تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد دوازدهم، شماره سوم، پائیز ۱۳۹۸
۹۶۰-۹۴۹
http://dx.doi.org/10.22077/escs.2019.1422.1318

واکنش‌های مورفوفیزیولوژیکی گیاه سیاه‌دانه (*Nigella sativa.* L) به اسید سالیسیلیک تحت تنش شوری

داریوش طالعی[1*]، ابوالفضل ریحانی[2]
۱. استادیار، بیوتکنولوژی گیاهی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد، تهران
۲. کارشناس ارشد زراعت، معاونت ترویج سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۱/۱۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۵/۱۱

چکیده

تنش شوری یکی از عوامل محیطی است که بر روی رشد و نمو و ترکیبات ثانویه گیاهان تأثیر می‌گذارد. سالیسیلیک اسید به‌عنوان یک تنظیم‌کننده رشد درونی گیاهان نقش تعدیل‌کننده را ایفا می‌کند. برای بررسی واکنش‌های مورفوفیزیولوژیکی گیاه سیاه‌دانه به سالیسیلیک اسید آزمایشی به‌صورت کرت‌های خردشده با دو فاکتور بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف شوری روی صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی اثرات معنی‌داری دارد. به‌طوری‌که با افزایش غلظت شوری شاخص‌های رشد از قبیل تعداد شاخه جانبی، تعداد برگ و کلروفیل b و میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز و مالون دی آلدئید کاهش پیدا کرد، درحالی‌که با افزایش غلظت شوری مقدار پرولین برگ و کاتالاز افزایش یافت. نتایج نشان داد با اعمال تیمار سالیسیلیک اسید تحت تنش شوری میزان کاهش شاخص‌های رشد و رنگیزه‌های فتوسنتزی تعدیل پیدا کرد. به‌طوری‌که در غلظت ۳ دسی زیمنس بر متر شوری و ۰/۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید بیشترین تعداد شاخه جانبی، تعداد برگ و کلروفیل b به دست آمد، همچنین با افزایش سطح سالیسیلیک اسید میزان پرولین و کاتالاز برگ افزایش یافت ولی با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید میزان فعالیت مالون دی آلدئید و سوپر اکسید دیسموتاز در برگ کاهش یافت. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده می‌توان نتیجه‌گیری کرد که گیاه سیاه‌دانه یک گیاه نیمه حساس به شوری بوده و تحمل این گیاه به شوری حداکثر ۶ دسی زیمنس بر متر است.

واژه‌های کلیدی **تنش شوری، سالیسیلیک اسید، سیاه‌دانه، صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی**

مقدمه

گیاه سیاه‌دانه با نام علمی *Nigella sativa* گیاهی است علفی و یک‌ساله از تیره آلاله (Ranunculaceae) که در نواحی مختلف اروپا و آسیا ازجمله در ایران (مناطق مختلف به‌ویژه اراک و اصفهان) کشت می‌شود.

بذور سیاه‌دانه منبع غنی از اسیدهای چرب اشباع‌نشده حاوی ۳۵٪ روغن، ۲۵٪ پروتئین و ۳۸٪ کربوهیدرات است (Bassim, 2003). سیاه‌دانه در درمان افسردگی، بیماری دیابت، نارسایی کلیه، بیماری‌های معده، سردرد و دندان‌درد نقش داشته و دارای اثرات آنتی‌بیوتیکی، ضد انگلی، ضد میکروبی و ضد سرطانی است (Salem, 2005).

تنش‌های محیطی، مخصوصاً تنش شوری معمولاً به دلیل کاهش پتانسیل اسمزی محلول خاک (تنش اسمزی)، اثرات یونی خاص (تنش یونی)، عدم تعادل تغذیه‌ای گیاه و یا ترکیبی از این عوامل، به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد و توسعه گیاه در دنیا است. سالیسیلیک اسید به‌عنوان یک هورمون گیاهی و تنظیم‌کننده رشد درونی گیاهان قادر است تنش را در گیاهان تعدیل نماید. کاظمی و همکاران (Kiarostami et al., 2010) در بررسی اثرات شوری بر برخی پارامترهای رشدی و فیزیولوژی گیاه رزماری (*Rosemarinus officinalis*) نشان دادند که رشد گیاه در

* نگارنده پاسخگو: داریوش طالعی. پست الکترونیک: d.talei1348@gmail.com

سطوح بالای نمک کاهش می‌یابد، هم‌چنین تنش شوری باعث تجمع پرولین و پاد اکسیدان‌ها در گیاه می‌شود. رمضانی و همکاران (Ramezani et al., 2011) در بررسی اثر تنش شوری بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی گل‌گاوزبان ایرانی (*Echium amoenum*) نشان دادند که استفاده از آب‌شور باعث کاهش تمام صفات مورفولوژیکی و افزایش غلظت پرولین و قند محلول در مقایسه با گیاه شاهد گردید. انباشت پرولین یک شاخص فیزیولوژیکی مهم برای پاسخ گیاه به تنش شوری است (Koca et al., 2007; Turan et al., 2007). سنجش محتوای کلروفیل یک روش عمومی برای بررسی اثر تنش شوری بر گیاهان است (Silva-Ortiga et al., 2008). سالیسیلیک اسید به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد درونی گیاهان، اثرات متنوعی بر روی فعالیت‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاهان دارند و نقش کلیدی در ایجاد و علامت‌دهی یک پاسخ دفاعی در برابر تنش‌های محیطی و حملات پاتوژن‌های مختلف و در تحمل سازگانی در گیاهان دارد (Hayat et al., 2010). سالیسیلیک اسید یک تنظیم‌کننده مهم در فتوسنتز است، زیرا بر روی ساختار برگ و کلروپلاست، بسته شدن روزنه، محتوای کلروفیل و کارتنوئیدها و بر روی فعالیت آنزیم‌هایی از قبیل روبیسکو (Rubisco) و کربنیک انهیدراز اثر می‌گذارد. اثر سالیسیلیک به‌صورت اسپری پاشی بر روی پارامترهای فتوسنتز وابسته به دوزهای آن و گونه‌ای گیاهی متفاوت است. غلظت‌های بالای سالیسیلیک اسید (۵-۱ میلی مولار) سبب کاهش در میزان فتوسنتز (PN) و فعالیت روبیسکو در گیاه جو و کاهش کلروفیل در گندم و آرابیدوپسیس می‌شود. در غلظت‌های کم سالیسیلیک اسید (۱۰ میکرو مولار) بهبود در همانندسازی CO_2 در دانه‌های خردل را باعث می‌شود (Vicente and Plasencia, 2011). فریدودین و همکاران (Fariduddin et al., 2003) گزارش دادند که در غلظت‌های کم سالیسیلیک اسید، تجمع قابل‌توجهی در ماده‌ی خشک در گیاه کلزا (*Brassica juncea*) مشاهده شد. سالیسیلیک اسید باعث افزایش سطح برگ در برنج و سویا شد (Khan et al., 2003).

تنش‌های محیطی با تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) از قبیل اکسیژن یکتایی، رادیکال‌های سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل باعث ایجاد تنش اکسیدانی می‌شود. کاربرد سالیسیلیک اسید به‌صورت اسپری در غلظت مناسب باعث افزایش کارایی ارگانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود (Hayat et al., 2010). اسپری سالیسیلیک اسید باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، کاتالاز، پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز در گیاهان *Brassica juncea* تحت تنش شوری گردید (Yusuf et al., 2008). کرانتو و همکاران (Krante et al., 2008) نشان دادند که کاربرد سالیسیلیک اسید به‌صورت اسپری باعث افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و کاهش هم‌زمان در آنزیم کاتالاز می‌شود. با توجه به اهمیت و ارزش اقتصادی گیاه سیاه‌دانه در صنایع دارویی و اینکه تحقیقات قابل‌توجهی در زمینه واکنش‌های این گیاه به تیمار سالیسیلیک اسید تحت تنش شوری صورت نگرفته است، هدف از این تحقیق بررسی واکنش‌های مورفوفیزیولوژیکی گیاه سیاه‌دانه به تیمار سالیسیلیک اسید تحت تنش شوری و تعیین آستانه تحمل این گیاه به غلظت‌های مختلف شوری است.

مواد و روش‌ها

ماده گیاهی و شرایط جوانه‌زنی

بذور سالم و عاری از علف هرز سیاه‌دانه از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد تهیه شد. بذور به مدت ۲ دقیقه در اتانول ۷۰ درصد قرار داده شده و سپس به مدت ۳ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۰/۱۲۵ درصد غوطه‌ور و ضدعفونی شدند، سپس بذرها ۵-۳ بار با آب مقطر برای حذف بقایای محلول‌های استفاده‌شده، شستشو شدند. بذور در پتری‌دیش‌های حاوی کاغذ صافی واتمن با آب مقطر خیسانده شده و در اتاقک رشد در دمای ۲±۲۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شدند. بذور خیسانده شده با ماسه مخلوط شدند و در گلدان‌های ۱۰ کیلویی حاوی ماسه و پرلیت به نسبت مساوی در عمق ۲-۳ سانتیمتری کشت شدند.

طرح آزمایشی

آزمایش به‌صورت کرت‌های خردشده با دو فاکتور بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در گلخانه تحقیقاتی مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد در سال ۱۳۹۶ انجام شد که در آن غلظت‌های شوری با ۴ سطح (۰، ۳، ۶، ۹ دسی زیمنس) به‌عنوان فاکتور اصلی و غلظت‌های سالیسیلیک اسید با ۴

سطح (۰، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی مولار) به‌عنوان فاکتور فرعی موردبررسی قرار گرفتند. گیاهان تا مرحله‌ی ۴ برگی تنها با آب مقطر آبیاری شدند و بعدازاین مرحله ابتدا به مدت یک هفته محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک سپس سه هفته تنش شوری به‌صورت متوالی بافاصله زمانی یک روز در میان اعمال شد و صفات مورفولوژیکی و محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، پرولین، مالون دی آلدئید برگ آنزیم‌های پاد-اکسایشی از قبیل کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز اندازه‌گیری شدند.

اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی

بعد از پایان دوره تیمار اسید سالیسیلیک و تنش شوری در مرحله رشد کامل گیاه (قبل از گلدهی) صفات مورفولوژیکی گیاه از قبیل طول اندام هوایی، تعداد شاخه جانبی، تعداد برگ، طول ریشه، وزن تر اندام هوایی و وزن تر ریشه اندازه‌گیری شد. وزن خشک اندام هوایی و وزن خشک ریشه ۲۴ ساعت پس از قرار دادن اندام هوایی و ریشه در دمای ۶۳ درجه سانتی‌گراد در آون اندازه‌گیری شد.

سنجش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی

برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی، مقدار ۰/۳ گرم برگ تازه توزین و در هاون با ۳ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ به‌خوبی ساییده و به روش (Lichtenthaler, 1987) مقدار کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید در طول‌موج‌های ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Perkin Elmer Lambda25; UV/VS) اندازه‌گیری شد. مقدار رنگیزه‌ها برحسب میلی‌گرم بر گرم بافت تر با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید:

کلروفیل a (mg/g FW) =
11.75×A663- 2.35×A645) ×V/1000W [۱]

کلروفیل b (mg/g FW) =
(18.61×A645-3.96×A663)×V/1000W [۲]

کاروتنوئید (mg/g FW) = [(1000×A470) -
(2.27×Chla)-(81.4×Chlb)/227]×V/1000W [۳]

که در این معادله‌ها، A: میزان جذب نوری در طول‌موج مربوطه، V: حجم عصاره وW: وزن نمونه تر هستند.

سنجش محتوای پرولین

مقدار ۰/۲۵ گرم برگ تازه را با ۳ میلی‌لیتر محلول سولفو-سالیسیلیک اسید (Bates et al., 1973) در هاون به‌خوبی ساییده و از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده و سپس ۲ میلی‌لیتر دیگر محلول سولفوسالیسیلیک اسید به عصاره اضافه و حجم آن به ۵ میلی‌لیتر رسید. پس از اضافه نمودن تولوئن و قرار دادن در حمام آب جوش و سپس حمام یخ، جذب آن با دستگاه طیف‌سنج نوری در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و درنهایت مقدار پرولین به‌صورت میکروگرم بر گرم وزن تر در نمونه‌ها محاسبه گردید.

پرولین ($\mu mole.g^{-1}$ FW)=
[(µg proline/mL×mL toluene)/115.5 µg/µmole] /
[(g sample)/5] [۴]

سنجش محتوای مالون دی آلدئید برگ

در این روش مقدار ۰/۹ گرم از بافت تر گیاهی در هاون با ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ساییده شد و سپس عصاره حاصل به لوله‌های فالکون منتقل شد و در دمای محیط و با سرعت ۱۰۰۰۰rpm به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس یک میلی‌لیتر از محلول شناور در لوله‌آزمایش ریخته شد و ۴ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۲۰٪ (w/v) حاوی ۰/۵٪ (w/v) تیوباربیتوریک اسید (TBA) به آن اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد و سپس بلافاصله در یخ سرد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط قرار داده شد و درنهایت نمونه با سرعت ۱۰۰۰۰ rpm برای رسوب دادن پروتئین توسط تری کلرواستیک اسید سانتریفیوژ گردید. جذب محلول رویی که کمپلکس قرمز MDA-TBA بود، در طول‌موج ۵۳۰ نانومتر قرائت شد. مقدار جذب رنگیزه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین شد و از مقدار جذب در ۵۳۰ نانومتر کسر شد. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی $\varepsilon = 155\mu\ mol^{-1}.cm^{-1}$ استفاده شد و درنهایت مقدار مالون دی آلدئید، بر اساس واحد میکرومول بر گرم وزن تر (μ mol. g^{-1} FW) محاسبه گردید (Heath and Packer, 1968).

سنجش محتوای کاتالاز

برای سنجش آنزیم کاتالاز ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۰۵ مولار pH=۷ با ۲۰ میکرولیتر آب‌اکسیژنه ۳٪ در حمام یخ

باهم مخلوط کرده و بلافاصله ۵۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی ۱۰ برابر رقیق‌شده به مخلوط اضافه شد و تغییرات جذب آن در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنج به مدت یک دقیقه خوانده شد. میزان فعالیت آنزیم برحسب تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (Aebi, 1984):

$$CAT\ (mmol\ H_2O_2\ minute^{-1}\ mg\ protein^{-1}) = (\Delta A240/\Delta t)Vmix/\varepsilon dPVextr \quad [۵]$$

که در آن ΔA: میزان جذب، Δt: زمان واکنش (دقیقه)، Vmix: حجم نهایی واکنش (لیتر)، ε: ضریب خاموشی H_2O_2 (مولار) در ۲۴۰ نانومتر که برابر $40\ mM^{-1}\ cm^{-1}$ است، d: پهنای کوت (سانتی‌متر)، Vexter: حجم نمونه بکار رفته (میلی‌لیتر)، P: غلظت پروتئین نمونه ($mg.ml^{-1}$) هستند.

سنجش محتوای سوپراکسید دیسموتاز

برای سنجش میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ۵۰ میکرو لیتر از عصاره آنزیمی به ۲/۵ میلی‌لیتر محیط واکنش شامل ۵۰ میلی مولار (pH 7.8) بافر فسفات سدیم، ۱۳ میلی مولار متیونین، ۷۵ میکرو مولار نیتروبلو تترا زولیوم (NBT)، یک میلی مولار EDTA و ۵۰ میکرو مولار ریبوفلاوین را در لوله‌آزمایشی که با فویل آلومینیومی تاریک شده بود ریخته و به مدت ۱۵ دقیقه در فاصله ۱۵ سانتی‌متری منبع نور قرار داده شد و سپس بلافاصله جذب آن‌ها در ۵۶۰ نانومتر خوانده شد. مقدار جذب یک محیط واکنش برابر با تفاضل مقدار جذب محیطی که در تاریکی برای یک دوره زمانی مشابه به‌عنوان کنترل نگهداری شد و مقدار جذب نمونه‌ای که در معرض نور بود. یک واحد فعالیت آنزیمی مقداری از آنزیم است که موجب ۵۰ درصد ممانعت احیای NBT در ۵۶۰ نانومتر است. میزان فعالیت آنزیم بر اساس یک واحد در دقیقه به ازای میلی‌گرم پروتئین با استفاده از فرمول ۶ محاسبه گردید (Beauchamp and Fridovich, 1971):

$$SOD\ activity\ (mmol\ H_2O_2 \cdot mg\ protein^{-1}) = ((100-(OD\ control - OD\ sample)/OD\ control) \times 100) / 50 \times PVextr \quad [۶]$$

که در آن OD sample: میزان جذب نمونه، OD control: میزان جذب نمونه شاهد (تاریکی)، Vexter: حجم نمونه بکار رفته (میلی‌لیتر)، P: غلظت پروتئین در نمونه ($mg.ml^{-1}$) هستند.

محاسبات آماری داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SPSS24 انجام شد و برای رسم نمودارها و گراف‌ها از نرم‌افزار Graph Pad Prism7 و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که غلظت‌های مختلف شوری روی صفات تعداد شاخه جانبی، تعداد برگ، کلروفیل b، پرولین، مالون دی آلدئید، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز اثر معنی‌داری داشت درحالی‌که بر روی صفات طول اندام هوایی، طول ریشه، وزن تر اندام هوایی، وزن تر ریشه، وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه، مجموع وزن خشک اندام هوایی و ریشه، کلروفیل a، کاروتنوئید اثر معنی‌داری نداشت. غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید نیز روی صفات تعداد شاخه جانبی، تعداد برگ، پرولین، مالون دی آلدئید، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز اثر معنی‌داری نشان داد، درحالی‌که بر روی صفات طول اندام هوایی، طول ریشه، وزن تر اندام هوایی، وزن تر ریشه، وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه، مجموع وزن خشک اندام هوایی و ریشه اثر معنی‌داری نداشت. اثرات متقابل شوری و سالیسیلیک اسید بر روی صفات تعداد شاخه جانبی، تعداد برگ، پرولین، مالون دی آلدئید، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز اثر معنی‌داری داشته است، درحالی‌که اثر متقابل بر روی سایر صفات اثر معنی‌داری نداشت (جدول ۱ و ۲).

مقایسه میانگین اثرات متقابل غلظت‌های مختلف شوری و سالیسیلیک اسید روی تعداد برگ و تعداد شاخه جانبی تفاوت معنی‌داری نشان داد به‌طوری‌که بیشترین تعداد برگ (۱۳۳/۰±۱/۷۵) و بیشترین تعداد شاخه جانبی (۲۳/۰±۰/۴۵) در غلظت ۶ دسی زیمنس بر متر شوری و غلظت ۷۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید مشاهده شد و کمترین تعداد برگ (۱۰۵/۰±۱/۷۳) و کمترین تعداد شاخه جانبی (۱۷/۵±۰/۲۹) در غلظت ۹ دسی زیمنس بر متر شوری و غلظت ۲۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید مشاهده شد (شکل ۱ و ۲). نتایج نشان داد که با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید تعداد برگ افزایش یافت (شکل ۱) و افزایش غلظت شوری موجب کاهش تعداد شاخه گردید و با افزایش غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید، تعداد شاخه جانبی افزایش پیدا کرد (شکل ۲).

جدول ۱. تجزیه واریانس غلظت‌های مختلف شوری و سالیسیلیک اسید روی صفات مورفولوژیکی

Table 1. Analysis of variance for theeffect of salinity stress and salysilic acid on morphological traits

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean Squares								
		SL	NB	NL	RL	SFW	RFW	SDW	RDW	TDW
شوری Salinity (S)	3	6.0^{ns}	8.96**	322.7**	4.30^{ns}	0.47^{ns}	0.01^{ns}	0.01^{ns}	0.07^{ns}	0.04^{ns}
خطای الف Error a	8	35.0	0.06	2.3	17.30	1.35	0.03	0.05	0.10	0.08
سالیسیلیک اسید Salicilic acid (SA)	3	37.9^{ns}	17.95**	646.3**	6.13^{ns}	0.61^{ns}	0.03^{ns}	0.05^{ns}	0.05^{ns}	0.18^{ns}
سالیسیلیک اسید×شوری S×SA	8	8.6^{ns}	2.98**	107.2**	5.20^{ns}	0.58^{ns}	0.05^{ns}	0.03^{ns}	0.07^{ns}	0.11^{ns}
خطای ب Error b	22	14.1	0.12	4.36	3.16	0.62	0.02	0.03	0.07	0.11
ضریب تغییرات (٪) CV%		*19.5*	*8.8*	*11.8*	*22.6*	*18.7*	*24.4*	*24.4*	*21.1*	*23.3*

^{ns}، * و ** به ترتیب نشانگر غیر معنی‌دار، و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد می‌باشند. SL، طول اندام هوایی؛ NB، تعداد شاخه جانبی؛ NL، تعداد برگ؛ RL، طول ریشه؛ SFW، وزن تر اندام هوایی؛ RFW، وزن تر ریشه؛ SDW، وزن خشک اندام هوایی؛ RDW، وزن خشک ریشه؛ TDW، وزن خشک کل.

*, ** and ^{ns} represent significant at 5% and 1% probability levels and not significant, respectively. SL: Shoot Length, NB: Number of branches, NL: Number of leaf, RL: Root length, SFW: Shoot fresh weight, RFW: Root fresh wright, SDW: Shoot fresh weight, RDW: Root fresh weight, TDW: Total dry weight

جدول ۲. تجزیه واریانس غلظت‌های مختلف شوری و سالیسیلیک اسید روی صفات فیزیولوژیکی

Table 2. Analysis of variance for the effect of salinity stress and salysilic acid on physiological traits

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean Squares							
		Chlo.a	Chlo.b	T. Chlo	Carotenoid	Proline	MDA	SOD	CAT
شوری Salinity (S)	3	0.000^{ns}	1.32*	0.000*	0.403^{ns}	270314.7**	0.000**	21.036**	3.269**
خطای الف Error a	8	2.314	4.33	0.001	0.137	11595.5	0.001	24.312	1.454
سالیسیلیک اسید Salicilic acid (SA)	3	2.296^{ns}	5.16^{ns}	4.315^{ns}	1.208^{ns}	33.7**	5.105**	10.503**	0.075**
سالیسیلیک اسید×شوری S×SA	8	1.585^{ns}	1.86^{ns}	2.211^{ns}	0.931^{ns}	0.4^{ns}	2.757^{ns}	0.399*	0.003^{ns}
خطای ب Error b	22	3.770	3.79	5.453	0.529	0.3	5.810	0.132	0.003
ضریب تغییرات (٪) CV%		*27.2*	*23.1*	*25.4*	*26.4*	*12.3*	*7.4*	*18.9*	*14.2*

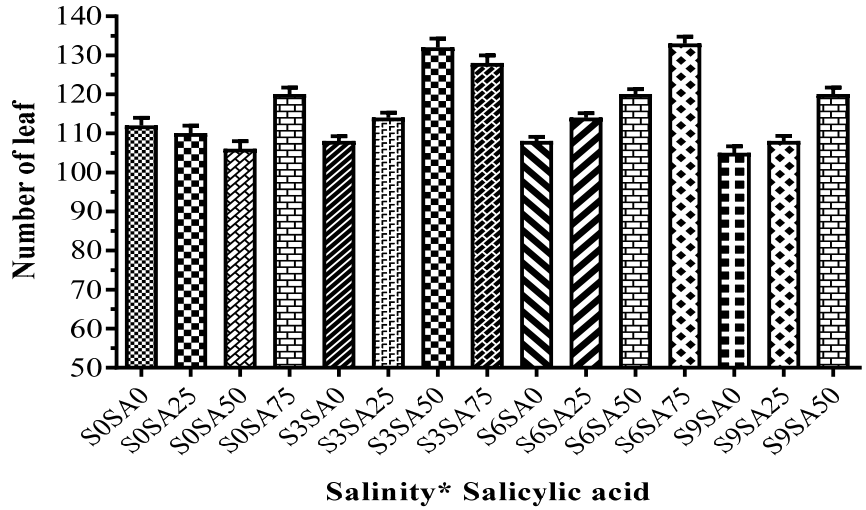
^{ns}، * و ** به ترتیب نشانگر غیر معنی‌دار، و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد می‌باشند. MDA: مالون دی آلدئید، SOD: سوپر اکسید دیسموتاز، CAT: کاتالاز.

*,** and ^{ns} represent significant at 5% and 1% probability levels and not significant, respectively. MDA: Malondialdehyde, SOD: Superoxid dismutase, CAT: Catalase

مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف شوری روی کلروفیل b تفاوت معنی‌داری نشان داد به‌طوری‌که بیشترین مقدار کلروفیل b در غلظت شوری ۳ دسی زیمنس بر متر به دست آمد و نتایج نشان داد که بین کنترل و غلظت شوری ۶ و ۹ دسی زیمنس بر متر بر اساس مقدار کلروفیل b تفاوتی مشاهده نشد.

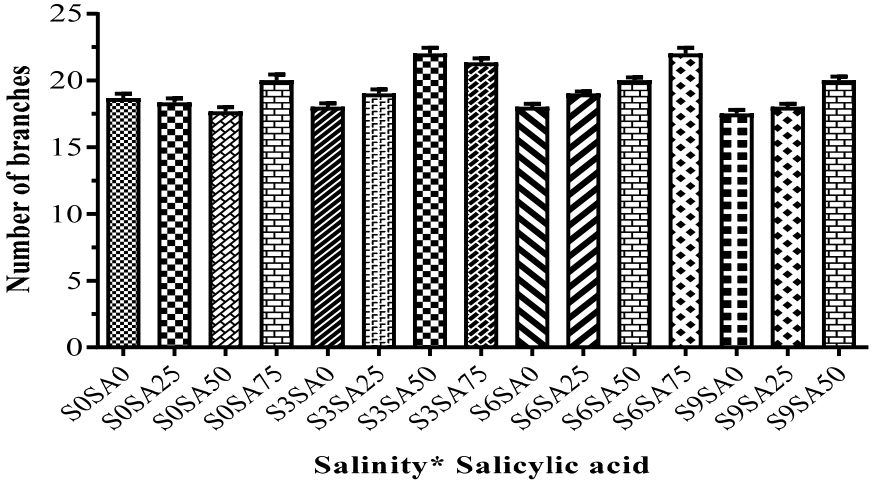
نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش سطح شوری تا ۳ دسی زیمنس بر متر تعداد برگ و تعداد شاخه جانبی

گیاه به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد، درحالی‌که با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید تعداد برگ و تعداد شاخه جانبی گیاه افزایش پیدا می‌کند، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که افزایش غلظت سالیسیلیک اسید می‌تواند میزان تنش گیاه را به شوری تعدیل دهد. درحالی‌که در ۹ دسی زیمنس بر متر باعث کاهش تعداد شاخه جانبی و تعداد برگ شد. تعداد شاخه جانبی و تعداد برگ در تیمارهای ۶ و ۹ دسی زیمنس بر متر کاهش یافت و بیشترین کاهش در سطح شوری ۹ دسی زیمنس بر متر مشاهده شد، اما این کاهش معنی‌دار نبود.



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح شوری و سالیسیلیک اسید روی تعداد برگ

Fig. 1. Mean comparison for the intraction of salinity levels and salysilic acid on number of leaf



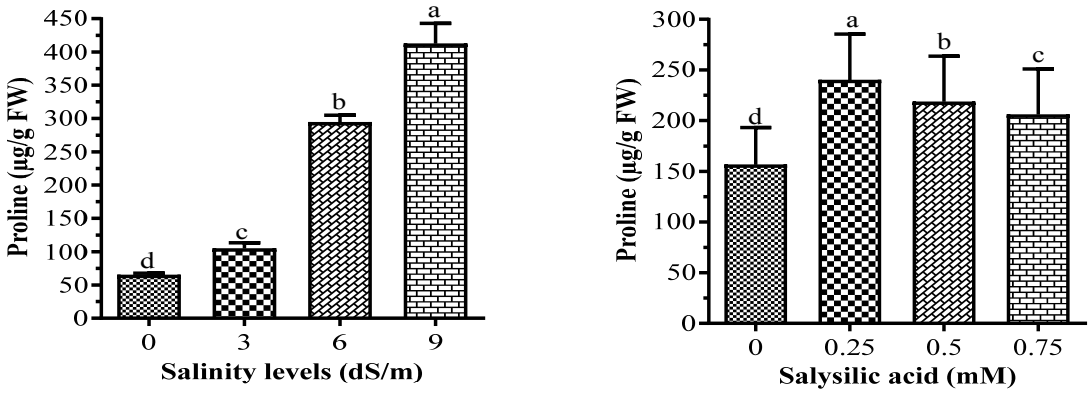
شکل ۲. مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح شوری و سالیسیلیک اسید روی تعداد شاخه جانبی

Fig. 2. Mean comparison for the intraction of salinity levels and salysilic acid on number of branches

مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف شوری روی پرولین نشان داد با افزایش سطح شوری مقدار پرولین برگ افزایش می‌یابد (شکل ۳). مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید نشان داد که با افزایش سطح سالیسیلیک اسید مقدار پرولین برگ کاهش می‌یابد به‌طوری‌که بیشترین مقدار پرولین در غلظت ۰/۲۵ میلی مولار و کمترین مقدار پرولین در غلظت ۰/۷۵ میلی مولار مشاهده شد (شکل ۳). مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف شوری روی مالون دی

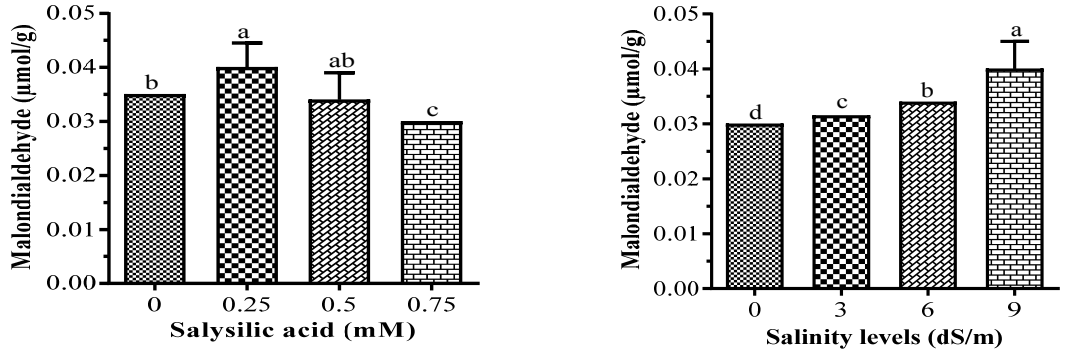
آلدئید نشان داد با افزایش سطح شوری فعالیت آنزیم مالون دی آلدئید برگ افزایش می‌یابد، درحالی‌که با افزایش سطح سالیسیلیک اسید میزان فعالیت آنزیم مالون دی آلدئید برگ کاهش می‌یابد (شکل ۴).

مقایسه میانگین اثرات متقابل غلظت‌های مختلف شوری و سالیسیلیک اسید روی سوپر اکسید دیسموتاز تفاوت معنی‌داری نشان داد به‌طوری‌که بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (۰/۴۷±۶۳/۰) در غلظت صفر دسی زیمنس بر متر شوری و غلظت صفر میلی مولار سالیسیلیک اسید مشاهده شد و کمترین میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (۲/۶۳±۳۰/۱) در غلظت ۹ دسی زیمنس بر متر شوری و غلظت ۷۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید مشاهده شد (شکل ۵). نتایج نشان داد که با افزایش سطح شوری و غلظت سالیسیلیک اسید میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز برگ کاهش می‌یابد (شکل ۵).



شکل ۳. مقایسه میانگین مقدار پرولین تحت تنش شوری و تیمار سالیسیلیک اسید

Fig. 3. Mean comparison for prolin content under salinity and salysilic acid treatment



شکل ۴. مقایسه میانگین مقدار مالون دی آلدئید برگ تحت تنش شوری و تیمار سالیسیلیک اسید

Fig. 4. Mean comparison for Malondialdehyde content under salinity and salysilic acid treatment

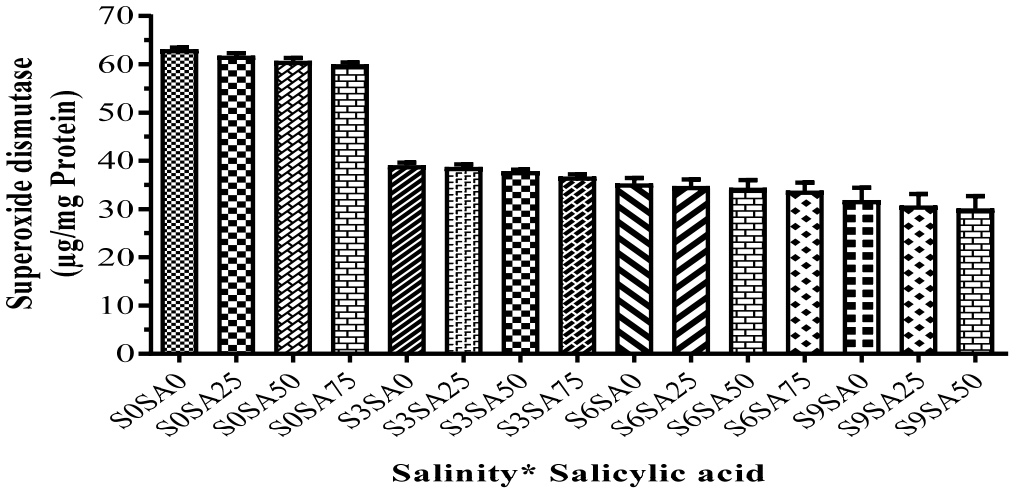
مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف شوری و سالیسیلیک اسید روی کاتالاز نشان داد با افزایش سطح شوری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ افزایش می‌یابد (شکل ۶).

نتایج همبستگی بین صفات به روش ضریب همبستگی پیرسون نشان داد که بین اکثر صفات همبستگی وجود دارد به‌طوری‌که بین برخی از صفات همبستگی مثبت و برخی صفات همبستگی از نوع منفی است. بیشترین مقدار

همبستگی مثبت معنی‌داری بین تعداد شاخه جانبی و تعداد برگ و بیشترین مقدار همبستگی منفی معنی‌داری بین پرولین و سوپراکسید دیسموتاز مشاهده شد (جدول ۳).

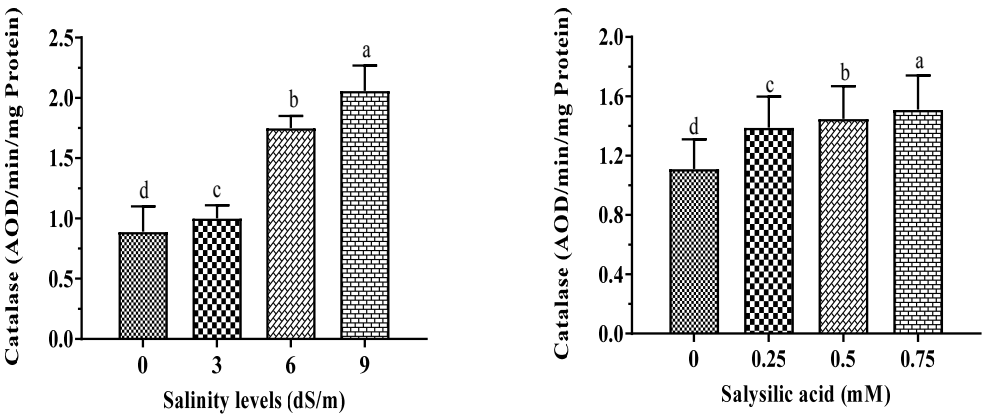
بحث

تنش شوری رشد گیاه و بهره‌وری گیاه را با تأثیر بر صفات مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی و فرآیندها و عملکردها کاهش می‌دهد. اختلال در جذب آب و مواد مغذی توسط گیاهان ممکن است باعث کاهش عملکرد محصول در خاک شور شود. کاهش تعداد برگ و تعداد شاخه جانبی گیاه از صفات مورفولوژیکی اولین اثرات آشکار تنش شوری بر گیاهان تحت تنش است (Muhammad et al., 2010). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش سطح شوری تا ۳ دسی زیمنس بر متر تعداد برگ و تعداد شاخه جانبی گیاه به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد، درحالی‌که با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید تعداد برگ و تعداد شاخه جانبی گیاه افزایش پیدا می‌کند، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که افزایش غلظت سالیسیلیک اسید می‌تواند میزان تنش گیاه را به شوری تعدیل دهد.



شکل ۵. مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح شوری و سالیسیلیک اسید روی مقدار سوپر اکسید دیسموتاز

Fig. 5. Mean comparison for superoxide dismutase under salinity and salysilic acid intraction



شکل ۶. مقایسه میانگین مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز برگ تحت تنش شوری و تیمار سالیسیلیک اسید

Fig. 6. Mean comparison for Catalase under salinity and salysilic acid treatment

جدول ۳. ضرایب همبستگی بین صفات مورفوفیزیولوژیکی در گیاه سیاه‌دانه تحت تنش شوری و تیمار سالیسیلیک اسید به روش پیرسون

Table 3. Correlation coefficient among morphological traits in *Nigella sativa* under salinity stress and salysilic acid

	SL	NB	NL	RL	SFW	RFW	SDW	RDW	TDW	Chlo.a	Chlo.b	T.Chlo	Carote	Proline	MDA	SOD	CAT
SL	1.000																
NB	0.066	1.000															
NL	0.066	1.000**	1.000														
RL	.492**	-0.148	-0.148	1.000													
SFW	.681**	-0.059	-0.059	.486**	1.000												
RFW	0.175	-0.038	-0.038	0.193	.468**	1.000											
SDW	.583**	-0.078	-0.078	.454**	.914**	.434**	1.000										
RDW	-0.271	-0.153	-0.153	-0.235	-0.045	-0.146	-0.053	1.000									
TDW	0.105	-0.174	-0.174	0.061	.487**	0.126	.530**	.819**	1.000								
Chlo.a	-0.204	0.064	0.064	-0.151	-0.284	-0.126	-0.219	-.300*	-.380*	1.000							
Chlo.b	-0.221	0.022	0.022	-0.161	-0.249	-0.055	-0.176	-0.177	-0.252	.895**	1.000						
T.Chlo	-0.199	0.017	0.017	-0.123	-0.286	-0.141	-0.216	-0.264	-.348*	.980**	.898**	1.000					
Carote	-0.010	0.063	0.063	-0.076	-0.160	0.175	-0.200	-.325*	-.391**	.558**	.592**	.555**	1.000				
Proline	0.034	-0.097	-0.097	0.062	0.106	-0.085	0.042	0.136	0.139	-0.022	-0.092	0.031	0.099	1.000			
MDA	-.382**	-0.161	-0.161	-.347*	-.330*	-0.019	-0.286	0.219	0.022	0.141	0.042	0.237	0.027	0.214	1.000		
SOD	0.105	-0.220	-0.220	0.128	0.027	0.081	0.012	-0.166	-0.134	-0.172	-0.174	-0.220	-0.172	-.742**	-0.054	1.000	
CAT	-0.059	0.047	0.047	-.301*	0.024	-0.032	-0.079	0.280	0.193	-0.048	-0.091	-0.042	0.053	.644**	0.102	-.541**	1.000

**: نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد.

SL: طول اندام هوایی، NB: تعداد شاخه جانبی، NL: تعداد برگ، RL: طول ریشه، SFW: وزن تر اندام‌هوایی، RFW: وزن تر ریشه، SDW: وزن خشک اندام هوایی، RDW: وزن خشک ریشه، TDW: وزن خشک کل.

** means significant at 1% probability level

SL:Shoot Length, NB:Number of branches,NL:Number of leaf,RL:Root length,SFW:Shoot fresh weight,RFW:Root fresh wright,SDW: Shoot fresh weight, RDW: Root fresh weight,TDW:Total dry weight, MDA: Malondialdehyde, SOD: Superoxid dismutase, CAT: Catalase

مطالعات انجام‌گرفته توسط زهیر و فرخ (Zahir and Farrukh, 2010) در گیاه *Passiflora edulis* نشان داد که تعداد برگ و طول برگ گیاه تحت تیمار شوری کاهش می‌یابد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. راجشواری و بوهونشواری (Rajeshwari and Bhuvaneshwari, 2017) نشان دادند که اندام هوایی گیاهان مختلف ازجمله گندم، جو، ذرت، آفتابگردان، لوبیا و توت‌فرنگی تحت تیمار سالیسیلیک اسید در شرایط تنش شوری افزایش می‌یابد.

تأثیر سالیسیلیک اسید به عواملی نظیر گونه، مرحله نموی گیاه، نحوه اعمال تیمار و غلظت آن وابسته است، اسید سالیسیلیک در غلظت‌های بالاتر وضعیت اکسایشی گیاه را بیش‌ازحد توان گیاه تحت تأثیر قرار می‌دهد و درنهایت منجر به مرگ گیاه می‌شود (Kovacik et al., 2009). در انگور، غلظت ۱۵۰ میکرومول سالیسیلیک اسید باعث افزایش میزان ترکیبات فنلی بعد از هشت ساعت شده است و بعد از ۲۴ ساعت به اوج خود می‌رسد و درنهایت بعد از ۴۸ ساعت کاهش می‌یابد (Chen et al., 2006). گزارش شده است که سالیسیلیک اسید از مؤثرترین محرک-های شیمیایی برای تحریک تولید متابولیت‌های ثانوی در گیاهان مختلف بوده است که از طریق فعال کردن بیان ژن‌های مسیر بیوسنتزی متابولیت‌های ثانویه باعث افزایش تولید آن‌ها می‌شوند (Zhao et al., 2005). در تحقیق حاضر همسو با نتایج ضرغامی و همکاران (Zarghami et al., 2014) که گزارش دادند سالیسیلیک اسید سبب افزایش شاخص‌های رشدی و محتوای کلروفیل گیاهچه‌های گل اطلسی می‌شود، شاخص-های رشدی و محتوای کلروفیل تحت تیمار سالیسیلیک اسید افزایش یافت که ممکن است به دلیل جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های کلروفیل اکسیداز مرتبط باشد که مانع تجزیه کلروفیل شده و از این طریق سبب افزایش فتوسنتز می‌شوند.

یکی از سازوکارهای مهم گیاهان عالی تحت تیمار تنش شوری انباشت ترکیبات سازگار مانند پرولین است که به‌عنوان یک ماده محافظت‌کننده غیر سمی، برای تنظیم اسمزی در شرایط شوری و سایر تنش‌های محیطی مطرح است (Cayley et al., 1992). چندین گزارش نقش مهم پرولین

را در تنظیم فشار اسمزی، حفاظت از ساختار سلول و عملکرد آن در ارقام متحمل به شوری و حساس را نشان داده است (Koca et al., 2007; Turan et al., 2007). انباشت پرولین یک شاخص فیزیولوژیکی مهم برای پاسخ گیاه به تنش شوری است. در پژوهش حاضر با افزایش سطح شوری میزان پرولین برگ به‌صورت بسیار معنی‌داری افزایش یافت. به‌طوری‌که مقدار پرولین از ۶۴/۸۵ میکروگرم بر گرم وزن تر در تیمار شاهد به مقدار ۴۱۲/۳۲ میکروگرم بر گرم وزن تر در غلظت ۹ دسی زیمنس بر متر شوری افزایش یافت. تجمع پرولین در گیاهان، باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل می‌شود (Smirnoff and Cumbes, 1989)، بنابراین به نظر می‌رسد تجمع پرولین به‌عنوان سازوکاری مؤثر جهت کاهش فعالیت رادیکال‌های آزاد اکسیژن و حفظ محتوای آب یاخته‌ای گیاه، تحت شرایط شوری مطرح باشد. کاربرد سالیسیلیک اسید منجر به کاهش مقدار پرولین گردید. همسو با نتایج تحقیق حاضر، رحیمی تشی و نیکنام (Rahimi-Tashi and Niknam, 2015) گزارش دادند که در گیاه گندم با افزایش سطح شوری، مقدار پرولین برگ کاهش می‌یابد. کاهش در سطح تجمع پرولین در گیاه تحت تیمار سالیسیلیک اسید ممکن است به علت فروتنظیمی آنزیم‌های زیست‌آزمایی پرولین و نیز فراتنظیمی آنزیم‌های تخریب پرولین باشد (Sakhabutdinova et al., 2003)؛ بنابراین محلول‌پاشی گیاه با سالیسیلیک اسید در شرایط تنش شوری می‌تواند باعث بهبود رشد گیاه شده و درنتیجه تحمل به تنش شوری را افزایش دهد.

مالون دی آلدئید یک محصول پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع‌نشده در فسفولیپیدها است. از سطح پراکسیداسیون لیپیدها به‌عنوان یک نشانه رادیکال آزاد مضر برای غشاء سلولی تحت شرایط تنش استفاده شده است؛ بنابراین MDA به‌عنوان یک معرف برای بررسی میزان صدمات غشاء در شرایط تنش مورداستفاده قرار می‌گیرد (Jaleal et al., 2007 ؛Katsuhara et al., 2005) در پژوهش حاضر افزایش مقدار مالون دی آلدئید به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید احتمالاً به دلیل اثرات بازدارندگی شوری در غلظت‌های بالا است که با ایجاد رادیکال‌های آزاد واکنش‌پذیر، باعث پراکسیداسیون اسیدهای چرب شده و مالون دی آلدئید افزایش می‌یابد، درحالی‌که کاربرد سالیسیلیک اسید منجر به کاهش مقدار مالون دی آلدئید گردید که حاکی از این است که اثرات مخرب تنش شوری در گیاه به‌وسیله تیمار با سالیسیلیک اسید تا حدی بهبودیافته است. همسو با نتایج تحقیق حاضر، رحیمی تشی و نیکنام (Rahimi-Tashi and Niknam, 2015) در مطالعه‌ای روی گیاه گندم و پاندا و آپدایای (Panda and Upadhyay, 2004) گزارش دادند که با افزایش سطح شوری، مقدار مالون دی آلدئید برگ کاهش می‌یابد. کاهش آسیب غشای سلولی در پاسخ به تیمار سالیسیلیک اسید که با افزایش وزن خشک گیاه تحت تنش همراه است می‌تواند بیانگر مسئله القاء سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی به‌وسیله سالیسیلیک اسید، با از بین بردن رادیکال‌های آزاد به‌طور مستقیم و یا توسط آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باشد که خسارت ناشی از این انواع فعال را کاهش دهد و درنتیجه از اکسایش چربی‌ها جلوگیری نموده و مانع افزایش مالون دی آلدئید شود (Noctor and Foyer, 1998).

در این مطالعه میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز برگ با افزایش سطح شوری کاهش یافت و بیشترین میزان کاهش در سطح شوری ۹ دسی زیمنس بر متر نسبت به شاهد مشاهده شد. کاهش میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گزارش فوق با نتایج پژوهش حاضر هم‌پوشانی دارد.

یکی از تغییرات بیوشیمیایی که در تنش‌های محیطی ازجمله تنش اکسیداتیو رخ می‌دهد تولید انواع اکسیژن‌های فعال است که می‌تواند باعث تخریب عمده غشاء چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک شوند (Garratt, 2002). بنابراین هنگامی‌که در شرایط تنشی، تولید گونه‌های فعال اکسیژن افزایش می‌یابد، برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاهی مثل کاتالازها فعال می‌شوند که نقش بسیار مهمی در پاسخ به تنش غیر زیستی ازجمله تنش شوری دارند (Shalini, 2003 and Molassiotis, 2006). در پژوهش حاضر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ با افزایش سطح شوری افزایش یافت و بیشترین فعالیت در سطح شوری ۹ دسی زیمنس بر متر مشاهده شد.

تنش شوری باعث کاهش رشد و عملکرد گیاه می‌شود، تیمار گیاه با سالیسیلیک اسید به‌عنوان یکی از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی می‌تواند تحمل گیاه را برای مقابله با تنش شوری و آسیب‌های ناشی از آن بالا ببرد. این تنظیم‌کننده به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی عمل می‌کند. نتایج کلی نشان داد که تیمار سالیسیلیک اسید سبب

بالا بردن توان آنتی‌اکسیدانی گیاه در مقابله با تنش شوری می‌شود. بااین‌حال، برای نتیجه‌گیری بهتر در مورد تأثیر تیمار این ماده استفاده از این ترکیب در دامنه وسیع‌تری موردنیاز باشد. به‌عنوان‌مثال در اکثر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی موردبررسی تفاوت معنی‌داری بین تأثیر غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید مشاهده نشده است. درحالی‌که که از اثر مثبت آن نیز در بهبود آسیب‌های ناشی از تنش نمی‌توان چشم‌پوشی کرد. به‌طورکلی کاربرد سالیسیلیک اسید منجر به بهبود پارامترهای بیوشیمیایی و افزایش تحمل گیاه در برابر تنش شوری گردید؛ بنابراین می‌توان گفت که تیمار این ماده می‌تواند راهکار مناسبی برای کاهش اثرات مضر ناشی از تنش شوری در سیاه‌دانه باشد. از بررسی کلیه صفات اندازه‌گیری شده می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که آستانه تحمل این گیاه به شوری حداکثر ۶ دسی زیمنس بر متر است و در بین غلظت‌های سالیسیلیک اسید به‌کاررفته، غلظت ۰/۵ میلی مولار بیشترین تأثیر مثبت را در کاهش اثرات ناشی از تنش شوری بر گیاه داشتند.

منابع

Aebi, H.E., 1984. Catalase. In Method of Enzymatic analysis, VCH, Weinheim, Germany-Deerfield, FL. 3, 273-286.

Bassim, A., 2003. Some characteristics of nigella (Nigella sativa L.) seed cultivated in Egypt and its lipid profile. Food Chemistry. 83, 63-68.

Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil. 39, 205-207.

Beauchamp C. Fridovich. I. 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Annals of Biochemistry. 44, 276 –287.

Borzouei, A., Kafi, M., Akbari-Ghogdi, E., Mousavi-Shalmani, M., 2012. Long term salinity stress in relation to lipid peroxidation, super oxide dismutase activity and proline content of salt-sensitive and salt-tolerant wheat cultivars. Chilean Journal of Agricultural Research. 72, 476-482.

Cayley, S., Lewis, B.A., Record, M.T., 1992. Origins of the osmoprotective properties of betaine and proline in Esherichia coli K-12. Journal of Bacteriology. 174, 1586-1595.

Chen, J.Y., Wen, P.F., Kong, W., Pan, Q.H., 2006. Effect of salicylic acid on phenylpropanoids and phenylalanine ammonia-lyase in harvested grape berries. Postharvest Biology and Technology. 40, 64-72.

Fariduddin, Q., Hayat, S., Ahmad, A., 2003. Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity and seed yield in *Brassica juncea*. International Journal for Photosynthesis Research. 41, 281–284.

Garratt L.C., Janagoudar, B.S., Lowe, K.C., Anthony, P., Power, J.B., Davey, M.R., 2002. Salinity tolerance and antioxidant status in cotton cultures. Free Radical Biology and Medicine. 33, 502-511.

Hayat, Q., Hayat, S., Irfan, M., Ahmad, A., 2010. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. Environmental and Experimental Botany. 68, 14–25.

Heath, R.L., Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics. 125, 189-198.

Jaleel, C.A., Gopi, B., Sankor, P., Manivannaon, A., Kishorekumar, R.S., Panneers, L., 2007. Studies on germination, seedling vigner, lipid peroxidatoin and proline metabolism in Catharathus roseus seedling under solt stress. South African Jornal of Botany. 73, 190- 195.

Katsuhara, M., Otsuka, T., Ezaki, B., 2005. Salt stress induced lipid peroxidation is reduced by glurathione S. Tran frease, But this reduction of lipid proxides is not enough for a recovery of root growth in Arabidopsis. Plant Sciences. 169, 369- 373.

Khan, W., Prithviraj, B., Smith, D.L., 2003. Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. Plant Physiology. 160, 485–492.

Kiarostami, K.H., Mohseni, R., Saboora, A., 2010. Biochemical changes of Rosmarinus officinalis under salt stress. Journal of Stress Physiology and Biochemistry. 6, 114-122

Koca, H., Bor, M., Ozdemir, F., Turkan, I., 2007. The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars. Environmental and Experimental Botany. 60,344-351

Kovacik, J., Backor, M., Strnad, M., Repcak, M., 2009. Salicylic acid-induced changes to growth and phenolic metabolism in Matricaria chamomilla plants. Plant Cell Reports. 28, 135–143.

Krantev A., Yordanova R., Janda T., Szalai, G., Popova, L., 2008. Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. Journal of Plant Physiology. 165, 920–931.

Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology. 148, 350-382.

Molassiotis, A., Sotiropoulos, T., Tanou, G., Diamantidis, G., Therios, I., 2006. Boron-induced oxidative damage and antioxidant and nucleolytic responses in shoot tips culture of the apple rootstock EM 9 (*Malus domestica* Borkh). Environmental and Experimental Botany. 56, 54-62.

Muhammad, Z., Hussain, F., 2010. Vegetative growth performance of five medicinal plants under NaCl salt stress. Pakistan Journal of Botany. 42, 303-316.

Noctor, G., Foyer C.H., 1998. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. Annual Review in Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 49, 249-279.

Panda, S.K., Upadhyay, R.K., 2004. Salt stress induces oxidative alterations and antioxidative defense in the roots of *Lemna minor*. Biology Plant. 48, 249-253.

Rahimi-Tashi, T., Niknam, V., 2015. Evaluation of salicylic acid pretreatment and salinity stress on some physiological and biochemical parameters in *Triticum aestivum* L. Iranian Journal of Plant Biology. 28, 297-306

Rajeshwari, V., Bhuvaneshwari, V., 2017. Salicylic Acid Induced Salt Stress Tolerance in Plants. International Journal of Plant Biology Research. 5, 1-6.

Ramezani, E., Ghajar-Sepanlou, M., Ali Naghdi Badi H., 2011. The effect of salinity on the growth, morphology and physiology of *Echium amoenum* Fisch. and Mey. African Journal of Biotechnology. 10, 8765-8773.

Salem, M.L., 2005. Immunomodulatory and therapeutic properties of the Nigella sativa L. seeds. International Immunopharmacology, 5, 1749-1770

Sakhabutdinova, A.R., Fatkhutdinova, D.R., Bezrukova, M.V., Shakirova, F.M., 2003. Salicylic acid prevents damaging action of stress factors on wheat plants. Bulgarian Journal of Plant Physiology (special issue). 314–319.

Shalini, V., Duey, R.S., 2003. Lead toxicity induces lipid peroxidation & alters the activities of anrioxidant enzymes in growing rice plants. Plant Science. 164, 645-655.

Silva-Ortega, C.O., Ochoa-Alfaro, A.E., Reyes-Agüero, J.A., Aguado-Santacruz, G.A., Jiménez-Bremont, J.F., 2008. Salt stress increases the expression of p5cs gene and induces proline accumulation in cactus pear. Plant Physiology and Biochemistry. 46, 82-92.

Smirnoff, N., Cumbes, Q.J., 1989. Hydroxyl radical scavenging of compatible solutues. Phytochemistry. 28, 1057-1060

Turan, M.A., Turkmen, N., Taban, N., 2007. Effect of NaCl on stomatal resistance and proline, chlorophyll, Na, Cl and K concentrations of lentil plants. Journal of Agronomy. 6, 378-381.

Vicente, M.R., Plasencia, J., 2011. Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and Development. Journal of Experimental Botany. 62, 3321–3338.

Yusuf, M., Hasan, S.A., Ali, B., Hayat, S., Fariduddin, Q., Ahmad, A., 2008. Effect of salicylic acid on salinity induced changes in *Brassica juncea*. Integrative Plant Biology. 50, 1–4.

Zahir, M., Farrukh, H., 2010. Effect of NaCl salinity on the germination and seedling growth of some medicinal plants. Pakistan Journal of Botany. 42, 889-897

Zarghami-Moghaddam, M., Shoor, M., Ganjeali, A., Moshtaghi, N., Tehranifar, A., 2014. Effect of salicylic acid on morphological and Ornamental characteristics of petunia hybrida at drought stress. Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences. 4, 523-532.

Zhao, J., Davis, L., Verpoorte, R., 2005. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. Biotechnology Advances. 23, 283–333.