

تأثیر محلول پاشی برگی اسید سالیسیلیک بر برخی صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی انگور رقم تامپسون سیدلس در شرایط تنش شوری

جعفر امیری*

گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۷/۱۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۱۰/۲۹)

چکیده:

شوری از عوامل تنش‌زای محیطی است که رشد کمی و کیفی گیاهان را محدود می‌نماید. از راهکارهای مهم برای غلبه بر تأثیرات نامطلوب شوری کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی است. تأثیر مثبت اسید سالیسیلیک در کاهش اثرات نامطلوب تنش‌ها در برخی گیاهان گزارش شده است. به منظور بررسی تأثیر کاربرد اسید سالیسیلیک بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در انگور تامپسون سیدلس در شرایط شوری، آزمایشی گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفت. قلمه‌های ریشه‌دار شده این رقم با پنج سطح شوری (همراه آب آبیاری) صفر (شاهد)، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و چهار سطح اسید سالیسیلیک (محلول پاشی برگساره‌ای) صفر (شاهد)، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر تیمار گردیدند. افزایش غلظت کلرید سدیم، باعث کاهش شاخص‌های رشدی، محتوای نسبی آب برگ و نیز افزایش نشت یونی و محتوای مالون‌دی‌آلدئید شد. در تیمار شوری ۱۰۰ میلی‌مولار (بدون کاربرد اسید سالیسیلیک)، میزان کاهش طول ساقه و طول ریشه، به ترتیب ۶۷/۱۸ و ۵۹ درصد در مقایسه با شاهد بود. در سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار، کاربرد اسید سالیسیلیک در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر، میزان پرولین را ۴/۱۱ برابر، قندهای محلول را ۷/۵ برابر، فعالیت آنزیم‌های گاباکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز را به ترتیب به میزان ۳/۱۵، ۴/۱ و ۳/۶ برابر در مقایسه با شاهد افزایش داد. یافته‌های این پژوهش، نشان داد که در شرایط تنش شوری، کاربرد اسید سالیسیلیک (در غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار)، باعث افزایش کارایی رشد، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و اسمولیت‌های سازگار و نیز کاهش نشت یونی شد.

کلمات کلیدی: انگور، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، اسمولیت‌های سازگار، تنش شوری، مالون‌دی‌آلدئید.

مقدمه:

پتانسیل آب، عدم تعادل یونی در جذب مواد غذایی، بر هم زدن هم‌ایستایی یونی و سمیت یونی در گیاه می‌باشد (Hayashi and Murata, 1998). برخی تاکستان‌ها، در نواحی نیمه خشک که خشکی و شوری از مشکلات رایج در آن نواحی هستند، پرورش می‌یابند (Cramer et al., 2007). در حال حاضر، در بیشتر مناطق کره زمین، افزایش شوری،

شوری، به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی مخرب محدود کننده تولید محصول در گیاهان به‌ویژه در دوره باردی محسوب شده، زیرا بیشتر گیاهان به شوری حساس بوده و در غلظت‌های بالای نمک خاک، آسیب می‌بینند (Munns and Tester, 2008). شوری خاک دارای سه اثر ویژه شامل کاهش

از عمده‌ترین محلول‌های اسمزی سازگار می‌توان به قندهای ساده (عمدتا گلوکز و فروکتوز)، قندهای الکلی (گلیسرول و اینوزیتول متیله شده)، قندهای پیچیده (فروکتان، رافینوز و تری‌هالوز)، مشتقات اسیدهای آمینه چهارگانه (پرولین، گلیسین بتائین، بتا-آلانین بتائین، پرولین بتائین و پیریمیدین) و ترکیبات سولفونیم (کولین سولفات و دی‌متیل سولفونیم پروپروونات) اشاره نمود (Yokoi *et al.*, 2002). پرولین، اسید آمینه کلیدی در تنظیم اسمزی است، علاوه بر این، پرولین به‌عنوان منبع کربن و نیتروژن و نیز یک پالایند رادیکال‌های آزاد نیز محسوب می‌شود (Nayyar, 2003). در مطالعه‌ای، Cramer و همکاران (۲۰۰۷)، تأثیر تنش شوری را روی تعدادی ارقام انگور بررسی کرده و نتیجه گرفتند که در اثر تنش شوری، ۱۲ اسید آلی، ۱۹ اسید آمینه، ۱۵ نوع قند، مالات، پرولین و گلوکز تولید می‌شود که در تنظیم اسمزی در شرایط تنش نقش دارند. از طرف دیگر Singh و همکاران (۲۰۰۰) با مطالعه شش رقم انگور در شرایط درون شیشه‌ای مشاهده نمودند که محتوای قند کل و میزان پرولین ساقه به تدریج تحت تنش کلرید سدیم، افزایش پیدا نمود. اسید سالیسیلیک، نقش مهمی را در پاسخ گیاهان به تنش‌های غیر زنده مثل شوری و تنش اسمزی ایفاء می‌نماید (Borsani *et al.*, 2001). گزارش شده که این ترکیب، نقش مهمی در کاهش صدمات اکسیدی مانند پراکسیداسیون لیپیدی در شرایط تنش ایفاء می‌نماید (Joseph *et al.*, 2010). کاربرد اسید سالیسیلیک در انگور، باعث کاهش نشت یونی و پراکسیداسیون لیپیدی غشاء در برگ‌ها شده و همچنین فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و گلوکاتایون ردوکتاز را افزایش داد (Wang and Li, 2006). در پژوهشی Shi و Zhu (۲۰۰۸) مشاهده نمودند که کاربرد اسید سالیسیلیک باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدی غشاء و در نتیجه کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید در بوته‌های خیار می‌شود، از طرفی دیگر، اسید سالیسیلیک باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دسموتاز و پراکسیداز شده اما از فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز جلوگیری نمود. در گوجه فرنگی، کاربرد اسید سالیسیلیک باعث کاهش مالون‌دی‌آلدئید در شرایط تنش

تهدیدی جدی برای پرورش دهندگان انگور محسوب می‌شود (Fisarakis *et al.*, 2001). میزان تحمل گونه‌های انگور به شوری تفاوت زیادی با هم داشته اما به‌طور کلی تا سطح پنج دسی‌زیمنس بر متر را تحمل می‌نمایند (جلیلی مرندی، ۱۳۸۹). در غلظت‌های بالای شوری، نفوذپذیری غشاء یاخته‌ای افزایش یافته و در نتیجه پایداری غشاء کاهش می‌یابد و در نهایت منجر به نشت الکترولیت‌ها می‌گردد (Kaya *et al.*, 2007). پراکسیداسیون لیپیدی غشاء، فرایند متابولیکی طبیعی تحت شرایط عادی است و یکی از مهمترین پیامدهای عمل گونه‌های فعال اکسیژن روی ساختار و عمل غشاء است (Blokhina *et al.*, 2003). هر گونه تغییر در ترکیب لیپیدی غشاء می‌تواند موجب تغییر در ویژگی‌های غشاء مانند انتقال عناصر غذایی و فعالیت آنزیمی گردد (Bhattacharjee, 2005). لیپیدهای غشاء باعث برخی فعالیت‌های زیستی مانند وضعیت نیمه سیال غشاء یاخته‌ای می‌شوند. در واقع حساس‌ترین قسمت لیپیدی غشاء، آن قسمت‌هایی می‌باشد که دارای پیوندهای دوگانه کربن-کربن می‌باشند (Bhattacharjee, 2005). پراکسیداسیون لیپیدی غشاء، یک فرایند متابولیکی طبیعی تحت شرایط عادی بوده و یکی از مهمترین پیامدهای عمل گونه‌های فعال اکسیژن روی ساختار و عمل غشاء می‌باشد. اسیدهای چرب غیر اشباع از مهمترین ترکیبات لیپیدی غشاء هستند که در برابر پراکسیداسیون، بسیار آسیب پذیر هستند. پراکسیداسیون لیپیدی با حمله رادیکال‌های فعال اکسیژن آغاز می‌شود (Blokhina *et al.*, 2003).

گیاهان در طول دوره تنش، نیاز دارند که پتانسیل آب درونی خود را پائین نگه داشته تا از این طریق بتوانند فشار تورژسانس یاخته‌های خود را حفظ نموده و برای ادامه رشد، اقدام به جذب آب از خاک نمایند (Tester and Davenport, 2003). برای این کار، گیاه نیاز دارد که مواد تنظیم کننده اسمزی را یا از محلول خاک تامین نموده یا اینکه خودش اقدام به سنتز این مواد نماید. برای حفظ تعادل یونی در واکوئل‌ها، ترکیباتی با وزن مولکولی پائین در سیتوپلاسم تجمع نموده که به آنها محلول های سازگار می‌گویند (Zhifang and Loescher, 2003).

شوری گردید (Tari et al., 2002).

امروزه با توجه به روند روبه رشد شوری منابع آب و خاک مورد استفاده محصول‌های باغبانی و به‌ویژه حساسیت انگور به شوری، این پژوهش به منظور بررسی افزایش میزان مقاومت به شوری در رقم انگور تامپسون سیدلس با کاربرد اسید سالیسیلیک و تأثیر آن بر بهبود شاخص‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در شرایط تنش شوری انجام گرفت.

مواد و روش‌ها:

این پژوهش در گلخانه و آزمایشگاه‌های پژوهشی گروه‌های علوم باغبانی و گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه ارومیه به اجرا درآمد. به منظور بررسی تأثیر اسید سالیسیلیک بر ویژگی‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی رقم انگور تامپسون سیدلس در شرایط تنش شوری، آزمایشی گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح به‌طور کامل تصادفی با چهار تکرار و هر تکرار شامل یک گلدان (هر گلدان محتوی یک قلمه انگور) بود. بعد از گذشت ۳ ماه از کاشت قلمه‌ها، قلمه‌های ریشه‌دار شده یک‌دست و هم اندازه، به گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۲۵ و ارتفاع ۲۶ سانتی متر، محتوی محیط کشت خاکی انتقال یافتند. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک در جدول ۱ نشان داده شده است.

در گلخانه دمای روز و شب به ترتیب 26 ± 3 و 17 ± 3 درجه سانتی‌گراد، شرایط نور طبیعی و میزان رطوبت نسبی ۶۰-۵۰ درصد بود. از نمک کلرید سدیم به منظور اعمال تنش شوری در پنج غلظت صفر (شاهد)، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی-مولار استفاده گردید. آبیاری گیاهان با محلول‌های شور تا پایان دوره آزمایش ادامه یافت. از شروع تا پایان تیمار شوری هفت هفته طول کشید. برای جلوگیری از ایجاد شوک ناشی از تنش شوری به گیاهان، در اولین آبیاری بعد از شروع تنش شوری، از نمک ۲۵ میلی‌مولار استفاده شد، در آبیاری دوم از نمک‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار، در آبیاری سوم از نمک‌های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار و نهایتاً از آبیاری چهارم به بعد، از نمک‌های

۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار استفاده شد. هفته‌ای یک بار، شستشوی کامل محیط ریشه گیاهان با آب مقطر انجام گرفت تا تغییرات EC و pH ناشی از تجمع نمک‌ها در بستر کاشت در اثر انجام عمل آبیاری به کم‌ترین حد ممکن برسد. هدایت الکتریکی (EC) نمک‌های مورد استفاده (با استفاده از دستگاه EC سنج مدل AZ. Temp. Conductivity meter 86503 در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، به ترتیب ۱/۲، ۳/۴، ۷/۳ و ۱۰/۵ دسی‌زیمنس بر متر بود. برای تیمار شاهد، فقط آبیاری با آب مقطر انجام گرفت. همزمان با شروع تنش شوری، تیمار اسید سالیسیلیک (با مارک Applichem و جرم مولی ۱۳۸/۱۲ گرم بر مول)، در چهار غلظت صفر (شاهد)، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر به صورت محلول پاشی برگی در چهار مرحله (در زمان شروع اعمال تیمارهای شوری و ۲، ۴ و ۶ هفته پس از آن) صورت گرفت. پس از اتمام تیمارهای شوری (پایان هفته هفتم) ویژگی‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی رقم انگور تامپسون سیدلس مورد ارزیابی قرار گرفت. برخی ویژگی‌های رویشی گیاهان مورد آزمایش، شامل طول شاخساره و طول ریشه‌ها توسط خط‌کش و ضخامت برگ توسط کولیس دیجیتال اندازه‌گیری شد. همچنین تعداد برگ‌ها شمارش شد. اندازه‌گیری ویژگی‌های رویشی گیاهان در پایان دوره آزمایش صورت گرفت. اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ (Relative Water Content) به صورت درصد از روش (Turner, 1981) با استفاده از رابطه ۱ محاسبه گردید.

(رابطه ۱)

$$\text{محتوای نسبی آب برگ} = \frac{(\text{وزن خشک} - \text{وزن تر})}{(\text{وزن خشک} - \text{وزن آماس})} \times 100$$

روش کار بدین صورت بود که از هر تکرار، تعداد دو برگ توسعه یافته از قسمت انتهایی ساقه، نمونه‌گیری و به قطعه‌های 1×1 سانتی‌متر تقسیم شدند. قطعه‌ها ۳ بار با آب مقطر شسته شده و در لوله‌های آزمایش ۱۰ میلی‌لیتری محتوی آب مقطر نگهداری شده، سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق (۲۵ درجه سلسیوس)، در دستگاه شیکر قرار گرفته و EC_1 خوانده شد. سپس همان نمونه‌ها در اتوکلاو در دمای ۱۲۰ درجه

جدول ۱- نتایج آزمایش تجزیه خاک مورد استفاده برای کاشت نهال انگور در گلدان

بافت خاک	هدایت الکتریکی (dsm ⁻¹)	اسیدیته خاک	کربن آلی (%)	درصد رس	درصد سیلت	درصد شن
لومی رسی	۰/۵۴	۷/۴	۰/۹۴	۳۲	۴۱	۲۷

(1976) استفاده شد.

برای تهیه عصاره گیاهی جهت تعیین میزان فعالیت آنزیم های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز از روش Kang و Saltiveit (۲۰۰۱) با اندکی تغییرات استفاده شد. فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش Aebi (۱۹۸۴) اندازه گیری گردید. فعالیت آنزیم کاتالاز به صورت کاهش در جذب طی یک دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر محاسبه شد. برای سنجش فعالیت کاتالاز از رابطه ۴ و ضریب خاموشی (۴۳/۶ mM⁻¹ Cm⁻¹) استفاده شد.

(رابطه ۴)

$$\text{Units (mM/min)} = \frac{\Delta\text{OD/min (slope)} \times \text{Vol. of assay (0.0003)}}{\text{Extinction Coefficient (43.6)}}$$

Extinction coefficient = ضریب خاموشی OD/min =

اختلاف جذب در یک دقیقه

Vol. of Assay = حجم محلول در کووت

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تمام تیمارها و تکرارها با استفاده از روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) با اندکی تغییرات اندازه گیری شد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به صورت کاهش در جذب طی یک دقیقه در طول موج ۲۹۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر محاسبه شد. برای سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز از رابطه ۵ و ضریب خاموشی (۲/۸mM⁻¹ Cm⁻¹) استفاده شد.

(رابطه ۵)

$$\text{Units (mM/min)} = \frac{\Delta\text{OD/min (slope)} \times \text{Vol. of assay (0.0001)}}{\text{Extinction Coefficient (2.8)}}$$

Extinction coefficient = ضریب خاموشی

OD/min = اختلاف جذب در یک دقیقه

Vol. of Assay = حجم محلول در کووت

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با استفاده از روش Updhyaya و همکاران (۱۹۸۵) انجام گرفت. فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز به صورت کاهش در جذب طی یک دقیقه

سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفته و بعد از خنک شدن محلول و رسیدن دمای آن‌ها به ۲۵ درجه سلسیوس، EC₂ نیز قرائت شد. نشت یونی غشاء برگ به صورت درصد با روش (Luttes et al., 1995) با استفاده از رابطه ۲ محاسبه شد.

$$\text{(رابطه ۲)} \quad \text{نشت یونی غشاء برگ (\%)} = [EC_1/EC_2] \times 100$$

اندازه گیری محتوای مالون دی آلدئید که شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در طی تنش‌ها و همچنین معیاری برای سنجش تأثیر تنش می‌باشد، با استفاده از روش Popham و Novach (۱۹۹۱) اندازه گیری شد. در این روش ۰/۲ گرم بافت تر گیاهی (برگ) در ۵ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) یک درصد ساییده شده و داخل لوله آزمایش ریخته شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در ۸۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند. یک میلی لیتر از فاز بالایی نمونه‌های سانتریفیوژ شده، در لوله‌های آزمایش که حاوی ۴ میلی لیتر محلول ۲۰ درصد تری کلرواستیک اسید در ۰/۵ درصد تیوباریتوریک اسید (TBA) بودند، ریخته شد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۹۵ درجه سلسیوس قرار گرفته و بی درنگ در آب یخ سرد شدند. سپس به مدت ۵ دقیقه در ۸۰۰۰ دور سانتریفیوژ شده و در نهایت جذب آن در دو طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. میزان مالون دی آلدئید بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر با استفاده از رابطه ۳ محاسبه گردید.

$$\text{(رابطه ۳)} \quad \text{MDA } (\mu\text{mol/g FW}) = [A532 - A600/155] \times 1000$$

برای اندازه گیری پرولین و قندهای محلول، عصاره گیری از برگ از روش (Irigoyen et al., 1992) صورت گرفت و نهایتاً میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (Paquin and Lechasseur, 1979).

برای اندازه گیری قندهای محلول، از روش (Irigoyen et al., 1992) استفاده شد و نهایتاً میزان جذب نمونه‌ها، در طول موج ۶۲۵ نانومتر، با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. برای تعیین میزان پروتئین محلول کل، از روش برادفورد (Bradford,)

ویژه در سطوح بالای شوری، تأثیر معنی‌داری بر کاهش ضخامت برگ نداشت (جدول ۲). میزان تغییرات ضخامت برگ با کاربرد اسید سالیسیلیک (در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، در تیمارهای ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار شوری به ترتیب ۱/۲۱، ۲/۳۱ و ۲/۷۵ برابر در مقایسه با شاهد (بدون اعمال تنش شوری و بدون کاربرد اسید سالیسیلیک) شد. طول ریشه، متناسب با افزایش غلظت نمک به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. تأثیر مثبت اسید سالیسیلیک در سطوح پائین شوری (۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار شوری) بیش‌تر نمایان بود، به‌طوری‌که با کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر، درصد کاهش طول ریشه در مقایسه با شاهد، در تیمار شوری ۲۵ میلی‌مولار، به ۱۹/۸ درصد و در تیمار شوری ۵۰ میلی‌مولار، به ۳۰ درصد رسید (جدول ۲). نتایج این پژوهش نشان داد که سطوح مختلف شوری به‌طور معنی‌داری باعث کاهش طول شاخساره شد. غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک تأثیر مثبتی در کاهش اثرات منفی شوری بر طول شاخساره داشتند. میزان کاهش طول شاخساره با کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر، در شوری ۷۵ میلی‌مولار، ۴۷ درصد و در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار، ۶۵/۶۴ درصد بود (جدول ۲). در این پژوهش به احتمال فراوان، عوامل مهمی مانند پتانسیل منفی بسیار زیاد آب در محیط اطراف ریشه، سمیت یونی ناشی از تجمع غلظت‌های بالای یون‌های سدیم و کلر در برگ و عدم تعادل یونی و تغذیه‌ای در کاهش شاخص‌های رشد، نقش داشتند. با افزایش شوری خاک، سلول‌های برگ به‌طور موقت آب خود را از دست می‌دهند در نتیجه با گذشت زمان سرعت تقسیم و طویل شدن یاخته‌ها کاهش یافته و منجر به کوچک شدن اندازه نهایی برگ‌ها خواهد شد (Munns, 2002). بر اساس یافته‌های Munns و همکاران (۲۰۰۳) رشد گیاه با پاسخ‌های یاخته‌ای به اثرات اسمزی نمک بیرونی، یعنی با پاسخ‌هایی به کاهش آب موجود در خاک بازداشته شده، سپس در مراحل بعدی، رشد گیاه از طریق اثرات سمی تجمع بیش از حد نمک در درون گیاه جلوگیری می‌شود، این مکانیسم‌ها می‌تواند از دلایل کاهش تعداد برگ و کاهش طول ریشه و

در طول موج ۴۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر محاسبه شد. برای سنجش فعالیت گایاکول پراکسیداز از رابطه ۶ و ضریب خاموشی ($26.6 \text{ mM}^{-1} \text{ Cm}^{-1}$) استفاده شد.

(رابطه ۶)

$$\text{Units (mM/min)} = \frac{\Delta \text{OD/min (slope)} \times \text{Vol. of assay (0.0001)}}{\text{Extinction Coefficient (26.6)}}$$

Extinction coefficient = ضریب خاموشی

OD/min = اختلاف جذب در یک دقیقه

Vol. of Assay = حجم محلول در سل

برای انجام تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات مورد بررسی، از نرم افزار SAS سری 9.1 استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح یک درصد انجام گرفت. همچنین برای رسم نمودار از نرم افزار Excel سری ۲۰۱۰ استفاده گردید.

نتایج و بحث:

در شرایط بدون اعمال تنش شوری، غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک تعداد برگ‌ها را افزایش دادند هرچند که در مقایسه با تیمار شاهد (بدون اعمال تنش شوری و بدون کاربرد اسید سالیسیلیک) اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. با افزایش سطوح شوری، تعداد برگ‌ها، کاهش یافت و اختلاف بین تیمارها از این نظر معنی‌دار بود. بیش‌ترین تعداد برگ، مربوط به تیمار شوری صفر و اسید سالیسیلیک (با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و کم‌ترین تعداد برگ در تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار شوری (بدون کاربرد اسید سالیسیلیک) مشاهده گردید (جدول ۲). اسید سالیسیلیک به‌ویژه در غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر، تأثیر مثبتی در کاهش اثرات منفی شوری بر تعداد برگ در این رقم داشت، اما این تأثیر مثبت در سطوح پائین شوری (۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار شوری) بیش‌تر نمایان بود. در تیمارهای شوری ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار همراه با ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک، در مقایسه با گیاهان شاهد، ۲۴/۳۶ و ۵۳/۱ درصد کاهش در تعداد برگ مشاهده گردید.

با افزایش غلظت شوری، ضخامت برگ افزایش یافت و اختلاف بین تیمارها معنی‌دار بود. کاربرد اسید سالیسیلیک به

جدول ۲- نتایج مقایسه میانگین برخی از شاخص‌های رشدی مورد ارزیابی در انگور رقم تامپسون سیدلس در سطوح مختلف شوری (میلی مولار) با غلظت‌های متفاوت اسید سالیسیلیک (میلی گرم در لیتر).

طول شاخساره (سانتی‌متر)	طول ریشه (سانتی متر)	ضخامت برگ (میلی‌متر)	تعداد برگ	اسید سالیسیلیک (میلی گرم در لیتر)	کلرید سدیم (میلی مولار)
۸۱/۵ ^a	۵۱/۷۵ ^a	۰/۰۸ ^{gh}	۶۸/۷۵ ^{ab}	۰	۰
۸۲/۲۵ ^a	۵۲ ^a	۰/۰۷ ^h	۷۰ ^{ab}	۱۰۰	
۷۹/۲۵ ^a	۴۹/۵ ^{ab}	۰/۰۷ ^h	۷۲/۵ ^a	۲۰۰	
۷۵ ^{ab}	۴۸/۷۵ ^{a-c}	۰/۰۷۷ ^h	۶۹/۲۵ ^{ab}	۳۰۰	
۶۶/۵ ^{bc}	۳۹ ^d	۰/۰۶۲۵ ^h	۶۲/۷۵ ^b	۰	۲۵
۶۶ ^{b-d}	۳۶ ^d	۰/۰۷ ^h	۶۷/۵ ^{ab}	۱۰۰	
۷۳/۲۵ ^{ab}	۴۳/۵ ^{b-d}	۰/۰۷۳ ^h	۶۹/۲۵ ^{ab}	۲۰۰	
۷۹/۲۵ ^a	۴۱/۵ ^{cd}	۰/۰۵۵ ^h	۷۰ ^{ab}	۳۰۰	
۵۴/۵ ^e	۲۶/۵ ^{ef}	۰/۱۱۵ ^{fg}	۴۰ ^{ef}	۰	۵۰
۴۱/۲۵ ^{f-h}	۲۶/۲۵ ^{ef}	۰/۱۳۲ ^{ef}	۴۶/۲۵ ^{de}	۱۰۰	
۵۶ ^{c-e}	۳۷/۵ ^d	۰/۰۹ ^{gh}	۵۴/۲۵ ^c	۲۰۰	
۵۵/۲۵ ^{de}	۳۶/۲۵ ^d	۰/۰۹۷ ^{f-h}	۵۵ ^c	۳۰۰	
۳۵/۷۵ ^{g-i}	۲۴ ^{ef}	۰/۱۶۳ ^{de}	۳۴/۲۵ ^{fg}	۰	۷۵
۳۱/۷۵ ^{hi}	۲۴/۲۵ ^{ef}	۰/۱۸۳ ^{b-d}	۳۵/۷۵ ^{fg}	۱۰۰	
۴۷/۵ ^{ef}	۲۸ ^e	۰/۲۰۵ ^{a-c}	۴۵/۵ ^{de}	۲۰۰	
۴۳/۲۵ ^{fg}	۲۴/۵ ^{ef}	۰/۱۸۵ ^{b-d}	۵۲ ^{cd}	۳۰۰	
۲۶/۷۵ ⁱ	۲۱/۲۵ ^{ef}	۰/۲۰۳ ^{a-d}	۳۲ ^g	۰	۱۰۰
۲۵ ⁱ	۱۸/۲۵ ^f	۰/۱۷۷ ^{cd}	۳۴/۷۵ ^{fg}	۱۰۰	
۲۹/۵ ⁱ	۲۰/۷۵ ^{ef}	۰/۲۳۸ ^a	۳۲/۲۵ ^{fg}	۲۰۰	
۲۸ ⁱ	۱۹/۵ ^f	۰/۲۲ ^{ab}	۳۲/۲۵ ^{fg}	۳۰۰	

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری در سطح احتمال ۱ درصد طبق آزمون دانکن معنی دار نمی‌باشند.

است که تأثیر مثبت اسید سالیسیلیک در بهبود صفات رویشی در شرایط تنش شوری می‌تواند ناشی از بهبود فتوسنتز و نیز افزایش جذب مواد معدنی در گیاهان باشد (Fariduddin *et al.*, 2003; Szepesi *et al.*, 2005).

محتوای نسبی آب برگ، تحت تأثیر شوری، کاهش معنی‌داری داشت. در شرایط بدون اعمال تنش شوری، کاربرد اسید سالیسیلیک تأثیر معنی‌داری بر محتوای نسبی آب برگ نداشت اما با افزایش تنش شوری به‌ویژه در سطوح شوری ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار، غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید

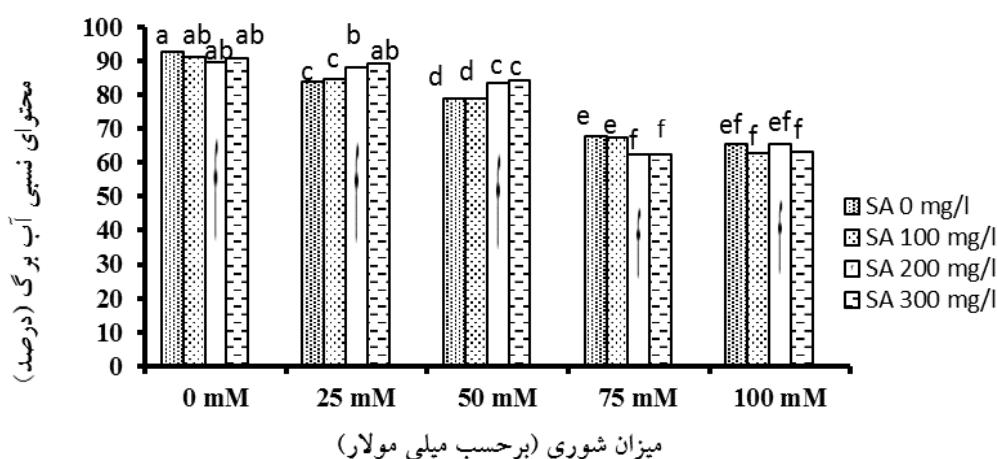
شاخساره در این پژوهش باشد. یافته‌های Sajid و همکاران (۲۰۱۶) در نخودفرنگی، Mimouni و همکاران (۲۰۱۶) در گوجه‌فرنگی، Khoshbakht و Asghari (۲۰۱۵) در مرکبات، Karlidag و همکاران (۲۰۰۹) در توت‌فرنگی، Yildirim و همکاران (۲۰۰۸) در خیار، Stevens و همکاران (۲۰۰۶) در گوجه‌فرنگی و Khodary (۲۰۰۴) در ذرت با نتایج این پژوهش در مورد نقش مثبت اسید سالیسیلیک در کاهش اثرات منفی شوری در صفات رویشی، هم‌سو می‌باشد. پژوهش‌های انجام شده نشان داده

سیگنالینگ، در کشت تعلیق یاخته‌ای تنباکو نشان داده شده است (Chen et al., 2001). نقش اسید سالیسیلیک در میزان تعرق و باز و بسته شدن روزنه‌ها، بسته به غلظت این ترکیب و نوع گونه گیاهی، تفاوت می‌نماید. در پژوهش دیگری، Fariduddin و همکاران (۲۰۰۳) در نوعی کلم مشاهده نمودند که اسید سالیسیلیک، هدایت روزنه‌ای را افزایش و در نتیجه میزان فتوسنتز خالص نیز افزایش یافت. بدین ترتیب، کاربرد اسید سالیسیلیک، ممکن است تأثیر متفاوتی در محتوای نسبی آب برگ در گیاهان مختلف داشته باشد. در این پژوهش، به-ویژه در سطوح شوری پایین‌تر (۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار)، تأثیر اسید سالیسیلیک، در غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر در محتوای نسبی آب برگ مثبت بود.

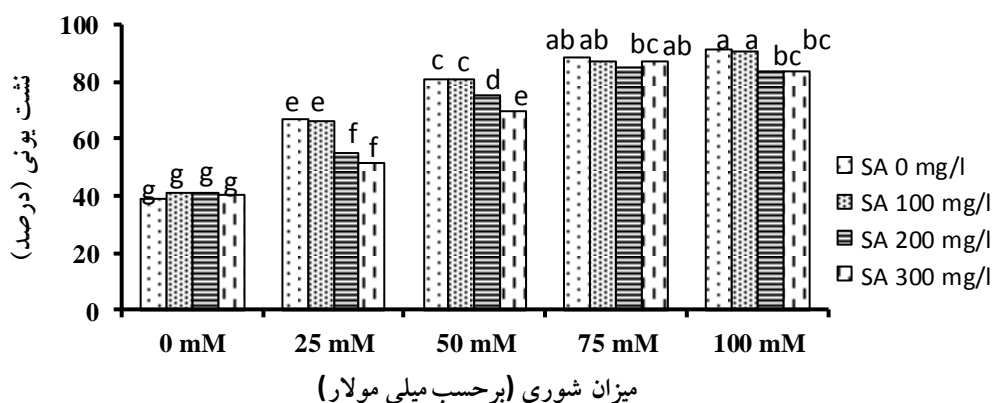
با افزایش میزان شوری در محلول غذایی، میزان نشت یونی یاخته‌های برگ، به میزان زیادی افزایش یافت. تأثیر اسید سالیسیلیک به‌ویژه در تیمارهای شوری ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار، محسوس‌تر بود. با کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر، میزان نشت یونی غشاء یاخته‌های برگ در مقایسه با شاهد، در تیمار شوری ۵۰ میلی‌مولار، ۱/۸۱ برابر، در تیمار شوری ۷۵ میلی‌مولار، ۲/۲۵ برابر و در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار به ۲/۱۴ برابر رسید (شکل ۲). نشت یونی، انعکاس صدمات اکسیدی به غشاء یاخته‌ای است. در غلظت‌های بالای شوری، نفوذپذیری غشاء یاخته‌ای افزایش یافته و در نتیجه پایداری غشاء کاهش می‌یابد و در نهایت منجر به نشت الکترولیت‌ها می‌گردد (Kaya et al., 2007). شوری با جایگزینی سدیم به‌جای کلسیم، نفوذ پذیری غشاء را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Sairam et al., 2005).

در این پژوهش کاربرد اسید سالیسیلیک تا حدودی توانست از اثرات منفی شوری بر نشت یونی غشاء برگ کم نماید، اما با افزایش سطح شوری، از تأثیر این ترکیب، کاسته شد. اسید سالیسیلیک به‌عنوان یک مولکول سیگنال مهم باعث افزایش تحریک مسیرهای سیگنالینگ گونه‌های فعال اکسیژن در طول تنش شوری شده در نتیجه نقش مهمی در مقاومت به تنش شوری گیاهان ایفاء می‌نماید (Borsani et al., 2001). در

سالیسیلیک، باعث افزایش محتوای نسبی آب برگ نسبت به شرایط بدون کاربرد اسید سالیسیلیک شدند (شکل ۱). کاربرد اسید سالیسیلیک، با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث شد که در تیمار شوری ۵۰ میلی‌مولار، ۸/۹۲ درصد، شوری ۷۵ میلی‌مولار، ۳۲/۴۳ درصد و در تیمار شوری ۱۰۰ میلی‌مولار، ۳۱/۹ درصد کاهش در محتوای نسبی آب برگ مشاهده گردد. غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک بهترین تأثیر را بر حفظ محتوای نسبی آب برگ گذاشتند. به‌نظر می‌رسد که قسمتی از صدمه وارد آمده به گیاهان تحت تنش شوری، ناشی از نوعی کم‌آبی یا خشکی فیزیولوژیکی باشد (تنش اسمزی) که به احتمال فراوان در پژوهش حاضر، باعث کاهش محتوای نسبی آب برگ شده است. در پژوهشی، Megdiche و همکاران (۲۰۰۸) بیان نمودند که کاهش هدایت روزنه‌ای و به‌دنبال آن، کاهش تعرق در شرایط تنش شوری، به‌عنوان مکانیسم سازگاری برای غلبه بر تنش شوری تلقی می‌شود که به احتمال زیاد این کاهش تعرق، باعث حفظ محتوای نسبی آب برگ می‌شود. در پژوهش دیگری نشان داده شد که محتوای نسبی آب برگ بیشتر، با سطح برگ، وزن خشک برگ، میزان کلروفیل و هم‌چنین، شاخص‌های رشدی دیگر، همبستگی مثبت دارد (Flexas et al., 2009). در شرایط تنش، بالا بودن محتوای نسبی آب برگ، به‌معنای توانایی برگ، در حفظ مقادیر بیشتر آب می‌باشد. در پژوهشی Janda و همکاران (۲۰۰۷) بیان نمودند که کاربرد اسید سالیسیلیک، در گیاهان، باعث افزایش اسید آبسزیک (ABA) شده و از این طریق، واکنش‌های ضدتنشی را در گیاهان توسعه می‌دهند. به نظر می‌رسد که اسید سالیسیلیک، با افزایش تولید اسید آبسزیک در ریشه‌ها، از طریق مسیر سیگنالینگ، باعث بالا بردن غلظت یون‌های کلسیم در سیتوپلاسم یاخته‌های روزنه شده که در شرایط تنش شوری باعث بسته شدن روزنه‌ها می‌گردد (اسید آبسزیک باعث غیر فعال شدن پمپ پتاسیم در یاخته‌های روزنه شده که این امر باعث بسته شدن روزنه می‌گردد) و از این طریق باعث کاهش تعرق و حفظ محتوای نسبی آب برگ‌ها می‌شود. اثرات متقابل اسید سالیسیلیک و کلسیم در



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری (میلی مولار) با اسید سالیسیلیک (میلی گرم در لیتر) بر میزان محتوای نسبی آب برگ (درصد) در رقم انگور تامپسون سیدلس. ستون‌های دارای حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری در سطح احتمال ۱ درصد طبق آزمون دانکن معنی دار نمی‌باشند.



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری (میلی مولار) با اسید سالیسیلیک (میلی گرم در لیتر) بر میزان نشت یونی غشاء یاخته‌ای (درصد) در رقم انگور تامپسون سیدلس. ستون‌های دارای حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری در سطح احتمال ۱ درصد طبق آزمون دانکن معنی دار نمی‌باشند.

در گیاه *Torreyia grandis* Yildirim و همکاران (۲۰۰۸) در خیار، Gunes و همکاران (۲۰۰۷) در ذرت، همچنین Stevens و همکاران (۲۰۰۶) در گوجه فرنگی مطابقت دارد. به نظر می‌رسد که در این پژوهش، اسید سالیسیلیک با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه، در مقایسه با گیاهان شاهد، به احتمال زیاد، به‌نحو موثری رادیکال‌های آزاد اکسیژن را خنثی نموده و باعث پایداری و ثبات بیشتر غشاء پلاسمایی شده است. اما در بالاترین سطح شوری، کاربرد این ترکیب، تأثیر معنی‌داری بر کاهش نشت یونی غشاء نداشت.

نتایج این پژوهش، نشان داد که شوری به‌طور معنی‌داری از لحاظ آماری، باعث افزایش میزان مالون‌دی‌آلدئید گردید.

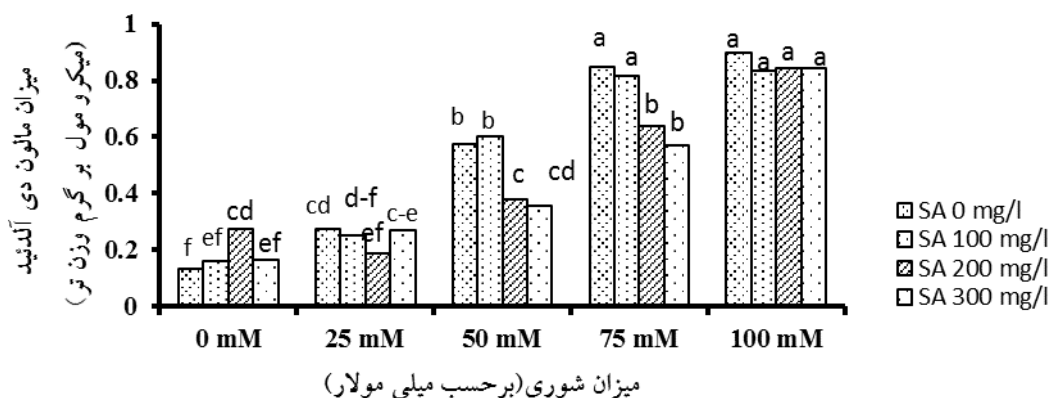
پژوهش دیگری نشان داده شد که کاربرد اسید سالیسیلیک باعث کاهش نشت یونی در محور زیر لپه خیار شده است (Kang and Saltveit, 2001). همچنین، Foyer و همکاران (۱۹۹۱) در پژوهش‌های خود نشان دادند که گیاهان دارای سیستم آنتی‌اکسیدانی قوی و پیچیده، برای محافظت از غشاء یاخته‌ای در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشند. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد اسید سالیسیلیک در واکنش با گونه‌های فعال اکسیژن، باعث بیان تعدادی از ژن‌های دفاعی برای مقابله با تنش می‌شود (Foyer and Noctor, 2003). این نتایج در مورد نقش حفاظتی اسید سالیسیلیک در حفظ یکپارچگی غشاء یاخته‌ای با یافته‌های Li و همکاران (۲۰۱۴)

در پژوهش های دیگری Li و همکاران (۲۰۱۴) در گیاه *Torreya grandis* و Tari و همکاران (۲۰۰۲) در گوجه فرنگی نشان دادند که با تیمار اسید سالیسیلیک در گیاهان تحت تنش شوری، میزان پراکسیداسیون لیپیدی غشاء به طور چشم گیری کاهش یافت که با نتایج این پژوهش مطابقت داشت.

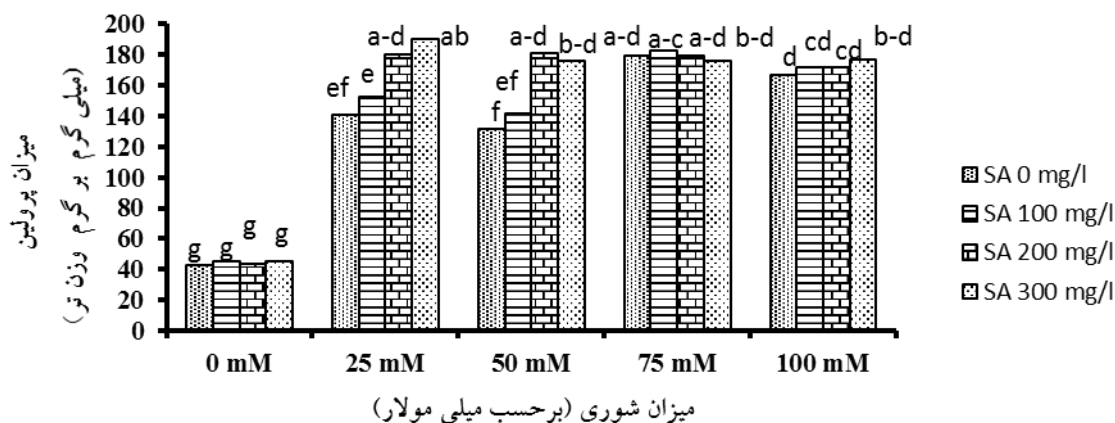
در پژوهش حاضر، با کاربرد اسید سالیسیلیک، به ویژه در غلظت های ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم در لیتر، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی مانند کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز افزایش یافته و به احتمال فراوان، فعالیت رادیکال های آزاد اکسیژن مانند سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل را کاهش داده و از این طریق، میزان صدمات اکسیدی به غشاء را کم و در نهایت، میزان مالون دی-آلدئید کاهش یافته است.

میزان پرولین برگ، با افزایش غلظت نمک، در آب آبیاری، افزایش یافت. در سطوح بالای شوری، کاربرد اسید سالیسیلیک، به ویژه در غلظت های ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم در لیتر، تأثیر معنی داری در افزایش پرولین برگ نداشت، طوری که با کاربرد اسید سالیسیلیک، میزان پرولین، در سطوح شوری ۷۵ و ۱۰۰ میلی مولار، به ترتیب ۱/۱ و ۴/۱ برابر در مقایسه با شاهد بود (شکل ۴). در پژوهشی Bohnert و همکاران (۱۹۹۵) بیان نمودند که نقش آنتی اکسیدانی پرولین، در توانایی آن برای غیرفعال نمودن رادیکال های هیدروکسیل، که در انتقال الکترون در کلروپلاست و میتوکندری اختلال ایجاد نموده بروز می نماید. در سیستم های انتقال الکترون در کلروپلاست و در میتوکندری، مشخص شده است که رادیکال های آزاد اکسیژن مانند سوپراکسید، هیدروکسیل، پراکسید هیدروژن و اکسیژن نوزاد تولید می شوند (Mittler, 2002). در پژوهش حاضر، افزایش پرولین در سطوح شوری مختلف در این رقم انگور، به نظر می رسد که باعث بالا رفتن ظرفیت آنتی اکسیدانی گردیده و در نتیجه، منجر به پالایش رادیکال های آزاد اکسیژن، به ویژه هیدروکسیل شده و از این طریق به میزان زیادی از اثرات منفی شوری کاسته می شود. یک ارتباط قوی و مثبتی بین مقاومت به تنش و تجمع پرولین در گیاهان دیده شده است (Ashraf and

کاربرد اسید سالیسیلیک، به ویژه در سطوح شوری کم تر از ۵۰ میلی مولار، تا حدودی توانست از اثرات منفی شوری کاسته و میزان مالون دی آلدئید را کم نماید، به طوری که با کاربرد اسید سالیسیلیک، با غلظت ۳۰۰ میلی گرم در لیتر، میزان این شاخص، در این رقم در مقایسه با شاهد در شوری ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی مولار به ترتیب ۲/۶۴، ۴/۲۴ و ۶/۳ برابر شد (شکل ۳). تنش شوری با افزایش صدمات یونی و اسمزی در گیاه منجر به محدودیت در فتوسنتز شده که به نوبه خود باعث افزایش تولید رادیکال های فعال اکسیژن (ROS) می گردد (Hernandez and Almansa, 2002). افزایش تولید و تجمع گونه های فعال اکسیژن (به دلیل بهم خوردن تعادل رادیکال های فعال اکسیژن و آنزیم های آنتی اکسیدان) باعث صدمات اکسیدی ثانویه مانند پراکسیداسیون لیپیدی غشاء شده و در نهایت، منجر به از دست رفتن خاصیت نیمه تراوایی غشاء می شود (Hernandez and Almansa, 2002). افزایش میزان مالون دی آلدئید می تواند دلیلی بر تنش اکسیداتیو باشد. در زمان تنش شوری، محتوای مالون دی آلدئید که شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدی در طی تنش می باشد در ارقام حساس افزایش می یابد، بنابراین حفظ ترکیب لیپیدی غشاء یاخته ای در محیط های شور، عامل مهمی برای مقاومت به شوری محسوب می شود. در مطالعه حاضر، میزان مالون دی آلدئید در برگ های این رقم، انعکاس درجه پراکسیداسیون لیپیدی غشاء می باشد که با افزایش غلظت نمک در محلول غذایی میزان آن به شدت افزایش یافت. به نظر می رسد که در این پژوهش با افزایش شوری، میزان رادیکال های آزاد اکسیژن افزایش یافته و باعث پراکسیداسیون لیپیدی غشاء شده است. اسید سالیسیلیک، نقش مهمی در پیشگیری از صدمات اکسیدی ایفاء نموده و باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدی غشاء می شود (Hovarh et al., 2007). اسید سالیسیلیک، به عنوان یک پالاینده مستقیم رادیکال های هیدروکسیل محسوب می شود (Dinis et al., 1994). همچنین، Davis و Rao (۱۹۹۹) در پژوهش های خود نشان دادند که اسید سالیسیلیک با افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی گیاهان، باعث محافظت غشاها از تنش های اکسیدی می گردد.



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری (میلی مولار) با اسید سالیسیلیک (میلی گرم در لیتر) بر میزان مالون دی آلدئید (میکرو مول بر گرم وزن تر) در رقم انگورتامپسون سیدلس. ستون‌های دارای حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری در سطح احتمال ۱ درصد طبق آزمون دانکن معنی دار نمی‌باشند.



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری (میلی مولار) با اسید سالیسیلیک (میلی گرم در لیتر) بر میزان پرولین برگ (میلی گرم بر گرم وزن تر) در رقم انگورتامپسون سیدلس. ستون‌های دارای حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری در سطح احتمال ۱ درصد طبق آزمون دانکن معنی دار نمی‌باشند.

۵- کربوکسیلات سینتاز بالا رفته، در نهایت میزان پرولین افزایش می‌یابد که می‌تواند از دلایل افزایش پرولین، در شرایط شوری، در پژوهش حاضر دانست. لذا به نظر می‌رسد که تجمع اسید آمینه پرولین در شرایط تنش شوری، می‌تواند به عنوان مکانیسم موثر، در جهت کاهش فعالیت رادیکال‌های آزاد اکسیژن، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه، حفظ ثبات و سلامتی غشاء، حفظ ساختار ماکرومولکول‌هایی مانند پروتئین‌ها، DNA، RNA و لیپیدها و در نهایت تنظیم پتانسیل اکسیداسیون-احیا (Redox) یاخته‌ای دانست. همچنین Janda و همکاران (۲۰۰۷) بیان نمودند که کاربرد اسید سالیسیلیک در

اسمولیت‌ها می‌تواند اثر سمی ناشی از گونه‌های اکسیژن فعال بر ناقل‌های پتاسیم و در نتیجه از آسیب‌های ناشی از تنش شوری بکاهد (Cuin and Shabala, 2008). افزایش توان آنتی‌اکسیدانی در گیاهان و نیز حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن با کمک پرولین، توسط پژوهش‌گران دیگری مانند Reddy و همکاران (۲۰۰۴)، همچنین Verbruggen و Hermans (۲۰۰۸) گزارش گردیده است. همچنین Misra و Saxena (۲۰۰۹) بیان نمودند که در شرایط تنش شوری، فعالیت آنزیم پرولین آکسیداز کاهش یافته در نتیجه تجزیه پرولین کم شده، از طرفی فعالیت آنزیم پرولین-

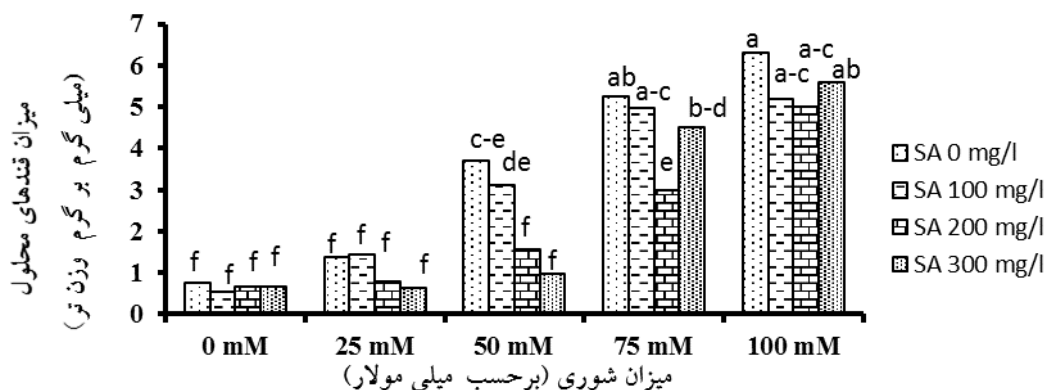
محسوب می‌گردند. بنابراین، انتظار می‌رود که در برگ‌های این رقم، افزایش بیشتر قندهای محلول، باعث افزایش مقاومت بیشتر آن‌ها به شوری گردد. هم‌چنین Munns و همکاران (۲۰۰۳) معتقدند که غلظت بیشتر کربوهیدرات‌ها در پاسخ به تنش شوری به احتمال زیاد، ناشی از کاهش رشد است. در پژوهشی، Sanchez و همکاران (۲۰۰۵)، بیان نمودند که افزایش قندهای محلول در پاسخ به تنش شوری، می‌تواند به جابجایی کمتر آن از برگ، مصرف کمتر آن‌ها در برگ و ریشه در اثر کاهش رشد و تغییرات دیگری مانند هیدرولیز نشاسته نسبت داد. در شرایط تنش شوری، مهمترین نقش کربوهیدرات‌ها، شامل تنظیم و حفظ تعادل اسمزی، ذخیره کربن و حتی نمودن رادیکال‌های آزاد می‌باشد (Parida and Das, 2005). بنابراین، افزایش قندهای محلول در مطالعه حاضر، پاسخ مثبتی در جهت کاهش تنش‌های اکسیدی و در نتیجه، کاهش گونه‌های فعال اکسیژن و نیز کاهش پتانسیل آب یاخته‌ای به منظور حفظ ثبات و یکپارچگی غشاء یاخته‌ای، حفظ فشار تورگر یاخته‌ای و حفظ ساختار پروتئین‌ها می‌باشد. مکانیسم چگونگی تأثیر اسید سالیسیلیک در میزان قندهای محلول در یاخته‌های گیاهی در حال حاضر مشخص نیست. احتمال دارد که تیمارهای اسید سالیسیلیک، مانع فعالیت آنزیم‌های هیدرولیزکننده پلی‌ساکاریدها شده و یا این که، در اتصال قندهای محلول به یکدیگر و تشکیل پلی‌ساکاریدها دخالت داشته باشد.

میزان پروتئین کل، در سطوح شوری مختلف، از روند ثابتی برخوردار نبود. میزان پروتئین کل، تا سطح شوری ۵۰ میلی‌مولار، یک روند افزایشی داشت، اما از سطح شوری ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌مولار، شروع به کاهش نمود (شکل ۶). در سطوح شوری ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار، کاربرد غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک، تأثیر معنی‌داری از لحاظ آماری بر افزایش میزان پروتئین کل نداشت. در بررسی نتایج این پژوهش مشاهده نمودیم که تغییرات میزان پروتئین کل، از یک روند ثابتی برخوردار نیست به طوری که در این رقم، فقط تا سطح شوری ۲۵ میلی‌مولار، تغییرات پروتئین کل، یک روند افزایشی و از

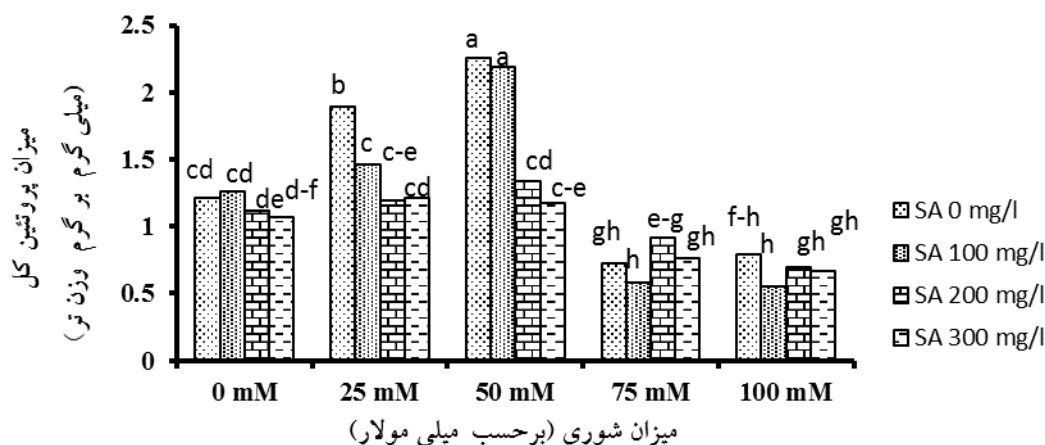
گیاهان، باعث افزایش پرولین شده و از این طریق با تنش، مقابله می‌نمایند. در پژوهش‌های دیگری، Esitken و Tohma (۲۰۱۱) در توت فرنگی، نشان دادند که کاربرد اسید سالیسیلیک، باعث افزایش تجمع پرولین شده است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

میزان قندهای محلول، با افزایش شوری، افزایش یافت. کاربرد اسید سالیسیلیک، با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر، توانست میزان افزایش این شاخص را به ترتیب به ۶، ۱/۳۱ و ۷/۴۸ برابر شاهد کاهش دهد (شکل ۵). کاربرد اسید سالیسیلیک، تأثیر مثبتی بر کاهش میزان قندهای محلول داشت، اما این تأثیر، در سطوح بالای شوری ضعیف‌تر بود، به طوری که در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار، تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری، بر کاهش قندهای محلول، مشاهده نشد. تجمع قندهای محلول نقش مهمی در تنظیم اسمزی یاخته‌های گیاهی و تسهیل جذب آب، ایفاء می‌نماید (Pessarakli, 1999). بنابراین احتمال می‌دهیم که در شرایط تنش شوری، سنتز بیشتر قندهای محلول، می‌تواند به عنوان مکانیسمی در جهت کاهش پتانسیل آب یاخته‌ای و در نتیجه حفظ محتوای آب گیاه باشد. هم‌چنین Pessarakli (۱۹۹۹)، در پژوهش‌های خود بیان نمود که در یاخته‌های گیاهی تحت تنش شوری، مولکول‌های پلیمری قندها به مولکول‌های کوچکتر، شکسته می‌شوند، به عنوان مثال، نشاسته به ساکارز و سپس به مولکول‌های کوچکتر مانند گلوکز و فروکتوز شکسته می‌شوند، بنابراین، تجمع قندهای محلول در پاسخ به تنش شوری، نقش مهمی، در تنظیم اسمزی یاخته‌ای گیاهی به عهده دارد. در شرایط کمبود آب (ناشی از تنش شوری یا خشکی)، تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در گیاهان، افزایش می‌یابد. بنابراین در این گیاهان، تجمع قندهای محلول، افزایش یافته تا پروتئین‌ها را در مقابل آسیب‌های اکسیدی ناشی از رادیکال‌های آزاد محافظت نماید (Bohnert et al., 1995).

در بررسی‌های انجام شده توسط Binzel و همکاران (۲۰۰۲) نشان داده شد که قندها در مقایسه با پروتئین‌ها شاخص حساس‌تری در تعیین شدت تنش و پتانسیل تحمل،



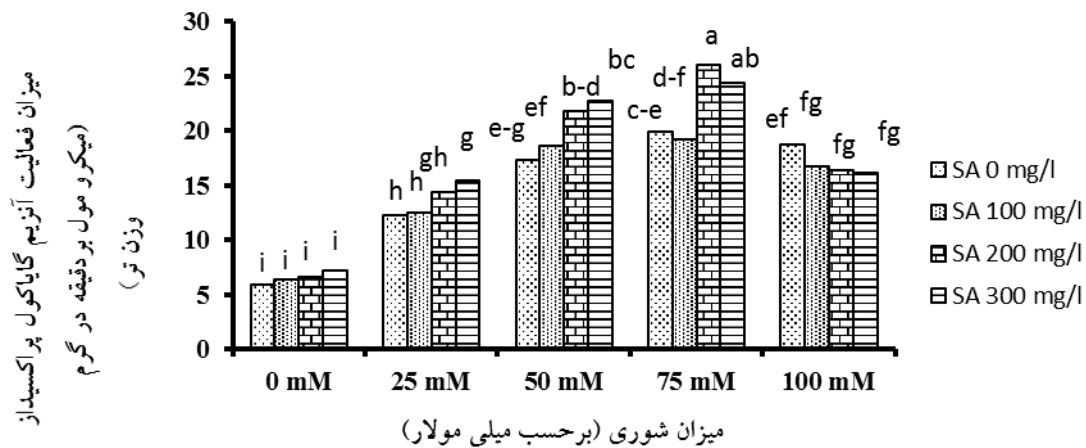
شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری (میلی مولار) با اسید سالیسیلیک (میلی گرم در لیتر) بر میزان قندهای محلول برگ (میلی گرم بر گرم وزن تر) در رقم انگورتامپسون سیدلس. ستون‌های دارای حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری در سطح احتمال ۱ درصد طبق آزمون دانکن معنی دار نمی‌باشند.



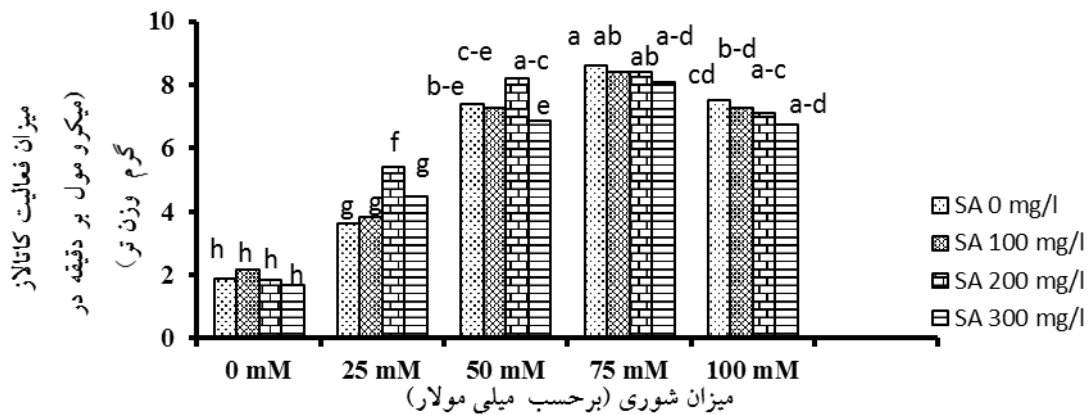
شکل ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری (میلی مولار) با اسید سالیسیلیک (میلی گرم در لیتر) بر میزان پروتئین کل برگ (میلی گرم بر گرم وزن تر) در رقم انگورتامپسون سیدلس. ستون‌های دارای حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری در سطح احتمال ۱ درصد طبق آزمون دانکن معنی دار نمی‌باشند.

حاضر، کاربرد بیرونی اسید سالیسیلیک، احتمال دارد که از طریق مکانیسم‌هایی مانند افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (Szepesi *et al.*, 2008)، افزایش تحرک نیترات درونی بافت (Shi *et al.*, 2006)، بالا بردن جذب عناصر غذایی ضروری (Yildirim *et al.*, 2008) و نیز افزایش تولید اسمولیت‌های سازگار برای تنظیم پتانسیل اسمزی یاخته (Yang *et al.*, 2004)، باعث بهبود پروتئین کل در شرایط تنش شوری شده باشد. یافته‌های این پژوهش، حاکی از آن است که میزان فعالیت

۲۵ تا ۱۰۰ میلی‌مولار، کاهش بود. کاهش در میزان پروتئین کل، در سطوح شوری بالا، ممکن است ناشی از افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و یا کاهش در سنتز پروتئین باشد (Chretien and Guillot, 2000). برخی از پژوهش‌گران معتقدند که کم آبی ناشی از شوری (خشکی فیزیولوژیکی) عامل مهمی در کاهش پروتئین‌های محلول محسوب می‌شود (Brey, 2003; Ibrahimy, 2003). در پژوهشی، Murata و همکاران (۲۰۰۷)، نشان دادند که رادیکال‌های آزاد اکسیژن، عامل از هم پاشیدن پروتئین‌ها در برگ می‌باشند. در پژوهش



شکل ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری (میلی مولار) با اسید سالیسیلیک (میلی گرم در لیتر) بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (میکرومول در دقیقه در گرم وزن تر) در رقم انگورتامپسون سیدلس. ستون‌های دارای حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری در سطح احتمال ۱ درصد طبق آزمون دانکن معنی دار نمی‌باشند.

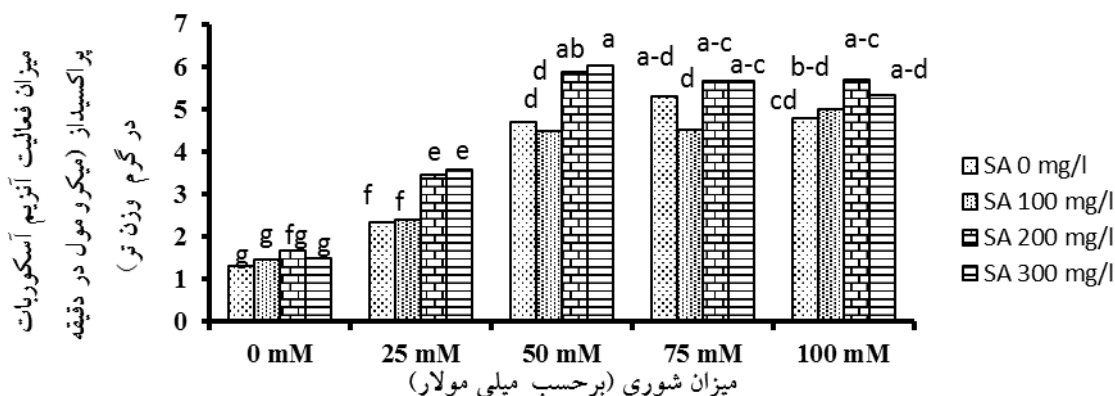


شکل ۸- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری (میلی مولار) با اسید سالیسیلیک (میلی گرم در لیتر) بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (میکرومول در دقیقه در گرم وزن تر) در رقم انگورتامپسون سیدلس. ستون‌های دارای حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری در سطح احتمال ۱ درصد طبق آزمون دانکن معنی دار نمی‌باشند.

۵۰ و ۷۵ و ۱۰۰ میلی مولار، در مقایسه با شاهد، به ترتیب ۳/۸۴، ۴/۱۱ و ۲/۷۱ برابر شد.

نتایج مقایسه میانگین‌ها، نشان داد که میزان فعالیت آنزیم کاتالاز، با افزایش میزان شوری، افزایش یافت. میزان فعالیت این آنزیم تا سطح شوری ۷۵ میلی مولار، از یک روند افزایشی و از شوری ۷۵ میلی مولار به بعد، از یک روند کاهش‌ی برخوردار بود. استفاده از اسید سالیسیلیک به ویژه در غلظت ۳۰۰ میلی گرم در لیتر، تأثیر معنی داری، بر افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز نداشت (شکل ۸). با کاربرد اسید سالیسیلیک، با غلظت

آنزیم گایاکول پراکسیداز، تا سطح شوری ۷۵ میلی مولار، افزایش و از آن به بعد کاهش داشت. بیشترین میزان فعالیت این آنزیم، در سطح شوری ۷۵ میلی مولار به همراه اسید سالیسیلیک (۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم در لیتر) مشاهده شد. میزان فعالیت این آنزیم در سطوح شوری ۵۰ و ۷۵ میلی مولار به ترتیب، ۲/۹۲ و ۳/۳۷ برابر و در شوری ۱۰۰ میلی مولار، ۳/۱۵ برابر شاهد بود (شکل ۷). کاربرد اسید سالیسیلیک باعث افزایش فعالیت این آنزیم گردید به طوری که با کاربرد بالاترین غلظت اسید سالیسیلیک، میزان فعالیت آنزیم، در سطوح شوری



شکل ۹- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری (میلی مولار) با اسید سالیسیلیک (میلی گرم در لیتر) بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (میکرومول در دقیقه در گرم وزن تر) در رقم انگورتامپسون سیدلس. ستون‌های دارای حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری در سطح احتمال ۱ درصد طبق آزمون دانکن معنی دار نمی‌باشند.

تنش شوری افزایش می‌یابد، اما میزان افزایش فعالیت آن‌ها، بین گونه‌های گیاهی و حتی درون گونه‌های مشابه، به مقدار زیادی متفاوت است (Molassiotis *et al.*, 2006). دفاع آنتی‌اکسیدانی، برای محافظت از یاخته‌ها در برابر تأثیرهای خطرناک گونه‌های اکسیژن فعال وارد عمل می‌شود. گیاهان، سیستم‌های یاخته‌ای خود را از تأثیر گونه‌های اکسیژن فعال به وسیله آنزیم‌هایی از قبیل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، گلوکاتایون ردوکتاز، پلی‌فنل اکسیداز و آنتی‌اکسیدان‌های غیر-آنزیمی نظیر آسکوربات و گلوکاتایون محافظت می‌کنند (Agarwal and Pandey, 2004).

در پژوهشی، Muscolo و همکاران (۲۰۰۳) بیان نمودند که در گونه‌های متحمل به شوری، میزان فعالیت‌های آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی، در پاسخ به شوری، افزایش یافت، ولی در گونه‌های حساس به شوری، میزان این فعالیت‌ها، ضعیف بود، که با نتایج این پژوهش هم‌سویی دارد. نتایج ضد و نقیضی نیز در این مورد گزارش گردیده است. به طور مثال در پژوهشی، نشان داده شد که در شرایط تنش، در ژنوتیپ‌های حساس به شوری، میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، مشابه ژنوتیپ‌های مقاوم به شوری بوده است (Munns and Tester, 2008). در شرایط تنش شوری شدید، سیستم‌های آنزیمی آنتی‌اکسیدانی دفاعی گیاه، از هم پاشیده، در نتیجه باعث صدمه شدید به ترکیبات و اندامک‌های درون یاخته‌ای، باعث

۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در شوری ۵۰ میلی‌مولار، ۳/۶۲ برابر در شوری ۷۵ میلی‌مولار ۴/۲۶ برابر و در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار ۳/۵۷ برابر شاهد شد.

براساس نتایج بدست آمده از این پژوهش، میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با افزایش شوری افزایش یافت. با کاربرد اسید سالیسیلیک، با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر میزان فعالیت آنزیم در شوری ۵۰ میلی‌مولار، ۴/۶۴ برابر، در شوری ۷۵ میلی‌مولار ۴/۳۵ برابر و در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار ۴/۱ برابر در مقایسه با شاهد شد (شکل ۹).

نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش شوری، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده، افزایش یافتند، اما این روند افزایشی تا سطح شوری ۷۵ میلی‌مولار بود، از این سطح شوری تا شوری ۱۰۰ میلی‌مولار، میزان فعالیت این آنزیم‌ها، رو به کاهش نهادند. در شرایط طبیعی رشد (بدون تنش)، گونه‌های اکسیژن فعال، توسط سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه حذف شده، اما زمانی که، گیاهان در شرایط تنش شوری شدید قرار می‌گیرند، میزان تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، به شدت افزایش یافته، به طوری که بر میزان فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی غلبه نموده، در نتیجه تنش اکسیدی رخ می‌دهد، که در نهایت، باعث صدمه به پروتئین‌ها، DNA، RNA و غشاء یاخته‌ای شده و پراکسیداسیون لیپیدی اتفاق می‌افتد (Foyer *et al.*, 1991). میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، تحت تأثیر

سالیسیلیک، با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، تا حدودی توانست گیاه را از صدمه‌های اکسیدی محافظت نماید. بعضی گزارش‌ها، نیز حاکی از اثر بازدارندگی اسید سالیسیلیک، روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. اثر بازدارندگی این ترکیب، بر روی فعالیت آنزیم کاتالاز در چندین گونه گیاهی گزارش شده است (Rao *et al.*, 1997). در برخی پژوهش‌ها، نشان داده شد، که اسید سالیسیلیک، باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز شده و در نتیجه میزان پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در داخل بافت‌های گیاهی افزایش یافته و این رادیکال آزاد، به‌عنوان سیگنال عمل نموده، در نتیجه، سیستم آنتی‌اکسیدانی و پاسخ دفاعی گیاه، را از این طریق، تحریک می‌نماید (Borsani *et al.*, 2001; Wahid *et al.*, 2007). چنین به نظر می‌رسد که افزایش پراکسید هیدروژن، به دلیل کاهش فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز نیست، بلکه به علت افزایش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز، به‌عنوان تولیدکننده پراکسید هیدروژن (H_2O_2) می‌باشد و پراکسید هیدروژن تولید شده، به‌عنوان مولکول سیگنال عمل نموده و سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه را تحریک و در نهایت، با افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز، باعث حذف پراکسید هیدروژن، می‌گردد (Shi *et al.*, 2006). هم‌چنین، در پژوهش دیگری نشان داده شد که کاربرد اسید سالیسیلیک، باعث افزایش پراکسید هیدروژن گردیده در نتیجه، این رادیکال آزاد، به‌عنوان مولکول سیگنال عمل نموده و تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش و در نهایت، مقاومت گیاه به تنش‌های غیرزنده را بالا می‌برد (Szepesi *et al.*, 2008).

نتیجه گیری:

افزایش غلظت نمک‌ها در خاک‌ها و آب‌های کشاورزی، تهدیدی جدی در تولید انگور محسوب می‌شود. میزان مقاومت انگور به شوری در حد متوسط بوده و آسیب ناشی از شوری در انگور، بیشتر به وسیله تجمع یون‌های کلر ایجاد می‌شود. با وجود این، پاسخ انگور به شوری بستگی به عوامل

مرگ گیاه می‌گردد (Molassiotis *et al.*, 2006). در این پژوهش، نیز در سطوح شوری ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار، در این رقم مشاهده نمودیم که فعالیت‌های آنزیمی، روند نزولی پیدا نمودند که این نتایج بیانگر آن است که تعادل میان تولید و حذف گونه‌های فعال اکسیژن (توسط سیستم‌های دفاعی) بهم ریخته که این نتایج با یافته‌های Apel و Hirt (۲۰۰۴) مطابقت دارد. هم‌چنین، این نتایج با یافته‌های Hertwig و همکاران (۱۹۹۲) هم‌سو می‌باشد، که بیان نمودند در تنش‌های شوری شدید، فعالیت آنزیم‌های پروتئاز، افزایش یافته و باعث از هم‌پاشیدن پروتئین کاتالاز می‌شوند.

در حال حاضر، گزارش‌های متعدد و متفاوتی از تأثیر اسید سالیسیلیک، بر سیستم آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم‌ها ارائه گردیده است، که بسته به غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و نحوه استفاده آن و نوع گیاه مورد استفاده و مرحله رشدی آن گیاه پاسخ‌های متفاوتی در پی داشته است. در پژوهش‌هایی بر روی گوجه‌فرنگی و لوبیا، Senaratna و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که کاربرد اسید سالیسیلیک، باعث تحریک سیستم آنتی‌اکسیدانی برای مقابله با تنش شد. کاربرد غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک در موز باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شد (Kang *et al.*, 2003). در پژوهشی، Tari و همکاران (۲۰۰۲) در گوجه‌فرنگی، نشان دادند که پیش تیمار اسید سالیسیلیک، در گیاهان تحت تنش شوری، باعث افزایش معنی‌داری در سیستم آنتی‌اکسیدانی شد. در برگ‌های خیار، کاربرد اسید سالیسیلیک نشان داد که باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و در نهایت افزایش مقاومت به تنش شده است (Li *et al.*, 1998). هم‌چنین، Li و همکاران (۲۰۱۴)، Khan و همکاران (۲۰۰۳) و Li و Wang (۲۰۰۶)، در پژوهش‌های خود نشان دادند که در شرایط تنش، کاربرد اسید سالیسیلیک، باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گردیده است. در بررسی‌های Rao و Davis (۱۹۹۹) نشان داده شد که نقش اسید سالیسیلیک، در افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و نیز محافظت بر علیه تنش‌های اکسیدی گیاهان، حیاتی و ضروری است. در پژوهش حاضر، اسید

منفی شوری بر شاخص‌های رشد، پروتئین‌های محلول و سلامتی غشاء یاخته‌ای (با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی غشاء و کاهش نشت یونی) داشت. تأثیر مثبت اسید سالیسیلیک در سطوح پائین‌تر شوری (۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار شوری) بیشتر نمایان بود، با افزایش شوری، میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده، افزایش یافتند، اما این روند افزایشی تا سطح شوری ۷۵ میلی‌مولار بود، از این سطح تا شوری ۱۰۰ میلی‌مولار، میزان این آنزیم‌ها، روبه کاهش نهادند.

مختلفی از جمله ترکیب پایه- پیوندک، سیستم‌آبیاری، نوع خاک و شرایط آب و هوایی دارد. در پژوهش حاضر، افزایش غلظت کلرید سدیم، باعث کاهش شاخص‌های رشدی، محتوای نسبی آب برگ و نیز افزایش نشت یونی و محتوای مالون‌دی‌آلدئید شد. کاربرد اسید سالیسیلیک به صورت محلول- پاشی برگی در انگور رقم تامپسون سیدلس (به‌ویژه در غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در سطوح مختلف شوری خاک، با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (از طریق پالایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن)، تأثیر مثبتی، بر کاهش اثرات

منابع:

جلیلی مرندی، ر. ۱۳۸۹. فیزیولوژی تنش‌های محیطی و مکانیسم‌های مقاومت در گیاهان باغی. انتشارات جهاد دانشگاهی ارومیه. جلد اول. ۶۳۶ صفحه.

- Aebi, H. (1984) Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymology* 105: 121-126.
- Agarwal, S. and Pandey, V. (2004) Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. *Biologia Plantarum* 48: 555-560.
- Apel, K. and Hirt, H. (2004) Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. *Annual review of plant biology* 55: 373-399.
- Ashraf, M. and Fooland, M. R. (2007) Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany* 59: 206-216.
- Bhattacharjee, S. (2005) Reactive oxygen species and oxidative burst: roles in stress, senescence and signal transduction in plants. *Current Science* 89: 1113-1121.
- Binzel, M. L., Hess, F. D., Bressan, R. A. and Hasegawa, P. M. (2002). Intercellular compartmentation of ions in salt adapted tobacco cells. *Journal of Plant Physiology* 86: 607-614.
- Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagersted, K. (2003) Antioxidant, oxidative damage and oxygen deprivation stress. *Annals of botany* 91: 179-194.
- Bohnert, H.J., Nelson, D.E. and Jensen, R.G. (1995) Adaptions to environmental stresses. *The Plant Cell* 7: 1099-1111.
- 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 and microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Brey, A. (2003) Molecular responses in water. *Plant Physiology* 103: 1035-1043.
- Chen, H., Hou, W., Kue, J. and Lin, Y. (2001) Ca²⁺ dependent and Ca²⁺ independent excretion modes of salicylic acid in tobacco cell suspension culture. *Journal of Experimental Botany* 52: 1219-1226.
- Chretien, D. and Guillot, T. (2000) Lipid and protein changes in jojoba under salt stress. *Physiologia Plantarum* 85: 372-380.
- Cramer, G.R., Ergul, A., Grimplet, J., Tillett, R.L., Tattersall, E., Bohlman, M., Vincent, D., Sonderegger, J., Evans, J., Osborne, G., Quilici, D., Schlauch, K.A., Schooly, D.A. and Cushman, J.C. (2007) Water and salinity stress in grapevines: early and late changes in transcript and metabolic profiles. *Functional and Integrative Genomics* 7: 111-134.
- Cuin, T.A. and Shabala, S. (2008) Compatible solutes mitigate damaging effects of salt stress by reducing the impact of stress-induced reactive oxygen rootstock. *Plant Signaling and Behavior* 3: 207-208. Dinis, T.C., Maderia, V.M. and Almeida, L.M. (1994) Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 315: 161-169.
- Fariduddin, Q., Hayat, S. and Ahmad, A. (2003) Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity, and seed yield in *Brassica juncea*. *Photosynthetic* 41: 281-284.
- Flexas, J., Baron, M., Bota, J., Ducruet, J.M., Galle, A., Galmes, J., Jimenez, M., Pou, A., Ribascarbo, M., Sajnan, C., Tomas, M. and Medrano, H. (2009) Photosynthesis limitations during water stress acclimation and recovery in the drought adapted *Vitis* hybrid Richter-110 (*V. berlandieri* × *V. rupestris*). *Journal of Experimental Botany* 60(8):

2361-2377.

- Foyer, C.H. and Noctor, G. (2003) Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiologia Plantarum* 119: 355-364.
- Foyer, C.H., Lelandais, M., Galap, C. and Kunert, K.J. (1991) Effect of elevated cytosolic glutathione reductase activity on the cellular glutathione pool and photosynthesis in leaves under normal and stress conditions. *Journal of Plant Physiology* 97: 863-872.
- Fisarakis, I., Chartzoulakis, K. and Stavrakas, D. (2001) Response of sultana vines (*V. vinifera* L.) on six rootstocks to NaCl salinity exposure and recovery. *Agricultural Water Management* 51: 13-27.
- Gunes, A., Inal, A., Alpaslan, M., Eraslan, F., Bagci, E.G. and Cicek, N. (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.
- Hayashi, H. and Murata, N. (1998) Genetically Engineered Enhancement of Salt Tolerance in Higher Plants. In Satoh K., Murata N., eds. *Stress Responses of Photosynthetic Organisms*. Amsterdam, Elsevier. Pp. 133-148.
- Hernandez, J.A. and Almansa, M.S. (2002) Short term effects of salt stress on antioxidant systems and leaf water relations of pea leaves. *Physiologia Plantarum* 115: 251-257.
- Hertwig, B., Streb, P. and Feierabend, J. (1992) Light dependence of catalase synthesis and degradation in leaves and influence of interfering stress conditions. *Journal of Plant Physiology* 100:1547-1553.
- Horvath, E., Szalai, G. and Janda, T. (2007) Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. *Journal of Plant Growth Regulator* 26: 290-300.
- Ibrahimy, A.K. (2003) Studies on the growth and yield of chick pea. *Journal of Plant Physiology* 103: 775-781.
- Irigoyen, J.J., Emerich, D.W. and Sanchez-Diaz, M. (1992) Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Journal of Plant Physiology* 84: 55-60.
- Janda, T., Horvath, E., Szalai, C. and Paldi, E. (2007) Role of salicylic acid in the induction of abiotic stress tolerance. In: Hayat Ahmad A. eds, *Salicylic Acid: A Plant Hormone*. Springer, Dordrecht, the Netherland, Pp, 91-154.
- Joseph, B., Jini, D. and Sujatha, S. (2010) Insight into role of exogenous salicylic acid on plants growth under salt environment. *Asian Journal of Crop Sciences* 2: 226-235.
- Kang, G., Wang, C., Sun, G. and Wang, Z. (2003) Salicylic acid changes activities of H₂O₂ metabolizing enzymes and increases the chilling tolerance of banana seedlings. *Environmental and Experimental Botany* 50: 9-15.
- Kang, H. and M. Saltveit. (2001) Activity of enzymatic antioxidant defense systems in chilled and heat shocked cucumber seedling radicals. *Physiologia Plantarum* 113: 548-556.
- Karlidag, H., Yildirim, E. and Turan, M. (2009) Salicylic acid ameliorates the adverse effect of salt stress on strawberry. *Scientia Agricola* 66: 180-187.
- Kaya, C., Tuna, A.L., Ashraf, M. and Altunlu, H. (2007) Improved salt tolerance of melon (*Cucumis melo* L.) by the addition of proline and potassium nitrate. *Environmental and Experimental Botany* 60: 397-403.
- 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.
- Khodary, S. (2004) Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed maize plants. *International Journal of Agriculture and Biology* 6: 5-8.
- Khoshbakht, D. and Asghari, M.R. (2015) Influence of foliar-applied salicylic acid on growth, gas-exchange characteristics, and chlorophyll fluorescence in citrus under saline conditions. *Photosynthetica* 53 (3): 410-418.
- Li, T., Hu, Y., Du, X., Tang, H., Shen, C. and Wu, J. (2014) Salicylic acid alleviates the adverse effects of salt stress in *Torreya grandis* cv. merrillii seedlings by activating photosynthesis and enhancing antioxidant systems. *PloS One* 9(10): 1-9.
- Li, Z.L., Yuan, Y.B., Liu, C.L. and Cao, Z.X. (1998) Regulation of antioxidant enzymes by salicylic acid in cucumber leaves. *Acta Botanica Sinica* 40: 356-361.
- Luttes, S., Kinet, J.M. and Bouharmont, J. (1995) Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa* L.) varieties differing in salinity resistance. *Journal of Experimental Botany* 46: 1843-1852.
- Megdiche, W., Hessini, K., Gharbi, F., Jaleel, C.A., Ksouri, R. and Abdelly, C. (2008) Photosynthesis and photosystem 2 efficiency of two salt adapted halophytic seashore *Cakile maritime* ecotypes. *Photosynthetica* 46: 410-419.
- Mimouni, H., Wasti, S., Manaa, A., Gharbi, E., Chalh, A., Vandoorne, B., Stanley Lutts, S. and Ben, Ahmed, H. (2016) Does salicylic acid (SA) improve tolerance to salt stress in plants? A study of SA effects on tomato plant growth, water dynamics, photosynthesis, and biochemical parameters. *Omics* 20(3) : 1-11.
- Misra, N. and Saxena, P. (2009) Effect of salicylic acid on proline metabolism in lentil grown under salinity stress. *Plant Science* 177: 181-189.
- Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Sciences* 7: 405-410.
- Molassiotis, A.N., Sotiropoulos, T., Tanou, G., Kofidis, G., Diamantidis, G. and Therios, I. (2006) Antioxidant and anatomical responses in shoot culture of the apple rootstock MM106 treated with NaCl, KCl, manitol or sorbitol. *Biologia Plantarum* 50: 61-68.

- Munns, R. (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell and Environment* 25 (2): 239-250.
- Munns, R., Samarakoon, A.S. and Gifford, R.M. (2003) Elevated CO₂ improves the growth of *Zea mays* under salinity. *Australian Journal of Plant Physiology* 20: 341-360.
- Munns, R. and Tester, M. (2008) Mechanisms of salinity tolerance. *Annual review of plant biology* 59: 651-681.
- Murata, N., Takahashi, S., Nishiyama, Y. and Allakhverdiev, S. (2007) Photoinhibition of photosystem II under environmental stress. *Biochimica et Biophysica Acta* 1767: 414-421.
- Muscolo, A., Panuccio, M. and Sidari, M. (2003) Effects of salinity on growth, carbohydrate metabolism and nutritive properties of kikuyu grass (*Pennisetum clandestinum* Hochst). *Plant Science* 164: 1103-1110.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22:867-880.
- Nayyar, H. (2003) Acclimation of osmolytes and osmotic adjustment in water stressed wheat and maize as affected by calcium and its antagonists. *Environmental and Experimental Botany* 50: 253-263.
- Paquin, R. and Lechasseur, P. (1979) Observations sur une methode de dosage de la proline libre les extraits de plantes. *Canadian Journal of Botany* 57: 1851-1854.
- Parida, A.K. and Das, A.B. (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60: 324-349.
- Pessaraki, M. (1999) *Handbook of Plant and Crop Stress*. Second Edition. Marcel Dekker Inc. New York. 545p.
- Popham, P.L. and Novachy, A. (1991) Use of dimethyl sulfoxide to detect hydroxyl radical during bacteria-induced hypersensitive reaction. *Journal of Plant Physiology* 96: 1157-1160.
- Rao, M., Paliyath, G., Ormord, D., Murr, D. and Watkins, C. (1997) Influence of salicylic acid on H₂O₂ production, oxidative stress and H₂O₂ metabolizing enzymes. *Journal of Plant Physiology* 115: 137-149.
- Rao, M. and Davis, R. (1999) Ozone induced cell death occurs via two distinct mechanisms in *Arabidopsis*: the role of salicylic acid. *The Plant Journal* 17: 603-614.
- Reddy, A., Chaitanya, K. and Vivekanandan, M. (2004) Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology* 161: 1189-1202.
- Sairam, R.K., Srivastava, G.C., Agarwal S. and Meena R.C. (2005) Differences in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes. *Biologia Plantarum* 49: 85-91.
- Sajid, Z. A., Safdar, M. and Khilji, S.A. (2016) Amelioration of salinity stress tolerance in Pea (*Pisum sativum* L.) by exogenous application of salicylic acid. *Biologia* 62 (1), 69-78.
- Sanchez, M., Revilla, G. and Zarra, L. (2005) Changes in peroxidase activity associated with cell during pine hypocotyls growth. *Annals of Botany* 75: 415-419.
- Senaratna, T., Touchell, D., Bunn, E. and Dixon, K. (2000) Acetylsalicylic (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Plant Growth Regulation* 30: 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 fluorescence and antioxidant enzyme activity in seedlings of *Cucumis sativa* L. *Plant Growth Regulation* 48: 127-135.
- Shi, Q. and Zhu, Z. (2008) Effects of exogenous salicylic acid on manganese toxicity, element content and antioxidative system in cucumber. *Environmental and Experimental Botany* 63: 317-326.
- Singh, S.K., Sharma, H.C., Goswami, A.M., Datta, S.P. and Singh, S.P. (2000) *In vitro* growth and leaf composition of grapevine cultivars as affected by sodium chloride. *Biologia Plantarum* 43: 283-286.
- Stevens, J., Senaratna, T. and Sivasithamparan, K. (2006) Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): associated changes in gas exchange, water relations and membrane stabilisation. *Plant Growth Regulation* 49: 77-83.
- Szepesi, A., Poor, P., Gemes, K., Horvath, 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.
- Szepesi A., Csiszár J., Bajkán S. and Tari, I. (2005) Role of salicylic acid pretreatment on the acclimation of tomato plants to salt- and osmotic stress. *Acta Biologica Szegediensis* 49: 123-125.
- Tari, I., Csiszar, J., Szalai, G., Horvath, F., Szepesi, A., Szabo, M. and Erdei, L. (2002) Acclimation of tomato plants to salinity after a salicylic acid pre-treatment. *Acta Biologica Szegediensis* 46: 55-56.
- Tester, M. and Davenport, R. (2003) Na⁺ tolerance and transport in higher plants. *Annals of Botany* 91: 503-527.
- Tohma, O. and Esitken, A. (2011) Response of salt stressed strawberry plants to foliar salicylic acid pre-treatments. *Journal of Plant Nutrition* 34:590-599.
- Turner, N.C. (1981) Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. *Plant and Soil* 58: 339-366.
- Updhyaya, A., Sankhla, D., Davis, T.D., Sankhla, N. and Smidth, B.N. (1985) Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. *Journal of Plant Physiology* 121: 453-461.
- Verbruggen, N. and Hermans, C. (2008) Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids* 35: 753-759.

- Wahid, A., Perveen, M., Gelani, S. and Barsa, S.M.A. (2007) Pretreatment of seed with H₂O₂ improves salt tolerance of wheat seedling by alleviation of oxidative damage and expression of stress proteins Journal of Plant Physiology 164: 283-94.
- Wang, L. J. and Li, S. H. (2006) Salicylic acid induced heat or cold tolerance in relation to Ca²⁺ homeostasis and antioxidant systems in young grape plants. Plant Science 170: 685-694.
- Yang, Y., Qi, M. and Mei, C. (2004) Endogenous salicylic acid protects rice plants from oxidative damage caused by aging as well as biotic and abiotic stress. The Plant Journal 40: 909-919.
- Yildirim, E., Turan, V. and Guvenc, I. (2008) Effect of foliar salicylic acid applications on growth, chlorophyll and mineral content of cucumber grown under salt stress. Journal of Plant Nutrition 31: 593-612.
- Yokoi, S., Quintero, F. J., Cubero, B., Ruiz, M. T., Bressan, R. A., Hasegawa, P. M. and Pardo, J. M. (2002) Differential expression and function of *Arabidopsis thaliana* NHX Na⁺/H⁺ antiporters in the salt stress response. The Plant Journal 30: 529-539.
- Zhifang, G. and Loescher, W. H. (2003) Expression of a celery mannose 6-phosphate reductase in *Arabidopsis thaliana* enhances salt tolerance and induces biosynthesis of both mannitol and a glucosyl-mannitol dimer. Plant Cell and Environment 26: 275-283.

Effect of foliar application of salicylic acid on some morphological, physiological and biochemical traits in grapevine (*Vitis vinifera* L. cv Thompson seedless) grown under salt stress

Jafar Amiri*

Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Orumieh, Iran
(Received: 05/10/2016, Accepted: 18/01/2017)

Abstract:

Salt stress is one the major environmental stresses which limits quantitative and qualitative aspects of plant growth. One of the methods to overcome the adverse effects of salinity is application of growth regulators. Salicylic acid is a plant growth regulator and its positive effects in alleviating the adverse effects of stresses on plants have been reported. In order to study the effect of salicylic acid (SA) on some morphological, physiological and biochemical characteristics of grapevine, (*Vitis vinifera* cv. Thompson Seedless), a pot factorial experiment was conducted as randomized complete design, under salinity stress condition. Well-rooted grape cuttings were exposed to five levels of salinity 0 (control), 25, 50, 75 and 100 mM NaCl and four levels of SA, 0 (control), 100, 200 and 300 mg/l. The results indicated that with increasing of salinity levels, the morphological traits, and leaf relative water contents were reduced, whereas leaf cells membrane leakage and the amount of tissues malondialdehyde increased. In salinity level of 100 mM, the length of stem and root was reduced 67.18 and 59 percent in compared to the control. In salinity level of 100 mM, application of 300 mg/l salicylic acid, increased proline and soluble solids 4.11 and 7.5 times respectively compared to control. It also increased guaiacol peroxidase, ascorbate peroxidase and catalase 3.15, 4.1 and 3.6 times respectively compared to the control. Overall, the application of SA (200-300 mg/l) improved growth efficiency, antioxidant enzymes activities and the amount of compatible osmolytes but reduced the ionic leakage.

Key Words: Antioxidant enzymes, Compatible osmolytes, Malondialdehyde, Salt stress, *Vitis vinifera*.