

واکنش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گل راعی (*Hypericum perforatum*) در پاسخ به تنش شوری و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک

سارا علی‌نیاں جوزدانی^۱، محمد رفیعی‌الحسینی^{۱*}، جمشید رزمجو^۲ و بابک بحرینی‌نژاد^۳

^۱ گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان،

^۲ بخش تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج

^۳ کشاورزی اصفهان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۹/۰۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۱۱/۲۶)

چکیده

تنش شوری یکی از عمده‌ترین موانع در تولید موفق محصولات کشاورزی است. ترکیبات هورمونی مانند اسید سالیسیلیک به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد گیاهی می‌تواند اثرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متفاوتی در گیاهان تحت تنش شوری ایفا کند. در پژوهش حاضر اثر غلظت‌های مختلف سدیم کلرید (۲، ۶ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر) و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک (صفر، ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌مولار) بر محتوای نسبی آب برگ، پرولین، آنتوسیانین، فنل، فلاونوئید و ماده خشک ریشه و اندام هوایی در طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. زمانی که گیاهان به ارتفاع ۱۰ سانتی‌متری رسیدند، محلول‌پاشی دو مرتبه و با فاصله زمانی هفت روز انجام شد و بعد از آن تیمار شوری آغاز گردید. نتایج نشان داد تیمار شوری باعث کاهش محتوای نسبی آب برگ و ماده خشک اندام هوایی و ریشه شد، درحالی‌که کاربرد اسید سالیسیلیک باعث افزایش این صفات تحت شرایط تنش شوری شد. محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک منجر به افزایش پرولین و آنتوسیانین برگ به‌ویژه در سطح ۶ دسی‌زیمنس بر متر شوری شد. تنش شوری شدید و اسید سالیسیلیک در سطح ۰/۲۵ میلی‌مولار مقدار فنل برگ و ریشه را به ترتیب ۱۳ و ۱۷ درصد افزایش دادند. بیشترین افزایش فلاونوئید برگ و ریشه برابر ۶۶ و ۸۹ درصد در تنش شوری شدید با کاربرد ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک بود. در مجموع نتایج این مطالعه نشان داد با استفاده از غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک می‌توان اثرات منفی تنش شوری به‌ویژه در سطح ۶ دسی‌زیمنس بر متر سدیم کلرید در گیاه گل راعی را کاهش داد و به‌علاوه موجب افزایش مقاومت این گیاه شد.

کلمات کلیدی: آنتوسیانین، پرولین، فلاونوئیدها، فنل، محتوای آب نسبی

مقدمه

پتانسیل اسمزی و اختلال در جذب برخی عناصر غذایی، رشد و عملکرد محصولات زراعی را محدود می‌کند (شهبازی‌زاده و همکاران، ۱۳۹۴). براساس تعریف شوری و با توجه به مطالعات انجام‌شده، ۴۱ میلیون هکتار از زمین‌های ایران (۲۵

فاکتورهای محیطی متعددی بر رشد و نمو و تولید محصول در گیاهان تأثیر می‌گذارند. تنش شوری پس از تنش خشکی، عمده‌ترین تنش محیطی به شمار می‌رود که از طریق کاهش

و ترکیبات مربوطه به گروهی از ترکیبات فنلی تعلق دارند که نقش محوری در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف در خلال رشد و نمو گیاه مثل جذب یون، فتوسنتز و جوانه‌زنی بسته به غلظت بکاررفته، گونه گیاهی، دوره رشدی و شرایط محیطی ایفا می‌کند. اسید سالیسیلیک در شرایط تنش شوری روی بسیاری از فرایندهای بیوشیمیایی گیاه اثر می‌گذارد (پیراسته انوشه و همکاران، ۱۳۹۵) و با ایجاد سطح خفیفی از تنش اکسیداتیو بیان ژن‌های سنتز ترکیبات فنلی و فلاونوئید را افزایش می‌دهد. این ماده همچنین به‌عنوان یک سیگنال مولکولی مهم در نوسانات گیاهی در پاسخ به تنش‌های محیطی شناخته شده است (Gondor et al., 2016).

گیاه گل راعی (*Hypericum perforatum* L.) متعلق به خانواده Hypericaceae بوده و بیش از ۴۶۹ گونه در دنیا دارد که تنها ۱۹ گونه آن در ایران رویش دارند (Zobayed et al., 2005). از نظر خواص دارویی و درمانی گل راعی مهم‌ترین گونه این جنس به‌شمار می‌رود و امروزه کاربرد وسیعی در درمان افسردگی خفیف تا متوسط دارد و سابقه استفاده سنتی از این گیاه دارویی به بیش از ۲۰۰۰ سال پیش می‌رسد (Zobayed et al., 2005). تاکنون طیف گسترده‌ای از ترکیبات فعال بیولوژیک در گیاهان این جنس شناسایی و گزارش شده است که از جمله می‌توان به نفتودیانترون‌ها (هایپریسین و سودوهایپریسین)، آسپیل فلوروگلوکوسینول‌ها (هایپرفورین و ادهایپرفورین)، زانتون‌ها، فلاونوئیدها و اسانس اشاره داشت (Morshedloo et al., 2015). اسانس‌ها حاوی شمار زیادی از متابولیت‌های ثانویه فرار از جمله ترپن‌ها، ترپنوئیدها، ترکیبات فنلی و مشتقات آلیفاتیک هستند که امروزه علاوه بر استفاده‌های دارویی، درمانی و آرایشی و بهداشتی به‌دلیل داشتن خواص ضد میکروبی بالا به‌عنوان نگهدارنده در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند و فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌میکروبی آنها به‌خوبی مشخص شده است (Burt, 2004). مطالعات اندکی بر نقش آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی مانند فلاونوئید، آنتوسیانین و فنل و ارتباط بین آنها در جلوگیری و محدودسازی صدمات ناشی از تنش شوری در گیاه گل راعی

درصد) دارای خاک شور با هدایت الکتریکی بیشتر از ۴ دسی‌زیمنس بر متر هستند (Mesgaran et al., 2017). به‌طور طبیعی همواره در گیاهان به جهت ممانعت از تنش‌ها، واکنش‌هایی صورت می‌گیرد و در گونه‌های مختلف گیاهی، مقادیر متفاوتی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی سنتز می‌شود که آنها را در مقابل گونه‌های مضر اکسیژن محافظت می‌کند (Parida and Das, 2005). برای مثال، گیاهان سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی قوی مانند آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی مختلفی را بکار می‌اندازند که مسئول حذف و یا غیرفعال کردن گونه‌های فعال اکسیژن تجمع‌یافته در گیاهان تحت تنش هستند و باعث افزایش تحمل گیاهان به این شرایط می‌شوند (Chai et al., 2005). فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی علاوه بر این‌که آنتی‌اکسیدان‌های قوی هستند جز متابولیت‌های ثانویه گیاهی نیز محسوب می‌شوند. به‌طور کلی باید گفت یکی از مهم‌ترین عواملی که تولید متابولیت‌های ثانویه را در گیاهان تحت تأثیر قرار می‌دهد تنش‌های محیطی است (Bernstein et al., 2010). به‌نظر می‌رسد که شوری نیز به‌عنوان یکی از تنش‌های محیطی وارد شده بر گیاهان با فعال‌سازی تعدادی از مکانیسم‌های سلولی منجر به تحریک و افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه موجود در سلول گیاهی می‌شود و بر فرایند تولید این ترکیبات تأثیر می‌گذارد (Ahl and Omer, 2011). بسیاری از اثرات فیزیولوژیک شوری در گیاه ممکن است در اثر تغییر در توازن هورمون‌های گیاهی به‌وجود آید. محتوای نسبی آب برگ که همبستگی بالایی با پتانسیل آب برگ دارد، یکی دیگر از تغییرات ایجاد شده توسط شوری در گیاه است (Liu et al., 2016). کاهش محتوای نسبی آب برگ در ابتدا منجر به بسته‌شدن روزنه‌ها و کاهش فتوسنتز و با افزایش شوری منجر به توقف انتقال الکترون و ممانعت نوری در چرخه فتوسنتزی می‌شود (شهبازی‌زاده و همکاران، ۱۳۹۴). تنظیم‌کننده‌های رشد مانند اسید سالیسیلیک، با ایجاد توازن در محتوای هورمون‌های گیاهی، در کنترل پاسخ‌های گیاه به شوری نقش مهمی دارند (Pirasteh-Anosheh et al., 2015). اسید سالیسیلیک ($C_7H_6O_3$) یا اورتو هیدروکسی بنزوئیک (SA)

مقدار آب مورد نیاز هر گل‌دان با وزن کردن گل‌دان و اختلاف وزن آن در شرایط آبیاری شده و خشک به دست آمد.

نمونه برداری و اندازه‌گیری صفات: حدود ۳۰ روز بعد از اعمال تیمارهای تنش شوری و در آغاز گلدهی، نمونه‌های تازه از هر دو بخش برگ و ریشه گرفته شد و در فریزر ۲۰- تا زمان اندازه‌گیری صفات نگهداری شد.

محتوای نسبی آب برگ **Relative Water Content**:

(RWC) نمونه برداری از برگ‌های جوان کاملاً توسعه یافته انجام و نمونه‌ها بلافاصله درون یخ قرار گرفته و در آزمایشگاه وزن تر برگ‌ها با ترازوی دقیق بر حسب میلی‌گرم اندازه‌گیری شد. سپس تمامی نمونه‌ها در آب مقطر قرار داده شده و به مدت ۲۴ ساعت در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد از ۲۴ ساعت وزن اشباع برگ‌ها اندازه‌گیری و برگ‌ها به مدت ۲۴ ساعت دیگر در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آن قرار گرفته و وزن خشک هر کدام اندازه‌گیری شد و مقدار آب نسبی برگ از طریق معادله زیر محاسبه شد (Mishra and Choudhuri, 1999):

وزن خشک) / (وزن خشک - وزن تر) = محتوای نسبی آب
 $100 \times (-)$ وزن تورژسانس)

پرولین: برای اندازه‌گیری پرولین محتوای بافت برگ و ریشه از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. از بافت برگ و ریشه ۰/۱ گرم توزین و در هاون چینی کاملاً کوبیده شد تا به حالت خمیری در آید. سپس ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالسیلیک اسید ۳ درصد به آن اضافه شد. به ۲ میلی‌لیتر محلول، ۲ میلی‌لیتر اسید نین‌هیدرین (۱۲۵ میلی‌گرم نین‌هیدرین + ۲ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۶ مولار + ۳ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال + ۲ میلی‌لیتر اسید استیک) اضافه شد. محتوی حاصل در حمام آب جوش در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت گذاشته و سپس لوله‌های محتوی محلول حاصل را در یخ قرار داده، پس از یکی شدن دمای آن با دمای محیط به آن ۴ میلی‌لیتر تولونن اضافه کرده و به مدت ۲۰-۱۵ ثانیه بهم‌زده شدند. استانداردهای پرولین را در مقادیر صفر، ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۳ و ۰/۰۴ میکرومول بر میلی‌لیتر تهیه کرده، نمونه‌های

و نیز تأثیر اسید سالیسیلیک بر این ترکیبات انجام شده است. بنابراین با توجه به اهمیت دارویی گیاه گل راعی، اهداف این مطالعه بررسی فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گل راعی در پاسخ به شوری و تأثیر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در کاهش اثرات شوری بر این فرآیندها است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در فضای آزاد مرکز تحقیقات پارک‌ها و فضای سبز محمودآباد وابسته به شهرداری اصفهان در بهار ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی با سه تکرار صورت گرفت. نشاهای رقم مجارستانی در گل‌دان‌هایی با قطر دهانه ۲۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر کاشته شدند. برای خاک گل‌دان‌ها از ترکیب خاک مزرعه و خاکبرگ به نسبت ۳:۱ استفاده شد. هر گل‌دان دارای ۳ نشا بود و تا قبل از شروع تیمارها آبیاری با آب مزرعه (با هدایت الکتریکی ۲ دسی‌زیمنس بر متر) انجام گرفت. محلول‌پاشی پس از دوره استقرار گیاهان و زمانی که گیاهان به ارتفاع ۱۰ سانتی‌متری رسیدند آغاز شد. محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک با غلظت صفر، ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌مولار در اوایل صبح روی اندام هوایی و توسط سم‌پاش دستی به گونه‌ای که سطح برگ کاملاً خیش شود انجام شد و پس از هفت روز، دوباره تکرار شد (Qados, 2015).

هفت روز بعد از محلول‌پاشی دوم با افزودن تدریجی سدیم کلرید به آب مزرعه اعمال شوری آغاز شد (در کل دوره رشد دو مرحله).

گیاهان تحت آبیاری با آب شور و با هدایت‌های الکتریکی ۲ (آب مزرعه)، ۶ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر قرار گرفتند. آبیاری با آب شور به فاصله زمانی هر سه روز یکبار صورت گرفت. جهت جلوگیری از تجمع نمک و شوک اسمزی در گل‌دان‌ها، افزایش نمک به صورت تدریجی بود؛ به طوری که در هر بار آبیاری به میزان ۲ دسی‌زیمنس بر متر بر شوری آب اضافه شد تا هر تیمار به سطوح شوری مورد نظر برسد. رطوبت خاک در محدوده ظرفیت زراعی مزرعه نگه داشته شد.

گرم وزن تر گزارش کرد.

$$\text{فلاونوئید} = \left(\frac{1000}{L(\text{cm}) \times E(33000(M-1\text{cm}-1))} \times \frac{V(\text{mL})}{m(\text{g})} \right)$$

که در آن L: عرض کوت، E: ضریب خاموشی، V: حجم عصاره و m: وزن نمونه است.

بعد از جمع‌آوری نمونه‌های تازه، گیاهان از گلدان‌ها خارج و خاک اطراف ریشه شسته شد. پس از جداکردن اندام هوایی از ریشه، به مدت ۴۸ ساعت در آون ۷۰ درجه سلسیوس خشک و وزن خشک آنها ثبت گردید.

داده‌های حاصل از دو سال ترکیب و سپس میانگین‌های حاصل از دو سال با استفاده از نرم‌افزار DSAASTAT نسخه ۱۰۱ تجزیه و تحلیل شدند. مقایسه میانگین با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت. نمودارها با نرم‌افزار Excel ترسیم شدند.

نتایج و بحث

محتوای نسبی آب برگ: نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌های محتوای نسبی آب برگ نشان داد تیمار شوری و برهمکنش شوری × اسید سالیسیلیک بر این صفت معنی‌دار بود، اما محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرد (جدول ۱). در سطح شوری ۶ دسی‌زیمنس بر متر، تغییری در مقایسه با شاهد مشاهده نشد، اما در سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر، میزان کاهش محتوای نسبی آب به ترتیب ۹ و ۱۳ درصد نسبت به شاهد و شوری متوسط (سطح ۶ دسی‌زیمنس بر متر) بود (شکل ۱). با افزایش شوری تا سطح ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر سدیم کلرید، محتوای آب نسبی برگ به شدت کاهش یافت، با این وجود تیمارهای محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک، کاهش کمتری نسبت به تیمار محلول‌پاشی با آب داشتند، سطح ۰/۲۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک محتوای آب نسبی را در شرایط تنش شوری ثابت نگه داشت؛ درحالی که سطح ۰/۵ میلی‌مولار محتوای آب نسبی را در شوری متوسط (۶ دسی‌زیمنس بر متر) افزایش داد و سپس کاهش یافت (شکل ۲). چنین روندی می‌تواند به علت تجمع بیشتر سدیم در سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر و ضعف گیاه در

حاصل و استانداردها در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شدند.

آنتوسیانین کل: سنجش آنتوسیانین با متانول اسیدی انجام شد (Wang et al., 2009). در این روش ۰/۱ گرم از بافت برگ در هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (متانول خالص و کلریدریک اسید خالص به نسبت حجمی ۱:۹۹) کاملاً ساییده و عصاره در لوله‌های آزمایش سر پیچ‌دار ریخته شدند و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. جذب محلول رویی در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

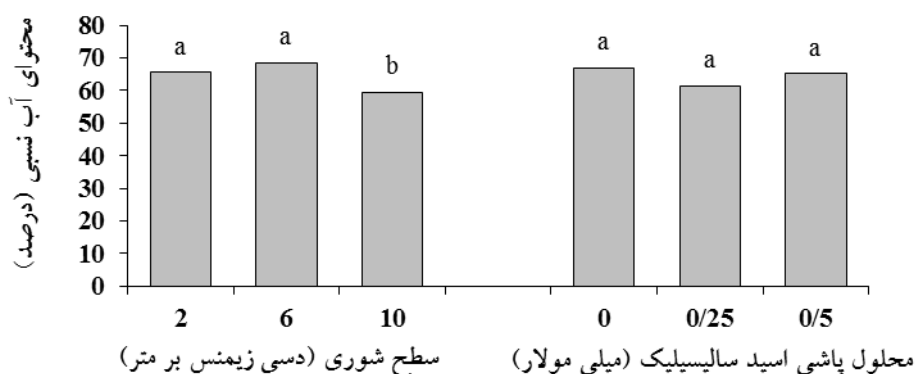
فنل و فلاونوئید کل: محتوای ترکیبات فنلی کل برگ و ریشه با استفاده از معرف فولین-سیکالتیو و اسید گالیک به‌عنوان استاندارد اندازه‌گیری شد (Seever and Daly, 1970). ۰/۱ گرم از بافت گیاهی در پنج میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد ساییده و به مدت ۷۲ ساعت در تاریکی قرار گرفت. سپس ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی برداشته و ۱ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد به آن اضافه و به حجم ۵ میلی‌لیتر با استفاده از آب مقطر دوبار تقطیر شده رسانده شد. در مرحله بعد ۰/۵ میلی‌لیتر از معرف فولین-سیکالتیو ۵۰ درصد و ۱ میلی‌لیتر از سدیم کربنات ۵ درصد به آن اضافه گردید. به مدت یک ساعت در دمای اتاق و در تاریکی قرار داده و سپس در طول موج ۷۲۵ نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر خوانده شدند.

مقدار فلاونوئید براساس روش Krizek و همکاران (۱۹۹۸) انجام گرفت، بدین صورت که ۰/۱ گرم بافت گیاه را در هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول اسیدی (اتانول: اسید استیک گلایشال، ۹۹:۱) ساییده و در سانتریفیوژ با دور ۸۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت. سپس در حمام آب گرم با دمای ۸۰ سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد و بلافاصله درون حمام آب یخ قرار گرفت و شدت جذب در طول موج ۳۰۰ نانومتر خوانده شد. از متانول اسیدی که همراه با نمونه‌ها درون بن‌ماری قرار داشت به‌عنوان محلول شاهد استفاده شد. غلظت فلاونوئید براساس فرمول زیر برآورد و برحسب میکرومول بر

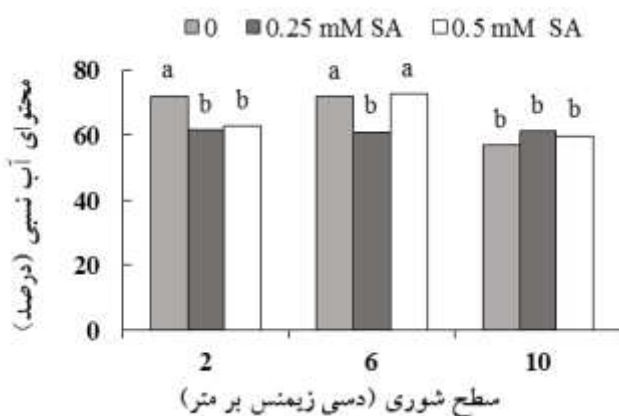
جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تیمارهای تنش شوری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر محتوای آب نسبی، پرولین برگ و آنتوسیانین برگ و ریشه گل راعی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			محتوای آب نسبی
		پرولین برگ	پرولین ریشه	آنتوسیانین برگ	
شوری	۲	۵۲/۲۰**	۱۲/۹۷**	۰/۷۸**	۰/۰۱ ^{ns}
اسید سالیسیلیک	۲	۵۷/۸۲**	۱۳/۳۵**	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۰۲**
شوری × اسید سالیسیلیک	۴	۵/۷۵*	۵/۲۳**	۰/۳۱**	۰/۰۶*
خطا	۱۸	۰/۹۰	۰/۲۲	۰/۰۱	۰/۰۱
ضریب تغییرات (درصد)		۸/۲۴	۱۰/۲۱	۶/۸۵	۲۷/۵۰

ns و ** به ترتیب اختلاف غیرمعنی دار و معنی دار در سطح پنج و یک درصد



شکل ۱- اثرات اصلی شوری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر محتوای آب نسبی برگ (میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند).



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر محتوای آب نسبی برگ (میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند).

آزمایش، شوری در گیاه *Nitraria tangutorum* رطوبت نسبی گیاه را کاهش داد، اما غلظت‌های ۱-۱/۵ اسید سالیسیلیک

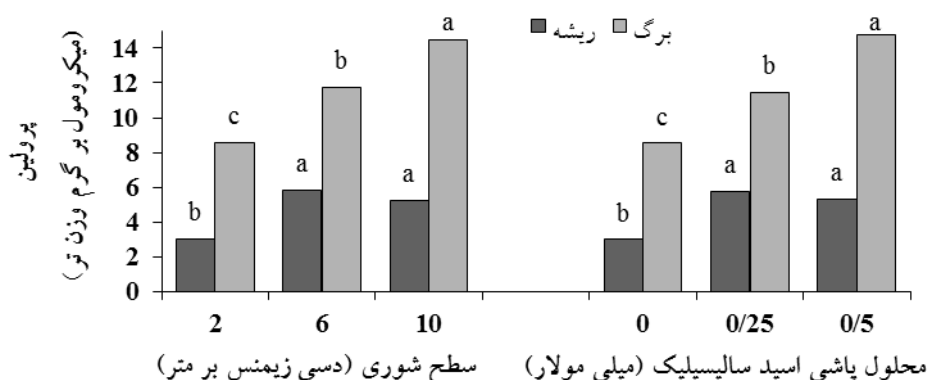
جذب آب بیشتر نسبت به سطح ۶ دسی‌زیمنس بر متر باشد (Bistgani et al., 2019). مشابه نتایج مشاهده‌شده در این

به علت افزایش هورمون آبسزیک اسید (ABA) و القای واکنش‌های ضد تنش، این اثر شوری را تخفیف داد (Liu et al., 2016). محتوای نسبی آب برگ شاخص خوبی از وضعیت آبی گیاه است و منعکس‌کننده ظرفیت نگهداری آب و فعالیت متابولیک بافت گیاهی است (Liu et al., 2016). غلظت ۴۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک توانست اثرات مخرب شوری در گیاه حنا را تعدیل کند که این به علت نقشی است که این ترکیب در تجمع اسمولیت‌های سازگار در گیاه بازی می‌کند (Farahbakhsh et al., 2017) محتوای آب نسبی بیانگر این است که کاهش در جذب آب، کاهش محتوای آبی و فشار آماس بافت‌های گیاهی را در پی دارد و ایجاد محدودیت در توسعه سلولی و رشد را می‌کند (Tatrai et al., 2016).

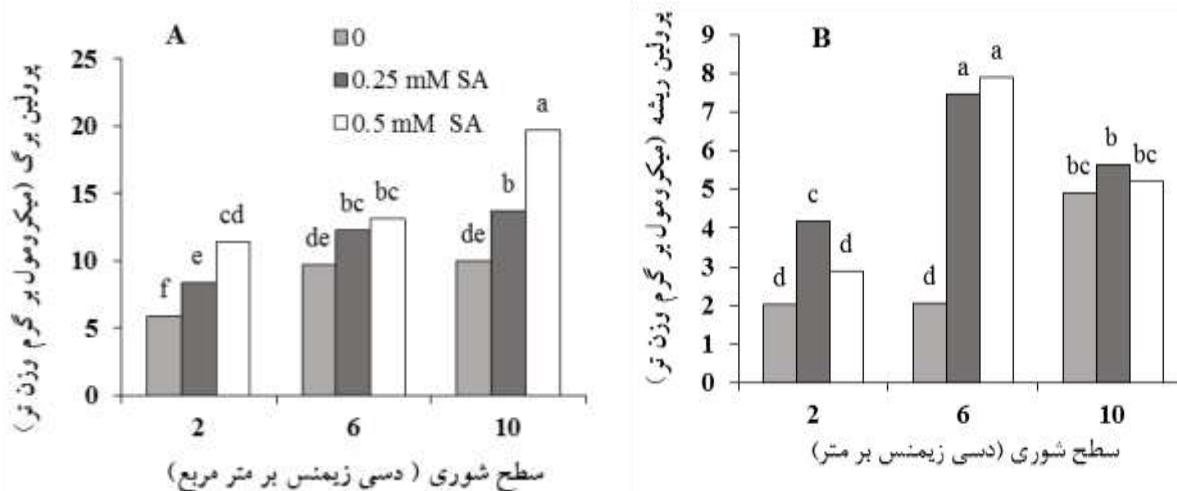
غلظت پرولین برگ و ریشه: تأثیر تیمارهای شوری، اسید سالیسیلیک و برهمکنش آنها بر غلظت پرولین برگ و ریشه معنی‌دار بود (جدول ۱). شوری موجب افزایش در مقدار پرولین برگ به میزان ۳۶ و ۶۸ درصد و ریشه به میزان ۹۱ و ۷۵ درصد در سطوح شوری ۶ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر نسبت به شاهد شد (شکل ۳). در اثر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک پرولین برگ و ریشه افزایش یافت که میزان افزایش در سطوح ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌مولار، در برگ به ترتیب ۳۴ و ۷۲ درصد و در ریشه ۹۲ و ۷۸ درصد بود (شکل ۳). محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک منجر به افزایش پرولین برگ در شرایط شاهد و تنش شوری گردید که میزان افزایش در سطح ۰/۵ میلی‌مولار بیشتر از ۰/۲۵ میلی‌مولار بود (شکل A ۴). بیشترین افزایش برابر با ۹۶ و ۹۳ درصد به ترتیب در سطح شوری ۱۰ و ۲ دسی‌زیمنس بر متر همراه با محلول‌پاشی ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک بود (شکل A ۴). محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک منجر به افزایش پرولین ریشه در شرایط شاهد و تنش شوری متوسط گردید که این افزایش در سطح شوری ۶ دسی‌زیمنس بر متر بسیار بیشتر بود (شکل B ۴)؛ بدین ترتیب بالاترین افزایش ۲۸۵ و ۲۶۳ درصد در سطح شوری ۶ و محلول‌پاشی ۰/۵ و ۰/۲۵ میلی‌مولار بود (شکل B ۴). غلظت بالاتر اسید سالیسیلیک خود به واسطه ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاه افزایش

بیشتری بر سنتز پرولین دارد (Jayakannan et al., 2015). احتمالاً به دلیل این که ریشه‌ها در تماس مستقیم با نمک هستند و اولین مانع در مقابل ورود نمک به گیاه هستند، درصد افزایش پرولین ریشه بیشتر از برگ گیاه بود. در گیاه ریحان آستانه تحمل به تنش شوری و پاسخ القاشده توسط اسید سالیسیلیک در دو بخش برگ و ریشه گیاه متفاوت بود؛ کاربرد اسید سالیسیلیک در برگ همراه با سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و در ریشه با سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار پرولین را در این گیاه افزایش داد (Delavari et al., 2010). غلظت‌های متفاوت اسید سالیسیلیک، پاسخ‌های متفاوت ایجاد می‌کند به طوری که غلظت ۰/۰۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک موجب افزایش تدریجی پرولین در شرایط شوری در گیاه درمنه خزری شد؛ در حالی که غلظت ۰/۱ میلی‌مولار کاهش پرولین را به همراه داشت (Li et al., 2014).

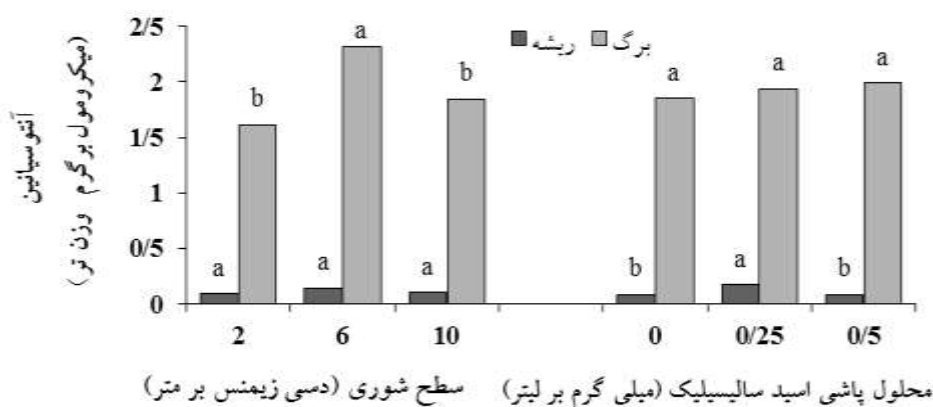
محتوای آنتوسیانین برگ و ریشه: با توجه به نتایج به دست آمده از جدول تجزیه واریانس، محتوای آنتوسیانین برگ به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی شوری و برهمکنش شوری × اسید سالیسیلیک و محتوای آنتوسیانین ریشه به طور معنی‌داری تحت تأثیر برهمکنش تیمارهای آزمایشی اسید سالیسیلیک و برهمکنش شوری × اسید سالیسیلیک قرار گرفت (جدول ۱). شوری موجب افزایش آنتوسیانین برگ در سطح شوری متوسط به میزان ۴۴ درصد شد؛ اما شدت یافتن سطح تنش موجب کاهش آنتوسیانین شد (شکل ۵). با کاربرد اسید سالیسیلیک در سطح ۰/۲۵ میلی‌مولار، مقدار آنتوسیانین کل ریشه ۱۱۲ درصد بیشتر از گیاهان شاهد بود، اما غلظت بیشتر اسید سالیسیلیک مقدار آنتوسیانین ریشه را کاهش داد؛ به طوری که تفاوت آماری معنی‌داری با شاهد نداشت (شکل ۵). افزایش سطح نمک همراه با کاربرد ۰/۲۵ میلی‌مولار مقدار آنتوسیانین کل برگ را افزایش داد که میزان افزایش در سطح ۶ دسی‌زیمنس بیشتر بود (شکل A ۶). با محلول‌پاشی ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک آنتوسیانین کل برگ در سطوح شوری مختلف ثابت ماند اما در سطح ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر نسبت به گیاهانی که در همان سطح شوری اسید سالیسیلیک



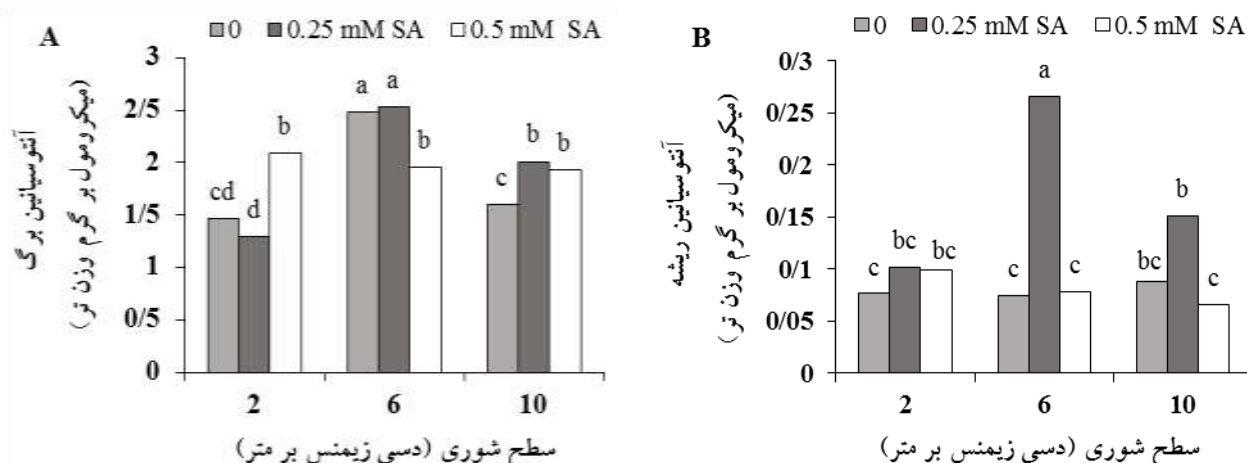
شکل ۳- اثرات اصلی شوری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر محتوای پرولین ریشه و برگ گل راعی (میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند).



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر مقدار پرولین برگ (A) و ریشه (B) گل راعی (میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند).



شکل ۵- اثرات اصلی شوری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر مقدار آنتوسیانین ریشه و برگ گل راعی (میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند).



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر مقدار آنتوسیانین برگ (A) و ریشه (B) گل راعی (میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند).

حد رسید (بهنام‌نیا و شنوایی زارع، ۱۳۹۲).

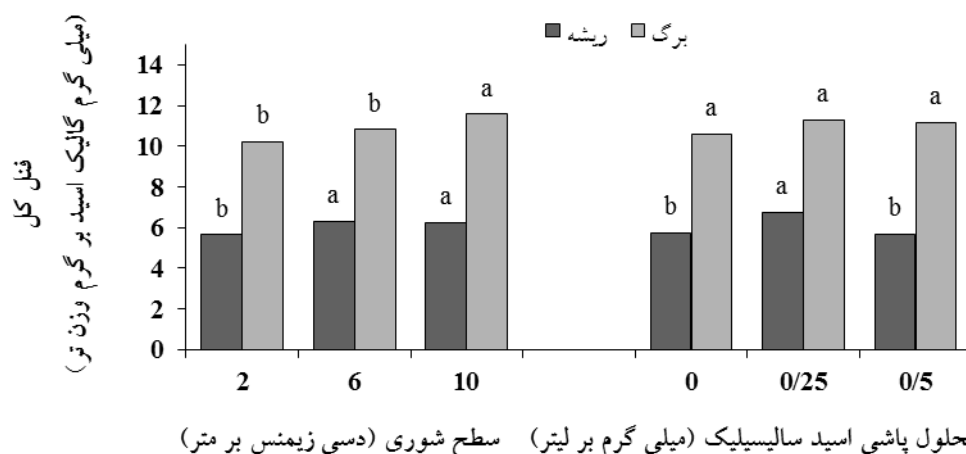
فنل و فلاونوئید کل: نتایج تجزیه واریانس داده‌های جدول ۲ نشان داد محتوای فنل کل برگ به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای شوری و محتوای فنل کل ریشه تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی شوری و اسید سالیسیلیک قرار گرفتند (جدول ۲). شوری موجب افزایش ترکیبات فنلی برگ شد به‌طوری‌که تحت شرایط شوری شدید به میزان ۱۳ درصد نسبت به شاهد افزایش پیدا کرد (شکل ۷). در سطوح شوری ۶ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر فنل ریشه به ترتیب ۱۲ و ۱۰ درصد افزایش داشت (شکل ۷). با کاربرد اسید سالیسیلیک در سطح ۰/۲۵ میلی‌مولار، مقدار فنل ریشه ۱۷ درصد بیشتر از گیاهان شاهد بود، اما غلظت بیشتر اسید سالیسیلیک مقدار فنل ریشه را کاهش و به‌مقدار مشابه گیاهان شاهد رساند (شکل ۷). تأثیر برهمکنش شوری و اسید سالیسیلیک بر مقدار فنل کل برگ و ریشه معنی‌دار نبود (جدول ۲). فنل کل برگ و ریشه به‌ویژه در ریشه معمولاً در گونه یا ارقام متحمل به‌عنوان مکانیسم دفاعی افزایش می‌یابد تا افزایش قابل توجه یون‌های سدیم و گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش دهد (Al Kharusi *et al.*, 2019). سطوح شوری متوسط ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار در آویشن دنیایی و باغی از طریق افزایش ترکیبات فنلی تحمل به شوری

دریافت نکرده بودند مقدار آنتوسیانین بالاتر بود (شکل ۶A). با محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در سطح ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر بیشترین آنتوسیانین کل ریشه در سطح شوری ۶ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد (شکل ۶B). آنتوسیانین به همراه کارتنوئید یک رنگیزه غیرفستوزکننده است که با اهدای هیدروژن، کلات‌کردن فلزات و اتصال پروتئین‌ها فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد. آنتوسیانین قادر است پتانسیل آبی را ثابت نگه دارد و به‌همین دلیل معمولاً بافت‌های گیاهی با آنتوسیانین بالاتر به تنش مقاوم‌ترند؛ به همین دلیل محتوای نسبی آب در سطح شوری ۶ دسی‌زیمنس بر متر در این آزمایش کاهش نیافته است؛ زیرا در این سطح آنتوسیانین برگ به حداکثر مقدار رسیده است (Aldesuquy and Ghanem, 2015). شوری ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار مقدار آنتوسیانین برگ گل‌رنگ را بالا برد و کاربرد ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک هم در شرایط شور و هم در شرایط غیرشور باعث افزایش آنتوسیانین شد (Shaki *et al.*, 2018). مشابه نتایج این آزمایش که غلظت کمتر اسید سالیسیلیک اثر افزایشی بر آنتوسیانین داشت، استفاده از اسید سالیسیلیک ۱ میلی‌مولار در شرایط شور باعث افزایش محتوای آنتوسیانین شیرین بیان شد، اما مقدار آنتوسیانین در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار و کاربرد ۲ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به کمترین

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس تیمارهای تنش شوری و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک بر محتوای فنل کل و فلاونوئید کل برگ و ریشه گل راعی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		فنل کل برگ	فلاونوئید کل برگ	فلاونوئید کل ریشه
شوری	۲	۲/۷۳**	۲/۴۵**	۰/۰۵ ^{ns}
اسید سالیسیلیک	۲	۰/۵۰ ^{ns}	۲/۸۵*	۱/۲۹*
شوری × اسید سالیسیلیک	۴	۱/۰۶ ^{ns}	۱/۱۶**	۰/۷۲**
خطا	۱۸	۰/۲۴	۰/۱۷	۰/۰۷
ضریب تغییرات (درصد)		۴/۵۷	۸/۱۶	۱۱/۲۵

^{ns} و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، اختلاف معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد

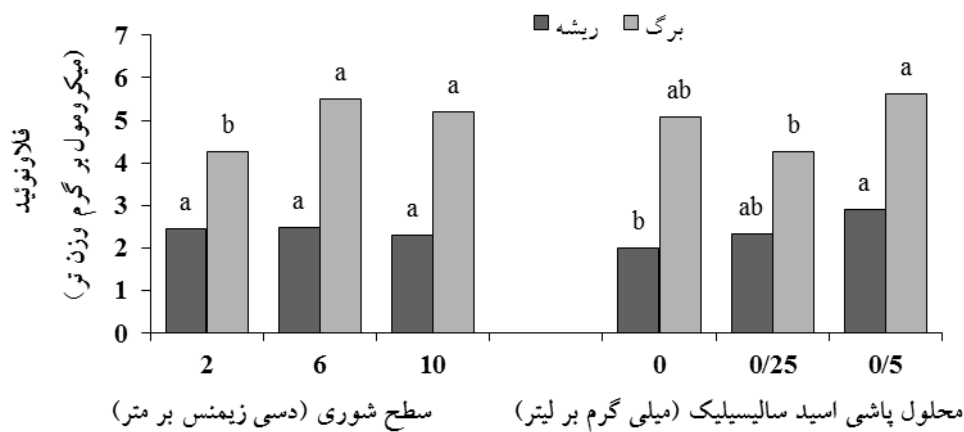


شکل ۷- اثر تنش شوری و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک بر مقدار فنل ریشه و برگ گل راعی (میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند).

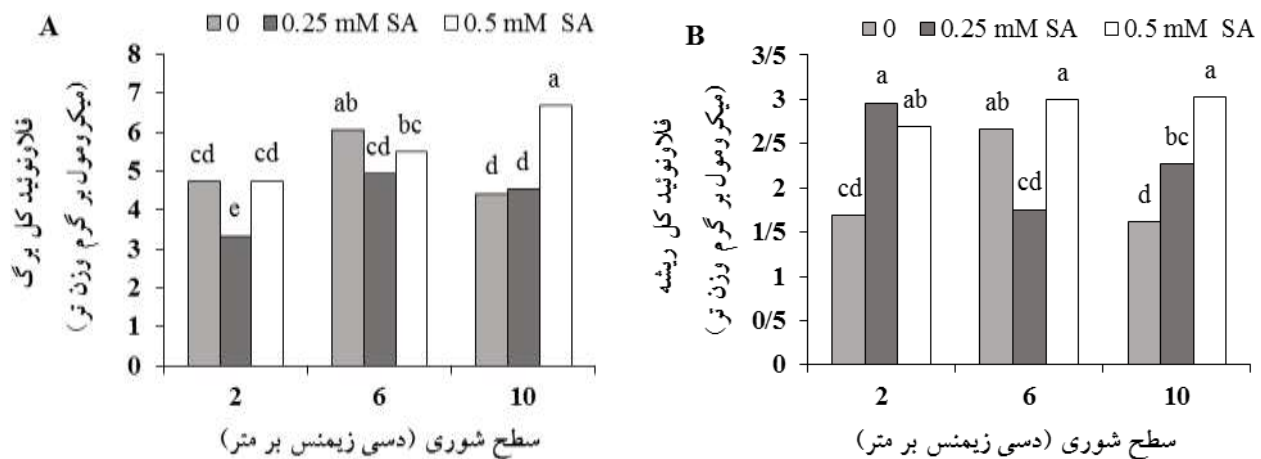
تیمارهای شوری، اسید سالیسیلیک و برهمکنش آنها بر محتوای فلاونوئید برگ و اسید سالیسیلیک و برهمکنش شوری و اسید سالیسیلیک بر محتوای فلاونوئید ریشه معنی‌داری شد (جدول ۲). با افزایش میزان نمک در آب آبیاری، فلاونوئید کل برگ ۲۸ و ۲۲ درصد در سطوح ۶ و ۱۰ افزایش یافت (شکل ۸). با کاربرد اسید سالیسیلیک در سطح ۰/۵ میلی‌مولار، فلاونوئید کل برگ و ریشه به ترتیب ۱۱ و ۴۵ درصد بیشتر از شاهد بود و غلظت کمتر اسید سالیسیلیک تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد در این مقادیر ایجاد نکرد (شکل ۸). بیشترین افزایش فلاونوئید برگ و ریشه برابر با ۶۶ و ۸۹ درصد در تنش شوری شدید و محلول‌پاشی ۰/۵ میلی‌مولار اسید

را در گیاه القا کردند (Bistgani et al., 2019). تنش انرژی برانگیخته فراوانی به وجود می‌آورد و یکی از راه‌ها برای پخش این انرژی تولید پلی‌فنل‌ها به‌ویژه در ساختارهای فتوسنتزی است (Tattini et al., 2004). نتایج مطالعه‌ای روی آویشن نشان داد که تنش خشکی به‌تنهایی باعث افزایش پلی‌فنل‌ها در بخش هوایی آویشن شد؛ اما کاربرد اسید سالیسیلیک در غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ میلی‌مولار افزایش مضاف بر تنش را ایجاد کرد تا این ترکیبات هم حفاظت نوری انجام دهند و هم در قالب آنتی‌اکسیدان عمل کنند (Agati and Tattini, 2010; Khalil et al., 2018).

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر محتوای فلاونوئید نشان داد اثر



شکل ۸- اثر تنش شوری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر مقدار فلاونوئید ریشه و برگ گل راعی (میانگین ۶هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون حداقل تفاوت معنی ۶دار (LSD) در سطح پنج درصد اختلاف معنی ۶داری ندارند).



شکل ۹- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر مقدار فلاونوئید کل برگ (A) و ریشه (B) گل راعی (میانگین ۶هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون حداقل تفاوت معنی ۶دار (LSD) در سطح پنج درصد اختلاف معنی ۶داری ندارند).

(Kovacik *et al.*, 2009) و بابونه (2019; Khalil *et al.*, 2018) داشته باشد.

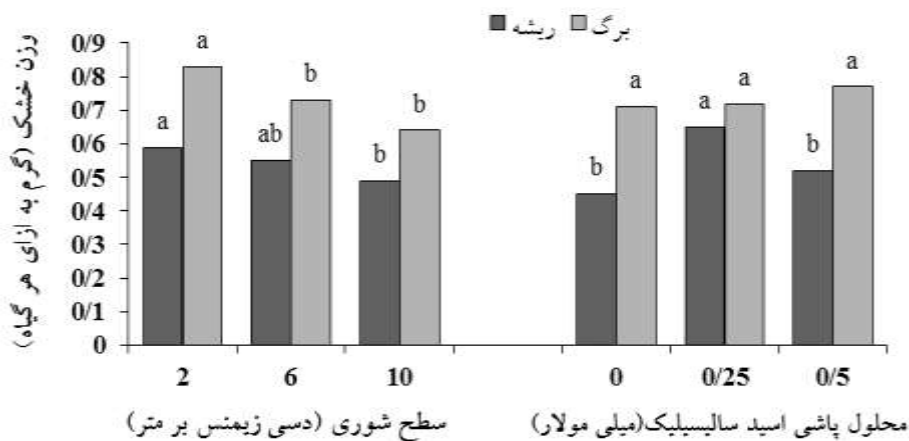
ماده خشک ریشه و اندام هوایی: تأثیر تیمارهای آزمایشی شوری و برهمکنش شوری × اسید سالیسیلیک بر ماده خشک اندام هوایی و تأثیر تیمارهای شوری، اسید سالیسیلیک و برهمکنش آنها بر وزن ماده خشک ریشه معنی دار بود (جدول ۳) و (شکل ۱۰). شوری وزن خشک اندام هوایی را در سطوح شوری ۶ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب ۱۲ و ۲۳ درصد کاهش داد؛ درحالی‌که وزن خشک ریشه تنها در شوری شدید

سالیسیلیک بود (شکل ۹). شوری و اسید سالیسیلیک هر کدام در مسیرهای فیزیولوژیک متفاوت، موجب تنظیم ژن‌های بیوسنتزی فلاونوئید می‌شوند. همچنین افزایش بیوسنتز فلاونوئیدها با افزایش گلوکوتایون-S-ترانسفراز همراه است. این آنزیم در انتقال فلاونوئیدها به واکوئل به منظور پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن نقش دارد (Ahmad. and Prasad, 2012; Gondor *et al.*, 2016). این عوامل سبب شد که کاربرد توأم اسید سالیسیلیک در شرایط تنش شوری تأثیر مثبت بر مقدار فلاونوئید گیاهانی مانند آویشن دناپی (Bistgani *et al.*,)

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس تیمارهای تنش شوری و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک بر ماده خشک اندام هوایی و ریشه گل راعی

میانگین مربعات		درجه آزادی	منابع تغییرات
ماده خشک ریشه	ماده خشک اندام هوایی		
۰/۰۱۳*	۰/۰۴۹**	۲	شوری
۰/۰۶۳**	۰/۰۰۸ ^{ns}	۲	اسید سالیسیلیک
۰/۰۱۱*	۰/۰۰۸*	۴	شوری × اسید سالیسیلیک
۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۱۸	خطا
۸/۰۵	۵/۹۷		ضریب تغییرات (درصد)

ns، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار، اختلاف معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد

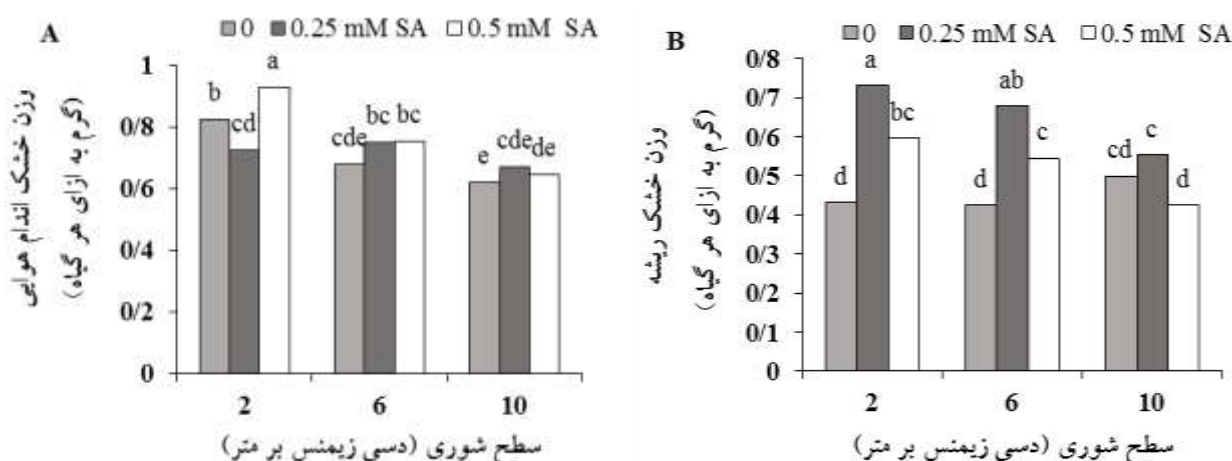


شکل ۱۰- اثر متقابل شوری و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه گل راعی (میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند).

۰/۶۲ گرم بود (شکل A ۱۱). محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار در تمام سطوح شوری بالاترین وزن خشک ریشه را دارا بود (شکل B ۱۱). زمانی که غلظت نمک بیشتر از شرایط عادی است، محتوای آب در نقطه پژمردگی بالاتر است و به همین دلیل از میزان آب در دسترس کاسته می‌شود. در این شرایط گیاه به جای صرف انرژی در رشد و تولید عملکرد، انرژی را به تنظیمات بیوشیمیایی مورد نیاز برای زنده‌ماندن اختصاص می‌دهد (Hancioglu *et al.*, 2019). افزون بر این در شرایط شوری، همبستگی قوی بین آب ریشه و تولید بیوماس وجود دارد (Taarit *et al.*, 2011)؛ بدین ترتیب که کم‌شدن جذب آب توسط ریشه، با کم‌شدن جذب عناصر غذایی و استفاده توسط گیاه همراه است و می‌تواند

۱۷ درصد در مقایسه با شاهد کاهش یافت. با کاربرد اسید سالیسیلیک در سطح ۰/۲۵ میلی‌مولار وزن خشک ریشه ۴۴ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۱۰). افزایش غلظت اسید سالیسیلیک در مقایسه با شاهد تأثیر مثبتی بر وزن خشک ریشه نداشت (شکل ۱۰).

مقایسه میانگین برهمکنش شوری × اسید سالیسیلیک نشان داد با افزایش تیمارهای تنش شوری وزن خشک اندام هوایی و ریشه کاهش یافت، درحالی‌که محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک باعث کاهش اثر تنش شوری شد. بیشترین وزن خشک اندام هوایی مربوط به تیمار عدم‌تنش با محلول‌پاشی ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با ۰/۹۲ گرم و کمترین مربوط به تیمار تنش شوری شدید (۱۰ دسی‌زیمنس بر متر) و عدم‌محلول‌پاشی با



شکل ۱۱- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر وزن خشک اندام هوایی (A) و ریشه گل راعی (B) میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

سلول‌های ریشه با تحریک فعالیت مریستم ریشه گیاهچه‌ها همراه بود (Shakirova et al., 2003).

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر گیاه با تنظیم اسمزی و از طریق افزایش پرولین به‌ویژه در ریشه توانست اثرات منفی شوری را تعدیل کند. همچنین افزایش سنتز فنل، آنتوسیانین و فلاونوئید کل به‌عنوان سیستم دفاع غیرآنزیمی به گیاه در مقابله با شوری کمک کرد. محلول پاشی اسید سالیسیلیک با افزایش محتوای پرولین و متابولیت‌های ثانویه برگ موجب کاهش اثرات منفی شوری در گیاه گل راعی گردید که نتیجه آن ادامه‌دادن رشد و تولید زیست توده گیاه در شرایط شوری است. در مجموع نتایج این مطالعه نشان داد با استفاده از غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک می‌توان اثرات منفی تنش شوری به‌ویژه در سطح ۶ دسی‌زیمنس بر متر سدیم کلرید بر گیاه گل راعی را کاهش داد و موجب افزایش تحمل به شوری این گیاه شد.

روی تولید ماده خشک اثر بگذارد (Razmjoo et al., 2008). کاهش کمتر در وزن خشک اندام هوایی و ریشه گل راعی در این آزمایش می‌تواند به‌علت افزایش پرولین در هر دو بخش باشد که با حفظ پتانسیل اسمزی و ادامه جذب آب موجب ایجاد فشار توژسانس شد و امکان رشد را در شرایط تنش فراهم کرد (Li et al., 2014).

با توجه به این که شرایط تنش سبب کاهش فعالیت آنزیم روبیسکو می‌شود، به‌نظر می‌رسد اسید سالیسیلیک با افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو و در نتیجه بهبود فتوسنتز سبب افزایش سطح برگ و وزن خشک اندام هوایی می‌شود. از طرفی افزایش بیوماس در اثر استفاده از اسید سالیسیلیک به خاطر فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ماده در غشا سلولی و افزایش مقادیر لیگنین در ساختار دیواره سلولی است (وفابخش و همکاران، ۱۳۸۷)، که این خود می‌تواند دلیلی بر افزایش وزن ماده خشک گیاهان در معرض تنش شوری باشد. از سوی دیگر تأثیر مثبت محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر وزن خشک ریشه در تنش شوری متوسط (سطح شوری ۶ دسی‌زیمنس بر متر) و شاهد چشمگیرتر بود و مشابه نتایج مطالعه‌ای روی گندم بود که در آن، اثر مثبت و مهم اسید سالیسیلیک بر تقسیم و توسعه

- بهنام‌نیا، م. و شنوایی زارع، ا. (۱۳۹۲) اثرات سالیسیلیک اسید بر گیاهچه شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) در شرایط تنش شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی ۳: ۷۳-۸۳.
- پیراسته انوشه، ه.، امام، ی.، روستا، م. ج. و هاشمی، س. ا. (۱۳۹۵) اثر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و عملکرد دانه جو (*Hordeum vulgare* L.) رقم نصرت در شرایط تنش شوری. مجله علوم زراعی ایران ۱۸: ۲۴۴-۲۳۲.
- شهبازی‌زاده، ا.، موحدی دهنوی، م. و بلوچی، ح. ر. (۱۳۹۴) تأثیر محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید و آسکوربیک اسید بر برخی صفات فیزیولوژیک سویا (رقم ویلیامز) تحت تنش شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی ۴: ۱۳-۲۲.
- وفابخش، ج.، نصیری محلاتی، م. و کوچکی، ع. ر. (۱۳۸۷) اثر تنش خشکی بر عملکرد و کارایی مصرف نور در ارقام کلزا (*Berisica napus* L.). مجله پژوهش‌های زراعی ایران ۶: ۱۹۳-۲۰۸.
- Agati, G. and Tattini, M. (2010) Multiple functional roles of flavonoids in photoprotection. *New Phytologist* 186: 76-793.
- Ahl, S. A. and Omer, E. (2011) Medicinal and aromatic plants production under salt stress. A review. *Herba Polonica* 57: 72-87.
- Al Kharusi, L., Al Yahyai, R. and Yaish, M. (2019) Antioxidant response to salinity in salt-tolerant and salt-susceptible cultivars of date palm. *Agriculture* 9: 8.
- Aldesuquy, H. and Ghanem, H. (2015) Exogenous salicylic acid and trehalose ameliorate short term drought stress in wheat cultivars by up-regulating membrane characteristics and antioxidant defense system. *Journal of Horticulture* 2: 139.
- Bates, L. S., Walden, R. P. and Teave, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Bernstein, N., Kravchik, M. and Dudai, N. (2010) Salinity-induced changes in essential oil, pigments and salts accumulation in sweet basil (*Ocimum basilicum*) in relation to alterations of morphological development. *Annals of Applied Biology* 156: 167-177.
- Bistgani, Z. E., Hashemi, M., DaCosta, M., Craker, L., Maggi, F. and Morshedloo, M. R. (2019) Effect of salinity stress on the physiological characteristics, phenolic compounds and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. and *Thymus daenensis* Celak. *Industrial Crops and Products* 135: 311-320.
- Burt, S. (2004) Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods. A review. *International Journal of Food Microbiology* 94: 223-253.
- Chai, T. T., Fadzillah, N., Kusnan, M. and Mahmood, M. (2005) Water stress-induced oxidative damage and antioxidant responses in micropropagated banana plantlets. *Biologia Plantarum* 49: 153-156.
- Delavari, P., Baghizadeh, A., Enteshari, S., Kalantari, K. M., Yazdanpanah, A. and Mousavi, E. (2010) The effects of salicylic acid on some of biochemical and morphological characteristic of *Ocimum basilicum* under salinity stress. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 4: 4832-4845.
- Ahmad, P. and Prasad, M. N. V. (2012) Flavonoids as antioxidants in plants under abiotic stresses. In: *Abiotic Stress Responses in Plants*. (eds. Di Ferdinando, M., Brunetti, C., Fini, A. and Tattini, M.) Pp. 159-179. Springer.
- Farahbakhsh, H., Pasandi Pour, A. and Reiahi, N. (2017) Physiological response of henna (*Lawsonia inermis* L.) to salicylic acid and salinity. *Plant Production Science* 20: 237-247.
- Gondor, O. K., Janda, T., Soos, V., Pal, M., Majlath, I., Adak, M. K., Balazs, E. and Szalai, G. (2016) Salicylic acid induction of flavonoid biosynthesis pathways in wheat varies by treatment. *Frontiers in Plant Science* 7: 1447.
- Hancioglu, N. E., Kurunc, A., Tontul, I. and Topuz, A. (2019) Irrigation water salinity effects on oregano (*Origanum onites* L.) water use, yield and quality parameters. *Scientia Horticulturae* 247: 327-334.
- Jayakannan, M., Bose, J., Babourina, O., Rengel, Z. and Shabala, S. (2015) Salicylic acid in plant salinity stress signalling and tolerance. *Plant Growth Regulation* 76: 25-40.
- Khalil, N., Fekry, M., Bishr, M., El-Zalabani, S. and Salama, O. (2018) Foliar spraying of salicylic acid induced accumulation of phenolics, increased radical scavenging activity and modified the composition of the essential oil of water stressed *Thymus vulgaris* L. *Plant Physiology and Biochemistry* 123: 65-74.
- Kovacik, J., Klejdus, B., Hedbavny, J. and Backor, M. (2009) Salicylic acid alleviates NaCl-induced changes in the metabolism of *Matricaria chamomilla* plants. *Ecotoxicology* 18: 544-554.
- Krizek, D. T., Britz, S. J. and Mirecki, R. M. (1998) Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. New Red Fire lettuce. *Physiologia Plantarum* 103: 1-7.
- Li, L., Zhang, H., Zhang, L., Zhou, Y., Yang, R., Ding, C. and Wang, X. (2014) The physiological response of *Artemisia annua* L. to salt stress and salicylic acid treatment. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 20: 161-169.

- Liu, W., Zhang, Y., Yuan, X., Xuan, Y., Gao, Y. and Yan, Y. (2016) Exogenous salicylic acid improves salinity tolerance of *Nitraria tangutorum*. Russian Journal of Plant Physiology 63: 132-142.
- Mesgaran, M. B., Madani, K., Hashemi, H. and Azadi, P. (2017) Iran's land suitability for agriculture. Scientific Reports 7: 7670.
- Mishra, A. and Choudhuri, M. A. (1999) Effects of salicylic acid on heavy metal-induced membrane deterioration mediated by lipoxygenase in rice. Biologia Plantarum 42: 409-415.
- Morshedloo, M. R., Moghadam, M. R. F., Ebadi, A. and Yazdani, D. (2015) Genetic relationships of Iranian *Hypericum perforatum* L. wild populations as evaluated by ISSR markers. Plant Systematics and Evolution 301: 657-665.
- Parida, A. K. and Das, A. B. (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. Ecotoxicology and Environmental Safety 60: 324-349.
- Pirasteh-Anosheh, H., Emam, Y. and Sepaskhah, A. (2015) Improving barley performance by proper foliar applied salicylic-acid under saline conditions. International Journal of Plant Production 9: 467-486.
- Qados, A. M. A. (2015) Effects of salicylic acid on growth, yield and chemical contents of pepper (*Capsicum Annuum* L) plants grown under salt stress conditions. International Journal of Agriculture and Crop Sciences 8: 107.
- Razmjoo, K., Heydarizadeh, P. and Sabzalian, M. R. (2008) Effect of salinity and drought stresses on growth parameters and essential oil content of *Matricaria chamomile*. International Journal of Agriculture and Biology 10: 451-454.
- SeEVERS, P. M. and DALY, J. M. (1970) Studies on wheat stem rust resistance controlled at the Sr6 locus. II. Peroxidase activities. Phytopathology 60: 1642-1647.
- Shaki, F., Maboud, H. E. and Niknam, V. (2018) Growth enhancement and salt tolerance of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.), by salicylic acid. Current Plant Biology 13: 16-22.
- Shakirova, F. M., Sakhabutdinova, A. R., Bezrukova, M. V., Fatkhutdinova, R. A. and Fatkhutdinova, D. R. (2003) Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. Plant Science 164: 317-322.
- Taarit, M. B., Msaada, K., Hosni, K. and Marzouk, B. (2011) Physiological changes and essential oil composition of clary sage (*Salvia sclarea* L.) rosette leaves as affected by salinity. Acta Physiologiae Plantarum 33: 153-162.
- Tátrai, Z. A., Sanoubar, R., Pluhar, Z., Mancarella, S., Orsini, F. and Gianquinto, G. (2016) Morphological and physiological plant responses to drought stress in *Thymus citriodorus*. International Journal of Agronomy 2016.
- Tattini, M., Galardi, C., Pinelli, P., Massai, R., Remorini, D. and Agati, G. (2004) Differential accumulation of flavonoids and hydroxycinnamates in leaves of *Ligustrum vulgare* under excess light and drought stress. New Phytologist 163: 547-561.
- Wang, H., Feng, T., Peng, X., Yan, M. and Tang, X. (2009) Up-regulation of chloroplastic antioxidant capacity is involved in alleviation of nickel toxicity of *Zea mays* L. by exogenous salicylic acid. Ecotoxicology and Environmental Safety 72: 1354-1362.
- Zobayed, S., Afreen, F. and Kozai, T. (2005) Temperature stress can alter the photosynthetic efficiency and secondary metabolite concentrations in St. John's wort. Plant Physiology and Biochemistry 43: 977-984.

Physiological and biochemical responses of *Hypericum perforatum* to salt stress and salicylic acid spraying

Sara Alinian Joozdani¹, Mohammad Rafieiolhossaini^{1*}, Jamshid Razmjoo², Babak Bahreininejad³

¹Department of Agronomy, College of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

²Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

³Research Division of Natural Resources, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Isfahan

(Received: 25/11/2019, Accepted: 15/02/2020)

Abstract

Salinity is one of the main obstacles to the successful production of agricultural products. Hormonal compounds such as salicylic acid (SA) as plant growth regulators can have different physiological and biochemical effects in plants under salt stress. In this research, the effects of different concentrations of sodium chloride (2, 6 and 10 dS/m) and foliar application of SA (0, 0.25 and 0.5 mM) on leaf relative water content, proline, anthocyanin, phenol and flavonoid contents, and dry matter of root and shoot were studied in completely randomized design. When the plants were 10 cm in height, foliar application was done 2 times by 7 day interval and then salinity treatments were initiated. Results showed that salinity treatments reduced leaf relative water content and shoot and root dry matter, while salicylic acid application increased these traits under salinity stress. Foliar application of salicylic acid increased leaf proline and anthocyanin content, especially at 6 dS/m salinity. Severe salinity and salicylic acid at 0.25 mM increased leaf and root phenol content by 13 and 17%, respectively. The highest increase in leaf and root flavonoid was 66% and 89% under severe salinity stress with application of 0.5 mM salicylic acid. Overall, the results of this study showed that with application of 0.25 mM of salicylic acid could reduce the negative effects of salinity stress, especially at 6 dS/m salinity level in *Hypericum perforatum* and also increased the resistance of this plant.

Key words: Anthocyanin, Proline, Flavonoids, Phenol, Relative water content.

Corresponding author, Email: m_rafiee_1999@yahoo.com