تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد سیزدهم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۹۹
۱۱۶۹-۱۱۸۱
http://dx.doi.org/10.22077/escs.2020.2071.1554

مقاله پژوهشی

مطالعه کاربرد اسید سالیسیلیک بر پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه دارویی سیاه‌دانه (*Nigella sativa L.*) تحت شرایط آبیاری مختلف

حسین آزادواری[۱]، معصومه نعیمی[۲*]، عبداللطیف قلی‌زاده[۳]، علی نخ‌زری مقدم[۲]

۱. کارشناس ارشد کشاورزی اکولوژیک، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبدکاووس
۲. دکتری اکولوژی گیاهان زراعی، استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبدکاووس
۳. دکتری خاک‌شناسی- گرایش شیمی و حاصلخیزی خاک و تغذیه گیاه، استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبدکاووس

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۱/۲۴؛ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۴/۱۶

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر محلول‌پاشی و پیش‌تیمار با اسید سالیسیلیک بر برخی از صفات فیزیولوژیک و عملکرد گیاه دارویی سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) تحت شرایط رژیم‌های مختلف آبیاری، آزمایشی در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی گنبدکاووس در زمستان و بهار سال ۹۷-۱۳۹۶اجرا شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. سطوح مختلف آبیاری در چهار سطح شامل: عدم آبیاری (دیم)، یک‌بار آبیاری در مرحله گلدهی، یک‌بار آبیاری در مرحله پر شدن دانه و انجام دو بار آبیاری به‌ترتیب در زمان گلدهی و پر شدن دانه و عامل اسید سالیسیلیک در سه سطح شامل: عدم مصرف اسید سالیسیلیک (شاهد)، پیش‌تیمار بذر با اسید سالیسیلیک و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک به‌میزان ۰/۵ میلی‌مولار در لیتر در نظر گرفته شد. پس از اعمال تیمارها نمونه‌برداری‌های لازم از گیاه به عمل آمد و صفاتی از قبیل کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید، نشت الکترولیت، پرولین، قندهای محلول و درنهایت عملکرد دانه در گیاه ارزیابی شدند. نتایج نشان داد که اثرات ساده آبیاری و اسید سالیسیلیک و اثرات متقابل آن‌ها بر کلیه صفات موردمطالعه معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد، کاربرد محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک باعث افزایش صفاتی مانند رنگیزه‌های فتوسنتزی، پرولین، قندهای محلول و عملکرد دانه در تمام شرایط آبیاری گردید. پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک کم‌ترین نشت الکترولیت را به خود اختصاص داد. بیش‌ترین عملکرد دانه در تیمار محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک به‌میزان ۱۳۳۰ کیلوگرم در هکتار در شرایط دو بار آبیاری و کم‌ترین عملکرد دانه در تیمار عدم مصرف اسید سالیسیلیک به‌میزان ۸۱۷ کیلوگرم در هکتار در شرایط دیم به دست آمد. با توجه به مشاهدات این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از اسید سالیسیلیک به‌صورت محلول‌پاشی، راهکاری مناسب به‌منظور افزایش مقاومت گیاه سیاه‌دانه در برابر تنش کم‌آبی است.

***واژه‌های کلیدی*: پرولین، رنگیزه‌های فتوسنتزی، عملکرد دانه، قندهای محلول**

مقدمه

امروزه کشت گیاهان دارویی به دلیل اثرات سوء ناشی از مصرف داروهای شیمیایی در بیماران و هم‌چنین نیاز مواد اولیه کارخانه‌های داروسازی موردتوجه قرار گرفته است. از طرفی، شرایط اکولوژیک مختلف در کشور پتانسیل خوبی برای تولید دامنه وسیعی از این گیاهان را فراهم می‌نماید. سیاه‌دانه با نام علمی (*Nigella sativa* L.) گیاهی دارویی از خانواده آلاله (Ranunculaceae) است. دانه‌های این گیاه ازلحاظ دارویی به‌عنوان بادشکن، قاعده آور، مسهل، شیرافزا، ضد یبوست و تقویت‌کننده نیروی جنسی در مردان کاربرد دارد (Khoshbin, 2009).

در طبیعت تنش‌های محیطی مختلفی بقاء، عملکرد و رشد گیاهان را تهدید می‌کنند. در بین تنش‌های محیطی،

* نگارنده پاسخگو: معصومه نعیمی. پست الکترونیک: Naeemi_701@yahoo.com

تنش خشکی بیش‌ترین صدمات را بر تولیدات گیاهی وارد می‌کند. واکنش گیاهان به کمبود آب و تنش خشکی بخش وسیعی از فعالیت‌های تحقیقاتی را به خود اختصاص داده است و تمامی این مطالعات، خشکی را مهم‌ترین عامل محدودکننده محصولات کشاورزی دانسته‌اند (Rezapur et al., 2011). پاسخ گیاهان به تنش خشکی دارای مکانیسم‌های پیچیده‌ای است که شامل تغییرات مولکولی و گسترش آن به فعالیت‌های متابولیسمی گیاه و تأثیر بر فیزیولوژی و مورفولوژی و گیاه است (Molnar et al., 2004). تنش خشکی باعث تجزیه نشاسته و مصرف تدریجی آن می‌شود. کاهش مقدار نشاسته درنتیجه فعالیت آمیلاز، منجر به افزایش مقدار قندهای محلول می‌گردد (Maiti et al., 2000). بروز تنش خشکی سبب اختلالات متابولیسمی در سلول‌های گیاهی می‌شود که از آن جمله می‌توان به افزایش تولید فرم‌های فعال اکسیژن[1] نظیر رادیکال سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل به‌عنوان یکی از فاکتورهای اصلی اختلالات متابولیسمی سلول اشاره کرد (Mittler, 2002).

تنش خشکی در مرحله رویشی به‌طور معنی‌داری باعث کاهش محتوای کلروفیل a، b و کلروفیل کل در ارقام نخود شد (Mafakheri et al., 2011). کاهش در کلروفیل در شرایط تنش خشکی به دلیل آسیب به کلروپلاست توسط گونه‌های اکسیژن فعال رخ می‌دهد. به نظر می‌رسد در شرایط تنش ملایم کاهش میزان فتوسنتز گیاه در درجه اول ناشی از بسته شدن روزنه‌ها باشد، اما در شرایط محدودیت آبی اثر روزنه‌ای ممکن است با افزایش مقاومت مزوفیل و تأثیر سوئی که تنش بر غشای تیلاکوئید می‌گذارد، تشدید شود (Khan et al., 2003). بابایی و همکاران (Babaee et al., 2010) گزارش کردند که تحت تأثیر تنش خشکی، اسیدآمینه پرولین در گیاه آویشن افزایش یافت.

باجی و همکاران (Bajii et al., 2001) افزایش معنی‌دار پرولین و قندهای محلول در گیاهان تحت تنش را نسبت به گیاهان شاهد گزارش دادند. آن‌ها بیان کردند که در شرایط تنش خشکی قندها اصلی‌ترین محلول‌های آلی هستند که در تنظیم اسمزی شرکت دارند.

یکی از ترکیباتی که در ایجاد تحمل و مقاومت در برابر تنش خشکی در گیاه مؤثر است ترکیب شبه هورمونی اسید سالیسیلیک است. اسید سالیسیلیک از ترکیبات فنلی است که در تعداد زیادی از گیاهان به‌وسیله سلول‌های ریشه تولید می‌شود و نقش مهمی در رشد و نمو گیاهان ایفا می‌کند (Khan et al., 2015). مکانیسم عمل اسید سالیسیلیک در برابر تنش‌ها به نقش آن در تنظیم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی و ترکیبات دارای گونه‌های اکسیژن فعال در گیاه برمی‌گردد (Khan et al., 2003; Shi, and Zhu, 2008). اسید سالیسیلیک از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی، گیاه را از صدمات به‌دست‌آمده از واکنش‌های اکسیداتیو حفظ می‌کند.

فحاد و همکاران (Fahad et al., 2015) گزارش کردند کاربرد اسید سالیسیلیک در شرایط تنش مقدار هورمون‌های گیاهی را تغییر داده و مکانیسم‌های محافظت گیاهان در برابر تنش را فعال می‌کند. کاربرد اسید سالیسیلیک خارجی می‌تواند باعث افزایش اسید سالیسیلیک درون‌زا که یک علامت القایی در برابر پاسخ‌های دفاعی ویژه گیاهان است شود (Moradi Marjaneh and Goldani, 2011). نتایج بررسی‌های محققان بر گندم نشان داد که گیاهان محلول‌پاشی شده با ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید سالیسیلیک از مقاومت بالایی در برابر نوسانات تنش آبی برخوردار بودند (Noreen et al., 2017). در پژوهشی افزایش اسید سالیسیلیک در غلظت‌های مختلف سبب افزایش مقدار پرولین و بهبود مقاومت گیاه دارویی مرزه در شرایط تنش خشکی گردید (Yazdanpanah et al., 2010). اثر متقابل اسید سالیسیلیک و کم‌آبیاری بر میزان کلروفیل برگ در گیاه همیشه‌بهار معنی‌دار بود و بالاترین میانگین شاخص کلروفیل از تیمار ۲۰۰ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به همراه آبیاری پس از رسیدن به ۵۰ درصد ظرفیت زراعی حاصل شد (Moradi Marjaneh and Goldani, 2011).

هدف از انجام این پژوهش تعیین مناسب‌ترین نحوه کاربرد اسید سالیسیلیک به‌عنوان القاء کننده تحمل به تنش خشکی و بررسی تأثیر کاربرد اسید سالیسیلیک بر صفات فیزیولوژیک و عملکرد گیاه دارویی سیاه‌دانه تحت شرایط رژیم‌های مختلف آبیاری بود.

[1] Reactive Oxygen Species

مواد و روش‌ها

این پژوهش در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبدکاووس با مختصات طول جغرافیایی ۵۵ درجه و ۱۲ دقیقه طول شرقی و ۳۷ درجه و ۱۶ دقیقه عرض شمالی و ارتفاع ۴۵ متر از سطح دریا در زمستان و بهار سال زراعی ۹۷-۱۳۹۶ اجرا شد. به‌منظور ارزیابی صفات فیزیکوشیمیایی خاک از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری خاک محل آزمایش نمونه‌های خاک جمع‌آوری شد و پس از هوا خشک‌کردن و عبور از الک ۲ میلی‌متری، بعضی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن ازجمله بافت خاک به روش هیدرومتری (Bouyoucos, 1962)، pH و EC در عصاره اشباع (Haluschak, 2006)، درصد کربن آلی به روش والکلی و به لک (Walkley and Black, 1934)، مواد خنثی شونده به روش تیتراسیون برگشتی با سود (Nelson, 1982)، نیتروژن کل خاک به روش هضم کجلدال (Bremner and Mulvaney, 1982) و فسفر قابل‌جذب به روش اولسن (Sparks et al., 1996) تعیین گردید. بر اساس نتایج آزمایش، خاک مزرعه دارای بافت سیلتی‌لومی، اسیدیته ۷/۶ و هدایت الکتریکی ۰/۹۶ میلی‌زیمنس بر متر بود (جدول ۱).

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش (عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری)

Table 1. Physical and chemical characteristics of the soil in experimental site (0-30 cm depth)

بافت خاک Soil texture	لای (درصد) Silt (%)	شن (درصد) Sand (%)	رس (درصد) Clay (%)	فسفر قابل‌جذب (قسمت در میلیون) Available phosphorus (ppm)	نیتروژن کل (درصد) Total nitrogen (%)	کربن آلی (درصد) Organic carbon (%)	مواد خنثی شونده (درصد) Self-neutralizing material (%)	pH	EC ds/m
Silt-Loam	56	13	31	13	0.08	0.78	10.8	7.6	0.96

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. سطوح آبیاری در چهار سطح شامل: عدم آبیاری (دیم)، یک‌بار آبیاری در مرحله گلدهی، یک‌بار آبیاری در مرحله پر شدن دانه و انجام دو بار آبیاری به‌ترتیب در زمان گلدهی و پر شدن دانه و عامل اسید سالیسیلیک در سه سطح شامل: عدم مصرف اسید سالیسیلیک (شاهد)، پیش‌تیمار بذر با اسید سالیسیلیک (تهیه‌شده از شرکت Merck آلمان) با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک به میزان ۰/۵ میلی‌مولار در لیتر در نظر گرفته شدند. به‌منظور اعمال تیمارهای مربوط به پیش‌تیمار بذر با اسید سالیسیلیک، پس از تهیه غلظت اسید سالیسیلیک بذرها در محلول موردنظر به مدت شش ساعت در تاریکی غوطه‌ور شد (Metwally et al., 2003). بذور پس از شستشو توسط آب مقطر در دمای اتاق خشک و در مزرعه کشت شدند.

کاشت بذور در تاریخ ۱۳۹۶/۱۱/۱۵ به‌صورت دستی انجام شد. فاصله بین ردیف‌های کاشت ۳۰ سانتی‌متر و فاصله بین بوته‌ها از هم ۵ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. کرت‌هایی با ابعاد ۱۲۰ سانتی‌متر در ۲۵۰ سانتی‌متر ایجاد و در داخل هر کرت چهار ردیف برای کاشت در نظر گرفته شد. در طول اجرای آزمایش هیچ نوع علف‌کش، آفت‌کش و یا قارچ‌کشی استفاده نشد. پس از سبز شدن بذور در مرحله ۴ تا ۶ برگی اقدام به تنک‌کاری در فاصله معین شد و کنترل علف‌های هرز هم به‌طور مرتب از طریق وجین دستی صورت گرفت. برای تیمارهای محلول‌پاشی نیز پس از تهیه محلول اسید سالیسیلیک با غلظت موردنظر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در مرحله گلدهی کامل (صد درصد گلدهی) و پر شدن دانه به‌میزان ۰/۵ میلی‌مولار در لیتر در نظر گرفته شد. آبیاری نیز به‌صورت سطحی انجام شد. برداشت گیاه بر اساس مشاهده علائم ظاهری رسیدگی شامل زردی و خشک شدن برگ‌ها و کپسول‌ها (فولیکول) و سیاه‌رنگ شدن بذور در کپسول در تاریخ ۱۳۹۷/۳/۱۵ صورت گرفت. به‌منظور اندازه‌گیری صفات، در مرحله پر شدن دانه از هرکدام از تیمارهای آزمایشی نمونه‌برداری انجام شد. نمونه‌برداری‌ها از دو برگ بالایی کامل شده بوته‌ها صورت گرفت.

در طی اجرای آزمایش و پس از اعمال تیمارها موردنظر، به‌منظور ارزیابی صفات فیزیولوژیک، نمونه‌های یک گرمی از برگ‌های سالم هر بوته برداشت و بلافاصله بعد از قرار دادن در ورقه‌های آلومینیومی، در نیتروژن مایع منجمد شدند و در پایان نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش‌های مربوطه در فریزر

(۸۰-) درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نمونه‌های برگی ۱۰ روز بعد از اعمال تیمارها و در ساعت ۱۱ برداشت شدند.

استخراج و سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل و کارتنوئید)

به‌منظور استخراج و سنجش میزان کلروفیل و کارتنوئید مطابق روش لیچنتالر (Lichtenthaler, 1987) از معادلات زیر استفاده شد:

$$\text{Chlorophyll a} = (12.25\times A_{663}) - (2.79\times A_{645}) \quad [۱]$$

$$\text{Chlorophyll b} = (21.51\times A_{645}) - (5.1\times A_{663}) \quad [۲]$$

$$\text{Ch(a+b)} = \text{Chl}_a + \text{Chl}_b \quad [۳]$$

$$\text{Carotenoides} = (1000A_{470} - 1.82\ \text{chl}_a - 85.25\ \text{chl}_b)/198 \quad [۴]$$

میزان جذب نمونه‌ها برای کلروفیل a، b و کارتنوئیدها به‌ترتیب در طول‌موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ و با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل Biochrom libera-S22) صورت گرفت. در روابط فوق A نشان‌دهنده شدت جذب در طول‌موج‌های مربوط برحسب نانومتر است.

اندازه‌گیری پرولین

سنجش میزان پرولین برگ به روش بیتس و همکاران (Bates et al., 1973) انجام شد. بدین منظور، ۵۰۰ میلی‌گرم نمونه گیاهی با ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد مخلوط شد و سپس مخلوط حاصل با کاغذ صافی، صاف گردید. دو میلی‌لیتر از عصاره حاصل به لوله‌آزمایش منتقل شد و سپس دو میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و دو میلی‌لیتر معرف ناین هیدرین افزوده و یک ساعت در حمام آب گرم مدل Arian Azma در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا رنگ صورتی گلی ظاهر شود. سپس جهت توقف واکنش‌ها نمونه درون ظرف حاوی یخ قرار گرفت و بعد از سرد شدن، به لوله‌آزمایش چهار میلی‌لیتر از محلول تولوئن اضافه گردید. در این مرحله در هر لوله، دو فاز تشکیل شد. فاز بالایی که حاوی کمپلکس رنگی (قرمز، بسته به غلظت پرولین متغیر بوده و از صورتی تا قرمز گلی رنگ تغییر می‌کند) جهت اندازه‌گیری میزان پرولین مورداستفاده قرار گرفت و میزان جذب نور آن در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Biochrom libera-S22 اندازه‌گیری گردید و میزان پرولین در نمونه موردبررسی با استفاده از نمودار استاندارد برحسب میلی‌گرم در یک گرم وزن تر گیاه برآورد شد.

اندازه‌گیری قندهای محلول

به ۰/۱ ماده خشک گیاهی (برگ)، ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد و به مدت یک هفته در یخچال نگهداری شد. پس از گذشت یک هفته یک میلی‌لیتر از محلول رویی نمونه برداشته و حجم آن با آب مقطر به ۲ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس بر روی آن یک میلی‌لیتر فنل ۵ درصد اضافه کرده خوب هم زده و پس‌ازآن ۵ میلی‌لیتر سولفوریک اسید غلیظ به آن اضافه شد، محلول زردرنگی به دست آمد که به‌مرورزمان تغییر رنگ داده و به قهوه‌ای روشن تمایل پیدا کرد. پس از ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه با استفاده از طول‌موج ۴۸۵ نانومتر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Biochrom libera-S22 اندازه‌گیری گردید (Kochert, 1987).

اندازه‌گیری نشت الکترولیت

برای سنجش میزان نشت الکترولیت از روش بن‌حامد و همکاران (Ben Hamed et al., 2007) استفاده شد. برای این منظور، ۰/۲ گرم از بافت سالم و تازه برگ گیاه را بعد از شستشو با آب مقطر برای شستشوی یون‌های احتمالی از سطح گیاه درون لوله‌های آزمایش در پیچ‌دار قرار داده و ۱۰ میلی‌لیتر آب بی‌یون شده به آن اضافه گردید. سپس لوله‌های آزمایش را به مدت ۲ ساعت درون حمام آب‌گرم با دمای ۳۲ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده و میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها (EC_0) با استفاده از EC متر اندازه‌گیری شد. سپس لوله‌های آزمایش در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو گردیده و بعد از خنک شدن لوله‌ها تا ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها (EC_1) مجدداً اندازه‌گیری گردید و با فرمول زیر درصد نشت الکترولیت محاسبه شد.

$$\text{CMS}=1-(EC_0/EC_1)\times 100 \quad \text{نشت الکترولیت (درصد)} \quad [۵]$$

عملکرد دانه

پس از رسیدگی فیزیولوژیک بوته‌ها، دو ردیف کناری و نیم‌متر از ابتدا و انتهای هر کرت به‌عنوان اثر حاشیه‌ای حذف و مابقی

بوته‌ها برداشت شد. سپس کپسول‌های کلیه بوته‌ها در سطح برداشتی کوبیده شد و دانه‌های به‌دست‌آمده با ترازوی دقیق توزین و عملکرد دانه در واحد سطح (سطحی معادل ۰/۹ مترمربع) ثبت گردید (Foruzandeh et al., 2018).

محاسبات آماری

محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام گرفت و میانگین‌های به‌دست‌آمده با استفاده از آزمون LSD و در سطح احتمال پنج درصد با یکدیگر مقایسه آماری شدند.

نتایج و بحث

رنگیزه‌های فتوسنتزی

نتایج تجزیه واریانس گویای آن است که محتوای کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید تحت تأثیر معنی‌دار سطوح مختلف آبیاری، اسید سالیسیلیک و اثر متقابل آبیاری و اسید سالیسیلیک قرار گرفتند (P<۰/۰۱، جدول ۲). تیمار محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در تمام شرایط آبیاری توانست بیش‌ترین میزان کلروفیل a، b **و** کل را به خود اختصاص دهد (جدول ۳). بیش‌ترین میزان کلروفیل a، b و کل مربوط به تیمار محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در شرایط دو بار آبیاری بود (جدول ۳). کم‌ترین میزان کلروفیل‌ها مربوط به تیمار عدم مصرف اسید سالیسیلیک در شرایط دیم بود (جدول ۳). بیش‌ترین میزان کارتنوئید مربوط به تیمار محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در شرایط آبیاری در مرحله گلدهی بود که با بذوری که با اسید سالیسیلیک پیش‌تیمار شده بودند ازنظر آماری اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۳). کم‌ترین محتوای کارتنوئید متعلق به تیمار عدم مصرف اسید سالیسیلیک در شرایط دیم بود (جدول ۳).

کاهش میزان کلروفیل در تیمار عدم مصرف اسید سالیسیلیک در شرایط دیم می‌تواند به‌واسطه کاهش سنتز کلروفیل و هم‌چنین ناشی از تخریب آن باشد. میزان کلروفیل در گیاهان یکی از فاکتورهای مهم در حفظ ظرفیت فتوسنتزی است (Farzaneh et al., 2013). کاهش فعالیت فتوسیستم II، کاهش فعالیت آنزیم روبیسکو و مهار سنتز ATP، باعث می‌شود که تشکیل گونه‌های اکسیژن آزاد در کلروپلاست‌ها افزایش یابد.

یکی دیگر از عوامل کاهش کلروفیل‌ها، رقابت آنزیم گلوتامیل کیناز (آنزیم کاتالیز کننده پرولین) و آنزیم گلوتامات لیگاز (اولین آنزیم مسیر بیوسنتز کلروفیل) در شرایط تنش خشکی است که باعث شده تا پیش‌ساز گلوتامات، بیش‌تر به مصرف پرولین برسد و درنتیجه بیوسنتز کلروفیل با محدودیت مواجه شود (Ramak et al., 2014).

اسید سالیسیلیک با افزایش فعالیت آنزیم‌های درگیر در فتوسنتز و هم‌چنین کاهش گونه‌های فعال اکسیژن با تحت تأثیر قرار دادن فرآیندهای بیوشیمیایی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی منجر به افزایش محتوای کلروفیل در گیاه می‌شود (Dolatmand shahri and Haghshenas, 2016). در این پژوهش، تیمار محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک موجب افزایش مقدار کلروفیل در گیاهان تحت تنش گردید که نشان‌دهنده توانایی این ماده در تخفیف اثرات تنش است. به نظر می‌رسد محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک به‌عنوان یک پروسه مقاوم‌سازی عمل نموده است و با افزایش توان آنتی‌اکسیدانی سلول موجب کاهش مقدار پراکسیداسیون لیپیدها شده و موجب حفاظت بیش‌تر از غشاءهای سلولی و فتوسنتزی و رنگیزه‌های فتوسنتزی و مانع از کاتابولیسم کلروفیل شده است (Farahbakhsh and Pasandipour, 2017). استفاده از سطوح مختلف اسید سالیسیلیک تحت شرایط کم‌آبی سبب افزایش محتوای کلروفیل در گیاه همیشه‌بهار گردید (Moradi Marjaneh and Goldani, 2011). هم‌چنین این پژوهش با مشاهدات پاک‌مهر (Pak Mehr, 2009) در لوبیا چشم‌بلبلی و پوراکبری و عابدزاده (Pourakbar and Abedzadeh, 2014) در گیاه دارویی بادرنجبویه مطابقت دارد.

در شرایط دیم (بدون آبیاری) کاهش مقدار کارتنوئید احتمالاً به علت تجزیه بتاکاروتن و تشکیل زآزانتین در چرخه زانتوفیل است (Sultana et al., 1999). کارتنوئیدها علاوه بر نقش ساختمانی و جذب نور می‌توانند به‌صورت مستقیم اکسیژن منفرد را غیرفعال کند و یا از طریق فرونشاندن کلروفیل برانگیخته‌شده، به‌صورت مستقیم از تشکیل اکسیژن منفرد جلوگیری کنند (Munne-Bosch and Penuelas, 2003). بدین ترتیب دستگاه فتوسنتزی را از پراکسیداسیون لیپیدی محافظت کنند.

در پژوهش حاضر، کاربرد اسید سالیسیلیک به‌صورت محلول‌پاشی و پیش‌تیمار در شرایط آبیاری در مرحله گلدهی سبب افزایش میزان کارتنوئید شد (جدول ۳). به نظر می‌رسد افزایش میزان ترکیبات کارتنوئیدی در اثر استفاده از اسید

سالیسیلیک باعث افزایش مقاومت گیاه در برابر خسارات اکسیداتیو شود.

ال‌تایب (El-Tayeb, 2005) از افزایش معنی‌دار محتوای کارتنوئیدی در گیاه جو در شرایط محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک گزارش کرده و نتیجه این امر را افزایش سرعت فتوسنتز دانسته است.

جدول ۲. تجزیه واریانس برخی صفات سیاه‌دانه در سطوح مختلف آبیاری و اسید سالیسیلیک

Table 2. Analysis of variance of some black currant traits at different levels of irrigation and salicylic acid.

S.O.V	منبع تغییرات	درجه آزادی df	میانگین مربعات (mean square)			
			کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll	کارتنوئید Carotenoids
Replication	تکرار	2	0.744 ns	0.437 ns	2.256 ns	0.360**
Irrigation (I)	آبیاری	3	155.89**	13.575**	228.38**	4.51**
Salicylic acid (SA)	اسید سالیسیلیک	2	22.49**	12.117**	135.26**	1.30**
SA×I	اسید سالیسیلیک× آبیاری	6	2.24**	1.445**	24.24**	0.274**
Error	خطا	22	0.648	0.244	0.850	0.062
CV (%)	ضریب تغییرات (٪)	.....	*6.45*	*9.66*	*5.24*	*5.09*

Table 2. Continued **جدول ۲. ادامه**

S.O.V	منبع تغییرات	درجه آزادی df	میانگین مربعات (mean square)			
			نشت الکترولیت Electrolyte leakage	پرولین Proline	قندهای محلول Carbohydrates	عملکرد دانه Seed yield
Replication	تکرار	2	1.943 ns	4.26**	0.0036 ns	3350.69 ns
Irrigation (I)	آبیاری	3	496**	8.80**	0.293**	229451**
Salicylic acid (SA)	اسید سالیسیلیک	2	541**	6.88**	0.328**	74621.36**
SA×I	اسید سالیسیلیک× آبیاری	6	24.73**	0.25*	0.0095**	8876.87**
Error	خطا	22	2.28	0.15	0.00207	995.33
CV (%)	ضریب تغییرات (٪)	.....	*2.79*	*12.65*	*12.23*	*2.87*

ns، **، * به‌ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطوح ۱ و ۵ درصد.

ns, * and ** not significant, significant at 0.01 and 0.05 probability level, respectively.

نشت الکترولیت

به استناد نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، میزان نشت الکترولیت غشاء تحت تأثیر سطوح مختلف آبیاری، اسید سالیسیلیک و اثر متقابل آبیاری و اسید سالیسیلیک قرار گرفت (P<۰/۰۱، جدول ۲). مقایسه میانگین نتایج اثر متقابل نشان داد که کم‌ترین میزان تخریب غشاء متعلق به پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک (۳۹/۶۷ درصد) در شرایط دو بار آبیاری بود و بیش‌ترین میزان تخریب غشاء مربوط به تیمار عدم مصرف اسید سالیسیلیک (۷۲/۳۳ درصد) در شرایط دیم مشاهده شد (جدول ۳). نتایج هم‌چنین نشان داد کاربرد اسید سالیسیلیک به‌صورت پیش‌تیمار و محلول‌پاشی در شرایط دیم، باعث کاهش تخریب غشاء به‌ترتیب ۲۶/۹۰ و ۱۸/۴۱ درصد نسبت به تیمار عدم مصرف اسید سالیسیلیک شد (جدول ۳).

کاهش خسارت غشاء در اثر کاربرد اسید سالیسیلیک که به‌عنوان راه اصلی برای افزایش مقاومت به خشکی در گیاه شناخته شده است، ممکن است با تولید آنتی‌اکسیدان در ارتباط باشد که تولید آنتی‌اکسیدان پاسخی از گیاه برای کاهش خسارت اکسید شدن است. به‌عبارت دیگر اسید

سالیسیلیک سبب افزایش پایداری غشاء در برابر تنش‌های اکسیداتیو می‌گردد (Ghoulam et al., 2001; Maria et al., 2000). هم‌چنین کاربرد اسید سالیسیلیک میزان پلی آمین‌های پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین را در گیاه افزایش می‌دهد که می‌تواند به یکپارچگی و حفظ غشاء تحت شرایط خشکی کمک کند (Nemeth et al., 2002).

پسندی‌پور و همکاران (Pasandipour et al., 2013) در گیاه شنبلیله به این نتیجه رسیدند که در گیاهان تیمار شده با اسید سالیسیلیک مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء کاهش می‌یابد. در مورد نقش اسید سالیسیلیک بر نشت الکترولیت گزارش‌های متعددی وجود دارد ازجمله این‌که اسید سالیسیلیک در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار سبب کاهش نشت یونی در گوجه‌فرنگی نسبت به شاهد شد (Singh and Usha, 2003).

پرولین برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده آبیاری و اسید سالیسیلیک ($P<0/01$) و اثر متقابل آبیاری و اسید سالیسیلیک بر صفت محتوای پرولین در سیاه‌دانه معنی‌دار بود ($P<0/05$، جدول ۲). محلول‌پاشی و پیش‌تیمار بذر با اسید سالیسیلیک در مقایسه با بذرهای خشک (بدون پیش‌تیمار) موجب افزایش میزان پرولین برگ سیاه‌دانه شد (جدول ۳). در خصوص نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر متقابل آبیاری و اسید سالیسیلیک که در جدول ۳ ارائه داده شده است، بیش‌ترین میزان پرولین از تیمار محلول‌پاشی (۵/۵۴ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) در شرایط دیم به دست آمد، به‌طوری‌که در شرایط دیم تیمار محلول‌پاشی نسبت به تیمارهای پیش‌تیمار و عدم مصرف اسید سالیسیلیک به‌ترتیب ۴۰/۶۰ و ۶۱/۵ درصد باعث افزایش میزان پرولین شد. کم‌ترین میزان پرولین مربوط به تیمار عدم مصرف اسید سالیسیلیک (۱/۱۶ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) در شرایط دو بار آبیاری بود (جدول ۳). پرولین به‌خاطر ایفای نقش اسمزی، اثرات مفیدی را در گیاهان تحت تنش ایفا می‌کند. یکی از این راهکارهای گیاهان در شرایط تنش خشکی، افزایش تجمع مواد آلی و معدنی در سلول‌های گیاه به‌منظور جذب بیشتر آب از طریق پدیده اسمزی است. افزایش پرولین در گیاه هنگام تنش نوعی مکانیسم دفاعی است (Shevyankova, Kuznetsov and 1997). اسید سالیسیلیک با القای برهم‌کنش‌های حفاظتی باواسطه هورمون اسید آبسزیک منجر به تجمع پرولین در گیاه می‌شود (Yoshiba et al., 2005). بر اساس یافته‌های پژوهشگران اسید سالیسیلیک با افزایش محتوای نسبی آب از طریق افزایش اسیمیلات‌های محلول همچون پرولین در سلول، موجب حفظ فشار اسمزی، توسعه فتوسنتزی و افزایش رشد گیاه می‌گردد (Sanchez et al., 1998).

شوقیان و روزبهانی (Shoqian and Roozbehani, 2017) گزارش کردند که بیش‌ترین میزان پرولین در گیاه لوبیا قرمز مربوط به محلول‌پاشی ۰/۷ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و کم‌ترین میزان پرولین مربوط به عدم مصرف اسید سالیسیلیک بود که افزایش ۴۴ درصدی میزان پرولین را نشان می‌دهد. در آزمایش مشابهی سطوح آبیاری، اسید سالیسیلیک و تأثیر متقابل این دو متغیر شاخص پرولین برگ گیاه قره داغ (*Nitraria shoberi* L.) را به‌میزان مثبت و معنی‌داری متأثر ساختند (Bayan et al., 2014).

میزان قندهای محلول

نتایج تجزیه واریانس ارائه‌شده در جدول ۲ بیانگر آن بود که اثرات ساده آبیاری، اسید سالیسیلیک و اثر متقابل آبیاری و اسید سالیسیلیک بر میزان قندهای محلول معنی‌دار بود ($P<0/01$). در خصوص نتایج مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل آبیاری و اسید سالیسیلیک بیش‌ترین میزان قندهای محلول (۰/۸۷۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) از تیمار محلول‌پاشی در شرایط دیم مشاهده شد و کم‌ترین میزان نیز (۰/۱۵۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) از تیمار عدم مصرف اسید سالیسیلیک در شرایط دو بار آبیاری بود (جدول ۳). نتایج هم‌چنین نشان داد که با کاربرد اسید سالیسیلیک به‌صورت محلول‌پاشی در شرایط دیم از میزان قندهای محلول نسبت به تیمار عدم مصرف اسید سالیسیلیک ۷۶/۸۱ درصد افزایش نشان داد (جدول ۳). طبق نتایج مشاهده می‌شود که میزان قندهای محلول در گیاهانی که محلول‌پاشی شده‌اند بیش‌تر از بذرهای پیش‌تیمار شده و عدم مصرف اسید سالیسیلیک بود، علاوه بر این تنش خشکی باعث افزایش میزان قندهای محلول شده است ولی افزایشی که محلول‌پاشی ایجاد کرده است نسبت به افزایشی که در تنش ایجاد شده است به‌طور معنی‌داری بیش‌تر است (جدول ۳). مصرف اسید سالیسیلیک سبب افزایش کارایی آنتی‌اکسیدانی گیاه شده که می‌تواند سبب افزایش میزان کلروفیل و به‌دنبال آن بهبود فتوسنتز و افزایش تولیدات کربنی گردد، بنابراین

این فرآیند علاوه بر این‌که گیاه را به لحاظ تولید ماده خشک توانمندتر می‌کند، تجمع اسمولیت‌های آلی فرآیند تنظیم اسمزی را نیز در گیاه موفق‌تر می‌سازد (Khodary, 2004). به نظر می‌رسد که اسید سالیسیلیک با افزایش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی، کاهش تنش اکسیداتیو و حفاظت از غشاهای کلروپلاستی و سلولی و حفاظت از ماکرومولکول‌هایی مانند پروتئین‌ها، موجب افزایش میزان قندهای موجود در گیاهان می‌شود. هم‌چنین اسید سالیسیلیک از طریق تأثیر بر آنزیم‌های هیدرولیز کننده پلی‌ساکاریدها منجر به افزایش مقدار قندها شده یا این‌که تشکیل قندهای محلول از پلی‌ساکاریدها را تسریع می‌نماید (Sartip and Siroosmahr, 2017).

حبیبی و همکاران (Habibi et al., 2015) گزارش کردند کاربرد اسید سالیسیلیک سبب افزایش میزان قندهای محلول در گیاه توتون شد. کاربرد اسید سالیسیلیک باعث افزایش میزان قندهای محلول تحت تنش خشکی در گیاه دارویی بابونه (*Matricaria chamomilla* L.) گردید که با مشاهدات این تحقیق در یک راستا قرار دارند (Arazmju et al., 2009).

عملکرد دانه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به عملکرد دانه سیاه‌دانه نیز حاکی از تأثیر معنی‌دار سطوح مختلف آبیاری، اسید سالیسیلیک و اثر متقابل آن‌ها بود ($P<0/01$، جدول ۲). همان‌گونه که در جدول ۳ مشاهده می‌شود برای اثرات متقابل آبیاری و اسید سالیسیلیک بیش‌ترین میزان عملکرد دانه از تیمار محلول‌پاشی (۱۳۳۰ کیلوگرم در هکتار) در شرایط دو بار آبیاری به دست آمد و کم‌ترین میزان عملکرد دانه از تیمار عدم مصرف اسید سالیسیلیک (۸۱۷ کیلوگرم در هکتار) در شرایط دیم حاصل شد. کاربرد اسید سالیسیلیک از طریق تأثیر مثبت بر فتوسنتز، انتقال مواد فتوسنتزی، تلقیح گل‌ها، جلوگیری از سقط شدید گل‌ها و افزایش دوره پر شدن دانه‌ها موجب بهبود عملکرد دانه می‌شود (Sadeghipour, 2011). نتایج هم‌چنین نشان داد که اسید سالیسیلیک توانست تأثیر مثبتی بر عملکرد دانه در شرایط دیم ایجاد کند به‌طوری‌که کاربرد اسید سالیسیلیک به‌صورت محلول‌پاشی و

جدول ۳. مقایسه میانگین برهمکنش بین سطوح مختلف آبیاری و اسید سالیسیلیک برای صفات کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید، پرولین، قندهای محلول و عملکرد دانه سیاهدانه.

Table 3. Comparison of the average interactions between different levels of irrigation and salicylic acid for chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoids, Electrolyte leakage, proline, carbohydrates and grain yield of black cumin.

Treatments تیمارها		کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) Chlorophyll a (ml/g fw)	کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) Chlorophyll b (ml/g fw)	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) Total chlorophyll (ml/g fw)	کارتنوئید (میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) Carotenoids (ml/g fw)
رژیم آبیاری Irrigation regime	اسید سالیسیلیک Salicylic acid				
دیم (Dry farm)	S_1	6.10 a	3.06 a	9.17a	3.36 a
	S_2	6.80 a	3.85 a	10.66a	4.47 a
	S_3	8.07 a	3.92 a	11.99a	3.77 a
LSD 5%		*2.415*	*1.058*	*3.3*	*1.376*
یک‌بار آبیاری در مرحله گلدهی (Once irrigation at flowering stage)	S_1	15.19 a	3.59 b	18.78a	5.05b
	S_2	15.32 a	4.46 ab	19.79a	5.65 a
	S_3	15.88 a	5.82 a	21.70a	5.72 a
LSD 5%		*4.285*	*1.469*	*4.5*	*0.373*
یک‌بار آبیاری در مرحله پر شدن دانه (Once irrigation at grain filling stage)	S_1	9.34 b	5.55 b	14.90b	4.78 a
	S_2	11.26 b	5.67 ab	16.94b	5.69 a
	S_3	13.88 a	6.72 a	20.60a	5.09 a
LSD 5%		*2.133*	*1.097*	*2.75*	*0.916*
دو بار آبیاری (مراحل گلدهی و پر شدن دانه) Double irrigation (at flowering and grain filling stages)	S_1	14.35 b	4.65 b	19.01b	5.17 a
	S_2	15.48 b	5.73 b	21.21b	5.16 a
	S_3	17.98 a	8.33 a	26.32a	4.82 a
LSD 5%		*2.193*	*2.063*	*3.23*	*0.371*

جدول ۳. ادامه

Table 3. Continued

Treatments تیمارها		نشت الکترولیت (٪) Electrolyte leakage (%)	پرولین Proline (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) (mg/gfw)	قندهای محلول (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) Carbohydrate (mg/gdw)	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار) Seed yield (Kg/ha^{-1})
رژیم آبیاری Irrigation regime	اسید سالیسیلیک Salicylic acid				
دیم (Dry farm)	S_1	72.33^{c}	3.34^{c}	0.496^{b}	817^{c}
	S_2	52.87^{b}	3.94^{b}	4.484^{b}	935^{b}
	S_3	59.01^{b}	5.54^{a}	0.877^{a}	1006^{a}
LSD 5%		*4.32*	*0.446*	*0.273*	*51.14*
یک‌بار آبیاری در مرحله گلدهی (Once irrigation at flowering stage)	S_1	61.96^{a}	2.79^{b}	0.285^{b}	873^{b}
	S_2	48.08^{b}	3.15^{b}	0.280^{b}	1063^{a}
	S_3	53.09^{b}	3.71^{a}	0.600^{a}	1164^{a}
LSD 5%		*5.16*	*0.448*	*0.126*	*156*
یک‌بار آبیاری در مرحله پر شدن دانه (Once irrigation at grain filling stage)	S_1	62.03^{a}	2.35^{b}	0.170^{b}	1092^{a}
	S_2	50.16^{b}	2.72^{b}	0.179^{b}	1151^{a}
	S_3	57.54^{ab}	3.50^{a}	0.462^{a}	1171^{a}
LSD 5%		*8.8*	*0.717*	*0.137*	*90.16*
دو بار آبیاری (مراحل گلدهی و پر شدن دانه) Double irrigation (at flowering and grain filling stages)	S_1	47.37^{a}	1.16^{b}	0.151^{b}	1265^{b}
	S_2	39.67^{b}	1.69^{ab}	0.167^{b}	1290^{ab}
	S_3	43.89^{a}	2.88^{a}	0.314^{a}	1330^{a}
LSD 5%		*3.53*	*1.34*	*0.074*	*41.22*

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ دارای تفاوت معنی‌داری نیستند. S_1، S_2 و S_3 به‌ترتیب عدم مصرف اسید سالیسیلیک، پرایمینگ و محلول‌پاشی می‌باشد.

In each column, averages that have at least one common alphabet, do not differ significantly from the LSD test at 5% probability level. S1, S2 and S3, respectively, do not consume salicylic acid, priming and spraying.

پیش‌تیمار، باعث افزایش به‌ترتیب ۲۳/۰۸ و ۱۴/۳۹ درصدی عملکرد دانه نسبت به تیمار عدم مصرف اسید سالیسیلیک شد (جدول ۳). افزایش عملکرد دانه در شرایط دو بار آبیاری و همراه با محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک را می‌توان به افزایش فتوسنتز و ماده سازی نسبت داد که در این شرایط مواد فتوسنتزی و مواد غذایی بیش‌تری از برگ به دانه انتقال‌یافته و باعث افزایش عملکرد دانه شده است. اسید سالیسیلیک بر فتوسنتز و رشد گیاه تحت شرایط تنش اثر مثبت دارد. درواقع، از طریق توسعه واکنش‌های ضد تنشی، نظیر افزایش تجمع پرولین، باعث تسریع در بهبود رشد پس از رفع تنش می‌شود (Wen et al., 2005).

اسفینی‌فراهانی و همکاران (Esfineifarani et al., 2012) اظهار کردند که غلظت ۰/۷ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک عملکرد دانه زیره سبز را به‌میزان ۱۵ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش داد. هم‌چنین بالجانی و شکاری (Baljani and Shekari, 2012) در گیاه گلرنگ دریافتند که در شرایط تنش خشکی، اسید سالیسیلیک با افزایش تراکم کلروفیل در واحد سطح برگ، حفظ منبع فتوسنتز کننده در طول دوره رشدی، دریافت انرژی تابشی خورشید و انتقال مواد فتوسنتزی به سمت مقصد (دانه) توانست عملکرد دانه گیاه گلرنگ را افزایش دهد.

نتیجه‌گیری

گیاه سیاه‌دانه به هنگام مواجهه با تنش خشکی، مکانیسم تنظیم اسمزی را با افزایش تجمع پرولین و قندهای محلول به کار گرفته و از این طریق شرایط کمبود آب را تا حدی تحمل می‌کند. محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک باعث افزایش رنگیزه‌های کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید و عملکرد دانه این گیاه در شرایط مختلف آبیاری گردیده است و اثرات مخرب تنش را بهبود می‌بخشد. با توجه به نتایج این تحقیق استفاده از محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در شرایط تنش خشکی برای حفظ عملکرد در گیاه سیاه‌دانه پیشنهاد می‌شود.

منابع

Arazmju, A., Heydari, M., Ganbari, A., 2009. Effect of drought stress and three types of fertilizers on flower yield, physiological parameters and nutrient uptake in chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 25(4), 428-494. [In Persian with English Summary].

Babaee, K., Amini Dehaghi, M., Modares Sanavi, S.A.M., Jabbari, R., 2010. Water deficit effect on morphology, prolin content and thymol percentage of thyme (*Thymus vulgaris* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 26(2), 239-251. [In Persian with English Summary].

Bajii, M., Lutts, S., Kinet, J., 2001. Water deficit effect on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three wheat cultivars performing differently in arid conditions. Plant Science. 160, 669-681.

Baljani, R., Shekari, F., 2012. The effect of phenic acid with salicylic acid on growth and functional indices in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under drought conditions of the end of season. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production. 22, 103-87. [In Persian with English Summary].

Bates, L.S., Waldern, R.P., Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil. 39 (1), 205-207.

Bayan, M., Amini, F., Askari, M., 2014. Effect of salicylic acid on organic osmolites accumulation and antioxidant activity of nitraria shoberi under drought stress conditions. Journal of Plant Production. 20(4), 177- 188. [In Persian with English Summary].

Ben Hamed, K., Castagna, A., Salem, E., Ranieri, A., Abdelly, C., 2007. Sea fennel (*Crithmum maritimum* L.) under salinity conditions: a comparison of leaf and root antioxidant responses. Plant Growth Regulation. 53, 185-194.

Bouyoucos, G. J., 1962. Hydrometer method improved for making particle size analyses of soils. Agronomy Journal. 54, 464-465.

Bremner, J.M., Mulvaney, C.S., 1982. Nitrogen-total. In: Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. (eds.), Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties. 2nd ed. American Society of Agronomy, Madison, WI, USA. pp. 595- 624.

Dolatmand Shahri, N., Hagh Shenas, M., 2017. Effect of different amounts of soil moisture in different salicylic acid levels on enzymes activity and morphophysiological characteristics of alfalfa. Crop Physiology Journal. 9 (33), 99-117. [In Persian with English Summary].

El-Tayeb, M.A., 2005. Response of barley gains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regulation. 45, 215-225.

Esfini Farahani, M., Paknejad, F., Bakhtiari Moghadam, M., Alavi, S., Hasibi, A.R., 2012. Effect of different application methods and rates of salicylic acid on yield and yield components of cumin (*Cuminum cyminum* L.). Journal of Agronomy and Plant Breeding. 8(3), 69-77. [In Persian with English Summary].

Fahad, S., Hussain, S., Bano, A., Saud, S., Hassan, S., Shan, D., Huang, J., 2015. Potential role of phytohormones and plant growth-promoting rhizobacteria in abiotic stresses: consequences for changing environment. Environmental Science and Pollution Research International. 22(7), 4907-4921.

Farahbakhsh, H., Pasandi Pour, A., 2017. Physiological response of henna, medicinal-industrial plant (*Lowsonia inermis* L.), to application of salicylic acid under drought stress. Journal of Plant Process and Function. 19(6), 234-245. [In Persian with English Summary].

Farzaneh, M., Ghanbari, M., Eftekharian, A.R., Javanmardi, S.H., 2013. The effect of salicylic acid foliar application on osmotic and photosynthetic pigmentation of Antarctica (*Solanum melongena* L.) under Cold Stress. Iranian Journal of Plant Ecophysiology. 8, 83-75. [In Persian with English Summary].

Forouzandeh, M., Mohkami, Z., Fazelinasab, B., 2018. Evaluation of Biotic Elicitors Foliar Application on Functional Changes, Physiological and Biochemical Parameters of Fennel (*Foeniculum vulgare*). Journal of Plant Production. 25(4), 49- 65. [In Persian with English Summary].

Ghoulam, CF., Ahmed, F., Khalid, F., 2001. Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. Environmental and Experiment Botany. 47, 139-150.

Habibi, G., Sadeghi Pour, Z., Hajiboland, R., 2015. Effect of salicylic acid on tobacco (*Nicotiana rustica*) plant under drought conditions. Iranian Journal of Plant Biology. 25, 17-28. [In Persian with English Summary].

Haluschak, P., 2006. Laboratory methods of soil analysis. Canada-Manitoba Soil Survey.133p.

Khan, M.I., Fatma, M., Per, T.S., Anjum, N.A., Khan, N.A., 2015. Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. Journal of Plant science. 6, 1-17.

Khan, W., Prithiviraj, B., Smith, D.L., 2003. Photosynthetic response of corn and soybean to foliar application of salicylates. Journal of Plant Physiology. 160, 485-492.

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(1), 5-8.

Khoshbin, S., 2009. One hundred miraculous plants. Publishing House New World, 424p. [In Persian].

Kochert, G., 1987. Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method. In: Hellebust, J.A., Craigie, J.S. (eds.), Handbook of Phycological Methods: Physiological and Biochemical Methods. Cambridge University Press, London. Pp. 95–97.

Kuznetsov, W., Shevyankova, N.L., 1997. Stress responses of tobacco cells to high temperature and salinity. Proline accumulation and phosphorylation of polypeptides. Physiologia Plantarum. 100, 320-326.

Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic bio membranes. Methods in Enzymology. 148, 350–382.

Mafakheri, A., Siosemardeh, A., Bahramnejad, B., Struik, P.C., Sohrabi, Y., 2011. Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. Australian Journal of Crop Science 4(8), 580–585. [In Persian with English Summary].

Maiti, R.K., Moreno-Limon, S., Wesche-Ebeling, P., 2000. Responses of some crops to various abiotic stress factors and its physiological and biochemical basis of resistances. Agriculture Review. 21, 155-167.

Maria, E.B., Jose, D.A., Maria, C.B., Francisco, P.A., 2000. Carbon partitioning and sucrose metabolism in tomato plants growing under salinity. Physiologia Plantarum. 110, 503-511.

Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M., Dietz, K.J., 2003. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. Plant Physiology. 132, 272- 281.

Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science. 7, 405-410.

Molnar, I., Gaspar, L., Sarvari, E., Dulai, S., Haffman, B., Molnar, L.M., Galiba, G., 2004. Physiological and morphological response to water stress in *Aegilops biuncialis* and *Triticum aestivum* genotype with differing tolerance to drought. Functional Plant Biology. 31, 1149-1159.

Moradi Marjaneh, A., Goldani, M., 2011. Evaluation of different salicylic acid levels on some growth Parameters of Marigold (*Calendula officinalis* L.) under low irrigation conditions. Environmental Stresses in Crop Sciences. 4(1), 33- 45. [In Persian with English Summary].

Munne-Bosch, S., Penuelas, J., 2003. Photoand antioxidant protection during summer leaf senescence in *Pistscia lentiscus* L. grown under Mediterranean Field Conditions. Aquatic Botany. 92, 385-391.

Nelson, R.E., 1982. Carbonate and Gypsum. In: Page, A.L. (Ed.), Methods of Soil Analysis. Part 2. American Society of Agronomy, Inc. Madison, Wisconsin. USA. 45-75.

Nemeth, M., Janda, T., Hovarth, E., Paldi, E., Szali, G., 2002. Exogenous salicylic acid increases polyamine content but may decrease drought tolerance in maize. Plant Science. 162, 569-574.

Noreen, S., Fatima, K., Athar, H.U.R., Ahmad, S., Hussain, K., 2017. Enhancement of physio-biochemical parameters of wheat through exogenous application of salicylic acid under drought stress. The Journal of Animal and Plant Sciences. 2, 153–163.

Pak Mehr, A., 2009. Priming effect of salicylic acid on some morphological and physiological properties of cowpea under water stress. MSc thesis, Faculty of Agriculture, Zanjan University, Iran. [In Persian].

Pasandi Pour, A., Farahbakhsh, H., Safari, M., kramat, B., 2013. The effect of salicylic acid on some physiological reactions of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) under salinity

stress. Journal of Crop Ecophysiology. 2(26), 215-228. [In Persian with English Summary].

Pourakbar, L., Abedzadeh., M., 2015. Investigating the effects of magnetic field and salicylic acid on *Melissa officinalis* (*Lamiaceae*) under UV-B stress. Nova Biologica Reperta. 1(2), 40-56. [In Persian with English Summary].

Ramak, M., Khavari Nejad, R., Hidari Sharifabad, H., Rafiee, M., Khademi, K., 2014. The effect of water stress on dry weight and photosynthetic pigments in two sainfoin species. Iranian Journal of Rangelands Forests Plant Breeding and Genetic Research. 14(2), 91-80. [In Persian with English Summary].

Rezapor, A.R., Heidari, M., Galavi, M., Ramrodi, M., 2011. Effect of water stress and different amounts of sulfur fertilizer on grian yield, grain yield components and osmotic adjustment in *Nigella sativa* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 27(3), 384-396. [In Persian with English Summary].

Sadeghi Pour, A., 2011. Study of biochemical and physiological reactions of beans affected by water stress and treatment with salicylic acid. Master thesis. Islamic Azad University, Rey campus, Iran. [In Persian].

Sanchez, F.J., Manzanares, M., de Andres, E.F., Tenorio, J.L., Ayerbe, L., 1998. Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. Field Crops Research. 59, 225–235.

Sartip, H., Sirousmehr, A. R., 2018. Evaluation of salicylic acid effects on growth, yield and some biochemical characteristics of cumin (*Cuminum cyminum* L.) under three irrigation regimes. Environmental Stresses in Crop Science. 10(4), 547-558. [In Persian with English Summary].

Shi, Q., Zhu, Z., 2008. Effects of exogenous salicylic acid on manganese toxicity, element contents and antioxidative system in cucumber. Environment Experimental Botany. 63, 317-326.

Shoqian, M., Roozbehani, A., 2017. The effect of salicylic acid foliar application on morphological traits, yield and yield components of red beans under drought tension conditions. Crop Physiology Journal. Islamic Azad University of Ahvaz. 9(34), 131-147. [In Persian].

Singh, B., Usha, K., 2003. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. Plant Growth Regulation. 39, 137–141.

Sparks, D.L., Page, A., Helmke, P., Loeppert, R., Soltanpour, P., Tabatabai, M., Johnston, C.T., Sumner, M.E., 1996. Methods of soil analysis. Published by: Soil Science Society of America, Inc. American Society of Agronomy, Inc. Madison, Wisconsin, USA.

Sultana, N., Ikeda, T., Itoh, R., 1999. Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. Environmental and Experimental Botany. 42(3), 211-220.

Walkley, A., Black, I.A., 1934. An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science. 37, 29-38.

Wen, P.F., Chen, JY., Wan, SB., Kong, WF., Zhang, P, Wang, W., Zhan, J., Pan, QH, Hung, WD., 2005. Salicylic acid activates phenylalanine ammonia-lyase in grape berry in response to high temperature stress. Plant Growth Regulation. 55(1), 1-10.

Yazdanpanah, S., Abasi, F., Baghzadeh, A., 2010. Effect of salicylic acid and ascorbic acid on proline, sugar and protein content in (*Satureja hortensis* L.) under aridity stress. Proceeding of The First National Conference of Environmental Stress in Agricultural Science. The University of Birjand. 28-29. [In Persian].

Yoshiba, Y., Yamada, M., Morishita, H., Uran, K., Shiozaki, N., Yamaguchi, K., Shinozaki, K., 2005. Effects of free proline accumulation in petunias under drought stress. Experimental Botany. 56(417), 1975-1986.

University of Birjand

تنشهای محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses In Crop Sciences
Vol. 13, No. 4, pp. 1169-1181
Winter 2021
http://dx.doi.org/10.22077/escs.2020.2268.158

Original article

Evaluation of salicylic acid application on the physiological responses of black cumin (*Nigella sativa* L.) under different irrigation conditions

H. Azavarari[1], M. Naeimi[2*], A. Ghalizadeh[3], A. Nakhzari Moghaddam[2]

1. MSc in Agricultural Ecology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Gonbad Kavoos, Gonbad Kavoos, Iran
2. Ph.D. in Crop Ecology, Assistant Professor, Department of Plant Production, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Gonbad Kavoos, Gonbad Kavoos, Iran
3. Ph.D. Soil Science, Chemistry and Soil Fertility and Plant Nutrition, Assistant Professor, Department of Plant Production, Faculty of Agriculture, Natural Resources, University of Gonbad Kavoos, Gonbad Kavoos, Iran

Received 13 April 2019; Accepted 7 July 2019

Abstract

To investigate the effects of foliar spraying and pretreatment with salicylic acid on some physiological traits and grain yield of Black Cumin (*Nigella sativa* L.) under different irrigation regime, the study was conducted based on randomized complete blocks design with factorial arrangement of treatment and three replications in Gonbad Kavous university research field in 2017-2018. The treatment included four irrigation levels: without irrigation (dry farm), irrigation at flowering stage, irrigation at seed filling stage and two irrigations at flowering and seed filling stages and salicylic acid application included three levels: non- application of salicylic acid (control), priming with salicylic acid (0.5 mM $^{-1}$) and foliar spraying of salicylic acid (0.5 mM $^{-1}$). In this study, some traits such as amount of chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoid, electrolyte leakage, proline, soluble sugars and grain yield were evaluated. The results showed that the effects of simple irrigation and salicylic acid and their interactions on all studied traits were significant. The results of the comparison of mean interactions showed that the application of salicylic acid in form of foliar spraying increased traits such as photosynthetic pigments, proline, soluble sugars and grain yield in all irrigation conditions. Priming with salicylic acid treatment had the lowest electrolyte leakage. The highest grain yield (1330 kg. ha^{-1}) was obtained in foliar spraying application of salicylic acid under twice irrigated conditions and the lowest grain yield was obtained (817 kg. ha^{-1}) in non-application of salicylic acid at dry farm conditions. According to the results of this study, it can be concluded that the application of salicylic acid as foliar spraying is a suitable strategy for increasing the resistance of black cumin to drought stress.

***Keywords*:** Chlorophyll, Grain yield, Proline, Soluble sugars

[*]Correspondent author: Masoumeh Naeimi; E-Mail: Naeemi_701@yahoo.com