

بررسی اثر اسید سالیسیلیک در شرایط تنش خشکی بر برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه خرفه (*Portulaca oleracea L.*)

فرناز ساحری^۱، گیتی برزین^{۱*}، لیلا پیشکار^۱، مسعود مشهدی اکبر بوجار^۲ و لاله بابائی خو^۱

^۱ گروه زیست‌شناسی، واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، ^۲ دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۱۳، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۰/۰۶/۱۶)

چکیده

با توجه به روند افزایشی توسعه اراضی خشک و کمبود اراضی مطلوب برای کشاورزی در دنیا، استفاده از گونه‌های گیاهی مقاوم به خشکی یا کاربرد ترکیباتی که باعث کاهش اثرات تنش خشکی و القای مقاومت در مقابل تنش در گیاهان می‌شوند، اهمیت زیادی دارد. در مطالعه حاضر، تأثیر محلول‌پاشی برگی اسید سالیسیلیک (صفر، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) بر پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه خرفه، تحت تنش خشکی (۹۰، ۶۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی) به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تنش خشکی ۶۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی باعث کاهش ارتفاع (به-ترتیب ۱۸/۵ و ۴۵ درصد) و وزن خشک کل گیاه (۴۳/۱ و ۵۸/۶ درصد) نسبت به شاهد (۹۰ درصد ظرفیت زراعی) شدند. تنش خشکی به‌ویژه خشکی ۳۰ درصد ظرفیت زراعی باعث کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی، کاهش محتوای آب نسبی برگ، پایداری غشا و القای تنش اکسیداتیو (افزایش سطح متیل‌گلی‌اکسال و مالون دی‌آلدئید) شد. با این حال، کاربرد برگی اسید سالیسیلیک با تنظیم متابولیسم کلروفیل (فعالیت آنزیم‌های کلروفیل‌لاز و دلتا-آمینولولینیک اسید دهیدراتاز) و بهبود متابولیسم پرولین (فعالیت آنزیم‌های پرولین دهیدروژناز و دلتا-۱-پرولین-۵-کربوکسیلات سنتتاز ۱)، باعث افزایش محتوای کلروفیل و تجمع پرولین و در نتیجه، بهبود کارایی دستگاه فتوسنتز و محتوای آب نسبی برگ تحت تنش خشکی شد. اسید سالیسیلیک همچنین از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های سیستم گلی‌اکسالاز و بهبود حالت اکسایش-کاهش چرخه آسکوربیک اسید-گلوتاتیون، باعث بهبود تحمل گیاه به تنش خشکی شد. بنابراین، اسید سالیسیلیک تحت شرایط تنش خشکی می‌تواند در کاهش و تعدیل اثرات منفی تنش نقش مؤثری داشته باشد.

کلمات کلیدی: تنش خشکی، اسید سالیسیلیک، سیستم گلی‌اکسالاز، تنش اکسیداتیو، تبادلات گازی

مقدمه

اطراف ریشه و تعرق زیاد توسط برگ است که همزمان در مناطق خشک و نیمه‌خشک اتفاق می‌افتد. اثرات تنش خشکی بر رشد گیاه به عوامل مختلفی از جمله مرحله رشد گیاه، گونه گیاهی، مدت زمان و درجه تنش خشکی بستگی دارد. تنش خشکی باعث تغییر در متابولیسم مواد مغذی، رشد ریشه،

تنش خشکی باعث کاهش جذب آب توسط ریشه گیاه می‌شود که با تغییر در فرآیندهای متابولیسمی مهم، تأثیر منفی بر رشد و عملکرد گیاهان دارد (Takahashi et al., 2020). دو عامل اصلی ایجاد تنش آبی در گیاهان کاهش تأمین آب مورد نیاز در

* نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: Gitibarzin@iaau.ac.ir

شاخص سطح برگ، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، تعادل هورمونی و میزان تنفس گیاه می‌شود (Hura et al., 2015).

افزایش شدت و مدت تنش خشکی باعث ایجاد مکانیسم‌های سازگاری شامل کاهش نسبت شاخه به ریشه، تغییرات دیواره سلولی، تنظیم اسمزی، فعال‌شدن سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان و برنامه‌ریزی مجدد متابولیسم در گیاهان می‌شود (Blum, 2017). تنش خشکی با افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن، باعث القای تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شود که می‌تواند به ماکرومولکول‌های مهم سلولی مانند پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA آسیب برساند و حتی منجر به مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول شوند (Takahashi et al., 2020). در مقابل، گیاهان مکانیسم‌های دفاعی دارند که تحمل و سازگاری آنها را تحت تنش اکسیداتیو القاشده توسط تنش خشکی افزایش می‌دهد. سیستم دفاعی گیاهان که در مهار تنش اکسیداتیو نقش دارند شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، سیستم گلی‌اکسالاز و چرخه آسکوربیک اسید-گلوتاتیون هستند (Boaretto et al., 2014; Ghorbani et al., 2021). متیل گلی‌اکسال ترکیب سمی بسیار واکنش‌پذیر، به‌عنوان محصول فرعی، در چندین مسیر متابولیسمی مانند گلیکولیز تولید می‌شود. متیل گلی‌اکسال توسط سیستم گلی‌اکسالاز متشکل از دو آنزیم گلی‌اکسالاز I و II و با مصرف گلوتاتیون احیاشده به‌عنوان کوفاکتور و تبدیل به D-لاکتات سمیت‌زدایی می‌شود (Yadav et al., 2005; Ghorbani et al., 2020).

اسید سالیسیلیک به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی مهم، تأثیرات مختلفی بر روی فرآیندهای مهم گیاه از جمله جذب یون، فرآیند گلدهی، عملکرد دستگاه فتوسنتزی، فعالیت سیستم دفاعی و همچنین تحمل گیاه به تنش‌های زیستی و غیرزیستی دارد (Gerami et al., 2018; Koo et al., 2020; Ramezani et al., 2021). عوامل متعددی مانند غلظت اسید سالیسیلیک، سطح اسید سالیسیلیک داخلی گیاه، نحوه کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک، مرحله نمو گیاه و گونه گیاهی بر روی اثرات کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک تأثیر می‌گذارد (Horvath et al., 2007). در گزارشی نشان داده شد که کاربرد خارجی اسید

سالیسیلیک باعث افزایش تولید زیست‌توده، رنگیزه‌های فتوسنتزی، شاخص پایداری غشاء و کاهش نشت یونی در گیاه دارویی شنبلله تحت تنش خشکی شد (Touhidi Nejad et al., 2016). کاربرد اسید سالیسیلیک همچنین باعث بهبود شاخص پایداری غشاء، عملکرد دستگاه فتوسنتزی، پتانسیل آب برگ و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کربنیک آنیدراز و نیترات ردوکتاز در گیاه گوجه فرنگی در شرایط تنش خشکی شد (Hayat et al., 2008). اثرات مثبت تیمار اسید سالیسیلیک بر رشد و عملکرد گیاهان دارویی رزماری و به‌لیمو تحت تنش خشکی نیز گزارش شده است (Dianat et al., 2016; Abbaszadeh et al., 2020). اگر چه نقش هورمون‌های گیاهی در پاسخ گیاهان به تنش‌های مختلف زیستی و غیرزیستی پذیرفته شده است (Ghorbani et al., 2022)، با این‌حال، مکانیسم دقیق فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی اسید سالیسیلیک در تحمل گیاهان به تنش خشکی به خوبی درک نشده است.

خرفه (*Portulaca oleracea* L.) گیاه دارویی از تیره *Portulacaceae* است که در سرتاسر نواحی معتدل و گرمسیر دنیا ایشار یافته است. گیاه غنی از اسیدهای چرب، پروتئین و ویتامین C، A و E است که حدود ۷۰ درصد اسیدهای چرب تشکیل‌دهنده روغن آن غیراشباع بوده و حدود ۵۰ درصد آن را تنها اسید چرب امگا ۳ تشکیل می‌دهد (Iranshahy et al., 2017). بنابراین، در تحقیق حاضر از گیاه دارویی خرفه برای شناخت مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و شیمیایی القاشده توسط اسید سالیسیلیک در تحمل گیاه به تنش خشکی مورد استفاده قرار گرفته است. بنابراین، در این مطالعه، تأثیر سطوح مختلف خشکی و محلول‌پاشی برگی اسید سالیسیلیک بر رشد، متابولیسم کلروفیل و پرولین، چرخه آسکوربیک اسید گلوتاتیون و سیستم گلی‌اکزالازات گیاه خرفه مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

کشت گیاه و اعمال تیمار: قبل از کاشت، بذره‌های گیاه خرفه به‌مدت سه دقیقه در محلول هیپوکلرید سدیم ۵ درصد

اندازه‌گیری شد و محتوای رنگیزه‌های کلروفیل a و b و کاروتنوئیدها مطابق روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) محاسبه گردید. برای اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل، از انتهای‌ترین برگ کاملاً توسعه‌یافته استفاده شد. این کار با استفاده از دستگاه فلوریمتر (PAM 2500-Walz Germany) انجام شد. با استفاده از گیره‌های مخصوص (2030-B, Walz)، برگ گیاهان به مدت ۳۰ دقیقه با تاریکی سازگار شده و سپس میزان فلورسانس تیمارها اندازه‌گیری شد.

محتوای نسبی آب برگ، نشت یونی و شاخص پایداری:

برای محاسبه محتوای نسبی آب، برگ سوم گیاه بلافاصله بعد از برداشت وزن ($W1$) و به مدت ۵ ساعت در آب مقطر و تاریکی قرار داده شد و دوباره وزن گردید ($W2$). سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد و وزن شد ($W3$). محتوای نسبی آب برگ براساس رابطه ۱ محاسبه شد (Smart and Bingham, 1974).

رابطه ۱:

$$RWC = (W1 - W2) / (W2 - W3) \times 100$$

برای اندازه‌گیری نشت یونی، ابتدا ۰/۱ گرم از برگ در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار گرفته و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق روی شیکر با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه نگهداری شدند و سپس هدایت الکتریکی محلول به وسیله EC متر (مدل Metrohm 644) ثبت گردید ($EC1$). سپس نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو با دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد قرار داده شدند و بعد از خنک شدن هدایت الکتریکی آنها ($EC2$) خوانده شد. با استفاده از رابطه ۲ میزان نشت یونی محاسبه گردید (Lutts *et al.*, 1995).

رابطه ۲

$$= نشت یونی (EC1/EC2) \times 100$$

شاخص پایداری غشا نیز با استفاده از پارامترهای اندازه‌گیری شده در نشت یونی و مطابق رابطه ۳ محاسبه گردید:

رابطه ۳

$$= شاخص پایداری غشا 1 - (EC1/EC2) \times 100$$

محتوای پرولین: برای اندازه‌گیری محتوای پرولین آزاد از

ضد عفونی و بلافاصله پنج بار با آب مقطر کاملاً شستشو شدند (Ghorbani *et al.*, 2019b). بذرهاى ضد عفونی شده در گلدان‌های پلاستیکی (۱۰ سانتیمتر قطر و ۱۵ سانتیمتر عمق) حاوی هوموس، خاک رس و شن اتوکلاو شده به نسبت ۲:۱:۳ کاشته شدند (پنج بذر برای هر گلدان). گلدان‌ها در شرایط گلخانه‌ای و دمای روز / شب ۱۸/۲۵ درجه سانتی‌گراد، مدت روشنایی ۱۴ ساعت با شدت نور ۴۰۰ وات بر متر مربع و رطوبت نسبی 5 ± 65 درصد نگهداری شدند. گیاهچه‌های هر گلدان بعد از جوانه‌زنی به یک گیاهچه کاهش یافت. تنش خشکی ۳۰ روز بعد از جوانه‌زنی در سه سطح شاهد (۹۰ درصد ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (۶۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) اعمال شد. بعد از محاسبه ظرفیت زراعی گلدان‌ها و تعیین میزان آب مورد نیاز برای هر گلدان، سطح رطوبت گلدان‌ها روزانه با وزن گلدان‌ها کنترل شده و مقدار آب از دست‌رفته بر اثر تبخیر خاک و تعرق گیاه برای هر تیمار جایگزین شد. محلول‌پاشی برگی سالیسیلیک اسید در دو سطح (۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) در دو مرحله، مرحله اول قبل از اعمال تنش خشکی و مرحله دوم هفت روز بعد از اعمال تنش خشکی، انجام شد. غلظت‌های اسید سالیسیلیک براساس مطالعات انجام‌شده توسط Kabiri و همکاران (۲۰۱۴) و Estaji و Niknam (۲۰۲۰) انتخاب شدند. برای گیاهان شاهد (بدون دریافت سالیسیلیک اسید) از حجم مشابه آب مقطر برای محلول‌پاشی استفاده شد. پس از ۱۵ روز اعمال تنش خشکی، گیاهچه‌های خرفه (۴۵ روزه) برداشت و بعد از اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی، در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد برای بررسی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نگهداری شدند (Ghorbani *et al.*, 2019a).

رنگیزه‌های فتوستتزی و فلورسانس کلروفیل: محتوای

رنگیزه‌های فتوستتزی با استفاده از هموزن کردن نمونه‌های برگ (۰/۲۵ گرم) با استون ۸۰ درصد و سپس سانتریفیوژ در ۱۰۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه تعیین شد. جذب محلول رویی در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر با استفاده از اسپکتوفتومتر (Carry 300; Varian, Walnut Creek, CA, USA)

آمینولولینیک اسید دهیدراتاز (EC 4.2.1.24) مطابق روش Jain و Gadre (۲۰۰۴) و اندازه‌گیری میزان تفاوت در غلظت پورفوبیلونوژن در ۱۵ دقیقه در طول موج ۵۵۳ نانومتر محاسبه گردید. فعالیت آنزیم پرولین دهیدروژناز (EC 1.5.5.2) با خواندن محلول واکنش شامل بافر $\text{NaCO}_3\text{-HCl}$ ۰/۱۵ میلی مولار (pH=۱۰/۳)، L-پرولین ۱۵ میلی مولار، NAD^+ ۱/۵ میلی مولار و عصاره آنزیمی در طول موج ۳۴۰ نانومتر مطابق روش Charest و Phan (۱۹۹۰) محاسبه گردید. فعالیت آنزیم دلتا -۱-پرولین-۵-کربوکسیلات سنتتاز (EC 2.7.2.11) با خواندن محلول واکنش شامل بافر Tris-HCl ۱۰۰ میلی مولار (pH=۷/۲)، عصاره آنزیمی، دی کلرید منیزیم ۲۵ میلی مولار، گلوتامات سدیم ۷۵ میلی مولار، ATP ۵ میلی مولار و NADPH ۰/۴ میلی مولار در طول موج ۳۴۰ نانومتر مطابق روش Sumithra و همکاران (۲۰۰۶) محاسبه گردید. با اندازه‌گیری افزایش در جذب ۶۶۷ نانومتر حاصل از تشکیل کلروفیلید، فعالیت آنزیم کلروفیلاز مطابق روش Costa و همکاران (۲۰۰۵) بدست آمدند.

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹،۱،۳ و مقایسه میانگین صفات توسط آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح پنج درصد انجام شد و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel صورت گرفت (Ghorbani et al., 2009).

نتایج

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر ساده تنش خشکی و اسید سالیسیلیک بر دو صفت ارتفاع و وزن خشک کل و اثر متقابل تنش خشکی و اسید سالیسیلیک بر ارتفاع گیاه در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که افزایش تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار ارتفاع گیاه نسبت به شاهد شد. کاهش ۱۸/۵ و ۴۵ درصدی در ارتفاع گیاه به ترتیب تحت تیمار خشکی ۶۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به شاهد مشاهده شد. با این حال، در هر دو سطح تنش

عصاره متانولی برگ‌ها استفاده شد. پرولین با خواندن جذب واکنش نین‌هیدرین در طول موج ۵۱۵ نانومتر با اسپکتوفتومتر (Carry 300; Varian, Walnut Creek, CA, USA) مطابق روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) محاسبه شد.

محتوای مالون دی‌آلدئید و متیل گلی‌اکسال: محتوای

مالون دی‌آلدئید (MDA) برگ‌ها با استفاده از روش تیوباربتوریک اسید مطابق روش Heath و Packer (۱۹۶۸) و ضریب خاموشی $155 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری متیل گلی‌اکسال، بعد از هموژن کردن برگ‌های تازه با استفاده از پرکلروریک اسید (۵ درصد)، با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. بعد از خنثی‌سازی محلول رویی با کربنات سدیم، ترکیبات N-استیل سیستئین و مونو سدیم فسفات به محلول اضافه شد و جذب آن در طول موج ۲۸۸ نانومتر با استفاده از اسپکتوفتومتر (Carry 300; Varian, Walnut Creek, CA, USA) خوانده شد (Wild et al., 2012).

عصاره آنزیمی و سنجش فعالیت آنزیم‌ها: بافت تازه برگ

(۰/۵ گرم) در یک میلی‌لیتر از بافر پتاسیم-فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=۷) شامل کلرید پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار، آسکوربات ۱ میلی مولار، بتا-مرکاپتواتانول ۵ میلی مولار و گلیسرول ۱۰ درصد هموژن شد. از محلول رویی بعد از سانتریفیوژ در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه برای تعیین فعالیت آنزیم‌ها استفاده شد (Ghorbani et al., 2018b).

فعالیت آنزیم گلی‌اکسالاز I (EC 4.4.1.5) با خواندن میزان

افزایش در جذب طول موج ۲۴۰ نانومتر و محلول واکنش شامل بافر پتاسیم فسفات ۱۰۰ میلی مولار (pH=۷)، سولفات منیزیم ۱۵ میلی مولار، گلوکاتیون ۱/۷ میلی مولار، متیل گلی‌اکسال ۳/۵ میلی مولار در حجم نهایی ۷۰۰ میکرولیتر مطابق روش حسنوزمان و همکاران (۲۰۱۱) محاسبه گردید. با استفاده از روش Principato و همکاران (۱۹۸۷)، فعالیت آنزیم گلی-اکسالاز II (EC 3.1.2.6) اندازه‌گیری شد. محلول واکنش شامل بافر Tris-HCl ۱۰۰ میلی مولار (pH=۷/۲)، Mg^{2+} ۵-۲-نیتروبنزوئیک اسید ۰/۲ میلی مولار و D-S-لاکتوگلوکاتیون ۱ میلی مولار در حجم نهایی ۱ میلی‌لیتر است. فعالیت آنزیم دلتا-

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورفولوژی و رنگیزه‌های فتوستتزی در گیاه خرفه تحت تنش خشکی و محلول‌پاشی برگی اسید سالیسیلیک

منابع تغییر	df	ارتفاع	وزن خشک کل	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئیدها	فلورسانس کلروفیل
تنش خشکی	۲	۳۶۹**	۰/۷**	۰/۲**	۰/۰۲**	۰/۰۸**	۰/۰۷**
سالیسیلیک اسید	۲	۱۳**	۰/۰۸**	۰/۰۲**	۰/۰۰۴**	۰/۰۱**	۰/۰۱**
تنش خشکی × سالیسیلیک اسید	۴	۸**	۰/۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۵*	۰/۰۰۰۹**	۰/۰۰۰۶ ^{ns}	۰/۰۰۴**
خطا	۱۸	۰/۶	۰/۰۰۷	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۲	۵/۲	۰/۰۰۰۱
ضریب تغییرات (%)	۳/۳	۹/۸	۴/۵	۶/۱	۵/۲	۲/۱	

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

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات مورفولوژی و رنگیزه‌های فتوستتزی گیاه خرفه تحت تیمار خشکی (۹۰، ۶۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی (FC) و محلول‌پاشی برگی سالیسیلیک اسید (صفر، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار)

تنش خشکی	اسید سالیسیلیک (میلی‌مولار)	ارتفاع (سانتیمتر)	وزن خشک کل (گرم)	کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کاروتنوئیدها	فلورسانس کلروفیل
	۰	۳۴/۹۳±۰/۷۵ ^a	۱/۱۶±۰/۰۹ ^a	۰/۸۸۸±۰/۰۳۳ ^a	۰/۲۷۱±۰/۰۱۵ ^a	۰/۴۲۳±۰/۰۳۰ ^b	۰/۶۹۳±۰/۰۱۲ ^a
FC %۹۰	۰/۵	۳۴/۴۷±۰/۸۵ ^{ab}	۱/۱۹±۰/۱۱ ^a	۰/۸۸۹±۰/۰۴۰ ^a	۰/۲۷۲±۰/۰۱۷ ^a	۰/۴۵۷±۰/۰۲۰ ^a	۰/۶۷۶±۰/۰۱۰ ^a
	۱	۳۳/۶۰±۰/۱۱ ^b	۱/۱۵±۰/۱۲ ^a	۰/۸۸۰±۰/۰۳۷ ^a	۰/۲۷۲±۰/۰۲۰ ^a	۰/۴۶۲±۰/۰۲۰ ^a	۰/۶۸۳±۰/۰۱۲ ^a
	۰	۲۸/۴۶±۰/۷۷ ^d	۰/۶۶±۰/۰۵ ^c	۰/۶۷۸±۰/۰۳۳ ^c	۰/۲۰۶±۰/۰۱۴ ^b	۰/۳۱۳±۰/۰۲۶ ^d	۰/۵۲۷±۰/۰۱۲ ^c
FC %۶۰	۰/۵	۳۱/۳۰±۰/۶۶ ^c	۰/۹۳±۰/۰۸ ^b	۰/۷۸۷±۰/۰۳۷ ^b	۰/۲۵۲±۰/۰۰۹ ^a	۰/۳۸۹±۰/۰۱۰ ^c	۰/۶۰۰±۰/۰۱۲ ^c
	۱	۳۱/۶۳±۰/۵۲ ^c	۰/۹۳±۰/۱۱ ^b	۰/۷۹۰±۰/۰۳۸ ^b	۰/۲۵۳±۰/۰۱۲ ^a	۰/۳۹۶±۰/۰۱۳ ^{bc}	۰/۶۲۰±۰/۰۱۳ ^b
	۰	۱۹/۲۱±۰/۸۰ ^g	۰/۴۸±۰/۰۴ ^d	۰/۵۰۳±۰/۰۱۸ ^e	۰/۱۴۲±۰/۰۱۲ ^c	۰/۲۰۷±۰/۰۱۵ ^c	۰/۴۳۸±۰/۰۱۲ ^f
FC %۳۰	۰/۵	۲۲/۲۰±۰/۷۵ ^f	۰/۶۶±۰/۰۷ ^c	۰/۶۱۵±۰/۰۲۹ ^d	۰/۱۸۵±۰/۰۱۲ ^b	۰/۲۸۲±۰/۰۰۸ ^d	۰/۵۳۵±۰/۰۰۸ ^{de}
	۱	۲۴/۰۵±۰/۴۵ ^e	۰/۷۲±۰/۰۹ ^c	۰/۶۱۸±۰/۰۳۱ ^d	۰/۲۰۷±۰/۰۱۳ ^b	۰/۲۸۳±۰/۰۱۴ ^d	۰/۵۵۲±۰/۰۱۱ ^d

مقادیر با حروف یکسان در هر ستون، فاقد اختلاف معنی‌دار آماری در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون LSD هستند.

کلروفیل *a*، *b*، کاروتنوئیدها و فلورسانس کلروفیل در سطح یک درصد و اثر متقابل خشکی و اسید سالیسیلیک بر کلروفیل *b* و فلورسانس کلروفیل در سطح یک درصد و بر محتوای کلروفیل *a* در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین روند کاهشی در محتوای کلروفیل *a* و *b* با افزایش تنش خشکی نشان داد که بیشترین کاهش تحت تنش خشکی ۳۰ درصد ظرفیت زراعی به میزان ۴۳/۴ و ۴۷/۶ درصد به ترتیب در محتوای کلروفیل *a* و *b* مشاهده گردید. کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک در تنش خشکی به طور معنی‌داری باعث افزایش محتوای کلروفیل *a* و *b* نسبت به تیمارهای

خشکی، محلول‌پاشی برگی اسید سالیسیلیک به طور معنی‌داری باعث بهبود ارتفاع گیاه شد و تحت غلظت بالای اسید سالیسیلیک (۱ مولار)، ارتفاع گیاه افزایش بیشتری نشان داد (جدول ۲). وزن خشک کل گیاه خرفه تحت تنش خشکی ۶۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به تیمار شاهد به ترتیب به میزان ۴۳/۱ و ۵۸/۶ درصد کاهش یافت، درحالی‌که، اسید سالیسیلیک به طور معنی‌داری باعث افزایش زیست‌توده گیاه در هر دو سطح تنش خشکی شد. با این حال تفاوت معنی‌داری بین دو غلظت اسید سالیسیلیک مشاهده نشد (جدول ۲). اثرات ساده تنش خشکی و اسید سالیسیلیک بر محتوای

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات محتوای آب نسبی، نشت یونی، شاخص پایداری غشا، مالون دی آلدئید، متیل گلی اکسال و پرولین در گیاه خرفه تحت تنش خشکی و محلول پاشی برگه اسید سالیسیلیک

df	محتوای آب نسبی	نشت یونی	شاخص پایداری غشا	مالون دی آلدئید	متیل گلی اکسال	پرولین
۲	۱۴۹۳**	۱۶۷۹**	۱۶۷۲**	۲۶**	۱۳۶**	۳۲۵**
۲	۲۱۶**	۳۷۹**	۳۷۶**	۳/۸**	۳۱**	۴۷**
۴	۶۶**	۱۱۷**	۱۲۲**	۱**	۹**	۵**
۱۸	۳/۵	۳/۹	۳/۷	۰/۰۶	۰/۲	۰/۲
	۳/۲	۳/۸	۴	۴/۳	۲/۹	۴/۳

ضریب تغییرات (%)

** معنی داری در سطح یک درصد

درصد ظرفیت زراعی باعث افزایش نشت یونی به ترتیب به میزان ۶۶ و ۱۰۷/۷ درصد نسبت به گیاهان بدون تنش شد. با این حال، کاربرد سالیسیلیک اسید به طور معنی داری باعث کاهش نشت یونی در هر دو سطح خشکی شد (جدول ۴). روند کاهشی در شاخص پایداری غشا گیاه خرفه با افزایش تنش خشکی مشاهده شد و بیشترین کاهش تحت تیمار ۳۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد. با این حال، محلول پاشی برگه ۰/۵ و ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید باعث افزایش شاخص پایداری غشا به ترتیب به میزان ۲۷/۳ و ۳۱/۳ درصد تحت تیمار ۶۰ درصد ظرفیت زراعی و ۸۲ و ۱۵/۷ درصد تحت تیمار ۳۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به تیمارهای خشکی به تنهایی شدند (جدول ۴).

روند افزایشی در محتوای مالون دی آلدئید و متیل گلی اکسال برگه های خرفه با افزایش سطح تنش خشکی مشاهده شد که بیشترین افزایش تحت خشکی ۳۰ درصد ظرفیت زراعی بود. با این حال، در هر دو سطح تنش خشکی، محلول پاشی برگه سالیسیلیک اسید باعث کاهش سطح محتوای مالون دی آلدئید و متیل گلی اکسال شد، هر چند بین دو غلظت سالیسیلیک اسید تفاوت معنی دار مشاهده نشد (بجز محتوای متیل گلی اکسال تحت خشکی ۳۰ درصد) (جدول ۴). تحت شرایط بدون خشکی، کاربرد برگه سالیسیلیک اسید باعث افزایش محتوای پرولین برگ شد. اعمال تنش خشکی باعث افزایش معنی دار محتوای پرولین برگ شد به طوری که

خشکی به تنهایی شد، هر چند تفاوت معنی داری بین دو غلظت اسید سالیسیلیک مشاهده نشد (جدول ۲). تنش خشکی ۶۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی باعث کاهش محتوای کاروتنوئیدها به ترتیب به میزان ۲۶ و ۵۱/۱ درصد نسبت به شاهد شد، با این حال، محلول پاشی برگه اسید سالیسیلیک باعث بهبود محتوای کاروتنوئیدها در هر دو سطح تنش خشکی شد (جدول ۲). فلورسانس کلروفیل نیز با افزایش تنش خشکی روند کاهشی نشان داد و بیشترین میزان کاهش تحت خشکی شدید مشاهده شد. با این حال، کاربرد اسید سالیسیلیک باعث افزایش فلورسانس کلروفیل تحت تنش خشکی شد (جدول ۲).

نتایج آنالیز واریانس نشان داد اثر تیمارهای خشکی و سالیسیلیک اسید و اثر متقابل آنها بر صفات محتوای آب نسبی برگ، نشت یونی، شاخص پایداری غشا، محتوای مالون دی آلدئید، متیل گلی اکسال و پرولین در سطح یک درصد معنی دار است (جدول ۳). نتایج نشان داد که تنش خشکی به طور معنی داری باعث کاهش محتوای آب نسبی برگ گیاه نسبت به شرایط بدون تنش شد به طوری که بیشترین کاهش تحت تنش خشکی شدید (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) به میزان ۴۴/۲ درصد مشاهده شد. با این حال، محلول پاشی برگه سالیسیلیک اسید باعث بهبود محتوای آب نسبی برگ در هر دو سطح خشکی شد و بیشترین افزایش با محلول پاشی ۱ میلی مولار بدست آمد (جدول ۴). تنش خشکی ۶۰ و ۳۰

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات محتوای آب نسبی، نشت یونی، شاخص پایداری غشا، مالون دی آلدئید، متیل گلی اکسال و پرولین گیاه خرفه تحت تیمار خشکی (۹۰، ۶۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی (FC)) و سالیسیلیک اسید (صفر، ۰/۵ و ۱ میلی مولار)

تنش خشکی	سالیسیلیک اسید (میلی مولار)	محتوای آب نسبی	نشت یونی (%)	شاخص پایداری غشا	مالون دی آلدئید		پرولین (میکرومول بر گرم وزن تر)
					متیل گلی اکسال	(میکرومول بر گرم وزن تر)	
FC /۹۰	۰	۸۰/۴ ± ۲/۰ ^a	۳۷/۶ ± ۲/۰ ^d	۶۲/۵ ± ۱/۷ ^a	۴/۲۷ ± ۰/۲۰ ^e	۱۰/۶ ± ۰/۳۲ ^f	۱/۵۶ ± ۰/۰۷۱ ^g
	۰/۵	۸۰/۹ ± ۲/۳ ^a	۳۶/۶ ± ۲/۲ ^d	۶۳/۰ ± ۲/۲ ^a	۴/۱۴ ± ۰/۲۱ ^e	۱۰/۵ ± ۰/۳۵ ^f	۲/۴۸ ± ۰/۲۷۰ ^f
	۱	۸۰/۲ ± ۱/۷ ^a	۳۷/۱ ± ۲/۱ ^d	۶۲/۷ ± ۲/۰ ^a	۴/۳۲ ± ۰/۲۰ ^e	۱۰/۵ ± ۰/۳۸ ^f	۳/۴۹ ± ۰/۳۲۸ ^e
FC /۶۰	۰	۶۲/۸ ± ۱/۸ ^d	۶۲/۴ ± ۲/۰ ^b	۳۷/۴ ± ۱/۸ ^c	۶/۵۷ ± ۰/۲۲ ^c	۱۸/۱ ± ۰/۴۴ ^b	۹/۰۳ ± ۰/۲۸۲ ^d
	۰/۵	۶۸/۰ ± ۱/۷ ^c	۵۲/۱ ± ۱/۸ ^c	۴۷/۶ ± ۱/۵ ^b	۵/۳۳ ± ۰/۲۱ ^d	۱۴/۹ ± ۰/۲۳ ^{de}	۱۳/۶۳ ± ۰/۵۷۰ ^b
	۱	۷۴/۲ ± ۱/۷ ^b	۵۰/۷ ± ۱/۹ ^c	۴۹/۱ ± ۱/۹ ^b	۵/۳۴ ± ۰/۲۸ ^d	۱۴/۲ ± ۰/۳۳ ^e	۱۵/۵۰ ± ۰/۵۶۹ ^a
FC /۳۰	۰	۴۴/۹ ± ۲/۱ ^f	۷۸/۱ ± ۱/۵ ^a	۲۱/۷ ± ۱/۵ ^d	۹/۰۲ ± ۰/۳۲ ^a	۲۲/۱ ± ۰/۵۸ ^a	۱۰/۱۸ ± ۰/۲۸۶ ^c
	۰/۵	۵۶/۴ ± ۱/۶ ^e	۶۰/۱ ± ۲/۲ ^b	۳۹/۵ ± ۲/۰ ^c	۷/۱۰ ± ۰/۲۳ ^b	۱۶/۶ ± ۰/۵۶ ^c	۱۳/۸۸ ± ۰/۳۷۵ ^b
	۱	۶۳/۰ ± ۱/۸ ^d	۵۳/۴ ± ۲/۱ ^c	۴۶/۸ ± ۲/۵ ^b	۶/۷۴ ± ۰/۳۵ ^{bc}	۱۵/۶ ± ۰/۵۳ ^d	۱۵/۲۲ ± ۰/۵۷۹ ^a

مقادیر با حروف کوچک یکسان در هر ستون، فاقد اختلاف معنی دار آماری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD هستند.

درصد ظرفیت زراعی، تفاوت معنی داری بین دو سطح سالیسیلیک اسید مشاهده نشد (شکل ۱A). تنش خشکی باعث کاهش فعالیت آنزیم دلتا-آمینولولینیک اسید دهیدراتاز نسبت به تیمار شاهد شد به طوری که بیشترین میزان کاهش تحت تنش خشکی شدید به میزان ۴۱/۳ درصد نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد. کاربرد سالیسیلیک اسید باعث بهبود فعالیت آنزیم دلتا-آمینولولینیک اسید دهیدراتاز در برگ گیاهان خرفه تحت تنش خشکی شد که بیشترین افزایش تحت تیمار ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید بدست آمد (شکل ۱B). فعالیت آنزیم پرولین دهیدروژناز افزایش ۱۱/۴ و ۳۰/۴ درصدی به ترتیب تحت تنش خشکی ۶۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به تیمار شاهد نشان داد. محلول پاشی برگ سالیسیلیک اسید باعث افزایش بیشتر فعالیت آنزیم پرولین دهیدروژناز در هر دو سطح تنش خشکی نسبت به تنش خشکی به تنهایی شد. تحت خشکی ۶۰ درصد تفاوت معنی داری بین تیمارهای سالیسیلیک اسید ۰/۵ و ۱ میلی مولار مشاهده نشد اما تحت خشکی ۳۰ درصد ظرفیت زراعی، بیشترین افزایش تحت تیمار ۱ میلی مولار اسید سالیسیلیک بدست آمد (شکل ۱C). تنش خشکی باعث

بیشترین افزایش تحت تنش خشکی شدید به میزان ۶/۵ برابر نسبت به تیمار بدون تنش خشکی شد. در هر دو سطح تنش خشکی، کاربرد برگ سالیسیلیک اسید به طور معنی داری باعث افزایش محتوای پرولین نسبت به تیمارهای خشکی به تنهایی شد و بیشترین افزایش تحت غلظت بالای سالیسیلیک اسید مشاهده شد (جدول ۲).

نتایج آنالیز واریانس نشان داد اثر تیمار خشکی، سالیسیلیک اسید و اثر متقابل تیمارها بر فعالیت آنزیم های کلروفیلاز، دلتا-آمینولولینیک اسید دهیدراتاز، پرولین دهیدروژناز، دلتا-۱-پرولین-۵-کربوکسیلات سنتتاز ۱، گلی اکسالاز I و II در سطح یک درصد معنی دار بودند (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که روند افزایش در فعالیت آنزیم کلروفیلاز با افزایش سطح تنش خشکی مشاهده شد و بیشترین میزان فعالیت آنزیم کلروفیلاز تحت خشکی ۳۰ درصد ظرفیت زراعی ثبت شد. با این حال، در هر دو سطح تنش خشکی، کاربرد برگ سالیسیلیک اسید باعث کاهش فعالیت آنزیم کلروفیلاز شد. در سطح ۶۰ درصد ظرفیت زراعی، بیشترین کاهش تحت تیمار سالیسیلیک اسید ۱ میلی مولار مشاهده شد اما در خشکی ۳۰

جدول ۵- تجزیه واریانس آنزیم‌های کلروفیل‌از، دلتا-آمینولولینیک اسید دهیدراتاز، پرولین دهیدروژناز، دلتا-۱-پرولین-۵-کربوکسیلات سنتتاز، گلی اکسالاز I و II در گیاه خرفه تحت تنش خشکی و محلول‌پاشی برگی اسید سالیسیلیک

گلی	گلی	دلتا-۱-پرولین-۵-کربوکسیلات سنتتاز ۱	پرولین دهیدروژناز	دلتا-آمینولولینیک اسید دهیدراتاز	کلروفیل‌از	df	
اکسالاز I	اکسالاز II						
۰/۲**	۰/۱**	۶/۳**	۱۵**	۲۷۶۸**	۲۱۰**	۲	تنش خشکی
۰/۰۲**	۰/۰۱**	۰/۷**	۰/۷**	۳۳۳**	۴۸**	۲	سالیسیلیک اسید
۰/۰۰۵**	۰/۰۰۲**	۰/۳**	۰/۳*	۱۰۰**	۱۴**	۴	تنش خشکی × سالیسیلیک اسید
۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۲	۰/۰۱	۱/۱	۰/۱۶	۱۸	خطا
۵/۴	۶/۶	۳/۸	۳/۴	۲/۹	۳		ضریب تغییرات

* و ** به ترتیب معنی‌داری در سطح پنج و یک درصد

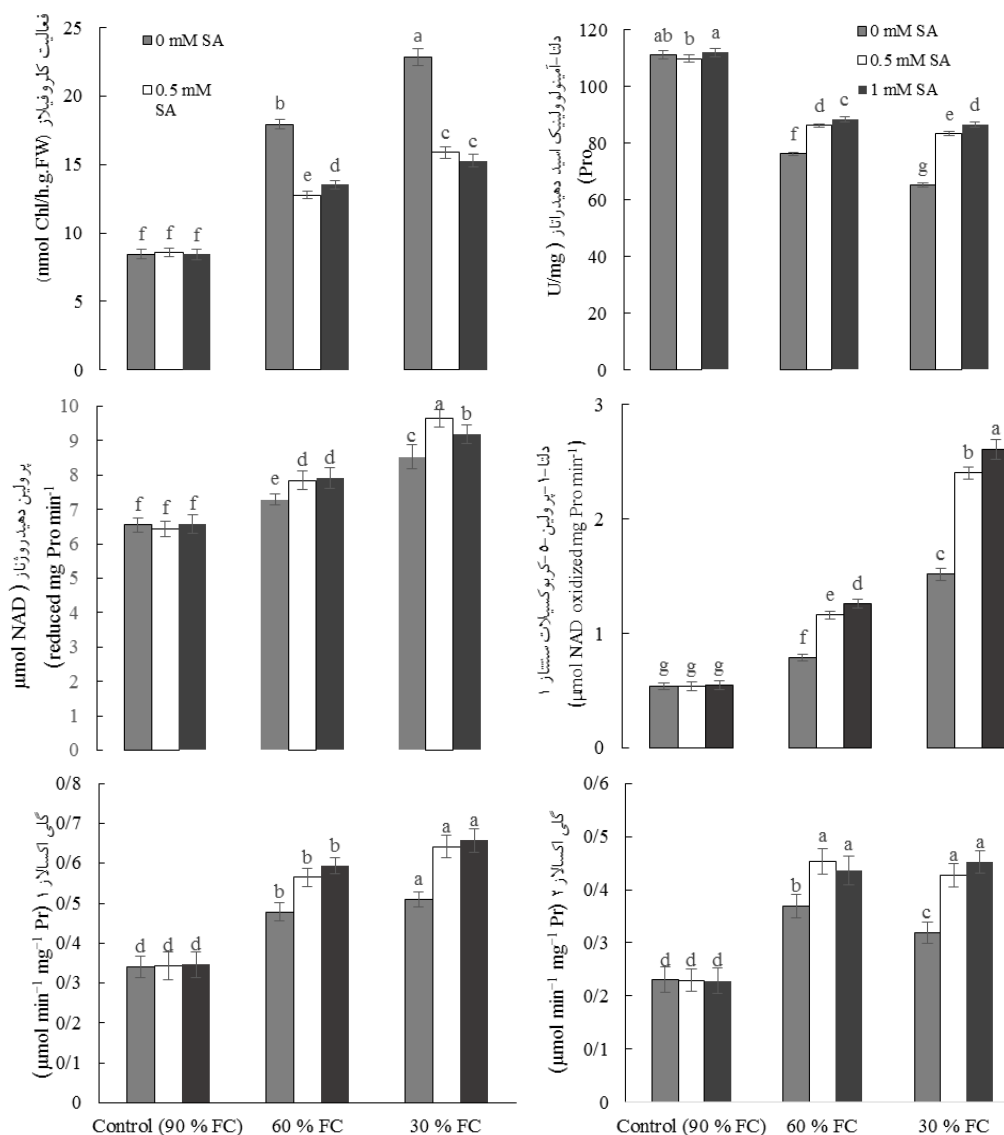
محتوای آسکوربیک اسید احیاء شده و کاهش سطح آسکوربیک اسید اکسید شده در هر دو سطح خشکی نسبت به تیمار خشکی به تنهایی شد، هر چند تفاوت معنی‌داری بین دو سطح اسید سالیسیلیک مشاهده نشد (شکل A و B). یک روند کاهش با افزایش سطح خشکی در محتوای گلوکاتایون احیاء شده برگ گیاه خرفه نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد که کاربرد برگی اسید سالیسیلیک باعث افزایش گلوکاتایون احیاء شده در هر دو سطح برگ شد اما تفاوت معنی‌داری بین دو سطح اسید سالیسیلیک مشاهده نشد (شکل C). برخلاف گلوکاتایون احیاء شده، تنش خشکی باعث افزایش گلوکاتایون اکسید شده در برگ شد که بیشترین افزایش تحت تنش شدید خشکی بدست آمد. با این حال، اسید سالیسیلیک باعث کاهش گلوکاتایون اکسید شده در هر دو سطح تنش خشکی نسبت به تیمار خشکی به تنهایی شد (شکل D). تنش خشکی همچنین باعث کاهش نسبت‌های آسکوربیک اسید احیاء شده به اکسید شده و گلوکاتایون احیاء شده به اکسید شده نسبت به تیمار شاهد شد که کمترین میزان این نسبت‌ها تحت خشکی شدید مشاهده شد. با این حال، تیمار اسید سالیسیلیک در هر دو سطح تنش خشکی باعث بهبود نسبت‌های آسکوربیک اسید احیاء شده به اکسید شده و گلوکاتایون احیاء شده به اکسید شده در برگ گیاه خرفه شد (شکل E و F).

بحث

تنش خشکی باعث کاهش جذب آب، پتانسیل آب و فشار

افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم پرولین دهیدروژناز نسبت به تیمار شاهد شد که کاربرد برگی اسید سالیسیلیک باعث افزایش بیشتر فعالیت آنزیم نسبت به تیمار خشکی به تنهایی شد. در هر دو سطح تنش خشکی، تیمار ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک باعث افزایش بیشتر فعالیت آنزیم شد (شکل D). تنش خشکی همچنین باعث افزایش فعالیت دو آنزیم گلی‌اکسالاز I و II در برگ گیاهان خرفه نسبت به تیمار شاهد شد. بیشترین افزایش در فعالیت دو آنزیم گلی‌اکسالاز I و II به ترتیب تحت خشکی ۳۰ و ۶۰ درصد ظرفیت زراعی ثبت گردید. محلول‌پاشی برگی اسید سالیسیلیک باعث افزایش بیشتر فعالیت هر دو آنزیم گلی‌اکسالاز I و II در هر دو سطح تنش خشکی شد، هر چند تفاوت معنی‌داری بین دو سطح سالیسیلیک اسید مشاهده نشد (شکل E و F).

تجزیه واریانس نشان داد اثر تیمار خشکی، اسید سالیسیلیک و اثر متقابل آنها بر محتوای آسکوربیک اسید احیاء شده و اکسید شده، گلوکاتایون احیاء شده و اکسید شده و همچنین، نسبت آسکوربیک اسید احیاء شده به اکسید شده و گلوکاتایون احیاء شده به اکسید شده در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۶). تنش خشکی ۶۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی باعث کاهش محتوای آسکوربیک اسید احیاء شده به ترتیب به میزان ۳۰/۸ و ۴۳/۷ درصد و افزایش آسکوربیک اسید احیاء شده به میزان ۵۵/۲ و ۸۴/۵ درصد نسبت به تیمار شاهد شد. با این حال، محلول‌پاشی برگی اسید سالیسیلیک باعث افزایش



شکل ۱- تأثیر کاربرد برگی اسید سالیسیلیک (صفر، ۰/۵ و ۱ میلی مولار (SA)) بر فعالیت آنزیم‌های کلروفیلاز (A)، دلتا-آمینولولینیک اسید دهیدراتاز (B)، پرولین دهیدروژناز (C)، دلتا-۱-پرولین-۵-کربوکسیلاز سنتتاز ۱ (D)، گلی اکسالاز I (E) و II (F) در برگ گیاه خرفه تحت تنش خشکی (۹۰، ۶۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی (FC)). میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

تولید زیست‌توده گیاهان خرفه تحت تنش خشکی می‌تواند نتیجه تأثیرات منفی تنش خشکی بر رشد و گسترش سلول‌های گیاهی ناشی از کاهش پتانسیل آب و فشار تورگور و همچنین افزایش پیری برگ‌ها باشد. تأثیر منفی تنش خشکی بر رشد گیاه دارویی رزماری نیز قبلاً توسط Abbaszadeh و همکاران (۲۰۲۰) گزارش شده است. بنابراین، کاهش جذب آب ناشی از تنش خشکی باعث پیری برگ‌های بالغ، کاهش رشد سلولی

تورگر سلول‌های گیاه می‌شود که منجر به بسته شدن روزنه، پژمردگی گیاه و کاهش رشد و توسعه سلولی و در نتیجه کاهش رشد و عملکرد گیاه می‌شود (Idrees *et al.*, 2010; Ghorbani *et al.*, 2011). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تنش خشکی تأثیر منفی بر رشد (ارتفاع و تولید زیست‌توده) گیاه خرفه داشت که مطابق نتایج گزارش شده توسط Khan و همکاران (۲۰۱۹) و Idrees و همکاران (۲۰۱۰) است. کاهش رشد و

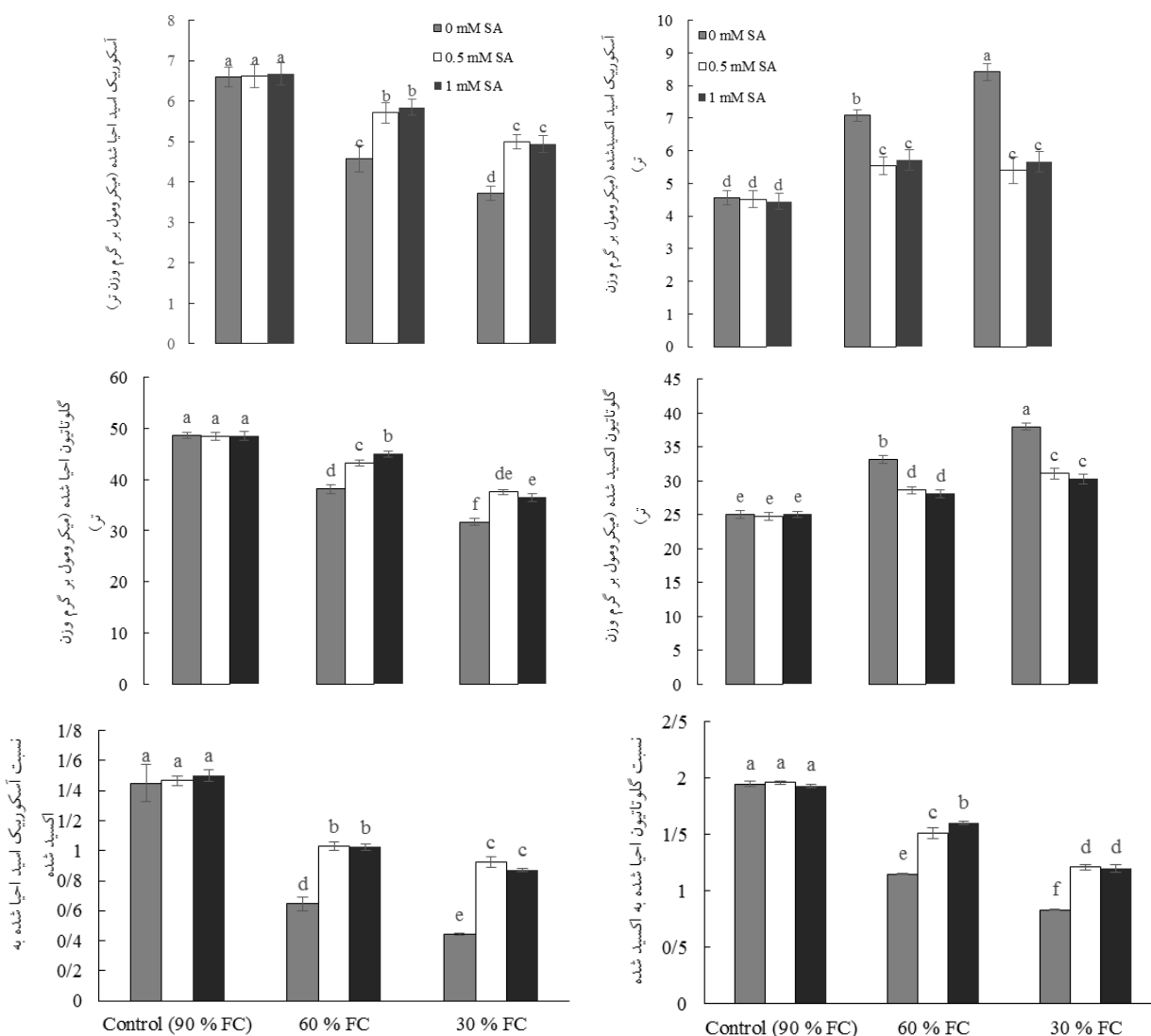
جدول ۶- تجزیه واریانس آسکوربیک اسید احیاشده و اکسیدشده، گلوکاتایون احیاشده و اکسیدشده و نسبت‌های آسکوربیک اسید و گلوکاتایون احیاشده به اکسیدشده در گیاه خرفه تحت تنش خشکی و محلول‌پاشی برگی اسید سالیسیلیک

نسبت گلوکاتایون احیا شده به اکسید شده	گلوکاتایون اکسیدشده	گلوکاتایون احیاشده	نسبت آسکوربیک اسید احیاشده به اکسیدشده	آسکوربیک اسید اکسیدشده	آسکوربیک اسید احیا شده	df	
۱/۷**	۱۵۴**	۳۹۶**	۱**	۱۰**	۱۰**	۲	تنش خشکی
۰/۲**	۴۹**	۴۱**	۰/۳**	۶/۶**	۲**	۲	سالیسیلیک اسید
۰/۰۶**	۱۴**	۱۳**	۰/۰۵**	۲**	۰/۵**	۴	تنش خشکی × سالیسیلیک اسید
۰/۰۰۰۵	۰/۴	۰/۵	۰/۰۰۳	۰/۱	۰/۰۶	۱۸	خطا
۲/۵	۲/۲	۲/۷	۴/۸	۴/۹	۴/۴		ضریب تغییرات

** معنی‌داری در سطح پنج درصد

دخیل در سنتز کلروفیل) و افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز (آنزیم تجزیه‌کننده کلروفیل) شد، با این حال، تیمار سالیسیلیک اسید از طریق افزایش فعالیت آنزیم دلتا-آمینولولینیک اسید دهیدراتاز و کاهش فعالیت آنزیم کلروفیلاز، باعث بهبود محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و فلورسانس کلروفیل تحت تنش خشکی شد. این نتایج مطابق با نتایج گزارش شده توسط La و همکاران (۲۰۱۸) و Idrees و همکاران (۲۰۱۰) است. گزارش شده که هورمون گیاهی سالیسیلیک اسید با کاهش آسیب به دستگاه فتوسنتز ناشی از تجمع ترکیبات سازگار و کاهش سطح رادیکال‌های سمی و همچنین بهبود فعالیت آنزیم‌های سنتزکننده کلروفیل، تخریب کلروفیل را در شرایط استرس‌زا کاهش می‌دهد (Nazar et al., 2015). نتایج مشابهی از بهبود رنگیزه‌های فتوسنتزی توسط کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک در گیاه دارویی رازیانه تحت تنش خشکی نیز گزارش شده است. بنابراین، تنظیم متابولیسم کلروفیل و افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی القاشده توسط سالیسیلیک اسید می‌تواند عامل مهمی در افزایش کارایی فتوسنتز و در نتیجه کاهش اثرات منفی تنش خشکی و بهبود رشد گیاه خرفه باشد. با توجه به عدم اطلاعات کافی از نقش اسید سالیسیلیک در فعالیت و یا سطح بیان آنزیم کلروفیلاز، مطالعات بیشتری در سطح مولکولی برای مشخص شدن نقش احتمالی اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم کلروفیلاز تحت

گ و فعالیت مریستم‌ها شود که باعث کاهش سطح فعال فتوسنتزی و در نتیجه، کاهش رشد و عملکرد گیاه می‌شود (Takahashi et al., 2020). سالیسیلیک اسید از مهم‌ترین هورمون‌های گیاهی است که نقش مهمی در افزایش تحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی دارد (Zhang et al., 2015). نقش مثبت سالیسیلیک اسید در افزایش تحمل گیاهان به تنش شوری (Nazar et al., 2015)، خشکی (Pál et al., 2014; Abbaszadeh et al., 2020; Sohag et al., 2020) و سمیت فلزات سنگین (Zhang et al., 2015) نیز گزارش شده است. در تحقیق حاضر، کاربرد برگی سالیسیلیک اسید باعث بهبود رشد و زیست‌توده گیاه خرفه تحت تنش خشکی شد که مطابق نتایج بدست آمده توسط Kang و همکاران (۲۰۱۳) و Abbaszadeh و همکاران (۲۰۲۰) است. بهبود رشد گیاه خرفه توسط کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک نشان می‌دهد که اسید سالیسیلیک می‌تواند نقش مثبتی در افزایش تحمل گیاه و غلبه بر شرایط نامطلوب ایجادشده تحت تنش خشکی داشته باشد. محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی از اصلی‌ترین عوامل مؤثر بر کارایی دستگاه فتوسنتز و در نتیجه رشد و عملکرد گیاه است (Ghorbani et al., 2018a). در مطالعه حاضر، تنش خشکی به‌طور قابل توجهی باعث کاهش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل *a* و *b* و کاروتنوئیدها)، فلورسانس کلروفیل و فعالیت آنزیم دلتا-آمینولولینیک اسید دهیدراتاز (آنزیم



شکل ۲- تأثیر کاربرد برگ‌گی اسید سالیسیلیک (صفر، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار (SA)) بر محتوای آسکوربیک اسید احیاء شده (A) و اکسید شده (B)، گلوپتانین احیاء شده (C) و اکسید شده (D)، نسبت آسکوربیک اسید احیاء شده به اکسید شده (E) و گلوپتانین احیاء شده به اکسید شده (F) در برگ گیاه خرفه تحت تنش خشکی (۹۰، ۶۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی (FC)). میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

تنش خشکی مورد نیاز است. محتوای آب نسبی برگ از خصوصیات فیزیولوژیکی پاسخ دهنده به تنش خشکی است که همبستگی خوبی با تحمل گیاه به خشکی نشان داده است (Colom and Vazzana, 2003). کاهش پتانسیل آب مانع از تقسیم سلولی، رشد اندام‌ها، فتوسنتز خالص و سنتز پروتئین می‌شود و تعادل هورمونی بافت‌های اساسی گیاه را تغییر می‌دهد. به خوبی مشخص شده است که تحت شرایط تنش‌زا مانند تنش خشکی، محتوای آب نسبی، پتانسیل آب برگ و پتانسیل اسمزی سلول‌ها کاهش می‌یابد (Ma et al., 2006). نتایج نشان داد تنش خشکی باعث کاهش محتوای آب نسبی برگ شد که مطابق نتایج گزارش شده توسط Anjum و همکاران (۲۰۱۱) است. با این حال، تیمار سالیسیلیک اسید باعث بهبود محتوای آب نسبی برگ‌ها شد که می‌تواند نقش مهمی در بهبود سازگاری و در نتیجه افزایش رشد گیاه خرفه تحت تنش خشکی داشته باشد. Touhidi Nejad و همکاران (۲۰۱۶) بیان کردند گیاهچه‌های

تنش خشکی مورد نیاز است. محتوای آب نسبی برگ از خصوصیات فیزیولوژیکی پاسخ دهنده به تنش خشکی است که همبستگی خوبی با تحمل گیاه به خشکی نشان داده است (Colom and Vazzana, 2003). کاهش پتانسیل آب مانع از تقسیم سلولی، رشد اندام‌ها، فتوسنتز خالص و سنتز پروتئین می‌شود و تعادل هورمونی بافت‌های اساسی گیاه را تغییر می‌دهد. به خوبی مشخص شده است که تحت شرایط تنش‌زا مانند تنش خشکی، محتوای آب نسبی، پتانسیل آب برگ و پتانسیل اسمزی سلول‌ها کاهش می‌یابد (Ma et al., 2006). نتایج نشان داد تنش خشکی باعث کاهش محتوای آب نسبی برگ شد که مطابق نتایج گزارش شده توسط Anjum و همکاران (۲۰۱۱) است. با این حال، تیمار سالیسیلیک اسید باعث بهبود محتوای آب نسبی برگ‌ها شد که می‌تواند نقش مهمی در بهبود سازگاری و در نتیجه افزایش رشد گیاه خرفه تحت تنش خشکی داشته باشد. Touhidi Nejad و همکاران (۲۰۱۶) بیان کردند گیاهچه‌های

(۲۰۱۰) بیان داشتند که سالیسیلیک اسید از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های سنتزکننده پرولین و کاهش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پرولین باعث افزایش تجمع پرولین در شرایط خشکی می‌شود. بنابراین، تجمع پرولین باعث تنظیم اسمزی سلول‌ها شده و یکپارچگی غشا و سایر ماکرومولکول‌های سلولی را حفظ می‌کند که در نهایت باعث کاهش آسیب‌های ناشی از تنش خشکی می‌شود. سطح بالاتر فعالیت آنزیم پرولین دهیدروژناز در گیاهان تیمارشده با سالیسیلیک اسید می‌تواند ناشی از سطح بالاتر پرولین در این گیاهان باشد.

آنزیم‌های گلی‌اکسالاز I و II بخشی از سیستم گلی‌اکسالاز هستند که در پاک‌سازی بیش از حد متیل گلی‌اکسال ایجاد شده تحت شرایط تنش‌زا نقش دارند. متیل گلی‌اکسال تجمع یافته تحت شرایط تنش‌زا می‌تواند باعث آسیب به ماکرومولکول‌های زیستی مانند لیپیدهای غشایی شود (Yadav et al., 2005). نتایج ما نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش محتوای متیل گلی‌اکسال و مالون دی‌آلدئید در برگ گیاه خرفه شد که نشان‌دهنده تنش اکسیداتیو القاشده در گیاه است و با نتایج گزارش شده توسط Kaya (۲۰۲۰) و Hasanuzzaman و همکاران (۲۰۱۸) مطابقت دارد. فعالیت آنزیم‌های گلی‌اکسالاز I و II نیز تحت تنش خشکی با افزایش همراه بود که نشان‌دهنده القا مکانیسم دفاعی گیاه برای مقابله با تنش اکسیداتیو ایجاد شده توسط تنش خشکی است. نتایج مشابهی از افزایش فعالیت آنزیم‌های گلی‌اکسالاز I و II توسط Kaya (۲۰۲۰) تحت تنش خشکی قبلاً گزارش شده است. کاربرد برگی سالیسیلیک اسید باعث افزایش فعالیت هر دو آنزیم گلی‌اکسالاز I و II و در نتیجه، کاهش سطح ترکیبات سمی متیل گلی‌اکسال و مالون دی‌آلدئید شد که نشان‌دهنده نقش این هورمون در تحمل گیاه به تنش خشکی از طریق سیستم گلی‌اکسالاز است. افزایش فعالیت آنزیم‌های گلی‌اکسالاز I و II توسط کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید در گیاه لفل (Kaya, 2020) تحت تنش خشکی نیز گزارش شده است.

چرخه آسکوربات-گلوتاتیون از مکانیسم‌های مهم برای از بین بردن انواع اکسیژن‌های فعال در گیاهان تحت شرایط تنش

دارویی شنبلیله تیمارشده با اسید سالیسیلیک دارای محتوای آب نسبی بالاتری نسبت به گیاهان تیمارشده تحت تنش خشکی داشتند. Fu و Huang (۲۰۰۱) بیان داشتند که تنش خشکی با القای ناکارآمدی غشای سلولی در برگ‌ها، باعث افزایش نفوذپذیری غشا نسبت به الکترولیت‌ها می‌شود. Daneshmand و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که تنش خشکی و شوری باعث پراکسیداسیون غشا و در نتیجه افزایش نشت یونی در گیاهان می‌شوند. نتایج تحقیق ما نشان داد که کاربرد برگی سالیسیلیک اسید باعث بهبود نشت یونی و پایداری غشا در برگ گیاه خرفه تحت تنش خشکی می‌شود که می‌تواند نشان‌دهنده نقش این هورمون گیاهی در افزایش یکپارچگی غشا و همچنین کاهش تنش اکسیداتیو القاشده توسط تنش خشکی باشد. همچنین گزارش شده است که سالیسیلیک اسید از طریق تجمع ترکیبات پلی‌آمین مانند پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین باعث افزایش محتوای آب نسبی برگ و حفظ یکپارچگی و پایداری غشا تحت شرایط خشکی می‌شود (Nemeth et al., 2002).

نشان داده شده است که تجمع ترکیبات محلول سازگار مانند پرولین نقش مهمی در تحمل شرایط استرس‌زا دارد و تغییرات آنها تحت تنش‌های مختلف به‌طور گسترده گزارش شده است. در مطالعه حاضر، تنش خشکی باعث افزایش تجمع پرولین به همراه القای فعالیت آنزیم‌های درگیر در متابولیسم پرولین مانند پرولین دهیدروژناز و دلنا-۱-پرولین-۵-کربوکسیلات سنتتاز ۱ شد، با این‌حال، تیمار برگی سالیسیلیک اسید باعث افزایش بیشتر فعالیت آنزیم‌های درگیر در متابولیسم پرولین و در نتیجه افزایش بیشتر پرولین نسبت به تیمارهای خشکی به تنهایی شد. این نتایج مطابق نتایج گزارش شده توسط La و همکاران (۲۰۱۸) و Dianat و همکاران (۲۰۱۶) است. بنابراین افزایش محتوای پرولین تحت کاربرد سالیسیلیک اسید می‌تواند ناشی از تنظیم فعالیت آنزیم‌های درگیر در متابولیسم پرولین باشد که نقش مهمی می‌تواند در افزایش پتانسیل اسمزی و فشار تورگر سلولی و در نتیجه، بهبود سازگاری گیاه تنش خشکی ایفا کند. Idrees و همکاران

نشان دادند که کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید از طریق افزایش سطح بیان آنزیم‌های درگیر در شبکه آسکوربیک اسید گلوکاتایون، مانند آنزیم‌های گلوکاتایون ردوکتاز، مونودهدرو آسکوربات ردوکتاز و گلوکاتایون S-ترانسفرازها باعث افزایش سطح آسکوربیک اسید و گلوکاتایون و در نتیجه بهبود سازگاری گیاه به تنش خشکی شدند. بنابراین، می‌توان پیشنهاد کرد که کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک از طریق بهبود متابولیت‌های چرخه آسکوربیک اسید-گلوکاتایون باعث افزایش تحمل و در نتیجه بهبود رشد گیاه خرفه تحت تنش خشکی شد.

نتیجه‌گیری

نتایج کلی نشان داد محلول‌پاشی برگ‌گی اسید سالیسیلیک با تنظیم چندین پاسخ فیزیولوژیکی باعث بهبود تحمل گیاه خرفه به تنش خشکی شد. تیمار اسید سالیسیلیک با تنظیم متابولیسم کلروفیل، باعث بهبود رنگیزه‌های فتوسنتزی و فلورسانس کلروفیل و در نتیجه، بهبود رشد و زیست‌توده گیاه خرفه تحت تنش خشکی شد. محلول‌پاشی برگ‌گی اسید سالیسیلیک از طریق تنظیم متابولیسم پرولین، باعث افزایش محتوای پرولین و همچنین تعدیل چرخه آسکوربیک اسید-گلوکاتایون و بهبود آنزیم‌های سیستم گلی‌اکسالاز، باعث کاهش سطح متیل گلی‌اکسال و مالون دی‌آلدئید و در نتیجه، بهبود رطوبت آب نسبی و پایداری غشا شدند که به‌طور مؤثری منجر به افزایش تحمل گیاه خرفه تحت تنش خشکی شد.

است (Ghasemi-Omran *et al.*, 2021). نتایج ما نشان داد تنش خشکی به‌ویژه آبیاری ۳۰ درصد ظرفیت زراعی باعث کاهش محتوای آسکوربیک اسید و گلوکاتایون احیا شده و در نتیجه، کاهش نسبت‌های آسکوربیک اسید احیا شده به اکسید شده و گلوکاتایون احیا شده به اکسید شده در برگ گیاه خرفه شد. این تغییرات می‌تواند نتیجه جمع انواع رادیکال‌های آزاد سمی القاشده توسط تنش خشکی باشد. از آنجایی‌که آنزیم آسکوربات پراکسیداز برای فعالیت خود از آسکوربیک اسید احیا شده به‌عنوان دهنده الکترون استفاده می‌کند، افزایش این آنزیم می‌تواند یکی از دلایل کاهش سطح آسکوربیک اسید احیا شده باشد. نتایج مشابهی از کاهش سطح آسکوربیک اسید و گلوکاتایون احیا شده تحت تنش خشکی توسط Pyngrope و همکاران (۲۰۱۳) و Abbaspour و Ehsanpour (۲۰۱۶) گزارش شده است. کاربرد برگ‌گی اسید سالیسیلیک باعث بهبود محتوای آسکوربیک اسید و گلوکاتایون احیا شده در برگ گیاه خرفه شد که با نتایج بدست آمده توسط Kang و همکاران (۲۰۱۳) و Abbaspour و Ehsanpour (۲۰۱۶) مطابق دارد. حفظ سطح پایدار گلوکاتایون و آسکوربیک در مقابله با تنش اکسیداتیو ایجاد شده تحت شرایط گیاه اهمیت زیادی دارد. Abbaspour و Ehsanpour (۲۰۱۶) بیان داشتند که سالیسیلیک اسید با افزایش فعالیت آنزیم‌های درگیر در بازسازی گلوکاتایون و آسکوربیک اسید مانند گلوکاتایون ردوکتاز، باعث افزایش سطح آسکوربیک اسید و گلوکاتایون و در نتیجه بهبود تحمل گیاه تحت تنش خشکی شدند. Kang و همکاران (۲۰۱۳)

منابع

- Abbaspour, J. and Ehsanpour, A. A. (2016) Physiological targets of salicylic acid on *Artemisia aucheri* BOISS as a medicinal and aromatic plant grown under in vitro drought stress. *Botanical Studies* 57: 39.
- Abbaszadeh, B., Layeghhaghighi, M., Azimi, R. and Hadi, N. (2020) Improving water use efficiency through drought stress and using salicylic acid for proper production of *Rosmarinus officinalis* L. *Industrial Crops and Products* 144: 111893.
- Anjum, S., Wang, L., Xiao-yuie, X., Long-chang, W., Muhammad Saleem, F., Chen, M. and Wang, L. (2011) Brassinolide application improves the drought tolerance in maize through modulation of enzymatic antioxidants and leaf gas exchange. *Journal of Agronomy and Crop Science* 197: 177-185.
- Bates, L. S., Waldern, R. P. and Tear, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Blum, A. (2017) Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production. *Plant, Cell and Environment* 40: 4-10.

- Boaretto, L. F., Carvalho, G., Borgo, L., Creste, S., Landell, M. G., Mazzafera, P. and Azevedo, R. A. (2014) Water stress reveals differential antioxidant responses of tolerant and non-tolerant sugarcane genotypes. *Plant Physiology and Biochemistry* 74: 165-175.
- Charest, C. and Phan, C. T. (1990) Cold-acclimation of wheat (*Triticum aestivum*) - properties of enzymes involved in proline metabolism. *Physiologia Plantarum* 80: 159-168.
- Colom, M. R. and Vazzana, C. (2003) Photosynthesis and PSII functionality of drought-resistant and drought-sensitive weeping lovegrass plants. *Environmental and Experimental Botany* 49: 135-144.
- Costa, M. L., Civello, P. M., Chaves, A. R. and Martinez, G. A. (2005) Effect of ethephon and 6-benzylaminopurine on chlorophyll degrading enzymes and a peroxidase-linked chlorophyll bleaching during post-harvest senescence of broccoli (*Brassica oleracea* L.) at 20° C. *Postharvest Biology and Technology* 35: 191-9.
- Daneshmand, F. M., Arvin, J. and Kalantari, K. (2009) Effect of acetylsalicylic acid (aspirin) on salt and osmotic stress tolerance in *Solanum bulbocastanum* in vitro enzymatic antioxidants. *American Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences* 6: 92-99.
- Dianat, M., Saharkhiz, M. J. and Tavassolian, I. (2016) Salicylic acid mitigates drought stress in *Lippia citriodora* L.: effects on biochemical traits and essential oil yield. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 8: 286-293.
- Estaji, A. and Niknam, F. (2020) Foliar salicylic acid spraying effect' on growth, seed oil content, and physiology of drought-stressed *Silybum marianum* L. plant. *Agricultural Water Management* 234: 106116
- Gerami, M., Ghorbani, A. and Karimi, S. (2018) Role of salicylic acid pretreatment in alleviating cadmium-induced toxicity in *Salvia officinalis* L. *Iranian Journal of Plant Biology* 10: 81-95.
- Ghasemi-Omran, V. O., Ghorbani, A. and Sajjadi-Otaghsara, S. A. (2021) Melatonin alleviates NaCl-induced damage by regulating ionic homeostasis, antioxidant system, redox homeostasis, and expression of steviol glycosides-related biosynthetic genes in in vitro cultured *Stevia rebaudiana* Bertoni. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant* 57: 319-331.
- Ghorbani, A., Ghasemi Omran, V. O., Razavi, S. M., Pirdashti, H. and Ranjbar, M. (2019a) *Piriformospora indica* confers salinity tolerance on tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) through amelioration of nutrient accumulation, K⁺/Na⁺ homeostasis and water status. *Plant Cell Reports* 38: 1151-1163.
- Ghorbani, A., Pishkar, L., Roodbari, N., Ali, Tavakoli, S., Moein Jahromi, E. and Chu, W. (2022) Nitrate reductase is needed for methyl jasmonate-mediated arsenic toxicity tolerance of rice by modulating the antioxidant defense system, glyoxalase system and arsenic sequestration mechanism. *Journal of Plant Growth Regulation*.
- Ghorbani, A., Pishkar, L., Roodbari, N., Pehlivan, N. and Wu, C. (2021) Nitric oxide could allay arsenic phytotoxicity in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) by modulating photosynthetic pigments, phytochelatin metabolism, molecular redox status and arsenic sequestration. *Plant Physiology and Biochemistry* 167: 337-348.
- Ghorbani, A., Razavi, S. M., Ghasemi Omran, V. O. and Pirdashti, H. (2018a) *Piriformospora indica* alleviates salinity by boosting redox poise and antioxidative potential of tomato. *Russian Journal of Plant Physiology* 65: 898-907.
- Ghorbani, A., Razavi, S. M., Ghasemi Omran, V. O. and Pirdashti, H. (2018b) *Piriformospora indica* alleviates salinity by boosting redox poise and antioxidative potential of tomato. *Russian Journal of Plant Physiology* 65: 898-907.
- Ghorbani, A., Razavi, S. M., Ghasemi, V. and Pirdeshti, H. (2019b) Effects of endophyte fungi symbiosis on some physiological parameters of tomato plants under 10 day long salinity stress. *Journal of Plant Process and Function*. 7: 193-208.
- Ghorbani, A., Tafteh, M., Roudbari, N., Pishkar, L., Zhang, W. and Wu, C. (2020) *Piriformospora indica* augments arsenic tolerance in rice (*Oryza sativa*) by immobilizing arsenic in roots and improving iron translocation to shoots. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 209: 111793.
- Ghorbani, A., Zarinkamar, F. and Falah, A. (2011) Effect of cold stress on the anatomy and morphology of the tolerant and sensitive cultivars of rice during germination. *Journal of Cell and Tissue* 2: 235-244.
- Ghorbani, A., Zarinkamar, F. and Fallah, A. (2009) The effect of cold stress on the morphologic and physiologic characters of two rice varieties in seedling stage. *Journal of Crop Breeding* 1: 50-66.
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Rahman, A., Inafuku, M., Oku, H. and Fujita, M. (2018) Exogenous nitric oxide donor and arginine provide protection against short-term drought stress in wheat seedlings. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 24: 993-1004.
- Hayat, S., Hasan, S. A., Fariduddin, Q. and Ahmad, A. (2008) Growth of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in response to salicylic acid under water stress. *Journal of Plant Interactions* 3: 297-304.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125: 189-198.
- Horvath, E., Szalai, G. and Janda, T. (2007) Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. *Journal of Plant Growth Regulation* 26: 290-300.
- Huang, B. and Fu, J. (2001) Growth and physiological responses of tall fescue to surface soil drying. *International Turfgrass Society Research Journal* 9: 291-296.

- Hura, T., Dziurka, M., Hura, K., Ostrowska, A. and Dziurka, K. (2015) Free and cell wall-bound polyamines under long-term water stress applied at different growth stages of *Triticosecale* Wittm. PLoS One 10: e0135002.
- Idrees, M., Khan, M. M. A., Aftab, T., Naeem, M. and Hashmi, N. (2010) Salicylic acid-induced physiological and biochemical changes in lemongrass varieties under water stress. Journal of Plant Interactions 5: 293-303.
- Iranshahy, M., Javadi, B., Iranshahi, M., Jahanbakhsh, S. P., Mahyari, S., Hassani, F. V. and Karimi, G. (2017) A review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Portulaca oleracea* L. Journal of Ethnopharmacology 205: 158-172.
- Jain, M. and Gadre, R. (2004) Inhibition of chlorophyll biosynthesis by mercury in excised etiolated maize leaf segments during greening: Effect of 2-oxoglutarate. Indian Journal of Experimental Biology 42: 419-423.
- Kabiri, R., Hatami, A. and Naghizadeh, M. (2014) Effect of drought stress and its interaction with salicylic acid on fennel (*Foeniculum vulgare* mill.) germination and early seedling growth. Journal of Medicinal Plants and By Products 3: 107-116.
- Kang, G. Z., Li, G. Z., Liu, G. Q., Xu, W., Peng, X. Q., Wang, C. Y., Zhu, Y. J. and Guo, T. C. (2013) Exogenous salicylic acid enhances wheat drought tolerance by influence on the expression of genes related to ascorbate-glutathione cycle. Plant Biology 57: 718-724.
- Kaya, C. (2020) Nitrate reductase is required for salicylic acid-induced water stress tolerance of pepper by upraising the AsA-GSH pathway and glyoxalase system. Physiologia Plantarum.
- Khan, N., Bano, A., Atikur Rahman, M., Guo, J., Kang, Z. and Babar, M. A. (2019) Comparative physiological and metabolic analysis reveals a complex mechanism involved in drought tolerance in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) induced by PGPR and PGRs. Scientific Reports 9: 2097.
- Koo, Y. M., Heo, A. Y. and Choi, H. W. (2020) Salicylic acid as a safe plant protector and growth regulator. The Plant Pathology Journal 36: 1-10.
- La, V. H., Lee, B. R., Zhang, Q., Park, S. H., Islam, M. T. and Kim, T. H. (2018) Salicylic acid improves drought-stress tolerance by regulating the redox status and proline metabolism in *Brassica rapa*. Horticulture, Environment, and Biotechnology 60: 31-40.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology 148: 350-382.
- Lutts, S., Kinet, J. M. and Bouharmont, J. (1995) Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa* L.) varieties differing in salinity resistance. Journal of Experimental Botany 46: 1843-1852.
- Ma, Q. Q., Wang, W. L. I. Y. H., Li, D. Q. and Zou, Q. (2006) Alleviation of photoinhibition in drought-stressed wheat (*Triticum aestivum*) by foliar applied glycine betaine. Journal of Plant Physiology 163: 165-175.
- Nazar, R., Umar, S. and Khan, N. A. (2015) Exogenous salicylic acid improves photosynthesis and growth through increase in ascorbate-glutathione metabolism and S assimilation in mustard under salt stress. Plant Signaling and Behavior 10: e1003751.
- Nemeth, M., Janda, T., Horvath, E., Paldi, E. and Szalai, G. (2002) Exogenous salicylic acid increase polyamine content but may decreases drought tolerance in maize. Plant Science 162: 569-574.
- Pal, M., Kovacs, V., Szalai, G., Soos, V., Ma, X., Liu, H., Mei, H. and Janda, T. (2014) Salicylic acid and abiotic stress responses in rice. Journal of Agronomy and Crop Science 200: 1-11.
- Principato, G. B., Rosi, G., Talesa, V., Govannini, E. and Uolila, L. (1987) Purification and characterization of two forms of glyoxalase II from rat liver and brain of Wistar rats. Biochimica et Biophysica Acta 911: 349-355.
- Pyngrope, S., Bhoomika, K. and Dubey, R. S. (2013) Reactive oxygen species, ascorbate-glutathione pool, and enzymes of their metabolism in drought-sensitive and tolerant indica rice (*Oryza sativa* L.) seedlings subjected to progressing levels of water deficit. Protoplasma 250: 585-600.
- Ramezani, M., Enayati, M., Ramezani, M. and Ghorbani, A. (2021) A study of different strategical views into heavy metal (oid) removal in the environment. Arabian Journal of Geosciences 14: 2225.
- Smart, R. E. and Bingham, G. E. (1974) Rapid estimates of relative water content. Plant Physiology 53: 258-260.
- Sohag, A. A. M., Tahjib-Ul-Arif, M., Brestic, M., Afrin, S., Sakil, M. A., Hossain, M. T., Hossain, M. A. and Hossain, M. A. (2020) Exogenous salicylic acid and hydrogen peroxide attenuate drought stress in rice. Plant, Soil and Environment 66: 7-13.
- Sumithra, K., Jutur, P. P., Carmel, B. D. and Reddy, A. R. (2006) Salinity-induced changes in two cultivars of *Vigna radiata*: Responses of antioxidative and proline metabolism. Plant Growth Regulation 50: 11-22.
- Takahashi, F., Kuromori, T., Urano, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. (2020) Drought stress responses and resistance in plants: From cellular responses to long-distance intercellular communication. Frontiers in Plant Science 11: 556972.
- Touhidi Nejad, Z., Farahbakhsh, H. and Maghsoudi Moud, A. A. (2016) Evaluation of salicylic acid effects on some physiological traits of Fenugreek under drought stress. Journal of Plant Process and Function 5: 85-96.

- Wild, R., Ooi, L., Srikanth, V. and Munch, G. (2012) A quick, convenient and economical method for the reliable determination of methylglyoxal in millimolar concentrations: The N-acetyl-L-cysteine assay. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 403: 2577-2581.
- Yadav, S. K., Singla-Pareek, S. L., Ray, M., Reddy, M. K. and Sopory, S. K. (2005) Methylglyoxal levels in plants under salinity stress are dependent on glyoxalase I and glutathione. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 337: 61-7.
- Zhang, Y., Xu, S., Yang, S. and Chen, Y. (2015) Salicylic acid alleviates cadmium-induced inhibition of growth and photosynthesis through upregulating antioxidant defense system in two melon cultivars (*Cucumis melo* L.). *Protoplasma* 252: 911-924.

The effect of salicylic acid under drought stress on some physiological and biochemical traits of *Portulaca oleracea* L.

Farnaz Saheri¹, Giti Barzin*¹, Leila Pishkar¹, Masoud Mashhadi Akbar Boojar² and Laleh Babaeekhou¹

¹ Department of Biology, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, Iran

² Department of Biology Science, Kharazmi University, Tehran, Iran

(Received: 02/01/2021, Accepted: 07/09/2021)

Abstract

With respect to increase trend of drought development and lack of desirable land for agriculture in the whole world, the use of drought resistant species or the use of compounds that reduce the effects of drought stress and induction of resistance to stress in plants is very important. In the present study, the effects of salicylic acid (SA) foliar spray (0, 0.5 and 1 mM) on physiological and biochemical responses of purslane (*Portulaca oleracea* L.) as a medicinal plant under drought stress (90, 60 and 30% of field capacity (FC)) were examined in a factorial experiment based on a completely randomized design with four replications in Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, Iran. The results showed that 60 and 30% FC reduced the height (18.5 and 45%, respectively) and total dry weight (43.1 and 58.6%) of the plant compared to the control treatment. On the other hand, drought stress, especially 30% FC, reduced photosynthetic pigments, relative water content, membrane stability and induced oxidative stress (increased levels of methylglyoxal and malondialdehyde). However, foliar application of SA by regulating chlorophyll metabolism (activity of chlorophyllase and delta-aminolevulinic acid dehydratase) and improving proline metabolism (activity of proline dehydrogenase and delta-1-proline-5-carboxylate synthetase 1) increased the contents of chlorophylls and proline and, consequently, improved photosynthetic apparatus efficiency and relative water content under drought stress. Also, SA improved plant tolerance to drought stress by increasing the activity of enzymes involved in the glyoxalase system and improving the redox state of the ascorbic acid-glutathione cycle. Therefore, SA under drought stress can play an effective role in reducing and modulating the negative effects of stress.

Keywords: *Portulaca oleracea*, Drought stress, Salicylic acid, Gas exchange, Glyoxalase system

Corresponding author, Email: Gitibarzin@iiu.ac.ir