نشریه پژوهش‌های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران، شماره پیاپی ۳۱ ، سال هشتم، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۲/صفحات: ۱۱-۱

اثر اسیدسالیسیلیک بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دو ژنوتیپ نخود (*Cicer arietinum* L.) در مواجه با تنش خشکی

رضوان رمضان نژاد*[۱]، مهرداد لاهوتی[۲]، علی گنجعلی[۳]

[۱] کارشناس‌ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد

[۲] استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد

[۳] استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد

تاریخ دریافت: ۹۲/۱/٤ تاریخ پذیرش: ۹۲/۳/۲۸

چکیده

به‌منظور بررسی اثرات توام تنش خشکی و اسید سالیسیلیک بر روی برخی از شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آزمایشی بر روی دو ژنوتیپ از مجموعه کلکسیون نخود مشهد (MCC441 و MCC358) در چهار سطح تنش خشکی بر اساس ظرفیت زراعی (۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی) و تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت‌های ۰ و ۰/۷ میلی‌مولار به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که تنش خشکی پتانسیل آب برگ و کارایی فتوسیستم II را کاهش و مقاومت روزنه‌ای، میزان پرولین و فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز را به طور معنی‌داری افزایش داد. میزان پرولین برگ در هر دو ژنوتیپ در سطح تنش خشکی ۲۵ درصد و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری یافت. فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز نیز در سطح تنش ۲۵ درصد و ۵۰ درصد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که در ژنوتیپ MCC358 این افزایش نسبت به شاهد بیشتر از ژنوتیپ دیگر بود. مقاومت روزنه‌ای،کارایی فتوسیستم II و پتانسیل آب برگ بعد از تیمار با اسید سالیسیلیک افزایش یافت که در ژنوتیپ MCC358 این افزایش نسبت به شاهد بیشتر از ژنوتیپ دیگر بود. میزان پرولین و فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در ژنوتیپ MCC358 بعد از تیمار با اسید سالیسیلیک افزایش معنی‌داری یافت. به نظر می‌رسد که تاثیر زیان‌آور تنش خشکی بر ژنوتیپ MCC441 بیشتر از ژنوتیپ MCC358 بود و اسید سالیسیلیک نتوانست تاثیرات آنتی‌اکسیدانی خود را در بهبود شرایط ناشی از تنش خشکی در ژنوتیپ MCC441 به خوبی اعمال کند.

واژگان کلیدی: اسید سالیسیلیک، پتانسیل آب برگ، تنش خشکی، کارایی فتوسیستم II، مقاومت روزنه‌ای

مقدمه

حبوبات به دلیل میزان پروتئین بالا (تقریباً دو برابر غلات) و توانایی تثبیت زیستی ازت در کشاورزی و تغذیه بشر اهمیت قابل توجهی دارند (Khodabackhshi et al., 2010). در بین حبوبات، نخود یکی از مهمترین آنهاست که از نظر سطح زیر کشت با داشتن متجاوز از ۱۰ میلیون هکتار سطح زیر کشت جهانی، پس از لوبیای معمولی رتبه دوم و از نظر میزان تولید دانه پس از لوبیا و نخود فرنگی رتبه سوم را به خود اختصاص داده است (Millan et al., 2006). نخود محصولی است که در

*نویسنده مسئول: soodehramezannejad@yahoo.com

سرتا سر دنیا کشت م شود و به شرایط آب و هوایی متفاوت از معتدل تا گرم و از مرطوب تا خشک سازگار است (Amiri et al., 2011). خصوصیاتی همچون توانایی تثبیت نیتروژن، ریشه‌دهی عمیق و استفاده مؤثر از نزولات جوی سبب شده است که این گیاه نقش مهمی در ثبات تولید نظام‌های زراعی در کشاورزی پایدار ایفا نماید (Amiri et al., 2011).

تنش‌ها به‌عنوان عوامل محدود کننده رشد گیاهان و تولید محصولات زراعی جهان مطرح می‌باشند (Abedi and Pakniyat, 2012). خشکی یکی از مهمترین تنش‌های محیطی محدود کننده تولید در گیاهان زراعی در سرتاسر جهان است (Omidi et al., 2012). تنش خشکی به منزله کمبود آب در گیاه بوده و این وضعیت هنگامی ایجاد می‌شود که میزان تعرق از میزان جذب آب بیشتر باشد (Bray, 1997). گیاهان به تنش خشکی در سطوح فیزیولوژیکی، سلولی و مولکولی پاسخ می‌دهند که این پاسخ به گونه، ژنوتیپ، سن و مرحله نموی گیاه بستگی دارد (شکاری و همکاران، ۱۳۸۹).

اسید سالیسیلیک از ترکیبات فنلی است که در تعداد زیادی از گیاهان وجود دارد و امروزه به‌عنوان ماده‌ای شبه هورمون محسوب می‌گردد که نقش مهمی در رشد و نمو گیاهان ایفاء می‌کند (Kang, 2003). این ماده در گیاهان در مقادیر کم (میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر یا کمتر) وجود دارد (Lee et al., 1995) که هم به فرم آزاد و هم به فرم گلیکوزیل دیده می‌شود (Raskin, 1992). همچنین نقش محوری در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف نظیر رشد، تکامل گیاه، جذب یون، فتوسنتز و جوانه‌زنی بسته به غلظت بکار رفته، گیاه، گونه، دوره رشد و شرایط محیطی ایفا می‌کند. نقش مهم اسید سالیسیلیک و توانایی آن در بیان ژن‌های رمز گذار پروتئین‌ها و همچنین ژن‌های کشش سلولی در گیاه آرابیدوپسیس به اثبات رسیده است (Merkouropoulos et al., 1999). این ماده همچنین به‌عنوان یک سیگنال مولکولی مهم در نوسانات گیاهی در پاسخ به تنش‌های محیطی شناخته شده است (Senaranta et al., 2002). مدارکی وجود دارد که نقش اسید سالیسیلیک را در بهبود آسیب‌های اکسیداتیو نشان می‌دهد (Szepesi et al., 2008). اسید سالیسیلیک برون‌زا می‌تواند باعث افزایش میزان H_2O_2 بافت گیاهی شده و به این ترتیب باعث القاء بیان ژن‌های رمز گذار آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو و افزایش مقاومت گیاه نسبت به تنش‌های غیرزیستی شود (Szepesi et al., 2008).

هدف از اجرای این تحقیق بررسی اثر اسید سالیسیلیک به‌عنوان ترکیبی با خواص آنتی‌اکسیدانی در بهبود تحمل گیاه نخود در مواجهه با تنش خشکی می‌باشد. به این منظور برخی از شاخص‌های زیستی گیاه در شرایط تنش خشکی و بعد از تیمار با اسید سالیسیلیک در دو ژنوتیپ حساس و مقاوم نخود مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی برخی از صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دو ژنوتیپ نخود MCC441 (تیپ دسی) و MCC358 (تیپ کابلی)، دو ژنوتیپ تجاری در ایران که به‌صورت دیم کشت می‌شوند و تعیین میزان حساسیت آن‌ها نسبت به شرایط تنش خشکی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد.

کاشت بذر و اعمال تیمارهای آزمایشی: ابتدا بذور سالم دو ژنوتیپ مورد نظر انتخاب و به تعداد ۵ عدد و با فواصل ۳ سانتی‌متر از یکدیگر در داخل گلدان‌ها کاشته شدند. سپس ظرفیت زراعی خاک گلدان‌ها تعیین و به همان میزان آبیاری شدند. بعد از آن گلدان‌ها در اتاقک رشد قرار گرفتند. به‌دلیل زیاد بودن بذور داخل گلدان‌ها ٤ روز بعد از رشد گیاهچه‌ها، تعداد گیاهچه‌های هر گلدان به ۳ عدد کاهش یافت. اعمال تنش خشکی ۲

هفته بعد از رشد گیاهچه‌ها صورت گرفت. تنش خشکی شامل ٤ سطح (۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی) بود. جهت اعمال سطوح تنش خشکی از روش وزنی استفاده شد. به این ترتیب که ابتدا یکی از گلدان‌های مورد آزمایش با نسبت ۲ به ۱ خاک به ماسه پر و توزین شد. سپس گلدان از آب اشباع شد و برای جلوگیری از تبخیر، سطح گلدان توسط یک پلاستیک پوشیده شد. با خروج آب ثقلی وزن گلدان به طور مرتب کم شد تا زمانی که وزن آن ثابت ماند (نشان‌دهنده رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی). با تفاضل وزن اخیرو وزن خاک خشک مقدار آب لازم برای رسیدن خاک هر گلدان به حد ظرفیت زراعی مشخص و سطوح ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد این مقدار آب نیز محاسبه شد و در طول دوره آزمایش برای سطوح مختلف رطوبتی گلدان‌ها مورد استفاده قرارگرفت. بدین‌منظور گلدان‌ها روزانه وزن می‌شدند و مقدار آب لازم برای رسیدن به هر کدام از سطوح اضافه می‌شد (خزائی و همکاران، ۱۳۸۷). بعد از ۲ هفته از اعمال تنش خشکی، اسید سالیسیلیک با غلظت‌های ۰ (آب مقطر) و ۰/۷ میلی‌مولار بر روی گیاهان اسپری شد. دقت شد که محلول اسید سالیسیلیک تمام سطوح گیاهان را بپوشاند. محلول پاشی اسید سالیسیلیک در ۳ مرتبه و در فواصل ۱۰ روزه صورت گرفت. سپس زمانی که گیاهان به مرحله گلدهی رسیدند، برداشت و از بخش هوایی آنها به منظور سنجش و ارزیابی شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی استفاده شد.

اندازه‌گیری میزان کارایی فتوسیستم II (Fv/Fm): برای این منظور، ابتدا سطح برگ‌های جوان با قرار گرفتن گیره بر روی آن‌ها به‌مدت ۲۰ دقیقه در شرایط تاریکی قرار گرفتند تا کلروفیل‌ها به شرایط تاریکی سازش یابند و کلروفیل‌های برانگیخته به حالت پایه خود برگردند. سپس فلورسانس کلروفیل آن‌ها به وسیله دستگاه fluormeter مدل OS 5– FI اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری مقاومت روزنه‌ای: اندازه‌گیری مقاومت روزنه‌ای در برگ‌های جوان با استفاده از دستگاه پورومتر مدل (DELTA- T AP4 DEVICES-U.K.) بر حسب ثانیه بر سانتی‌متر انجام شد.

اندازه‌گیری پتانسیل آب برگ: برای اندازه‌گیری پتانسیل آب برگ قبل از تخریب گلدان‌ها حدود ۵ سانتی‌متر از راس گیاه را بریده و در دستگاه اندازه‌گیری پتانسیل آب برگ (مدل MRC) قرار داده شد. عدد مربوط به پتانسیل آب بر حسب بار از روی دستگاه یادداشت شد.

استخراج و سنجش پرولین: براساس روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) برای استخراج پرولین ۰/۵ گرم از برگ هر گلدان در ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک آبدار ۳۰ میلی‌مولار حل شد. سپس این محلول را از کاغذ صافی عبور داده و ۲ میلی‌لیتر از این محلول در یک لوله آزمایش با ۲ میلی‌لیتر معرف اسید نین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک گلایسال ترکیب شد. این ترکیب در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت قرار گرفت. بعد از ۱ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد تا سرد شود. بعد از اینکه محتویات لوله سرد شد، ٤ میلی‌لیتر تولوئن به آن اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه به شدت به هم زده شد. بعد از این کار دو فاز مجزا تشکیل شده که فاز رویی که فاز رنگی است و فاز تولوئن نام دارد، از فاز آبی جدا شد. بعد از ۲۰ دقیقه جذب فاز تولوئن توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر uv-visible مدل philips در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. در این مرحله از تولوئن به عنوان شاهد استفاده شد. مقدار پرولین در هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد و بر حسب میکرومولار بر گرم وزن‌تر محاسبه گردید.

استخراج عصاره آنزیمی: برای استخراج عصاره آنزیمی از بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار استفاده شد. برای تهیه این بافر ابتدا محلول‌های ۱ مولار از فسفات دی هیدروژن پتاسیم (KH_2PO_4) و فسفات هیدروژن

پتاسیم (K_2HPO_4) تهیه شدند. سپس ۳/۹۶ میلی‌لیتر از محلول فسفات دی هیدروژن پتاسیم و ۱۶/۰۴ میلی‌لیتر از محلول فسفات هیدروژن پتاسیم با هم مخلوط و حجم نهایی با آب دوبار تقطیر به ۲۰۰ میلی‌لیتر رسانده و pH بر روی ۷/٤ تنظیم گردید. نسبت استخراج ۱:۲۰(v/w) برای برگ به کار رفت. تمام مراحل استخراج در یخ در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد انجام شد. بعد از آماده کردن محلول ۰/۵ گرم برگ با ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم در هاون چینی سائیده شد. این عمل ۲۰ دقیقه تا به‌دست آمدن مخلوط همگن ادامه یافت. سپس با استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۲٤ دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول شناور با حجم‌های (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌لیتر) در اپندروف‌های سترون توزیع و در فریزر ۷۰- نگهداری شد.

استخراج و سنجش آنزیم گایاکول پراکسیداز: فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با استفاده از گایاکول به عنوان سوبسترا و بر اساس روش zhang و همکاران (۲۰۰۵) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش حاوی ۲۵ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۲/۷۷ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷، ۱۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۱ درصد و ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول ٤ درصد بود. افزایش جذب به دلیل اکسیداسیون گایاکول در طول موج ٤۷۰ نانومتر در مدت سه دقیقه اندازه‌گیری شد. سپس میزان فعالیت آنزیم بر حسب واحد آنزیمی بر گرم وزن تر بافت محاسبه گردید. هر واحد فعالیت آنزیمی به‌عنوان مقداری از آنزیم تعریف می‌شود که باعث ۰/۰۱ تغییر در جذب شود.

نتایج

مقاومت روزنه‌ای: مطابق با نتایج بدست آمده اثر ساده ژنوتیپ، خشکی، اسید سالیسیلیک و اثر متقابل تنش وژنوتیپ معنی‌دار ولیکن سایر اثرهای متقابل معنی‌دار نشد (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در شرایط بدون تنش مقاومت روزنه‌ای در ژنوتیپ MCC358 به‌طور معنی‌داری بیشتر از ژنوتیپ MCC441 بود (جدول ۲). افزایش تنش خشکی از سطح ۷۵ درصد به ۲۵ درصد باعث افزایش معنی‌دار مقاومت روزنه‌ای نسبت به شاهد شد (جدول ۲). همچنین بر اساس داده‌های جدول ۳ تاثیر افزایش تنش خشکی بر افزایش مقاومت روزنه‌ای نسبت به شاهد در ژنوتیپ MCC358 بیشتر از ژنوتیپ MCC441 بود. تیمار گیاه با اسید سالیسیلیک توانست مقاومت روزنه‌ای را به طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش دهد (جدول۲) که این افزایش در شرایط کنترل و تنش ۵۰ درصد معنی‌دار بود (جدول ٤). داده‌های جدول ۵ نشان می‌دهد که تیمار اسید سالیسیلیک نسبت به شاهد تنها افزایش معنی‌دار مقاومت روزنه‌ای در ژنوتیپ MCC358 را در پی داشت.

بر اساس نتایج حاصل تاثیرات منفی خشکی در میزان مقاومت روزنه‌ای در ژنوتیپ MCC441 تا حدودی بیشتر از ژنوتیپ MCC358 بود. همچنین تاثیرات مفید تیمار اسید سالیسیلیک در ژنوتیپ MCC358 بیشتر از ژنوتیپ MCC441 بود.

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تنش خشکی و تیمار اسیدسالیسیلیک بر صفات مورد بررسی برگ دو ژنوتیپ نخود.

منبع تغییرات	درجه آزادی	مقاومت روزنه s/cm	کارایی فتوسیستمII (FV/FM)	پتانسیل آب برگ (bar)	میزان پرولین µmol/grFW	فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز u/g FW
ژنوتیپ	۱	۵۰۱/۵۵۵**	۰/۱۴۳*	۱۲۰/۸۰۹**	۲/۹۱۰۷**	۵/۵۳۹۰۲**
تنش	۳	۱۲۴/۸۹۸**	۰/۱۹۷۵*	۱۷/۶۶۷۳**	۱۱/۰۶۴۲**	۴/۰۱۶۶۷**
اسید سالیسیلیک	۱	۵۲/۹۶۲**	۰/۰۵۰۷**	۳۴/۰۵۳۹**	۱/۶۴۲۸**	۰/۲۸۵۰۱**
ژنوتیپ× تنش	۳	۲۳/۰۱۲**	۰/۰۰۷۰۱**	۵/۴۵۰۵۴**	۱/۹۱۹۸**	۰/۲۷۵۰۴**
اسید سالیسیلیک × ژنوتیپ	۱	۱۰/۷۹۲**	۰/۰۰۸۵۳*	۳/۵۲۱ns	۲/۸۵۱۹**	۰/۱۳۱۰۴*
تنش× اسید سالیسیلیک	۳	۵/۶۴۵**	۰/۰۰۲۷۶ns	۱۰/۷۷۶۲**	۱/۴۲۳۴**	۰/۰۶۵۷۲*
تنش×اسید سالیسیلیک× ژنوتیپ	۳	۷/۸۸۳**	۰/۰۰۲۸۶ns	۲/۰۷۶۱۲ns	۰/۶۴۴۲**	۰/۲۷۸۹۰*
خطا	۳۲	۳/۰۷۳	۰/۰۰۱۲۸	۰/۹۴۱۹۳	۰/۱۱۹۰	۰/۰۲۱۰۱

**، * و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح ۱٪ و ۵٪ و عدم معنی‌دار

جدول ۲. اثر ژنوتیپ، تنش خشکی و اسیدسالیسیلیک بر صفات مورد بررسی برگ دو ژنوتیپ نخود. میانگین‌های دارای حروف مشابه در مورد هر صفت اختلاف آماری معنی‌داری با یکدیگر ندارند (دانکن α=۰/۰۵).

		مقاومت روزنه s/cm	کارایی فتوسیستم II (FV/FM)	پتانسیل آب برگ (bar)	میزان پرولین µmol/grFW	فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز u/g FW
ژنوتیپ	MCC358	۱۹/۰۹a	۰/۷۳a	-۱۳/۷۳b	۴/۴۱۱۳b	۱/۳۱a
	MCC441	۱۲/۶۲b	۰/۶۲b	-۱۰/۵۶a	۴/۹۰۳۸b	۰/۶۳b
ظرفیت زراعی (درصد)	۱۰۰	۱۳/۰۵c	۰/۸۱a	-۱۱/۰۵a	۴/۰۹۷۵c	۰/۵۱c
	۷۵	۱۳/۴۵c	۰/۷۶b	-۱۱/۳۸a	۳/۶۵۲۵d	۰/۵۴c
	۵۰	۱۷/۰۴b	۰/۵۹c	-۱۲/۴۱b	۵/۱۱۰۰b	۱/۰۷b
	۲۵	۱۹/۸۷a	۰/۵۵d	-۱۳/۷۴c	۵/۷۷۰۰a	۱/۷۶a
اسید سالیسیلیک (میلی مولار)	۰	۱۴/۸۰b	۰./۶۵b	-۱۲/۹۹b	۴/۴۷۲۵b	۰/۸۹b
	۰/۷	۱۶/۹۰a	۰/۷۱a	-۱۱/۳۰a	۴/۸۴۲۵a	۱/۰۵a

جدول ۳. اثر متقابل تنش خشکی و ژنوتیپ بر صفات مورد بررسی برگ دو ژنوتیپ نخود. میانگین‌های دارای حروف مشابه در مورد هر صفت اختلاف آماری معنی‌داری با یکدیگر ندارند (دانکن α=۰/۰۵).

ژنوتیپ	ظرفیت زراعی (درصد)	مقاومت روزنه ای s/cm	کارایی فتوسیستم (FV/FM) II	پتانسیل آب برگ (bar)	پرولین µmol/grFW	فعالیت گایاکول پراکسیداز u/g FW
MCC358	۱۰۰	۱۵/۲۷ c	۰/۸۶ a	-۱۲/۹۷	۳/۸۳d	۰/۷۳ d
MCC358	۷۵	۱۵/۳۲ c	۰/۷۹ b	-۱۳/۱	۳/۷۳d	۰/۷۶ d
MCC358	۵۰	۲۱/۶۵ b	۰/۶۷ d	-۱۴/۵۱	۴/۷۴c	۱/۴۶ b
MCC358	۲۵	۲۴/۱۰ a	۰/۶۱ e	-۱۴/۳۵	۵/۳۳b	۲/۳۰ a
MCC441	۱۰۰	۱۰/۸۳ d	۰/۷۷ bc	-۹/۱۲	۴/۳۶c	۰/۳۰ e
MCC441	۷۵	۱۱/۵۸ d	۰/۷۳ c	-۹/۶۶	۳/۵۷d	۰/۳۱ e
MCC441	۵۰	۱۲/۴۳ d	۰/۵۰ f	-۱۰/۳۱	۵/۴۷b	۰/۶۸ d
MCC441	۲۵	۱۵/۶۵ c	۰/۴۹ f	-۱۳/۱۴	۶/۲۱a	۱/۲۳ c

جدول ٤. اثر متقابل اسید سالیسیلیک و تنش خشکی بر صفات مورد بررسی برگ دو ژنوتیپ نخود. میانگین‌های دارای حروف مشابه در مورد هر صفت اختلاف آماری معنی‌داری با یکدیگر ندارند (دانکن α=۰/۰۵)

اسیدسالیسیلیک (mM)	ظرفیت زراعی (درصد)	مقاومت روزنه s/cm	کارایی فتوسیستم II (FV/FM)	پتانسیل آب برگ (bar)	میزان پرولین µmol/grFW	فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز u/g FW
۰	۱۰۰	۱۱/۱۶e	۰/۸۰ab	-۱۱/۴۳ab	۳/۴۲d	۰/۴۵d
۰/۷	۱۰۰	۱۴/۹۴cd	۰/۸۳a	-۱۰/۷۵a	۴/۷۷c	۰/۵۸d
۰	۷۵	۱۳/۲۳d	۰/۷۴c	-۱۲/۰۸bc	۳/۷۶d	۰/۵۵d
۰/۷	۷۵	۱۳./۶۷d	۰/۷۸b	-۱۰/۶۹a	۳/۵۴d	۰/۵۳d
۰	۵۰	۱۵/۹۰c	۰/۵۵e	-۱۲/۵۷c	۴/۹۴bc	۰/۹۰c
۰/۷	۵۰	۱۸/۱۹b	۰/۶۲d	-۱۲/۲۵bc	۵/۲۸ab	۱/۲۴b
۰	۲۵	۱۸/۹۴ab	۰/۵۰f	-۱۵/۹۷d	۵/۷۶a	۱/۶۸a
۰/۷	۲۵	۲۰.۸۱a	۰.۶۱d	-۱۱.۵۲abc	۵.۷۷a	۱/۸۵a

جدول ۵. اثر متقابل اسیدسالیسیلیک و ژنوتیپ بر صفات مورد بررسی برگ دو ژنوتیپ نخود. میانگین‌های دارای حروف مشابه در مورد هر صفت اختلاف آماری معنی‌داری با یکدیگر ندارند (دانکن α=۰/۰۵)

ژنوتیپ	اسیدسالیسیلیک (mM)	مقاومت روزنه s/cm	کارایی فتوسیستم II(FV/FM)	پتانسیل آب برگ (bar)	میزان پرولین µmol/grFW	فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز u/g FW
MCC358	۰	۱۷/۵۶۷ b	۰/۶۲۱۷ b	-۱۱/۴۰۳ b	۱/۱۸۶۹ b	۴/۴۷۵۰ b
MCC358	۰/۷	۲۰/۶۱۶ a	۰/۷۸۳۳ a	-۹/۷۲۴ a	۱/۴۴۷۵ a	۵/۳۳۲۵ a
MCC441	۰	۱۲/۰۵۰ c	۰/۶۰۹۲ d	-۱۴/۵۸۲ d	۰/۶۵۷۵ c	۴/۴۷۰۰ b
MCC441	۰/۷	۱۳/۲۰۳ c	۰/۶۴۷۵ c	-۱۲/۸۹۲ c	۰/۶۰۷۵ c	۴/۳۵۲۵ b

کارایی فتوسیستم II (Fv/Fm): بر اساس نتایج آنالیز واریانس اثر ژنوتیپ، خشکی، اسید سالیسیلیک و اکثر اثرهای متقابل معنی‌دار شد. اما اثر متقابل خشکی و اسید سالیسیلیک معنی‌دار نشد (جدول ۱). بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها در شرایط بدون تنش خشکی کارایی فتوسیستم II در ژنوتیپ MCC358 به طور معنی‌داری بیشتر از ژنوتیپ MCC441 بود (جدول ۲). با افزایش سطح تنش خشکی کارایی فتوسیستم II نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری یافت (جدول ۲)، که بر اساس جدول ۳ این کاهش در کارایی فتوسیستم II تنها در ژنوتیپ MCC358 در هر سه سطح تنش خشکی معنی‌دار بود. تیمار اسید سالیسیلیک توانست کارایی فتوسیستم II را به طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش دهد (جدول ۲)، که این افزایش معنی‌دار در شرایط تنش خشکی مشاهده شد (جدول ٤). بر اساس داده‌های جدول ۵ کارایی فتوسیستم II در دو ژنوتیپ مورد بررسی بعد از تیمار با اسید سالیسیلیک افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داد که این افزایش در کارایی فتوسیستم II در ژنوتیپ MCC358 نسبت به شاهد بیشتر از ژنوتیپ دیگر بود.

پتانسیل آب برگ: براساس جدول ۱ اثرهای ساده ژنوتیپ، خشکی و اسید سالیسیلیک معنی‌دار شد. در این مورد اثر متقابل ژنوتیپ و اسید سالیسیلیک معنی‌دار نشد ولی سایر آثار متقابل معنی‌دار بود. داده‌های جدول ۲ نشان می‌دهد که در شرایط بدون تنش خشکی ژنوتیپ MCC358 پتانسیل آب کمتری نسبت به ژنوتیپ MCC441 داشت و با افزایش تنش خشکی پتانسیل آب برگ نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری

یافت، که بر اساس داده‌های جدول ۳ در ژنوتیپ MCC358 در سطح تنش ۵۰ و ۲۵ درصد و در ژنوتیپ MCC441 در سطح تنش ۲۵ درصد کاهش پتانسیل آب معنی‌دار بود. تیمار اسید سالیسیلیک پتانسیل آب برگ گیاه را به طور معنی‌داری کاهش داد (جدول ۲) که این کاهش معنی‌دار مربوط به تنش خشکی ۷۵ درصد بود (جدول ٤). اثر متقابل اسید سالیسیلیک و ژنوتیپ بر پتانسیل آب برگ معنی‌دار نشد (جدول ۵).

میزان پرولین: بر اساس نتایج آنالیز واریانس اثر ژنوتیپ، خشکی، اسید سالیسیلیک و تمام اثرهای متقابل بر میزان پرولین برگ در سطح آماری ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که میزان پرولین برگ در شرایط بدون تنش خشکی در ژنوتیپ MCC441 به‌طور معنی‌داری بیشتر از ژنوتیپ MCC358 بود (جدول ۲). با افزایش سطح تنش خشکی میزان پرولین به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت (جدول ۲) که بر اساس داده‌های جدول ۳ افزایش میزان پرولین در سطح تنش۵۰ و ۲۵ درصد در هر دو ژنوتیپ مورد بررسی معنی‌دار بود. تیمار اسید سالیسیلیک میزان پرولین برگ را به طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش داد (جدول ۲) که این افزایش معنی‌دار تنها مربوط به شرایط بدون تنش خشکی بود (جدول ٤). داده‌های جدول ۵ افزایش نشان می‌دهد که افزایش معنی‌دار میزان پرولین در شرایط بدون تنش خشکی مربوط به ژنوتیپ MCC358 بوده و اسید سالیسیلیک نتوانسته است تاثیر معنی‌داری بر ژنوتیپ MCC441 داشته باشد.

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز: بر اساس داده‌های جدول ۱ تمام اثرهای ساده و متقابل بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز معنی‌دار شدند. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در شرایط بدون تنش خشکی فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در ژنوتیپ MCC358 بیشتر از MCC441 بود (جدول ۲). تنش خشکی در دو ژنوتیپ مذکور باعث افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز نسبت به شاهد شد که در ژنوتیپ MCC358 بیشتر از ژنوتیپ دیگر بود (جدول ۳). تیمار اسیدسالیسیلیک تاثیر معنی‌داری بر افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز داشت (جدول ۲). این افزایش معنی‌دار تنها در تنش خشکی۵۰ درصد مشاهده شد (جدول ٤). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تیمار اسید سالیسیلیک تنها توانست بر روی ژنوتیپ MCC358 تاثیر گذاشته و باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در این ژنوتیپ شود. تاثیر تیمار اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در ژنوتیپ MCC441 معنی‌دار نبود (جدول ۵).

بحث

در مطالعه حاضر تنش خشکی باعث افزایش مقاومت روزنه‌ای گیاه شد. در شرایط تنش خشکی افزایش در مقاومت روزنه‌ای در ژنوتیپ MCC358 نسبت به شاهد بیشتر از ژنوتیپ دیگر بود. در تائید نتایج فوق Saei و همکاران (۲۰۰٦) بیان کردند که تنش خشکی بر روی رفتار روزنه‌ای برگ‌های زیتون تاثیر گذاشت و با افزایش مقاومت روزنه‌ای، باعث بسته شدن روزنه‌ها شد. بسته شدن روزنه‌ها باعث کاهش تبادلات گازی و همچنین کاهش اتلاف آب در شرایط تنش می‌شود. در مطالعه حاضر تیمار اسید سالیسیلیک باعث افزایش مقاومت روزنه‌ای شد که تنها در ژنوتیپ MCC358 معنی‌دار بود. Khan و همکاران (۲۰۰۳) افزایش در میزان هدایت روزنه‌ای را در پاسخ به اسید سالیسیلیک (10^{-5} مولار)، در شاخ و برگ ذرت و سویا مشاهده کردند.

نتایج آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش کارایی فتوسیستم II گیاه شد. این کاهش در دو ژنوتیپ مشاهده شد اما در ژنوتیپ MCC358 نسبت به شاهد بیشتر بود. ممنوعی و شریفی (۱۳۸۹)

بیان داشتند که تنش‌های محیطی از جمله تنش خشکی با آسیب به فتوسیستم II باعث کاهش Fv/Fm می‌شود. Habibi (۲۰۱۲) گزارش داد که تنش خشکی باعث کاهش Fv/Fm می‌شود و علت آن را ناشی از محدود شدن CO_2 برای فتوسنتز و تنفس نوری دانست. امروزه فلورسانس کلروفیل به عنوان یک معیار سنجش برای اندازه گیری تنش‌های محیطی از جمله تنش آب در گونه‌های زراعی و تعیین میزان مقاومت به خشکی آنها مطرح می‌باشد. در حقیقت مقدار فلورسانس کلروفیل سالم بودن غشای تیلاکوئید و کارایی نسبی انتقال الکترون را از فتوسیستم II نشان می‌دهد (ممنوعی و شریفی، ۱۳۸۹). وقتی مولکول‌های کینون در وضعیت کاملا اکسید شده (وضعیت باز مرکز واکنش فتوسیستم II) هستند، سیستم دارای کمترین فلورسانس F_0 است که به‌تدریج با افزایش احیاء شدن این مولکول‌ها فلورسانس افزایش می‌یابد. این روند تا احیای کامل مولکول‌های آن ادامه پیدا می‌کند. در چنین حالتی مرکز فتوسیستم در حالت احیای کامل بوده و دارای بیشترین فلورسانس Fm است. در واقع تنش خشکی با تاثیر سوئی که بر تثبیت کربن می‌گذارد، ظرفیت پذیرش و انتقال الکترون را کاهش داده و در نتیجه سیستم به سرعت به Fm می‌رسد که نتیجه آن کاهش فلورسانس متغیر Fv خواهد بود. از طرفی با افزایش شدت نور سیستم فتوسنتزی با یک روش تنظیمی برای کاهش انرژی القاء شده تحریکی، انرژی مازاد را به طریق افزایش خاموشی غیرفتوشیمیایی به‌صورت فرایند غیر تشعشعی از دست می‌دهد. با این مکانیسم تنظیمی ضمن حفاظت از مرکز واکنش موجب می شود که حداقل صدمه به این مرکز وارد شود. از این رو کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II باعث کاهش این نسبت می شود (ممنوعی و شریفی، ۱۳۸۹). در مطالعه حاضر تیمار اسید سالیسیلیک باعث افزایش کارایی فتوسیستم II در دو ژنوتیپ شد که این افزایش در ژنوتیپ MCC358 نسبت به شاهد بیشتر بود. Shi و همکاران (۲۰۰۶) با مطالعه بر روی گیاه خیار تاثیر اسید سالیسیلیک (۱ میلی‌مولار) را بر بهبود عملکرد فتوسیستم II تائید کردند. Ervin و همکاران (۲۰۰۵) یک افزایش در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز را بعد از تیمار گیاهان با اسید سالیسیلیک مشاهده کردند. آنها بیان داشتند که اسید سالیسیلیک با فعال کردن سیستم آنتی‌اکسیدانی و انتقال پیام منجر به افزایش کارایی فتوسیستم II می‌شود. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد تاثیر تنش خشکی بر پتانسیل آب برگ در ژنوتیپ‌های مورد بررسی نخود معنی‌دار بود. در این مطالعه، افزایش سطح تنش خشکی پتانسیل آب برگ را در دو ژنوتیپ MCC358 و MCC441 کاهش داد، که در هر دو ژنوتیپ MCC441 و MCC358 در سطوح تنش ۵۰ و ۲۵ درصد این کاهش معنی‌دار بود. Nasri و همکاران (۲۰۰۸) کاهش پتانسیل آب را در شرایط تنش خشکی در گیاه کانولا تایید کردند. Rodriguez و همکاران (۲۰۰۵) نیز بیان کردند که اولین عکس العمل گیاه نسبت به تنش خشکی کاهش پتانسیل آب برگ و تبادلات گازی روزنه‌ها می‌باشد. در مطالعه حاضر تیمار اسید سالیسیلیک باعث افزایش پتانسیل آب برگ در دو ژنوتیپ مورد بررسی شد. به نظر می رسد اسید سالیسیلیک باعث ایجاد فرایندهای متابولیکی زیادی در گیاهان شده و به این ترتیب بر روی نسبت‌های آبی گیاه تاثیر گذار است (Agarwal et al., 2005).

بر اساس نتایج آنالیز واریانس تنش خشکی تاثیر معنی‌داری بر افزایش میزان پرولین برگ داشت. این تاثیر به‌صورت یک افزایش معنی‌دار در سطوح تنش ۵۰ و ۲۵ درصد مشاهده شد. افزایش پرولین در شرایط تنش نوعی مکانیسم دفاعی برای گیاهان محسوب می شود. در مطالعه جوانمردی و همکاران (۱۳۸۹) تنش خشکی غلظت پرولین برگ گیاه گندم را به طور معنی‌داری افزایش داد. در واقع پرولین با استفاده از چندین مکانیسم دفاعی مانند حذف هیدروکسیل، تنظیم اسمزی، جلوگیری از دناتوره شدن آنزیم‌ها و حفظ سنتز پروتئین باعث افزایش مقاومت

گیاه در شرایط تنش می شود. در مطالعه حاضر تیمار اسید سالیسیلیک باعث افزایش معنی‌دار میزان پرولین شد که این افزایش معنی‌دار تنها در ژنوتیپ MCC358 مشاهده شد. Yoshiba و همکاران (۲۰۰۵) بیان کردند که اسید سالیسیلیک با القا برهمکنش‌های حفاظتی با واسطه هورمون آبسزیک اسید منجر به تجمع اسمولیت‌ها به ویژه پرولین در گیاهان می‌شود. Bidabadi و همکاران (۲۰۱۲) نیز افزایش سطوح پرولین را در گیاهان موز تیمار شده با غلظت‌های ۰، ۱، ۲ و ۳ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک که در شرایط تنش خشکی قرار داشتند، گزارش کردند. Omidi و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند که تجمع پرولین در غلظت‌های ۰/۳ و ۰/٦ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک در گیاهان گندم تحت تنش اکسیداتیو افزایش می‌یابد. بنابراین می توان نتیجه گرفت که تجمع پرولین در شرایط تنش می تواند یک شاخص مناسب برای سنجش میزان مقاومت به تنش در گیاهان محسوب شود (Amiri et al., 2012).

در مطالعه حاضر تنش خشکی باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم گایاکول پر اکسیداز در دو ژنوتیپ MCC358 و MCC441 در سطوح تنش ۵۰ و ۷۵ درصد شد که این افزایش در ژنوتیپ MCC358 نسبت به شاهد بیشتر بود. سلول‌های گیاهی جهت مقابله با اثرات منفی تنش‌های محیطی از مکانیسم‌های دفاعی ویژه‌ای برخوردارند که شامل آنتی اکسیدان‌های آنزیمی (سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون ردوکتاز، پراکسیدازها) و آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی (کاروتنوئید، توکوفرول، آسکوربات، گلوتاتیون) می‌باشند (اسفندیاری و همکاران، ۱۳۸۷). پراکسیدازها گلیکو پروتئین‌های حاوی هِم بوده که توسط یک خانواده چند ژنی رمزگذاری می‌شوند. این آنزیم‌ها اکسایش و کاهش بین هیدروژن و کاهنده‌های گوناگون را بر عهده دارند (Amiri et al., 2011). گایاکول پراکسیداز (GPX, EC 1.11.1.7) یکی از مهمترین گروه‌های پراکسیداز بوده که گایاکول را به‌عنوان یک سوبسترای کاهنده اکسید می‌کند. واکنش گایاکول با آب اکسیژنه منجر به تولید ترکیبی به نام تتراگایاکوکوئینون می‌شود (Amiri et al., 2011). Abedi و همکاران (۲۰۱۰) با بررسی اثر تنش خشکی بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاه *Brassica napus* دریافتند تنش خشکی باعث افزایش فعالیت در چندین آنزیم آنتی‌اکسیدان از جمله گایاکول پراکسیداز می‌شود. آنها بیان کردند که افزایش در گایاکول پراکسیداز می‌تواند یک عامل مهم برای تجزیه آب اکسیژنه به‌ویژه در زمانی باشد که کاتالاز غیر فعال شده است. افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در مطالعات اسفندیاری و همکاران (۱۳۸۷) در برگ‌های گیاه خلر در مواجه با تنش شوری نیز مشاهده شد. در مطالعه حاضر تیمار اسید سالیسیلیک باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در ژنوتیپ MCC358 شد، اما تاثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در ژنوتیپ MCC441 نداشت. Zhang و همکاران (۲۰۰۵) تاثیر غلظت‌های ۰، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک را بررسی کرده و نتیجه گرفتند که اسید سالیسیلیک در غلظت ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار باعث افزایش فعالیت گایاکول پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز شد در حالی که فعالیت کاتالاز را کاهش داد. Kabiri و همکاران (۲۰۱۲) بیان داشتند که تیمار اسید سالیسیلیک (۵ میلی‌مولار) در *Nigella sativa* باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیم گایاکول پراکسیداز و به دنبال آن کاهش میزان پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپید شد. آنها نتیجه گرفتند که عملکرد اسید سالیسیلیک باعث افزایش آنزیم‌های نابود کننده ROS شده و با کاهش آسیب اکسیداتیو باعث مقاومت گیاه به تنش خشکی می‌شود.

نتیجه‌گیری نهایی

بر طبق مشاهدات حاصل می‌توان گفت با وجود اینکه تنش خشکی توانست در برخی از پارامترهای اندازه‌گیری شده در ژنوتیپ MCC358 نسبت به ژنوتیپ MCC441 تغییرات بیشتری اعمال کند، اما در مجموع تاثیر تنش خشکی بر ژنوتیپ MCC441 بیشتر بود. از طرفی تیمار اسید سالیسیلیک (۰/۷ میلی‌مولار) در شرایط تنش خشکی در بهبود صفات تغییر یافته در این شرایط بر ژنوتیپ MCC358 بیشتر از MCC441 بود و احتمالاً MCC441 نسبت به MCC358 از نظر میزان تحمل شرایط تنش خشکی حساسیت بیشتری دارد و MCC358 مقاومت بیشتری را در شرایط تنش زا از خود نشان می‌دهد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد کمال تشکر را داریم.

منابع

اسفندیاری، ع.، عباسی، ا.، عنایتی، و. و موسوی، ب. (۱۳۸۷). رفتار متفاوت ریشه و برگ توده بومی خلر در پاسخ به تنش اکسیداتیو ناشی از شوری. مجله دانش کشاورزی و تولید پایدار. جلد ۲. شماره ٤.صفحات ۷۵-٦۵.

شکاری، ف.، پاک‌مهر، ا.، راستگو، م.، صبا، ج.، وظایفی، م. و زنگانی، ا. (۱۳۸۹). تأثیر پرایمینگ سالیسیلیک اسید بر برخی صفات مورفولوژیک لوبیا چشم بلبلی (*Vigna unguiculata* L.) تحت تنش کم آبی در مرحله غلافبندی. فن‌آوری‌های نوین کشاورزی (ویژه زراعت و باغبانی). سال ٤. شماره ۱. صفحات ۲٦-۵.

خزاعی، ح.، پارسا، م. و حسین‌پناهی، ف. (۱۳۸۷). اثرات تلقیح نژادهای بومی ریزوبیوم بر گره‌زایی ژنوتیپ‌های دسی و کابلی نخود تحت رژیم‌های مختلف رطوبتی در مرحله رشد رویشی (*Cicer arietinum* L.). مجله پژوهش‌های زراعی ایران. جلد ٦. شماره ۱. صفحات ۱۸۹-۹۷.

جوانمردی، ش.، فتوت، ر. و صبا، ج. (۱۳۸۹). رابطه بین کربوهیدرات‌های محلول و پرولین با تنظیم اسمزی و نقش تنظیم اسمزی در عملکرد گندم تحت شرایط تنش خشکی. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع‌طبیعی. علوم آب و خاک. جلد ۱٤. شماره ۵۳. صفحات ٦۵-۷۳.

ممنوعی، ا. و شریفی، ر. (۱۳۸۹). بررسی اثر کمبود آب بر شاخص‌های فلورسانس کلروفیل و میزان پرولین در عملکرد (Canopy) شش ژنوتیپ جو و رابطه آن با دمای آسمانه. مجله زیست‌شناسی گیاهی. سال ۲. شماره ۵. صفحات ۵۱-٦۲.

Abedi, T. and Pakniyat, H. (2012). Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivar of oilsed rap (*Brassica napus* L.). Plant Breed. 46(4): 27-34.

Agarwal, S., Sairam, R.K., Srivastava, G.C. and Meena, R.C. (2005). Changes in antioxidant enzymes activity and oxidative stress by abscisic acid and salicylic acid in wheat genotypes. Biologia Plantarum. 49 (4): 541-550.

Amiri, A., Parsa, S.R., Nezami, M. and Ganjeali, A. (2011). The effects of drought stress at different phenological stages on growth indices of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in greenhouse conditions, Iranian Journal of Pulses Research.1: 69-84.

Bates, L-S., Waldren, R.P. and Tear, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil. 39(1): 205-208.

Bidabadi, S., Mahmood, Baninasab, M.B. and Ghobadi, C. (2012). Influence of salicylic acid on morphological and physiological responses of banana (*Musa acuminata* cv. 'Berangan', AAA) shoot tips to in vitro water stress induced by polyethylene glycol. Plant Omics Journal. 5(1): 33-39.

Bray, A.E. (1997). Plant responses to water deficit. Trends in Plant Science. 2(2):54-45.

Ervin, E.H., Zhang, X. and Schmidt, R.E. (2005). Exogenous salicylic acid enhances

post-transplant success of heated kentucky bluegrass and tall fescue sod. Crop Science. 45(1):240–244.

Habibi, G. (2012). Exogenous salicylic acid alleviates oxidative damage of barley plants under drought stress. Acta Biologica Szegediensis. 56(1):57-63.

Kabiri, R., Farahbakhsh, H. and Nasibi, F. (2012). Salicylic acid ameliorates the effects of oxidative stress induced by water deficit in hydroponic culture of *Nigella sativa*. Journal of Stress Physiology and Biochemistry. 12(11): 1420-1425.

Kang, G. (2003). Salicylic acid changes activities of H_2O_2 metabolizing enzymes and increases the chilling tolerance of banana seedlings. Environmental and Experimental Botany. 50(1):9-15.

Khan, W., Balakrishnan, P. and Smith, D.L. (2003). Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. Journal of Plant Physiology. 160(5): 485-492.

Khodabakhsh, F., Amooaghaie, R., Mostajeran, A. and Emtiazi, G. (2010). Effect of hydro and osmopriming in two commercial chickpea cultivars on germination, growth parameters and nodules number in salt stress condition. Journal of Plant Biology. 2(6): 147-153.

Lee, H., León, J. and Raskin, I. (1995). Biosynthesis and metabolism of salicylic acid. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA. 92(10):4079-4076.

Merkouropoulos, G., Barnett, D.C., and Shirsat, A.H. (1999). The Arabidopsis extensin gene is developmentally regulated, is induced by wounding, methyl jasmonate, abscisic and salicylic acid and induced and codes for a protein with unusual motifs. Planta. 208:212-219.

Millan, T., Clarke, H.J., Siddique, K.H., Buhariwalla, M.H.K., Gaur, P.M. K., Jagdish, G.J., Kahl, G. and Winter, P. (2006). Chickpea molecular breeding: New tools and concepts, Euphytica, 147(1-2): 81-103.

Nasri. M., Zahedi, H., Tohidi, H.R., Moghaddam, F., Ghooshchi and Paknejad, F. (2008). Investigation of water stress on macroelements in rapeseed genotypes leaf. American Journal of Agricultural and Biological Science. 3(1): 669-672.

Omidi, H., Movahadi, F. and Movahadi, SH. (2012). The effect of salicylic acid and scarification on germination characteristics and proline, protein and soluble carbohydrate content of Prosopis *(Prosopis farcta* L.) seedling under salt stress. Range and Desert Research. 18(4):608-623.

Raskin, I. (1992). Role of salicylic acid in plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 43: 463-439.

Rodriguez, P., Torrecillas, A., Morales, M.A., Ortuño, M.F. and Blanco, M.J.S. (2005). Effects of NaCl salinity and water stress on growth and leaf water relations of *Asteriscus maritimus* plants. Environmental and Experimental Botany .53(2):113-123.

Saei, A., Zamani, Z., Talaie, A. and Fatahi, R. (2006). Influence of drought stress periods on Olive (*Olea europaea* L.cv. Zard) leaves stomata. International Journal of Agriculture and Biology .8(4):430–433.

Senaranta, T., Touchell, D., Bumm, E. and Dixon, K. (2002). Acetylaslicylic (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. Plant Growth Regulation. 30(2): 157-161

Shi, Q., Bao, Z., Zhu, Z., Ying, Q. and Qian, Q. (2006). Effects of different treatments of salicylic acid on heat tolerance, chlorophyll florescence and antioxidant enzyme activity in seedlings of *Cucumis sativa* L. Plant Growth Regulation. 48(2):127-135

Szepesi, A., Poór, P., Gémes, K., Horváth, E. and Tari, I. (2008). Influence of exogenous salicylic acid on antioxidant enzyme activities in the roots of salt stressed tomato plants. Acta Biologica Szegediensis. 52(1):199-200

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

Zhang, Z., Pang, X., Duan, X., Ji, Z.L. and Jiang, Y. (2005). Role of peroxidase in anthocyanin degradation in litchi fruit pericarp. Food Chemistry 90 (1): 47-52.