

تأثیر کاربرد اسید سالیسیلیک و سیلیکات پتاسیم بر برخی پاسخ‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گندم (*Triticum aestivum* L.) در شرایط تنش شوری

بهرخ دایی حسنی*، معصومه عابدینی و زهرا شاهین فر

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه پیام نور، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۸/۰۹، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۰۸/۱۷)

چکیده

شوری آب و خاک از عوامل کاهش دهنده رشد و عملکرد بسیاری از محصولات کشاورزی در ایران می‌باشد. بنابراین، ترکیبات زیادی در زمینه کاهش اثرات زیان‌آور این تنش، مورد استفاده قرار گرفته‌اند. این پژوهش به منظور بررسی اثرات اسید سالیسیلیک و سیلیکات پتاسیم بر کاهش اثرات منفی تنش شوری در گندم انجام شده است. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با اضافه کردن ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و ۱۴ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر سیلیکات پتاسیم به محلول غذایی اجرا گردید. کشت گیاهان در شرایط هیدروپونیک، با استفاده از محلول غذایی هوگلند انجام گرفت. نتایج نشان داد که در گیاهان تیمار شده با شوری، وزن تر و خشک، غلظت کلرفیل‌های *a*، *b* و کل، کاروتنوئیدها و پروتئین کل در مقایسه با گیاهان شاهد به طور معنی‌دار کاهش یافت، در حالیکه شوری منجر به افزایش معنی‌دار غلظت قندهای محلول، مالون‌دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن گردید. همچنین، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و پراکسیداز نیز به طور معنی‌دار افزایش یافت. طبق نتایج به دست آمده، کاربرد اسید سالیسیلیک و سیلیکات پتاسیم در شرایط شوری موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و سطح پراکسید هیدروژن شد. با این حال، شاخص‌های رشدی مورد مطالعه، غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی، غلظت قندهای محلول و پروتئین کل با کاربرد ترکیبات ذکر شده در شرایط شوری به طور قابل توجهی افزایش نشان دادند. بررسی مقایسه‌ای پاسخ سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه گندم تحت تنش شوری به کاربرد ترکیبات ذکر شده، تفاوت چندانی بین تیمارها در فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز نشان نداد، با این حال کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه و اندام هوایی و نیز کاهش در فعالیت پراکسیداز اندام هوایی با کاربرد اسید سالیسیلیک در مقایسه با کاربرد سیلیکات پتاسیم مشاهده شد.

کلمات کلیدی: اسید سالیسیلیک، سیستم آنتی‌اکسیدانی، تنش شوری، گندم

مقدمه

(Jaleel *et al.*, 2007). شوری آب و یا خاک منجر به کاهش قابل توجه در تولید محصولات زراعی می‌شود (Cha-umet *et al.*, 2011). کاهش در عملکرد محصولات زراعی به دلیل تحت تأثیر قرار گرفتن پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

رشد و توسعه گیاهان فرآیندهای درونی هستند که تحت تأثیر عوامل محیطی مختلف قرار می‌گیرند، اما گاهی به‌عنوان عوامل تنش‌زا عمل کرده و موجب صدمه و حتی مرگ گیاه می‌شوند

*نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: hasani.bio@gmail.com

گیاهی، مرحله تکوین و غلظت این ترکیب دارد (Rivas-SanVicente and Plasencia, 2011). پیشنهاد شده است که اثرات تحریکی رشد اسید سالیسیلیک می‌تواند در ارتباط با تغییرات هورمونی (Abreu and Munne-Bosch, 2009) و یا بهبود فتوسنتز، تنفس و هدایت روزنه‌ای باشد (Stevens et al., 2006). سیلیکون، عنصر غیرضروری برای رشد گیاه است. با این حال، پژوهش‌های متعددی نشان داده است که کاربرد سیلیسیم به‌طور معنی‌داری رشد گیاه را تحت شرایط نرمال (Agurie et al., 1992) و نیز تحت شرایط تنش‌های زیستی و غیر زیستی افزایش می‌دهد (Romero-Aranda et al., 2006). سیلیکون از طریق بهبود وضعیت آبی (Romero-Aranda et al., 2006)، افزایش فعالیت فتوسنتزی و تغییر در فرا ساختار برگ (Shuang Liu, 2001)، تحریک سیستم آنتی‌اکسیدانی (Dixon et al., 2001) و کاهش تأثیر یونی ویژه (1990 Rafiq, 2003) از طریق کاهش جذب سدیم (Gong, 2003) یا به وسیله افزایش فعالیت پمپ‌های H^+ -ATPase در غشاهای سلولی در ارتباط با پتاسیم اندام هوایی، به کاهش اثرات تنش شوری در گیاهان کمک می‌کند (Kaya et al., 2009). بنابراین، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر کاربرد اسید سالیسیلیک و نیز سیلیکات پتاسیم در جهت بهبود تحمل گندم زراعی به تنش شوری انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

شرایط کشت و نگهداری گیاهان: در این تحقیق از گندم (*Triticum aestivum*) رقم چمران، تهیه شده از مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی استان آذربایجان شرقی استفاده شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای با طول روز ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای 20 ± 2 و رطوبت نسبی ۵۰-۶۰ درصد به‌صورت هیدروپونیک در محلول غذایی هوگلند انجام گرفت. بذرها پس از ضدعفونی و جوانه زنی در کاغذ صافی مرطوب به تشتک‌های پلاستیکی سه لیتری حاوی محلول غذایی نیم غلظت هوگلند منتقل شده و پس از طی دو هفته پیش تیمار،

در طی اعمال تنش شوری می‌باشد. پاسخ گیاهان به شوری وابسته به نوع گیاه، مرحله نحوی آن، شدت و مدت اعمال تنش می‌باشد (Manchanda and Garg, 2008). بسیاری از عملکردهای اصلی گیاهان مانند رشد، فتوسنتز، سنتز پروتئین، متابولیسم لیپیدها، تنفس و تولید انرژی، تحت تأثیر تنش شوری قرار می‌گیرند (Parida and Das, 2005). اختلال در جذب مواد معدنی، مهار رشد ریشه و به‌دنبال آن کاهش جذب آب (Parida and Das, 2005)، همچنین تغییر در نفوذپذیری غشاء (Sairam et al., 2005) از دیگر اثرات مخرب تنش شوری در گیاهان است. تحت تأثیر تنش شوری تولید انواع گونه‌های فعال اکسیژن افزایش می‌یابد (Kholova et al., 2010) و موجب القاء تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شود (Parida and Das, 2005). همچنین القاء درپراکسیداسیون لیپیدها از دیگر اثرات مخرب گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد (Demiral and Turkan, 2005). بنابراین میزان حفظ تمامیت غشاء تحت تأثیر شوری از شاخص‌های مهم تعیین میزان مقاومت و یا حساسیت گونه‌های گیاهی مختلف در برابر شرایط تنش‌زا می‌باشد (Meloni et al., 2007). امروزه استفاده از ترکیباتی که مقاومت گیاهان را به تنش‌های محیطی افزایش داده و موجب بهبود فعالیت‌های متابولیکی گیاه می‌شوند، توصیه می‌گردد. اسید سالیسیلیک، ترکیبی فنولی از گروه تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی است که نقش بسیار مهمی در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه به عهده دارد (Ashraf, 2009). این ترکیب در تنش‌های محیطی نقش محافظتی داشته و موجب بهبود روند رشد در گیاه می‌شود (حیدری و همکاران، ۱۳۸۸). اسید سالیسیلیک ضمن سنتز اتیلن، باعث تعدیل اثرات منفی تنش شوری می‌شود. نقش اسید سالیسیلیک در تخفیف عوارض ناشی از تنش‌ها از طریق تأثیر روی فرایندهای متعدد مانند عملکرد روزنه، مقدار کلروفیل، تعرق، فتوسنتز و ... می‌باشد (Jayakannan et al., 2013). اسید سالیسیلیک به‌عنوان سیگنال داخلی گیاهی باعث افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های شوری، خشکی، سرما و گرما می‌شود (Chakraborty and Tongden, 2005). اثر اسید سالیسیلیک بر رشد گیاهان بستگی به گونه

مدت یک هفته در یخچال قرار گرفت. عصاره‌ی حاصل صاف شد و روی ۰/۵ میلی‌لیتر از آن، ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ در صد و ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ اضافه شد. بعد از نیم ساعت جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه غلظت قندهای محلول با واحد $\text{mg.g}^{-1}.\text{FW}^{-1}$ از منحنی استاندارد گلوکز با غلظت‌های ۵۰-۱۰ میلی‌گرم در لیتر استفاده شد (Dixon *et al.*, 2001).

سنجش میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز (SOD): فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز بر اساس درصد ممانعت از احیاء NBT به ترکیب ارغوانی رنگ دی فورمازان بوسیله رادیکال سوپراکسید (O_2) حاصل از فتولیز ریوفلاوین توسط آنزیم موجود در عصاره مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (Giannopolitis and Ries, 1977). نمونه‌ها بلافاصله پس از برداشت در نیتروژن مایع پودر شده و عصاره آنزیمی در بافر ۲۵ mM HEPES با $\text{pH}=7/8$ و حاوی EDTA با غلظت ۰/۱ mM استخراج شد. عصاره‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در 15000g سانتریفیوژ و روشن‌آور برای سنجش فعالیت مورد استفاده قرار گرفت. ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره به یک میلی‌لیتر از محلول واکنشی شامل ۲۵ mM HEPES با $\text{pH}=7/6$ ، ۱۲ mM EDTA، ۵۰ mM Na_2CO_3 ($\text{pH}=10/2$)، ۱۲ mM L-متیونین، ۷۵ μM NBT و ۱ μM ریوفلاوین اضافه شده و مخلوط حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در شدت نور تقریباً ۸۰۰۰ لوکس به منظور انجام واکنش قرار گرفت. برای تهیه نمونه‌های شاهد مخلوط فوق بدون افزودن عصاره آنزیمی تهیه گردید و جذب نمونه‌ها در ۵۶۰ nm توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیم براساس میزان پروتئین آنزیمی لازم برای القاء ۵۰ درصد ممانعت از احیاء NBT در مقایسه با نمونه‌های شاهد بدون عصاره آنزیمی محاسبه شده و به صورت $\text{unit mg}^{-1} \text{ protein}$ بیان گردید.

سنجش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT): فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس کاهش جذب پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در ۲۴۰ nm مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (Simon *et al.*, 1974). عصاره آنزیمی پس از پودر شدن نمونه‌ها در

دانه رست‌ها به محلول غذایی هوگلند کامل منتقل شدند و بعد از دو هفته، اعمال تیمارها آغاز شد. تیمارهای به‌کار رفته بر روی گیاهچه‌های یک ماهه، شامل نمک کلرید سدیم با غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار بود که به تمام تشتک‌ها به جزء گیاهان شاهد اضافه شد. علاوه بر نمک، یک سوم تشتک‌ها با اسید سالیسیلیک ۱۴ میلی‌گرم در لیتر و یک سوم دیگر با سیلیکات پتاسیم ۱۵ میلی‌گرم در لیتر تیمار شدند. محیط کشت گیاهان شاهد تنها شامل محلول غذایی هوگلند ۱۰۰ درصد بود. بعد از دو هفته اعمال تیمارها در شرایط ذکر شده، نمونه‌های گیاهی برای سنجش شاخص‌های مورد نظر برداشت شدند.

سنجش وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه: وزن تر ریشه و اندام هوایی بعد از جدا کردن از یکدیگر و خشک کردن آنها تعیین شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک اندام هوایی و ریشه، گیاهان را به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده و پس از خشک شدن کامل نمونه‌ها، وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد.

سنجش کلروفیل و کاروتنوئید: برای سنجش مقدار کلروفیل و کاروتنوئید ۰/۲ گرم زبرگ گیاه با ۱۰ سی سی استن ۸۰ درصد در هاون ساییده شد، محتویات به یک لوله آزمایش منتقل شده و پس از ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ در ۴۰۰۰ دور در دقیقه (rpm) در طول موج‌های ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸ و ۴۷۰ نانومتر جذب آنها در مقابل شاهد که حاوی استون ۸۰ درصد است توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (شیمادزو ساخت کشور ژاپن) خوانده شد (Lichtenthaler, 1978).

$$\text{Chla } (\mu\text{g/ml}) = 12/25A_{663/2} - 2/79A_{646/8}$$

$$\text{Chlb } (\mu\text{g/ml}) = 21/5A_{646/8} - 5/1A_{663/2}$$

$$\text{Total Ch} = \text{Cha} + \text{Chb}$$

$$C(x+c) = 100A_{470} - 1/82 \text{ Cha} - 85/02 \text{ Chb} / 198$$

=V حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)، A= جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر و W= وزن تر نمونه بر حسب گرم.

سنجش قندهای محلول: برای اندازه‌گیری مقدار قندهای محلول، ۰/۱ گرم ماده‌ی خشک گیاهی در هاون چینی سائیده شد و روی آن ۱۰ میلی‌لیتر اتانل ۸۰ درصد ریخته شد و به

$155 \text{ cm}^{-1} \cdot \text{mmol}^{-1}$ استفاده از ضریب خاموشی $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{FW}^{-1}$ محاسبه شدند (Heath and Packer 1969).

سنجش میزان پراکسید هیدروژن (H_2O_2): عصاره‌های گیاهی در محلول ۱/۰٪ (w/v) از تری کلرواستیک اسید (TCA) استخراج شده و به مدت ۱۵ دقیقه در 12000 g سانتریفوژ شدند. $0/5$ میلی لیتر از روشناور با $0/5$ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم 10 mM با $\text{pH}=7$ و یک میلی لیتر محلول پتاسیم یدید 1 مولار مخلوط شده و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای 25 درجه سانتی گراد نگهداری شدند. همزمان محلول‌های استاندارد H_2O_2 در محدوده صفر تا 120 میکرومولار تهیه شده و جذب نمونه‌ها در 390 nm توسط اسپکتروفوتومتر اندازه گیری گردید. در نهایت میزان پراکسید هیدروژن بر حسب واحد $\text{g}^{-1} \text{FW} \mu\text{M}$ محاسبه شد (Harinasut et al., 2003).

روش استخراج و اندازه گیری میزان پروتئین کل: عصاره پروتئینی در بافر فسفات سدیم با غلظت 50 mM و $\text{pH}=6/8$ استخراج شده و به مدت ۲۰ دقیقه در 15000 g سانتریفوژ شد. از روشناور حاصل برای سنجش پروتئین کل به روش برادفورد (Bradford, 1976) استفاده شد. برای تهیه معرف برادفورد 100 میلی گرم کوماسی برلیانت بلو در 50 میلی لیتر اتانل 96 حل شده و به آن 100 میلی لیتر اسید فسفریک 85 اضافه شد. حجم محلول با آب دو بار تقطیر به یک لیتر رسانده شد و پس از صاف کردن با کاغذ صافی در دمای یخچال نگهداری شد. برای سنجش پروتئین کل 100 میکرولیتر از عصاره با 150 میکرولیتر آب دو بار تقطیر و 750 میکرولیتر معرف مخلوط شده و پس از 15 دقیقه جذب آنها در 595 nm اندازه گیری شد. همزمان محلول‌های استاندارد پروتئین با استفاده از سرم آلبومین گاوی در محدوده صفر تا $0/2 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ تهیه شده و در نهایت غلظت پروتئین کل بر حسب واحد $\text{FW} \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ محاسبه گردید.

روش‌های تجزیه آماری: برای تجزیه و تحلیل آماری از برنامه Excel و نرم افزار SPSS 20 استفاده گردید. داده‌ها از نظر آماری با آنالیز واریانس دو طرفه تجزیه و تحلیل شدند و مقایسه میانگین‌های تمام صفات، مورد بررسی با استفاده از

نیتروژن مایع، در بافر فسفات با غلظت 50 mM و $\text{pH}=7$ استخراج شده و به مدت ۱۰ دقیقه در 10000 g سانتریفوژ گردید. برای سنجش فعالیت آنزیم میزان مناسبی از عصاره به محلول واکنش شامل بافر فسفات 50 mM ($\text{pH}=7$) و 10 mM از H_2O_2 افزوده شده و تغییرات جذب به مدت دو دقیقه توسط اسپکتروفوتومتر مورد اندازه گیری قرار گرفت. در نهایت فعالیت آنزیم بر اساس ضریب H_2O_2 ($0/041 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) بر حسب $\mu\text{M} \text{H}_2\text{O}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$ محاسبه گردید.

سنجش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD): در این مطالعه میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اساس تست تبدیل گایاکول به تتراگایاکول اندازه گیری شد (Chance and Maehly, 1955). نمونه‌های مورد مطالعه در نیتروژن مایع پودر شد و عصاره آنزیمی در بافر فسفات پتاسیم با غلظت 10 و $\text{pH}=7$ تهیه و به مدت ۱۰ دقیقه در 10000 g سانتریفوژ گردید. سنجش فعالیت آنزیم در بافر فسفات پتاسیم با غلظت 10 mM حاوی 5 mM H_2O_2 و 4 mM از گایاکول به انجام رسید. واکنش با افزودن عصاره آنزیمی در 25 درجه سانتی گراد آغاز شده و جذب نمونه‌ها به مدت سه دقیقه در طول موج 470 nm توسط اسپکتروفوتومتر اندازه گیری شد. در نهایت فعالیت آنزیم بر اساس ضریب خاموشی تتراگایاکول ($25/5 \text{ cm}^{-1}$ بر حسب واحد $\text{protein min}^{-1} \mu\text{M tetraguaiacol}$) محاسبه شد.

سنجش میزان مالون دی آلدئید (MDA): برای اندازه گیری مالون دی آلدئید $0/2$ گرم بافت گیاهی تر با 2 میلی لیتر محلول تری کلرواستیک اسید $0/1$ استخراج و به مدت 15 دقیقه در 12000 g سانتریفوژ شد، سپس $0/5$ میلی لیتر از محلول رویی با 2 میلی لیتر محلول تری کلرواستیک اسید 20 درصد حاوی 5 درصد تیوباربیتریک اسید مخلوط شده و به مدت 30 دقیقه در حمام آب جوش با دمای 95 درجه سانتی گراد قرار داده شد. بعد از این مدت لوله‌ها را سریع در یخ سرد کرده و جذب آن‌ها را در طول موج 532 نانومتر در مقابل شاهد که به جای عصاره حاوی محلول استخراج است، اندازه گیری کرده و غلظت مالون دی آلدئید نمونه‌ها با واحد

آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

تیمار شوری موجب کاهش معنی دار در مقدار وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه شد ($P \leq 0/05$) (جدول ۱). استفاده از اسید سالیسیلیک و سیلیکات پتاسیم در گیاهان تحت تیمار با شوری موجب افزایش معنی دار وزن تر گیاهان شد. بیشترین مقدار افزایش در وزن تر اندام هوایی مربوط به افزایش القا شده توسط سیلیکات پتاسیم می باشد کاربرد اسید سالیسیلیک و سیلیکات پتاسیم تغییرات معنی داری را در وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاهان نشان نداد.

طبق نتایج بدست آمده، شوری تأثیر منفی بر شاخص های رشد داشت. به نظر می رسد که تغییرات القاء شده در متابولیسم گیاه توسط شوری عامل کاهش رشد گیاه می باشد (Erdal et al., 2011). در این مطالعه، اسید سالیسیلیک و سیلیکات پتاسیم در کاهش اثرات منفی شوری بسیار مؤثر بوده و سبب بهبود رشد گیاهان تحت تیمار شدند. تأثیر مثبت کاربرد اسید سالیسیلیک در کاهش اثرات منفی ناشی از تنش شوری که در این مطالعه مشاهده شد، در طیف وسیعی از گونه های گیاهی در غلظت های پائین ($\geq 100 \mu\text{M}$) و اثرات منفی آن در غلظت های بالاتر ($\leq 1 \text{mM}$) توسط محققین متعدد گزارش شده است (Ashraf et al., 2010, Hayat et al., 2010, Rivas-San Vicente and Plasencia, 2011). اثر اسید سالیسیلیک بر رشد گیاهان بستگی به گونه گیاهی، مرحله تکوین و غلظت اسید سالیسیلیک دارد (Rivas-San Vicente and Plasencia, 2011). به نظر می رسد که تأثیر مثبت اسید سالیسیلیک بر فرایند رشد می تواند در ارتباط با تغییرات هورمونی (Abedini and Daie-Hassani, 2015) و یا بهبود فتوسنتز، تنفس و هدایت روزنه ای باشد (Stevens et al., 2006). افزایش سرعت تقسیم سلولی مشاهده شده در دانه رست های گندم تیمار شده با ۵۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک با افزایش سطح درونزای اکسین همبستگی نشان می دهد (Shakirova et al., 2003). که نشان دهنده نقش واسطه گری اکسین در بروز پاسخ رشدی القاء شده

توسط اسید سالیسیلیک است (Rivas-San Vicente and Plasencia, 2011). گزارشات نشان داده که استفاده از سیلیکات پتاسیم موجب افزایش وزن تر و وزن خشک در گیاه گندم شده است (Moyer et al., 2008). بهبود شاخص های رشدی گیاهان تحت تنش با کاربرد سیلیسیم توسط محققین متعددی گزارش شده است، برای مثال بهبود رشد در گیاه کلزا (Bayat et al., 2012)، برنج (Hwang et al., 2008) و رازیانه (Rahimi et al., 2012) تحت تنش شوری با کاربرد این عنصر مشاهده شده است. تحقیقات نشان داده اند که سیلیسیم باعث افزایش غلظت GA1 و پیش ساز آن GA20 در کولتیوارهای برنج شده است (Hwang et al., 2008). جیبرلین به عنوان یکی از تنظیم کننده های رشد در تقسیم سلولی و افزایش طول سلول ها نقش مهمی دارد.

محتوای کلروفیل و کاروتنوئید: داده های حاصل از سنجش مقدار کلروفیل a، b و کل برگ ها نشان داد که تیمار شوری باعث کاهش در میزان کلروفیل a، b و کل و کاروتنوئیدها شده که این کاهش از نظر آماری در سطح احتمال ۰/۰۵ تفاوت معنی داری با گیاهان شاهد نشان داد. استفاده از اسید سالیسیلیک و سیلیکات پتاسیم در شرایط شور باعث افزایش معنی دار غلظت رنگیزه های ذکر شده در مقایسه با گیاهان شاهد گردید ($P < 0/05$). افزایش غلظت کلروفیل a تحت تأثیر تیمارهای بکار رفته اختلاف معنی داری را نشان نداد (جدول ۲). تأثیر سیلیکات پتاسیم در افزایش غلظت کلروفیل b تحت شرایط شوری بالاتر از اسید سالیسیلیک بود (جدول ۲). کاربرد سیلیکات پتاسیم بیشترین تأثیر را در افزایش میزان کلروفیل در شرایط شور داشت. با این حال کاربرد اسید سالیسیلیک نیز سطح کلروفیل کل را نسبت به شرایط تنشی به طور معنی دار افزایش داد. همچنین با کاربرد اسید سالیسیلیک و سیلیکات پتاسیم میزان کاروتنوئیدها به سطحی بالاتر از سطح گیاهان شاهد رسید، که این افزایش با کاربرد اسید سالیسیلیک بیشتر بود (جدول ۲). شوری سبب تغییرات کمی و کیفی در میزان رنگدانه های گیاهی می گردد که این روند به گیاه مورد مطالعه و میزان

جدول ۱- شاخص‌های مربوط به وزن خشک و تر ریشه و اندام هوایی گیاه گندم رقم چمران رشد یافته تحت شرایط تیماری مختلف.

تیمار	وزن تر اندام هوایی	وزن تر ریشه	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه
	(گرم)			
شاهد	۴/۴۴±۰/۲۸ ^a	۱/۴۷±۰/۴۷ ^a	۰/۳۶±۰/۰۵ ^a	۰/۱۴±۰/۰۳ ^a
شوری	۱/۲۱±۰/۰۷ ^d	۰/۸۳±۰/۱۹ ^c	۰/۱۷±۰/۰۵ ^b	۰/۰۵±۰/۰۱ ^b
شوری+ اسید سالیسیلیک	۱/۹۹±۰/۳۱ ^c	۱/۳۲±۰/۸۲ ^b	۰/۱۵±۰/۰۳ ^b	۰/۰۵±۰/۰۱ ^b
شوری+سیلیکات پتاسیم	۲/۳۱±۰/۱۷ ^b	۱/۲۹±۰/۲۳ ^b	۰/۱۸±۰/۰۵ ^b	۰/۰۶±۰/۰۲ ^b

اختلاف بین مقادیر مربوط به هر شاخص که دارای حروف غیر مشترک است، از لحاظ آماری معنی دار می‌باشد (P < 0.05, n=3).

جدول ۲- شاخصهای مربوط به رنگیزه‌های فتوسنتزی گندم رقم زراعی چمران رشد یافته تحت شرایط تیماری مختلف.

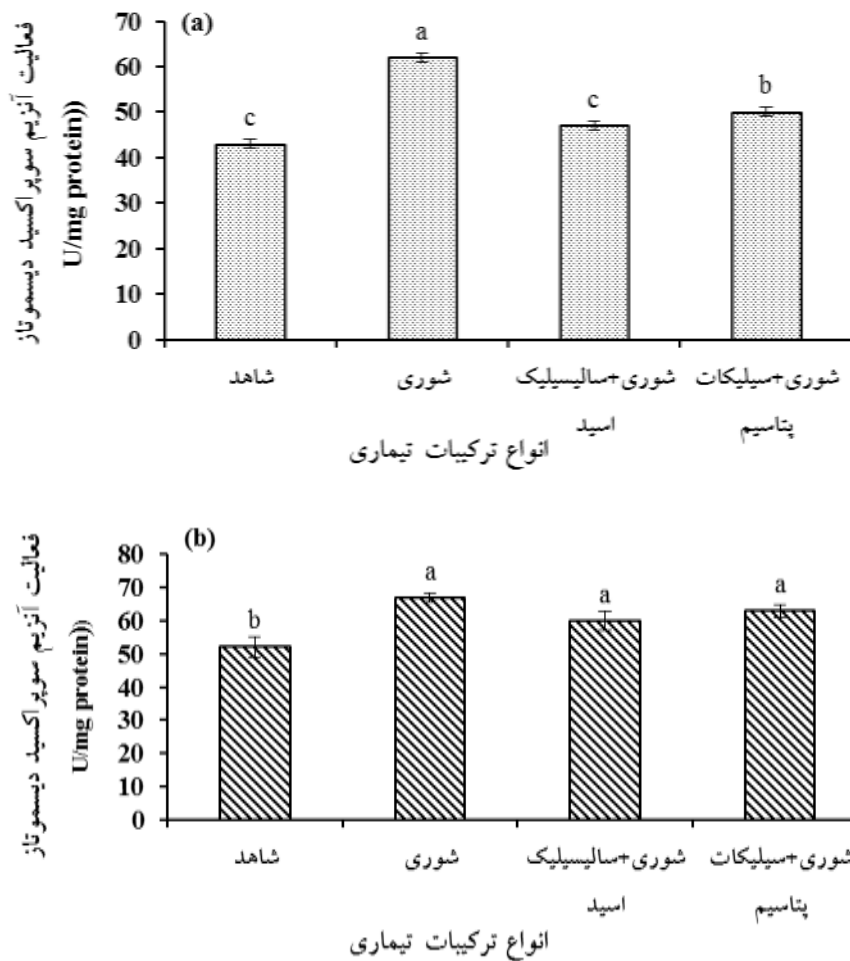
تیمار	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید
	(mg/gFW)			
شاهد	۳/۱۲±۰/۰۶ ^a	۲/۷۳±۰/۰۷ ^a	۵/۸۹±۰/۰۲ ^a	۰/۹۹±۰/۰۸ ^b
شوری	۲/۰۴±۰/۰۷ ^c	۱/۶۰±۰/۰۱ ^c	۳/۶۲±۰/۰۱ ^d	۰/۶۶±۰/۰۷ ^c
شوری+اسیدسالیسیلیک	۲/۵۷±۰/۰۳ ^b	۱/۷۰±۰/۰۱ ^c	۴/۱۳±۰/۰۴ ^c	۱/۸۲±۰/۰۳ ^a
شوری+سیلیکات پتاسیم	۲/۵۴±۰/۰۲ ^b	۱/۹۰±۰/۰۱ ^b	۴/۴۴±۰/۰۱ ^b	۱/۱۵±۰/۰۵ ^b

اختلاف بین مقادیر مربوط به هر شاخص که دارای حروف غیر مشترک است، از لحاظ آماری معنی دار می‌باشد (P < 0.05, n=3).

گیاه جهت حفاظت از سیستم فتوسنتزی بوده و با نتایج به دست آمده در این تحقیق همسو می‌باشد. جلوگیری از کاهش غلظت کلروفیل‌ها، بویژه کلروفیل a و کاروتنوئیدها در شرایط شور یکی از عوامل حفظ نرخ طبیعی فتوسنتز تحت شرایط تنشی می‌باشد (Arfan et al., 2007).

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: نتایج حاصل از سنجش‌ها نشان داد که شوری سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز اندام‌هوایی و ریشه شد (P < 0.05). بررسی تأثیر تیمارهای بکار رفته در شرایط تنشی بر سطح فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز نشان داد که هر دو ترکیب باعث کاهش فعالیت آنزیم در گیاه می‌شوند که این کاهش‌ها تفاوت معنی‌دار با گیاهان تحت تنش داشتند. بررسی مقایسه‌ای تأثیر تیمارهای بکار رفته نشان دهنده تأثیر دو برابری کاربرد اسید سالیسیلیک در مقایسه با کاربرد سیلیکات پتاسیم در کاهش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در مقایسه با شرایط شوری بود. با این حال، بین دو ترکیب بکار برده شده

شوری بستگی دارد. کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط شور در اغلب گیاهان حساس به شوری گزارش شده است (Ashraf and Bhatti, 2000). کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی در تنش شوری می‌تواند به دلیل اثر مهاری ناشی از انباشته شدن یون در کلروپلاست‌ها (Chookhampaeng, 2011)، کاهش پایداری کمپلکس‌های رنگیزه-پروتئین به دلیل حضور یون‌ها و فعال شدن آنزیم کلروفیل‌لاز باشد (Saha et al., 2010). افزایش غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی بعنوان شاخصی از مقاومت به شوری گزارش شده است (Khodary, 2004). که در این مطالعه توسط هر دو ترکیب بکار برده شده مشاهده شد. کاروتنوئیدها بعنوان یکی از ترکیبات مورد نیاز برای مقاومت گیاهان در برابر شوری معرفی شده‌اند (Hernandez et al., 1995). افزایش غلظت کلروفیل و کاروتنوئیدها در گیاهان تحت تنش با کاربرد اسید سالیسیلیک (Arfan et al., 2007) و سیلیکات پتاسیم (Liang et al., 2003) توسط محققین متعددی گزارش شده است که در راستای افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی



شکل ۱- تأثیر تیمارهای مختلف بر فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در نمونه‌های ریشه (a) و برگ (b) گیاه گندم. اختلاف بین مقادیر مربوط به ستون‌هایی که دارای حروف غیر مشترک هستند، از لحاظ آماری نسبت به یکدیگر معنی دار می‌باشند ($P < 0.05$, $n=3$).

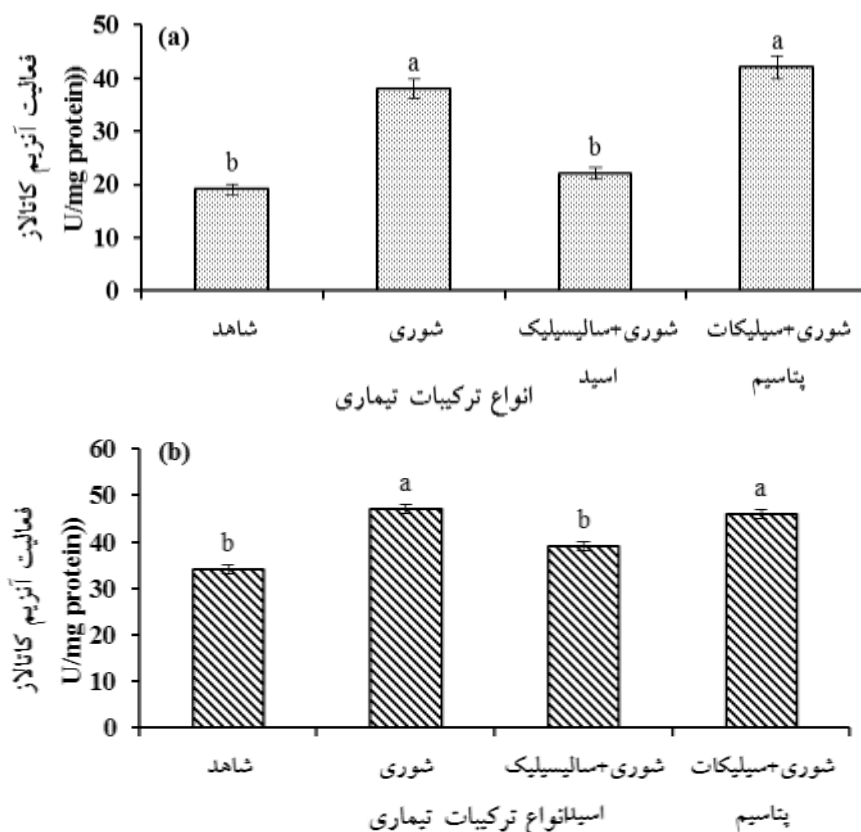
کاهش ۴۲ درصدی فعالیت این آنزیم در مقایسه با شرایط تنش شد (شکل ۲).

فعالیت آنزیم پراکسیداز: شوری سبب افزایش معنی دار فعالیت آنزیم پراکسیداز در اندام‌هوایی و ریشه گندم شد ($P < 0.05$). تأثیر کاربرد اسید سالیسیلیک و سیلیکات پتاسیم در کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز اندام‌هوایی به ترتیب ۷/۷ و ۶۲/۷ درصد در مقایسه با شرایط تنشی بود. در ضمن کاربرد این ترکیبات فعالیت این آنزیم را در ریشه گیاهان در مقایسه با شرایط تنشی تا حدود ۵۰ درصد کاهش داد. (شکل ۳).

آنزیم‌هایی مانند، کاتالاز و پراکسیداز، از آنزیم‌های مهم سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در گیاهان می‌باشند. اگرچه سوپر اکسید دیسموتاز در خط مقدم دفاع علیه گونه‌های فعال

از نظر القاء کاهش تفاوت معنی داری در اندام‌هوایی و ریشه مشاهده نشد (شکل ۱).

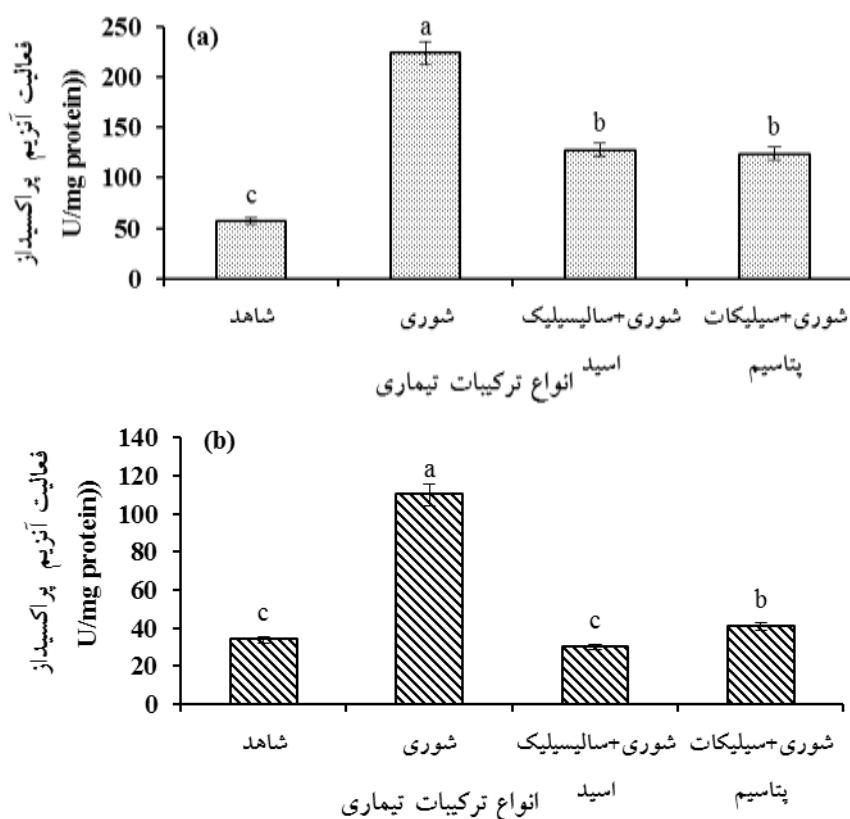
فعالیت آنزیم کاتالاز: شوری سبب افزایش معنی دار فعالیت آنزیم کاتالاز اندام‌هوایی و ریشه گیاهان گندم شد به طوریکه میزان فعالیت این آنزیم در ریشه گیاهان رشد یافته تحت شرایط تنش شوری دقیقاً دو برابر میزان فعالیت آن در گیاهان شاهد شد. استفاده از اسید سالیسیلیک در گیاهان تحت تیمار با شوری موجب کاهش معنی دار فعالیت آنزیم کاتالاز اندام‌هوایی تا سطح گیاهان شاهد شد. کاربرد سیلیکات پتاسیم در کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز اندام‌هوایی در مقایسه با گیاهان رشد یافته تحت تنش شوری تغییرات معنی داری را نشان نداد. در ریشه، صرفاً کاربرد اسید سالیسیلیک موجب



شکل ۲- تأثیر تیمارهای مختلف بر فعالیت آنزیم کاتالاز در نمونه‌های ریشه (a) و برگ (b) گیاه گندم. اختلاف بین مقادیر مربوط به ستون-هایی که دارای حروف غیرمشترک هستند، از لحاظ آماری نسبت به یکدیگر معنی‌داری دارند (P < 0.05, n=3)

تنش اکسیداتیو مقاومت می‌کنند (Turkan and Demiral, 2009). تحقیقات در گیاهانی مانند گندم (Abedini and Daie, 2015), برنج (Chawla et al., 2013) و گوجه‌فرنگی (Mittova et al., 2004) نشان داده است که گیاهان مقاوم دارای سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی کارآمدتری می‌باشند. مطالعات نشان داده است که کاربرد اسید سالیسیلیک می‌تواند تولید گونه‌های فعال اکسیژن را در گیاهان تعدیل کند (Parida et al., 2004). این یافته‌ها نشان دهنده نقش تنظیمی مستقیم و یا غیرمستقیم اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدان بوده و این ترکیب می‌تواند در افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش نقش داشته باشد (Singh and Gautam, 2013). افزایش فعالیت آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدان تحت تأثیر تیمار اسید سالیسیلیک در گیاهانی مانند جو و گوجه‌فرنگی در تنش‌های مختلف محیطی گزارش شده است (Multu et al., 2009). گزارش‌هایی نیز مبنی بر عدم

اکسیژن عمل می‌نماید، اما برخی آنزیم‌ها نظیر کاتالاز و پراکسیداز در حذف محصول که همچنان برای سلول سمی است، نقش مهمی دارند. در این مطالعه افزایش معنی‌دار در فعالیت آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدان در شرایط شور مشاهده شد که با کاربرد اسید سالیسیلیک و سیلیکات پتاسیم فعالیت آنها تعدیل شد. اندازه‌گیری غلظت مالون‌دی‌آلدئید بعنوان فرآورده پراکسیداسیون لیپیدی غشاء و پراکسید هیدروژن نیز افزایش آنها را تحت تنش شوری نشان داد که با کاربرد ترکیبات ذکر شده کاهش معنی‌دار در غلظت هر دوی آنها مشاهده شد. تنش شوری باعث تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) می‌شود که افزایش این رادیکال‌ها با آغاز واکنش‌های زنجیره‌ای می‌تواند منجر به آسیب ماکرومولکول‌هایی مانند پروتئین‌ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک شود (Mc cord, 2000). سلول‌های گیاهی با داشتن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان و افزایش ظرفیت آن در شرایط تنش‌زا تا حد امکان در مقابل

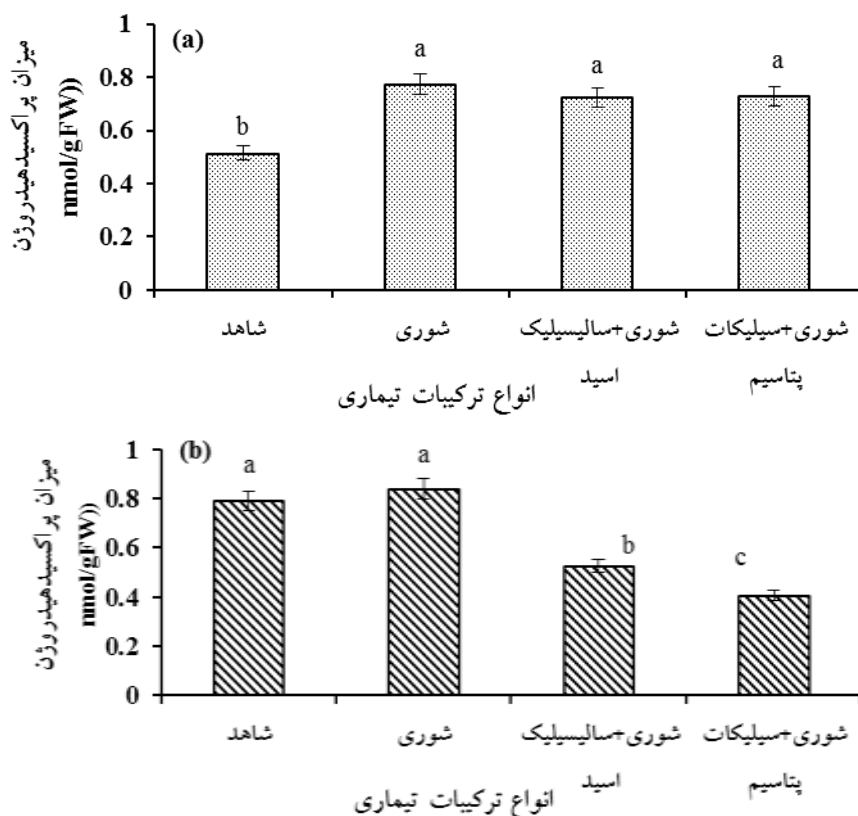


شکل ۳- تأثیر تیمارهای مختلف بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در نمونه‌های ریشه (a) و برگ (b) گیاه گندم. اختلاف بین مقادیر مربوط به ستون‌هایی که دارای حروف غیرمشترک هستند، از لحاظ آماری نسبت به یکدیگر معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$, $n=3$).

تأثیر اسید سالیسیلیک بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با کاهش فعالیت این آنزیم‌ها وجود دارد که با نتایج این تحقیق همسو می‌باشد (Palma *et al.*, 2009). اسید سالیسیلیک به عنوان یک مولکول پیام‌رسان مهم در پاسخ‌های گیاه به تنش‌های متعدد زیستی و غیر زیستی شناخته شده است (Ruan *et al.*, 2002) که با تأثیر بر آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیدازها و تنظیم‌کننده‌های اسمزی مثل پرولین، گلیسین بتائین آثار ناشی از تنش خشکی، فلزات سنگین، گرما، سرما و شوری را کاهش می‌دهد (Larque-Saavedra, 1979). بررسی‌های انجام گرفته در ارتباط با کاربرد سیلیسیم بر سیستم آنتی‌اکسیدانی تعدادی از گیاهان تحت تیمار تنش‌های مختلف نشان داده است که این ترکیب باعث تحریک فعالیت آنزیم‌های SOD، POD، CAT و کاهش غلظت MDA و پراکسید هیدروژن می‌شود (Tale Ahmad and Haddad, 2011). طبق نتایج حاصل از این تحقیق، غلظت MDA و پراکسید هیدروژن در گیاهان گندم تحت تنش شوری

با کاربرد سیلیکات پتاسیم کاهش یافته است. با این حال، فعالیت آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدانی با کاربرد سیلیسیم و اسید سالیسیلیک اگرچه نسبت به گیاهان شاهد افزایش قابل توجه پیدا کردند ولی در مقایسه با گیاهان تحت تنش شوری کاهش نشان دادند که به نظر می‌رسد که کاربرد ترکیبات ذکر شده با مهار تولید رادیکال‌های آزاد موجب تعدیل فعالیت آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدان می‌شوند.

محتوای پراکسید هیدروژن: نتایج حاصل از سنجش پراکسید هیدروژن نشان داد که تیمار شوری باعث افزایش محتوای پراکسید هیدروژن در اندام هوایی و ریشه گیاهان مورد مطالعه شد که این افزایش از نظر آماری در سطح احتمال ۰/۰۵ با گیاهان شاهد تفاوت معنی‌دار نشان داد. استفاده از اسید سالیسیلیک و سیلیکات پتاسیم در اندام هوایی گیاهان تحت تیمار با شوری به ترتیب موجب کاهش ۳۷ و ۵۱ درصدی در میزان پراکسید هیدروژن شد. (شکل ۴).



شکل ۴- تأثیر تیمارهای مختلف بر میزان پراکسید هیدروژن در نمونه‌های ریشه (a) و برگ (b) گیاه گندم. اختلاف بین مقادیر مربوط به ستون‌هایی که دارای حروف غیر مشترک هستند، از لحاظ آماری نسبت به یکدیگر معنی‌داری باشد ($P < 0.05$, $n=3$).

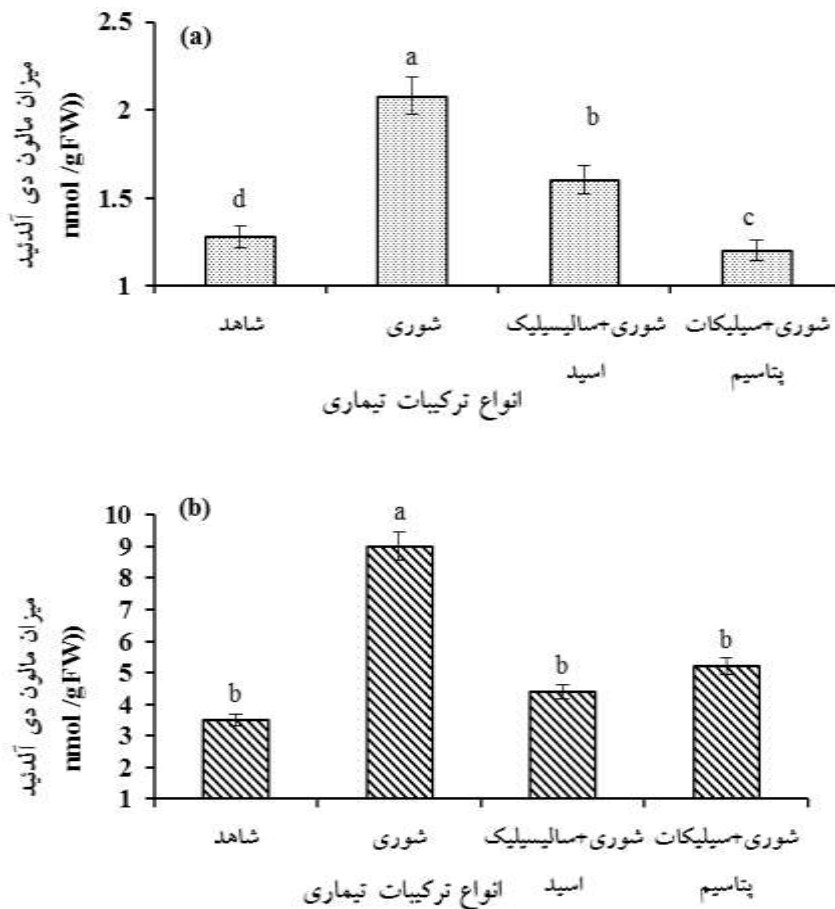
تفاوت معنی‌دار نشان داد (شکل ۶). استفاده از اسید سالیسیلیک و سیلیکات پتاسیم در گیاهان تحت تیمار با شوری موجب افزایش غلظت قندهای محلول شد. تأثیر سیلیکات پتاسیم در افزایش غلظت قندهای محلول در ریشه گیاهان تحت تنش به‌طور معنی‌دار از اسید سالیسیلیک بیشتر بود.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که شوری سبب افزایش معنی‌دار غلظت قندهای محلول شد که با کاربرد سیلیکات پتاسیم و اسید سالیسیلیک غلظت آنها بیشتر شد. نتایج به‌دست آمده از تحقیقات نشان داده است که تنش‌های محیطی بویژه تنش خشکی و شوری باعث افزایش قندهای محلول مانند گلوکز، ساکارز و فروکتوز می‌شوند (Fahad and Bano, 2012). که این قندها بعنوان اسمولیت نقش مهمی در تنظیم اسمزی ایفا می‌کنند. افزایش در قندهای محلول معمولاً با کاهش قندهای نامحلول همراه است که از کاهش بیوستز آنها یا افزایش تجزیه آنها ناشی می‌شود

از این ترکیبات باعث کاهش جزئی محتوای پراکسید هیدروژن شد که تفاوت معنی‌دار با شرایط تنش و همچنین در مقایسه با یکدیگر نداشتند.

محتوای مالون‌دی‌آلدئید: نتایج حاصل از سنجش غلظت مالون‌دی‌آلدئید تیمارها نشان داد که شوری باعث افزایش معنی‌دار در سطح این متابولیت در اندام‌هوایی و ریشه‌های گیاه گندم شد ($P < 0.05$). استفاده از ترکیبات اسید سالیسیلیک و سیلیکات پتاسیم در گیاهان تحت تنش موجب کاهش قابل توجه و معنی‌دار این متابولیت شد. بررسی مقایسه‌ای تأثیر ترکیبات بکار برده شده به‌منظور تخفیف اثرات تنش نشان داد که در اندام‌هوایی اسید سالیسیلیک و در ریشه سیلیکات پتاسیم تأثیر بیشتری داشتند (شکل ۵).

قندهای محلول: تیمار شوری باعث افزایش محتوای قندهای محلول در اندام‌هوایی و ریشه گیاهان شد که این افزایش از نظر آماری در سطح احتمال ۰/۰۵ با گیاهان شاهد



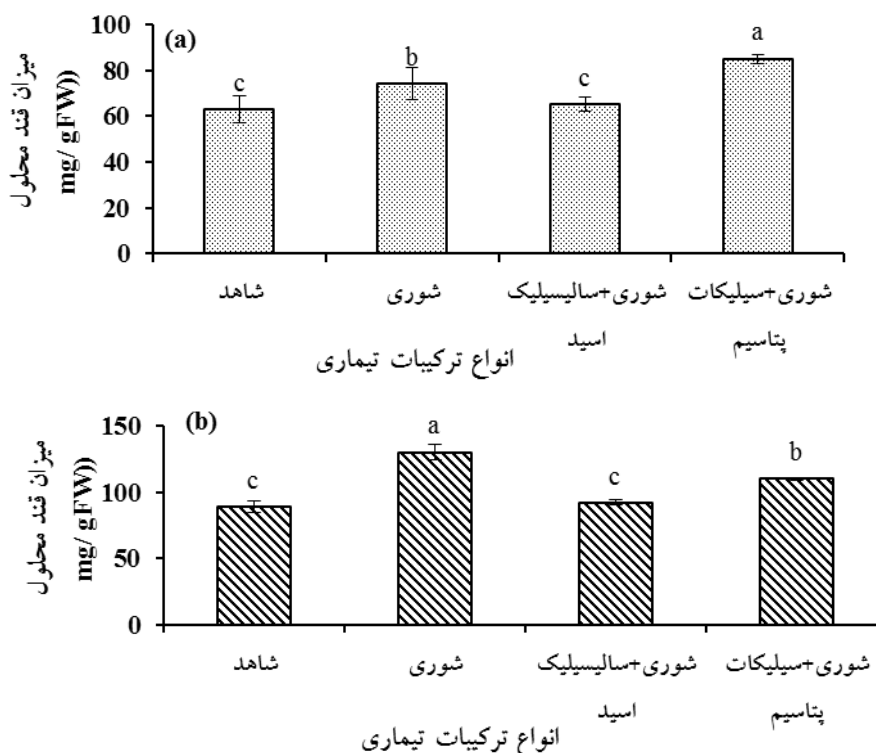
شکل ۵- تأثیر تیمارهای مختلف بر میزان مالون دی آلدئید در نمونه‌های ریشه (a) و برگ (b) گیاه گندم. اختلاف بین مقادیر مربوط به ستون-هایی که دارای حروف غیر مشترک هستند، از لحاظ آماری نسبت به یکدیگر معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$, $n=3$).

گندم شد (شکل ۷). استفاده از اسید سالیسیلیک و سیلیکات پتاسیم در گیاهان تحت تیمار با شوری موجب افزایش معنی‌دار غلظت پروتئین‌های محلول کل نسبت به شرایط تنشی در اندام‌های مورد مطالعه گیاه شد. استفاده از سیلیکات پتاسیم در شرایط شور بیشترین تأثیر مثبت را در بهبود سطح پروتئین‌های کل در اندام‌هوایی و ریشه گیاهان داشت، به طوری که توانست سطح پروتئین‌ها را تا حد گیاهان شاهد بالا ببرد.

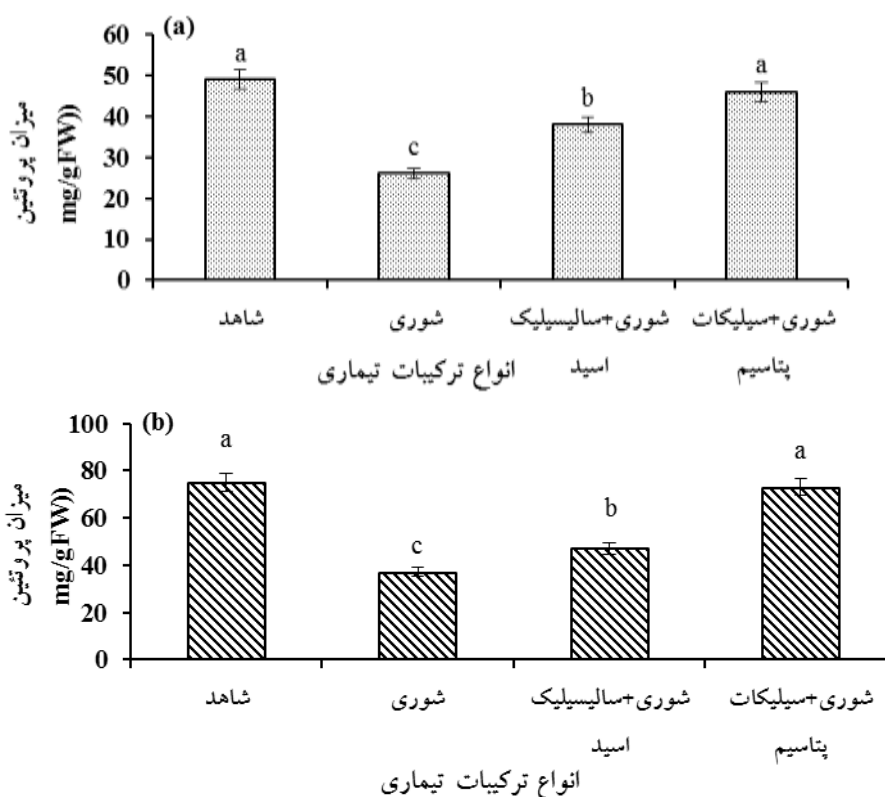
نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که شوری سبب کاهش مقدار پروتئین کل شد، اما کاربرد سیلیکات پتاسیم و اسید سالیسیلیک تا حدودی از کاهش پروتئین جلوگیری کرد. اسید سالیسیلیک و سیلیکات پتاسیم با افزایش آنزیم‌های آنتی اکسیدان و توان آنتی‌اکسیدانی از اکسیداسیون پروتئین‌ها

(Zahra et al., 2010). برای مثال، کاهش در مقدار نشاسته و افزایش در مقدار قندهای احیا کننده و غیر احیا کننده در برگ‌های گیاه *Bruguiera parviflora* در تنش شوری گزارش شده است (Parida et al., 2004). در گوجه‌فرنگی (Karimi et al., 1998)، برنج (Khavarinejad and Ghafarzadeh, 2005)، گندم و جو (Keles and Once, 2004) به دنبال تنش اکسیداتیو مقدار تجمع قندها با تیمار هورمون اسید سالیسیلیک افزایش می‌یابد. افزایش قندها با ایجاد شیب اسمزی در گیاهان، مقاومت گیاه گندم را در برابر از دست دادن آب، محتوای آب برگ و رشد در شرایط تنش افزایش می‌دهند (Tasgin et al., 2003).

محتوای پروتئین‌های محلول کل: تیمار شوری باعث کاهش معنی‌دار غلظت پروتئین‌های اندام‌هوایی و ریشه گیاه



شکل ۶- تأثیر تیمارهای مختلف بر میزان قند محلول در نمونه‌های ریشه (a) و برگ (b) گیاه گندم. اختلاف بین مقادیر مربوط به ستون‌هایی که دارای حروف غیر مشترک هستند، از لحاظ آماری نسبت به یکدیگر معنی‌دار می‌باشند ($p < 0.05$, $n=3$).



شکل ۷- تأثیر تیمارهای مختلف بر میزان پروتئین در نمونه‌های ریشه (a) و برگ (b) گیاه گندم. اختلاف بین مقادیر مربوط به ستون‌هایی که دارای حروف غیر مشترک هستند، از لحاظ آماری نسبت به یکدیگر معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$, $n=3$).

و اسید سالیسیلیک منجر به القای بیان ژن‌های پروتئین‌های عامل مقاومت می‌شود (Dong *et al.*, 2010, Senaratna *et al.*, 2000). به طور کلی، شوری باعث تنش اکسیداتیو گیاه گندم شد و کاربرد اسید سالیسیلیک و سیلیکات پتاسیم، سبب بهبود تنش اکسیداتیو گیاه گندم گردید. هر یک از این مواد از جنبه‌های مختلف در تخفیف آثار شوری نقش ایفا کرده و سبب کاهش اثرات تنش شدند.

جلوگیری می‌کند (Eraslan *et al.*, 2008, Shabala, 2011). اسید سالیسیلیک بر تشکیل پروتئین‌های دفاعی، پروتئین کینازها و روبیسکو اثر گذاشته و همچنین سنتز پروتئین‌های مهار کننده پروتئازها را القا می‌کند (Horvath *et al.*, 2007). کاربرد سیلیکات پتاسیم سبب افزایش مقدار پروتئین کل می‌شود که با نتایج این پژوهش مطابق تدارد (Dong *et al.*, 2010). همچنین گزارش شده است که کاربرد سیلیکات پتاسیم

منابع

- حیدری، م. ف. مصری و کیخا، ز. (۱۳۸۸) بررسی اثر تنش شوری بر متابولیسم اسیدهای توکلئیک، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، فلورسانس کلروفیل و تنظیم کننده‌های اسمزی پنج رقم کلزا، نشریه علوم گیاهان زراعی ایران ۴۱: ۱۹۹-۲۱۲.
- Abedini, M. and Daie-Hassani, B. (2015) Salicylic acid affects wheat cultivars antioxidant system under saline and non-saline condition. *Russian Journal of Plant Physiology* 62: 604-610.
- Abreu, M. E. and Munn_e-Bosch, S (2009) Salicylic acid deficiency in NahG transgenic lines and sid2mutants increases seed yield in the annual plant *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany* 60: 1261-1271.
- Agarie, S., H. Uchida, W. Agata, F. Kubota, and Kaufman, P. B (1992) Physiological role of silicon in photosynthesis and dry matter production in rice plants. *Crop Protection Improvement Technology* 61: 200-206.
- Arfan, M., Athar, H. R and Ashraf, M (2007) Does exogenous application of salicylic acid through the rooting medium modulate growth and photosynthetic capacity in differently adapted spring wheat cultivars under salt stress? *Journal of Plant Physiology* 6: 685-694.
- Ashraf, M. and Bhatti, A. S (2000) Effect of salinity on growth and chlorophyll content in rice. *Pakistan Journal of scientific and. Industrial Research* 43: 130-131.
- Ashraf, M. (2009) Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnology Advances* 27: 84-93
- Ashraf, M., Akram, N. A., Arteca, R. N and Foolad, M. R. (2010) The physiological, biochemical and molecular roles of brassinosteroids and salicylic acid in plant processes and salt tolerance. *Critical Reviews in Plant Sciences Journal* 29: 162-190.
- Bayat, H., Alirezaie, M and Neamati, H (2012) Impact of exogenous salicylic acid on growth and ornamental characteristics of calendula (*Calendula officinalis L.*) under salinity stress. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry* 8:258-267.
- Bradford, M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Chakraborty, U and Tongden, C (2005) Evaluation of heat acclimation and salicylic acid treatments as potent inducers of thermotolerance in *Cicer arietinum L.* *Current Science* 89 :384-389
- Chance, B and Maehly.A. C (1955) Assay of catalases and peroxidase. *Methods in Enzymology* 2: 764-781.
- Cha-um, S., Pokasombat, Y and Kirdmanee, C (2011) Remediation of salt-affected soil by gypsum and farmyard manure – Importance for the production of Jasmine rice. *Australian Journal of Crop Science* 5: 458-465.
- Chawla, S., Jain, S and Jain, V (2013) Salinity induced oxidative stress and antioxidant system in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of rice (*Oryza sativa L.*) *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology* 22:27-34.
- Chookhampaeng, S (2011) The effect of salt stress on growth, chlorophyll content proline content and antioxidative enzymes of pepper (*Capsicum annum L.*) seedling. *European Journal of Scientific Research* 49: 103- 109.
- Demiral, T and Turkan, I (2005) Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environmental and Experimental Botany* 53:247-257.
- Dixon, P., Weinig, C and Schmitt, J. (2001) Susceptibility to UV Damage in *Impatiens capensis (Balsaminaceae)*: testing for opportunity costs to shade-avoidance and population differentiation. *American Journal of Botany* 88: 1401-1408.
- Dong, H., Li, W., Tang, W and Zhang, D. (2010) Furrow seeding with plastic mulching increases stand establishment and lint yield of cotton in a saline field. *Agronomy Journal* 100: 1640-1646.
- Eraslan, F., Inal, A., David, J and Gunes, A. P. (2008) Interactive effects of salicylic acid and silicon on oxidative damage and antioxidant activity in spinach (*Spinacia oleracea L.cv*). *Matadorgrown under boron toxicity and salinity .Plant Growth Regulation* 55: 207-219.

- Erdal, S., Aydın, M., Genişel, M., Taspınar, M. S., Dumlupınar, R., Kaya, O. and Gorçek, Z. (2011) Effects of salicylic acid on wheat salt sensitivity. *African Journal of Biotechnology* 10:5713-5718.
- Fahad, S. and Bano, A. (2012) Effect of salicylic acid on physiological and biochemical characterization of maize grown in saline area. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research*. 44: 1433-1438.
- Giannopolitis, C. N. and Ries, S. K. (1977) Superoxide dismutase: occurrence in higher plants. *Plant Physiology* 59: 309-314.
- Gong, H. J., Chen, K. M., Chen, G. C., Wang, S. M and Zhang, C. L. (2003) Effect of silicon on growth of wheat under drought. *Journal of Plant Nutrition* 26: 1055-1063.
- Harinasut, P., Poonsopa, D., Roengmongkol, K. and Charoensataporn, R. (2003) Salinity effects on antioxidant enzymes in mulberry cultivar. *Science Asia* 29: 109-113.
- S. Hayat., Heath, R. L and Packer, L (1969) Photoperoxidation in isolated chloroplast .I .Kinetics and Stoichiometry of fatty acid peroxidation .*Archives of Biochemistry and Biophysics* 125:189-198
- Hayat, S. S., Hasan, A. Mori, M., Fariduddin, Q. and Ahmad, A. (2010) Nitric oxide: Chemistry, biosynthesis, and physiological role. In: *Nitric Oxide in Plant Physiology* (eds. Hayat, S. Mori, M. Pichtel, J. and Ahmad, A. WILEY-VCH Verlag Gm.bH. and KGa, Co. Weinheim, A.)
- Hernandez, J. A., Olmos, E., Corpas, F. J., Sevilla, F. and Del Rio, L. A. (1995) Salt-induced oxidative stress in chloroplasts of *Pea* plants. *Plant Science* 105: 151-167.
- Horvath, E., Szalai, G. and Janda, T. (2007) Induction of Abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling . *Plant Growth Regulation* 26: 290-300.
- Hwang, S. J., Hamayun, M., Kim, H. Y., Na, C. I., Kim, K. U., Shin, D. H., Kim, S. Y and Lee, I. J. (2008) Effect of nitrogen and silicon nutrition on bioactive gibberellin and growth of rice under field conditions. *Journal of Crop Science and Biotechnology* 10: 281-286.
- Jayakannan, M., Bose, J., Babourina, O., Rengel, Z and Shabala, S. (2013) Salicylic acid improves salinity tolerance in *Arabidopsis* by restoring membrane potential and preventing salt-induced K^+ loss via a GORK channel. *Journal of Experimental Botany* 64: 2255–2268.
- Jaleel C. A., Gopi, R., Manivannan, P. and Panneerselvam, R. (2007) Antioxidative potentials as a protective mechanism in *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. plants under salinity stress. *Turkish Journal of Botany* 31: 245-251.
- Karimi, G., Ghorbanli, M., Heidari, H., Khavarinejad, R. A. and Assareh, M. H. (2005) The effects of NaCl on growth, water relations, osmolytes and ion content in *Kochia prostrata* .*Biologica Plantarum* 492 :301-304.
- Kaya, C., Tuna, L and Higgs, D. (2006) Effect of silicon on plant growth and mineral nutrition of maize grown under water – stress condition. *Journal of Plant Nutrition* 29:1469-1480.
- Keles, Y and Once, I. (2004) Growth and solute composition in two wheat species experiencing combined influence of stress conditions .*Russian Journal of Plant Physiol.* 51 :203-208.
- Khavarinejad, R. A. and Ghafarzadeh, N. (1998) The effects of NaCl and $CaCl_2$ on photosynthesis and growth of alfalfa plants. *Photosynthetica* 35: 461-466.
- Khodary, S. F. A. (2004) Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt-stressed maize plants. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering* 6: 5-8.
- Kholova, J., Sairam, R. K and Meena, R. C (2010) Osmolytes and metal ions accumulation, oxidative stress and antioxidant enzymes activity as determinants of salinity stress tolerance in maize genotypes. *Acta Physiologiae Plantarum* 32:477–486.
- Larque-Saavedra, A. (1979) Stomatal closure in response to acetalsalicylic acid treatment. *Journal of Plant Physiology* 93: 371-375.
- Liang, YC., Chen, Q., Liu, Q., Zhang, W. H and Ding, R. X. (2003) Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid per oxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Plant Physiology* 160: 1157-1164.
- Lichtenthaler, H. K. (1978) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembrane. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
- Ma, J. F (2004) Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses. *Soil Science and Plant Nutrition* 50: 11–18.
- Manchanda, G. and Garg, N. (2008) Salinity and its effects on the functional biology of legumes. *Acta Physiologiae Plantarum* 30: 595–618.
- Mc cord, Joe, M. (2000) The evolution of free radicals and oxidative stress. *The American Journal of Medicine* 108: 652–659.
- Meloni, D. A., Oliva, M. A., Martinez, C. A and Cambraia, J (2003) Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. *Environmental and Experimental Botany* 49: 69-76.

- Mittova, V., Guy, M., Tal, M. and Volokita, M. (2004) Salinity upregulates the antioxidative system in root mitochondria and peroxisomes of the wild salt-tolerant tomato species *Lycopersicon pennellii*. Journal of Experimental Botany 55:1105–1113.
- Moyer, C., Peres, N. A., Datnoff, L. E., Simonne, E. H and Deng, Z. (2008) Evaluation of silicon for managing powdery mildew on gerbera daisy. Journal of Plant Nutrition 31:2131–44.
- Multu, S., Alici, O. and Nalbantoglu, B. (2009) Effects of salicylic acid and salinity on apoplastic antioxidant enzymes in two wheat cultivars differing in salt tolerance. Biologia Plantarum 53: 344-338.
- Palma, F., Lluch, C., Iribarne, C., Garcia-Garrid, J. and Tejera Garcia, N. (2009) Combined effect of salicylic acid and salinity on some antioxidant activities, oxidative stress and metabolite accumulation in *Phaseolus vulgaris*. Plant Growth Regulation 58 307–316.
- Parida, A. K. and Das, A. B. (2005) Salt tolerance and salinity effect on plants: a review. Ecotoxicol. Ecotoxicology and Environmental Safety 60: 324–349.
- Parida, A. K., Das, A. B. and Mohanty, P. (2004) Defense potentials to NaCl in a mangrove, *Bruguiera parviflora*: differential changes of isoforms of some antioxidative enzymes. Journal of Plant Physiology 161: 531–542.
- Rafiq, M. (1990) Soil resources and soil related problems in Pakistan. In: Soil Physics - Application under Stress Environments (ed. Ahmad, M.) Pp. 127-151. BARD, PARC, Islamabad.
- Rahimi, R., Mohammakhani, A., Roohi, V. and Armand, N. (2012) Effects of salt stress and silicon nutrition on chlorophyll content, yield and yield components in fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). International Journal of Agriculture and Crop Science 4: 1591-1595.
- Reezi, S., Babalar., M. and Kalantari, S. (2009) Silicon alleviates salt stress, decreases malondialdehyde content and affects petal color of salt stressed cut rose (*Rosa xhybrida* L.) Hot Lady. African Journal of Biotechnology 8: 1502-1508.
- Rivas-San Vicente, M. and Plasencia, J. (2011) Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and Development. Journal of Experimental Botany 62:3321-38.
- Romero-Aranda M. R., Jurado, O. and Cuartero, J. (2006) Silicon alleviates the deleterious salt effect on tomato plant growth by improving plant water status. Journal Plant Physiology 163: 847–855.
- Ruan, S., Xue, Q. and Tylkowska, R. (2002) Effects of seed priming on germination and health of rice (*Oryza sativa* L.). Journal Seed Science Technology 30: 451-458.
- Saha, P., Chatterjee, P. and Biswas, A. K. (2010) NaCl pretreatment alleviates salt stress by enhancement of antioxidant defense and osmolyte accumulation in mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek). Indian Journal of Experimental Biology 48: 593-600.
- Sairam R. K., Srivastava, G. C., Agarwal, S. and Meena, R. C. (2005) Differences in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes. Biologia Plantarum 49: 85–91.
- 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 Regulation 30 157–161.
- Shabala, S. (2011) Physiological and cellular aspects of phytotoxicity tolerance in plants: The role of membrane transporters and implications for crop breeding for waterlogging tolerance. New Phytologist 190:289–298.
- Shakirova, F. M., Sakhabutdinova., A. R., Bozrutkova, M. V., Fatkhutdinova, R. A. and Fatkhutdinova, D. R. (2003) Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity .Plant Science 164 :317-322.
- Shu, L. Z. and Liu, Y. H. (2001) Effects of silicon on growth of maize seedlings under salt stress. Agro-environmental Protection 20: 38–40.
- Simon, L. M., Fatrai, Z., Jonas, D. E. and Matkovics, B. (1974) Study of peroxide metabolism enzymes during the development of *Phaseolus vulgaris*. Biochemie und Physiologie der Pflanzen (BPP) 166: 387-392.
- Singh, P. K. and Gautam, S. (2013) Role of salicylic acid on physiological and biochemical mechanism of salinity stress tolerance in plants. Acta Physiologiae Plantarum 35: 2345–2353.
- Stevens, J., Senaratna, T. and Sivasithamparam, K. (2006) Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): associated changes in gas exchange, water relations and membrane stabilisation. Plant Growth Regulation 49: 77–83
- Tale Ahmad, S. and Haddad, R. (2011) Study of silicon effects on antioxidant enzyme activities and osmotic adjustment of wheat under drought stress. Czech Journal Of Genetics and Plant Breeding 47: 17-27.
- Tasgin, E., Atici, Q. and Nalbantoglu, B. (2003) Effects of salicylic acid and cold on freezing tolerance in winter wheat leaves. Plant Growth Regulation 41: 231-236.
- Türkan, I. and Demiral, T. (2009) Recent developments in understanding salinity tolerance . Environmental and Experimental Botany 67: 2-9.
- Zahra, S., Amin, B., Ali, M. V. S., Ali, Y. and Mehdi, Y. (2010) The salicylic acid effect on the tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) sugar, protein and proline contents under salinity stress (NaCl). Journal of Biophysics and Structural Biology 2: 35-41.