

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

حسن فرحبخش^{۱*} و امین پسندي پور^۲

^۱ گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ^۲ 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، ۲-۴- بار ایجاد شده توسط پلی اتیلن گلایکول ۱۰۰۰) آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام شد. محتوای رنگیزه‌های فتوستزی، محتوای پروتئین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پلی‌فنول 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 پلی‌فنول 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 مقابل 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 فیزیولوژیک در گیاه حنا، بهبود بخشد.

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

به مناطقی از استان کرمان و سیستان و بلوچستان محدود گشته

مقدمه:

و در این مناطق نیز رو به کاهش می‌باشد. گیاهی چند ساله و *Lawsonia inermis* L. 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 زیستی 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 متاسفانه 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

سازوکار عمل اسید سالیسیلیک در برابر تنش‌ها به نقش آن در تنظیم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات دارای گونه‌های اکسیژن فعال در گیاه بر می‌گردد (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 خشکی سازی اثرات تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی، سرما و گرما در دو گیاه لوبيا و گوجه فرنگی، نشان دادند که به کاربردن اسید سالیسیلیک به صورت خارجی در شرایط تنش، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله سوپر اسید 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 سوپر اسید 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 آسکوربیات 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 روزنامه‌ای 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 خربزه 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 (Hayat and Ahmad, 2007) تیر، لبه‌دار و قهقهه‌ای متمایل به سبز تا قهقهه‌ای 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. گل آذین این گیاه خوش‌های و بزرگ است که دارای تعداد زیادی گل کوچک و معطر می‌باشد. میوه گیاه حنا کپسولی به رنگ قهقهه‌ای 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 قهقهه‌ای 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 تاثیر بر آماس سلولی و در نتیجه باز و بسته شدن روزندها، فرایندهای فتوسنتز، تنفس و تعرق را تحت تاثیر قرار داده و از طرف دیگر با تاثیر بر فرایندهای آنزیمی که به طور مستقیم با پتانسیل آب کنترل می‌شوند، بر رشد گیاه اثر منفی می‌گذارد. گزارش‌های زیادی مبنی بر تاثیر 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 سوپر اسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز افزایش می‌یابد (Hayat and Ahmad, 2007).

عبور از کاغذ صافی، جذب آن با دستگاه اسپکتروفوتومتر -SCO مدل 26 SPUV در طول موج های ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲ 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 سانتی گراد سانتریفیوژ شد. سپس قسمت بالایی محلول به عنوان عصاره آنزیمی جدا و در فریزر با دمای -۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد.

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

روش ساخت معرف بیوره: برای ساخت معرف بیوره ابتدا ۹۵ گرم از کوماسی بریلیانت بلورا در ۲۵ سی سی اتانول درصد به مدت یک ساعت حل نموده و سپس ۱۰۰ میلی لیتر 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.

سنجدش 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 میلی مولار با پی اچ برابر ۷ و آب اکسیژنه ۱۵ میلی مولار 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.

سنجدش 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 می تواند به عنوان یک تنظیم کننده 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 می باشد. بنابراین هدف این مطالعه بررسی سطوح مختلف این ماده بر خصوصیات فیزیولوژیک حنا در شرایط تنش خشکی می باشد.

مواد و روش ها:

این آزمایش در محیط کشت هیدروپونیک در دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان در سال ۱۳۹۱ صورت گرفت. بذرهای حنا (L. *Lowsonia 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 هوگلن德 منتقل شدند. به منظور اطمینان از انتقال سالم گیاهچه های حنا به مدت سه روز در شرایط جدید رشد نموده و سپس اولین فاکتور آزمایش یعنی تیمار اسید سالیسیلیک با غلاظت های صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار به مدت ۴۸ ساعت از طریق جذب ریشه ای اعمال گردید. مجدداً گیاهچه ها به مدت ۲۴ ساعت به محیط کشت محتوی محلول غذایی هوگلن德 انتقال داده شدند. در این مرحله گیاهچه ها در معرض تنش خشکی ایجاد شده توسط محلول پلی اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ (صفرا، ۲-۴-بار) قرار گرفتند. پس از گذشت ۴۸ ساعت مواد گیاهی سریعاً توسط نیتروژن مایع منجمد و به منظور اندازه گیری محتوای رنگیزه های فتوستترزی، فعالیت کاتالاز و پلی فنول اکسیداز در فریزر با دمای -۸۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

سنجدش رنگیزه های فتوستترزی: برای سنجش مقدار کلروفیل و کاروتینوئید از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) استفاده شد. به این صورت که ۰/۱ گرم از برگ های تازه گیاه در هاون چینی حاوی ۱۵ میلی لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شد و پس از

احتمال یک درصد معنی دار شده اند (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 کارتنتوئید برگ نسبت به تیمار شاهد شد که از نظر آماری معنی دار است (جدول ۲). افزایش شدت تنش خشکی محتوای کارتنتوئید برگ را نسبت به تیمار شاهد دچار کاهش معنی داری کرد (جدول ۳). اثر متقابل تنش خشکی در اسید سالیسیلیک در مورد محتوای کارتنتوئید 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 تغیرات 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 میکرومولار اسید سالیسیلیک بود.

تجزیه وارانس داده ها نشان داد که اثر متقابل تنش خشکی در اسید سالیسیلیک بر روی فعالیت آنتی اکسیدان 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 میکرومولار اسید سالیسیلیک تحت تنش خشکی ۴- بار بود.

فعالیت پلی فنول اکسیداز تحت تاثیر کاربرد اسید سالیسیلیک قرار نگرفت در حالی که تنش خشکی توانست منجر به ایجاد پاسخ های معنی داری در فعالیت آن گردد (جدول ۱). نتایج حاصل از اندازه گیری فعالیت پلی فنول 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 گالل ۲۰ میلی مولار و ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی بود. در حضور آنزیم پلی فنول اکسیداز، پیرو گالل موجود در مخلوط واکنش، به پورپورو گالین تبدیل می شود. تغییر در جذب پیرو گالل در ۴۲۰ نانومتر، پس از ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد 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 میانگین ها، نرم افزارهای MSTAT-C و SAS مورد استفاده قرار گرفتند. مقایسه میانگین ها به روش آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ انجام گرفت.

نتایج و بحث:

نتایج حاصل از تجزیه وارانس نشان داد تأثیر 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 غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک بود.

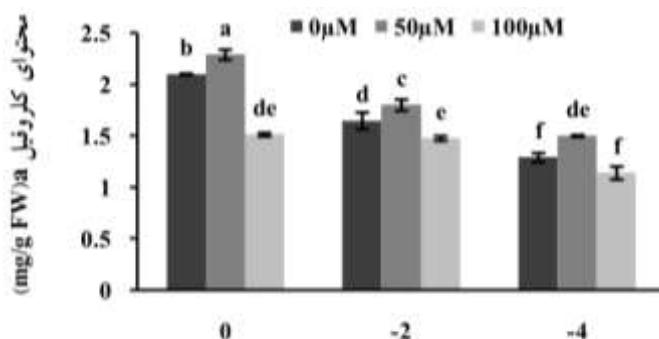
تأثیر اسید سالیسیلیک بر محتوای کلروفیل b در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد (جدول ۱). غلظت ۵۰ میکرومولار این ماده توانست نسبت به تیمار شاهد موجب افزایش معنی دار این پارامتر شود در حالیکه در مورد غلظت ۱۰۰ میکرومولار روند معکوسی مشاهده شد (جدول ۲). همچنین بین سطوح مختلف خشکی اختلاف معنی داری از لحاظ آماری وجود داشت به گونه ای 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 وارانس نشان داد که تمامی اثرات ساده و متقابل مورد بررسی بر محتوای کلروفیل کل در سطح

جدول ۱- میانگین مربuat 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	پروتئین	کاتالاز	فنول اکسیداز	فعایت پلی خشک	ماده
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**	۰/۰۰۰۲ns	۰/۶۵۸**	
اثر متقابل	۴	۰/۰۰۷۸	۰/۰۰۲۰	۰/۰۰۵**	۰/۰۰۱ns	۰/۴۹۴*	۰/۰۱۲۶**	۰/۰۰۰۳۵ns	۰/۰۶۹۲**	
خطای آزمایش	۱۸	۰/۰۰۷۸	۰/۰۰۲۰	۰/۰۱۰۹	۰/۰۰۱	۰/۱۶۵۵	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۳۵	۰/۰۰۴۲	

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



نمودار های مختلف تنش خشکی (بر حسب بار)

شكل 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 می باشد.

جدول ۲- اثر سطوح مختلف سالیسیلیک بر صفات مورد بررسی

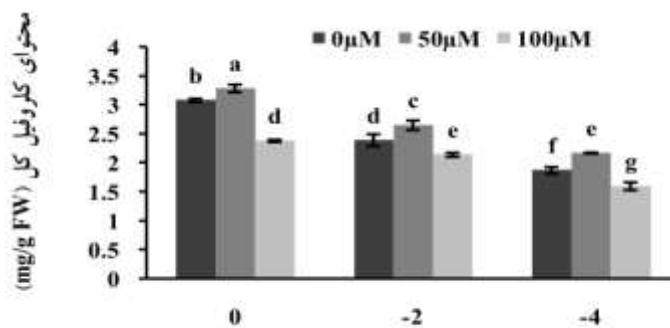
سطح	اسید سالیسیلیک	محتوای کلروفیل b (mg/g FW)	محتوای کارتنوئید (mg/g FW)	فعایت پلی فنول اکسیداز (unit/mg protein)
صفر		۰/۷۷ ^b	۰/۷۳ ^a	۰/۱۰۵ ^a
۵۰ میکرومولار		۰/۸۴ ^a	۰/۷۶ ^a	۰/۰۹۶ ^a
۱۰۰ میکرومولار		۰/۶۶ ^c	۰/۶۱ ^b	۰/۱۰۳ ^a

میانگین های دارای حروف مشترک (a، b و c) براساس 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

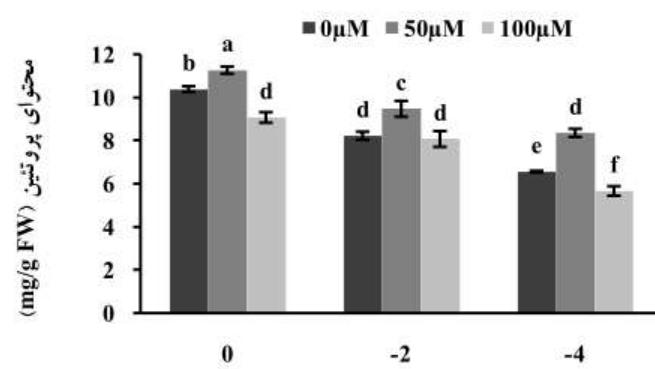
سطح	تنش خشکی	محتوای کلروفیل b (mg/g FW)	محتوای کارتنوئید (mg/g FW)	فعایت پلی فنول اکسیداز (unit/mg protein)
صفر		۰/۹۵ ^a	۰/۸۵ ^a	۰/۰۹ ^b
-بار		۰/۷۵ ^b	۰/۷۱ ^b	۰/۰۸۱ ^b
-۴ بار		۰/۵۷ ^c	۰/۵۴ ^c	۰/۱۳۳ ^a

میانگین های دارای حروف مشترک (a، b و c) براساس آزمون LSD و در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارند.



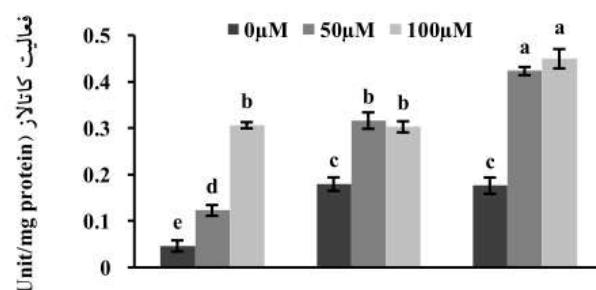
تیمار های مختلف تنش خشکی (بر حسب بار)

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



تیمار های مختلف تنش خشکی (بر حسب بار)

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

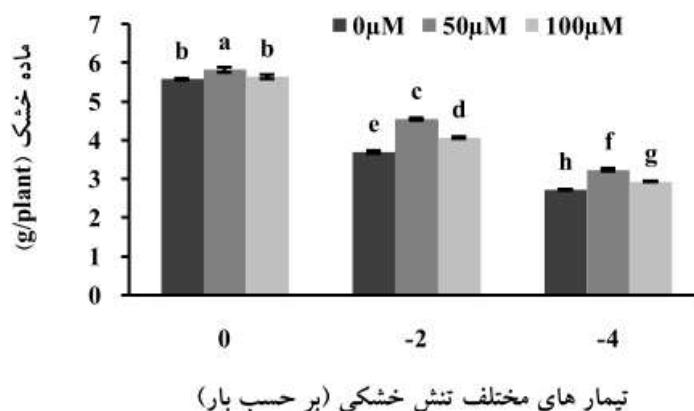


تیمار های مختلف تنش خشکی (بر حسب بار)

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

خشک گیاه حنا در سطح یک درصد معنی دار 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 معنی داری افزایش یافت. اثر متقابل تنش خشکی در اسید سالیسیلیک برای این صفت از لحظه آماری معنی دار نگردید (جدول ۱). تاثیر تمامی اثرات ساده و متقابل مورد بررسی بر تولید ماده



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

کلروفیل و ممانعت از بیوسنتر کلروفیل های جدید و فعال شدن آنزیم های تجزیه کتنده کلروفیل، از جمله کلروفیلаз 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 فتوسترنزی 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 لبیدها شده و موجب حفاظت بیشتر از غشاء های سلولی و فتوسترنزی و رنگیزه های فتوسترنزی و مانع از کاتابولیسم کلروفیل شده است. کاربرد اسید سالیسیلیک در گیاه دارویی بادرنجبویه (پوراکبر و عابدزاده، ۱۳۹۳؛ عابدزاده و پوراکبر، 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 تاثیر غلظت بالای اسید سالیسیلیک بر مقدار کلروفیل، ناشی از تاثیر آن بر ACC ستتاژ و ACC اکسیداز و در نهایت بیوسنتر اتیلن است. اتیلن به عنوان محرك القای فرآیند پیری سبب افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و در نتیجه افزایش تخریب کلروفیل می شود (Roustan et al., 1989). گزارشات متناقضی در مورد تاثیر اسید سالیسیلیک بر مقدار

خشک تولیدی گیاه حنا را تحت تاثیر قرار داده است و بیشترین تاثیر 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 گلایکول 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 نعناء فلفلی گزارش شد که تنش خشکی تاثیر 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 فتوسترنز می شوند. کاهش مقدار رنگیزه های فتوسترنزی در شرایط تنش خشکی می تواند عمدتاً به دلیل تخریب ساختمان کلروپلاست و دستگاه فتوسترنزی، فتواکسیداسیون کلروفیل ها، واکنش آنها با اکسیژن یکتایی، تخریب پیش ماده های ستر

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 فرجبخش، 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 تحريك می‌کند، هر چند روند کلی در جهت کاهش میزان کل پروتئین‌ها می‌باشد (Ericson and Alfinito, 1984). تنش خشکی، بیان ژن‌های کدکننده پروتئازهای درون سلولی را القا می‌کند و سبب تجزیه پروتئین‌ها و تحرک مجدد نیتروژن 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 فرجبخش، ۱۳۹۳) در اثر کاربرد اسید سالیسیلیک گزارش شده است. مجذد و همکاران (۱۳۸۵) گزارش نمودند

رنگیزه‌های فتوستتری نیز وجود دارد. افزایش غلظت اسید سالیسیلیک از صفر به ۲۰۰ میکرومولار منجر به کاهش محتوای کلروفیل و افزایش محتوای کارتوئید 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 برخلاف 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 کارتوئیدها با افزایش شدت تنش خشکی به طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد. مطابق با نتایج این تحقیق کاهش در محتوای کارتوئیدهای گیاهان سیاهدانه (کبیری و همکاران، ۱۳۹۳) و شوید (ستایش مهر و گنجعلی، ۱۳۹۲) در اثر تنش خشکی گزارش شده است. کاهش کارتوئیدها در شرایط تنش خشکی را می‌توان به اکسیژن یکتایی تولید شده در تیلاکوئیدها ربط داد. اکسیژن یکتایی تولید شده در تیلاکوئیدها قابل‌توانی از افزایش اکسیژن را به سه تایی تبدیل کنند و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولید شده نقش آنتی اکسیدانی خود را ایفا نمایند (عباسپور و رضایی، ۱۳۹۳).

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

آسکوربات گلوتاتیون 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 سم‌زدایی پراکسید هیدروژن شده و از تولید رادیکال هیدروکسیل جلوگیری و پرتوئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و چربی‌ها را در می‌کند محافظت ROS برابر (Rastgoo and Alemzadeh, 2011).

آنژیم 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 اورتوكینون‌ها 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 در پاسخ به تنش خشکی افزایش یافت. مطابق با نتایج این تحقیق افزایش در فعالیت این آنتی‌اکسیدان ها در شرایط تنش خشکی در گیاهان سیاهدانه (احمدپور دهکردی و بلوجچی، ۱۳۹۱)، قره داغ (بیان و همکاران، ۱۳۹۲) و زردچوبه (زمانی و همکاران، ۱۳۹۱) گزارش شده است.

نتایج این تحقیق نشان داد که تیمارهای تنش خشکی به طور معنی‌داری منجر به کاهش ماده خشک تولیدی در گیاه حنا شد. نتایج بدست آمده با نتایج بدست آمده بر روی گیاهان نوروزک (دشتی و همکاران، ۱۳۹۴)، شوید (امیدوار و همکاران، ۱۳۹۴)، سیاهدانه (رضائی چیانه و پیروززاد، ۱۳۹۳ و کبیری و همکاران، ۱۳۹۳)، مریم‌گلی لوله‌ای (سودایی زاده و منصوری، ۱۳۹۳)، گشنیز (نورزاد و همکاران، ۱۳۹۳)، نعنا

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

اسید سالیسیلیک بر تشکیل پرتوئین‌های دفاعی، پرتوئین کینازها و روپیسکو اثر گذاشته و همچنین سنتز پرتوئین‌های مهارکننده پرتوئازها را القا می‌کند (Horvath *et al.*, 2007). گزارش شده است که کاربرد اسید سالیسیلیک منجر به القای بیان ژن‌های پرتوئین‌های عامل مقاومت می‌شود (Senaratna *et al.*, 2000). همچنین گزارش شده است که اسید سالیسیلیک با افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و توان آنتی‌اکسیدانی از اکسیداسیون پرتوئین‌ها 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 آنتی‌اکسیدان ها در شرایط تنش خشکی در گیاهان سیاهدانه (احمدپور دهکردی و بلوجچی، ۱۳۹۱)، قره داغ (بیان و همکاران، ۱۳۹۲) و زردچوبه (زمانی و همکاران، ۱۳۹۱) گزارش شده است.

تحت تنش خشکی که مقدار جذب CO₂ به علت منع باز شدن روزنه‌ها کاهش می‌یابد، انرژی داخلی افزایش یافته، ظرفیت انتقال الکترون فتوستز به طرف تجمع می‌رود و به دنبال آن افزایش غلظت ROS را خواهیم داشت که این باعث پراکسیداسیون لیپیدها، تخریب پرتوئین‌ها و اکسیداسیون DNA می‌شود، در همین جاست 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. اگرچه 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 رو بیسکو 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 فتوستتر در برگ‌ها، در افزایش عملکرد زیستی نقش داشته است.

نتیجه‌گیری کلی:

براساس نتایج بدست آمده کاهش میزان رنگیزه‌های فتوستتری و محتوای پروتئین محلول و نیز افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نشان از آثار تنفس 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 تنفس خشکی شد که حاکی از مکانیسم تأثیرگذاری آن در برابر تنفس خشکی می‌باشد.

فلفلی (شهریاری و همکاران، ۱۳۹۲) و انسون (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 فتوستتر 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 (رضائی چیانه و پیرزاد، ۱۳۹۳)، بادرنجبویه (پوراکبر و عابدزاده، ۱۳۹۳)، کنگر فرنگی (تنوری و همکاران، ۱۳۹۳) و گاویزبان (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 فتوستتر 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 تنفس شوری و خشکی. تولید گیاهان زراعی ۵: ۶۳-۸۵.
- امیدوار، ن.، دستوری، م. و جعفری، ع. (۱۳۹۴) اثرات تنفس 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 فتوستتری و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مقابل تنفس اکسیداتیو، مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی (مجله زیست‌شناسی ایران) ۲۶: ۲۵۱-۲۶۵.
- بیات، ح.، مردانی، ح. و سلاح ورزی، ح. (۱۳۹۰) تأثیر اسید سالیسیلیک بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی دانه‌های خیار تحت تنفس 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 تنفس خشکی. نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی ۲۰: ۱۷۷-۱۸۸.
- پسندی‌پور، ا.، فرجبخش، ح.، صفراوی، م. و کرامت، ب. (۱۳۹۲) اثر اسید سالیسیلیک بر برخی واکنش‌های فیزیولوژیک گیاه شنبه‌لیه تحت تنفس شوری. مجله اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی ۲۶: ۲۱۵-۲۲۸.
- پوراکبر، ل. و عابدزاده، م. (۱۳۹۳) مطالعه اثر میدان مغناطیسی و اسید سالیسیلیک بر گیاه بادرنجبویه (نعمانیان) تحت تنفس فرابینش B. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۱: ۴۰-۵۶.

- تئوری، ا. قاسم نژاد، ع. و علیزاده، م. (۱۳۹۳) تاثیر متیل جاسمونات و اسید سالیسیلیک بر صفات موافلولوژیکی و رنگدانه‌های درونی کالوس کنگر فرنگی. به زراعی کشاورزی ۱۶: ۸۵۷-۸۶۹.
- جعفرزاده، ل.، امیدی، ح. و بستانی، ع. (۱۳۹۳) بررسی تنفس خشکی و کود زیستی نیتروژن بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه دارویی همیشه بهار (Calendula officinalis L.). مجله پژوهش‌های گیاه‌شناسی ۲۷: ۱۸۰-۱۹۳.
- دشتی، م.، میرزا، م.، کافی، م. و توکلی، ح. (۱۳۹۴) بررسی تاثیر کمبود آب بر عملکرد و ترکیب‌های انسانس گیاه دارویی نوروزک (Salvia leiriifolia Benth). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۳۱: ۲۶۲-۲۷۴.
- رضایی چیانه، ا. و پیروزداد، ع. (۱۳۹۳) اثر اسید سالیسیلیک بر عملکرد، اجزای عملکرد و انسانس سیاهدانه (Nigella sativa L.) در شرایط تنفس کم آبی. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران ۱۲: ۴۲۷-۴۳۷.
- زمانی، ز.، مستاجران، ا. و اصغری، غ. (۱۳۹۱) اثر تنفس خشکی بر رشد و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در گیاه زردچوبه (Curcuma longa L.). فیزیولوژی محیطی گیاهی ۷: ۳۱-۳۷.
- سالارپور غربا، ف. و فرجبخش، ح. (۱۳۹۳) تاثیر تنفس خشکی و اسید سالیسیلیک بر صفات ظاهری و فیزیولوژیکی گیاه رازیانه. به زراعی کشاورزی ۱۶: ۷۶۵-۷۷۸.
- ستایش مهر، ز. و گنجعلی، ع. (۱۳۹۲) بررسی اثرات تنفس خشکی بر رشد و خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه شوید (Anethum graveolens L.). نشریه علوم باگبانی ۲۷: ۲۷-۳۵.
- سودایی زاده، ح. و منصوری، ف. (۱۳۹۳) اثر تنفس خشکی بر تجمع ماده خشک، غلظت عناصر غذایی و قندهای محلول در گیاه دارویی مریم‌گلی لوله‌ای (Salvia macrosiphon Boiss). خشک بوم ۴: ۱-۹.
- شکاری، ف.، بالجانی، ر.، صبا، ج.، افصحی، ک. و شکاری، ف. (۱۳۸۹) تاثیر پرایمینگ بالاسید سالیسیلیک روی خصوصیات رشدی گیاهچه گاو زبان (Borago officinalis). مجله دانش نوین کشاورزی ۶: ۴۷-۵۳.
- شهریاری، س.، عزیزی، م.، آرویی، ح. و انصاری، ح. (۱۳۹۲) اثر رژیم‌های مختلف آبیاری و انواع خاکپوش بر خصوصیات رویشی و میزان انسانس نعناع فلفلی (Mentha piperita L.). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۹: ۵۶۸-۵۸۲.
- عبدزاده، م. و پوراکبر، ل. (۱۳۹۲) بررسی اثر متقابل تاثیر پرتوهای UV-B و UV-C و اسید سالیسیلیک بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بادرنجبویه (Melissa officinalis L.). فرآیند و کارکرد گیاهی ۲: ۱-۱۵.
- عباسپور، ح. و رضایی، ح. (۱۳۹۳) اثر جیبریلیک اسید بر سرعت واکنش هیل، رنگیزه‌های فتوستترزی و ترکیبات فنلی در گیاه دارویی بادرشبو (Dracocephalum moldavica L.) در شرایط تنفس خشکی. مجله پژوهش‌های گیاه‌شناسی ۲۷: ۸۹۳-۹۰۳.
- عزیزی نیا، ش.، قنادها، م. ر.، زالی، ع.، صمدی، ب. و احمدی، ع. (۱۳۸۴) بررسی و ارزیابی صفات کمی مرتبط با مقاومت به خشکی در ژنوتیپ‌های مصنوعی گندم در دو شرایط آبی و دیم. مجله علوم کشاورزی ۳۶: ۲۸۱-۲۹۲.
- کبیری، ر.، فرجبخش، ح. و نصیبی، ف. (۱۳۹۳) اثر تنفس خشکی بر خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه سیاه دانه (Nigella sativa L.). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۳۰: ۶۰۰-۶۰۹.
- مجد، ا.، ملاح، س. م.، فلاحیان، ف.، صباغ پور، س. ح. و چلبیان، ف. (۱۳۸۵) بررسی مقایسه‌ای اثر اسید سالیسیلیک بر عملکرد، اجزاء عملکرد و مقاومت دو رقم حساس و مقاوم نخود نسبت به قارچ Ascochyta rabiei مجله زیست‌شناسی ایران. ۱۹: ۳۱۴-۳۲۴.
- محمدی البرزی، م.، صفائی خانی، ف.، مسعودسینکی، ج. و عباسزاده، ب. (۱۳۹۱) تاثیر خشکی بر عملکرد و برخی صفات مورفولوژیکی گیاه دارویی آنسیون (Pimpinella anisum L.). مجله اکوفیزیولوژی گیاهی ۴: ۱۴-۲۵.

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 تنفس خشکی و تیمار کودی. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران: ۱۳-۱۳۹.

نورزاد، س.، احمدیان، ا.، مقدم، م. و دانشفر، ا. (۱۳۹۳) اثر تنفس 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. Pakistani 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 Physiologae Plantarum 29: 503-508.

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

Nemeth, M., Janda, T., Horvarth, 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.

