CINTRA6 ساخت کشور استرالیا و اندازه‌گیری پرولین با کمک روش ارایه شده توسط بیتس و همکاران (۱۹۷۳)، صورت گرفت. تعیین هدایت روزنه‌ای و فتوسنتز توسط دستگاه اندازه‌گیری فتوسنتز (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- آمینولوولینیک اسید در سویا به‌دلیل 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- آمینولوولینیک اسید تا ۰/٦ 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- آمینولوولینیک 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). به‌نظر می‌رسد این ماده در زدودن گونه‌های فعال اکسیژن با در نظر گرفتن نقش ۵- آمینولوولینیک اسید در بیوسنتز هِم (این ماده یک

عنصر کلیدی برای فعالیت سیتوکروم c در زنجیره تنفس میتوکندری‌ها است) و افزایش فعالیت مولکول‌های زیستی با ساختار هِم (مانند کاتالاز)، دخالت دارد. نشت الکترولیت با محتوی نسبی آب برگ همبستگی مثبت و با هدایت روزنه‌ای و فتوسنتز همبستگی منفی معنی‌داری داشت (جدول ٤). بدین‌ترتیب 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- آمینولوولینیک 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- آمینولوولینیک 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- آمینولوولینیک اسید، کاهش در محتوی کلروفیل کل نسبت به شاهد قابل مشاهده است (جدول ۲). این افزایش و کاهش‌ها در محتوی کلروفیل با کاربرد ۵- آمینولوولینیک اسید را از یک طرف می‌توان به نقش آن در تنظیم کلروفیل و هِم 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- آمینولوولینیک گزارش شده است (بالستراسه و همکاران، ۲۰۱۰). دلیل این افزایش کلروفیل در شرایط تنش و غیرتنش به نقش ۵- آمینولوولینیک اسید برای ساخت مواد پورفیرینی مانند کلروفیل، هِم و فیتوکروم‌ها نسبت داده شده است (ونگ و همکاران، ۲۰۰٤). بیوسنتز ۵- آمینولوولینیک 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- آمینولوولینیک 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 ٤).

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: تیمارهای دمایی و غلظت‌های ۵- آمینولوولینیک 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- آمینولوولینیک اسید، دیده شد. تیمارهای متأثر از تنش سرما با کاربرد ۰/٦ میلی‌مولار از این ماده، بیش‌ترین فعالیت این آنزیم را دارا بودند. با افزایش غلظت بیش از ۰/٦، فعالیت این آنزیم روند کاهشی داشت. گرچه این اختلاف بین غلظت‌های ۰/٦ 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- آمینولوولینیک اسید گزارش شده است (کورکمز و کورکمز، ۲۰۰۹). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برای سمیت‌زدایی از گونه‌های فعال اکسیژن، با دریافت انرژی از مولکول‌های پرانرژی 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- آمینولوولینیک اسید، میزان فتوسنتز و در واقع تولید این مولکول‌های پرانرژی را افزایش داده و از این طریق فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نیز به‌طور غیرمستقیم بهبود می‌یابد. از طرفی این ماده در ساخت هِم نقش کلیدی دارد و کاربرد خارجی آن فعالیت سوپراکسید دیسموتاز را که از هِم 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 ۰/٦ میلی‌مولار، ۵- آمینولوولینیک اسید به‌صورت محلول‌پاشی دیده شد (جدول ۲). در شرایط تنش افزایش غلظت ۵- آمینولوولینیک اسید تا ۰/٦ 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- آمینولوولینیک اسید با غلظت ۰/٦ 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، ۲۰۰٤). آنزیم کاتالاز در زدودن گونه‌های فعال اکسیژن نقش دارد. افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط سرما و با کاربرد ۵- آمینولوولینیک 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 هِم اشاره کرد و از آن‌جایی‌که آنزیم‌هایی چون کاتالاز از هم تشکیل یافته‌اند (نیشیهارا و همکاران، ۲۰۰۳)، با کاربرد ۵- آمینولوولینیک اسید میزان هِم 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- آمینولوولینیک اسید، افزایش پرولین مشاهده شد. بیش‌ترین میزان پرولین در تیمار با غلظت ۰/۹ میلی‌مولار ۵- آمینولوولینیک اسید و کاربرد بذرمال آن در شرایط تنش سرما مشاهده شد (جدول ۲). با اعمال تنش، کاربرد بذرمال ۵- آمینولوولینیک اسید نسبت به محلول‌پاشی افزایش بیش‌تری را در محتوی پرولین ایجاد کرد. در شرایط عدم تنش و محلول‌پاشی ۵- آمینولوولینیک 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 مواجه با سرما در گیاه سویا مطابقت دارد. این مسأله که افزایش پرولین یک سیستم دفاعی محسوب می‌شود و یا این که فقط یکی از علایم 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- آمینولوولینیک اسید نیز گزارش شده است (کورکمز و کورکمز، ۲۰۰۹). چگونگی افزایش پرولین با کاربرد ۵- آمینولوولینیک اسید هم‌چنان بی‌پاسخ است. به‌نظر

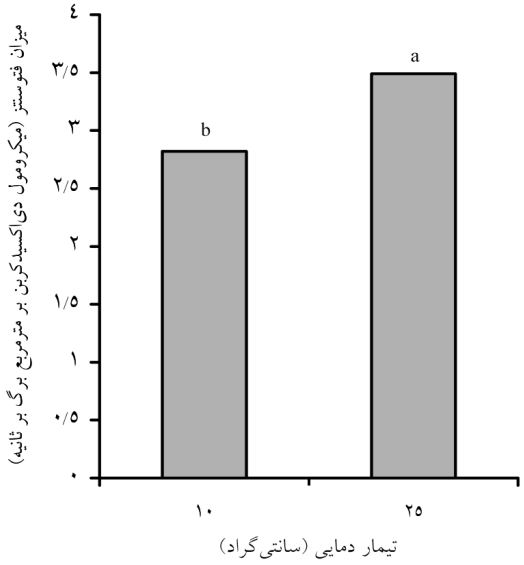
می‌رسد، این ماده در مسیر بیوسنتزی پرولین دخیل است. محتوی پرولین با سوپراکسید دیسموتاز رابطه مثبت و معنی‌داری داشت (جدول ٤)، به‌طوری‌که با افزایش پرولین سوپر اکسید دیسموتاز نیز افزایش یافت.

محتوی نسبی آب برگ: تیمارهای دمایی و غلظت‌های ٥- آمینولوولینیک اسید و اثر متقابل آن‌ها بر میزان محتوی نسبی آب برگ مؤثر بودند (جدول ١). بر هم‌کنش غلظت ٥- آمینولوولینیک اسید و دما نشان می‌دهد که محتوی نسبی آب برگ در شرایط تنش (١٠ درجه سانتی‌گراد) نسبت به شاهد (٢٥ درجه سانتی‌گراد) ٧٦ درصد کاهش می‌یابد. بیش‌ترین محتوی نسبی آب برگ در تیمار با مصرف ٠/٦ میلی‌مولار از این ماده در شرایط غیرتنش، مشاهده شد که نسبت به شاهد (غلظت صفر) ١٩ درصد افزایش نشان داد (جدول ٣). با اعمال تنش سرما تیمار گیاهان با ٠/٦ میلی‌مولار ٥- آمینولوولینیک اسید بیش‌ترین محتوی نسبی آب برگ را ایجاد کرد که نسبت به شاهد (غلظت صفر) ٧٢ 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، ٢٠٠١)، همخوانی دارد. آروکا و همکاران (٢٠٠١) 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 ٤).

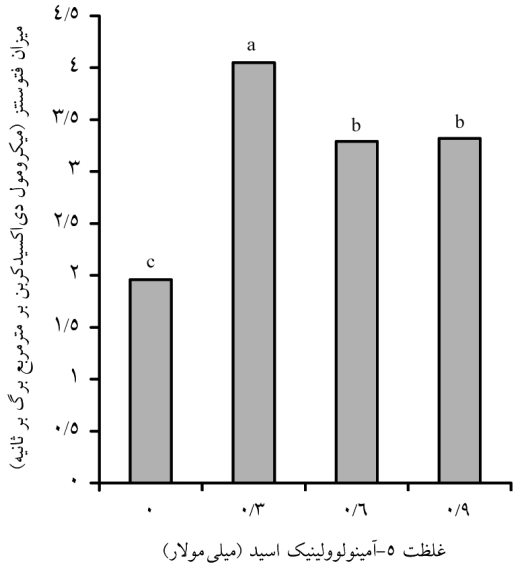
میزان هدایت روزنه‌ای: اثر اصلی و متقابل عوامل آزمایشی بر میزان هدایت روزنه‌ای معنی‌دار بود (جدول ١). کم‌ترین میزان هدایت روزنه‌ای به تیمارهای بدون مصرف ٥- آمینولوولینیک اسید و در معرض سرما اختصاص داشت. در شرایط تنش سرما و کاربرد بذرمال و محلول‌پاشی این ماده، تیمار با غلظت ٠/٦ میلی‌مولار بیش‌ترین هدایت روزنه‌ای را نشان داد (جدول ٢). این در حالی بود که با افزایش غلظت، کاهش هدایت روزنه‌ای مشاهده شد. در تنش سرما غلظت‌های مختلف محلول‌پاشی ٥- آمینولوولینیک اسید تأثیری معنی‌دار بر هدایت روزنه‌ای نداشت. در شرایط غیرتنش و هر دو روش کاربرد، استفاده از محلول‌های غلیظ ٥- آمینولوولینیک اسید باعث افزایش هدایت روزنه‌ای در

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

فتوسنتز: تیمارهای دمایی و غلظت‌های ۵- آمینولوولینیک اسید بر میزان فتوسنتز تأثیرگذار بودند (جدول ۱). میزان فتوسنتز با کاهش دما کاهش معنی‌داری یافت (شکل ۱) و افزایش آن در پی کاربرد ۵- آمینولوولینیک اسید مشاهده شد (شکل ۲). به‌طوری‌که تیمار کاربرد ۰/۳ میلی‌مولار ۵- آمینولوولینیک اسید بیش‌ترین مقدار فتوسنتز در سویا را به همراه داشت. با افزایش غلظت، میزان فتوسنتز با وجود برتری نسبت به شاهد، کاهش یافت. براساس پژوهش‌های انجام شده میان افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و فتوسنتز خالص ارتباط وجود دارد (نیشیهارا 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 فتوسنتز در شرایط تنش افزایش می‌یابد. در پژوهش‌های بسیاری بهبود فتوسنتز به افزایش در میزان کلروفیل در گیاه با کاربرد ۵- آمینولوولینیک 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، فتوسنتز نیز افزایش می‌یابد. از طرفی مشاهده شده است که کاربرد ۵- آمینولوولینیک اسید میزان فتوسنتز را بدون افزایش در محتوی کلروفیل افزایش می‌دهد (لیو و همکاران، ۲۰۰۶). بنابراین افزایش در میزان فتوسنتز با کاربرد این ماده را تنها نمی‌توان به افزایش در محتوی کلروفیل نسبت داد. به احتمال زیاد سایر راه‌کارهای دخیل در فتوسنتز، در این امر تأثیرگذار هستند. برای مثال تأثیر کاربرد این ماده روی برداشت مواد تغذیه‌ای، هدایت روزنه‌ای و سایر فاکتورها می‌تواند در افزایش فتوسنتز در پی داشته باشند. میزان فتوسنتز با وزن تر و خشک اندام هوایی و وزن تر ریشه همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت. بدین‌ترتیب که با افزایش فتوسنتز، وزن تر اندام هوایی و ریشه و وزن خشک اندام هوایی اضافه شد (جدول ٤).



شکل ۱- تأثیر دماهای مختلف روی فتوسنتز برگ سویا.



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

صفات وزن خشک و زیست‌توده: تیمارهای دمایی و غلظت‌های ۵- آمینولوولینیک اسید و اثر متقابل آن‌ها بر وزن تر اندام هوایی معنی‌دار بود در حالی‌که وزن خشک اندام هوایی فقط تحت‌تأثیر عوامل اصلی شامل دما و غلظت قرار گرفت (جدول ۱). اعمال سرما وزن تر اندام هوایی را در گیاهان تیمار نشده به‌شدت 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- آمینولوولینیک 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 ٤). نتایج مشابهی در مورد وزن خشک ریشه مانند کاهش در شرایط سرما و افزایش در پی تیمار با ۵- آمینولوولینیک اسید به‌دست آمد (جدول ۳). وزن تر ریشه تحت‌تأثیر هیچ‌کدام از تیمارها قرار نگرفت ولی تیمارهای دمایی و غلظت‌های ۵- آمینولوولینیک اسید و اثر متقابل آن‌ها بر وزن خشک ریشه تأثیرگذار بودند (جدول ۱). نتایج نشان داد که تیمار با ماده نام 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 به‌میزان فتوسنتز مؤثر روی تولید و تسهیم مواد فتوسنتزی، نسبت داده می‌شود. اثر ۵- آمینولوولینیک اسید روی انتقال مواد آوند آبکش در توجیه این افزایش نیز قابل‌قبول است. نتایجی مشابه، مبنی بر بهبود میزان رشد و فتوسنتز با کاربرد ۵- آمینولوولینیک اسید در غلظت‌های پایین وجود دارد (واتانابه و همکاران، ۲۰۰٦).

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

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		نشت الکترولیت	کلروفیل	سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز	پرولین	محتوی نسبی آب برگ	هدایت روزنه‌ای
تکرار	۲	۲۱/۹۱۷^{ns}	۰/۰۲۰۰^{ns}	۰/٦٤٨٣^{ns}	۰/۰۰٥٥^{ns}	۰/۰۹۱٤^{ns}	۰/٤٤۰۷^{ns}	۰/۰۰۰۰٤^{ns}
دما (T)	۱	۱۹۸۹٤/۹۸**	۰/٤۰٤**	۳۷/۲٥۰٤**	۲/۰۰۰۸**	۷۱۲/۱۳٥**	۲۲۹/۸٥٤**	۰/۰۰٥۰**
روش کاربرد (P)	۱	۳٦/۱٥۷^{ns}	۰/۰۲۳۱^{ns}	۰/۰۱٥۳^{ns}	۱/۲۰۲۰**	۲٤۸/۹۸**	۰/٦۱۳^{ns}	۰/۰۰۱۲**
غلظت (C)	۳	۲٦٦۲/۷۱۹**	۰/٤۰۷**	۷/۸۷۰۱**	۳/٦۰٦۲**	٤٦۷/۳۸**	٥/٦۲۷**	۰/۰۰۱٦**
T × P	۱	٦۹/۰۲٤*	۰/٤٦۲**	۰/۲۷٦۲^{ns}	۰/٦٥٥۲**	۲۰/۷۷۸**	۰/۲۱٦^{ns}	۰/۰۰۲۲**
T × C	۳	۲٤۱٥/۷٦**	۰/۷۸۰**	۱/۹٥٥۱*	۰/۱۲۱٥*	۸۸/۷۷۳**	۰/۲۹۸**	۰/۰۰۱۹**
P× C	۳	۳۷/۳۹*	۰/۱۰۲**	۰/۰۳۸۹^{ns}	۱/۹٥۰۲**	٦۹/۰۸۹**	۰/۰٥۸۹^{ns}	۰/۰۰۰۹**
T × P × C	۳	٤۰/۷٦۳*	۰/۲٥۲**	۰/۰۹۳۲^{ns}	۱/٥۷۱۰**	٦/٥۱۳**	۰/۱۰۳٥^{ns}	۰/۰۰۰٤۹**
خطای آزمایشی	۳۰	۱۱/٥٥٦	۰/۰۱۷۲	۰/٥۱٦۹	۰/۰۲۸۹	۰/۳٦٦	۰/۱٥۲	۰/۰۰۰۰٥
ضریب تغییرات		۱۰/۱٦۲	٦/۱٤٦	۲۰/۰٦	۱۱/۱٥۰	٤/۲۲۱	۱۰/۹۸	۱۷/۸٥

*، ** و ^{ns} به‌ترتیب معنی‌داری در سطح ۵ درصد، ۱ درصد و عدم معنی‌داری می‌باشد.

ادامه جدول ۱-

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		فتوسنتز	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه
تکرار	۲	۰/۰٦۷۲^{ns}	۰/۱٤۳^{ns}	۰/۲٤۸^{ns}	۰/۰۰۲^{ns}	۰/۰۲۲۱^{ns}
دما (T)	۱	٥/٤۳٤**	۲/٤٥۲**	٦/۰٥٤**	۰/۰۱۲٦^{ns}	۰/٤٤۲**
روش کاربرد (P)	۱	۰/۱۱۹^{ns}	۰/۰۱۰۷^{ns}	۰/۰۰۷۷^{ns}	۰/۰۱٦۳^{ns}	۰/۰۰۰۷^{ns}
غلظت (C)	۳	۹/۱۱۸**	۱۲/۰٥۷**	٦/٥٦۰**	۰/۰۹۳۲^{ns}	۰/۳۲۹**
T × P	۱	۰/۰۰٤^{ns}	۰/۰٦٤٤^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۱^{ns}	۰/۰٤٦٤^{ns}	۰/۰۰۰۳^{ns}
T × C	۳	۰/۸٤٥^{ns}	۳/۳۱٦**	۰/۳۹۸^{ns}	۰/۰۰۹۹^{ns}	۰/۰۳۸۷*
P× C	۳	۰/۲٦۹^{ns}	۰/۱۰۰٥^{ns}	۰/۰۱۱٦^{ns}	۰/۰٥۸۲^{ns}	۰/۰۰۱۹٦^{ns}
T × P × C	۳	۰/۰۳۱^{ns}	۰/۳۰۰۷^{ns}	۰/۱۰۰۸^{ns}	۰/۰۲٦۸^{ns}	۰/۰۰۱۸۸^{ns}
خطای آزمایشی	۳۰	۰/۲۹۷	۰/۱٦٦	۰/۱٦۲	۰/۰٤٤٤	۰/۰۱۰٦
ضریب تغییرات		۱۷/۲۹٥	۹/٤٤	۲٥/۲۹	۱۸/٤۸	۲٦/۲٦

*، ** و ^{ns} به‌ترتیب معنی‌داری در سطح ۵ درصد، ۱ درصد و عدم معنی‌داری می‌باشد.

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

دما (درجه سانتی‌گراد)	روش کاربرد	غلظت (میلی‌مولار)	نشت الکترولیت (درصد)	کلروفیل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)	کاتالاز (تغییرات جذب به میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه)	پرولین (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)	هدایت روزنه‌ای (میکرومول آب بر مترمربع بر ثانیه)
۱۰ درجه سانتی‌گراد	بذرمال	۰	۸۸/۸۳۰^{a}	۱/۷۶۰^{d}	۱/۳۸^{bcd}	۹/۰۲^{f}	۰/۰۱۶^{c}
		۰/۳	۶۵/۸۵۳^{b}	۲/۷۲۳^{a}	۱/۷۲^{b}	۱۸/۲۹^{de}	۰/۰۴۸^{b}
		۰/۶	۲۳/۶۷۰^{e}	۱/۹۴۹^{cd}	۲/۴۵^{a}	۲۲/۸۸^{b}	۰/۰۸۳^{a}
	محلول‌پاشی	۰/۹	۴۸/۷۰۷^{c}	۱/۴۲۸^{e}	۱/۲۱^{d}	۲۹/۰۶^{a}	۰/۰۲۲^{c}
		۰	۸۵/۲۷۳^{a}	۱/۷۷۷^{d}	۱/۲۹^{cd}	۹/۲۵^{f}	۰/۰۱۵^{c}
		۰/۳	۶۵/۷۴۷^{b}	۲/۴۰۹^{bcd}	۱/۶۵^{bc}	۱۷/۱۴^{e}	۰/۰۱۹^{c}
		۰/۶	۱۵/۸۲۷^{e}	۲/۰۵۱^{fg}	۲/۶۸^{a}	۱۸/۵۹^{d}	۰/۰۲۶^{c}
		۰/۹	۳۶/۵۶۳^{d}	۲/۲۳۲^{bc}	۱/۴۷^{bcd}	۲۱/۳۱^{c}	۰/۰۱۵^{c}
۲۵ درجه سانتی‌گراد	بذرمال	۰	۱۳/۸۶۰^{ab}	۲/۳۷۰^{b}	۱/۱۳۵^{cd}	۴/۲۵۴^{f}	۰/۰۴۳^{c}
		۰/۳	۱۲/۰۷۳^{b}	۲/۱۷۶^{cd}	۰/۹۱^{e}	۶/۷۳^{d}	۰/۰۴۰^{c}
		۰/۶	۱۲/۰۴۰^{b}	۲/۲۱۳^{c}	۰/۷۲^{f}	۲۴/۴۱^{a}	۰/۰۵۴^{b}
	محلول‌پاشی	۰/۹	۱۳/۰۶۷^{ab}	۲/۶۲۰^{a}	۱/۴۲۰^{b}	۱۸/۳۰^{b}	۰/ ۰۵۸^{b}
		۰	۱۵/۳۰۳^{a}	۲/۴۴۹^{b}	۰/۶۳^{f}	۳/۹۰^{f}	۰/۰۴۲^{c}
		۰/۳	۱۱/۶۶۷^{b}	۲/۲۰۵^{c}	۱/۲۷۲^{c}	۵/۸۸^{e}	۰/۰۲۷^{d}
		۰/۶	۱۲/۰۶۰^{b}	۱/۶۹۷^{e}	۳/۴۷۴^{a}	۱۴/۳۲^{c}	۰/۰۵۶^{b}
		۰/۹	۱۴/۶۶^{a}	۲/۰۶۷^{d}	۱/۰۱۷^{de}	۶/۱۱^{de}	۰/۰۸۶^{a}

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

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

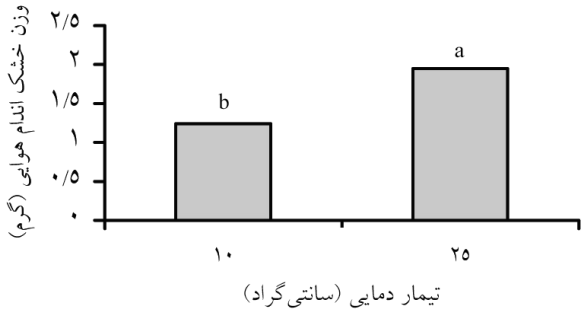
دما (درجه سانتی‌گراد)	غلظت (میلی‌مولار)	محتوی نسبی آب برگ (درصد)	سوپراکسید دیسموتاز (تغییرات جذب به میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه)	وزن تر اندام هوایی (گرم/ گیاه)	وزن خشک ریشه (گرم/ گیاه)
۱۰ درجه سانتی‌گراد	۰	۱/۱۸^{fg}	۲/۹۲^{cd}	۲/۳۸^{d}	۰/۱۹^{e}
	۰/۳	۱/۵۰^{f}	۴/۰۹^{b}	۵/۶۹^{a}	۰/۲۴^{e}
	۰/۶	۲/۰۴^{e}	۵/۵۵^{a}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

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

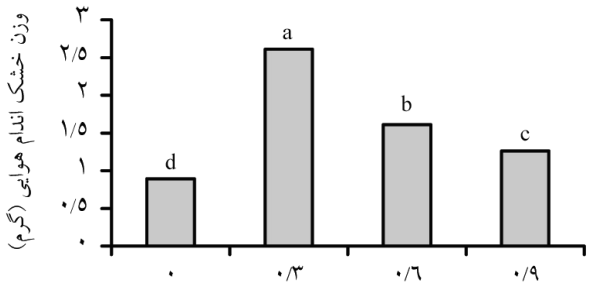
جدول ٤- همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده روی گیاه سویا.

صفات اندازه‌گیری شده	١	٢	٣	٤	٥	٦	٧	٨	٩	١٠
وزن تر اندام هوایی (١)	١									
وزن خشک اندام هوایی (٢)	٠/٧٢**	١								
وزن تر ریشه (٣)	٠/٦٣**	٠/٤٤	١							
محتوی نسبی آب برگ (٤)	٠/٣٦	٠/٥٦*	٠/٢٨	١						
نشت الکترولیت (٥)	-٠/٤١	-٠/٣٦	-٠/٢٩	-٠/٧٦**	١					
کلروفیل کل (٦)	٠/٥٥*	٠/٣٥	٠/٠٤	٠/٢٢	-٠/٣٠	١				
هدایت روزنه‌ای (٧)	٠/١٨	٠/١٤	٠/٣٤	٠/٤٨	-٠/٥٥*	٠/١٩	١			
فتوسنتز (٨)	٠/٧٢**	٠/٨٠**	٠/٥٦*	٠/٤٢	-٠/٥٥*	٠/٥٠*	٠/٤٥	١		
سوپراکسید دیسموتاز (٩)	٠/٠٣	-٠/٣٢	٠/١٥	-٠/٧٠**	٠/١٧	-٠/١٥	-٠/٠٦	٠/٠٤	١	
پرولین (١٠)	٠/٠٨	-٠/١٥	٠/١	-٠/٤٣	٠/١٠	-٠/٠٣	-٠/٠٠٥	٠/١٠	٠/٧٧**	١

بدون علامت، * و ** به‌ترتیب بیانگر غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح ٥ و ١ درصد می‌باشند.



شکل ٣- تأثیر تیمار دمایی بر وزن خشک اندام هوایی سویا.



شکل ٤- تأثیر غلظت‌های مختلف ٥- آمینولوولینیک اسید بر وزن خشک اندام هوایی سویا.

نتیجه‌گیری کلی

این آزمایش نشان داد که در اکثر صفات مورد بررسی محلول‌پاشی ۵- آمینولوولینیک اسید نسبت به پیش‌تیمار کردن بذر، برتری داشت. بدین‌ترتیب کاربرد خارجی شبه‌هورمون ۵- آمینولوولینیک اسید در کاهش صدمات حاصل از سرما بدون هیچ‌گونه اثرات کاهشی روی رشد گیاه سویا مؤثر می‌باشد.

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. Occurence 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. Hortic-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 levulenic 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. Nayyar, 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_2 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., Krüge, 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. Phisiol. 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 seeding 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 prolin, malondialdehyd (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.

EJCP., Vol. 7 (2): 157-174
http://ejcp.gau.ac.ir

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

E. Manafi[1], *S.A.M. Modarres-Sanavy[2], M. Agha Alikhani[3] and S.M. Modares Vameghi[4]

[1,2,3]M.Sc. Student, Professor and Assistant Prof., Dept. of Agronomy, Tarbiat Modares University, [4]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_4 stage. The experiment was conducted at two temperature treatments (T_1=10, T_2=25 ºC). After 5-ALA application, the plants were in V_4 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