

## اثر برگ پاشی با سالیسیلیک اسید بر برخی از ویژگی‌های فیزیولوژیکی ذرت (*Zea mays* L.) در شرایط تنش خشکی

مهدی نقی‌زاده<sup>۱</sup>، رزینا کبیری<sup>۲</sup>

۱. استادیار، دانشکده کشاورزی بخش زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه شهید باهنر کرمان.

۲. دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشگاه ایلام.

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۱/۱۵؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۳/۱۷

### چکیده

این آزمایش به منظور بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ذرت، رقم هیبرید سینگل کراس ۷۰۴، به برگ پاشی سالیسیلیک اسید در شرایط تنش خشکی، به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با شش تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان در سال ۱۳۹۲ انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل سالیسیلیک اسید (۰ و ۱ میلی مولار) و تنش خشکی (۱۰۰، ۷۰ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی) بودند. نتایج نشان داد که اعمال تنش خشکی در هر دو سطح، باعث کاهش معنی‌دار محتوی نسبی آب، کلروفیل a، b و کلروفیل کل، وزن تر بوته، طول ساقه و سطح برگ گردید و این کاهش در تنش ۵۰ درصد ظرفیت زراعی شدیدتر بود. همچنین هر دو سطح تنش و به ویژه تنش ۵۰ درصد ظرفیت زراعی، افزایش معنی‌دار نشت یونی و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز را به همراه داشت. در مقابل، برگ پاشی بوته‌های ذرت در مرحله چهارم برگ‌ها با سالیسیلیک اسید موجب افزایش محتوی نسبی آب، کلروفیل a، b و کلروفیل کل، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، وزن تر بوته و سطح برگ در هر دو شرایط تنش و عدم تنش خشکی گردید که البته تأثیر مثبت سالیسیلیک اسید در شرایط تنش خشکی بیشتر از شرایط عدم تنش بود. افزون بر این، در بالاترین سطح خشکی مصرف سالیسیلیک اسید کاهش ۲۰ درصدی نشت یونی را به همراه داشت. به نظر می‌رسد که برگ پاشی سالیسیلیک اسید از طریق افزایش محتوی نسبی آب و فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و نیز با کاهش نشت یونی برگ، سبب افزایش مقاومت به خشکی در ذرت گردید.

واژه‌های کلیدی: آنزیم آنتی‌اکسیدان، رنگیزه فتوستنزی، محتوی نسبی آب، نشت یونی.

### مقدمه

نماید (Verslues et al., 2006). خشکی یک تنش چندبعدی است که گیاهان را در سطوح مختلف تحت تأثیر قرار می‌دهد و در اکثر فرایندهای رشد گیاه تأثیرگذار است (Blum, 2005). کشور ایران نیز با میانگین نزولات جوی ۲۴۰ میلی‌متر در سال، جزو مناطق خشک و نیمه‌خشک طبقه‌بندی می‌گردد.

کمبود آب با تأثیر بر آماس سلولی و در نتیجه باز و بسته شدن روزنه‌ها، فرایندهای فتوستنزی، تنفس و تعرق را تحت تأثیر قرار داده و از طرف دیگر با تأثیر بر فرایندهای آنزیمی که به طور مستقیم با پتانسیل آب کنترل می‌شوند، بر رشد

گیاهان در طول دوره رشد خود پیوسته توسط عوامل نامساعد محیطی تحت تأثیر قرار می‌گیرند که رشد و نمو گیاهان را محدود می‌کنند. در مناطق خشک و نیمه‌خشک به دلیل کم بودن و توزیع غیریکنواخت بارندگی از سالی به سال دیگر، عملکرد سال‌های متوالی نوسانات فراوانی نشان می‌دهد. همچنین زیاد بودن میزان تبخیر و تعرق، سبب بروز تنش خشکی در طول دوره رشد گیاه در این مناطق می‌گردد (Bartels and Sunkar, 2005). تنش خشکی باعث محدود شدن رشد گیاه و تولید گیاهان زراعی گردیده و کمتر گیاهی است که بتواند به طور کامل از آن اجتناب

سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز موجب افزایش موقت و جزئی در مقدار  $H_2O_2$  گردیده که منجر به القای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول می‌گردد (Hussein et al., 2007). امروزه محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید به‌عنوان یکی از هورمون‌های گیاهی در افزایش تحمل گیاهان به تنش‌هایی همچون خشکی افزایش یافته است (مردانی و همکاران، 2011). در شرایط تنش خشکی و شوری، محلول-پاشی سالیسیلیک اسید در گیاه ذرت، گندم و جو موجب افزایش معنی‌دار عملکرد در مقایسه با شاهد گردید (Khodary, 2004; Li et al., 2007).

ذرت با نام علمی *Zea mays L.* به خانواده Geramine تعلق داشته و توان بالقوه‌ای در تبدیل انرژی نوری به انرژی شیمیایی دارد. ذرت به دلیل قابلیت‌هایی مانند قدرت سازگاری با شرایط اقلیمی گوناگون، مقاومت نسبی به خشکی و عملکرد بالا، در بسیاری از کشورها به‌طور گسترده‌ای کشت می‌شود. در بین غلات، ذرت بیشترین تنوع مصرف را دارا است؛ به این دلیل که ذرت افزون بر مصرف به‌عنوان غذای انسان، به‌عنوان علوفه برای دام، در صنایع تخمیر و تهیه فرآورده‌های صنعتی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. به نظر می‌رسد که در آینده اهمیت ذرت زیادت‌تر شود، زیرا در کشورهای فقیر به‌عنوان غذای اصلی و در کشورهای غنی برای تولید پروتئین حیوانی مورد توجه می‌باشد (Emam, 2011).

نتایج برخی از پژوهش‌ها نشان می‌دهد که تنش خشکی، شاخص سطح برگ و میزان ماده خشک تولیدی را در ذرت کاهش می‌دهد. همچنین کمبود آب در طی دوران گل‌دهی ذرت، عملکرد آن را تا ۹۰ درصد کاهش می‌دهد (Westgate and Boyer, 1985).

با توجه به مطالب ذکر شده هدف از این پژوهش بررسی اثر برگ‌پاشی سالیسیلیک اسید با توجه به مزایایی چون ارزان و دسترس بودن این ماده در پاسخ به تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی در گیاه ذرت بود.

#### مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان، در سال ۱۳۹۲ به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با شش تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل سالیسیلیک اسید [۰ (به‌عنوان شاهد) و ۱ میلی مولار] و تنش خشکی (۱۰۰، ۷۰ و ۵۰

گیاه اثر منفی می‌گذارد (Blum, 2005). گزارش‌های زیادی مبنی بر تأثیر کمبود آب، در رابطه با مختل شدن فرایندهای فیزیولوژیک گیاهان و تغییر در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و نیتروژن و نیز تغییر در ساختمان پروتئین‌ها و فعالیت آنزیم‌ها صورت گرفته است (Turkan et al., 2005).

تنش خشکی باعث برهم خوردن تعادل بین تولید گونه‌های فعال اکسیژن و از بین بردن آن‌ها می‌گردد. همچنین کمبود آب در گیاه باعث بسته شدن روزنه، کاهش غلظت  $CO_2$  در سلول‌های مزوفیل برگ و در نتیجه تجمع NADPH در کلروپلاست می‌گردد. در چنین شرایطی مقدار  $NADP^+$  برای انجام واکنش‌های نوری فتوسنتز کاهش می‌یابد و به دنبال آن  $O_2$  به‌عنوان پذیرنده الکترون عمل کرده و منجر به تولید رادیکال سوپراکسید و سایر گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردد (Xu et al., 2008). گونه‌های فعال اکسیژن بسیار سمی بوده و به مولکول‌های زیستی از جمله پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک، لیپیدها، رنگیزه‌های فتوسنتزی و غشا آسیب وارد کرده و حتی می‌توانند منجر به مرگ سلول گردند (Moller et al., 2007). گیاهان از سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی یا غیر آنزیمی برای مقاومت در برابر تنش اکسیداتیو (ایجادشده توسط خشکی) استفاده می‌نمایند (Kabiri et al., 2014). نتایج تحقیقات نشان‌دهنده افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و گاپاکول پراکسیداز در شرایط تنش خشکی می‌باشد (Sgherri et al., 2000).

سالیسیلیک اسید، به‌عنوان ماده شبه هورمونی، نقش مهمی در تنظیم رشد و نمو گیاهان ایفا می‌کند. بر طبق گزارش‌ها، سالیسیلیک اسید بر مورفولوژی و فیزیولوژی گیاه اثر گذاشته و در تحریک مکانیسم‌های حمایتی افزایش مقاومت در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده نقش دارد (Hayat and Ahmad, 2007). سالیسیلیک اسید یک تنظیم‌کننده رشد بیرونی است که روی جوانه‌زنی بذر، بسته شدن روزنه، جذب و انتقال یون، نفوذپذیری غشا، سرعت رشد و نیز فتوسنتز تأثیر می‌گذارد (Hussein et al., 2007). سالیسیلیک اسید یا اورتو هیدروکسی بنزوئیک اسید به گروهی از ترکیبات فنلی تعلق دارد که به‌عنوان یک مولکول مهم برای تعدیل پاسخ‌های گیاه به تنش‌های محیطی شناخته شده است (EL-Tayeb, 2005). سالیسیلیک اسید با تغییر فعالیت آنزیم‌هایی نظیر

جهت اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ پرچم، تعداد سه برگ از هر گلدان انتخاب و پس از قطع شدن درون کیسه‌های نایلونی قرار گرفت و به‌سرعت به آزمایشگاه منتقل گردید. وزن تر آن‌ها با ترازوی دیجیتال LIBROR مدل ALE-40SM ساخت شرکت Shimatzu با دقت  $0.0001$  اندازه‌گیری و سپس به‌منظور تعیین وزن در حالت تورژانس، به مدت ۲۰ ساعت در آب مقطر قرار گرفته و سپس وزن شدند. در پایان به‌منظور تعیین وزن خشک آن‌ها، برگ‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آن و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. محتوای نسبی آب برگ‌ها با استفاده از فرمول زیر به دست آمد (Hanson and Hitz, 1982) که در آن DW: وزن خشک، FW: وزن تر و TW: وزن اشباع می‌باشد:

$$RWC = \frac{(FW-DW)}{(TW-DW)} \times 100 \quad [۲]$$

اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a و b و کلروفیل کل با استفاده از روش لیچنتالر (Lichtenthaler, 1987) انجام پذیرفت.  $0.2$  گرم از برگ‌های فریز شده انتهای گیاه با ۱۵ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد سائیده شده و پس از صاف کردن جذب آن‌ها با اسپکتروفوتومتر در طول موج‌های  $646.8/643.2$ ،  $643.2/646.8$  و  $646.8/643.2$  نانومتر خوانده شد و غلظت رنگیزه‌ها برحسب میکروگرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

$$chl a = 12.25 A_{663.2} - 2.79 A_{646.8} \quad [۳] \quad (\text{کلروفیل a})$$

$$chl b = 21.21 A_{646.8} - 5.1 A_{663.2} \quad [۴] \quad (\text{کلروفیل b})$$

$$chl T = 7.15 A_{663.2} - 18.71 A_{646.8} \quad [۵] \quad (\text{کلروفیل کل})$$

جهت تهیه عصاره آنزیمی،  $0.5$  گرم از برگ تازه گیاه در ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (pH=۷/۵) که حاوی پلی‌وینیل‌پیرولیدین (PVP) ۱ درصد، اتیلن دی‌آمین تترا استیک اسید (EDTA) میلی مولار و فنیل متان سولفونیل فلورید (PMSF) ۱ میلی مولار بود سائیده شد. تمام مراحل استخراج در یخ انجام گرفت. در مورد عصاره مربوط به فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، به عصاره‌های مربوط اسید آسکوربیک ۱۰ میلی مولار افزوده گردید. سپس عصاره‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دور  $20000 \times g$  و در دمای

درصد ظرفیت زراعی) بودند. بذره‌های ذرت رقم هیبرید ۷۰۴، در گلدان‌های پلاستیکی نمره ۱۰ در عمق ۲cm کاشته شدند. در هر گلدان پنج کیلوگرم مخلوط خاک و خاک‌برگ به نسبت ۱:۴ خاک و خاک‌برگ اضافه شد. بیست روز پس از کاشت و استقرار گیاهچه‌ها، چهار گیاهچه در هر گلدان حفظ و سپس در مرحله چهار برگی تیمارهای سالیسیلیک اسید و خشکی اعمال شدند. برای سهولت زهکشی گلدان‌ها، ته هر گلدان سوراخ شده و مقداری سنگ‌ریزه در آن قرار داده شد. میزان آبیاری بر اساس روش سلول فشاری و تعیین درصد رطوبت وزنی مشخص گردید (Mbah, 2012). برای ایجاد درصدهای مختلف از F.C. (۷۰ و ۵۰ درصد) و اعمال تنش خشکی از توزین مداوم گلدان‌ها و محاسبه مقدار آب موردنیاز تا سطح تیمار مربوطه استفاده شد. گلدان‌های مربوط به تیمار شاهد نیز از زمان کاشت تا انتهای آزمایش تا حد ظرفیت زراعی آبیاری شدند. در مرحله چهار برگی، جهت اعمال پیش تیمار سالیسیلیک اسید، یک هفته قبل از اعمال تنش خشکی بوته‌های ذرت با آب (به‌عنوان شاهد) و سالیسیلیک اسید (با غلظت ۱ میلی مولار) محلول‌پاشی شدند. لازم به ذکر است که جهت اطمینان از جذب شدن سالیسیلیک اسید توسط گیاه، عمل برگ‌پاشی در سه روز متوالی تکرار شد.

در مرحله گلدهی، نمونه‌برداری از برگ‌های بوته‌های ذرت به‌منظور اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی صورت گرفت. به‌منظور اندازه‌گیری نشت یونی برگ‌ها، نمونه‌ها ابتدا با آب مقطر شستشو داده شدند و در لوله‌های درب دار قرار گرفتند و ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن‌ها اضافه گردید و در شرایط دمایی  $25^{\circ}C$  به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر دورانی قرار گرفتند. سپس هدایت الکتریکی محلول ( $C_1$ ) اندازه‌گیری و نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو در دمای  $120^{\circ}C$  قرار گرفتند و مجدداً هدایت الکتریکی آن‌ها ( $C_2$ ) اندازه‌گیری شد. نشت یونی EC (%) بر اساس فرمول زیر محاسبه شد (Lutts et al., 1996) که  $C_1$  هدایت الکتریکی محلول ۲۴ ساعت بعد از قرار گرفتن نمونه‌ها در آب مقطر و  $C_2$  دومین قرائت یعنی ۲۰ دقیقه بعد از قرار گرفتن در اتوکلاو است:

$$EL(\%) = (C_1/C_2) \times 100 \quad [۱]$$

طول موج ۴۷۰ نانومتر انجام گرفت. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=۷)، پراکسید هیدروژن (۳/۰٪) و گایاکل (۱/۰٪) می‌باشد. واکنش با افزودن ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به مخلوط واکنش در ۲۵ درجه سانتی‌گراد آغاز گردید. با استفاده از تغییرات جذب در سه دقیقه در ۴۷۰ نانومتر، ضریب خاموشی تترآگایاکل ( $\text{cm}^{-1}$ ) تشکیل شده محاسبه شد (Plewa et al., 1991). فعالیت آنزیم برحسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل (میلی‌گرم) موجود در ۲۰ میکرولیتر عصاره (به‌دست‌آمده از روش برادفورد (Bradford, 1976)) گزارش شد.

در نهایت، وزن تر بوته، طول ساقه و سطح برگ (با استفاده از دستگاه Leaf Area Meter) بوته‌های ذرت اندازه‌گیری شدند. تجزیه واریانس داده‌های به‌دست‌آمده با نرم‌افزار آماری SAS (ver. 9.1) انجام و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت

### نتایج و بحث

**نشت یونی و محتوای نسبی آب برگ** نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اعمال تنش خشکی اثر معنی‌داری بر صفات نشت یونی و محتوای نسبی آب برگ گیاه ذرت داشت. اثر محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید بر کلیه صفات مذکور نیز معنی‌دار بود ( $P \leq 0.01$ ). اثرات متقابل سالیسیلیک اسید و تنش خشکی نیز در صفات نشت یونی و محتوای نسبی آب برگ ( $P \leq 0.05$ ) معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش نشت یون به فضای خارج سلولی گردید و این افزایش در تنش خشکی ۵۰ درصد ظرفیت زراعی بیشتر بود (شکل ۱A). همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که برگ‌پاشی سالیسیلیک اسید با غلظت ۱ میلی مولار، در شرایط تنش خشکی ۷۰ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی، موجب کاهش ۲۲ درصدی نشت یونی برگ در مقایسه با تیمار شاهد (عدم مصرف سالیسیلیک اسید) گردید (شکل ۱A).

محتوی نسبی آب برگ با افزایش سطح خشکی، رابطه معکوس داشت و هر چه میزان خشکی در محیط ریشه افزایش یافت، درصد آب برگ کاهش معنی‌داری پیدا کرد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که اعمال تنش خشکی ۷۰ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب

۴°C سانتریفیوژ شدند. از محلول شفاف رویی برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده شد.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) (EC1.11.1.1): مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (pH=۷)، آسکوربات ۵/۰ میلی‌مولار،  $\text{H}_2\text{O}_2$  ۰/۱۵ میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. با استفاده از تغییرات جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر، ضریب خاموشی آسکوربات ( $\text{mMol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) و فرمول  $A = \epsilon bc$ ، میزان آسکوربات بر جای مانده پس از ۲ دقیقه انجام واکنش آنزیمی محاسبه شد. یک واحد آنزیمی آسکوربات پراکسیداز مقدار آنزیمی است که یک میلی‌مول آسکوربات را در یک دقیقه اکسید می‌کند (Nakano and Asada, 1981). فعالیت آنزیم برحسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل (میلی‌گرم) موجود در ۵۰ میکرولیتر عصاره (به‌دست‌آمده از روش برادفورد (Bradford, 1976))، گزارش شد.

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) (EC 1.11.1.6): سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از محاسبه کاهش جذب  $\text{H}_2\text{O}_2$  (کاهش مقدار  $\text{H}_2\text{O}_2$  در طول موج ۲۴۰ نانومتر و با روش ولیکووا و همکاران (Velikova et al., 2000)) انجام شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) و پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار می‌باشد. با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به مخلوط ذکر شده، واکنش شروع می‌شود. میزان  $\text{H}_2\text{O}_2$  موجود در مخلوط واکنش پس از ۱ دقیقه با استفاده از ضریب خاموشی ( $\epsilon = 40 \text{ mMol}^{-1} \text{ Cm}^{-1}$ ) و فرمول  $A = \epsilon bc$  محاسبه شد که نشان‌دهنده میزان فعالیت آنزیم کاتالاز می‌باشد. A معادل جذب خوانده شده،  $\epsilon$  ضریب خاموشی، c غلظت  $\text{H}_2\text{O}_2$  و b طول کوت (۱ سانتی‌متر) می‌باشد. فعالیت آنزیم به‌صورت واحد آنزیمی برحسب مقدار پروتئین کل (میلی‌گرم) موجود در ۱۰۰ میکرولیتر عصاره (به‌دست‌آمده از روش برادفورد (Bradford, 1976))، در یک دقیقه محاسبه گردید. یک واحد آنزیمی کاتالاز مقدار آنزیمی است که ۱ میلی‌مول  $\text{H}_2\text{O}_2$  را در یک دقیقه تجزیه می‌کند.

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) (EC1.11.1.7): سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از گایاکل و اندازه‌گیری میزان جذب تترآگایاکل (Tetraquiacol) (حاصل اکسیداسیون گایاکل)، در

موجب کاهش ۳۰ و ۵۱ درصدی محتوی نسبی آب گردید (شکل B ۱). در شرایط عدم تنش خشکی، هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری بین گیاهان تیمار شده با سالیسیلیک اسید و شاهد مشاهده نگردید (شکل B ۱)، به‌طوری‌که کاربرد سالیسیلیک اسید ۱ میلی مولار به ترتیب موجب افزایش ۱۱ و ۲۱ درصدی محتوی نسبی آب در شرایط تنش ۷۰ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی گردید (شکل B ۱).

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه ذرت تحت تنش خشکی.

Table 1. Variance analysis of foliar application of salicylic acid (SA) effect on some physiological parameters of corn under drought stress.

SOV	منابع تغییر	درجه آزادی DF	Mean Squares			میانگین مربعات	
			نشست یونی Electrolyte Leakage	محتوای نسبی آب برگ RWC	ارتفاع بوته Plant height	وزن تر بوته Plant fresh weight	سطح برگ بوته Plant leaf area
Replication	تکرار	5	2.69 <sup>ns</sup>	19.38 <sup>ns</sup>	75.36*	24.36**	11.5*
SA	سالیسیلیک اسید	1	106.8**	368.3**	41.25*	15.39*	99.63*
Drought Stress	تنش خشکی	2	243.2**	178.5*	52.36*	27.54**	95.3*
SA × Drought Stress	سالیسیلیک اسید × تنش خشکی	2	78.39*	165.3*	71.98*	14.36*	106.9*
Error	خطا	30	14.59	36.25	12.6	3.54	26.3
CV (%)	ضریب تغییرات (%)		6.7	11.56	13.15	8.89	14.42

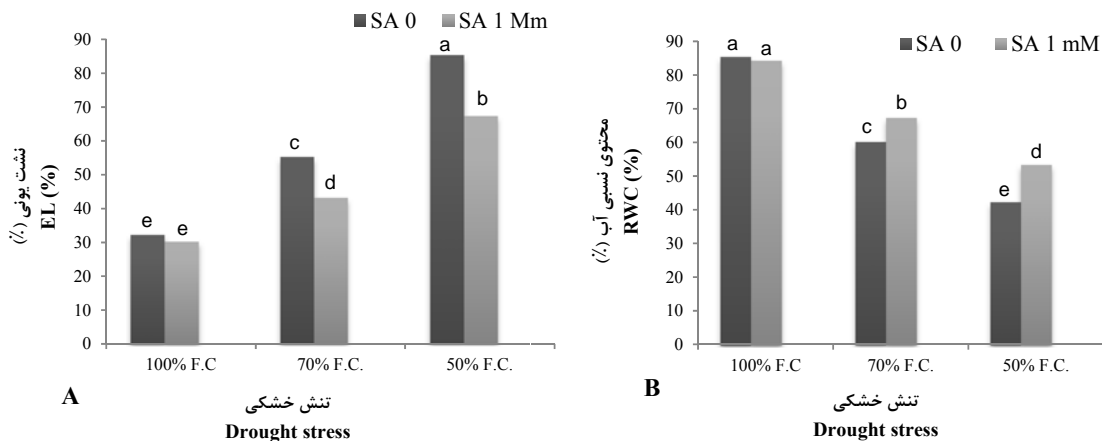
جدول ۱. ادامه.

Table 1. Continued

SOV	منابع تغییر	درجه آزادی DF	Mean Squares			میانگین مربعات		
			کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total Chlorophyll	آسکوربات پراکسیداز APX	کاتالاز CAT	گایاکول پراکسیداز GPX
Replication	تکرار	5	0.002 <sup>ns</sup>	0.0001 <sup>ns</sup>	0.109 <sup>ns</sup>	0.0008 <sup>ns</sup>	3.26 <sup>ns</sup>	17.69 <sup>ns</sup>
SA	سالیسیلیک اسید	1	0.147**	0.018**	1.09**	0.089*	5.89*	61.08**
Drought Stress	تنش خشکی	2	0.098**	0.0096**	0.698*	9.85**	15.32**	101.68**
SA × Drought Stress	سالیسیلیک اسید × تنش خشکی	2	0.523 <sup>ns</sup>	0.085**	0.541*	14.58**	6.36**	54.69**
Error	خطا	30	0.005	0.0008	0.096	0.006	1.26	6.98
CV (%)	ضریب تغییرات (%)		4.36	6.65	8.89	3.26	4.57	5.55

\*, \*\* و <sup>ns</sup> به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪، ۱٪ و بدون اختلاف معنی‌دار.

\*, \*\* and <sup>ns</sup> denote significant differences at 0.05, 0.01% levels, and not significant respectively.



شکل ۱. تأثیر برگ‌پاشی سالیسیلیک اسید بر نشت یونی (A) و محتوی نسبی آب (B) برگ ذرت در شرایط تنش خشکی (حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد است).

**Fig. 1.** Effect of foliar application of salicylic acid on electrolyte leakage (EL) (A) and relative water content (RWC) (B) of maize under drought stress conditions. Means with different letters are significantly based on Duncan test ( $p \leq 0.05$ ).

تنش خشکی موجب تولید یکسری رادیکال‌های آزاد شده که سبب ایجاد خسارت به غشای سلول می‌شوند. این خسارت را می‌توان به‌وسیله نشت یونی سلول اندازه‌گیری کرد. افزایش در نشت یونی در گیاهان تحت شرایط تنش در بسیاری از گونه‌های گیاهی گزارش شده است (Borsani et al., 2001; Gue et al., 2007; Kabiri et al., 2014). تغییراتی که در ساختار غشای سلول در اثر تغییر چربی‌ها و تغییرات دیگر ایجاد می‌شود، سبب افزایش نفوذپذیری غشا نسبت به یون‌ها و ماکرومولکول‌ها می‌گردد. در شرایط تنش، محتویات بیشتری از سلول‌ها در اثر تخریب غشا به بیرون تراوش می‌کنند. افزایش در نشت یونی در گیاه نخود تحت تنش کادمیوم (Popova et al., 2009) و گیاه گندم تحت تنش سرما (Khodary, 2004) گزارش شده است. کاهش تنش اکسیداتیو و آسیب غشایی، همراه با افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی در پاسخ به پیش‌تیمار سالیسیلیک اسید ممکن است مربوط به القای پاسخ-های آنتی‌اکسیدان باشد که سلول‌ها را از آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تنش محافظت می‌نماید. هنگامی که سالیسیلیک اسید در غلظت و زمان مناسب به‌کاربرده می‌شود موجب یک تنش اکسیداتیو موقت و گذرا در سلول-های گیاهی شده که به‌عنوان یک فرآیند مقاوم‌سازی

hardening) عمل می‌نماید و موجب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول می‌گردد (Hayat and Ahmad, 2007; Horvath et al., 2007). نتایج تحقیقات بیانگر آن است که کاربرد سالیسیلیک اسید باعث کاهش نشت یونی در گیاهچه‌های خیار (Mandhanian et al., 2006) و گوجه‌فرنگی (Stevens et al., 2006) گردیده است. اندازه‌گیری محتوی نسبی آب برگ یکی از شاخص‌هایی است که مقاومت گیاه به تنش خشکی را تخمین می‌زند. این آزمایش، درصد آب برگ ذرت در شرایط تنش خشکی کاهش یافت (شکل ۱B). مشابه نتایج پژوهش حاضر، کاهش محتوی نسبی آب در اثر وقوع تنش خشکی در گیاهان جو (Kocheva et al., 2005) و گندم (Lei et al., 2007) نیز گزارش شده است. نتایج پژوهش دیگری نشان داد که تنش خشکی محتوی نسبی آب را در گونه‌های حساس به خشکی لوبیا کاهش داد؛ اما در گونه مقاوم به خشکی محتوی نسبی آب بافت تغییری نکرد (Turkan et al., 2005). یکی از مهم‌ترین اثرات ناشی از تنش خشکی کاهش محتوی نسبی آب برگ می‌باشد. این صفت می‌تواند توانمندی گیاه را در مواجهه با تنش خشکی نشان دهد. ویژگی محتوی نسبی آب نشان‌دهنده‌ی نسبت میزان آب گیاه در شرایط تنش به میزان آب گیاه در حالت آماس

که کاربرد سالیسیلیک اسید در گیاهان ذرت ( Khodary, 2004)، جو (EL-Tayeb, 2005) و گندم (Agarwal et al., 2005) موجب افزایش مقدار کلروفیل گردیده است.

**فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت** و اکسایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و گایاکول پراکسیداز) به اثرات متقابل تنش خشکی و سالیسیلیک اسید ( $P \leq 0.01$ ) معنی‌دار بود (جدول ۱).

همان‌طور که در شکل ۳A مشاهده می‌شود افزایش شدت خشکی تأثیر معنی‌داری برافزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز داشت. پیش‌تیمار سالیسیلیک اسید، میزان فعالیت این آنزیم را در شرایط تنش ۷۰ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب ۳۴ و ۳۰ درصد افزایش داد. اگرچه کاربرد سالیسیلیک اسید در شرایط عدم وجود تنش تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت این آنزیم نداشت (شکل ۳A). داده‌های حاصل از سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد که خشکی ۵۰ درصد ظرفیت زراعی موجب افزایش ۳۷ درصدی میزان فعالیت این آنزیم گردید (شکل ۳B). همچنین تیمار با سالیسیلیک اسید، در شرایط تنش خشکی، موجب افزایش معنی‌دار میزان فعالیت این آنزیم گردید. لازم به ذکر است که برگ‌پاشی با سالیسیلیک اسید در شرایط عدم تنش خشکی، اگرچه افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را به همراه داشت، اما این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (شکل ۳B).

آنزیم پراکسیداز از دیگر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بود که در این مطالعه موردسنجش قرار گرفت. داده‌ها نشان داد که تنش خشکی ۷۰ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی، به ترتیب افزایش ۲۰ و ۵۵ درصدی میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز را به همراه داشت. تیمار با سالیسیلیک اسید در هیچ‌کدام از شرایط شاهد و تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت این آنزیم نداشت (شکل ۳C).

آسکوربات پراکسیداز در فعالیت چرخه آسکوربات-گلوتاتیون و چرخه آب-آب شرکت می‌کند. این چرخه در کلروپلاست‌ها، میتوکندری، پراکسی‌زوم، سیتوسل، واکوئل و آپوپلاست فعالیت می‌کند و در کلروپلاست‌ها برای سم‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن بسیار حائز اهمیت می‌باشد (Turkan et al., 2005). این آنزیم از آسکوربات به‌عنوان عامل احیاکننده استفاده کرده و آب‌اکسیژنه را به آب و اکسیژن تجزیه می‌کند. در کلروپلاست، آنزیم

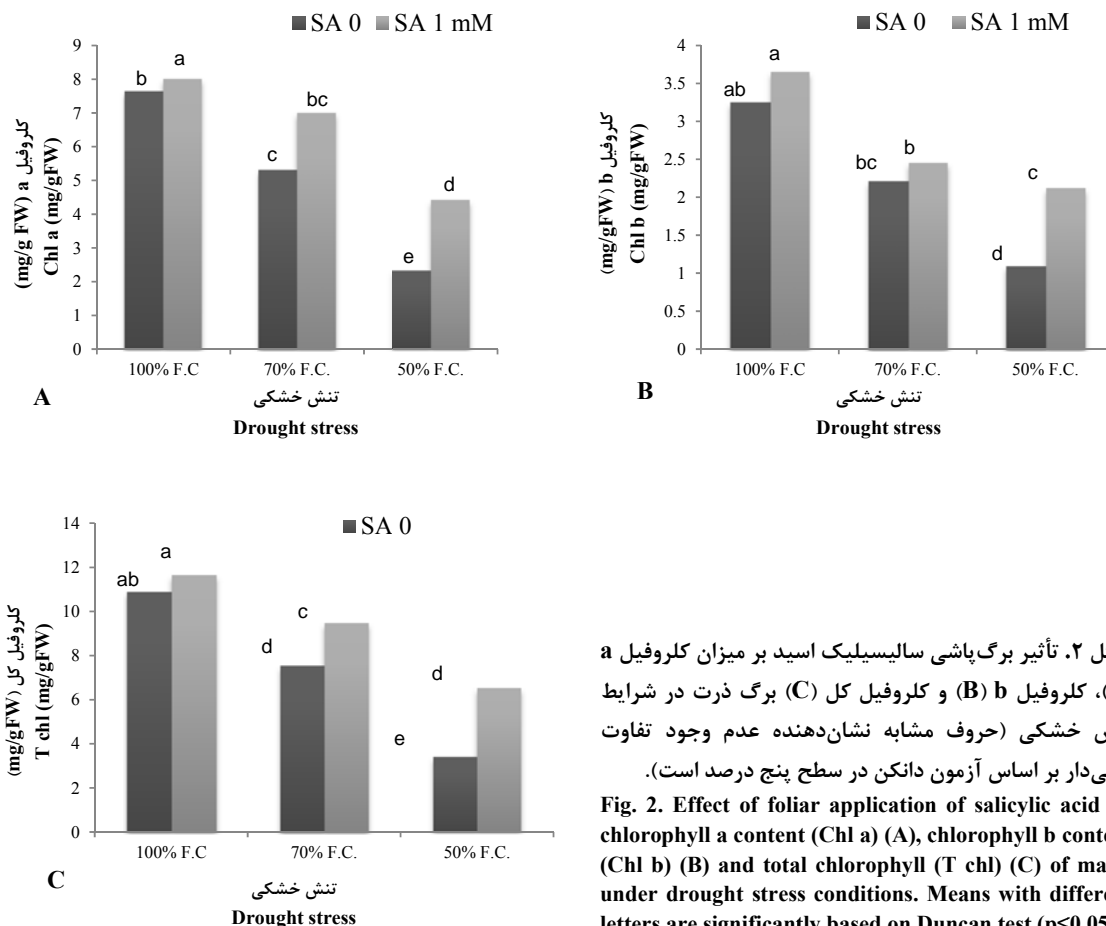
می‌باشد (Hanson and Hitz, 1982). محتوی نسبی آب برگ در واقع ابزار بسیار مناسبی برای گزینش در شرایط تنش خشکی است و ارقامی که بدون بستن روزنه‌های خود توانایی حفظ آب بیشتری دارند، برای مناطق خشک مناسب هستند. محتوی نسبی آب نقش مهمی در تنظیم هدایت روزنه‌ای و در نتیجه سرعت فتوسنتزی گیاه دارد که در نهایت می‌تواند روی عملکرد دانه اثر مثبتی داشته باشد (Hanson and Hitz, 1982). در تحقیق حاضر محلول-پاشی بوته‌های ذرت با سالیسیلیک اسید بهبود و افزایش محتوی نسبی آب را تنها در شرایط تنش خشکی به همراه داشت (شکل B ۱).

**محتوای کلروفیل برگ** اختلاف بین اثر متقابل تنش خشکی و سالیسیلیک اسید از نظر مقدار کلروفیل b و کلروفیل کل معنی‌دار بود؛ اما از نظر مقدار کلروفیل a اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول ۱). نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش مشخص گردید که تنش خشکی (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) مقدار کلروفیل a، b و کل را در ذرت به ترتیب ۶۸، ۷۰ و ۷۱ درصد کاهش داد (شکل ۲). تیمار با سالیسیلیک اسید مقدار کلروفیل a، b و کل در این گیاه را هم در شرایط کنترل (عدم وجود تنش) و هم در شرایط تنش افزایش داد. اگرچه این افزایش در تیمار شاهد از نظر آماری معنی‌دار نبود (شکل ۲).

کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی یکی از اثرات تنش‌های محیطی نظیر خشکی و شوری می‌باشد و این کاهش به نوع گیاه، مدت و شدت تنش و مرحله نمو گیاه بستگی دارد. در این بررسی، تنش خشکی موجب کاهش مقدار کلروفیل a، b و کلروفیل کل در گیاه ذرت گردید (شکل ۲). در همین راستا نتایج تحقیقات دیگری نیز بیانگر آن است که تنش خشکی مقدار کلروفیل و کاروتنوئید را در گیاهان گندم (Singh and Usha, 2003)، نخود (Boyer, Iturbe-Ormaeche et al., 1998) و ذرت (Westgate and 1985) کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش خشکی می‌تواند عمدتاً به دلیل تخریب ساختمان کلروپلاست و دستگاه فتوسنتزی، فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها، تخریب پیش‌ماده‌های سنتز کلروفیل و ممانعت از بیوسنتز کلروفیل‌های جدید و فعال شدن آنزیم‌های تجزیه‌کننده کلروفیل باشد (EL-Tayeb, 2005). مشابه با نتایج تحقیق حاضر مشخص گردیده است

در محل تولید سم‌زدایی می‌کند و شکل محلول در استروما، پراکسید هیدروژن منتشر شده درون استروما را تجزیه می‌کند (Moller et al., 2007).

آسکوربات پراکسیداز به دو صورت متصل به غشای تایلاکوئیدی و محلول در استروما وجود دارد. شکل باند شده به غشای تایلاکوئیدی پراکسید هیدروژن را بلافاصله



شکل ۲. تأثیر برگ‌پاشی سالیسیلیک اسید بر میزان کلروفیل (A)، کلروفیل b (B) و کلروفیل کل (C) برگ ذرت در شرایط تنش خشکی (حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد است).

**Fig. 2.** Effect of foliar application of salicylic acid on chlorophyll a content (Chl a) (A), chlorophyll b content (Chl b) (B) and total chlorophyll (T chl) (C) of maize under drought stress conditions. Means with different letters are significantly based on Duncan test ( $p \leq 0.05$ ).

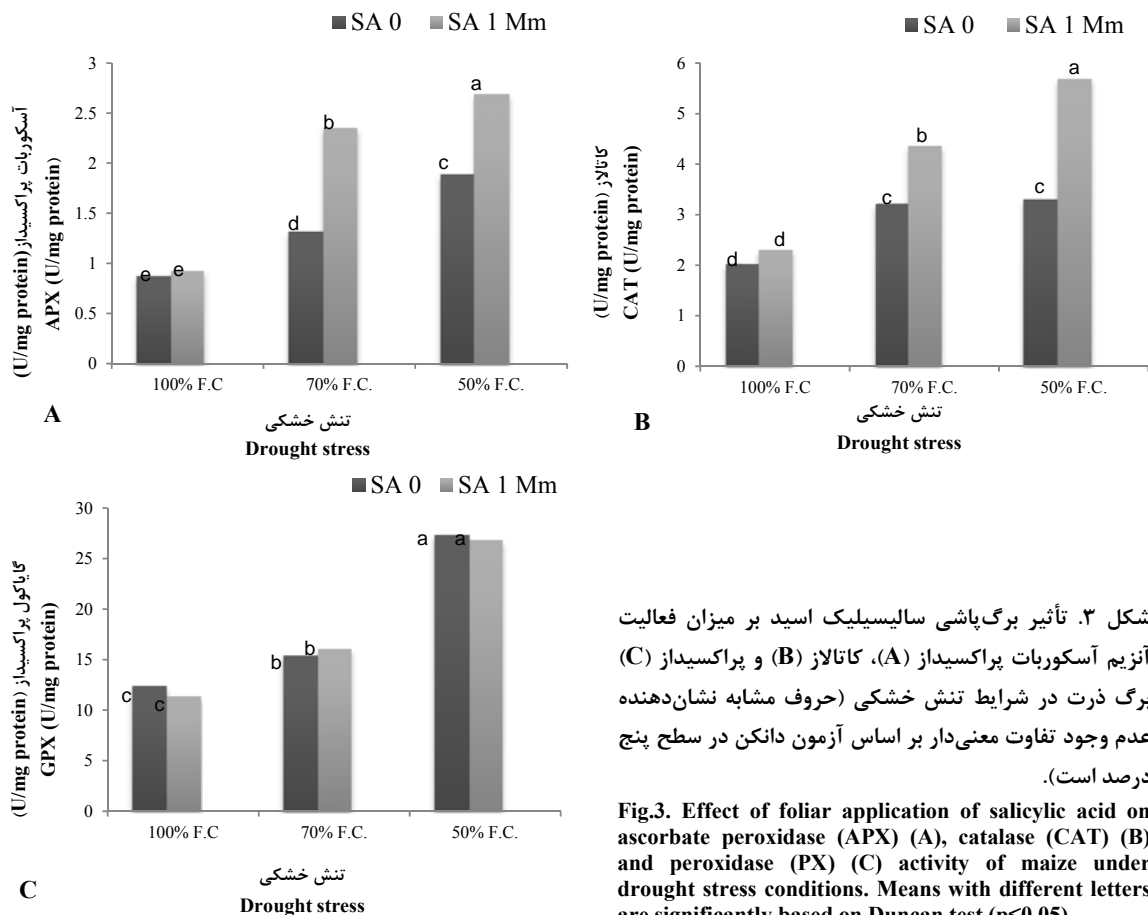
سیتوسول، واکوئل، کلروپلاست و فضای آپوپلاست وجود دارند و دارای نقش مهمی در سیستم دفاعی آنتی-اکسیدانی می‌باشند (Xu et al., 2008). در شرایط غیر تنش بین میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن و ظرفیت جاروب کردن این ترکیبات توسط سیستم دفاع آنتی-اکسیدانی (آنزیمی و غیر آنزیمی) تعادل وجود دارد؛ اما در شرایط تنش میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن از ظرفیت جاروب کردن آن‌ها توسط سیستم دفاع آنتی-اکسیدانی بیشتر شده و در نتیجه تنش اکسیداتیو رخ می‌

کاتالاز موجب شکسته شدن  $H_2O_2$  به آب و اکسیژن می‌شود. کاتالاز نقش تجزیه  $H_2O_2$  تولید شده طی تنفس نوری در پراکسی‌زوم‌ها و یا  $H_2O_2$  تولید شده طی بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب در گلی‌اکسی‌زوم‌ها یا  $H_2O_2$  تولید شده توسط سوپراکسید دیسموتاز را بر عهده دارد (Agarwal et al., 2005). پراکسیدازها باعث تجزیه آب‌اکسیژنه به وسیله اکسیداسیون یک ماده همراه می‌شوند و بر اساس ترکیبات همراهشان نام‌گذاری می‌شوند. پراکسیدازها آنزیم‌هایی هستند که در تمام پیکره گیاهان،



برنج (Gue et al., 2007) در شرایط وقوع تنش‌های مختلف محیطی گزارش شده است. در پژوهش حاضر نیز تیمار با سالیسیلیک اسید، موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گردید (شکل ۳). بنابراین، می‌توان گفت کاربرد سالیسیلیک اسید با فعال کردن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان آنزیمی موجب افزایش مقاومت ذرت به تنش اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی شده است. از آنجاکه این آنزیم‌ها با جاروب کردن گونه‌های فعال اکسیژن، نقش مهمی در حفاظت سلول‌ها، به‌خصوص دستگاه فتوسنتزی ایفا می‌کنند، آثار مثبت تیمار بوته‌های ذرت با سالیسیلیک اسید، در افزایش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی، حفظ پایداری غشا و درنهایت بهبود پارامترهای رشد منعکس شده است.

دهد. بنابراین، برای مقابله با تنش اکسیداتیو تغییر ظرفیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی ضروری می‌باشد. آنزیم‌هایی مانند کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز از آنزیم‌های مهم سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در گیاهان می‌باشند (Moller et al., 2007). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش خشکی در برگ‌های ذرت (Nayyar and Gupta, 2006) و گندم (Mandhania et al., 2006) گزارش شده است. افزایش فعالیت این آنزیم‌ها همراه کاهش مقدار پراکسیداسیون لیپید،  $H_2O_2$  و نشأت یونی می‌باشد. در پژوهش‌های علمی، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدان تحت تأثیر تیمار سالیسیلیک اسید در گندم (Horvath et al., 2007)، جو (EL-Tayeb, 2005) و

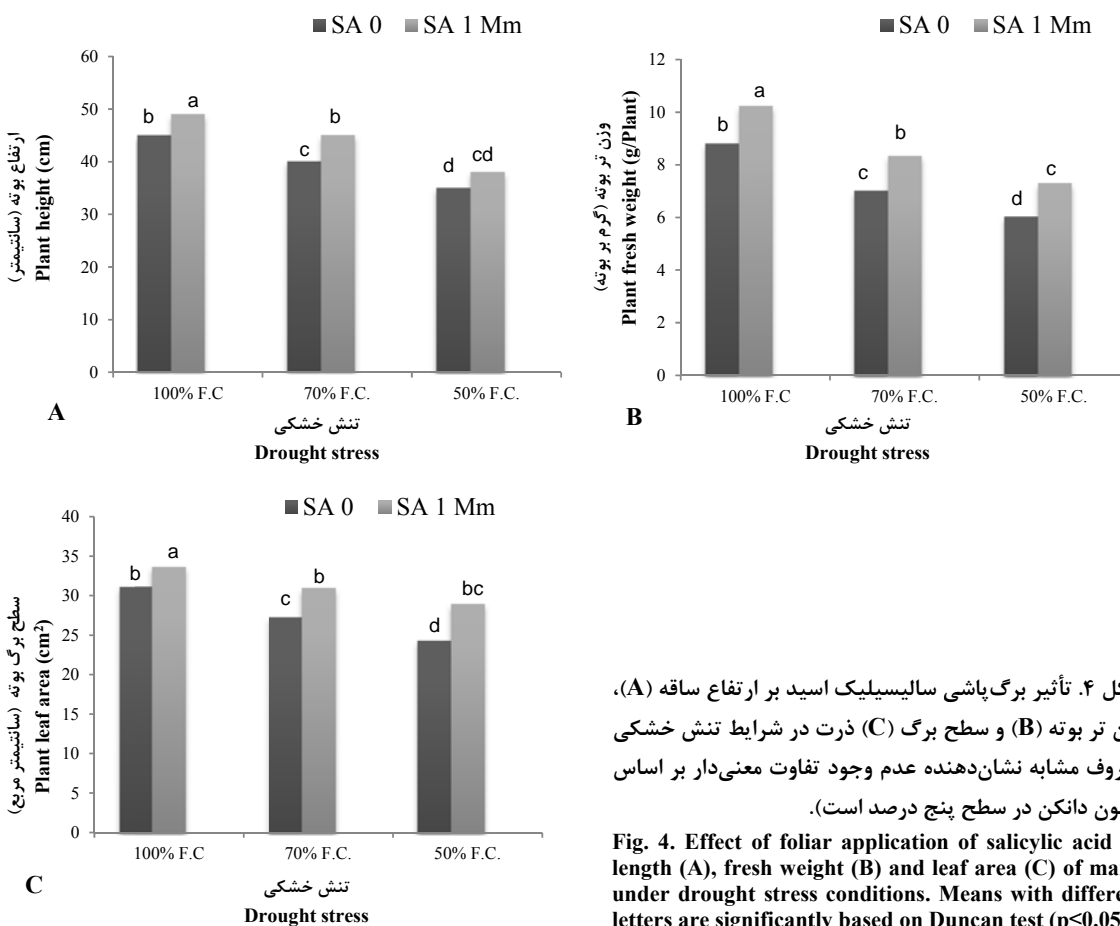


شکل ۳. تأثیر برگ‌پاشی سالیسیلیک اسید بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (A)، کاتالاز (B) و پراکسیداز (C) برگ ذرت در شرایط تنش خشکی (حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد است).

Fig.3. Effect of foliar application of salicylic acid on ascorbate peroxidase (APX) (A), catalase (CAT) (B) and peroxidase (PX) (C) activity of maize under drought stress conditions. Means with different letters are significantly based on Duncan test ( $p \leq 0.05$ ).

گزارش نمودند که غلظت  $10^{-5}$  مولار سالیسیلیک اسید در گیاه خردل موجب افزایش وزن تر و خشک بوته و میزان محصول تولیدی می‌گردد. در این گزارش بیان شده است که ترکیبات فنلی در انتقال دادن مواد فتوسنتزی به سمت مقصد دخالت می‌کنند. ضمن اینکه برخی دلایل افزایش وزن تر و خشک نیز افزایش در میزان فتوسنتز خالص و کربوکسیلاسیون و افزایش در فعالیت آنزیم‌های نیترات رداکتاز، کربنیک آنهیدراز (در مقایسه با گیاهان شاهد) گزارش شده است. از طرفی ترکیبات فنلی از جمله سالیسیلات‌ها مانع از اکسیداسیون اکسین می‌گردند و به این طریق نیز می‌توانند بر رشد تأثیر بگذارند. (Faridoddin et al., 2003).

ارتفاع بوته، وزن تر بوته و سطح برگ همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، ارتفاع بوته، وزن تر و سطح برگ بوته تحت تأثیر تنش خشکی و محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید ( $P \leq 0.05$ ) قرار گرفت. تنش خشکی طول ساقه، وزن تر اندام هوایی و سطح برگ ذرت را کاهش داد و این کاهش در تیمار تنش ۵۰ درصد ظرفیت زراعی شدیدتر بود. در مقابل، برگ‌پاشی با سالیسیلیک اسید موجب افزایش این پارامترها هم در حالت کنترل (بدون تنش) و هم در شرایط تنش خشکی گردید و البته تأثیر مثبت کاربرد سالیسیلیک اسید در شرایط تنش خشکی بیشتر از عدم تنش بود (شکل ۴). در همین راستا، فاریدودین و همکاران (Faridoddin et al., 2003)



شکل ۴. تأثیر برگ‌پاشی سالیسیلیک اسید بر ارتفاع ساقه (A)، وزن تر بوته (B) و سطح برگ (C) ذرت در شرایط تنش خشکی (حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد است).

Fig. 4. Effect of foliar application of salicylic acid on length (A), fresh weight (B) and leaf area (C) of maize under drought stress conditions. Means with different letters are significantly based on Duncan test ( $p \leq 0.05$ ).

و (Agarawal et al., 2005; Hayat et al., 2010) ذرت (Khodary, 2004) گزارش شده است.

#### نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج پژوهش حاضر در مجموع می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که سالیسیلیک اسید با حفاظت گیاه در برابر تنش اکسیداتیو باعث بهبود رشد و افزایش مقاومت به تنش خشکی می‌گردد و در نهایت با توجه به ارزان بودن و در دسترس بودن سالیسیلیک اسید، استفاده از این ترکیب به صورت برون‌زا امکان کشت ذرت را در مناطق خشک و کم آب فراهم می‌کند.

در تحقیقی گیاهان گندم که دانه‌های آن‌ها با سالیسیلیک اسید تیمار شده بودند، دارای تعداد برگ بیشتر و وزن تر و خشک بالاتری نسبت به گیاهان شاهد بودند (Hayat and Ahmad, 2007). اثرات متابولیکی سالیسیلیک اسید و ترکیبات وابسته به آن با توجه به نوع گیاه، مقدار و نحوه کاربرد سالیسیلیک اسید تغییر می‌کند (Lutts et al., 1996; Hayat and Ahmad, 2007). پژوهش حاضر تیمار با اسید سالیسیلیک موجب بهبود پارامترهای رشد هم در گیاهان کنترل و هم در گیاهان تحت تنش گردید (شکل ۴). مشابه نتایج ما بهبود پارامترهای رشد در تیمار سالیسیلیک اسید در گیاهان مختلفی نظیر جو (EL-Tayeb, 2005)، گندم

#### منابع

- Agarawal, S., Sairam, R.K., Srivasta, G.C., Meena, R.C., 2005. Changes in antioxidant enzymes activity and oxidative stress by abscisic acid and salicylic acid in wheat genotypes. *Biology Plantarum*. 49, 541-550.
- Bartels, D., Sunkar, R., 2005. Drought and salt tolerance in plants. *Plant Sciences*. 24, 23-58.
- Blum, A., 2005. Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential-are they compatible, dissonant, or mutually exclusive. *Australian Journal of Agricultural Research*. 56, 1159-1168.
- Borsani, O., Valpuesta, V., Botella, M.A., 2001. Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Physiology*. 126, 1024-1030.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochemistry*. 72, 248-254.
- EL-Tayeb, M.A., 2005. Response of barley grain to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation*. 45, 215-225.
- Emam, Y., 2011. *Cereal Production*. (4<sup>th</sup> Ed.) Shiraz University Press. [In Persian]
- Faridoddin, Q., Hayat, S., Ahmad, A., 2003. Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity and seed yield in *Brassica juncea*. *Photosynthetica*. 41, 281-284.
- Gue, B., Liang, Y.C., Zhu, Y.G., Zhao, F.J., 2007. Role of salicylic acid in alleviating oxidative damage in rice roots (*Oryza sativa*) subjected to cadmium stress. *Environmental Pollution*. 147, 743-749.
- Hanson, A.D., Hitz, W.D., 1982. Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits. *Annual Review of Plant Biology*. 33, 163-203.
- Hayat, Q., Hayata, S.H., Irfan, M., Ahmad, A., 2010. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment. A review. *Environmental and Experimental Botany*. 68, 14-25.
- Hayat, S., Ahmad, A., 2007. Salicylic acid - A Plant Hormone, Springer.
- Horvath, E., Pal, M., Szalai, G., Paldi, E., Janda, T., 2007. Exogenous 4-hydroxybenzoic acid and salicylic acid modulate the effect of short-term drought and freezing stress on wheat plants. *Biology Plantarum*. 53, 480-486.
- Hussein, M.M., Balbaa, L.K., Gaballah M.S., 2007. Salicylic acid and salinity effects on growth of maize plants. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*. 3, 321-328.
- Iturbe-Ormaeche, I., Escordeo, P., Arrese-Igor, C., Becana M., 1998. Oxidative damage in

- pea plants exposed to water deficit or paraquat. *Plant Physiology*. 116, 173-181.
- Kabiri, R., Nasibi, F., Farahbakhsh, H., 2014. Effect of Exogenous Salicylic Acid on Some Physiological Parameters and Alleviation of Water Stress in *Nigella sativa* Plant under Hydroponic Culture. *Plant Protection Sciences*. 50, 43-51.
- Khodary, S.E.A., 2004. Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt-stressed maize plants. *International Journal of Agriculture and Biology*. 6, 5-8.
- Kocheva, K.V., Busheva, M.C., Goorgegiev, G.I., Lambreva, P.H., Goltsev V.N., 2005. Influence of short-term osmotic stress on the photosynthetic activity of barley seedlings. *Biology Plantarum*. 49, 145-148.
- Lei, Y., Yin, C., Ren, J., Li C., 2007. Effect of osmotic stress and sodium nitroprusside pretreatment on proline metabolism of wheat seedlings. *Biology Plantarum*. 51, 386-390.
- Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*. 148, 350-382.
- Lutts, S., Kint, J.M., Bouharmont, J., 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oriza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany*. 78, 389-398.
- Mandhanian, S., Madan, S., Sawhney, V., 2006. Antioxidant defense mechanisms under salt stress in wheat seedlings. *Biology Plantarum*. 50, 227-231.
- Mardani, H. Bayat H. Azizi M. 2011. Effect of foliar application of salicylic acid on morphological and physiological parameters of cucumber (*Cucumis sativus*) under drought stress. *Journal of Horticultural Science*. 25: 320-326. [In Persian].
- Mbah, C.N. 2012. Determining the Field Capacity, Wilting point and Available Water Capacity of some Southeast Nigerian Soils using Soil Saturation from Capillary Rise. *Nigerian Journal of Biotechnology*. 24: 41-47
- Moller, I.M., Jensen, P.E., Hansson, A., 2007. Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annual Review of Plant Biology*. 58, 459-481.
- Nakano, Y. Asado, K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology*. 22, 867-880.
- Nayyar, H., Gupta, H., 2006. Differential sensitivity of C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> plants to water deficit stress: Association with oxidative stress and antioxidants. *Environmental and Experimental Botany*. 58, 106-113.
- Plewa, M.J., Smith, S.R., Wanger, E.D., 1991. Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. *Mutation Research*. 247, 57-64.
- Popova, L.P., Maslenkova, L.T., Yordanova, R.Y., Ivanova, A.P., Krantev, A.P., Szalai, G., Janda T., 2009. Exogenous treatment with salicylic acid attenuates cadmium toxicity in pea seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*. 47, 224-231.
- Sgherri, C.L.M., Maffei, M., Navari-Izzo F., 2000. Antioxidative enzymes in wheat subjected to increasing water deficit and re-watering. *Journal of Plant Physiology*. 157, 273-279.
- Singh, B. Usha, K., 2003. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. *Plant Growth Regulation*. 39, 137-141.
- Stevens, J., Senaratna, T., Sivasithampam, K., 2006. Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): associated changes in gas exchange, water relations and membrane stabilization. *Plant Growth Regulation*. 49, 77-83.
- Turkan, I., Bor, M., Ozdemir, F., Koca, H., 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolia* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Sciences*. 168, 223-231.
- Velikova, V., Yordanov, I., Edreva, A., 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. *Plant Sciences*. 151, 59-66.
- Verslues, P.E., Agarwal, M., Agarwal, S.K., Zhu, J., Kang Zhu, J., 2006. Methods and

- concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *The Plant Journal*. 45, 523-539.
- Westgate, M.E., Boyer, J.S., 1985. Carbohydrate reserves and reproductive development at low water potential in maize. *Crop Sciences*. 25, 762-769.
- Xu, P.L., Guo, Y.K. Bai, J.G., Shang, L., Wang, X.J., 2008. Effects of long-term chilling on ultrastructure and antioxidant activity in leaves of two cucumber cultivars under low light. *Physiology Plantarum*. 132, 467-478.

