

پاسخ فیزیولوژیکی گیاه دارویی - صنعتی حنا (*Lawsonia inermis* L.) به کاربرد اسید سالیسیلیک تحت تنش خشکی

حسن فرحبخش^{۱*} و امین پسندی پور^۲

^۱ گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، عضو انجمن پژوهشگران جوان دانشگاه شهید باهنر کرمان
تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۷/۱۹، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۰۲/۱۵

چکیده:

برای بررسی اثر اسید سالیسیلیک (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه دارویی-صنعتی حنا (*Lawsonia inermis* L.) تحت تنش خشکی (صفر، ۲- و ۴- بار ایجاد شده توسط پلی اتیلن گلاکول ۶۰۰۰) آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام شد. محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوای پروتئین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پلی فنول اکسیداز و ماده خشک تولیدی به عنوان برخی از پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه حنا اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که تنش خشکی ایجاد شده به طور معنی‌داری ($p < 0.01$) تمامی صفات اندازه‌گیری شده را تحت تاثیر قرار داد. فعالیت پلی فنول اکسیداز تحت تاثیر اسید سالیسیلیک قرار نگرفت در حالیکه کاربرد این ماده سایر صفات اندازه‌گیری شده را به طور معنی‌داری تحت تاثیر قرار داد. اثر متقابل تنها بر محتوای کلروفیل a، محتوای کلروفیل کل، محتوای پروتئین، فعالیت کاتالاز و ماده خشک معنی‌دار گردید. بر طبق نتایج مقایسه میانگین بیشترین میانگین صفات ذکر شده در تمام سطوح تنش خشکی مورد بررسی مربوط به غلظت ۵۰ میکرو مولار اسید سالیسیلیک بوده است. در نهایت میتوان نتیجه‌گیری کرد که کاربرد اسید سالیسیلیک توانست اثرات ناشی از تنش خشکی را از طریق تعدیل پاسخ‌های فیزیولوژیکی در گیاه حنا، بهبود بخشد.

کلمات کلیدی: اسید سالیسیلیک، تنش خشکی، حنا، رنگیزه‌های فتوسنتزی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

مقدمه:

به مناطقی از استان کرمان و سیستان و بلوچستان محدود گشته و در این مناطق نیز رو به کاهش می‌باشد. حنا با نام علمی *Lawsonia inermis* L. گیاهی چند ساله و دولپه بوده که بومی شمال آفریقا و جنوب شرقی آسیا است. این گیاه در نواحی گرمسیری به عنوان گیاهی زینتی و جهت استفاده از رنگ آن کشت می‌شود. حنا گیاهی است بوته‌ای با شاخه‌های زیاد و بدون کرک و ارتفاع آن به ۴ متر نیز می‌رسد. برگ‌های حنا کوچک و دارای طولی معادل ۱/۵ تا ۵ سانتی‌متر و عرض ۰/۵ تا ۲ سانتی‌متر می‌باشد. برگ‌های بیضوی، نوک

تنوع سامانه‌های زراعی در کشور متأسفانه به سرعت رو به نابودی رفته به طوری که تنها زراعت گیاهان محدودی از غلات و گیاهان صنعتی رواج داشته و بسیاری از گیاهانی که در گذشته مورد کشت و کار بودند یا کاملاً به فراموشی سپرده شده و یا در آینده‌ای نزدیک از سامانه زراعت کشور حذف خواهند گردید. از جمله این گیاهان می‌توان به گیاه دارویی-صنعتی حنا اشاره نمود که علی‌رغم کاربردهای بسیار زیادی که در زمینه دارویی و رنگرزی دارد، امروزه کشت و کار آن تنها

*نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: hfarahbakhsh@yahoo.com

سازوکار عمل اسید سالیسیلیک در برابر تنش‌ها به نقش آن در تنظیم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات دارای گونه‌های اکسیژن فعال در گیاه برمی‌گردد (Khan *et al.*, 2003; Shi and Zhu, 2008). اسید سالیسیلیک از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، گیاه را از صدمات حاصله از واکنش‌های اکسیداتیو حفظ می‌کند. همچنین کاربرد اسید سالیسیلیک میزان پلی‌آمین‌های پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین را در گیاه افزایش می‌دهد که می‌تواند به یک پارچگی و حفظ غشا تحت شرایط تنش خشکی کمک کند (Nemeth *et al.*, 2002).

در تحقیقی Senaratna و همکاران (۲۰۰۰) با تأکید بر نقش سامانه آنتی‌اکسیدان در فرایند خنثی سازی اثرات تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی، سرما و گرما در دو گیاه لوبیا و گوجه فرنگی، نشان دادند که به کار بردن اسید سالیسیلیک به صورت خارجی در شرایط تنش، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله سوپر اکسید دیسموتاز و پراکسیداز را بهبود می‌بخشد. مطالعات انجام شده توسط He و همکاران (۲۰۰۵) نشان داد در گیاه چمن بعد از تیمار اسید سالیسیلیک فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز افزایش می‌یابد. همچنین مشخص شده است پیش تیمار گیاه گوجه فرنگی با محلول اسید سالیسیلیک، از طریق افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله آسکوربات پراکسیداز، آسیب‌های ناشی از تنش شوری را بهبود می‌بخشد (Tari *et al.*, 2004; Szepesi *et al.*, 2005).

بیات و همکاران (۱۳۹۰) در بررسی تأثیر اسید سالیسیلیک بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاهچه‌های خیار تحت شرایط تنش خشکی گزارش کردند که اسید سالیسیلیک میزان شاخص کلروفیل و سطح برگ را به ترتیب ۲۷ و ۱۳۹ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. در مقابل هدایت روزنه‌ای و نشت یونی با کاربرد اسید سالیسیلیک کاهش پیدا کردند. با توجه به مشاهدات Korkmaz و همکاران (۲۰۰۷) اسید سالیسیلیک محتوای کلروفیل برگ را در دانه‌های خریزه افزایش می‌دهد. افزودن اسید سالیسیلیک به محلول رشد آبکشت نهال‌های ذرت، با تحریک تولید عوامل آنتی‌اکسیدان، باعث افزایش تحمل به سرما شد (Janda *et al.*, 1999). اعتقاد

تیز، لبه‌دار و قهوه‌ای متمایل به سبز تا قهوه‌ای تیره به صورت متقابل روی شاخه قرار دارند. شاخه‌های حنا دارای مقطع مربعی شکل بوده و به رنگ سبز هستند که با افزایش سن گیاه به قرمز متمایل می‌شوند. گل‌آذین این گیاه خوشه‌ای و بزرگ است که دارای تعداد زیادی گل کوچک و معطر می‌باشد. میوه گیاه حنا کپسولی به رنگ قهوه‌ای است. در زمان رسیدن، میوه‌ها به صورت نامنظم باز شده و ۴ قسمت می‌شوند. هر بوته تعداد زیادی بذر تولید می‌کند. بذرهای گیاه حنا هرمی، صاف، سخت و به رنگ قهوه‌ای متمایل به خرمایی هستند که اندازه آنها ۲ میلی‌متر است (Chaudhary *et al.*, 2010).

مشابه برگ‌های درخت چای که در سه چین برداشت می‌شوند، حنا نیز در دو تا سه چین با فاصله چند ماهه، قابل برداشت می‌باشد. اولین چین حنا، مرغوبترین و بهترین و در مقایسه با چین‌های دیگر ارزش بیشتری دارد. زمان برداشت حنا بسته به نوع اقلیم و تعداد چین متفاوت و از تیر تا آبان ماه صورت می‌گیرد.

گیاهان در طول دوره رشد خود پیوسته بوسیله عوامل نامساعد محیطی تحت تاثیر قرار می‌گیرند. بعضی از این عوامل نامساعد مانند تنش رطوبتی رشد و نمو را در گیاهان محدود می‌کنند (عزیزی نیا و همکاران، ۱۳۸۴). کمبود آب با تأثیر بر آماس سلولی و در نتیجه باز و بسته شدن روزنه‌ها، فرایندهای فتوسنتز، تنفس و تعرق را تحت تاثیر قرار داده و از طرف دیگر با تأثیر بر فرایندهای آنزیمی که به طور مستقیم با پتانسیل آب کنترل می‌شوند، بر رشد گیاه اثر منفی می‌گذارد. گزارش‌های زیادی مبنی بر تأثیر کمبود آب از چند نوبت تا تنش‌های شدید، در رابطه با مختل شدن فرایندهای فیزیولوژیکی گیاهان و تغییر در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و نیتروژن و نیز تغییر در ساختمان پروتئین‌ها و فعالیت آنزیم‌ها وجود دارد (Brar *et al.*, 1990). تنش خشکی موجب القاء تنش اکسیداتیو در گیاهان شده که نتیجه آن افزایش ترکیبات دارای گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) می‌باشد. در این شرایط فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز افزایش می‌یابد (Hayat and Ahmad, 2007).

عبور از کاغذ صافی، جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر SCO-TECH مدل SPUV-26 در طول موج‌های ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد.

تهیه عصاره آنزیمی: به منظور ساخت عصاره آنزیمی، ۰/۰۵ گرم از بافت تر برگ در یک هاون چینی محتوی ۵ سی سی بافر Tris-HCl ۵۰ میلی مولار با پی اچ برابر ۷/۵ ساییده شد. محلول بدست آمده پس از ۱۰ دقیقه سکون به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سپس قسمت بالایی محلول به عنوان عصاره آنزیمی جدا و در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

سنجش محتوای پروتئین: برای سنجش غلظت پروتئین، به لوله‌های آزمایش حاوی ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی، مقدار ۵ میلی‌لیتر معرف بیوره افزوده شد و سریع ورتکس گردید. پس از گذشت ۲۵ دقیقه جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد (Bradford, 1976).

روش ساخت معرف بیوره: برای ساخت معرف بیوره ابتدا ۰/۰۵ گرم از کوماسی بریلیانت بلو را در ۲۵ سی سی اتانول ۹۵ درصد به مدت یک ساعت حل نموده و سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۸۵ درصد به صورت قطره قطره به آن اضافه گردید. در پایان حجم کل محلول را با اضافه کردن آب مقطر به ۵۰۰ میلی لیتر رسانده و از کاغذ صافی واتمن شماره یک عبور داده شد.

سنجش فعالیت کاتالاز: سنجش فعالیت کاتالاز براساس کاهش جذب آب اکسیژنه (کاهش مقدار H_2O_2) در طول موج ۲۴۰ نانومتر و با روش Dhindsa و همکاران (۱۹۸۱) صورت گرفت. مخلوط واکنش شامل بافر Tris-HCl ۵۰ میلی‌مولار با پی اچ برابر ۷ و آب اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار بود. با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی به مخلوط ذکر شده، واکنش شروع و تغییرات جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر از زمان شروع واکنش محاسبه شد.

سنجش فعالیت پلی فنول اکسیداز: مخلوط واکنش جهت سنجش فعالیت پلی فنول اکسیداز شامل بافر تریس ۰/۲ مولار با

بر این است که اسید سالیسیلیک می‌تواند به عنوان یک تنظیم کننده‌ی بالقوه برای بهبود رشد در شرایط کمبود آب، مورد استفاده قرار گیرد.

بررسی منابع موجود حاکی از عدم وجود هیچگونه بررسی در خصوص اثر اسید سالیسیلیک بر روی گیاه حنا تحت تنش خشکی می‌باشد. بنابراین هدف این مطالعه بررسی سطوح مختلف این ماده بر خصوصیات فیزیولوژیک حنا در شرایط تنش خشکی می‌باشد.

مواد و روش‌ها:

این آزمایش در محیط کشت هیدروپونیک در دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان در سال ۱۳۹۱ صورت گرفت. بذرهای حنا (*Lawsonia inermis* L.) توده شهاد که از محل هرباریوم دانشکده تهیه شده بودند، ابتدا در محیط محتوی کوکوپیت و ماسه کاشته و بعد از رسیدن به مرحله ۵ تا ۶ برگی به محیط کشت هیدروپونیک محتوی محلول غذایی هوگلند منتقل شدند. به منظور اطمینان از انتقال سالم گیاهچه‌های حنا به مدت سه روز در شرایط جدید رشد نموده و سپس اولین فاکتور آزمایش یعنی تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت‌های صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار به مدت ۴۸ ساعت از طریق جذب ریشه‌ای اعمال گردید. مجدداً گیاهچه‌ها به مدت ۲۴ ساعت به محیط کشت محتوی محلول غذایی هوگلند انتقال داده شدند. در این مرحله گیاهچه‌ها در معرض تنش خشکی ایجاد شده توسط محلول پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ (صفر، ۲- و ۴- بار) قرار گرفتند. پس از گذشت ۴۸ ساعت مواد گیاهی سریعاً توسط نیتروژن مایع منجمد و به منظور اندازه‌گیری محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، فعالیت کاتالاز و پلی فنول اکسیداز در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی: برای سنجش مقدار کلروفیل و کاروتنوئید از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) استفاده شد. به این صورت که ۰/۱ گرم از برگ‌های تازه گیاه در هاون چینی حاوی ۱۵ میلی لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شد و پس از

احتمال یک درصد معنی دار شده‌اند (جدول ۱). اثر متقابل تنش خشکی در اسید سالیسیلیک در مورد صفت محتوای کلروفیل کل (شکل ۲) نشان داد بیشترین مقدار این صفت مربوط به گیاهانی بود که در شرایط بدون تنش (سطح صفر خشکی) با غلظت ۵۰ میکرو مولار اسید سالیسیلیک تیمار شده بودند.

کاربرد اسید سالیسیلیک خارجی باعث کاهش میزان کارتنوئید برگ نسبت به تیمار شاهد شد که از نظر آماری معنی دار است (جدول ۲). افزایش شدت تنش خشکی محتوای کارتنوئید برگ را نسبت به تیمار شاهد دچار کاهش معنی داری کرد (جدول ۳). اثر متقابل تنش خشکی در اسید سالیسیلیک در مورد محتوای کارتنوئید معنی دار نگردید.

میزان پروتئین کل گیاه با کاربرد اسید سالیسیلیک ۵۰ میکرو مولار افزایش یافته و تنش خشکی موجب کاهش این صفت در گیاه نسبت به گیاهان شاهد شده است که از نظر آماری این تغییرات معنی دار است. بر طبق نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی در اسید سالیسیلیک (شکل ۳) بیشترین میزان پروتئین در تمام سطوح تنش خشکی مورد بررسی مربوط به غلظت ۵۰ میکرو مولار اسید سالیسیلیک بود.

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل تنش خشکی در اسید سالیسیلیک بر روی فعالیت آنٹی‌اکسیدان کاتالاز در گیاه حنا معنی دار بود (جدول ۱). کاربرد اسید سالیسیلیک هم در شرایط تنش خشکی و هم در شرایط بدون تنش، تاثیر معنی داری بر فعالیت کاتالاز داشت (شکل ۴). با توجه به شکل ۴ بیشترین فعالیت کاتالاز مربوط به گیاهان تیمار شده با غلظت ۱۰۰ میکرو مولار اسید سالیسیلیک تحت تنش خشکی ۴- بار بود.

فعالیت پلی‌فنول اکسیداز تحت تاثیر کاربرد اسید سالیسیلیک قرار نگرفت در حالی که تنش خشکی توانست منجر به ایجاد پاسخ‌های معنی داری در فعالیت آن گردد (جدول ۱). نتایج حاصل از اندازه‌گیری فعالیت پلی‌فنول اکسیداز در گیاه حنا تحت تاثیر تنش خشکی (جدول ۳) نشان داد که فعالیت این آنزیم در سطح خشکی ۲- بار نسبت به شاهد افزایش معنی داری نداشته است. فعالیت این آنزیم با افزایش

پی اچ برابر ۷/۶، پیرو گالال ۲۰ میلی مولار و ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی بود. در حضور آنزیم پلی‌فنول اکسیداز، پیروگالال موجود در مخلوط واکنش، به پورپوروگالین تبدیل می‌شود. تغییر در جذب پیروگالال در ۴۲۰ نانومتر، پس از ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نسبت به زمان شروع واکنش، محاسبه شد (Kar and Mishra, 1976).

تجزیه و تحلیل آماری: آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. جهت محاسبات آماری و مقایسه میانگین‌ها، نرم افزارهای SAS و MSTAT-C مورد استفاده قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ انجام گرفت.

نتایج و بحث:

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد تاثیر تنش خشکی، اسید سالیسیلیک و اثر متقابل آنها بر محتوای کلروفیل a در سطح احتمال یک درصد معنی دار شده است (جدول ۱). بر طبق نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی در اسید سالیسیلیک (شکل ۱) بیشترین و کمترین محتوای کلروفیل a در تمام سطوح تنش خشکی به ترتیب مربوط به غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرو مولار اسید سالیسیلیک بود.

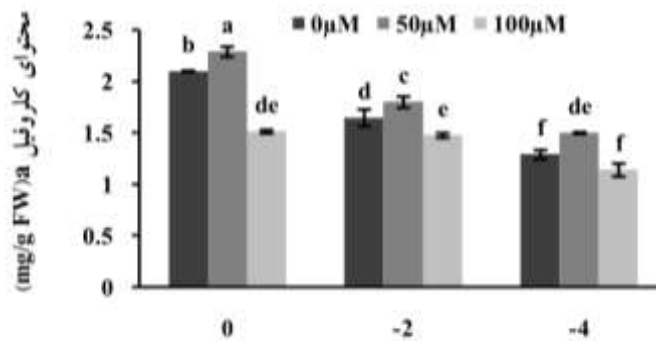
تاثیر اسید سالیسیلیک بر محتوای کلروفیل b در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد (جدول ۱). غلظت ۵۰ میکرو مولار این ماده توانست نسبت به تیمار شاهد موجب افزایش معنی دار این پارامتر شود در حالیکه در مورد غلظت ۱۰۰ میکرو مولار روند معکوسی مشاهده شد (جدول ۲). همچنین بین سطوح مختلف خشکی اختلاف معنی داری از لحاظ آماری وجود داشت به گونه‌ای که با افزایش میزان تنش خشکی، از محتوای کلروفیل b به شدت کاسته شد (جدول ۳). کمترین میزان کلروفیل b مربوط به سطح خشکی ۴- بار بود. اثر متقابل تنش خشکی در اسید سالیسیلیک در مورد محتوای کلروفیل b معنی دار نگردید.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که تمامی اثرات ساده و متقابل مورد بررسی بر محتوای کلروفیل کل در سطح

جدول ۱- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به صفات اندازه گیری شده

منابع تغییرات	درجه آزادی	محتوای کلروفیل a	محتوای کلروفیل b	محتوای کلروفیل کل	کارتنوئید	محتوای پروتئین	فعالیت کاتالاز	فعالیت پلی فنول اکسیداز	ماده خشک
تنش خشکی	۲	۰/۹۷۳**	۰/۳۱۹**	۲/۴۱**	۰/۲۲۳**	۲۵/۷۹**	۰/۰۸۲۶**	۰/۰۰۷**	۱۶/۷۲۷**
اسید سالیسیلیک	۲	۰/۵۴۳**	۰/۰۶۹**	۱/۰۱**	۰/۰۵۸**	۱۰/۰۹**	۰/۱۱۳۶**	۰/۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۶۵۸**
اثر متقابل	۴	۰/۰۶۲**	۰/۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۵۵**	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۴۹۴*	۰/۰۱۲۶**	۰/۰۰۰۳۵ ^{ns}	۰/۰۶۹۲**
خطای آزمایش	۱۸	۰/۰۰۷۸	۰/۰۰۲۰	۰/۰۱۰۹	۰/۰۰۱	۰/۱۶۵۵	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۳۵	۰/۰۰۰۴۲

ns, **, * به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪.



شکل ۱- اثر متقابل اسید سالیسیلیک و تنش خشکی بر محتوای کلروفیل a. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

شکل ۱- اثر متقابل اسید سالیسیلیک و تنش خشکی بر محتوای کلروفیل a. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

جدول ۲- اثر سطوح مختلف سالیسیلیک بر صفات مورد بررسی

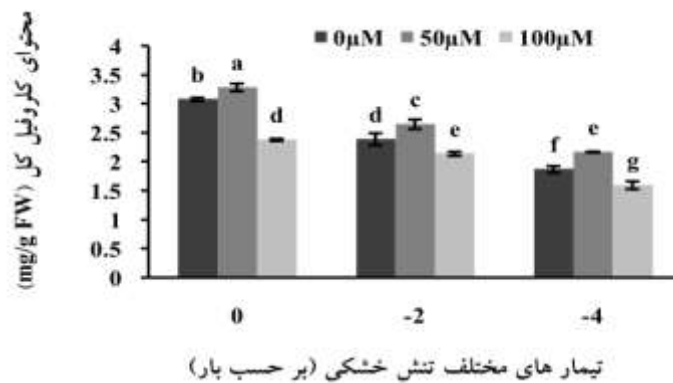
سطوح اسید سالیسیلیک	محتوای کلروفیل b (mg/g FW)	محتوای کارتنوئید (mg/g FW)	فعالیت پلی فنول اکسیداز (unit/mg protein)
صفر	۰/۷۷ ^b	۰/۷۳ ^a	۰/۱۰۵ ^a
۵۰ میکرومولار	۰/۸۴ ^a	۰/۷۶ ^a	۰/۰۹۶ ^a
۱۰۰ میکرومولار	۰/۶۶ ^c	۰/۶۱ ^b	۰/۱۰۳ ^a

میانگین‌های دارای حروف مشترک (a, b و c) بر اساس آزمون LSD و در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارند.

جدول ۳- اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر صفات مورد بررسی

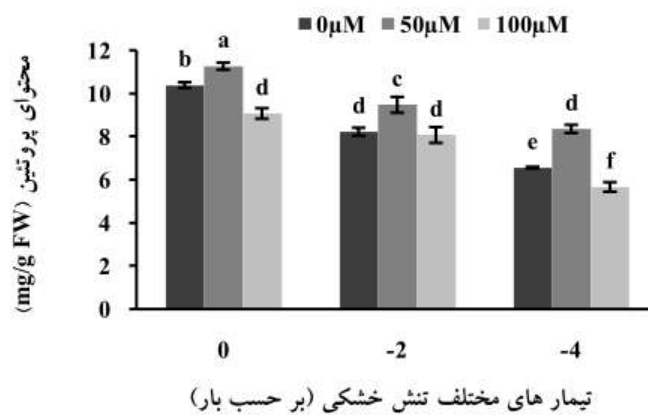
تنش خشکی	محتوای کلروفیل b (mg/g FW)	محتوای کارتنوئید (mg/g FW)	فعالیت پلی فنول اکسیداز (unit/mg protein)
صفر	۰/۹۵ ^a	۰/۸۵ ^a	۰/۰۹ ^b
-۲ بار	۰/۷۵ ^b	۰/۷۱ ^b	۰/۰۸۱ ^b
-۴ بار	۰/۵۷ ^c	۰/۵۴ ^c	۰/۱۳۳ ^a

میانگین‌های دارای حروف مشترک (a, b و c) بر اساس آزمون LSD و در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارند.



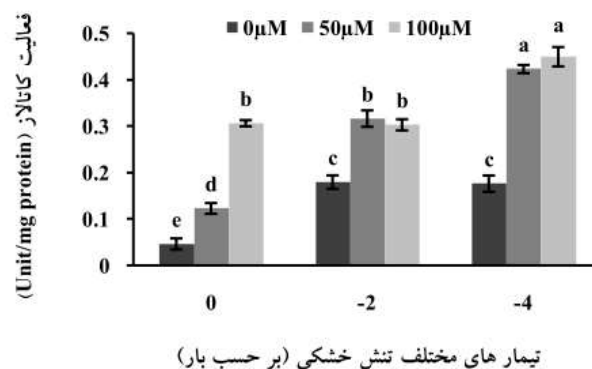
تیمارهای مختلف تنش خشکی (بر حسب بار)

شکل ۲- اثر متقابل اسید سالیسیلیک و تنش خشکی بر محتوای کلروفیل کل. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.



تیمارهای مختلف تنش خشکی (بر حسب بار)

شکل ۳- اثر متقابل اسید سالیسیلیک و تنش خشکی بر محتوای پروتئین. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.



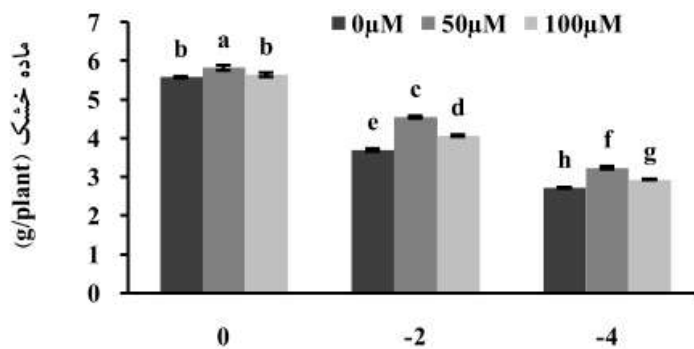
تیمارهای مختلف تنش خشکی (بر حسب بار)

شکل ۴- اثر متقابل اسید سالیسیلیک و تنش خشکی بر فعالیت کاتالاز. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

خشک گیاه حنا در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی در سالیسیلیک اسید در شکل ۵ نشان داده شده است. بر طبق این نتایج کاربرد اسید سالیسیلیک هم در شرایط تنش و هم در شرایط عدم تنش ماده

سطح تنش از -۲ به -۴ بار به طور معنی‌داری افزایش یافت. اثر متقابل تنش خشکی در اسید سالیسیلیک برای این صفت از لحاظ آماری معنی‌دار نگردید (جدول ۱).

تاثیر تمامی اثرات ساده و متقابل مورد بررسی بر تولید ماده



تیمار های مختلف تنش خشکی (بر حسب بار)

شکل ۵- اثر متقابل اسید سالیسیلیک و تنش خشکی بر مقدار ماده خشک. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد می باشد.

کلروفیل و ممانعت از بیوستتزی کلروفیل های جدید و فعال شدن آنزیم های تجزیه کننده کلروفیل، از جمله کلروفیلاز باشد (El-Tayeb, 2005; Neocleous and Nasilakakis, 2007).

در این مطالعه، تیمار ۵۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک موجب افزایش مقدار کلروفیل (به عنوان یکی از اجزای اصلی فتوستتزی و تأثیرگذار بر وزن خشک) در گیاهان تحت تنش گردید (شکل ۱ و ۲) که نشان دهنده توانایی این ماده در تخفیف اثرات تنش می باشد. به نظر می رسد که پیش تیمار اسید سالیسیلیک به عنوان یک پروسه مقاوم سازی عمل نموده است و با افزایش توان آنتی اکسیدانی سلول موجب کاهش مقدار پراکسیداسیون لیپیدها شده و موجب حفاظت بیشتر از غشاء های سلولی و فتوستتزی و رنگیزه های فتوستتزی و مانع از کاتابولیسم کلروفیل شده است. کاربرد اسید سالیسیلیک در گیاه دارویی بادرنجبویه (پورا کبر و عابدزاده، ۱۳۹۳؛ عابدزاده و پورا کبر، ۱۳۹۲) موجب افزایش کلروفیل شد.

در این مطالعه افزایش غلظت اسید سالیسیلیک از ۵۰ به ۱۰۰ میکرومولار منجر به کاهش محتوای کلروفیل در گیاه حنا شد. احتمالاً تأثیر غلظت بالای اسید سالیسیلیک بر مقدار کلروفیل، ناشی از تأثیر آن بر ACC سنتتاز و ACC اکسیداز و در نهایت بیوستتزی اتیلن است. اتیلن به عنوان محرک القای فرآیند پیری سبب افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و در نتیجه افزایش تخریب کلروفیل می شود (Roustan et al., 1989). گزارشات متناقضی در مورد تأثیر اسید سالیسیلیک بر مقدار

خشک تولیدی گیاه حنا را تحت تأثیر قرار داده است و بیشترین تأثیر در جهت افزایش تولید ماده خشک مربوط به غلظت ۵۰ میکرومولار بوده است (شکل ۵).

بحث:

در این تحقیق محتوای کلروفیل در اثر تنش خشکی، ایجاد شده با پلی اتیلن گلاکول ۶۰۰۰، کاهش یافت. مطابق با نتایج این تحقیق کاهش کلروفیل در سایر گیاهان با خاصیت دارویی از قبیل بادرشبو (عباسپور و رضایی، ۱۳۹۳)، گشنیز (نورزاد و همکاران، ۱۳۹۴)، سیاهدانه (کبیری و همکاران، ۱۳۹۳) و شوید (ستایش مهر و گنجعلی، ۱۳۹۲) گزارش شده است. در تحقیق شهریاری و همکاران (۱۳۹۲) بر روی گیاه نعنا لفللی گزارش شد که تنش خشکی تأثیر معنی داری بر روی شاخص کلروفیل این گیاه دارویی نداشته است. در حالی که روند افزایش محتوای کلروفیل در اثر افزایش تنش خشکی در گیاه همیشه بهار گزارش شده است (جعفرزاده و همکاران، ۱۳۹۳).

مطالعات اخیر ثابت می کند که در شرایط تنش خشکی، هم محدودیت انتشار بواسطه بسته شدن روزنه ها و هم محدودیت غیر روزنه ای (مثل خسارت اکسیداتیو به کلروپلاست)، باعث کاهش فتوستتزی می شوند. کاهش مقدار رنگیزه های فتوستتزی در شرایط تنش خشکی می تواند عمدتاً به دلیل تخریب ساختمان کلروپلاست و دستگاه فتوستتزی، فتواکسیداسیون کلروفیل ها، واکنش آنها با اکسیژن یکتایی، تخریب پیش ماده های سنتز

رنگیزه‌های فتوسنتزی نیز وجود دارد. افزایش غلظت اسید سالیسیلیک از صفر به ۲۰۰ میکرومولار منجر به کاهش محتوای کلروفیل و افزایش محتوای کارتنوئید در کالوس کنگر فرنگی (تنوری و همکاران، ۱۳۹۳) شد. مطابق با نتایج این تحقیق میزان کلروفیل در گیاه خردل اسپری شده با غلظت‌های پایین اسید سالیسیلیک (10^{-5} مولار) به طور معنی‌داری افزایش یافت در حالیکه غلظت‌های بالای آن ایجاد بازدارندگی کرد (Fariduddin *et al.*, 2003). همچنین بر خلاف نتایج بدست آمده، کاهش در میزان کلروفیل نیز در گیاهان پیش تیمار شده با اسید سالیسیلیک نیز گزارش شده است (Anandhi and Ramanujam, 1997; Pancheva *et al.*, 1996).

در این تحقیق محتوای کارتنوئیدها با افزایش شدت تنش خشکی به طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد. مطابق با نتایج این تحقیق کاهش در محتوای کارتنوئیدهای گیاهان سیاهدانه (کبیری و همکاران، ۱۳۹۳) و شوید (ستایش مهر و گنجعلی، ۱۳۹۲) در اثر تنش خشکی گزارش شده است. کاهش کارتنوئیدها در شرایط تنش خشکی را می‌توان به اکسیژن یکتایی تولید شده در تیلاکوئیدها ربط داد. کارتنوئیدها قادرند انرژی زیاد طول موج‌های کوتاه را گرفته و اکسیژن یکتایی را به سه تایی تبدیل کنند و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولید شده نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا نمایند (عباسپور و رضایی، ۱۳۹۳).

کاربرد اسید سالیسیلیک ۵۰ میکرومولار تاثیر معنی‌داری بر محتوای کارتنوئیدها نداشت ولی افزایش غلظت اسید سالیسیلیک به ۱۰۰ میکرومولار به طور مشابه با محتوای کلروفیل، منجر به کاهش محتوای کارتنوئیدها نیز شد. محققان بیان داشتند که غلظت‌های کم اسید سالیسیلیک، سبب افزایش رنگدانه‌های درونی می‌شود در حالی که با افزایش غلظت آن، کلروفیل و کارتنوئید کاهش می‌یابد (Cag *et al.*, 2009). کارتنوئیدها از خاموش کننده‌های مهم حالت یکتایی کلروفیل و اکسیژن یکتایی محسوب می‌شوند. حضور و افزایش تدریجی آنها با افزایش ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی برگ، باعث کاهش رادیکال‌های آزاد تولید شده در برگ شده و از این

طریق آسیب به مراکز واکنشی و غشاها کاهش می‌یابد. نتایج این تحقیق حاکی از کاهش محتوای پروتئین کل در شرایط تنش خشکی بود. مطابق با نتایج این تحقیق کاهش پروتئین در گیاهان رازیانه (سالارپور غربا و فرحبخش، ۱۳۹۳)، سیاهدانه (کبیری و همکاران، ۱۳۹۳) و شوید (ستایش مهر و گنجعلی، ۱۳۹۰) در شرایط تنش خشکی گزارش شده است. تنش‌های غیرزیستی سنتز برخی پروتئین‌ها را مهار و تولید برخی دیگر را تحریک می‌کند، هر چند روند کلی در جهت کاهش میزان کل پروتئین‌ها می‌باشد (Ericson and Alfinito, 1984). تنش خشکی، بیان ژن‌های کدکننده پروتئین‌های درون سلولی را القا می‌کند و سبب تجزیه پروتئین‌ها و تحرک مجدد نیترژن و متعاقب آن سنتز مواد محلول سازگار می‌شود. از این رو، کاهش محتوای پروتئین تحت تنش خشکی با کاهش سنتز و افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئین مرتبط است (Feller, 2004). تنش اکسیداتیو می‌تواند یکی دیگر از دلایل کاهش مقدار پروتئین‌ها باشد. تولید گونه‌های فعال اکسیژن نظیر رادیکال‌های سوپراکسید یا هیدروکسیل باعث اکسیداسیون اسیدهای آمینه شده و به ساختار و عملکرد پروتئین‌ها آسیب جدی وارد کرده و منجر به کاهش محتوای پروتئین می‌شود (امینی و حداد، ۱۳۹۲). بر اساس پژوهش حاضر با شدت گرفتن میزان تنش، مقدار کل پروتئین‌های محلول برگ کاهش یافت که این روند با افزایش فعالیت کاتالاز همراه بود. بنابراین تحت شرایط تنش شدید افزایش چشم‌گیر فعالیت کاتالاز به همراه کاهش معنی‌دار پروتئین در برگ را می‌توان هم به تخریب پروتئین و هم کاهش سنتز آن نسبت داد.

در این تحقیق اسید سالیسیلیک با غلظت ۵۰ میلی‌مولار باعث افزایش محتوای پروتئین در گیاه حنا شد و کاهشی را که در اثر تیمار خشکی ایجاد شده بود را به خوبی جبران کرد. مطابق با نتایج این تحقیق افزایش در محتوای پروتئین گیاهان بادرنجبویه (عابد زاده و پوراکبر، ۱۳۹۲) و رازیانه (سالارپور غربا و فرحبخش، ۱۳۹۳) در اثر کاربرد اسید سالیسیلیک گزارش شده است. مجد و همکاران (۱۳۸۵) گزارش نمودند

آسکوربات گلوکاتینون از بین می‌رود، اما در غلظت‌های پایین می‌تواند نقش پیام را در فرآیندهای انتقال پیام بازی کند و ژن‌های وابسته به مقاومت را در گیاه، فعال کند (Unyayar *et al.*, 2005). القاء فعالیت کاتالاز باعث غلبه بر تنش اکسیداتیو از طریق سم-زدایی پراکسید هیدروژن شده و از تولید رادیکال هیدروکسیل جلوگیری و پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و چربی‌ها را در برابر ترکیبات ROS محافظت می‌کند (Rastgoo and Alemzadeh, 2011).

آنزیم پلی‌فنل اکسیداز یکی از آنزیم‌های مهم در سیستم دفاعی گیاه می‌باشد که در دفاع علیه تنش‌های زنده و تنش‌های محیطی نقش دارد. این آنزیم یک آنزیم حاوی مس می‌باشد که هیدروکسیلاسیون اورتودی هیدروکسی فنل‌ها را به اورتودی فنل‌ها و واکسیداسیون اورتودی فنل‌ها را به اورتوکینون‌ها با مصرف اکسیژن مولکولی کاتالیز می‌کند. تغییر فعالیت این آنزیم در هنگام تنش‌های محیطی بر مقدار ترکیبات فنلی در سلول تاثیر می‌گذارد (Fazeli *et al.*, 2007; Saiedian *et al.*, 2007).

در این مطالعه پیش تیمار اسید سالیسیلیک توانست منجر به افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شود ولی بر فعالیت آنزیم پلی-فنول اکسیداز تاثیر معنی‌داری نداشت. بنابراین کاربرد اسید سالیسیلیک قبل از مواجهه با تنش خشکی با فعال‌تر کردن فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاتالاز موجب افزایش مقاومت گیاه حنا به تنش اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی شده است. مطابق با نتایج این تحقیق افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در اثر کاربرد اسید سالیسیلیک در گیاهان سیاهدانه (احمدپور دهکردی و بلوچی، ۱۳۹۱)، قره داغ (بیان و همکاران، ۱۳۹۲) و زردچوبه (زمانی و همکاران، ۱۳۹۱) گزارش شده است.

تحت تنش خشکی که مقدار جذب CO_2 به علت منع باز شدن روزنه‌ها کاهش می‌یابد، انرژی داخلی افزایش یافته، ظرفیت انتقال الکترون فوتوستنز به طرف تجمع می‌رود و به دنبال آن افزایش غلظت ROS را خواهیم داشت که این باعث پراکسیداسیون لیپیدها، تخریب پروتئین‌ها و اکسیداسیون DNA می‌شود، در همین‌جاست که آنزیم‌های اکسیداتیو (در این تحقیق کاتالاز و پلی‌فنول اکسیداز) فعال‌تر می‌شوند.

کاتالاز یک آنزیم پاکسازی کننده پراکسید هیدروژن است، در نتیجه با افزایش فعالیت این آنزیم پراکسید هیدروژن از طریق شکستن آن به آب و اکسیژن، حذف می‌شود. اگر چه پراکسید هیدروژن در غلظت‌های بالا سمی است و بوسیله آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در چرخه آنتی‌اکسیدانی

که غلظت ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک موجب کاهش معنی‌دار پروتئین‌های محلول دانه نخود در رقم هاشم شد. آنها با بررسی اثر غلظت‌های ۰، ۰/۱، ۰/۷ و ۱/۵ میلی‌مولار چنین نتیجه گرفتند که کاربرد غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۷ میلی‌مولار در مقایسه با شاهد تاثیر معنی‌داری بر مقدار پروتئین نداشتند در حالی که کاربرد بالاترین غلظت (۱/۵ میلی‌مولار) تاثیر منفی بر مقدار این صفت داشت.

اسید سالیسیلیک بر تشکیل پروتئین‌های دفاعی، پروتئین کینازها و روبیسکو اثر گذاشته و همچنین سنتز پروتئین‌های مهارکننده پروتئازها را القا می‌کند (Horvath *et al.*, 2007). گزارش شده است که کاربرد اسید سالیسیلیک منجر به القای بیان ژن‌های پروتئین‌های عامل مقاومت می‌شود (Senaratna *et al.*, 2000). همچنین گزارش شده است که اسید سالیسیلیک با افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و توان آنتی‌اکسیدانی از اکسیداسیون پروتئین‌ها جلوگیری می‌کند (Eraslan *et al.*, 2008).

در این تحقیق فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پلی‌فنول اکسیداز در پاسخ به تنش خشکی افزایش یافت. مطابق با نتایج این تحقیق افزایش در فعالیت این آنتی‌اکسیدان‌ها در شرایط تنش خشکی در گیاهان سیاهدانه (احمدپور دهکردی و بلوچی، ۱۳۹۱)، قره داغ (بیان و همکاران، ۱۳۹۲) و زردچوبه (زمانی و همکاران، ۱۳۹۱) گزارش شده است.

تحت تنش خشکی که مقدار جذب CO_2 به علت منع باز شدن روزنه‌ها کاهش می‌یابد، انرژی داخلی افزایش یافته، ظرفیت انتقال الکترون فوتوستنز به طرف تجمع می‌رود و به دنبال آن افزایش غلظت ROS را خواهیم داشت که این باعث پراکسیداسیون لیپیدها، تخریب پروتئین‌ها و اکسیداسیون DNA می‌شود، در همین‌جاست که آنزیم‌های اکسیداتیو (در این تحقیق کاتالاز و پلی‌فنول اکسیداز) فعال‌تر می‌شوند.

کاتالاز یک آنزیم پاکسازی کننده پراکسید هیدروژن است، در نتیجه با افزایش فعالیت این آنزیم پراکسید هیدروژن از طریق شکستن آن به آب و اکسیژن، حذف می‌شود. اگر چه پراکسید هیدروژن در غلظت‌های بالا سمی است و بوسیله آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در چرخه آنتی‌اکسیدانی

طرف دیگر با کاربرد این ماده فعالیت آنزیم رویسکو افزایش می‌یابد (Popova et al., 1997). رضایی چیانه و پیرزاد (۱۳۹۳) بیان نمودند احتمالاً استفاده از اسید سالیسیلیک باعث گسترش سیستم ریشه‌ای، حفظ سلامت آنها، جذب بیشتر آب و مواد غذایی شده و از طریق افزایش فتوسنتز در برگ‌ها، در افزایش عملکرد زیستی نقش داشته است.

نتیجه‌گیری کلی:

براساس نتایج بدست آمده کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و محتوای پروتئین محلول و نیز افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نشان از آثار تنش خشکی و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشد که منجر به آسیب‌های اکسیداتیو و در نهایت کاهش ماده خشک تولیدی می‌گردد. کاربرد اسید سالیسیلیک منجر به بهبود وضعیت برخی شاخص‌های اندازه گیری شده در گیاهان حنای تحت تنش خشکی شد که حاکی از مکانیسم تأثیرگذاری آن در برابر تنش خشکی می‌باشد.

فلغلی (شهریاری و همکاران، ۱۳۹۲) و انیسون (محمدی البرزی و همکاران، ۱۳۹۱) مطابقت دارد. طبیعتاً کمبود آب و به طبع آن کاهش فشار آماس درون سلول و نیز کاهش جذب عناصر غذایی به دلیل افزایش پتانسیل اسمزی خاک، منجر به کاهش اندازه سلول‌ها و رشد برگ‌ها می‌شود. بنابراین با کاهش سطح برگ، میزان جذب نور خورشید و به دنبال آن فتوسنتز گیاه کاهش یافته و این امر منجر به کاهش ماده خشک تولیدی می‌شود.

در این تحقیق مقدار ماده خشک تولیدی به طور معنی‌داری تحت تأثیر اسید سالیسیلیک قرار گرفت. گزارشاتی مبنی بر تأثیر مثبت کاربرد اسید سالیسیلیک بر ماده خشک تولیدی گیاهان شوید (امیدوار و همکاران، ۱۳۹۴)، سیاهدانه (رضایی چیانه و پیرزاد، ۱۳۹۳)، بادرنجبویه (پوراکبر و عابدزاده، ۱۳۹۳)، کنگر فرنگی (تنوری و همکاران، ۱۳۹۳) و گاوزبان (شکاری و همکاران، ۱۳۸۹) توسط سایر محققین ثبت شده است. احتمالاً با کاربرد اسید سالیسیلیک میزان اکسیژن‌های رادیکال در گیاه کاهش و از این رو می‌تواند بر فتوسنتز تأثیر گذار باشد و از

منابع:

- احمدپور دهکردی، س. و بلوچی، ح. (۱۳۹۱) اثر پرایمینگ بذر بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلول گیاهچه سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) تحت تنش شوری و خشکی. تولید گیاهان زراعی ۵: ۶۳-۸۵.
- امیدوار، ن.، دستوری، م. و جعفری، ع. (۱۳۹۴) اثرات تنش خشکی و اسید سالیسیلیک بر برخی صفات مورفولوژیک و عملکرد اسانس شوید (*Anethum graveolens* L.). اکوفیزیولوژی گیاهی ۷: ۲۶-۴۰.
- امینی، ز. و حداد، ر. (۱۳۹۲) نقش رنگیزه‌های فتوسنتزی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مقابل تنش اکسیداتیو، مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی (مجله زیست‌شناسی ایران) ۲۶: ۲۵۱-۲۶۵.
- بیات، ح.، مردانی، ح.، آروبی، ح. و سلاح ورزی، ی. (۱۳۹۰) تأثیر اسید سالیسیلیک بر خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک دانه‌های خیار تحت تنش خشکی. مجله پژوهش‌های تولید گیاهی ۱۸: ۶۳-۷۶.
- بیان، م.، امینی، ف. و عسگری، م. (۱۳۹۲) تأثیر پیش تیمار اسید سالیسیلیک بر تجمع اسمولیت‌های آلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه قره داغ (*Nitraria shoberi* L.) در شرایط تنش خشکی. نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی ۲۰: ۱۷۷-۱۸۸.
- پسندی‌پور، ا.، فرحبخش، ح.، صفاری، م. و کرامت، ب. (۱۳۹۲) اثر اسید سالیسیلیک بر برخی واکنش‌های فیزیولوژیک گیاه سنبله تحت تنش شوری. مجله اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی ۲۶: ۲۱۵-۲۲۸.
- پوراکبر، ل. و عابدزاده، م. (۱۳۹۳) مطالعه اثر میدان مغناطیسی و اسید سالیسیلیک بر گیاه بادرنجبویه (نعناعیان) تحت تنش فرابنفش B. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۱: ۴۰-۵۶.

نورزاد، س.، احمدیان، ا. و مقدم، م. (۱۳۹۴) بررسی میزان پرولین، شاخص کلروفیل، کربوهیدرات و مقدار جذب عناصر غذایی در گیاه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) تحت تاثیر تنش خشکی و تیمار کودی. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران ۱۳: ۱۳۹-۱۳۱.

نورزاد، س.، احمدیان، ا.، مقدم، م. و دانشفر، ا. (۱۳۹۳) اثر تنش خشکی بر عملکرد، اجزای عملکرد و اسانس گیاه دارویی گشنیز تحت تاثیر انواع کود آلی و شیمیایی. به زراعی کشاورزی ۱۶: ۲۸۹-۳۰۲.

- Anandhi, S. and Ramanujam, M .P. (1997) Effect of salicylic acid on black gram (*Vigna mungo*) cultivars. *Indian Journal of Plant Physiology* 2: 138-141.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Brar, G., Kar, S. and Singh, N. T. (1990) Photosynthetic response of wheat to soil water deficits in tropic. *Journal of Agronomy and Crop Science* 164: 343-348.
- Cag, S., Ahir-Oz, G.C., Sarsag, M. and Goren-Saglam, N. (2009) Effect of salicylic acid on pigment, protein content and peroxidase activity in excised sunflower cotyledons. *Pakistanian Journal of Botany* 41: 2297-2303.
- Dhindsa, R. S., Plump-Dhindsa, P. and Thrope, T. A. (1981) Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalaz. *Journal of Experimental Botany* 32: 93-101.
- El-Tayeb, M. A. (2005) Response of barley grain to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulators* 42: 215-224.
- 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 Regulators* 55: 207-219.
- Ericson, M. C. and Alfinito, A. E. (1984) Proteins produced during salt stress in tobacco cell cultures. *Plant Physiology* 74: 506-509.
- Fariduddin, Q., Hayat, S. and Ahmad, A. (2003) Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity and seed yield in *Brassica juncea*. *Photosynthetica* 41: 281-284.
- Fazeli, F., Ghorbani, M. and Niknam, V. (2007) Effects of drought on biomass, protein content, lipid peroxidation and antioxidant enzymes in two sesame cultivars. *Biologia Plantarum* 51: 98-103.
- Feller, U. (2004) Proteolysis. *Plant Cell Death Processes*. Elsevier.
- Chaudhary, G., Goyal, S. and Poonia, P. (2010) *Lawsonia inermis* Linnaeus: A Phytopharmacological Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research* 2: 91-98.
- Hayat, S. and Ahmad, A. (2007) *Salicylic Acid: A Plant Hormone*. Springer. 97-99.
- He, Y. L., Liu, Y. L., Cao, W. X., Huai, M. F., Xu, B. G. and Huang, B. G. (2005) Effects of salicylic acid on heat tolerance associated with antioxidant metabolism in Kentucky bluegrass. *Crop Science* 45: 988-995.
- Horvath, E., Szalai, G. and Janda, T. (2007) Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signalling. *Journal of Plant Growth Regulation* 26: 290-300.
- Janda, T., Szalai, G., Tari, I. and Paldi, E. (1999) Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants. *Planta* 208: 175-180.
- Kar, M. and Mishra, D. (1976) Catalase, peroxidase, polyphenol oxidase activities during rice senescence. *Plant physiology* 57: 315-319.
- Khan, W., Prithviraj, B. and Smith, D. L. (2003) Photosynthetic response of corn and soybean to foliar application of salicylates. *Journal of Plant Physiology* 160: 485-492.
- Korkmaz, A., Uzunlu, M. and Demirkiran, A. R. (2007) Treatment with acetyl salicylic acid protects muskmelon seedlings against drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 29: 503-508.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic bio membranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
- Nemeth, M., Janda, T., Hovarth, E., Paldi, E. and Szali, G. (2002) Exogenous salicylic acid increases polyamine content but may decrease drought tolerance in maize. *Plant Science* 162: 569-574.
- Neocleous, D. and Nasilakakis, M. (2007) Effects of NaCl stress on red raspberry (*Rubus idaeus* L. "Autumn Bliss"). *Scientia Horticulturae* 112: 282-289.
- Pancheva, T. V., Popova, L. P. and Uzunova, A. M. (1996) Effect of salicylic acid on growth and photosynthesis in barley plants. *Journal of Plant Physiology* 149: 57-63.
- Popova, L., Pancheva, T. and Uzunova, A. (1997) Salicylic acid: properties, biosynthesis and physiological role. *Plant Physiology* 23:85-93.

- Rastgoo, L. and Alemzadeh, A. (2011) Biochemical responses of Gouan (*Aeluropus littoralis*) to heavy metals stress. Australian Journal of Crop Science 5: 375-383.
- Roustan, J.P., Lotche, A. and Fallot, J. (1989) Stimulation of *Daucus carota* somatic embryogenesis by inhibitors of ethylene synthesis cobalt and nickel. Plant Cell Reports 8: 182-185.
- Saiedian, S., Keyhani, E. and Keyhani, J. (2007) Polyphenol oxidase activity in dormant saffron (*Crocus sativus L.*) corn. Acta Physiologiae Plantarum 29: 463-471.
- Senaratna, T., Touchell, D., Bunn, E. and Dixon, K. (2000) Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. Plant Growth Regulators 30: 157-161.
- Shi, Q. and Zhu, Z. (2008) Effects of exogenous salicylic acid on manganese toxicity, element contents and antioxidative system in cucumber. Environmental and Experimental Botany 63: 317-326.
- Szepesi, A., Csiszar, J., Bajkan, Sz., Gemes, K., Horvath F., Erdei, L., Deer, A., Simon, L.M. and Tari, I. (2005) Role of salicylic acid pre-treatment on the acclimation of tomato plants to salt- and osmotic stress. Acta Biologica Szegediensis 49: 123-125.
- Tari, I., Simon, L. M., Deer, K. A., Csiszár, J., Bajkan, S., Kis, G. and Szepesi, A. (2004) Influence of salicylic acid on salt stress acclimation of tomato plants: oxidative stress responses and osmotic adaptation. Acta Physiologiae Plantarum 26: 237-244.
- Unyayar, S., Kele, Y. and Cekic, F. O. (2005) The antioxidative response of two tomato species with different drought tolerances as a result of drought and cadmium stress combinations. Plant, Soil and Environment 51: 57-64.

