Journal of Plant Environmental Physiology
ISSN: 7671-2423 (Print), 2783-4689 (Online) http://ecophysiologi.gorganiau.ac.ir

Doi: 10.30495/iper.2021.6795;
Dor: 20.1001.1.24237671.1401.17.65.4.7

Islamic Azad University
Gorgan Branch

Effects of salicylic acid on some physiological characteristics and essential oil production of lemon verbena (*Lippia citrodora* L.) under salinity stress

Sara Farsari, Mohammad Moghaddam*, Leila Mehdizadeh
Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran,
Email: m.moghadam@um.ac.ir

Serial 65, 17th year, Number 1, Spring 2022 (57-70)

Article type:
Research Full Paper

Article history
Received: 2019/12/06
Revised: 2020/02/05
Accepted: 2020/02/26

Keywords
Ascorbate peroxidase
Catalase
Glycine betaine
Malondialdehyde
Superoxide dismutase

Abstract

The aim of this research was to study the effect of applying salicylic acid (SA) on some physiological characteristics and essential oil production of lemon verbena (*Lippia citrodora* L.) under salinity stress. For this purpose, a factorial pot experiment was performed based on a completely randomized design with 4 salinity levels (0, 50, 100, and 150 mM NaCl) and 4 SA levels (0, 150, 300, and 450 mg/L) with three replications. The measured traits included total soluble protein, malondialdehyde (MDA), hydrogen peroxide, glycine betaine, some antioxidant enzyme activities, and essential oil production. The interaction effects of the treatments on all of the studied traits were significant at $p \leq 0.01$. The results showed that the highest amount of total soluble protein, MDA, hydrogen peroxide, glycine betaine, and ascorbate peroxidase and superoxide dismutase activities were observed at 150 mM salinity level, application of SA at 300 mg/L decreased total soluble protein and glycine betaine, and 150 mg/L of SA decreased MDA. But application of this plant growth regulator had no significant effect on hydrogen peroxide. Also, the results showed that catalase enzyme activity and essential oil content at the highest salinity level (150 mM) reached the lowest amounts. In sum, the results of this study indicated that SA especially at 300 mg/L improved the studied traits in this experiment and its application is recommended under stress conditions.

Please cite this article as Sara Farsari, Mohammad Moghaddam, Leila Mehdizadeh. 2022. Effects of salicylic acid on some physiological characteristics and essential oil production of lemon verbena (*Lippia citrodora* L.) under salinity stress. *Journal of Plant Environmental Physiology*. 65(1): 57-70.

© 2022. All Rights Reserved

نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی

http://ecophysiologi.gorganiau.ac.ir شاپا: (چاپی) ۲۴۲۳-۷۶۷۱ (آنلاین) ۴۶۸۹-۲۷۸۳،

Doi: 10.30495/iper.2021.6795;
Dor: 20.1001.1.24237671.1401.17.65.4.7

دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

تاثیر سالیسیلیک اسید بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و تولید اسانس به‌لیمو (*Lippia citrodora* L.) تحت تنش شوری

سارا فرسرایی، محمد مقدم*، لیلا مهدی‌زاده

گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران، رایانامه: m.moghadam@um.ac.ir

سال هفدهم، شماره ۶۵، بهار ۱۴۰۱ / صفحات: ۷۰-۵۷

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی-پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۹/۱۵
تاریخ ویرایش: ۱۳۹۸/۱۱/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۰۷

واژه‌های کلیدی:
آسکوربات پراکسیداز
سوپراکسید دیسموتاز
کاتالاز
گلایسین بتائین
مالون‌دی‌آلدئید

چکیده

هدف از این تحقیق مطالعه اثر کاربرد سالیسیلیک اسید بر برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی و تولید اسانس گیاه دارویی به لیمو (*Lippia citrodora* L.) تحت تنش شوری بود. بدین منظور آزمایشی گلدانی بصورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ٤ سطح شوری (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و ٤ سطح سالیسیلیک اسید (۰، ۱۵۰، ۳۰۰ و ٤۵۰ میلی‌گرم در لیتر) در ۳ تکرار انجام شد. صفات اندازه‌گیری شده شامل میزان پروتئین محلول کل، مالون‌دی‌آلدئید، پراکسید هیدروژن، گلایسین بتائین و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تولید اسانس بودند. اثر متقابل تیمارهای آزمایش بر تمام صفات مورد مطالعه در این تحقیق در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. نتایج این تحقیق نشان داد که بیشترین میزان پروتئین محلول کل، مالون‌دی‌آلدئید، پراکسید هیدروژن، گلایسین بتائین و فعالیت آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار شوری بود و کاربرد سالسیلیک اسید در سطح ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر سبب کاهش پروتئین محلول کل و گلایسین بتائین و سطح ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر آن سبب کاهش مالون‌دی‌آلدئید شد. اما کاربرد این تنظیم‌کننده رشد گیاهی تأثیر معنی‌داری بر پراکسید هیدروژن نداشت. همچنین، نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم کاتالاز و تولید اسانس در بالاترین سطح تنش شوری (۱۵۰ میلی‌مولار) به کمترین میزان خود رسیدند. نتایج این تحقیق در مجموع نشان داد که کاربرد سالیسیلیک اسید به‌ویژه در سطح ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر سبب بهبود صفات مورد مطالعه در این تحقیق گردید و کاربرد آن در شرایط تنش توصیه می‌شود.

استناد: سارا فرسرایی، محمد مقدم، لیلا مهدی‌زاده. (۱٤۰۱). تاثیر سالیسیلیک اسید بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و تولید اسانس به‌لیمو (*Lippia citrodora* L.) تحت تنش شوری. *نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی*، ۶۵ (۱)، ۷۰-۵۷.

مقدمه

تنش‌های زنده و غیرزنده به‌عنوان عوامل محدودکننده رشد گیاهان و تولید محصولات زراعی جهان مطرح می‌باشند (Abedi and Pakniyat, 2010). تنش شوری یکی از مهمترین تنش‌های غیرزنده به‌شمار می‌رود که کیفیت و کمیت محصولات کشاورزی را به‌شدت کاهش می‌دهد (Afshar et al., 2004). پاسخ گیاهان به تنش شوری به‌علت ایجاد سایر مسائل به‌وجود آمده به وسیله این تنش از جمله ایجاد تنش اسمزی، سمیت یونی، افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های آزاد اکسیژن) و القاء تنش اکسیداتیو پیچیده می‌باشد (Chawla et al., 2013). افزایش تولید حفاظت‌کننده‌های اسمزی نظیر قندها، آمینواسیدهایی مانند پرولین و گلایسین بتائین، ترکیبات نیتروژن‌دار و همچنین جاروب کردن رادیکال‌های سوپراکسید و پراکسیدهیدروژن بوسیله سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی (کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پلی‌فنل اکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و...) و غیرآنزیمی از جمله مکانیزم‌های تحمل گیاهان در برابر تنش‌های محیطی از جمله تنش شوری می‌باشد (Wakeela et al., 2010). اعمال تنش شوری در گیاهان دارویی نظیر پونه معطر (Merati et al., 2016)، آویشن دنائی (Harati et al., 2015)، ریحان (Farsaraei and Moghaddam, 2018) و مرزه (Mehdizadeh et al., 2019) موجب شد تا فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به منظور کاهش اثرات منفی ناشی از این تنش در ریشه، برگ و ساقه افزایش یابد.

سالیسیلیک اسید یا اورتوهیدروکسی بنزوئیک اسید ($C_7H_6O_3$) از ترکیبات فنلی گیاهان و به عنوان ماده‌ای شبه هورمونی بوده که به‌صورت طبیعی در گیاه وجود داشته و نقش مهمی در رشد و نمو، فرآیندهای فیزیولوژیک و سازوکارهای دفاعی گیاه در مقابل تنش‌های زنده و غیرزنده دارد (El-Tayeb, 2005). مطالعات پیشین نشان می‌دهد که کاربرد خارجی این ماده، فتوسنتز، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و مقاومت گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد و به‌عنوان برطرف کننده آسیب‌های اکسیداتیو معرفی شده است. علاوه بر این سیالیسیلیک اسید با تأثیر بر ثبات و پایداری کلسیم در سلول (کلسیم موجب تنظیم فعالیت آنزیم‌هایی نظیر گایاکول پراکسیداز می‌شود)، موجب افزایش مقاومت به تنش‌های محیطی می‌شود (Wang and Li., 2006). مطالعه‌ای روی گیاه دارویی درمنه تحت تنش شوری نشان داد که کاربرد سالیسیلیک اسید موجب کاهش اثرات منفی تنش شوری شد و بدین طریق فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز را کاهش داد (Eskandari Zanjani et al., 2013). همچنین محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید در شرایط تنش شوری موجب کاهش مالون‌دی‌آلدئید در گیاه دارویی ریحان سبز (Delavari Pariza et al., 2012) و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و پراکسیداز) در گیاه دارویی بالنگو (Azad et al., 2018) شد.

گیاه دارویی به‌لیمو با نام علمی (*Lippia citrodora* L.) درختچه‌ای به ارتفاع ۱/۵ تا ۲ متر و متعلق به خانواده شاهپسند (Verbenaceae) است و بومی آمریکای جنوبی می‌باشد (Mozaffarian, 1996). برگ‌های این گیاه بخش اصلی دارویی آن به‌شمار می‌روند که مهمترین ماده مؤثره آن اسانس بوده که ترکیبات عمده آن سیترال، ژرانیول، سیترول و لیمونن می‌باشد و به‌علت داشتن این ترکیبات دارای خواص باکتری‌کشی و حشره‌کشی می‌باشد. همچنین در صنایع عطر و ادکلن سازی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد، موجب تقویت حافظه می‌گردد و دهان‌شویه

حاصل از برگ‌های آن از پوسیدگی دندان جلوگیری می‌کند (Rashedi, 2001; Samsam Sharyat, 1996).

با توجه به اثر بهبوددهندگی سالیسیلیک اسید روی گیاهان تحت تنش شوری و اینکه تاکنون تحقیقی مبنی بر بررسی اثر سالیسیلیک اسید بر گیاه دارویی به‌لیمو تحت تنش شوری انجام نشده است، هدف از این تحقیق مطالعه اثر تنش شوری و سالیسیلیک اسید بر برخی خصوصیات فیزیولوژیک و تولید اسانس گیاه دارویی به لیمو می‌باشد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور مطالعه تأثیر همزمان تنش شوری و سالیسیلیک اسید بر برخی خصوصیات فیزیولوژیک و تولید اسانس گیاه دارویی به‌لیمو آزمایش حاضر به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و با ۳ تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل تنش شوری در ٤ سطح (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار شوری آب آبیاری به‌ترتیب معادل ۰/۵، ٤/٤، ۸/۷۵ و ۱۳/۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) به‌عنوان فاکتور اول (Shahbazi et al., 2013) و فاکتور دوم شامل محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید در ٤ سطح (۰، ۱۵۰، ۳۰۰ و ٤۵۰ میلی‌گرم در لیتر به‌ترتیب معادل ۰، ۱/۱، ۲/۱ و ۳/۲ میلی‌مولار) بودند (Dianat et al., 2016). جهت انجام آزمایش از شاخه‌های جوان در حال رشد به‌لیمو قلمه تهیه شد و قلمه‌های تهیه شده پس از اینکه درون ماسه بادی ریشه‌دار شدند به درون گلدان‌هایی (با قطر دهانه ۳۰ و ارتفاع ٤۰ سانتی‌متر و با گنجایش ۱۲ کیلوگرم خاک) محتوی خاکی با بافت شنی-لومی، اسیدیته ۷/۷۹ و هدایت الکتریکی ۳/۱۲ دسی‌زیمنس بر متر انتقال یافتند و تا زمان اطمینان از استقرار در خاک با آب معمولی آبیاری شدند و پس از آن (در مرحله ٤ تا ٦ برگی) تیمارهای شوری در گلدان‌های جدا و از کمترین غلظت (به‌منظور عدم وارد شدن شوک ناگهانی به گیاه) اعمال شدند و با فاصله هر هفته بر غلظت تیمار افزوده شد تا به سطح نهایی در هر تیمار برسد. محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید دو هفته بعد از اعمال آخرین سطح تنش شوری صورت گرفت و این محلول‌پاشی ۳ بار و با فاصله یک هفته از هم انجام شد. نمونه‌گیری و اندازه‌گیری صفات یک هفته بعد از آخرین محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید و در مرحله گلدهی انجام شد.

صفات مورد بررسی در این آزمایش شامل پروتئین محلول کل، مالون‌دی‌آلدئید، پراکسید هیدروژن، گلایسین بتائین، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز) و تولید اسانس بودند.

تهیه عصاره پروتئینی: ۳۰۰ میلی‌گرم از بافت تازه برگ گیاه در ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (PH ۷/۵) ساییده شد. سپس عصاره‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در سانتریفیوژ یخچال‌دار با دور ۵۰۰۰ در دقیقه و در دمای ٤ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شدند. از محلول شفاف فوقانی برای سنجش پروتئین محلول کل، مالون‌دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌ها استفاده گردید.

سنجش پروتئین محلول کل: ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره پروتئینی به‌همراه ۵ میلی‌لیتر معرف بیوره مخلوط شدند و پس از گذشت ۵ دقیقه جذب آن در طول موج ۵۹۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Bio Quest C250) خوانده شد. غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد آلبومین محاسبه شد (Bradford, 1976).

سنجش مالون‌دی آلدئید: به ۱ میلی‌لیتر از عصاره تهیه شده از گیاه ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۵ درصد اسید تیوباربیتوریک که حاوی اسید تری کلرواستیک ۲۰ درصد است اضافه کرده و به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام

آب گرم با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس به‌منظور متوقف کردن واکنش به سرعت به حمام سرد انتقال داده شد. مخلوط سرد شده با ۱۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و میزان جذب در دستگاه اسپکتروفتومتر در دو طول موج ۵۲۰ و ٦۰۰ نانومتر قرائت شد (Davey et al., 2005).

سنجش گلایسین بتائین: ۰/۵ گرم نمونه خشک برگ به همراه ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر عصاره‌گیری شد و سپس ۱ میلی‌لیتر از آن را با ۱ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۲ نرمال مخلوط کرده و از آن ۰/۵ میلی‌لیتر برداشته و به مدت ۱ ساعت در حمام یخ قرار داده شد. سپس ۰/۲ میلی‌لیتر مخلوط یدید پتاسیم و ید به آن اضافه شد. بعد از گذشت ١٦ ساعت نمونه‌ها سانتریفیوژ شده و فاز زیری (کریستالی) جدا شد و به آن ۹ میلی‌لیتر محلول ۱ و ۲ دی کلرواتان اضافه شد و در نهایت جذب آن در ٣٦٥ نانومتر قرائت شد. جهت تهیه استاندارد گلایسین بتائین در غلظت‌های صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰، ۲۰۰۰ و ۲۵۰۰ میکروگرم در گرم تهیه و اندازه‌گیری شد (Grieve, 2005).

سنجش پراکسید هیدروژن: برای سنجش محتوی پراکسید هیدروژن ۰/۵ گرم از بافت تازه گیاهی با ۱ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۱ درصد سائیده شد و مخلوط هموژن در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد، با سرعت ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۷۰۰ میکرولیتر از محلول رویی به ۷۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار و ۷۰۰ میکرولیتر یدید پتاسیم یک مولار اضافه و میزان جذب در طول موج ۳۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محتوی پراکسید هیدروژن با کمک منحنی استاندارد (y=0.212x با R2= 0.99) که با مقادیر مشخص پراکسید هیدروژن رسم شده بود سنجیده شد و به صورت میکرومول بر گرم وزن تر برگ گزارش گردید (Sergive et al., 1997).

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز: جهت اندازه‌گیری، مخلوط واکنش (۳ میلی‌لیتر) شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار، آب اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی تهیه شد که با اضافه کردن آب اکسیژنه به مخلوط واکنش، واکنش شروع و کاهش در جذب آب اکسیژنه در مدت ۳۰ ثانیه در طول موج ۲٤۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه واحد آنزیمی از ضریب خاموشی معادل ٤۰mM^{-1} Cm^{-1} استفاده شد (Dhindsa et al., 1981).

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH= 7). آسکوربات ۰/۵ میلی‌مولار، آب اکسیژنه ۰/۱ میلی‌مولار و ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود تا واکنش اکسیداسیون توسط آنزیم موجود در بافت گیاهی انجام گردد. فعالیت آنزیم بر اساس اکسیداسیون اسید آسکوربیک و کاهش در جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر به‌مدت ۲ دقیقه اندازه‌گیری شد. برای محاسبه واحد آنزیمی از ضریب خاموشی معادل ۲/۸ mM^{-1} Cm^{-1} استفاده شد (Nakano and Asada, 1981).

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به کمک سنجش مهار احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم (NBT) در طول موج ٥٦۰ نانومتر انجام شد (Plewa et al., 1991).

سنجش تولید اسانس: ۳۰ گرم برگ خشک به همراه ٦۰۰ میلی‌لیتر آب به‌مدت ۳ ساعت با دستگاه کلونجر اسانس‌گیری شد و سپس به‌منظور محاسبه تولید اسانس در واحد گلدان درصد اسانس بدست آمده در وزن خشک برگ بوته‌های هر گلدان ضرب شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار Minitab 17 انجام شد. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون Bonferroni در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2016 استفاده شد.

نتایج

نتایج آنالیز واریانس اثر متقابل شوری و سالیسیلیک اسید بر کلیه صفات مورد مطالعه در این تحقیق در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱).

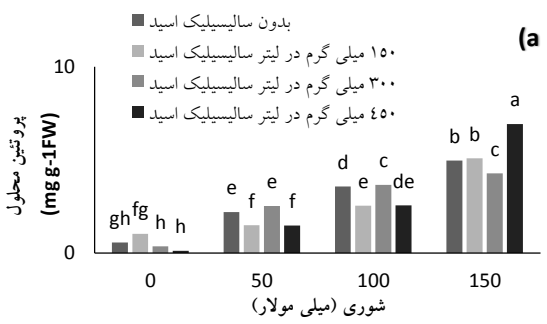
پروتئین محلول کل: نتایج بدست آمده از مقایسه میانگین اثرات متقابل شوری و سالیسیلیک اسید بر صفات مورد مطالعه در این تحقیق نشان داد که با افزایش سطح شوری بر میزان پروتئین محلول کل افزوده شد و محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید در سطح ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین تاثیر را در کاهش این صفت در سطح بالای شوری (۱۵۰ میلی‌مولار) داشت (بطوری‌که سبب کاهش ۱۳/۸۸ درصدی پروتئین محلول کل نسبت به عدم کاربرد سالیسیلیک اسید شد) (شکل ۱– a).

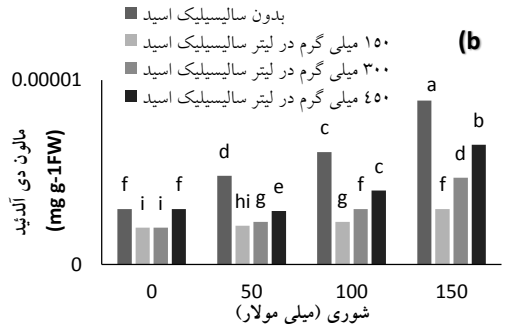
مالون‌دی‌آلدئید: بیشترین میزان مالون‌دی‌آلدئید در شوری سطح ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر و عدم کاربرد سالیسیلیک اسید مشاهده شد و کاربرد سالیسیلیک اسید در سطح ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سبب کاهش ٦٦/۲۹ درصدی این صفت در این سطح از شوری شد (شکل ۱– b).

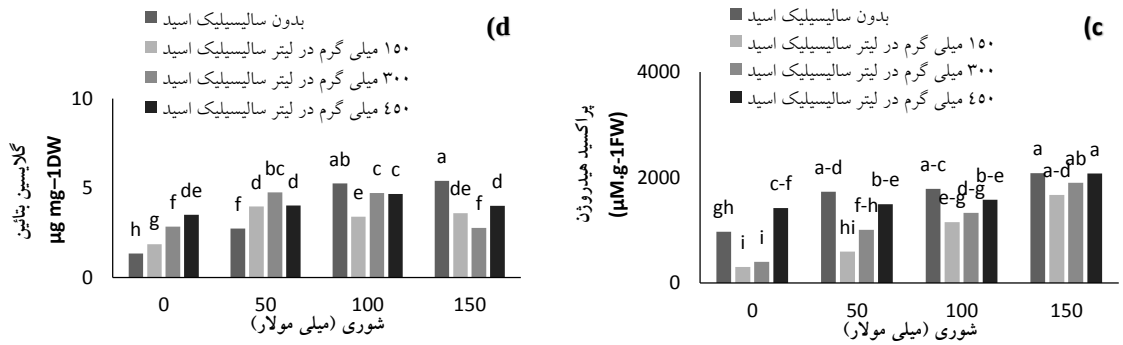
جدول ۱: تجزیه واریانس اثر شوری و سالیسیلیک اسید بر صفات مورد مطالعه در این تحقیق

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		پروتئین	مالون‌دی آلدئید	گلایسین بتائین	پراکسید هیدروژن	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	تولید اسانس
شوری	۳	۱٦/۰۸**	۱۰$^{-۵}$**	۱۰/۰٤**	۳۲۱۲۸۵۷**	۰/۰۳۷٦**	۰/۹٤۳**	۰/۰۳۷۰**	۱٦۱۷/۵۵**
سالیسیلیک اسید	۳	۱۱/۷۷**	۱۰$^{-۵}$**	۱/۹٦**	۲۵۱۲۱۵**	۰/۰۱٦۱**	۱/۱۰۱**	۰/۰۱۵۰**	٤۱۱/۲۲**
شوری×سالیسیلیک‌اسید	۹	۹/۲۸**	۱۰$^{-۵}$**	۲/۷٦**	٤۳۳٦٤۲**	۰/۰۳۱۵**	۰/۷۳۷**	۰/۰٤٤۱**	۲۵/۰۷**
خطا	۳۲	۰/۰٤	۱۰$^{-٦}$	۰/۰۹	۱۷۲۸۵	۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰٦	۰/۰۱

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد





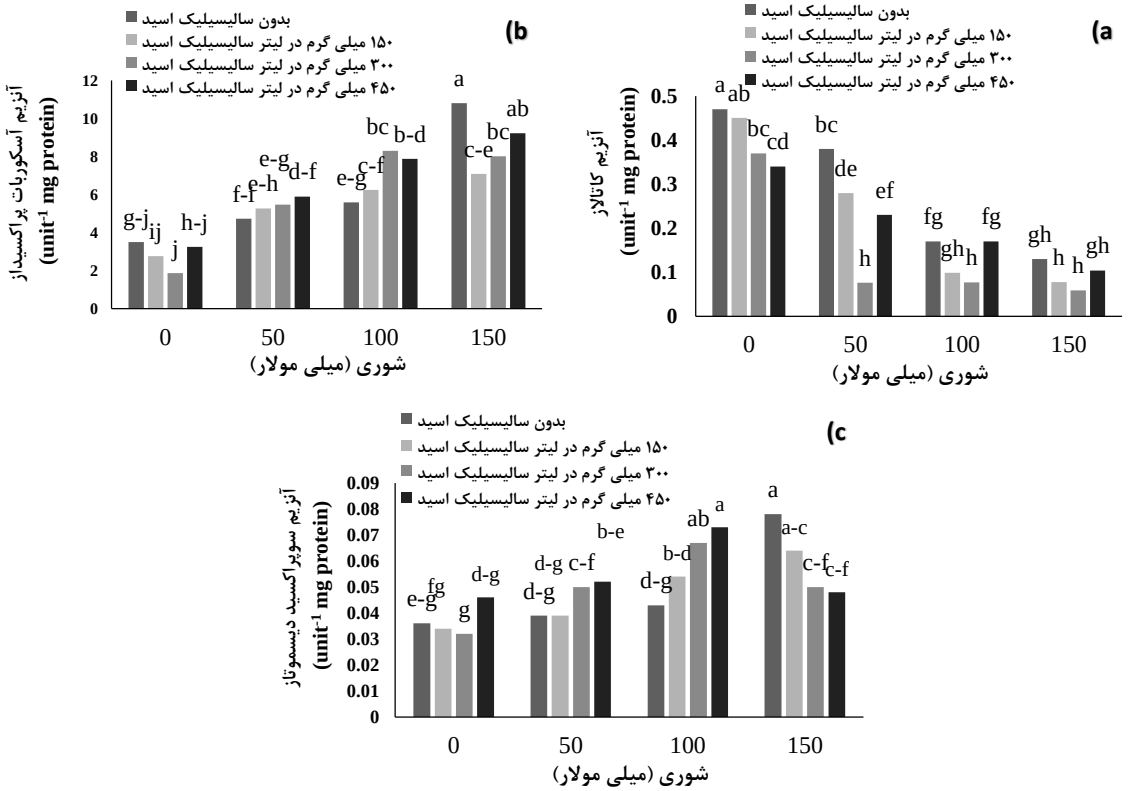


شکل ۱: اثر متقابل شوری و سالیسیلیک اسید بر پروتئین محلول کل (a)، مالون‌دی‌آلدئید (b)، پراکسید هیدروژن (c) و گلایسین بتائین (d) در گیاه دارویی به‌لیمو

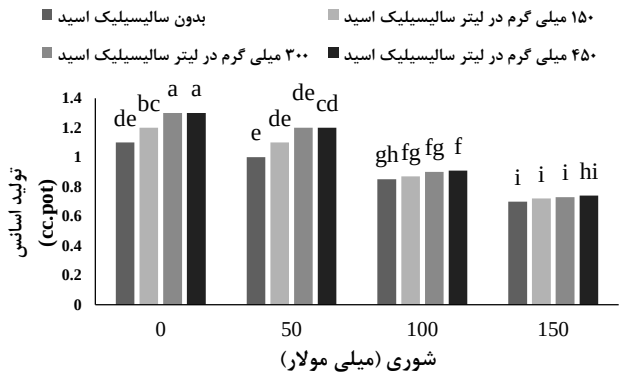
پراکسید هیدورژن و گلایسین بتائین: پراکسید هیدروژن (۲۰۸۶/۰۶ µM.g^{-1}FW) و گلایسین بتائین (۵/۴µg mg^{-1}DW) در بالاترین سطح از تنش شوری (۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) به بالاترین میزان خود رسیدند و در مورد پراکسید هیدروژن کاربرد سالیسیلیک اسید نتوانست تاثیر معنی‌داری در کاهش این صفت داشته باشد؛ اما در مورد گلایسین بتائین کاربرد سالیسیلیک اسید در هر سه سطح به‌کار رفته توانست سبب کاهش معنی‌دار این صفت شود. به‌طوری‌که سطح ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر آن بیشترین تاثیر را داشت و موجب کاهش ۴۹/۴۴ درصدی این صفت شد (شکل ۱- a و b).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و سالیسیلک اسید بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نشان داد که با افزایش سطح شوری از میزان فعالیت آنزیم کاتالاز کاسته شد و کمترین میزان آن (۰/۰۵۹ unit^{-1} mg protein) در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و کاربرد سالیسیلیک اسید در سطوح ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد و در مقابل بر میزان فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز افزوده شد و بیشترین میزان آن‌ها (به‌ترتیب ۱۰/۸۱ و ۰/۰۷۸ unit^{-1} mg protein) در تیمار شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و عدم محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید مشاهده شد (شکل ۲-a، b و c).

تولید اسانس: نتایج این تحقیق حاکی از کاهش تولید اسانس در گیاه با افزایش سطوح شوری بود. به‌طوری‌که بیشترین تولید اسانس (۱/۳ cc/pot) در تیمار بدون شوری و کاربرد سالیسیلیک اسید (سطح ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم در لیتر) مشاهده شد و کمترین میزان آن نیز (۰/۷ cc/pot) در بالاترین سطح شوری (۱۵۰ میلی‌مولار) مشاهده شد که کاربرد سالیسیلک اسید نتوانست تاثیر معنی‌داری بر این صفت در این سطح از شوری داشته باشد (شکل ۳).



شکل ۲: اثر متقابل شوری و سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (a)، آسکوربات پراکسیداز (b) و سوپراکسید دیسموتاز (c) در گیاه دارویی بهلیمو



شکل ۳: اثر متقابل شوری و سالیسیلیک اسید بر تولید اسانس گیاه دارویی بهلیمو

بحث

مطابق با نتایج حاصل از این آزمایش، افزایش پروتئین محلول کل، محتوای مالون‌دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همسو با افزایش شوری در گیاهانی مانند زوفا (Jahantigh et al., 2016)، مرزه (Mehdizadeh et al., 2019)، آویشن دنائی (Harati et al., 2015)، ریحان (Farsarei and Moghaddam, 2018) گزارش شده است. در این تحقیق با افزایش تنش شوری میزان پروتئین محلول کل افزایش یافت و علت این امر را می‌توان چنین بیان کرد که در هنگام تنش شوری میزان برخی از ترکیبات پروتئینی که در تنظیم اسمزی گیاه نقش دارند افزایش

می‌یابند تا مقاومت گیاه را در برابر کمبود آب ناشی از تنش شوری افزایش دهند (Parvaiz and Satyawati, 2008). به بیان دیگر افزایش پروتئین در گیاه تحت تنش می‌تواند به این علت باشد که اغلب پروتئین‌های گیاهی با شوری القا می‌شوند و در گیاه تجمع یافته و شکلی از نیتروژن ذخیره‌ای را فراهم می‌کنند که نه تنها در تنش شدید استفاده می‌شود، بلکه در تنظیم اسمزی نیز نقش دارند (Ashraf et al., 2004). در این تحقیق همچنین با افزایش سطوح تنش بر محتوای مالون‌دی‌آلدئید افزوده شد که علت افزایش آن تولید رادیکال‌های سوپراکسید در شرایط تنش می‌باشد که موجب پراکسیداسیون لیپیدها شده و میزان مالون‌دی‌آلدئید افزایش نشان داد، به این دلیل که مالون‌دی‌آلدئید به عنوان نشانگر زیستی برای اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدها شناخته می‌شود (Gunes et al., 2007). با افزایش تنش شوری میزان پراکسید هیدروژن در استویا (Sarami et al., 2017) و زیره سبز (Ghorbanli et al., 2012) افزایش یافت که نتایج این تحقیق نیز با آنها مطابقت دارد. علت افزایش این ترکیب می‌تواند به دلیل افزایش رادیکال‌های آزاد از جمله پراکسید هیدروژن باشد که در هنگام تنش شوری ایجاد می‌شود (Wang et al., 2014). افزایش پراکسید هیدروژن در هنگام بروز تنش موجب کاهش میزان رشد گیاه و همچنین، باعث پراکسیداسیون لیپیدها (افزایش مالون‌دی‌آلدئید) و آسیب‌های غشایی می‌شود و در این مرحله است که آنزیم کاتالاز وارد عمل شده و با تجزیه پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن اثرات مخرب آن را خنثی می‌کند، در حقیقت حذف مقادیر اضافی پراکسید هیدروژن و دخالت در تنظیم مقادیر مناسب از آن برعهده آنزیم کاتالاز می‌باشد، اما همانطور که در این تحقیق مشاهده شد با افزایش سطوح شوری فعالیت آنزیم کاتالاز کم شد و در نتیجه عاملی که بتواند پراکسید هیدروژن را از بین ببرد کاهش یافت و در نتیجه بر میزان پراکسید هیدروژن افزوده شد (Sairam and Srivastava, 2004). علت کاهش فعالیت این آنزیم را عابدی و پاک نیت (Abedi and Pakniyat, 2004) در تحقیقی که انجام دادند چنین بیان کردند که کاهش فعالیت کاتالاز احتمالاً به دلیل جلوگیری از سنتز آنزیم یا تجزیه آنزیم به وسیله پروتئازهای القاء شده پراکسی‌زوم و یا غیرفعال شدن نوری آنزیم کاتالاز (که به نور حساس است و سریعاً غیرفعال می‌شود) می‌باشد. در تحقیقی که بانو و همکاران (Banu et al., 2009) بر روی گیاه تنباکو انجام دادند به این نتیجه رسیدند که در پاسخ به افزایش تنش شوری، پراکسیداسیون لیپیدها، بد شکل شدن هسته و مرگ سلول‌ها تشدید شده و محتوای ATP، پرولین و گلایسین بتائین در سلول‌ها و بافت‌ها افزایش می‌یابند که این امر نتایج این تحقیق را اثبات می‌کند. همچنین در تحقیقی دیگر با افزایش تنش شوری بر میزان گلایسین بتائین گیاه گلرنگ (Javadipour et al., 2013) نیز افزوده شد که علت این امر این است که با افزایش سطوح تنش شوری، گیاه برای حفظ وضعیت سلول‌ها و بافت‌های خود میزان گلایسن بتائین خود را افزایش داده است. گلایسین بتائین به‌عنوان یک محلول تنظیم‌کننده اسمزی در گیاهان محسوب می‌شود و در هنگام تنش در گیاه افزایش می‌یابد (Hanson et al., 2007). فعالیت دو آنزیم آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در این تحقیق با افزایش تنش شوری افزایش یافت که این اتفاق در هنگام تنش شوری به علت نقش آنزیم‌ها در سم‌زدایی رادیکال‌های اکسیژن امری طبیعی به‌حساب می‌آید (Abedini and Grunet, 2015). در هنگام تنش شوری به دلیل بسته شدن روزنه‌ها، کاهش تثبیت دی‌اکسیدکربن و در پی آن کاهش رشد گیاه و همچنین افزایش تنفس گیاه، گونه‌های فعال اکسیژن از

جمله رادیکال سوپراکسید افزایش یافته و آنزیم‌هایی از جمله سوپراکسید دیسموتاز باعث تبدیل این رادیکال به پراکسید هیدروژن می‌شوند و سپس آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز قادرند پراکسید هیدروژن تولیدی در اندامک‌ها و سیتوزول را به آب و اکسیژن تبدیل کنند و اثرات مخرب آن را کاهش دهند. همچنین آنزیم گایاکول پراکسیداز نیز نقش مهمی در جاروب کردن این ترکیبات دارد (Michalak, 2006). این موارد افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه مورد مطالعه در این تحقیق را اثبات می‌کند. از سوی دیگر، افزایش تنش شوری موجب شد تا تولید اسانس در این تحقیق کاهش یابد که این مورد با مطالعه بر روی گیاهانی از جمله نعناع فلفلی (Khalvandi et al., 2017)، ریحان (Farsaraei and Moghaddam, 2018) و اسطوخودوس (Khorasani Nejad et al., 2016) مطابقت داشت که علت این کاهش را می‌توان کاهش سطح فتوسنتز کننده به علت افزایش فعالیت پراکسیداسیون غشاء و در نتیجه افزایش مالون‌دی‌آلدئید دانست. علاوه بر این، اسانس‌ها از گروه شیمیایی ترپن‌ها بوده و به این دلیل که گلوکز به عنوان پیش ماده مناسب در سنتز اسانس و به ویژه منوترپنها مطرح می‌باشد، فتوسنتز و تولید فرآورده‌های فتوسنتزی ارتباط مستقیمی با تولید اسانس دارد و همچنین کاهش تولید اسانس را می‌توان به‌دلیل صرف بیشتر انرژی در گیاه برای جذب آب در شرایط تنش، تغییر و افزایش غلظت پروتوپلاست، تغییر در مسیرهای تنفسی و مسیر فسفات‌پنتوز مربوطه دانست که به نوعی در تولید آنزیم‌های تولید کننده اسانس در گیاه اختلال ایجاد کرده و در نتیجه سبب کاهش تولید اسانس می‌شوند (Khorasani Nejad et al., 2016).

تنظیم‌کننده‌های رشد از جمله سالیسیلیک اسید با جلوگیری از وارد شدن آسیب به اسیدهای چرب، کاهش نفوذپذیری غشاء و حفاظت از غشاء تیلاکوئیدی در اثر تنش شوری، نقش خود را ایفا می‌کنند و این اثر را احتمالاً با کاهش میزان پراکسید هیدروژن انجام می‌دهند (Borsani et al., 2001). به کار بردن سالیسیلیک اسید در گیاهان اثری دوگانه بر متابولیسم گیاه دارد و در غلظت‌های پایین دارای نقش مثبت بوده و گیاه را در برابر تنش مقاوم می‌سازد؛ اما در غلظت‌های بالا خود به‌عنوان عامل ایجاد کننده تنش اکسیداتیو شناخته می‌شود و موجب بروز اثرات منفی در گیاه می‌شود (El- Tayeb, 2005). کاربرد سالیسیلیک اسید تحت تنش شوری در این تحقیق مطابق با تحقیقی که روی گیاه شب بو تحت تنش شوری و سطح کاربردی ۲ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید انجام شده بود (Abdolmohammadi et al., 2018). موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدها شد. گزارشاتی مبنی بر تغییر در الگوی فعالیتی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش عناصر سنگین و دیگر تنش‌های غیرزنده، تحت تیمار سالسیلیک اسید و بدون عدم کاربرد آن وجود داشت (Metwally et al., 2003) که نشان داد سالسیلیک اسید با باند شدن به آنزیم کاتالاز، سبب کاهش فعالیت آن در برنج (Chen at al., 2007) گردید که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با کاربرد سالیسیلیک اسید به علت نقش مستقیم این تنظیم‌کننده رشد گیاهی در حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشد که هم فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و هم مالون‌دی‌آلدئید را کاهش می‌دهد (Singh, 2013). نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد سالیسیلیک اسید در سطوح بالای تنش شوری نتوانست تأثیر معنی‌داری در تولید اسانس داشته باشد و تنها در سطوح پایین تنش توانست تا حدودی موجب بهبود این صفت شود که علت آن را نیز می‌توان چنین بیان کرد که کاربرد این تنظیم‌کننده رشد

گیاهی در سطوح پایین تنش از طریق افزایش سطح برگ و در نتیجه افزایش سطح فتوسنتز کننده عملکرد اسانس را بهبود می‌بخشد (Jalalvand et al., 2017).

نتیجه‌گیری نهایی

بر طبق نتایج این تحقیق نشان داده شد با افزایش سطوح تنش شوری پروتیئن محلول کل، میزان مالون‌دی‌آلدئید، گلایسین بتائین و پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز) افزایش یافتند و در مقابل از تولید اسانس و فعالیت آنزیم کاتالاز گیاه کاسته شد و بطور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد سالیسیلیک اسید به‌ویژه در سطح ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر سبب بهبود صفات مورد مطالعه در این تحقیق گردید. بنابراین کاربرد آن در شرایط تنش شوری در گیاه دارویی به‌لیمو توصیه می‌شود.

References

Abdolmohammadi, S., Omidi, J., Hatamzadeh, A. and Hassanpour asil, M. (2018). Evaluation of salinity stress tolerance in (*Matthiola incana* L.) under salicylic acid treatment. Scientific Research Applied Biology. 8(31): 121-131.

Abedi, T. and Pakniyat, H. (2010). Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivar of oilsed rap (*Brassica napus* L.). Czech Journal of Genetics and Plant Breeding. 46(4): 27-34.

Abedini, M. and Daie-Hassani, B. (2015). Salicylic acid affects wheat cultivars antioxidant system under saline and nonsaline condition. Russian Journal of Plant Physiology. 62: 604–610.

Afzali, SFAD., Shariatmadari, H., Hajiabbasi, M.A. and Moatar, F. (2009). Salinity and drought stresses effects on flower yield and flavonol-o-glycosides in Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). Iranian Journal of Medecinal and Aromatic Plants. 3(37): 382-390.

Ashraf, M., Mukhtar, N., Rehman, S. and Rha, E.S. (2004). Salt-induced changes in photosynthetic activity and growth in a potential medicinal plant Bishop's weed (*Ammi majus* L.). Photosynthetica. 42(2): 543-550.

Azad, M., Rostami, M., Ghabooli, M. and Movahhedi, Z. (2018). Interaction of salinity and salicylic acid on physiological characteristics of *Lallemantia royleana*. Iranian Journal of Plant Resarch. 31(2): 295-307.

Banu, N.A., Hoque, A., Watanabe-Sugimoto, M. and Matsuoka, K. (2009). Proline and glycinebetaine induce antioxidant defens gene expression and suppress cell death in cultured tobacco cells under salt stress. Journal of Plant Physiologhy. 166: 146-156.

Borsani, O., Valpuestan,V. and Botella, M.A. (2001). Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in Arabidopsis seedlings. Plant Physiology. 126: 1024-1030.

Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 72(1-2): 248-254.

Chen, J., Cheng, Z. and Zhong, S. (2007). Effect of exogegenous salicylic acid on growth and H2O2 metabolizing enzymes in rice seedlings lead stress. Journal of Environmental Sciences. 19: 44-49.

Chawla, S., Jain, S. and Jain, V. (2013). Salinity induced oxidative stress and antioxidant system in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology. 1: 27-34.

Davey, M.W., Stals, E., Panis, B. and Keulemans, J. (2005). High-throughput determination of malondialdehyde in plant tissues. Analytical Biochemistry. 347(2): 201-207.

Delavari Parizi, M., Baghizadeh, A., Enteshari, Sh. and Manouchehri Kalantari, Kh. (2012). The study of the interactive effects of salicylic acid and salinity stress on induction of oxidative stress and mechanisms of tolerance in *Ocimum basilicum* L. Iranian Journal of Plant Resarch. 4(12): 25-35.

Dhindsa, R.S., Plumb-Dhindsa, P. and Thorpe, T.A. (1981). Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. Journal of Experimental Botany. 32(1): 93-101.

Dianat, M., Saharkhiz, M.J. and Tavassolian, I. (2016). Salicylic acid mitigates drought stress in *Lippia citriodora* L., Effects on biochemical traits and essential oil yield. Biocatalisis and Agricultural Biotechnology. 8: 286.293.

El-Tayeb, MA. (2005). Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Journal of Plant Growth Regulation. 45(1): 215-225.

Eskandari Zanjani, K., Shirani Rad, A.H., Moradi Agdam, A. and Taherkhani, T. (2013). Effect of salicylicacid application under salinity conditions on physiologic and morphologic characteristics of Artemisia (*Artemisia annua* L.). Journal of Crop Ecophysiology. (Agriculture Science). 6(4): 415.428.

Farsaraei, S. and Moghaddam, M. (2018). The interaction effect of salinity stress and superabsorbent polymer on antioxidant enzyme activities of basil. Cell and Tissue Journal. 9(3): 222-237.

Ghorbanli, M., Ahmadi, F., Monfared, A. and Bakhshi Khaniki, Gh. (2012). Effect of salt stress and its interaction with ascorbate on catalase, ascorbate peroxidase activity, proline and malondialdehyde in *Cuminum cyminum* L. four weeks after germination. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 28(1): 14-27.

Grieve, C.M. and Grattan, S.R. (1983). Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. Plant Soil. 70: 303.307.

Gunes, A., Inal, A., Alpaslan, M. and Eraslan, F. (2007). Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) grown under salinity. Journal of Plant Physiology. 164: 728-736.

Hanson, A.D., May, A., Grumet, M.R. and Bode, J. (2007). Betaine synthesis in chenopods: Localization in chloroplasts. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 82: 3678-3682.

Harati, E., Kashefi, B. and Matinizadeh, M. (2015). Investigation of reducing detrimantal effects of salt stress on morphological and physiological traits of (*Thymus daenensis* Celak.) through salicylic acid application. Plant Production Technology. 16(2): 111-125.

Jahantigh, O., Najafi, F. and Naghdi Badi, H.A. (2016). Study of some physiological parameters hyssop (*Hyssopus officinalis*) in the vegetative stage under the influence of salinity. Iranian Journal of Plant Biology. 27(1): 81-94.

Jalalvand, A., Andalibi, B. and Tavakoli, A. (2017). Evaluation the effects of cycocel and salicylic acid on some physiological characteristic and essential oil under normal and drought conditions in medical plant Dragonhed (*Dracocephalum moldavica* L.). J Plant Prod Res. 24(4): 111-128.

Javadipour, Z., Movahhedi Dehnavi, M. and Balouchi, H.R. (2013). Changs in the rate of proline, soluble sugars, glycinebetaine and protein content in leaves of six spring safflower (*Carthamus tinctirius* L.) under salinity stress. Journal of Plant Process and Function. 1(2): 13-24.

Khalvandi, M., Amerian, M.R., Pirdashti, H. and Baradaran, M. (2017). Effects of Piriformospora indica fungi symbiotic on the quantity of essential oil and some physiological parameters of peppermint in saline

conditions. Iranian Journal of Plant Biology. 9(32): 1-19.

Khorasani Nejad, S., Soltanlu, H., Hadian, J. and Atashi, S. (2016). Effect of salinity stress on some apparent, quantitative and qualitative properties of essential oil in lavender. Iranian Journal of Horticultural Science. 30(2): 209-216.

Mehdizadeh, M., Moghaddam, M and Lakzian, A. (2019). Response of summer savory at two different growth stages to biochar amendment under NaCl stress. Archives of Agronomy and Soil Science. 29: 1120-1133.

Merati, M.J., Niknam, V., Hassanpour, H. and Mirmasoumi, M. (2015). Comparative effects of salt stress on growth andantioxidative responses in different organs of pennyroyal (*Mentha pulegium* L.). Journal of Plant Research. (Iran Plant Biology.). 28(5): 1097-1107.

Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M. and Dietz, K.J. (2003). Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in *Hordeum vulgare*. Biological Research. 1: 40- 48.

Michalak, A. (2006). Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. Polish Journal of Environmental Studies. 15: 523-530.

Mozaffarian, V.A. (2001). Dictionary of Iranian Plant Names. Tehran: Farhange Moaser press. 1996; p. 325.

Nakano, Y. and Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology. 22(5):867-880.

Niakan, M., Khavarinejad, R. and Rezaei, M.B. (2005). Effect of three ratios of fertilizer N, P, K on fresh weight, dry weight, leaf area and the essential oil of peppermint (*Mentha piperita* L.). Medicinal and Aromatic Plants Reserch. 21(2): 148-131.

Parvaiz, A. and Satyawati, S. (2008). Salt stress and phyto-biochemical responses of plants, a review. Plant, Soil and Environment. 54(3): 89-99.

Plewa, M.J., Smith, S.R. and Wagner, E.D. (1991). Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. Mutat Res-Fund Mol M. 247(1): 57-64.

Sairam, R.k. and Srivastava, G.C. (2004). Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. Journal of Plant Sciences. 162: 897-904.

Samsam Sharyat, H. (1996). Cultivation and Propagation of Medicinal Plants. Manny Publishing: Isfahan. p. 422.

Sarami, R., Omidi, H. and Bostani, A.A. (2017). The effect of auxin and cytokinin on the biochemical parameters and peroxidase activity (H_2O_2) of stevia (*Stevia rebaudiana Bertoni*) under salinity stress. Journal of Science and Technology Greenhouse Culture. 8(3): 91-105.

Sergive, I., Alexieva, V. and Karanov, E. (1997). Effect of spermine, atrazine and comination between them on some endogenous protective systems and stress markersin plants. Compost Rendus de first Academic Bulgare des Scienci. 51: 121.124.

Shahbazi, M., Amini, F., Asghari, Gh.R. (2013). Effect of salinity stress on lipid peroxidation, ion leakage and proline in lemon verbena (*Lipppia citrodora* L.) medicinal plant treated with 24-epipresinolide. First National Conference on Salinity Stress in Plants and Strategies for Agricultural Development in Saline Conditions. 869-873.

Singh, P.K. and Gautam, S. (2013). Role of salicylic acid on physiological and biochemical mechanism of salinity stress tolerance in plants. Acta Physiologiae Plantarum. 35: 2345–2353.

Wakeela, A., Asif, A.R, Pitann, B. and Schubert, S. (2010). Proteome analysis of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) elucidates constitutive adaptation during the first phase of salt stress. Journal of Plant Physiology. 168(6): 519-526.

Wang, L.G. and Li, S.H. (2006). Salicylic acidinduced heat or cold tolerance in relation to Ca^{2-} homeostasis and

on antioxidant defense system in the root of Kandelia candel. Journal of Botanical Studies. 55: 57-63.

Wang, H.M., Xiao, X.R., Yang, M.Y. and Gao, Z.L. (2014). Effects of salt stress antioxidant systems in young grape plants. Plant Science. 170: 685-695.