Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:59 IRDT on Tuesday April 20th 2021

تأثیر سالیسیلیک اسید در کاهش اثرات تنش شوری بر صفات رشدی گیاه سیاه دانه (*Nigella sativa* L.)

بتول زارعی، آرش فاضلی* و زهرا طهماسبی

گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۲/۰۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۰۷/۱۲)

چکیده

سیاه دانه گیاهی یک ساله از خانواده آلاله است که ارزش دارویی زیادی دارد همچنین در صنایع غذایی و فرآورده‌های آرایشی بهداشتی کاربرد دارد. سالیسیلیک اسید یک تنظیم‌کننده رشد درونی، با ماهیت فنلی است که در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی نقش حیاتی دارد و باعث حفاظت در مقابل تنش‌های محیطی می‌شود. به منظور بررسی اثر تنش شوری ومحلول پاشی سالیسیلیک اسید بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک شامل کلروفیلa، کلروفیلb، کلروفیل کل، کاروتنوئید، پرولین، مالون دی‌آلدئید، آلدئیدها، لیپوکسیژناز و گایوکل پراکسیداز در سیاه دانه (*Nigella sativa* L.) ، آزمایشی در سال ۱۳۹۵ در گلخانه دانشگاه ایلام، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل تنش شوری در سه سطح شامل صفر (شاهد)، ۲۵و ۷۵ میلی‌مولار و عامل سالیسیلیک اسید در سه سطح عدم کاربرد (شاهد)، ۰/۷۵، ۱/۵ میلی‌مولار بود. نتایج نشان داد که تنش شوری باعث کاهش معنی‌دار کلروفیلa، کلروفیلb، کلروفیل کل، کاروتنوئید و افزایش معنی‌دار پرولین،آنزیم لیپوکسیژناز، مالون دی آلدئید و سایر آلدئیدها گردید. فعالیت گایوکل پراکسیداز در تیمارهای متفاوت سالیسیلیک اسید افزایش یافته است در حالیکه در شرایط تنش شوری، تیمار سالیسیلیک اسید موجب افزایش کلروفیلa، کلروفیلb، کلروفیل کل، کاروتنوئید، پرولین و گایوکل پراکسیداز شد، اما مالون دی‌آلدئید، سایر آلدئیدها و لیپوکسیژناز کاهش یافت. در مجموع، بر اساس نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد پیش تیمار سالیسیلیک اسید اثرات مضر تنش شوری در گیاه سیاهدانه را کاهش داده است.

واژه های کلیدی: پرولین، کارتنوئید، کلروفیل، گایوکل پراکسیداز، لیپوکسیژناز، مالون دی آلدئید

مقدمه

دانه گیاه سیاه دانه منبع غنی از متابولیت‌های ثانویه به خصوص مونوترپن‌ها می‌باشد که کاربردهای صنعتی، تجاری و پزشکی فراوانی برای آن‌ها ذکر شده است (D,Antuono *et al.*, 2002). سیاه دانه حاوی انواع مهمی از مونوترپن‌ها از جمله تایموکینون و تری ترپنوئیدها می‌باشد. در سال‌های اخیر بر روی سیاه دانه تحقیقات زیادی صورت گرفته است. سیاه دانه و روغن ضروری و خام آن به صورت گسترده در غذاها و داروهای سنتی استفاده می‌شود و سیاهدانه به خاطر ارزش غذایی و فعالیت‌های بیولوژیکی آن مورد بررسی قرار می‌گیرد. روغن دانه‌های آن ضد دیابت، از بین برنده درد، ایمن سازبدن، ضد اسپاسم، ضد آماس، ضد برونشیت، محافظ کبد، ضد

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: a.fazeli@ilam.ac.ir

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:59 IRDT on Tuesday April 20th 2021

حساسیت، محافظ کلیه و دارای خصوصیات و فعالیت‌های آنتی اکسیدانی است. سیاهدانه گیاهی معجزه آساست که به خاطر خصوصیات بسیارش هیچ اثر جانبی برای بدن ندارد و از آن با نام دانه طلایی یاد می‌گردد (Ramadan, 2007). بررسی‌های انجام شده نشان داده که ساخت مواد مؤثره گیاهان دارویی تحت تأثیر ژنوتیپ و عوامل محیطی است (Filippo *et al.*, 2002). تنش شوری از تنش های غیرزیستی مهم است که اثرات زیان باری بر عملکرد گیاه و کیفیت محصول دارد. همه گونه‌های گیاهی در محدوده‌ای از شوری که هیچ اثر معنی‌داری بر رشد نداشته باشند، رشد می‌کنند(Gerhart *et al.*, 2006). با مطالعه اثر تیمارهای مختلف شوری بر روی جوانه زنی و شاخص‌های رشد سیاه دانه، مشاهده کردند که با افزایش شوری وزن ساقه، ریشه، و سطح برگ کاهش یافت. شوری به‌عنوان یکی از تنش‌های اصلی محیط به حضور غلظت بالای نمک‌های محلول در خاک اطراف ریشه مربوط می‌شود. غلظت‌های بالای نمک‌های محلول به واسطه افزایش فشار اسمزی، سمیت یونی و با محدود کردن جذب آب توسط ریشه، رشد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Jouyban, 2012). رشد گیاه نتیجه فرآیندهای فیزیولوژیکی منظم و کامل است مهار رشد گیاه توسط عوامل محیطی را نمی‌توان تنها به یک فرآیند فیزیولوژیکی خاص نسبت داد. اما پدیده فیزیولوژیکی غالب، فتوسنتز است. کارایی فتوسنتز بستگی به توالی پروسه‌های متابولیکی نظیر واکنش‌های فتوشیمیایی، آنزیم‌های دخیل تثبیت کردن، ساختار دستگاه فتوسنتزی و انتقال حدواسط‌های فتوسنتزی بین اجزای سلولی دارد. بنابراین در تنش شوری آنچه فتوسنتز را تحت تأثیر قرار می‌دهد، کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی(شامل کلروفیل و کارتنوئید)، کاهش سطح برگ، کاهش هدایت مزوفیلی می‌باشد(Parida and Das, 2005). افزایش پرولین ناشی از افزایش مقدار کلرید سدیم را می‌توان چنین توجیه کرد که آنزیم‌های مسیر گلوتامات تحت تنش کلرید سدیم، فعال شده و سنتز پرولین افزایش می‌یابد، زیرا کلرید سدیم موجب تحریک ژن‌های سنتز کننده این آنزیم‌ها می‌شود (Ashraf and Razmjou, 2010). گزارش‌های متعددی مبنی بر کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان تحت تنش شوری وجود دارد، ازجمله می‌توان گزارشی بر روی *Withania somnifera* (Jaleel and Azooz, 2009) و سیاه دانه (قربانلی و همکاران، ۱۳۸۹) اشاره کرد. پژوهش‌گران مختلف گزارش‌هایی در مورد تأثیر تنش شوری بر کاهش پارامترهای رشد در گیاه دارویی پریوش (Askary *et al.*, 2016)، تاج الملوک (گروسی و همکاران، ۱۳۹۰)، بابونه آلمانی (Salimi *et al.*, 2012)، گیاه اشنان (حیدرنژاد و همکاران، ۱۳۹٤) و توتون (حاتم‌نیا و همکاران، ۱۳۹٦) گزارش نموده‌اند. افزایش مقاومت گیاهان از راه‌های مختلف شامل به‌نژادی و استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد عملی است. در مقایسه با روش‌های به‌نژادی که اغلب بلندمدت و هزینه‌بردار هستند، استفاده از مواد شیمیایی مانند سالیسیلیک اسید، جاسمونیک اسید و غیره آسان‌تر و ارزان‌تر است. سالیسیلیک اسید نقش مهمی در مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی ایفا می‌کند و بر رشد گیاه، جوانه‌زنی دانه، ساختار غشاء، جذب و انتقال یون، سرعت فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، مقدار کلروفیل و گلدهی تحت این شرایط تأثیر می‌گذارد (Belkhadi *et al.*, 2010). اسید آمینه پرولین در گستره‌ی وسیعی از گیاهان در پاسخ به تنش‌های مختلف نظیر شوری و خشکی تجمع می‌یابد. پرولین به عنوان قسمتی از سیگنال تنشی می‌باشد که در پاسخ‌های سازشی نقش دارد. پرولین می‌تواند باعث القای بیان ژن‌های پاسخ دهنده به تنش خشکی و شوری شود که در پروموتورشان دارای عناصر پاسخ دهنده به پرولین می‌باشند (Orcutt and Nilsen, 2000). پژوهش‌گران مختلف گزارش‌هایی در مورد تاثیر تنش شوری بر پارامترهای رشد و کاهش و تخفیف‌دهندگی سالیسیلیک اسید در گیاهان دارویی درمنه (Eskandari *et al.*, 2013)، مریم گلی(Gholami *et al.*, 2013)، شیرین بیان (Behnamnia and Shenavai Zare 2014) و سویا (شهبازی و همکاران، ۱۳۹٤) گزارش نموده‌اند. هدف از این پژوهش ارزیابی، کاربرد سالیسیلیک اسید بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و تأثیر

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:59 IRDT on Tuesday April 20th 2021

آنها بر کاهش خسارت گیاه سیاهدانه در برابر تنش شوری می‌باشد که امکان رشد گیاه را در مناطق شور میسر می‌نماید.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر سالیسیلیک اسید در شرایط تنش شوری بر خصوصیات رشدی گیاه دارویی سیاهدانه، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۱۳۹۵ در گلخانه دانشگاه ایلام به اجرا در آمد که در آن عامل شوری کلرید سدیم در سه سطح شامل صفر (شاهد بدون شوری)، ۲۵و۷۵ میلی مولار(قربانلی و همکاران، ۱۳۸۹) ومحلول پاشی سالیسیلیک اسید در سه سطح عدم کاربرد (شاهد)، ۰/۷۵، ۱/۵ میلی مولار(Elyasi *et al*., 2016) بود. از نور طبیعی در دوره رشد گیاهان استفاده گردید. میانگین دمای گلخانه ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود. بذرها ابتدا با بنومیل به نسبت دو در هزار ضدعفونی شد سپس در گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۲۰ سانتی متر کاشته شدند. خاک مورد استفاده در این پژوهش دارای ترکیب ماسه رس و هومـوس به نسبت ۱: ۱: ۱ بود. گیاهان بعد از حدود ۱۲ روز جوانه زدند و گیاهچه‌ها در مرحله سه تا چهار برگی تنک گردید و در هر گلدان ۱۰ بوته نگه داشته شد. سپس گیاهچه‌های حاصل به مدت سه هفته تحت تنش شوری و دو بار محلول پاشی سالیسیلیک اسید قرار گرفتند. در نهایت نمونه‌های برگی در داخل تانک ازت گذاشته شد و نمونه‌ها به فریزر ۸۰- منتقل شدند.

سنجش رنگدانه‌های فتوسنتزی: برای سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئید از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) استفاده شد. ۰/۱ گرم از برگ های تازه در هاون چینی حاوی ۱۵ میلی لیتر استون ۸۰ در صد سائیده شد و پس از صاف کردن، جذب آنها با دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲ نانومتر خوانده شد. جهت تنظیم دستگاه از استون ۸۰ درصد به عنوان شاهد استفاده گردید. غلظت رنگیزه‌های گیاهی با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه گردید.

$$Chl.a = (12.25A663.2 - 2.79A646.8)$$
$$Chl.b = (21.21A646.8 - 5.1\ A663.2)$$
$$Chl.T = Chl.a + Chl.b$$
$$Car = [(1000A470-1.8\ Chl.a-85.02\ Chl.b)/198]$$

اندازه‌گیری مقدار پرولین: مقدار پرولین براساس روش Bates (۱۹۷۳) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. ابتدا ۰/۲ گرم بافت تازه برگی در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر محلول اسید سولفوسالسیلیک (سه درصد) سائیده شد و مخلوط یکنواختی تهیه گردید. عصاره حاصل به مدت ۵ دقیقه در ده هزار دور سانتریفیوژ شد و فاز مایع بالایی برای اندازه‌گیری مقدار پرولین استفاده شد.

روش اندازه‌گیری پرولین: دو میلی‌لیتر از مایع رویی حاصل از سانتریفیوژ عصاره با ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال مخلوط گردید و یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حمام آب گرم قرار گرفت. بعد از این مدت جهت قطع انجام کلیه واکنش‌ها، لوله‌های محتوی مخلوط در حمام آب سرد قرار داده و سپس ٤ میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط اضافه شد و لوله‌ها به خوبی ورتکس شدند. با ثابت نگه‌داشتن لوله‌ها به مدت ۲۰-۱۵ دقیقه، دو لایه مجزا تشکیل شد از فاز رنگی فوقانی که حاوی تولوئن و پرولین بود برای اندازه‌گیری غلظت پرولین استفاده گردید.

جذب این ماده رنگی در طول موج ۵۲۰ نانومتر تعیین و مقدار پرولین در هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید. نتایج بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

رسم منحنی استاندارد: برای رسم منحنی استاندارد پرولین، غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ٤۰، ٦۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکرومول بر لیتر پرولین تهیه شد ومنحنی جذب بر حسب غلظت رسم شد و از معادله خطی آن برای محاسبه غلظت پرولین استفاده شد.

سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپیدها: برای سنجش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، غلظت مالون دآلدئید و سایر آلدئیدها که محصولات اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع هستند، اندازه‌گیری شد.

سنجش غلظت مالون دآلدئید (MDA): اندازه‌گیری غلظت مالون دآلدئید به روش Heath و Packer (۱۹٦۹) انجام شد. طبق این روش ۰/۲ گرم از بافت تازه برگی در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (یک درصد) سائیده

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:59 IRDT on Tuesday April 20th 2021

شد. عصاره حاصل با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه در ده هزار دور، سانتریفیوژ شد. به یک میلی‌لیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ، ۵ میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید (۲۰ درصد) که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیوتیک بود، اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حمام آب گرم قرار داده شد. سپس بلافاصله در حمام یخ سرد گردید و دوباره مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در ده هزار دور سانتریفیوژ گردید. شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. جذب بقیه رنگیزه‌های غیر اختصاصی در طول موج ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردید. برای محاسبه غلظت مالون دآلدئید از ضریب خاموشی $۱/۵۵ \times ۱۰^{-۵}$ $cm^{-۱}M^{-۱}$ استفاده و نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب میکرومول بر گرم وزن‌تر محاسبه گردید (Heath and Packer, 1969).

سنجش سایر آلدئیدها: برای اندازه‌گیری سایر آلدئیدها ۰/۲ گرم از بافت تازه برگی در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (یک درصد) سائیده شد. عصاره حاصل با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه در ده هزار دور، سانتریفیوژ شد. به یک میلی‌لیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ، ۵ میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید (۲۰ درصد) که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیوتیک بود، اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حمام آب گرم قرار داده شد. سپس بلافاصله در حمام یخ سرد گردید و دوباره مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در ده هزار دور سانتریفیوژ گردید. شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتوفتومتر در طول موج ٤٥٥ نانومتر خوانده شد. جذب بقیه رنگیزه‌های غیر اختصاصی در طول موج ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردید. برای محاسبه غلظت مالون دآلدئید از ضریب خاموشی $۰/٤٥٧ \times ۱۰^{۵}$ M^{-1} $cm^{-۱}$ استفاده و نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه گردید (Meirs *et al* 1992).

سنجش لیپوکسیژناز: فعالیت این آنزیم بر اساس روش Minguez-Mosquera و همکاران (۱۹۹۳) انجام گرفت. در این روش مخلوط واکنش حاوی لینولئیک اسید ۰/۵ میلی‌مولار به عنوان سوبسترا، بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار و ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود واکنش به مدت یک دقیقه در ۳۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. سپس جذب حاصل از واکنش، در ۲۳٤ نانومتر اندازه گیری و با استفاده ضریب خاموشی ۲۵۰۰۰ M^{-1} $cm^{-۱}$، فعالیت آنزیم به ازای میلی‌گرم پروتئین موجود در عصاره آنزیمی گزارش گردید. یک واحد آنزیمی مقدار آنزیمی است که یک میکرو مولار لینولئیک اسید را در یک دقیقه مورد استفاده قرار می‌دهد.

سنجش آنزیم گایوکل پراکسیداز: سنجش فعالیت آنزیم گایوکل پراکسیداز با استفاده از گایوکل و اندازه گیری میزان جذب تتراگایوکل (حاصل اکسیداسیون گایوکل)، در طول موج٤٧٠ نانومتر انجام گرفت. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۵۰میلی‌مولار، پراکسید هیدروژن و گایوکل می‌باشد. واکنش با افزودن ۲۰میکرولیتر عصاره آنزیمی به مخلوط واکنش در ۲۵ درجه سانتی‌گراد آغاز گردید. با استفاده از تغییرات جذب در سه دقیقه در ٤٧٠ نانومتر، ضریب خاموشی تتراگایوکل $۲۵/۵$ mM $cm^{-۱}$ و فرمول $A=\varepsilon bc$، مقدار تتراگایوکل تشکیل شده، محاسبه شد (Plewa *et al*., 1991). جهت تجزیه داده‌ها ابتدا مفروضات تجزیه واریانس از جمله نرمال بودن داده‌ها و عدم وجود داده‌های پرت با استفاده از نرم‌افزار Minitab 16 بررسی و تأیید شد. پس از تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از برنامه SAS، مقایسه میانگین با روش LSD در سطح پنج درصد انجام شد. جهت رسم شکل‌ها از برنامه EXCEL 2010 استفاده شد.

نتایج

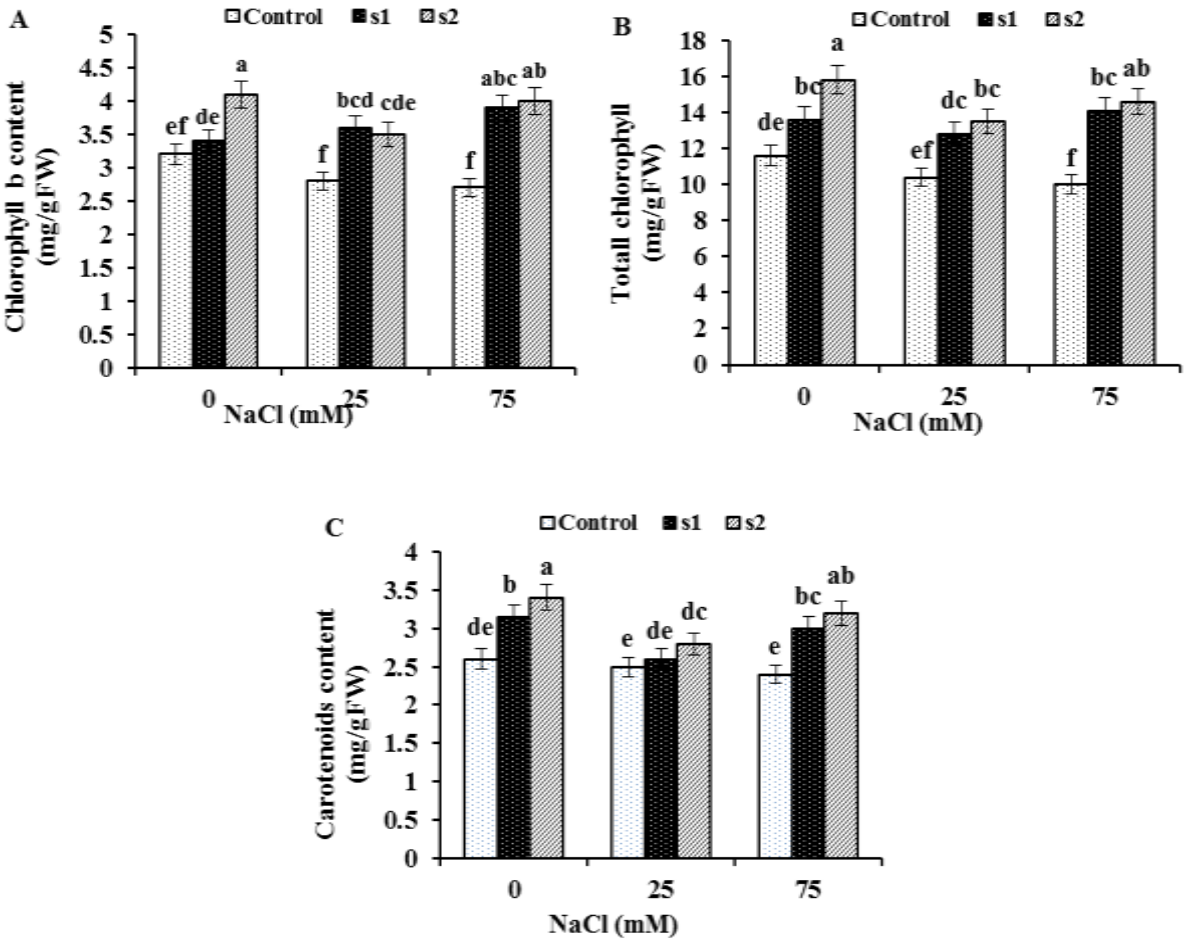
نتایج حاصل از تجزیه واریانس کلروفیل و کاروتنوئید نشان داد که تأثیر سالیسیلیک و تنش شوری بر کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها معنی‌دار بود(جدول ۱). تنش شوری مقدار کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها نسبت به گیاهان شاهد کاهش داد. تیمار سالیسیلیک اسید مقدار کلروفیل b (شکل ۱-A)، کلروفیل کل(شکل ۱-B)، کاروتنوئیدها (شکل ۱-C) را

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:59 IRDT on Tuesday April 20th 2021

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در گیاه دارویی سیاه‌دانه

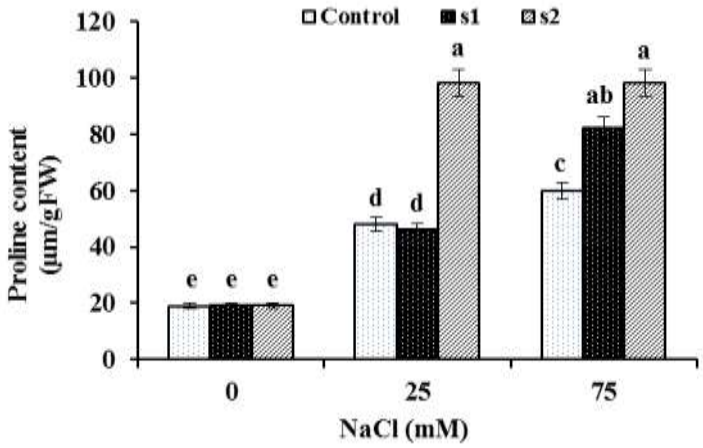
منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید	پرولین
سالسیلیک اسید	۲	۲٤/۳٥**	۱/٥٥**	۳۸/٤**	۰/۹۳**	۸/۹**
شوری	۲	۲/٥٦*	۰/٦۱**	٤/٥**	۰/۳۹**	۲/۱**
سالسیلیک × شوری	٤	۰/۹٦ns	۰/۲٤**	۱/۳٦*	۰/۰۸*	۰/۷**
خطا	۱۸	۰/۹۸	۰/۰٥	۰/٦	۰/۰۱	۰/۰۲
ضریب تغییرات		۱۰/٦۹	٦/٤۸	٦/۱۹	٤/۸٥	۳/۱۷

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ٥٪ و ۱٪.



شکل ۱- اثر سالیسیلیک اسید بر کلروفیل b (A)، کلروفیل کل (B)، کاروتنوئید (C) در برگ‌های سیاه دانه تحت شرایط کنترل و تنش شوری. میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح ٥ درصد مقایسه شدند. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند (S1: ۰/۷٥ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک ، S2: ۱/٥ میلی‌مولار).

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:59 IRDT on Tuesday April 20th 2021



شکل ۲- اثر سالیسیلیک اسید بر پرولین در برگ‌های سیاه دانه تحت شرایط کنترل و تنش شوری. میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح ۵ درصد مقایسه شدند. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند (S1: ۰/۷۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید، S2: ۱/۵ میلی‌مولار).

هم در شرایط کنترل و هم در شرایط تنش افزایش داد. در مجموع، غلظت ۱/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید، بیشترین مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی را هم در شرایط کنترل و هم در شرایط تنش شوری به خود اختصاص داد.

کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی یکی از اثرات تنش‌های محیطی نظیر شوری و خشکی می‌باشد. این کاهش به نوع گیاه، مدت و شدت تنش و مرحله نموی گیاه بستگی دارد. در این بررسی، تنش شوری موجب کاهش مقدار کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در گیاه سیاه دانه گردید (شکل ۱).

پرولین: تأثیر سالیسیلیک اسید و تنش بر پرولین معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین حاصل از سنجش پرولین، در شکل ۲ نشان داده شده است. همانطور که در شکل مشاهده می‌شود تنش شوری مقدار پرولین را در برگ‌های سیاه دانه به‌طور معنی‌داری افزایش داده است. تیمار سالیسیلیک اسید در شرایط کنترل، اثری بر مقدار پرولین برگ نداشت ولی در شرایط تنش شوری، غلظت ۱/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید باعث افزایش مقدار پرولین در مقایسه با گیاهانی شد که با سالیسیلیک اسید تیمار نشده بودند.

مالون دی‌آلدئید، سایر آلدئیدها و لیپوکسیژناز: مقدار مالون دی‌آلدئید و سایر آلدئیدها به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید در این تحقیق اندازه‌گیری شد. مقدار مالون دآلدئید و سایر آلدئیدها در سطوح شوری و سالیسیلیک اسید معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین نشان داد که تنش شوری باعث افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء می‌شود و این افزایش از نظر آماری معنی‌دار بود. تیمار با سالیسیلیک اسید در شرایط کنترل اثری بر مقدار مالون دی-آلدئید (شکل ۳-A)، و سایر آلدئیدها (شکل ۳-B) نداشت. اما در شرایط تنش شوری باعث کاهش صفات مذکور گردید. در این مطالعه تنش شوری مقدار مالون دی‌آلدئید و سایر آلدئیدها را افزایش داد.

تأثیر سالیسیلیک اسید و تنش بر لیپوکسیژناز معنی دار بود (جدول۲). همانطور که در نمودار شکل ٤ مشاهده می‌شود تنش شوری باعث افزایش فعالیت لیپوکسیژناز در مقایسه با گیاهان شاهد گردید. در شرایط کنترل سالیسیلیک اسید تأثیر آنچنانی بر فعالیت لیپوکسیژناز نشان نداد. ولی در کلیه سطوح شوری، هر دو غلظت سالیسیلیک اسید باعث کاهش فعالیت لیپوکسیژنازگردیدند.

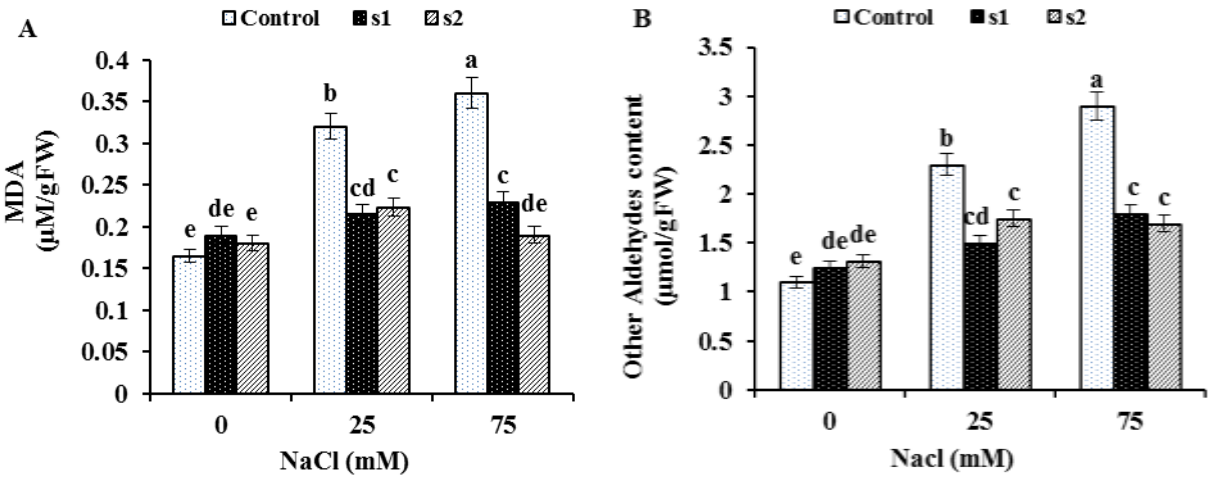
آنزیم گایوکل پراکسیداز: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر سالیسیلیک اسید و تنش شوری بر آنزیم گایوکل پراکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین حاصل از سنجش فعالیت آنزیم گایوکل پراکسیداز نشان داد که از نظر آماری تنش شوری باعث افزایش آنچنانی در این آنزیم نشده

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:59 IRDT on Tuesday April 20th 2021

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در گیاه دارویی سیاه‌دانه

منابع تغییرات	درجه آزادی	مالون دی آلدئید	سایر دی آلدئیدها	لیپوکسیژناز	گایوکل پراکسیداز
سالسیلیک اسید	۲	۰/۰۱۷**	۰/۹**	۰/۷۲**	۰/۰٤۹**
شوری	۲	۰/۰۱۸**	۱/۹۵**	۰/۸۸**	۰/۰۲٤**
سالسیلیک × شوری	٤	۰/۰۰۸**	۰/٤۸**	۰/۵۳**	۰/۰۰٦**
خطا	۱۸	۰/۰۰۰۲	۰/۰۳	۰/۱۱	۰/۰۰۲
ضریب تغییرات		**٦/٦۳**	**۱۰/۱۹**	**۱٤/۲۳**	**۸/۳۱**

ns،*و به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۵٪ و ۱٪.**



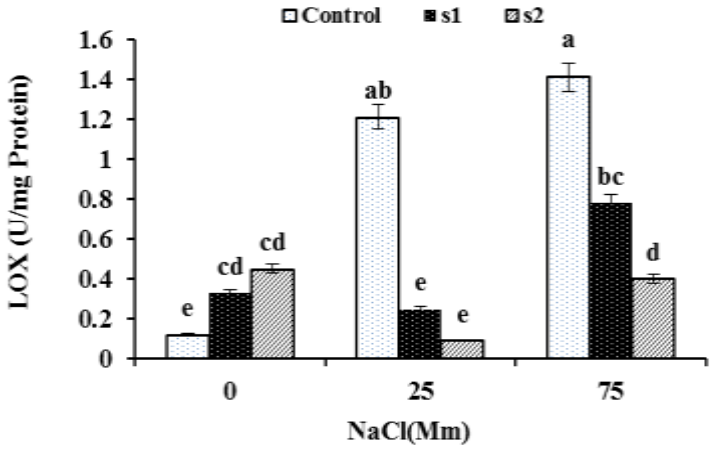
شکل ۳- اثر سالیسیلیک اسید بر مالون دی‌آلدئید (A) و سایر آلدئید(B) در برگ‌های سیاه دانه تحت شرایط کنترل و تنش شوری. میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح ۵ درصد مقایسه شدند. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند (S1: ۰/۷۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید، S2: ۱/۵ میلی‌مولار).

است (شکل۵). پیش تیمار گیاهان با سالیسیلیک اسید باعث افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم در تمام سطوح شوری گردید. و در سطوح بالای شوری اثر غلظت۱/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید بیشتر از ۰/۷۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید بوده است (شکل ۵).

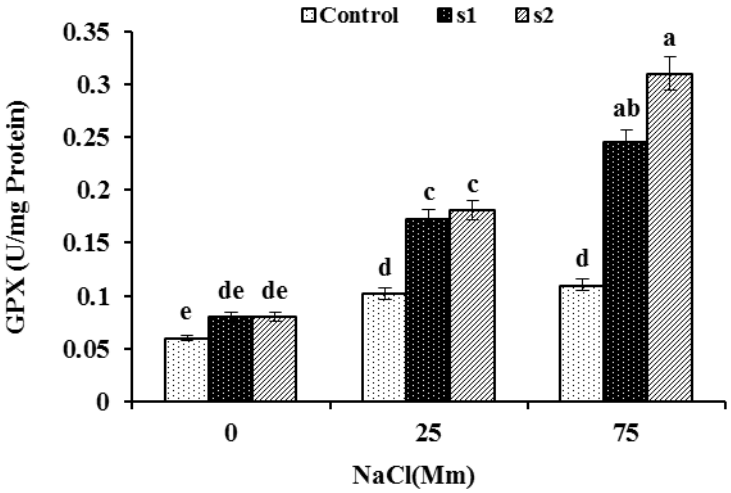
بحث

نتایج حاصل از این تحقیق بیانگر رابطه مستقیم بین افزایش سطح شوری و کاهش پارامترهای رشد می‌باشد. گزارش‌های متعددی مبنی بر کاهش پارامترهای رشد در گیاهان تحت تنش شوری وجود دارد؛ ازجمله می‌توان به گزارشی‌هایی بر روی *Catharanthus roseus* (Jaleel *et al*., 2007)، توتون (Celik and Atak, 2012) و *Khaya senegalensis* (Abd El-Aziz *et al*., 2006) اشاره کرد مهار فتوسنتزی، مهار تولید ATP،

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:59 IRDT on Tuesday April 20th 2021



شکل ٤- اثر سالیسیلیک اسید بر لیپوکسیژناز در برگ‌های سیاهدانه تحت شرایط کنترل و تنش شوری. میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح ۵ درصد مقایسه شدند. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند (S1: ۰/۷۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید ، S2: ۱/۵ میلی‌مولار).



شکل ۵- اثر سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم گایوکل پراکسیداز در برگ‌های سیاه دانه تحت شرایط کنترل و تنش شوری. میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح ۵ درصد مقایسه شدند. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند (S1: ۰/۷۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید ، S2: ۱/۵ میلی‌مولار).

پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب مولکول‌های DNA از عوارض تشکیل ROS محسوب می‌شوند که این وقایع می‌توانند به مرگ سلولها نیز منتهی شوند. در سطح کل گیاه نیز توقف رشد طولی ریشه و ساقه و کاهش ماده‌سازی از علائم معمول تنش اکسیداتیو می‌باشد (Ruley *et al.*, 2004). کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش شوری و خشکی می‌تواند عمدتاً به دلیل تخریب ساختمان کلروپلاست و دستگاه فتوسنتزی، فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها، واکنش آن‌ها با اکسیژن یکتایی تخریب پیش ماده‌های سنتز کلروفیل و ممانعت از بیوسنتز کلروفیل‌های جدید و فعال شدن آنزیم‌های تجزیه کننده کلروفیل از جمله کلروفیلاز و اختلالات هورمونی باشد (Neocleous and Nasilakakis, 2007). کاهش مقدار کاروتنوئید در شرایط تنش نیز به علت تجزیه بتاکاروتن و تشکیل زئازانترین در چرخه گزانتوفیل می‌باشد (Sultana *et al.*, 1999). در این مطالعه تیمار سالیسیلیک اسید موجب افزایش مقدار کلروفیل و محتوی کاروتنوئیدها در گیاهان

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:59 IRDT on Tuesday April 20th 2021

کنترل و گیاهان تحت تنش گردید که نشان دهنده توانایی سالیسیلیک اسید برای بهبود رشد می‌باشد (شکل ۱). القای سنتز کاروتنوئیدها در شرایط تنش توسط سالیسیلیک اسید می‌تواند به دلیل نقش حفاظتی آن‌ها در تشکیلات فتوسنتزی باشد. زیرا این رنگیزه‌ها مسئول خاموش کردن اکسیژن یکتایی و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها و در نهایت کاهش تنش اکسیداتیو می‌گردند(Koyro, 2006). کاربرد سالیسیلیک اسید در گیاهان اسفناج (Eraslan *et al*., 2008)، نخود (Popova *et al*., 2009) و خربزه (Korkmaz *et al*., 2007) موجب افزایش مقدار کلروفیل گردید. سالیسیلیک اسید در گیاه هویج (Eraslan *et al*., 2007) و جو(El-Tayeb, 2005) موجب افزایش کاروتنوئید گردید.

در این پژوهش، مطابق با نتایج پسندی‌پور و همکاران (۱۳۹۲) تیمار سالیسیلیک اسید به عنوان یک فرآیند مقاوم سازی عمل نموده و با افزایش توان آنتی اکسیدانی سلول از جمله کاروتنوئیدها موجب کاهش مقدار پراکسیداسیون لیپیدشده و موجب حفاظت بیشتر از غشاهای سلولی، فتوسنتزی و رنگیزه‌های فتوسنتزی و مانع از کاتابولیسم کلروفیل شده است از آنجا که لیپوکسیژناز یکی از آنزیم‌های دخیل در کاتابولیسم کلروفیل است (Costa *et al*., 2005)، به نظر می‌رسد سالیسیلیک اسید در این بررسی با کاهش فعالیت لیپوکسیژناز نیز در افزایش مقدار کلروفیل در شرایط تنش مؤثر باشد.

یکی ار راه‌های مقابله با تنش محیطی نظیر شوری و خشکی، سنتز ترکیبات اسمزرا و محافظ اسمزی می‌باشد که پرولین از جمله این ترکیبات می‌باشد. افزایش پرولین در گیاهان به هنگام تنش، نوعی سازوکار دفاعی است. پرولین با چندین سازوکار مانند تنظیم اسمزی و جلوگیری از تخریب آنزیم گیاه را در برابر تنش‌ها بالا می‌برد. کاربرد سالیسیلیک اسید در مقابل تنش می‌تواند باعث افزایش میزان پرولین گردد. گزارش شده است که پرولین درگیاه (*Salvia officinalis*) و توتون (Celik and Atak, 2012) تحت تنش شوری به صورت معنی‌داری افزایش یافت که نشان دهنده به کار افتادن سامانه مقاومتی گیاه و تولید اسمولیت در برابر آسیب‌های ناشی از تنش شوری در گیاه است. گیاه *Salvia officinalis* با تیمار سالیسیلیک اسید، میزان پرولین را افزایش داد (Khosravi *et al*., 2011). پرولین علاوه بر این که یک ماده اسمزرا و محافظ اسمزی می‌باشد در حفظ تعادل آب، حفظ ثبات پروتئین‌ها، حفظ ساختار سه بعدی پروتئین‌ها، تثبیت کردن غشاها و دستگاه سنتز پروتئین، کاهش خطرات حاصل از تولید ROS، جاروب کردن رادیکال‌های هیدروکسیل و تنظیم PH سلولی نقش دارد (Verbruggen and Hermans, 2008). گزارش شده است که پرولین با جاروب کردن یا کاهش تولید اکسژن یکتایی در کاهش آسیب نوری در غشای تیلاکوئیدها مؤثر بوده است (Chaitanya *et al*., 2009).

یکی از اثرات تنش‌های محیطی نظیر خشکی، شوری افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و القای تنش اکسیداتیو می‌باشد (Hoekstra *et al*., 2001). گونه‌های فعال اکسیژن منجر به پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و تغییر در نفوذپذیری غشاء (نشت یونی) و خسارت به سلول می‌گردد بنابراین اندازه گیری مالون دی‌آلدئیدهای تولید شده در طی پراکسیداسیون لیپیدها شاخص خوبی برای اندازه‌گیری میزان اکسیداتیو وارد شده به غشاء می‌باشد (Bandeoglu *et al*., 2004). در این مطالعه تنش شوری مقدار مالون دی‌آلدئید (شکل ۳- A) و سایر آلدئیدها (شکل ۳-B) را افزایش داد.

یکی دیگر از عوامل پراکسیداسیون لیپیدها فعالیت آنزیم لیپوکسیژناز است این آنزیم، یک آنزیم اکسیداتیو است که واکنش‌های پراکسیداسیون لیپیدها را کاتالیز می‌کند (Babar Ali *et al*., 2005). افزایش پراکسیداسیون لیپید در ارقام مختلف و گونه‌های وحشی گوجه فرنگی در شرایط تنش شوری (Juan *et al*., 2005) گزارش شده است. در این مطالعه در گیاهان تیمار شده با سالیسیلیک اسید، پراکسیداسیون لیپید (شکل ۳) کاهش یافت. حفظ یکپارچگی غشاهای سلولی در شرایط تنش یکی از اجزای مقاومت در برابر تنش‌هایی نظیر شوری و خشکی است (Mandhania *et al*., 2006). مشابه نتایج پژوهش حاضر تیمار سالیسیلیک اسید موجب کاهش پراکسیداسیون

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:59 IRDT on Tuesday April 20th 2021

لیپید در جو (El-Tayeb, 2005)، گندم (Afzali *et al*., 2006) و گوجه (Stevens *et al*., 2006) در شرایط تنش شوری شده است. در گیاه کیوی نیز استفاده از سالیسیلیک اسید فعالیت آنزیم لیپوکسیژناز را کاهش داد (Zhang *et al*., 2003). لیپوکسیژناز می‌تواند تولید اتیلن اتوکاتالیتیک را از طریق دخالت در کاتابولیسم لیپیدها تشویق کند. به نظر می‌رسد سالیسیلیک اسید با کاهش فعالیت لیپوکسیژناز و کاهش تولید اتیلن در کاهش آسیب‌های ناشی ازتنش در گیاه سیاه دانه مؤثر باشد.

آنزیم گایوکل پراکسیداز، از اکسیداسیون ترکیبات فنلی مثل گایوکل برای سم‌زدایی و تجزیه آب اکسیژنه استفاده می‌کند و در سیتوزول، واکوئل و دیواره سلولی نیز دیده می‌شود (Blokhina, 2003). Wang و Li (2006) گزارش نمودند که هم در گیاهان تحت تنش شوری تیمار شده با سالیسیلیک اسید و هم در گیاهان تحت تنش که با سالیسیلیک تیمار نشده بودند، مقدار کلسیم سیتوزولی افزایش یافت. اما فقط گیاهان تیمار شده با سالیسیلیک قادر به کاهش سریع کلسیم سیتوپلاسمی و پمپ کردن و باز گرداندن آن به مکان‌های ذخیره کلسیم شدند (Wang and Li, 2006). به علاوه گزارش شده است که کلسیم ترشح و فعال شدن آنزیم گایوکل پراکسیداز را، در گیاه گردو تنظیم می‌کند (Wang and Li, 2006).

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به تأثیر معنی‌دار تیمار سالیسیلیک اسید بر همهٔ شاخص‌های فیزیولوژیکی مورد بررسی در این پژوهش، در ارتباط با تحمل به تنش شوری به نظر می‌رسد سالیسیلیک اسید در مقابله با کاهش اثرگذاری‌های منفی تنش شوری بر گیاه، نقش حفاظتی مهمی ایفا می‌کند. سالیسیلیک اسید به عنوان روشی اقتصادی بخاطر هزینه‌ی خرید آن و آسان به خاطر کار کردن با آن می‌تواند خصوصیات رشدی گیاه سیاه دانه را بهبود بخشد و باعث کاهش اثر مخرب تنش شوری بر رشد و نمو گیاه شود. بر اساس نتایج این پژوهش، با برهمکنش شوری و سالیسیلیک اسید، میزان فعالیت پرولین، مالون دی¬آلدئید و سایر آلدئیدها افزایش یافت. بنابراین ترکیباتی که قادر به کاهش تأثیر تنش‌های محیطی در گیاهان و در نتیجه افزایش بهره‌وری هستند، می‌توانند اهمیت فراوانی برای کشاورزی و زراعت داشته باشند.

منابع

پسندی‌پور، ا.، فرخ‌بخش، ح.، صفاری، م.، کرامت، ب.(۱۳۹۲) اثر سالیسیلیک اسید بر برخی واکنش‌های فیزیولوژیک گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum*) تحت تنش شوری. اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی ۲۶:۲۲۸-۲۱۵.

حاتم‌نیا، ع.، ولدبیگی، ط.، عباسپور، ن. (۱۳۹۶) اثر شدت و مدت زمان اعمال تنش کلرید سدیم بر روی رشد و برخی شاخص‌های بیوشیمیایی فتوسنتزی توتون (*Nicotiana tabacum* L.). فرآیند و کارکرد گیاهی ۱۹: ۱۵۱-۱۳۹.

حیدرنژاد، س.، رنجبر، ا.، ولی، ع. (۱۳۹٤) بررسی تغییرات رنگدانه‌های فتوسنتزی، پارامترهای فلورسنس کلروفیل و عناصر غذایی در گیاه اشنان (*Seidlitzia rosmarinus* L.) تحت تنش شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی ۱۳: ٤٥-۳۷.

شهبازی‌زاده، ا.، موحدی، م.، بلوچی، ح. (۱۳۹٤) تأثیر محلول پاشی سالیسیلیک اسید و آسکوربیک اسید بر برخی صفات فیزیولوژیک سویا تحت تنش شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی ۱۱: ۲۲-۱۳.

قربانلی، م.، ادیب هاشمی، ن.، پیوندی، م. (۱۳۸۹) بررسی اثر شوری و اسید آسکوربیک بر برخی پاسخ های فیزیولوژیکی در گیاه سیاه دانه (*Nigella sativa* L.). فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲٦: ۳۸۸-۳۷۰.

گروسی، ل.، اسدی، ژ.، حبیبی، س.، اسعدی، ک.، مرادی، پ. (۱۳۹۰) اثرتنش شوری بر جوانه زنی تاج الملوک(*Aquilegia vulgaris*). همایش ملی مباحث نوین در کشاورزی. ۳۷-۳٤.

وطن‌خواه، ا.، کلانتری، ب.، عندلیبی، ب.(۱۳۹۵) اثر متیل جاسمونات بر برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه نعنا فلفلی (*Mentha piperita* L.) تحت تنش شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی ۱۷: ۱۷۱-۱٥٦.

Abd El-Aziz, N. G., Mazher Azz, A. M. and El-Habba, E. (2006) Effect of foliar spraying ascorbic acid on growth and chemical constituents of *Khaya senegalensis* growth under salt condition. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences 1: 207-214.

Afzali, I., Basra, S. M. A. Faroog, A. and Aawaz, A. (2006) Alleviation of salinity stress in spring wheat by hormonal priming with ABA, salicylic acid and ascorbic acid. International Journal of Agricultural and Biological Engineering 1: 23-28.

Antuono, A. Moretti, L. F. and Lovato, A. F. S. (2002) Seed yield, yield components, oil content and essential oil content and composition of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascena*. Industrial Crops and Products 15: 59-69.

Ashrafi, A. and Razmjou, K. H. (2010) Evaluation of hydropriming effect on safflower physiological and biochemical characteristics under drought stress. Journal Crop Ecology and Physiology 1: 34-44.

Askary, M., Amini, F. and Hosseinpour, L. (2016) Study of variability in growth, antioxidant defense system and protein content by zinc element application in periwinkle (*Catharanthus roseus* L.) under salinity stress. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 32: 35-46.

Babar Ali, M., Hahn, E. G. and Paek, E. K. (2005) Effects of temperature on oxidative stress defense systems, lipid peroxidation and lioxygenase activity in Phalaenopsis. Plant Physiology and Biochemistry 43: 213-223.

Bandeoglu, E., Egidogan, F., Yucel, M. and Avni Oktem, M. (2004) Antioxidant responses of shoots and roots of lentil to NaCl salinity stress. Plant Growth Regulation 42: 69-77.

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

Behnamnia, M. and Shenavai Zare, A. (2014) The effects of salicylic acid on licorice seedlings (*Glycyrrhiza glabra* L.) under salt stress. Plant Process and Function 3: 73-83.

Belkhadi, A., Hediji, H., Abbes, Z., Nouairi, I., Barhoumi, Z., Zarrouk, M., Chaibi, W. and Djebali, W. (2010) Effects of exogenous salicylic acid pre-treatment on cadmium toxicity and leaf lipid content in *Linum usitatissimum* L. Ecotoxicology and Environmental Safety 73: 1004-1011.

Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagersted, K. (2003). Antioxidant, oxidative damage and oxygen deprivation stress. Annals of Botany 91: 179-194.

Celik, O. and Atak, C. (2012) The effect of salt stress on antioxidative enzymes and proline content of two Turkish *tobacco varieties*. Turkish Journal of Biology 36: 339-356.

Chaitanya, K. V., Rasineni, G. K. and Reddy. A. R. (2009) Biochemical responses to drought stress in mulberry (*Morus alba* L.): evaluation of proline, glycine betaine and abscisic acid accumulation in five cultivars. Acta Physiologiae Plantarum 31: 437-447.

Costa, M., Civell, P. M. Chaves, A. R. and Martinez, G. A. (2005) Effects of ethephon and 6-benzylaminopurine on chlorophyll degrading enzymes and a peroxidase-linked chlorophyll bleaching during post-harvest senescenc of broccoli (*Brassica oleracea* L.*)* at 20 ˚C. Post harvest Biology and Technology 35: 191-199.

El-Tayeb, M. A. (2005) Response of barley grain to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regulation 42: 215-224.

Elyasi, R., Majdi, M., Bahramnejad, B. and Mirzaghaderi, G. (2016) Spatial modulation and abiotic elicitors responses of the biosynthesis related genes of mono/triterpenes in black cumin (*Nigella sativa*). Industrial Crops and Products 79: 240-247.

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

Eraslan, F., Inal, A. Pilbeam, D. J. and Gunes, A. (2008) Interactive effects of salicylic acid and silicon on oxidative damage and antioxidant activity in spinach (*Spinacia oleracea* L. CV. Matador) grown under boron toxicity and salinity. Plant Growth Regulation 55: 207-219.

Eskandari Zanjani, K., Shirani Rad, A., Moradi Aghdam, A. and Taherkhani, T. (2013) The effect of salicylic acid on salt stress on physiological and morphological characteristics of *Artemisia annua* L. Plant Ecophysiology Springer 24: 415-428.

Filippo, L., Moretti, A. and Lovat, A. (2002) Seed yield, yield components oil content and essential oil and composition of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascene* L. Industrial Crop and Products 15: 59-69.

Gerhart, V. J., Kane, R. and Glenn, E. P. (2006) Recycling industrial saline waste water for landscape irrigation in a desert urban area. Journal of Arid Environments 67: 473-486.

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:59 IRDT on Tuesday April 20th 2021

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 1:59 IRDT on Tuesday April 20th 2021

Gholami, R., Kashefi, B. and Saeidi Sar, S. (2013) Effect salicylic acid on alleviation of salt stress on growth traits of *Salvia limbata* L. Journal of Plant Ecophysiology 15: 63-73.

Heath, R. L., and L, Packer. (1969) Photoperoxidation in isolated chloroplastkinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch Biochem Biophys 125: 189-198.

Hoekstra, F. A., Golovina, E. A. and Buitink, J. (2001) Mechanisms of plant desiccation tolerance. Plant Science 6: 431-438.

Jaleel, C. A. and Azooz, M. M. (2009). Exogenous calcium alters pigment composition, γ-glutamyl kinase and proline oxidase activities in salt-stressed *Withania somnifera*. Plant Omics 2: 85-90.

Jaleel, C. A., Sankar, B., Sridharan, R. and Panneerselvam, R. (2007) Soil salinity alters growth, chlorophyll content, and secondary metabolite accumulation in *Catharanthus roseus*. Turkish Journal of Biology 32: 79-83.

Jouyban, Z. (2012) The effect of salt stress on plant growth. Technical Journal of Engineering and Applied Science 2: 7-10.

Juan, M., Rivero, R. M., Romero, L. and Ruiz, J. M. (2005) Evaluation of some nutritional and biochemical indicators in selecting salt-resistant tomato cultivars. Environmental and Experimental Botany 54: 193-201.

Khosravi, S., Baghizadeh, A. and Nezami, M. T. (2011) The salicylic acid effect on the *Salvia officinalis* L. under salinity (NACL) stress. Journal of Stress Physiology and Biochemistry 7: 80-87.

Korkmaz, A., Uzunlu, M. and Demirkairan, A. R. (2007) Treatment with acetylsalicylic acid protects muskmelon seedlings against drought stress. Acta Physiologiae Plantarum 29: 503-508.

Koyro, H. W. (2006) Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* L. Environmental and Experimental Botany 56: 136-149.

Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology 148: 350-382.

Mandhania, S., Madan, S. and Sawhney, V. (2006) Antioxidant defense mechanisms under salt stress in wheat seedlings. Biologia Plantarum 50: 227-231.

Meirs, S., Philosophhadas, S. and Aharoni, N. (1992) Ethylene increased accumulation of fluorescent lipid peroxidation products detected during senescence of parsley by a newly developed method. Journal of American Society Horticultural Science 117: 128-132.

Minguez-Mosquera, M. I., Jaren-Galen, M. and Garrido-Fernandez, J. (1993) Lipoxygenase activity during pepper ripening and processing of paprika. Phytochemistry 32: 1103-1108.

Neocleous, D. and Nasilakakis, M. (2007) Effects of NaCl stress on red raspberry (*Rubus idaeus* L. *"Autumn Bliss*"). Scientia Horticultural 112: 282-289.

Orcutt, D. M. and Nilsen, E. T. (2000) The physiology of plants under stress, soil and biotic factors. (eds. Wiley, J. and Sons) Pp. 177-235. New York.

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

Plewa, M. J., Smith, S. R. and Wanger, E. D. (1991) Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. Mutation Research 247: 57-64.

Popova, L. P., Maslenkova, L. T., Yordanova, R. Y., Ivanova, A. P., Krantev, A. P., Szalai, G. and Janda, T. (2009) Exogenous treatment with salicylic acid attenuates cadmium toxicity in pea seedlings. Plant Physiology and Biochemistry 47: 224-231.

Ramadan, M. F. (2007) Nutritional value, functional properties and nutraceutical applications of black cumin (*Nigella sativa* L.) International journal of food science and technology 42: 1208-1216.

Ruley, A. T., Sharma, N. C. and Sahi, S. V. (2004) Antioxidant defense in a lead accumulation plant *Sensbania drummondii*. Plant Physiology and Biochemical 42: 899-906.

Salimi, F., Shekari, F., Azimi, M. R and Zangani, E. (2012) Role of methyl jasmonate on improving salt resistance through some physiological characters in *German chamomile* (*Matricaria chamomilla* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 27: 700-711.

Stevens, J., Senaratna, T. and Sivasithamparam, K. (2006) Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma) associated changes in gas exchange, water relations and membrane stabilization. Plant Growth Regulation 49: 77-83.

Sultana, N., Ikeda, T. and Itoh, A. (1999) Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grain. Environmental and Experimental Botany 42: 211-220.

Verbruggen, N. and Hermans, C. (2008) Proline-accumulation in plants: a review. Amino acids 35: 753-759.

Wang, L. G. and Li, S. H. (2006) Salicylic acid-induced heat or cold tolerance in relation to Ca^{2+} homeostasis and antioxidant systems in young grape plants. Plant Science 170: 685-695.

Zhang, Y., Chen, K. Zhang, S. and Ferguson, I. (2003) The role of salicylic acid in postharvest ripening of kiwifruit. Postharvest Biology and Technology 28: 67-74.