نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال پانزدهم، شماره ۶۰، زمستان ۱۳۹۹ / صفحات: ۱۰۶-۹۵

تاثیر محلول‌پاشی نانو دی‌اکسید تیتانیوم و اسید سالیسیلیک بر برخی از صفات فیزیولوژیک گیاه سرخارگل (*Echinaceae purpurea* L.) در شرایط کمبود آب

آسیه امیدحقی[۱]، ابراهیم خلیل‌وند بهروزیار[۱*]، فرهاد فرح‌وش[۱]، مهرداد یارنیا[۱]، عبداله حسن‌زاده قورت تپه[۲]

[۱]گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

[۲]بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۰۳

چکیده

به منظور ارزیابی تاثیر تنش کمبود آب و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم بر برخی از صفات فیزیولوژیکی گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.) آزمایشی به‌صورت اسپلیت پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در سال ۱۳۹۷-۱۳۹۶ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز به اجرا در آمد. عامل اصلی تنش کمبود آب در سه سطح آبیاری تا ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و ترکیب تیماری محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و نانو ذرات دی اکسید تیتانیوم هر کدام در دو سطح ۰/۰۲ و ۰/۰٤ درصد به‌عنوان عامل فرعی و محلول‌پاشی آب مقطر به‌عنوان تیمار عدم مصرف این ترکیبات در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که اثر تنش کمبود آب بر صفات محتوای رطوبت نسبی و میزان پرولین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بر همکنش تنش کمبود آب و محلول‌پاشی نانو دی اکسید تیتانیوم و اسید سالیسیلیک بر صفات محتوای کلروفیل b، کلروفیل کل و میزان پراکسید هیدروژن در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. اعمال تنش آبیاری تا ۵۰ درصد رطوبت زراعی موجب افزایش ٤۰ درصدی میزان پرولین و کاهش ۱۰ درصدی محتوای رطوبت نسبی نسبت به آبیاری کامل (آبیاری تا ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) گشت. محلول‌پاشی با ۰/۰٤ درصد اسید سالیسیلیک و ۰/۰٤ درصد نانو دی اکسید تیتانیوم تحت آبیاری تا ۱۰۰ درصد رطوبت زراعی موجب کاهش میزان پراکسید هیدروژن نسبت به تیمار آبیاری تا ۵۰ درصد ظرفیت زراعی و عدم محلول‌پاشی گردید. بیشترین میزان کلروفیل کل برگ در تیمار آبیاری تا۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و محلول‌پاشی با ۰/۰۲ درصد اسید سالیسیلیک و ۰/۰٤ درصد نانو دی اکسید تیتانیوم به دست آمد که افزایش ۷۹/۵۲ درصدی نسبت به تیمار آبیاری تا ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و عدم محلول‌پاشی نشان داد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، پراکسید هیدروژن، تنش کمبود آب، محتوای کلروفیل، محتوای نسبی آب برگ

مقدمه

سرخارگل (*Echinaceae purpurea*) گیاهی چندساله از تیره کاسنی است که کاربرد وسیعی در صنایع دارویی، آرایشی و بهداشتی دارد. فرآورده‌های دارویی بدست آمده از ریشه و اندام‌های هوایی این گیاه، به دلیل دارا بودن خاصیت تقویت سیستم ایمنی بدن، به منظور پیشگیری و درمان سرماخوردگی، سرفه، برونشیت، عفونت‌های ریوی و بیماری‌های مزمن ناشی از نقص ایمنی استفاده می‌شود (Tsai et al., 2012). کمبود آب یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده

*نویسنده مسئول: e.khalilvand@iaut.ac.ir

تولیدات زراعی در جهان است و این موضوع در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان از اهمیت بیشتری برخوردار است (Kirigwi et al., 2004). بروز تنش کمبود آب طی مراحل مختلف نموی مخصوصاً مرحله زایشی باعث کاهش طول دوره فتوسنتزی، انتقال مواد حاصل از فتوسنتز جاری به دانه، کاهش سهم انتقال مجدد مواد ذخیره شده در ساقه به دانه و کاهش عملکرد دانه می‌شود (Pouryousef et al., 2012) گیاهان به تنش خشکی در سطوح فیزیولوژیکی، سلولی و مولکولی پاسخ می‌دهند. این پاسخ به گونه و ژنوتیپ گیاه (Rampino et al., 2006)، طول دوره و شدت کمبود آب، سن و مرحله نموی (Araus et al., 2001) بستگی دارد. تنش‌های محیطی از جمله تنش خشکی از طریق اختلال در واکنش‌های متابولیسمی و تولید گونه‌های اکسیژن فعال باعث تخریب پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک، آسیب رساندن به DNA، پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و به دنبال آن سبب کاهش نفوذ پذیری انتخابی غشاء سلولی و در نهایت مرگ سلولی می‌شوند (Hayat et al., 2010). در شرایط خشکی ترکیبات شیمیایی گیاهان از جمله پرولین، قند، پروتئین و میزان کلروفیل تغییر می‌کند که می‌توانند مکانیسم‌های مقاومت به خشکی محسوب شوند. گیاهان دارویی بر خلاف محصولات زراعی که در شرایط تنش از نظر مقدار عملکرد لطمه می‌بینند، ممکن است در چنین وضعیتی تولید مواد شیمیایی بیشتر و در نتیجه بازدهی اقتصادی برتری پیدا کند (Omidbeigi, 2005).

تنش خشکی می‌تواند باعث ایجاد تنش اکسیداتیو شود که این فرایند می‌تواند به کاهش مقدار رنگدانه‌های کلروفیل a و b منجر شود که منتج به کاهش توانایی فتوسنتز می‌شود (Ort, 2001). یکی دیگر از عوامل کاهش کلروفیل‌ها، رقابت آنزیم گلوتامیل کیناز (آنزیم کاتالیز کننده پرولین) و آنزیم لوتامات لیگاز (اولین آنزیم مسیر بیوسنتز کلروفیل) در شرایط تنش خشکی می‌باشد که باعث شده تا پیش‌ساز گلوتامات، بیشتر به مصرف پرولین برسد و در نتیجه بیوسنتز کلروفیل با محدودیت مواجه شود (Ramak et al., 2006).

نانو تکنولوژی یکی از پیشرفت‌های بسیار بدیع و نوظهوری است که با استفاده از نانو ذرات که تغییرات فیزیکی و شیمیایی بسیاری در آن‌ها ایجاد شده، جایگاه برجسته‌ای در علوم مختلف از جمله علوم گیاهی و کشاورزی پیدا کرده است (Fadeel et al., 2017). نانو ذره دی‌اکسید تیتانیوم به‌عنوان یکی از نانو بلورهای نیمه هادی اکسید فلزی، جایگاه ویژه‌ای در جهان صنعتی امروز یافته و به‌علت ویژگی‌های الکتریکی، نوری و فوتوکاتالیستی خوبی که دارد توجه بسیاری از دانشمندان در حوزه‌های مختلف ازجمله کشاورزی را به خود جلب کرده است (Khan et al., 2017). تیتانیوم به‌عنوان یک عنصر سودمند باعث افزایش و تحریک رشد می‌شود. کاربرد تیتانیوم در محلول غذایی یا محلول‌پاشی روی برگ‌های گیاه باعث افزایش زیست توده و رشد گونه‌های مختلف گیاهی شده‌است. نانو دی‌اکسید تیتانیوم به علت خواص ویژه الکتریکی، نوری و فوتوکاتالیستی خوبی که دارد کاربرد فراوانی در حوزه‌های مختلف از جمله کشاورزی دارد که این قدرت ناشی از شکل و اندازه ذرات این ماده است. استفاده از نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم می‌تواند باعث تحریک تقسیم سلولی، افزایش اندازه سلول و همچنین تحریک کالوس‌زایی در شرایط تاریکی می‌شود و ممکن است اثرات مشابهی با هورمون‌های گیاهی (سایتوکینین و جیبرلین) داشته باشد (Mandeh et al., 2012). تیتانیوم با تاثیر بر فعالیت‌های بیوشیمیایی گیاه باعث افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو، فعالیت فسفوریلاسیون نوری کلروپلاست، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، نیترات

ردوکتاز و پراکسیداز می‌شود (Khater, 2015). محققین، دلیل افزایش فعالیت این آنزیم‌ها تحت تأثیر تیمار تیتانیوم را ناشی از افزایش جذب آهن دانسته‌اند (Mahmmodzadeh et al., 2013). نانو ذره دی‌اکسید تیتانیوم کلیه خصوصیات اکسید تیتانیوم را دارا بوده و همچنین به واسطه کوچکی اندازه ذرات، سطح تماس آن با مواد افزایش یافته و کارایی و اثربخشی بیشتری دارد (Karimi and Mirjalili, 2009). Owolade و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که تیتانیوم باعث افزایش میزان محصول لوبیا چشم بلبلی شد.

اسید سالیسیلیک یک ترکیب فنلی است و با داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی گیاهان نقش دارد. اسید سالیسیلیک به عنوان یک مولکول پیام‌رسان مهم در پاسخ‌های گیاه به تنش‌های زیستی و غیر زیستی شناخته شده است (El-Tayeb, 2005) که با تأثیر بر آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیدازها و تنظیم‌کننده‌های اسمزی مثل پرولین، گلیسین و بتائین آثار ناشی از تنش خشکی، فلزات سنگین، گرما، سرما و شوری را کاهش می‌دهد (Senaranta et al., 2002).

اسید سالیسیلیک تاثیر خود را بر فتوسنتز از طریق عوامل روزنه‌ای، رنگیزه و ساختار کلروپلاست و آنزیم‌های دخیل در مراحل فتوسنتز اعمال می‌کند (Ghai et al., 2002). استفاده از اسید سالیسیلیک همراه با تنش خشکی باعث افزایش بعضی از فرآیندهای فیزیولوژیکی می‌گردد که می‌تواند بر افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش خشکی بیافزاید. از اسید سالیسیلیک برای محلول‌پاشی بر گیاهان در جهت کاهش اثرات ناشی از تنش خشکی بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه می‌توان استفاده کرد. اسید سالیسلیک در گیاهانی که تحت تنش‌های محیطی از قبیل تنش خشکی قرار دارند، می‌تواند نقش حفاظتی و دفاعی داشته و مقاومت گیاه را در برابر آن‌ها افزایش دهد (Munne-Bosch and Penuelas, 2003). با توجه به مطالب گفته شده این تحقیق با **هدف** ارزیابی تاثیر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و نانو دی‌اکسید تیتانیوم در شرایط تنش کمبود آب بر برخی از صفات فیزیولوژیکی گیاه دارویی سرخارگل انجام شد.

مواد و روش‌ها

منطقه مورد مطالعه: این پژوهش به صورت اسپلیت پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز با طول جغرافیایی ٤٦ درجه و ۱۷ دقیقه شرقی، عرض جغرافیایی ۳۸ درجه و ۵ دقیقه شمالی و ارتفاع ۱۳٦۰ متر از سطح دریا در فصل زراعی ۱۳۹۷-۱۳۹٦ اجرا گردید.

فاکتورهای آزمایش: شامل تنش آبی در سه سطح (آبیاری تا ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) به‌عنوان عامل اصلی و ترکیب فاکتوریلی محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در دو سطح: ۰/۰۲ و ۰/۰٤ درصد و محلول‌پاشی نانو دی‌اکسید تیتانیوم در دو سطح ۰/۰۲ و ۰/۰٤ درصد به‌عنوان عامل فرعی و محلول‌پاشی آب مقطر نیز به‌عنوان تیمار عدم مصرف این ترکیبات در نظر گرفته شدند. هر کرت به ابعاد ۱/۵×۲ مترمربع که در هر کرت ۳ ردیف کاشت بصورت جوی پشته‌ایی به فاصله بین ردیفی ٤۵ سانتی‌متر از هم بود. فاصله هر کرت فرعی با کرت فرعی دیگر یک خط نکاشت و فاصله کرت‌های اصلی از هم‌دیگر به دلیل وجود تنش آبی ۳ متر، فاصله تکرارهای آزمایشی ۲ متر و برای هر یک از کرت‌های اصلی یک کرت فرعی به‌عنوان کرت شاهد در نظر گرفته شد. محلول‌پاشی روی اندام هوایی زمانی‌که بیش از ۵۰ درصد مزرعه شروع به گلدهی کردند انجام شد. اعمال تنش قبل از

به گل رفتن گیاهان صورت پذیرفت و تا پایان فصل رشدی گیاه ادامه داشت. برای از بین بردن اثرات حاشیه‌ایی دو ردیف کناری و دو بوته از ابتدا و انتهای ردیف باقی‌مانده حذف شد.

اندازه‌گیری ظرفیت زراعی: برای تعیین ظرفیت مزرعه‌ای از دستگاه صفحات فشار استفاده شد. بدین‌ترتیب که نمونه‌هایی از خاک مزرعه برداشت و سپس نمونه‌های خاک اشباع شدند. نمونه‌های اشباع‌شده در دستگاه صفحه فشار روی صفحات سرامیکی قرار داده شدند. سپس به آهستگی هوای داخل محفظه افزایش یافت تا به فشار یک‌سوم بار (۰/۳ بار) رسید. این فشار در خاک‌های رسی ۰/۳، در خاک‌های شنی ۰/۱ و به‌طور متوسط ۰/۲ اتمسفر می‌باشد. در این آزمایش با توجه به بافت خاک، این میزان فشار ۰/۳ بار در نظر گرفته شد (Khalilvand Behrouzyar, 2017). دستگاه به‌منظور ایجاد تعادل در سیستم به مدت ۲٤ ساعت در همان حال رها گردید. پس‌ازاین مدت و زمانی که دیگر از لوله‌ها آبی خارج نمی‌شد هوای محفظه خالی و نمونه‌های خاک بلافاصله در آزمایشگاه به‌وسیله ترازوی حساس با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شدند. سپس نمونه‌ها در دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس به مدت۲٤ ساعت در آون قرار گرفتند. پس از توزین خاک خشک شده مقدار رطوبت وزنی خاک در حالت ظرفیت مزرعه‌ای با استفاده از رابطه (۱) محاسبه و به دست آمد (Luxmore, 1990):

رابطه (۲): $\theta m = \frac{Mw-Ms}{Ms} \times 100$

در این رابطه θm مقدار رطوبت وزنی، Mw وزن خاک مرطوب و Ms وزن خاک خشک برحسب گرم می‌باشد. بعد از مشخص شدن رطوبت وزنی خاک در حالت ظرفیت مزرعه‌ای، مقدار رطوبت نقطه پژمردگی نیز در فشار ۱۵ بار به همان ترتیب اندازه‌گیری و تفاضل رطوبت ظرفیت مزرعه‌ای و رطوبت نقطه پژمردگی، به‌عنوان رطوبت قابل دسترس در نظر گرفته شد (Khan et al., 2017). پس از مشخص شدن میزان رطوبت قابل دسترس، هر روز از خاک نمونه‌برداری شده و میزان رطوبت وزنی خاک تعیین شد و فواصل دور آبیاری در تیمارهای مختلف به‌دست آمد.

محتوای نسبی آب برگ گیاه (RWC): به منظور تعیین میزان نسبی آب برگ از هر تیمار چهار برگ به طور تصادفی انتخاب شد و در کیسه پلاستیکی قرار گرفت و بلافاصله جهت اندازه‌گیری رطوبت به آزمایشگاه انتقال یافت. در آزمایشگاه وزن تر تعیین و برگ‌ها ۲٤ساعت در دمای اتاق در محلول آب مقطر برای بدست آمدن وزن اشباع نگهداری شد. برای بدست آوردن وزن خشک، پس از حذف رطوبت سطحی برگ‌ها به‌مدت ۲٤ ساعت در دمای ۷۵ درجه سیلسیوس در آون قرار داده شد. سپس RWC با استفاده از رابطه (۲) تعیین گردید (Schonfeld et al., 1988):

رابطه (۲): $\%RWC = Wf - Wd / Ws - Wd \times 100$

Wf: وزن تر برگ بلافاصله بعد از نمونه‌گیری، *Ws*: وزن اشباع برگ بعد از قرار گرفتن در آب مقطر، *Wd*: وزن خشک برگ

اندازه‌گیری محتوای کلروفیل a، b و کل: برای سنجش کلروفیل از بافت تازه برگی استفاده شد. ۰/۲ گرم از بافت برگ را با استن ۸۰ درصد به تدریج ساییده تا کلروفیل وارد محلول استنی شود. در نهایت حجم محلول با استن ۸۰ درصد را توسط بالن ژوژه به ۲۵ میلی‌لیتر می‌رسانیم. محلول حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه در ٤۰۰۰ دور سانتریفیوژ و سپس جذب نوری محلول رویی در طول موج‌های ٦٤۵ و ٦٦۳ توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. مقدار کلروفیل طبق روابط Porra (۲۰۰۲) برای محاسبه کلروفیل a (رابطه

۳)، کلروفیل b (رابطه ٤) و مجموع کلروفیل‌های a و b (رابطه ٥) محاسبه شد.

(رابطه ۳): $Chl\ a\ (\mu g/ml) = 12.25\ E^{663} - 2.55\ E^{645}$

(رابطه ٤): $Chl\ b\ (\mu g/ml) = 20.31\ E^{645} - 4.91\ E^{663}$

(رابطه ٥): $Total\ Chl = 17.76\ E^{645} + 7.34\ E^{663}$

اندازه‌گیری پرولین: به‌منظور تعیین مقدار پرولین برگ‌ها، از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. مقدار ۰/۲ گرم از نمونه برگ تر در ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد به‌وسیله هاون ساییده و عصاره حاصل در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس دو میلی‌لیتر از عصاره‌های صاف شده را به لوله‌های درب‌دار منتقل نموده و به همه لوله‌ها مقدار ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال اضافه گردید. پس از بستن درب لوله‌ها، به مدت یک ساعت در حمام بن ماری و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و بعد از سرد شدن، به هریک از لوله‌ها مقدار ٤ میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد. غلظت پرولین با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر و با توجه به منحنی استاندارد تعیین شد.

اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن برگ: غلظت پراکسید هیدروژن بر اساس روش Velikova و همکاران (۲۰۰۰) به دست آمد. استخراج برگ‌ها در تری کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد وزنی به حجمی انجام گرفت. عصاره‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور سانتریفوژ شده و ۵۰۰ میکرولیتر از روشناور به یک میلی‌لیتر از محلول واکنشی که شامل ۱۰ میلی‌مولار بافر فسفات پتاسیم (pH=7) و یک مولار یدید پتاسیم بود اضافه شد و به‌منظور انجام واکنش، مخلوط حاصل به‌مدت ٦۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت. جذب نمونه‌ها در ۳۹۲ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و محاسبه شد.

نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تنش کمبود آب بر صفات محتوای رطوبت نسبی و میزان پرولین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. همچنین محلول‌پاشی با نانو دی اکسید تیتانیوم و اسید سالیسیلیک بر کلیه صفات مورد مطالعه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بر همکنش تنش کمبود آب و محلول‌پاشی نانو دی اکسید تیتانیوم و اسید سالیسیلیک نیز بر صفات محتوای کلروفیل b، کلروفیل کل و میزان پراکسید هیدروژن در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

محتوای نسبی آب برگ: بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها مشخص گردید که با افزایش دور آبیاری محتوای نسبی آب برگ به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد به‌طوری که کمترین میزان محتوای نسبی آب برگ ٦٦/۳۹ درصد در آبیاری تا ۵۰ درصد ظرفیت زراعی به دست آمد (جدول ۲). همچنین محلول‌پاشی با تیمار ترکیبی ۰/۰٤ درصد اسید سالیسیلیک و ۰/۰٤ درصد نانو دی‌اکسید تیتانیوم، محتوای نسبی آب برگ را نسبت به تیمار عدم محلول‌پاشی ۳۰/۲۱ درصد افزایش داد. بیشترین و کمترین میزان محتوای نسبی آب برگ به‌ترتیب مربوط به تیمار ترکیبی ۰/۰٤ درصد اسید سالیسیلیک و ۰/۰٤ درصد نانو دی‌اکسید تیتانیوم و تیمار عدم محلول‌پاشی با میانگین ۸۳/۲٦ درصد و ٦۳/۹٤ درصد بود (جدول ۳).

جدول ۱: تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه سرخارگل

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		محتوای نسبی آب برگ (درصد)	محتوای پرولین (میکرو مول بر گرم وزن تر)	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم وزن تر)	پراکسید هیدروژن (میکرو مول بر گرم وزن خشک)
بلوک	۲	۲۶۴۵/۶۹۳۵۰**	۰/۴۹۴۴۱^{ns}	۶۱/۹۷۱۸۳**	۴۳/۳۰۷۴۹**	۲۰۸/۴۴۶۰۸**	۰/۱۶۱۳۴^{ns}
تنش کمبود آب	۲	۳۲۷/۸۴۲۶۲**	۳/۰۷۵۸۷**	۱/۱۶۸۸۵^{ns}	۰/۷۷۱۱۵^{ns}	۰/۳۸۱۸۹۰^{ns}	۰/۱۴۲۹۸ns
خطای اصلی	۴	۵/۳۲۹۹۱	۰/۳۳۹۱۸	۲۰/۹۹۸۱۷	۸/۷۰۷۱۰	۵۶/۵۲۵۳۱	۰/۲۵۵۷۲
محلول‌پاشی عناصر	۴	۵۶۴/۱۵۸۴۸**	۲/۲۴۸۷۵**	۱۳/۲۹۰۶۰**	۱۰/۵۴۶۱۳**	۴۷/۴۶۵۹۵**	۰/۴۱۷۴۰**
تنش کمبود آب × محلول‌پاشی عناصر	۸	۱۱/۸۵۸۸۲^{ns}	۰/۴۲۸۱۶^{ns}	۰/۶۶۴۰۴^{ns}	۱/۵۵۴۰۴**	۳/۹۴۷۱۰**	۰/۵۷۶۴۴**
خطای کل	۲۴	۵/۸۹۳۹۶	۰/۱۶۲۶۷	۰/۵۰۶۶۵	۰/۳۵۹۷۷	۰/۹۵۹۴۴	۰/۰۵۴۹۶۱
ضریب تغییرات ٪	–	۳/۳۸	۱۵/۹۵	۶/۷۳	۹/۵۶	۷/۰۹	۱۶/۹۶

ns، * و ** به ترتیب نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

محتوای پرولین: بر اساس نتایج جدول ۲ مشخص گردید که با اعمال تنش آبی بر گیاه سرخارگل، مقدار پرولین در بافت گیاهی افزایش می‌یابد به طوری که از مقدار ۲/۱۶ میکرو مول بر گرم در تیمار آبیاری تا ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به مقدار ۳/۰۳ میکرو مول بر گرم در تیمار آبیاری تا ۵۰ درصد ظرفیت زراعی افزایش می‌یابد. همچنین محلول‌پاشی با ۰/۰۴ درصد اسید سالیسیلیک و ۰/۰۴ درصد نانو دی‌اکسید تیتانیوم موجب افزایش ۴۳/۵۳ درصدی مقدار پرولین نسبت به تیمار عدم محلول‌پاشی شد.

جدول ۲: مقایسه میانگین سطوح تنش آبی سرخارگل

سطوح تنش کمبود آب	محتوای نسبی آب برگ (درصد)	پرولین (میکرو مول بر گرم وزن تر)
آبیاری تا ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی	۷۳/۳۰۲a	۲/۱۶۵b
آبیاری تا ۷۵ درصد ظرفیت زراعی	۷۳/۳۱۱a	۲/۳۸۲b
آبیاری تا ۵۰ درصد ظرفیت زراعی	۶۶/۳۹۵b	۳/۰۳۵a

میانگین‌هایی که در هر ستون، دارای حرف مشترک می‌باشند، براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

جدول ۳: مقایسه میانگین سطوح محلول پاشی سرخارگل

سطوح محلول پاشی	محتوای نسبی آب برگ (درصد)	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم وزن تر)	پرولین (میلی مول بر گرم وزن تر)
شاهد	۶۳/۹۴۹d	۶/۰۸۲e	۲/۳۲۰۹bc
۰/۰۲ سالیسیلیک اسید + ۰/۰۲ نانواکسید تیتانیوم	۶۴/۹۱۴d	۶/۶۳۱d	۲/۲۱۲۷c
۰/۰۴ سالیسیلیک اسید + ۰/۰۲ نانواکسید تیتانیوم	۷۱/۲۵۸c	۷/۴۹۲c	۲/۶۸۱۴b
۰/۰۲ سالیسیلیک اسید + ۰/۰۴ نانواکسید تیتانیوم	۷۴/۹۶۱b	۸/۳۹۵ b	۲/۰۹۳۸c
۰/۰۴ سالیسیلیک اسید + ۰/۰۴ نانواکسید تیتانیوم	۸۳/۲۶۷a	۹/۰۳۱a	۳/۳۳۱۲a

میانگین‌هایی که در هر ستون، دارای حرف مشترک می‌باشند، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

کلروفیل a، b و کل: محلول‌پاشی تیمار ترکیبی ۰/۰٤ درصد اسید سالیسیلیک و ۰/۰٤ درصد نانو دی‌اکسید تیتانیوم سبب افزایش ٤۸/۵۱ درصدی کلروفیل a نسبت به شاهد شد. بیشترین و کمترین میزان کلروفیل a به‌ترتیب متعلق به ترکیب تیماری ۰/۰٤ درصد اسید سالیسیلیک و ۰/۰٤ درصد نانو دی اکسید تیتانیوم و عدم محلول‌پاشی با میانگین ۹/۰۳ و ٦/۰۸ بود (جدول ۳). همچنین بر اساس نتایج، بیشترین و کمترین میزان کلروفیل b به‌ترتیب متعلق به برهمکنش آبیاری تا ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و محلول‌پاشی ۰/۰۲ اسید سالیسیلیک و ۰/۰٤ نانو دی‌اکسید تیتانیوم و تیمار آبیاری تا ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و عدم محلول‌پاشی با میانگین ۸/۵٤ و ٤/۲۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بود. بیشترین میزان کلروفیل کل برگ نیز در تیمار آبیاری تا ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و محلول‌پاشی با ۰/۰۲ درصد اسید سالیسیلیک و ۰/۰٤ درصد نانو دی‌اکسید تیتانیوم به‌دست آمد که افزایش ۷۹/۵۲ درصدی نسبت به تیمار آبیاری تا ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و عدم محلول‌پاشی نشان داد (جدول ٤).

پراکسید هیدروژن: بیشترین میزان پراکسید هیدروژن از تیمار آبیاری تا ۵۰ درصد ظرفیت زراعی و عدم محلول‌پاشی با میانگین ۳/۹۲ میکرو مول بر گرم وزن خشک و کمترین میزان آن از آبیاری تا ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و محلول‌پاشی با ۰/۰٤ درصد اسید سالیسیلیک و ۰/۰٤ درصد نانو دی‌اکسید تیتانیوم با میانگین ۱/۹۵ میکرومول بر گرم وزن خشک بدست آمد (جدول ٤).

جدول٤: مقایسه میانگین برهم کنش تنش خشکی، محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید و نانو اکسید دی تیتانیوم سرخارگل

سطوح آبیاری	محلول پاشی	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم وزن تر)	پراکسید هیدروژن (میکرو مول بر گرم وزن خشک)
۱۰۰درصد (شاهد)	شاهد	٤/۲۷۰e	۹/٦۲۰c	۳/۲۳٤bc
	۰/۰۲ سالیسیلیک اسید + ۰/۰۲ نانواکسید تیتانیوم	۵/۲٤٤de	۱۱/۲٦٤bc	۲/۵۳۵de
	۰/۰٤ سالیسیلیک اسید + ۰/۰۲ نانواکسید تیتانیوم	٦/۵٦٦a-e	۱٤/۲۱۰abc	۲/٦۰۷d
	۰/۰۲ سالیسیلیک اسید + ۰/۰٤ نانواکسید تیتانیوم	۸/۵٤۲a	۱۷/۲۷۹a	۲/۰٤۳ef
	۰/۰٤ سالیسیلیک اسید + ۰/۰٤ نانواکسید تیتانیوم	۷/۹٤۰ab	۱٦/۹٤۳ab	۱/۹۵۲f
۷۵ درصد	شاهد	۵/۲۸۷cde	۱۱/٦۱۰abc	۳/۲۵٤bc
	۰/۰۲ سالیسیلیک اسید + ۰/۰۲ نانواکسید تیتانیوم	۵/۵۷۲bcde	۱۲/۰۱۲abc	۲/۷۷۰cd
	۰/۰٤ سالیسیلیک اسید + ۰/۰۲ نانواکسید تیتانیوم	۵/۹۹۰bcde	۱۲/۹۳۷abc	۳/۲۱۲bc
	۰/۰۲ سالیسیلیک اسید + ۰/۰٤ نانواکسید تیتانیوم	٦/۵۹۳a-e	۱٤/۷۸۷abc	۳/۲۱٤bc
	۰/۰٤ سالیسیلیک اسید + ۰/۰٤ نانواکسید تیتانیوم	۷/۷۲۷abc	۱٦/۷۲۷ab	۱/۹۸٤f
۵۰ درصد	شاهد	۵/٤۹۳cde	۱۲/۰٦۷abc	۳/۹۲۳a
	۰/۰۲ سالیسیلیک اسید + ۰/۰۲ نانواکسید تیتانیوم	۵/٦۱۷bcde	۱۳/۰۵۲abc	۳/۲۲۹bc
	۰/۰٤ سالیسیلیک اسید + ۰/۰۲ نانواکسید تیتانیوم	۵/۸٦۰bcde	۱٤/۷٤۷abc	۳/٦٦۸ab
	۰/۰۲ سالیسیلیک اسید + ۰/۰٤ نانواکسید تیتانیوم	٦/۲۵۷bcde	۱٤/۵۱۳abc	۲/۳۳٦def
	۰/۰٤ سالیسیلیک اسید + ۰/۰٤ نانواکسید تیتانیوم	۷/۰۹۰abcd	۱٦/۸۱۰ab	۳/۸۹۷a

میانگین‌هایی که در هر ستون، دارای حرف مشترک می‌باشند، بر اساس آزمون چند دامنه‌ایی دانکن، در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

بحث

یکی از مهم‌ترین اثرات ناشی از تنش خشکی کاهش محتوی نسبی آب برگ می‌باشد. این صفت شاخص مناسبی از وضعیت آب برگ‌ها می‌باشد به‌طوری‌که توانمندی گیاه را در مواجهه با تنش خشکی نشان دهد (Fu et al., 2004). ویژگی محتوای نسبی آب نشان دهنده نسبت میزان آب گیاه در شرایط تنش به میزان آب گیاه در حالت آماس می‌باشد (Blum, 2011). محتوی نسبی آب برگ درواقع ابزار بسیار مناسبی برای گزینش در شرایط تنش خشکی است و ارقامی که بدون بستن روزنه‌های خود توانایی حفظ آب بیشتری دارند، برای مناطق خشک مناسب هستند (Naghizadeh and Kabiri, 2017). Por-Mousavi و همکاران (۲۰۰۵) در تحقیقی که روی سویا انحام داده‌اند گزارش کردند که محتوای رطوبت نسبی به میزان دسترسی گیاه به آب و توانایی گیاه در تنظیم حرکات روزانه‌ای و همچنین تنظیم اسمزی بستگی دارد. تنش کمبود آب موجب کاهش پتانسیل آب برگ و محتوای رطوبت نسبی برگ می‌شود. تنش خشکی شدید در کشت گیاه بادرنجبویه موجب کاهش سه مگاپاسکالی پتانسیل آب گیاه، کاهش ۳٤ درصدی محتوای نسبی آب گیاه، بسته شدن روزنه‌ها و در نتیجه، کاهش جذب دی‌اکسید کربن و کاهش عملکرد شد (Munne-Bosch and Alegre, 2000). محتوای نسبی آب برگ در حقیقت برآوردی از وضعیت آب گیاه است و توانایی یک ژنوتیپ را در جذب آب از خاک نشان می‌دهد (Nazeri, 2005). Ahmadi و همکاران (۲۰۱۰) بیان نمودند که تغییرات محتوای رطوبتی برگ به‌عنوان یک واکنش کوتاه مدت به تنش و معیاری از توان حفظ قدرت منبع در شرایط تنش خشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد. بر اساس تحقیق Khalilvand و همکاران (۲۰۱۹) محلول‌پاشی با تیمار ۰/۰۱ درصد نانو دی‌اکسید تیتانیوم بیشترین و عدم محلول‌پاشی هم کمترین مقدار محتوای رطوبت نسبی برگ را داشتند. محلول‌پاشی بوته‌های ذرت با سالیسیلیک اسید بهبود و افزایش محتوی نسبی آب را تنها در شرایط تنش خشکی به همراه داشت (Naghizadeh and Kabiri, 2017). در مطالعه حاضر محلول‌پاشی با تیمار ترکیبی اسید سالیسیلیک و نانو دی‌اکسید تیتانیوم توانست محتوای نسبی آب برگ را نسبت به تیمار عدم محلول‌پاشی افزایش دهد.

کاهش میزان کلروفیل تحت شرایط تنش کم آبی به خاطر تولید گونه‌های اکسیژن فعال و تاثیرات آسیب‌زای آن‌ها می‌باشد. این رادیکال‌های آزاد سبب پراکسیداسیون، تجزیه و کاهش کلروفیل تحت شرایط تنش می‌شوند. همچنین افزایش میزان اتیلن و فعالیت آنزیم پراکسیداز در طی تنش رطوبتی ممکن است یکی از عوامل موثر بر کاهش کلروفیل باشد (Blum, 1996). نتایج تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که استفاده از اسید سالیسیلیک منجر به افزیش تثبیت CO_2 می‌شود که احتمالاً به علت تأثیر اسید سالیسیلیک در فرآیندهای مختلف فتوسنتز شامل افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی و کاروتنوئیدها، افزایش کارایی PS II، غلظت و فعالیت بیشتر آنزیم روبیسکو و در نهایت تأمین بیشتر ATP وNADPH برای تثبیت کربن و تولید بیشتر آسیمیلات باشد (Khan et al., 2003). Safikhani (۲۰۰٦) در تحقیقات خود بر روی گیاه دارویی بادرشبویه اعلام کرد در طی اعمال تیمارهای خشکی ۱۰۰، ٦۰ و ٤۰ درصد ظرفیت زراعی، از مقدار کلروفیل a کم شده و بر مقدار کلروفیل b افزوده می‌شود. اسید سالیسیلیک باعث افزایش معنی‌دار مقدار کلروفیل کل در مقایسه با عدم مصرف اسید در شرایط تنش خشکی می‌گردد (Arvin et al., 2011). Sartip و Sirousmehr (۲۰۱۷) در بررسی اثر نانو ذرات تیتانیوم و سطوح مختلف آبیاری بر رنگیزه‌های فتوسنتزی،

پرولین، کربوهیدرات‌های محلول و پارامترهای رشدی خرفه نشان دادند که محلول‌پاشی نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر میزان کلروفیل a و کل معنی‌دار بود و باعث افزایش آن شد. Mortaza و همکاران (۲۰۱۳) دلیل افزایش رنگیزه‌ها را نسبت به تیمار شاهد تثبیت غشای کلروپلاست و محافظت کلروپلاست از پیری توسط نانو ذرات دی‌اکسید تیتانیوم عنوان کردند. در واقع این نانو ذرات میتوانند ساختار کلروفیل و دریافت نور خورشید توسط رنگیزه‌ها را بهبود بخشند.

پرولین از دیگر تنظیم کننده‌های اسمزی تحت تنش‌های محیطی می‌باشد که در تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی، همبستگی بالایی با تحمل به این تنش‌ها ایفا می‌کند (Azarpanah et al., 2013). چهار دلیل برای افزایش تجمع پرولین در زمان تنش پیشنهاد شده است که عبارتند از (الف) تحریک سنتز آن از اسید گلوتامیک، (ب) کاهش انتقال آن از طریق آوند آبکش، (ج) جلوگیری از اکسیداسیون آن در طول تنش و (د) تخریب و اختلال در فرآیند سنتز پروتئین‌ها. تجمع پرولین در گیاهان تحت تنش تحت تأثیر نانو دی اکسید تیتانیوم به‌واسطه سنتز پرولین و غیرفعال شدن تخریب آن می‌باشد (Abdel Latef et al., 2017). افزودن اسید سالیسیلیک در غلظت‌های مختلف می‌تواند با افزایش مقدار پرولین سبب بهبود مقاومت گیاه در شرایط تنش خشکی شود (Yazdanpanah et al., 2010). در تحقیق حاضر نیز محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک و نانو دی‌اکسید تیتانیوم موجب افزایش محتوای پرولین نسبت به تیمار شاهد شد. تنش خشکی با کوتاه کردن دوره رشد گیاه و پیری زودرس برگ، ظرفیت فتوسنتزی را تحت تأثیر قرار داده و با تولید گونه‌های فعال اکسیژن همچون پراکسید هیدروژن باعث ایجاد تنش اکسیداتیوی در سلول‌های گیاهی می‌شود که خود منجر به تخریب سامانهٔ فتوسنتزی، مهار فرآیندهای متابولیکی، پراکسیداسیون لیپیدها، تغییر در نفوذپذیری غشاء و نشت یون‌ها می‌گردد (Gregersen et al., 2013). افزایش محتوای پرولین در شرایط تنش، باعث محافظت غشای سلولی، پروتئین‌ها، آنزیم‌های سیتوپلاسمی و مهار گونه‌های فعال اکسیژن و حذف رادیکال‌های آزاد می‌گردد (Yang et al., 2006). ترکیبات فنولی نظیر سالیسیلیک اسید نیز به علت ویژگی آنتی اکسیدانی قوی، رادیکال‌های آزاد را به دام انداخته و گیاهان این ترکیبات را در پاسخ به برخی ترکیبات پیام رسان دارای نقش دفاعی مهم آزاد می‌کنند (Sheraphti Chaleshtari et al., 2008).

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که اعمال تنش آبیاری تا ۵۰ درصد رطوبت زراعی موجب افزایش ٤٠ درصدی میزان پرولین و کاهش ۱۰ درصدی محتوای رطوبت نسبی نسبت به آبیاری کامل (آبیاری تا ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) شد. محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک و نانو دی‌اکسید تیتانیوم توانست با کاهش آثار تنش کمبود آب سبب افزایش کلروفیل b، کلروفیل کل و میزان پراکسید هیدروژن نسبت به شاهد شود که با توجه به اهداف پژوهش می‌توان گفت که کاربرد این دو ترکیب تحت شرایط مصرف حداقل آب می‌تواند جایگزین خوبی در مقابل روش‌های به نژادی که اغلب بلندمدت و هزینه‌بر هستند باشد.

References

Abdel Latef, A.A.H., Srivastava, A.K. Abd El-Sadek, M.S., Kordrostami, M. and Tran, L.P. (2017). Titanium dioxide nanoparticles improve growth and enhance tolerance of broad bean plants under saline soil conditions. Land

Degradation and Development, 29 (4): 1065-1073.

Ahmadi, A., Emam, Y. and Pessarakli, M. (2010). Biochemical changes in maize seedling exposed to drought stressconditions at different nitrogen levels. Journal of Plant Nutrition, 33: 541.556.

Araus, J.L., Casdesus, J. and Bort, J. (2001). Recent tools for screening of physiological traits determining yield. In: Application of Physiology in Wheat Breeding. Reynolds, M.P., Ortiz Monasterio, J., Mcnab A., and Mexico D.F., CIMMYT. Pp: 59-77.

Arvin. M.J., Beidshki. A., Kramt. B. and Maghsodi. K. (2011). The study salicylic acid (SA) role in contrast with drought stress by affecting on morphological and physiological parameters in garlic plant. In: Proceeding of 7th Iranian Horticultural Science Congress, Isfahan Industrial University, Iranian 4-7 September 2011. (In Persian)

Azarpanah, A., Alizadeh, O. and Dehghanzadeh, H. (2013). Investigation on proline and carbohydrates accumulation in *Zea mays* L. under water stress condition. Extreme life, Biospeology and Asterobiology, International Journal of the Bioflux Society, 5 (1): 47-54.

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

Blum, A. (1996). Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. Plant Growth Regulation, 20:135-148.

Blum, A. (2011). Plant breeding for water-limited environments. Springer Verlag.

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

Fadeel, B., Pietroiusti, A. and Shvedova, A. (2017). Adverse Effects of Engineered Nanomaterials. Exposure, Toxicology, and Impact on Human Health. Elsevier Academic Press, New York. Pp. 468.

Fu, J., Fry, J., and Huang, B. (2004). Minimum water requirements of four turfgrasses in the transition zone. Horticultural Science, 39:1740-1744.

Ghai N., Setia R.C. and Setia N. (2002). Effect of paclobutrazol and salicylic acid on chlorophyll content, hill activity and yield components in *Brescia napus* L. (cv. GSL-1). Phytomorphol, 52: 83-87.

Gregersen, P.L., Culetic, A. Boschian, L. and Krupinska, K. (2013). Plant senescence and crop productivity. Plant Molecular Biology 82 603–622.

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

Karimi, L. and Mirjalili, M. (2009). Titanium dioxide. Journal of Nanotechnology 8: 23- 25.

Khalilvand Behrouzyar, E. (2017). Effect of Seed Priming with Ethanol, Methanol, Boron and Manganese on some of Morphophysiological Characteristics of Rapeseed (*Brassica napus* L.) under Water Deficit Stress. Journal of Crop Ecophysiology, 11 (4): 805-820. (In Persian).

Khalilvand Behrouzyar, E., Yarnia, M. and Ghasemim A. (2019). Effect of foliar application of titanium dioxide nanoparticles on maize yield and some antioxidant enzymes of sweet maize (*Zea mays* var saccharata) under water deficit tension conditions. Scientific Journal of Crop Physiology, 11 (43): 105-118. (In Persian).

Khan, W., Prithiviraj, B. and Smith, D. (2003). Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. Plant Physiology, 160: 485-92.

Khan, M.N., Mobin, M., Abbas, Z.K., AlMutairim, K.A. and Siddiqui, Z.H. (2017). Role of nanomaterials in plants under challenging environments. Plant Physiology and Biochemistry, 110: 194–209.

Khater, M.S. (2015). Effect of Titanium Nanoparticles (TiO2) on Growth, Yield and Chemical Constituents of Coriander Plants. Arab Journal of Nuclear Science and Applications, 48 (4): 187-194

Kirigwi, F.M., Van Ginkel, M., Trethowan, R.G., Sears, R.G., Rajaram, S. and Paulsen, G.M. (2004). Evaluation of selection strategies for wheat adaptation across water regimes. Euphytica, 135: 361-371.

Luxmore, B. (1990). Methods of soil Analysis. Part II, 3th Edition, pp.493-59.

Mandeh, M., Omidi, M. and Rahaie, M. (2012). In vitro influences of TiO_2 nanoparticles on barley (*Hordeum vulgare* L.) tissue culture. Biology Trace Element Research,150(1-3):376-80.

Mahmoodzadeh, H, Aghili, R. and Nabavi, M. (2013). Physiological effect of TiO2 nanoparticles on wheat (*Triticum aestivum*). Technical Journal of Engineering and Applied Sciences, 3(14): 1365-1370.

Morteza, E., Moaveni, M., Aliabadi Farahani, H. and Kiyani, M. (2013). Study of photosynthetic pigments changes of maize (*Zea mays* L.) under nano Tio2 spraying at various growth stages. Springer Plus. 2:247. 1-5**.**

Munne-Bosch, S. and Alegre, L. (2000). Significance of beta carotene, alpha, tocopherol and the xanthophyll cycle and drought stress in (*Melissa officinalis* L.) plant. Plant Physiology. 27(2): 139-146.

Munne-Bosch, S. and Penualas, J. (2003). Photo- and antioxidative protection, and a role for salicylic acid during drought and recovery in field-grown *Phillyrea angustifolia* plants. Planta, 217 (5): 758-766.

Naghizadeh, M. and Kabiri, R. (2017). Effect of salisylic acid foliar application on some of physiological characteristics of corn (*Zea mays* L.) under drought stress condition. Environmental Stresses in Crop Sciences. 9 (4): 315-327. (In Persian)

Nazeri, M. (2005). Study of reaction of triticale genotype in water restriction condition in different stage of development. PhD dissertation. Agriculture Faculty, Tehran University, Tehran, Iran. (In Persian with English Summary).

Omidbeigi, R. (2005). Production and Processing of Medicinal Plants. Astan Gods Razavi Press. 2: 324 pp. (In Persian)

Ort, D.R. (2001). When there is too much light. Plant Physiology. 125: 29-32.

Owolade, O.F., Ogunleti, D.O. and Adenekan, M.O. (2008). Titanium dioxide affects diseases, development and yield of edible cowpea. Journal Environment Agricultural Food Chemistry. 7(5): 2942-2947.

Por-Mousavi, M., Galavi, M., Danshiyan, J., Ghanbari, A., and Basirani, N. (2005). Effects of drought stress and manure on leaf relative water content, cell membrane stability and leaf chlorophyll content in soybean (*Glycine max*). Journal of Agricultural Science and Natural Resources, 14: 125-134.

Porra, R.J. (2002). The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. Photosynthesis Research, 73: 149-156.

Pouryousef, M., Tavakoli, A., Maleki, M. and Barkhordari, K. (2012). Effects of drought stress and harvesting time on grain yield and its components of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). National Congress on Medicinal Plants, Kish Island, Iran, 16-17 May: 315.

Ramak, P., Khavari-Nejad, R., Hidari Sharifabad, H., Rafiee, M and Khademi, K. (2006). The effect of water stress on dry weight and photosynthetic pigments in two sainfoin species. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research. 14 (2): 80-91

Rampino, P., Spano, G., Pataleo, S., Mita, G., Napier, J.A., Di Fonzo, N., Shewry, P.R. and Perrotta, C. (2006). Molecurar analysis of adurum wheat stay green mutant: Expression pattern of photosynthesis –related genes. Journal of Cereal Science, 43: 160-168.

Safikhani, F. (2006). Study of physiologic resistance to drought in *Dracocephalum moldavica* L. PhD thesis, Chamran University. [In Persian with English summary].

Sartip, H. and Sirousmehr, F. (2017). Effect of titanium nano particles and different irrigation levels on

photosynthetic pigments, proline, soluble carbohydrates and growth parameters of Purslane. Plant Ecophysiology. 9(28): 80-90. (In Persian)

Schonfeld, M.A., Johnson, R.C., Carver, B.F. and Mornhinweg, W. (1988). Water relation in wheat as drought resistance indicators. Crop Science 28: 256-531.

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

Sheraphti chaleshtari, F., Sheraphti chaleshtari, R. and Momeni, M. (2008). The antimicrobial effects of aqueous extract and ethanol plant Scrophularia striata on E. coli in Laboratory. Journal of Medical Sciences (ShaherKord University). 10(4): 32-37. (In Persian).

Tsai, Y.L., Chiou, S.Y., Chan, K.C. and Sung, J.M. (2012). Caffeic acid derivatives, total phenols, antioxidant and antimutagenic activities of Echinacea purpurea flower extracts. LWT-Food Science and Technology. 46: 169-176.

Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants-protective role of exogenous polyamines. Plant Science, 151:59–66.

Yang, F., Hong, F., You, W., Liu, C., Gao, F., Wu, C. and Yang, P. (2006). Influence of nanoanatase TiO_2 on the nitrogen metabolism of growing spinach. Biological Trace Element Research. 110(2): 179-190

Yazdanpanah, S., Abasi, F. and 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 28-29 Juan 2010. The University of Birjand. (In Persian)