The effect of salinity stress and salicylic acid on some physiological and biochemical traits of Black cumin (*Nigella sativa* L.)

Arash Fazeli *, Batool Zarei, Zahra Tahmasebi
Department of agronomy and plant breeding, Faculty of agriculture, Ilam university, Ilam, Iran

Abstract
Black Cumin (*Nigella sativa* L.) is an annual plant from the buttercup family that has been used in food industry and cosmetic products in addition to its medicinal value .In this research, the effect of salinity stress and salicylic acid on some physiological and biochemical parameters including Relative Water Content (RWC), ion leakage, malondialdehyde, anthocyanin content, proline, catalase activity and ascorbate peroxides in black cumin (*Nigella sativa L.)*were investigated. Exprimental treatments consisted of three levels (0 as control, 25 and 75 mM NaCl) and (0 as control, 0.75 and 1.5 mM) for salinity and salicylic acid, respectively. Three to four-leaf seedlings incubated for three weeks under salt stress, during the same period twice sprayed with salicylic acid. The results showed that salinity stress significantly reduced the RWC and anthocyanin, and significantly increased ion leakage malondialdehyde, proline, catalase activity and ascorbate peroxidase activity. While in salt stress condition, salicylic acid treatment increased the RWC, malondialdehyde, anthocyanin, proline, catalase activity and ascorbate peroxidase activity, but ion leakage was decreased. Black Cumin is sensitive to salinity stress, so by applying salicylic acid may increase the antioxidant capacity that can helps to the possibility of plant to growth and survival under stress conditions.

Keywords: Ascorbate peroxidase, Anthocyanin, proline, Black cumin, Catalase

* Corresponding Author: a.fazeli@ilam.ac.ir

Copyright©2017, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/BY-NC-ND/4.0), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

Archive of SID

www.SID.ir

زیست‌شناسی گیاهی ایران، سال نهم، شمارهٔ سی و چهارم، زمستان ۱۳۹۶، صفحهٔ ۸۳-۶۹
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۰۳/۱۶
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۶/۰۹/۰۵
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۱۰/۳۰

تأثیر تنش شوری و سالیسیلیک اسید بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.)

آرش فاضلی *، بتول زارعی، زهرا طهماسبی
گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

چکیده

سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) از خانوادهٔ آلاله و گیاهی یک‌ساله‌است که علاوه‌بر ارزش دارویی، در صنایع غذایی و فراورده‌های آرایشی - بهداشتی کاربرد دارد. در پژوهش حاضر، اثر تنش شوری و سالیسیلیک اسید بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه سیاه‌دانه شامل محتوای نسبی آب برگ، آنتوسیانین، پرولین و مالون‌دی‌آلدهید، نشت یونی، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز بررسی شد. تیمارهای آزمایش شامل تنش شوری سدیم کلرید در سه غلظت صفر (شاهد بدون شوری)، ۲۵ و ۷۵ میلی‌مولار و سالیسیلیک اسید در سه غلظت صفر، ۰/۷۵ و ۱/۵ میلی‌مولار بودند. گیاهچه‌های سه تا چهاربرگی به‌مدت سه هفته در شرایط تنش شوری و دوبار محلول‌پاشی سالسیلیک اسید با فاصلهٔ زمانی یک هفته قرار گرفتند. نتایج نشان دادند تنش شوری کاهش معنی‌دار محتوای نسبی آب برگ و آنتوسیانین و افزایش معنی‌دار نشت یونی، مالون‌دی‌آلدهید، پرولین، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز را باعث شد؛ درحالی‌که در تنش شوری، تیمار سالیسیلیک اسید افزایش محتوای نسبی آب برگ، مالون‌دی‌آلدهید، آنتوسیانین، پرولین، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز را موجب شد؛ اما نشت یونی کاهش یافت. ازآنجاکه سیاه‌دانه گیاهی حساس به شوری است، با کاربرد سالیسیلیک اسید و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، امکان رشد و بقای گیاه در شرایط تنش فراهم می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، آنتوسیانین، پرولین، سیاه‌دانه، کاتالاز

* نگارندهٔ مسؤول: نشانی پست الکترونیک: a.fazeli@ilam.ac.ir، شمارهٔ تماس: ۰۹۱۸۸۴۳۷۳۰۲

Copyright©2017, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/BY-NC-ND/4.0), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) گیاهی یک‌ساله و دیپلوییدِ (۲*n*=۲*x*=۱۲) است و به راستهٔ گل‌ساعتی‌ها (*Passiflorales*) و خانوادهٔ آلاله (*Ranunculaceae*) تعلق و اهمیت دارویی دارد (Antuono *et al.*, 2002). دانهٔ آن سرشار از اسیدهای چرب لینولئیک اسید، اولئیک اسید و پالمیتیک اسید است. برای این گیاه خواص مختلف دارویی ازجمله ضدسرطانی (Gurung *et al.*, 2010)، ضدمیکروبی (Salem, 2005) و ضد دیابت‌بودن (Bassim, 2003) گزارش شده است. این خواص، بیشتر به‌دلیل وجود ترکیبات کینونی مانند تیموکینون و دی تیموکینون در دانه هستند. از اسانس سیاهدانه ماده‌ای به‌نام نیژلون استخراج می‌شود که کرم‌کش، مسهل و زیادکنندهٔ ترشحات شیر است (Antuono *et al.*, 2002).

شوری یکی از تنش‌های اصلی محیط به حضور غلظت زیاد نمک‌های محلول در خاک اطراف ریشه مربوط می‌شود. غلظت‌های زیاد نمک‌های محلول با افزایش فشار اسمزی، سمیت یونی و محدودکردن جذب آب از ریشه بر رشد گیاهان و درنتیجه تولید کشاورزی اثر می‌گذارند. بخش اصلی بازدارندگی رشد، با تجمع سدیم اضافی در خاک ایجاد می‌شود (Jouyban, 2012). مقدار کاهش رشد گیاه در شرایط شوری به ترکیب و غلظت نمک، مرحلهٔ فیزیولوژیک گیاه و گونهٔ گیاهی بستگی دارد (Jaleel *et al.*, 2013). یکی از تغییرات بیوشیمیایی که در تنش‌های محیطی ازجمله تنش شوری رخ می‌دهد، تولید انواع اکسیژن فعال است که تخریب عمدهٔ غشا، چربی‌ها، پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها را باعث می‌شود (Garratt *et al.*, 2002). تنش شوری؛ کاهش سطح برگی (کاهش سطح نورساختی)، کاهش دسترسی به کربن دی اکسید به‌علت بسته‌شدن روزنه‌ها، کاهش هدایت میان برگی یا مزوفیلی (به‌علت کاهش نفوذپذیری غشا به کربن دی اکسید بر اثر دهیدراته‌شدن غشاهای یاخته‌ای)، سمیت نمک، افزایش القای پیری و آسیب اکسایشی (اکسیداتیو) را باعث می‌شود (Orcutt and Nilsen, 2000). Hajar و همکاران (۱۹۹۶) با بررسی اثر تیمارهای مختلف شوری بر جوانه‌زنی و شاخص‌های رشد *N. sativa* مشاهده کردند با افزایش شوری؛ وزن ساقه، وزن ریشه، و سطح برگ کاهش یافتند. تأثیر تنش شوری بر صفات فیزیولوژیک مانند کاهش مقدار آنتوسیانین، کلروفیل، محتوای نسبی آب برگ در بابونهٔ آلمانی (Salimi *et al.*, 2012) و کلزا (Chaparzadeh and Zarandi, 2011) و افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیدار و سوپر اکسید دیسموتاز درگیاه دارویی پریوش (Askary *et al.*, 2016) و زیرهٔ سبز (Ghorbanli *et al.*, 2012) نیز گزارش شده است.

برای افزایش مقاومت گیاهان به تنش، روش‌های مختلف ازجمله به‌نژادی و استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد به کار گرفته می‌شوند. در مقایسه با روش‌های به‌نژادی که اغلب بلندمدت و پرهزینه هستند، استفاده از مواد شیمیایی مانند سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید آسان‌تر و ارزان‌تر است. سالیسیلیک اسید نقش مهمی در مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی ایفا می‌کند و بر رشد گیاه، جوانه‌زنی دانه، ساختار غشاء، جذب

Archive of SID

www.SID.ir

و انتقال یون، سرعت فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، مقدار کلروفیل و گل‌دهی در شرایط تنش تأثیر می‌گذارد (Belkhadi *et al.*, 2010). سالیسیلیک اسید در کاهش آثار ناشی از تنش‌ها نقش دارد؛ برای نمونه، کاهش تأثیر تنش شوری بر صفاتی مانند مقدار آنتوسیانین، رنگیزه‌های فتوسنتزی و نشت یونی بر اثر تیمار سالیسیلیک اسید در گیاهان دارویی مریم گلی (Gholami *et al.*, 2013) وشیرین‌بیان (Behnamnia and Shenavai Zare, 2013) گزارش شده است. اثر مثبت سالیسیلیک اسید بر رشد را به‌علت تأثیر آن بر سایر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی نیز می‌دانند؛ برای نمونه در گیاه گندم سالیسیلیک اسید تغییر در تعادل تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی اکسین، سیتوکینین و آبسیزیک اسید را موجب شد که نتیجهٔ آن افزایش رشد در شرایط غیرتنش، بهبود رشد و افزایش مقاومت در تنش شوری بود (Shakirova *et al.*, 2003).

هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر تنش شوری بر برخی از شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه سیاه‌دانه و کاربرد سالیسیلیک اسید برای کاهش خسارت گیاه در برابر تنش شوری و درنتیجه بررسی امکان رشد گیاه در مناطق شور بود.

مواد و روش‌ها

بذرهای گیاه سیاه‌دانه از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه و با بنومیل به نسبت دو در هزار ضدعفونی شدند؛ سپس در گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانهٔ ۲۰ سانتی‌متر حاوی ماسه، رس و هومـوس به نسبت ۱: ۱: ۱ کاشته شدند. بذرها پس از حدود ۱۲ روز جوانه زدند و گیاهچه‌ها در شرایط گلخانه با دمای ۲۰ تا ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد و دورهٔ نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند؛ سپس در مرحلهٔ سه تا چهار برگی تنک شدند؛ به‌طوری‌که در هر گلدان ۱۰ بوته نگه داشته شد. گیاهچه‌های حاصل به‌مدت سه هفته در تنش شوری با نمک سدیم کلرید در غلظت‌های صفر (شاهد یا بدون شوری)، ۲۵ و ۷۵ میلی‌مولار براساس پژوهش‌های قبلی (Ghorbanli *et al.*, 2012) و دو بار محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید براساس مطالعات Elyasi و همکاران (۲۰۱۶) با فاصلهٔ زمانی یک هفته در غلظت‌های صفر (شاهد)، ۰/۷۵، ۱/۵ میلی‌مولار قرار گرفتند. اعمال تیمار تنش براساس روش Ghorbanli و همکاران (۲۰۱۲) انجام شد. درنهایت، نمونه‌برداری از برگ گیاه انجام شد و نمونه‌ها پس از انجماد با نیتروژن مایع، به فریزر ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد منتقل شدند. صفات فیزیولوژیک ارزیابی‌شده در پژوهش حاضر شامل محتوای نسبی آب برگ، نشت یونی، مالون‌دی‌آلدهید، آنتوسیانین، پرولین، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز بودند.

اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ: برای تعیین محتوای نسبی آب برگ‌ها، ابتدا تعداد مساوی برگ جوان از هر تیمار انتخاب و جدا شد. پس از جداشدن برگ‌ها از گیاهچه‌ها بلافاصله در آزمایشگاه با ترازو (با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم) وزن شدند (FW)؛ سپس به‌مدت ۴ تا ۵ ساعت در آب مقطر (برای آب‌گیری کامل) در محیط آزمایشگاهی با دمای تقریبی ۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از این مدت، آب سطحی با

Archive of SID

www.SID.ir

کاغذ صافی خشک شد و نمونه‌ها دوباره وزن شدند (TW). پس از آن، برای اندازه‌گیری وزن خشک (DW)، برگ‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجهٔ سانتی‌گراد در آون قرار داده شدند. محتوای نسبی آب برگ از رابطهٔ ۱ محاسبه شد (Wagner, 1979).

رابطهٔ ۱ $RWC=(FW–DW)/(TW–DW)100$

اندازه‌گیری نشت یونی: برای سنجش میزان آسیب به غشا، میزان نشت یونی اندازه‌گیری شد. ۰/۲ گرم از بافت سالم و تازهٔ اندام هوایی گیاه پس از شستشو با آب مقطر درون لولهٔ آزمایش قرار داده و ۱۰ میلی‌لیترآب مقطر به آن اضافه شد. لولهٔ آزمایش به‌مدت ۲ ساعت درون حمام آب گرم با دمای ۳۲ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفت و میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها (EC1)، با EC متر (مدل 4510، شرکت Jenway، انگلستان) اندازه‌گیری شد؛ سپس لولهٔ آزمایش در دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد و فشار ۱ اتمسفر به‌مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شد و پس از خنک‌شدن لوله‌ها تا دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد، میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها (EC2) دوباره اندازه‌گیری و درصد نشت یونی با رابطهٔ ۲ محاسبه شد (Hamed *et al.*, 2007).

رابطهٔ ۲ $EC1/EC2\times100=$ درصد نشت یونی

سنجش غلظت مالون‌دی‌آلدهید: ابتدا ۰/۲ گرم از بافت تازهٔ برگی در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۱ درصد ساییده شد. عصارهٔ حاصل با دستگاه سانتریفیوژ (مدل Z300، شرکت Hermle، آلمان) به‌مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. به ۱ میلی‌لیتر از روشناور حاصل از سانتریفیوژ، ۵ میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد محتوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید اضافه شد. مخلوط حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد حمام آب گرم قرار داده شد؛ سپس بلافاصله در حمام یخ سرد شد و دوباره مخلوط به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. شدت جذب این محلول با اسپکتروفتومتر (مدل Spectrod، شرکت Jena AG، آلمان) در طول‌موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. جذب سایر رنگیزه‌های غیراختصاصی در طول‌موج ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر شد. برای محاسبهٔ غلظت مالون‌دی‌آلدهید از ضریب خاموشی $1/55\times10^{-5}$ بر مول بر سانتی‌متر استفاده شد و نتایج حاصل از اندازه‌گیری، برحسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه شدند (Heath and Packer 1969).

مقدارآنتوسیانین: برای اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین برگ از روش Wagner (۱۹۷۹) استفاده شد. ۰/۱ گرم بافت تازهٔ گیاه در هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (متانول خالص و کلریدریک اسید خالص با نسبت ۱:۹۹) به‌طور کامل ساییده و عصارهٔ حاصل سانتریفیوژ شد. روشناور حاصل به‌مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفت؛ سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت۴۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ و جذب محلول رویی در طول‌موج ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. غلظت با رابطهٔ ۳ و با در نظر گرفتن ضریب خاموشی (ε) ۳۳۰۰۰ بر مول بر سانتی‌متر محاسبه شد. A، جذب؛ b، عرض کوت و c، غلظت محلول مدنظر است.

رابطهٔ ۳ $A=\varepsilon bc$

Archive of SID

www.SID.ir

اندازه‌گیری مقدار پرولین: ابتدا ۰/۲ گرم بافت تازهٔ برگی در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر محلول سولفوسالسیلیک اسید ۳ درصد ساییده و مخلوط یکنواختی تهیه شد. عصارهٔ حاصل به‌مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد و مایع رویی برای اندازه‌گیری مقدار پرولین استفاده شد. ۲ میلی‌لیتر از مایع رویی حاصل از سانتریفیوژ عصاره با ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و دو میلی‌لیتر استیک اسید گلاسیال مخلوط شد و ۱ ساعت در دمای ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد حمام آب گرم قرار گرفت. پس از این مدت برای قطع انجام همهٔ واکنش‌ها، لوله‌های محتوی مخلوط در حمام آب سرد قرار داده و سپس ۴ میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط اضافه شد و لوله‌ها به‌خوبی ورتکس شدند. با ثابت نگه‌داشتن لوله‌ها به‌مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه، دو لایهٔ مجزا تشکیل شدند. از فاز رنگی بالایی که حاوی تولوئن و پرولین بود، برای اندازه‌گیری غلظت پرولین استفاده شد (Bates, 1973). جذب این مادهٔ رنگی در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر تعیین و مقدار پرولین در هر نمونه با نمودار استاندارد محاسبه شد. نتایج برحسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه شدند.

برای رسم نمودار استاندارد پرولین، غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکرومول بر لیتر پرولین تهیه شدند و نمودار جذب برحسب غلظت رسم و از رابطهٔ خطی آن برای محاسبهٔ غلظت پرولین استفاده شد.

استخراج عصارهٔ آنزیمی و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها: ۰/۵ گرم از برگ منجمدشده در ۱/۵ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) محتوی پلی وینیل پیرولیدون ۱ درصد و EDTA، ۱ میلی مولار ساییده شد. همگن‌های حاصل به‌مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ و روشناور حاصل یا عصاره برای سنجش‌های آنزیمی استفاده شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز: سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با محاسبهٔ کاهش جذب هیدروژن پراکسید (کاهش مقدار هیدروژن پراکسید) در ۲۴۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۲۸۰۰ میکرولیتر بافر پتاسیم فسفات ۱۰ میلی‌مولار (pH=۷) و ۳۰ میکرولیتر هیدروژن پراکسید ۳۳ میلی‌مولار بود. با اضافه‌کردن ۱۰۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی به مخلوط یادشده، واکنش شروع می‌شود. میزان هیدروژن پراکسید موجود در مخلوط واکنش پس از ۱ دقیقه با ضریب خاموشی ۴۰ بر مول بر سانتی‌متر برای هیدروژن پراکسید و رابطهٔ ۴ محاسبه شد که نشان‌دهندهٔ میزان فعالیت آنزیم کاتالاز است. A، معادل جذب نوری خوانده‌شده؛ ε، ضریب خاموشی؛ c، غلظت هیدروژن پراکسید و b، عرض کوت (برحسب سانتی‌متر) است. فعالیت آنزیمی به‌صورت واحد آنزیمی در مقدار پروتئین کل (میلی‌گرم) موجود در ۱۰۰ میکرولیتر عصاره در ۱ دقیقه محاسبه شد (Velikova *et al.*, 2000).

$$A=\varepsilon bc$$ رابطهٔ ۴

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۳۰۰ میکرولیتر آسکوربات ۰/۵ میلی‌مولار، ۳۰ میکرولیتر هیدروژن پراکسید ۰/۱۵ میلی‌مولار، ۳۰ میکرولیتر EDTA ۱۰ میلی‌مولار و ۱۵۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی بود. با تغییرات جذب در طول‌موج ۲۹۰

Archive of SID

www.SID.ir

نانومتر، ضریب خاموشی آسکوربات پراکسیداز (۲/۸ بر مول بر سانتی‌متر) و رابطهٔ ۳، میزان آسکوربات به‌جامانده پس از دو دقیقه انجام واکنش آنزیمی محاسبه شد. یک واحد آنزیمی آسکوربات پراکسیداز مقدار آنزیمی است که ۱ میلی‌مول آسکوربات پراکسیداز را در ۱ دقیقه اکسید می‌کند (Nakano and Asado, 1981). فعالیت آنزیمی به‌صورت واحد آنزیمی در مقدار پروتئین کل (میلی‌گرم) موجود در ۵۰ میکرولیتر عصاره در ۱ دقیقه محاسبه شد.

تحلیل آماری: آزمایش‌ها به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار انجام شدند. تحلیل واریانس داده‌ها با نرم‌افزار آماری SASنسخهٔ ۹/۱ بررسی شد و میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج

تجزیهٔ واریانس داده‌ها نشان داد غلظت‌های متفاوت شوری، سالیسیلیک اسید و برهم‌کنش آنها در سطح ۱ درصد اثر معنی‌داری بر محتوای نسبی آب برگ، نشت یونی، مالون‌دی‌آلدهید، پرولین و فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه سیاه‌دانه داشتند. اثر غلظت‌های متفاوت شوری و سالیسیلیک اسید نیز در سطح ۱ درصد و برهم‌کنش آنها در سطح ۵ درصد بر محتوای آنتوسیانین و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار بود.

جدول ۱- تجزیهٔ واریانس صفات بررسی‌شده در گیاه دارویی سیاه‌دانه

منابع تغییرات	درجهٔ آزادی	نشت یونی	محتوای نسبی آب	آنتوسیانین	مالون‌دی‌آلدهید	پرولین	آنزیم کاتالاز	آنزیم آسکوربات پراکسیداز
سالیسیلیک اسید	۲	۹۳۳/۷**	۵۵۸/۴۹**	۵/۳۳**	۰/۰۱۷**	۸/۹**	۰/۳۵۳**	۵/۰۱**
شوری	۲	۱۸۵۵/۱**	۳۳۷/۶**	۳/۸۶**	۰/۰۱۸**	۲/۱**	۰/۰۰۶**	۱/۸۸**
سالیسیلیک اسید- شوری	۴	۲۸۴/۵**	۴۴/۱**	۰/۱۵*	۰/۰۰۸**	۰/۷**	۰/۰۰۲۲۴**	۰/۲۷۸*
خطا	۱۸	۱۰/۲۸	۴/۳۶	۰/۰۴۸	۰/۰۰۰۲	۰/۰۲	۰/۰۰۰۰۷	۰/۱۲

* و ** به‌ترتیب نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد هستند.

محتوای نسبی آب برگ (RWC): اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ یکی از شاخص‌هایی است که مقاومت گیاه را به تنش شوری تخمین می‌زند. محتوای نسبی آب برگ سیاه‌دانه در تنش شوری کاهش معنی‌داری نشان داد. کاربرد سالیسیلیک اسید افزایش درصد آب بافت برگ را در همهٔ شرایط بررسی‌شده و غیرتنش سبب شد (شکل ۱). در شرایط بدون شوری تفاوت معنی‌داری بین گیاهان

Archive of SID

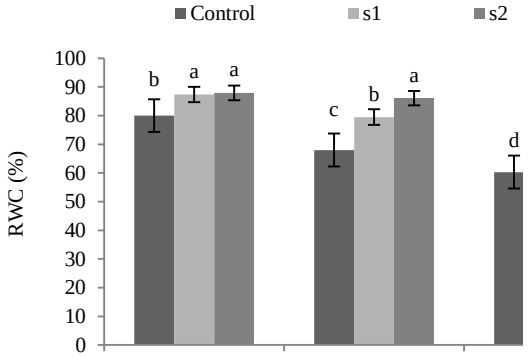
www.SID.ir

تیمارشده با سالیسیلیک اسید و تیمارنشده با آن مشاهده شد. میانگین درصد تغییرات محتوای نسبی آب برگ در تیمار ۲۵ و ۷۵ میلی‌مولار شوری نسبت به شاهد (بدون شوری) به‌ترتیب در نبود سالیسیلیک اسید، ۱۷/۶ و ۳۲/۶ درصد کاهش، در ۰/۷۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید ۹/۹ و ۱۰/۴ درصد کاهش و در ۱/۵ میلی‌مولار به‌ترتیب ۲ و ۱۰/۵ درصد کاهش به دست آمد (شکل ۱).

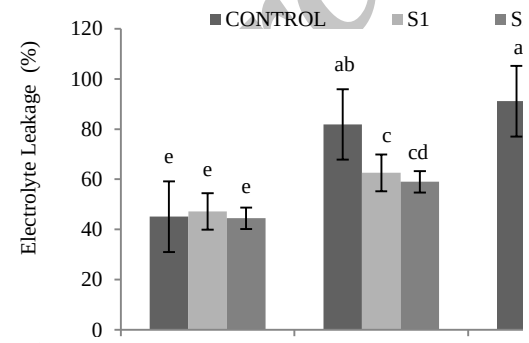
نشت‌یونی: نتایج مقایسهٔ میانگین‌ها نشان دادند تنش شوری افزایش نشت‌یونی را به فضای خارج سلولی باعث می‌شود و تیمار گیاهان با سالیسیلیک اسید مقدار نشت‌یونی را کاهش داد (شکل ۲). در شرایط بدون شوری (غلظت صفر سدیم کلرید) تیمار با سالیسیلیک اسید اثری بر مقدار نشت‌یونی در برگ گیاه سیاه‌دانه نداشت.

میانگین درصد تغییرات نشت یونی در تیمار ۲۵ و ۷۵ میلی‌مولار شوری نسبت به شاهد (بدون شوری) در شرایط بدون سالیسیلیک اسید به‌ترتیب ۴۵ و ۵۰/۶ درصد افزایش و در تیمار ۰/۷۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید، ۷/۶ و ۳۴/۲۴ درصد افزایش و در ۱/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید، ۲۴/۶ و ۴/۷ درصد افزایش یافت (شکل ۲).

مالون‌دی‌آلدهید: در پژوهش حاضر مقدار مالون‌دی‌آلدهید، شاخص پراکسیداسیون لیپید، اندازه‌گیری شد. مقایسهٔ میانگین‌ها نشان داد تنش شوری افزایش معنی‌دار میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء را ازنظر آماری سبب می‌شود. تیمار با سالیسیلیک اسید در شرایط بدون تنش شوری اثری بر مقدار مالون‌دی‌آلدهید نداشت (شکل ۳)؛ اما در تنش شوری مالون‌دی‌آلدهید را کاهش داد. میانگین درصد تغییرات مالون‌دی‌آلدهید در تیمار ۲۵ و ۷۵ میلی‌مولار شوری نسبت به شاهد (بدون شوری) به‌ترتیب در رایط بدون کاربرد سالیسیلیک اسید، ۵۰ و ۵۵/۵ درصد افزایش ، در تیمار ۰/۷۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید، ۳/۶ و ۱۷/۱۱ درصد افزایش و در ۱/۵ سالیسیلیک اسید، ۱۹/۲ و ۵/۲ درصد افزایش نشان داد (شکل ۳).



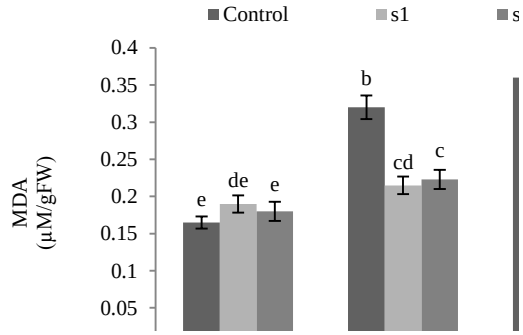
شکل۱- اثر سالیسیلیک اسید بر محتوای نسبی آب برگ در گیاه سیاه‌دانه در شرایط شوری (NaCl) و بدون شوری: S1 (۰/۷۵) و S2 (۱/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید)- مقادیر، میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند. حروف متفاوت، بیان‌کنندهٔ تفاوت معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ هستند.



شکل۲- اثر سالیسیلیک اسید بر مقدار نشت یونی در گیاه سیاه‌دانه در شرایط شوری (NaCl) و بدون شوری: S1 (۰/۷۵) و S2 (۱/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید)- مقادیر، میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند. حروف متفاوت، بیان‌کنندهٔ تفاوت معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ هستند.

Archive of SID

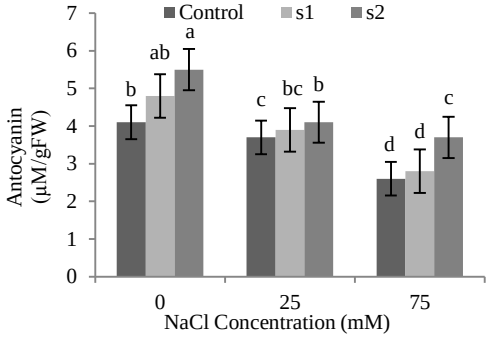
www.SID.ir



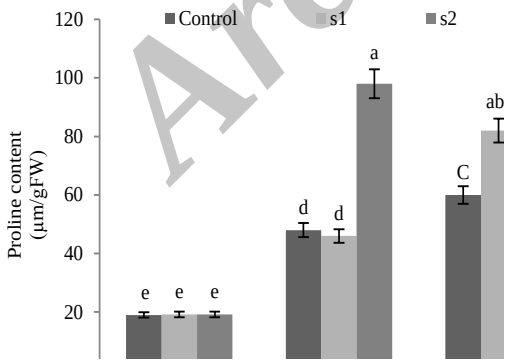
شکل۳- اثر سالیسیلیک اسید بر مقدار مالون‌دی‌آلدهید (MDA) در گیاه سیاه‌دانه در شرایط شوری (NaCl) و بدون شوری: S1 (۰/۷۵) و S2 (۱/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید)- مقادیر، میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند. حروف متفاوت، بیان‌کنندهٔ تفاوت معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ هستند.

آنتوسیانین: نتایج نشان دادند تنش شوری کاهش مقدار آنتوسیانین را در گیاه سیاه‌دانه باعث شد. استفاده از سالیسیلیک اسید مقدار آنتوسیانین را در شرایط تنش و غیر تنش (بدون کاربرد نمک) افزایش داد (شکل ۴). میانگین درصد تغییرات آنتوسیانین در تیمار ۲۵ و ۷۵ میلی‌مولار شوری نسبت به شاهد (بدون شوری) به‌ترتیب در حالت بدون سالیسیلیک اسید، ۱۰/۸ و ۵۷/۶ درصد کاهش؛ در تیمار ۰/۷۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید، ۲۳ و ۷۱/۴ درصد کاهش و در ۱/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید، ۳۴/۱ و ۴۸/۶ درصد کاهش یافت (شکل۴).

پرولین: مقایسهٔ میانگین حاصل از اندازه‌گیری پرولین در شکل ۵ نشان داده شده است. همان‌طورکه در شکل مشاهده می‌شود، تنش شوری مقدار پرولین را در برگ‌های سیاه‌دانه به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد. تیمار سالیسیلیک اسید در شرایط بدون تنش شوری اثری بر مقدار پرولین برگ نداشت؛ ولی در شرایط تنش شوری، غلظت ۱/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید افزایش مقدار پرولین را در مقایسه با گیاهانی باعث شد که با سالیسیلیک اسید تیمار نشده بودند. میانگین پرولین در تیمار ۲۵ و ۷۵ میلی‌مولار شوری نسبت به شاهد (بدون تیمار شوری) در نبود سالیسیلیک اسید به‌ترتیب، ۶۰/۴ و ۶۸/۳ درصد افزایش؛ در ۰/۷۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید، ۵۸/۲ و ۷۶/۵ درصد افزایش و در ۱/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید به‌ترتیب ۸۰/۴ و ۸۰/۴ درصد افزایش به دست آمد (شکل ۵).



شکل۴- اثر سالیسیلیک اسید بر مقدار آنتوسیانین در گیاه سیاه‌دانه در شرایط شوری (NaCl) و بدون شوری: S1 (۰/۷۵) و S2 (۱/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید)- مقادیر، میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند. حروف متفاوت، بیان‌کنندهٔ تفاوت معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ هستند.



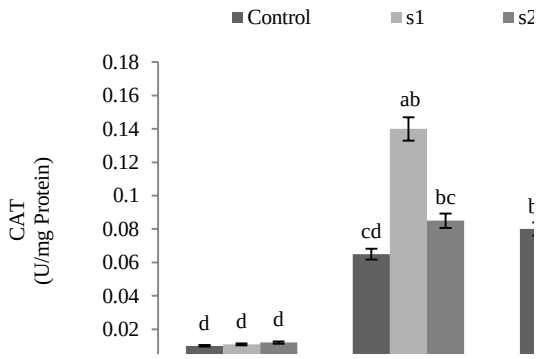
شکل۵- اثر سالیسیلیک اسید بر مقدار پرولین در گیاه سیاه‌دانه در شرایط شوری (NaCl) و بدون شوری: S1 (۰/۷۵) و S2 (۱/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید)- مقادیر، میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند. حروف متفاوت، بیان‌کنندهٔ تفاوت معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ هستند.

Archive of SID

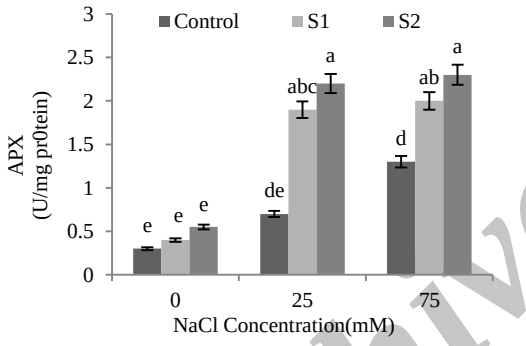
www.SID.ir

فعالیت آنزیم کاتالاز: مقایسهٔ میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز بیان‌کنندهٔ افزایش فعالیت این آنزیم در شرایط تنش شوری بود (شکل ۶). در همهٔ غلظت‌های شوری، غلظت سالیسیلیک اسید فعالیت این آنزیم را افزایش داد؛ هرچند این افزایش، بین غلظت‌های بررسی‌شدهٔ سالیسیلیک اسید در همهٔ غلظت‌های شوری معنی‌دار نبود؛ اما میانگین درصد تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار۲۵ و ۷۵ میلی‌مولار شوری نسبت به شاهد (بدون شوری) در شرایط بدون سالیسیلیک اسید به‌ترتیب ۸۴/۶ و ۸۷/۵ درصد افزایش، در تیمار ۰/۷۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید، ۹۲/۸ و ۹۳/۷ درصد افزایش و در ۱/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید، ۸۵/۸ و ۹۲/۳ درصد افزایش نشان داد (شکل ۶).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: براساس نتایج، غلظت‌های ۲۵ و ۷۵ میلی‌مولار شوری افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را باعث شد (شکل ۷). به کار بردن سالیسیلیک اسید، فعالیت این آنزیم را در تنش شوری افزایش داد و بین غلظت‌های متفاوت سالیسیلیک اسید در شاهد (بدون شوری) اختلاف معنی‌داری وجود نداشت؛ اما در سایر غلظت‌های شوری اختلاف معنی دار مشاهده شد. میانگین درصد تغییرات فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمار ۲۵ و ۷۵ میلی‌مولار شوری نسبت به شاهد در شرایط کاربرد سالیسیلیک اسید، ۵۷/۱ و ۷۶/۹ درصد افزایش، در تیمار ۰/۷۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید، ۷۸/۹ و ۸۰ درصد افزایش و در ۱/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید، ۷۵ و ۷۶ درصد افزایش یافت (شکل ۷).



شکل۶- اثر سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه سیاه‌دانه در شرایط شوری (NaCl) و بدون شوری: S1 (۰/۷۵) و S2 (۱/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید)- مقادیر، میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند. حروف متفاوت، بیان‌کنندهٔ تفاوت معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ هستند.



شکل۷- اثر سالیسیلیک اسید برآسکوربات پراکسیداز در گیاه سیاه‌دانه در شرایط شوری (NaCl) و بدون شوری: S1 (۰/۷۵) و S2 (۱/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید)- مقادیر، میانگین سه تکرار ± انحراف معیار هستند. حروف متفاوت، بیان‌کنندهٔ تفاوت معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ هستند.

بحث

نتایج حاصل از پژوهش حاضر بیان‌کنندهٔ رابطهٔ مستقیم بین افزایش غلظت شوری و کاهش شاخص‌های فیزیولوژیک در گیاه سیاه‌دانه است. یکی از تغییرات بیوشیمیایی که در تنش‌های محیطی ازجمله تنش شوری رخ می‌دهد، تولید انواع ROS است (Garratt *et al.*, 2002). گیاهان

Archive of SID

www.SID.ir

برای مقاومت دربرابر تنش اکسیداتیو ایجادشده باید از سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی یا غیرآنزیمی استفاده کنند. گزارش‌های متعدد نشان می‌دهند تنش شوری کاهش شاخص‌های فیزیولوژیک مانند محتوای نسبی آب برگ و آنتوسیانین و افزایش معنی‌دار نشت یونی و فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز را موجب شده است (Momeni *et al.*, 2013; Jaleel *et al.*, 2013).

باتوجه‌به نتایج پژوهش حاضر، محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید اثر جبران‌کننده‌ای بر شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه سیاهدانه در شرایط تنش شوری داشت. محتوای نسبی آب برگ، شاخصی برای سنجش میزان تنش گزارش شده است (Gholami *et al.*, 2013). کاهش میزان محتوای نسبی آب برگ مربوط به کاهش جذب آب به گیاه است؛ زیرا پتانسیل اسمزی بسیار منفی محلول‌های شور خاک مانع از جذب آب به گیاه می‌شود و درنتیجه به پدیده‌ای به‌نام خشکی فیزیولوژیک منجر می‌شود. نمک کاهش پتانسیل آب خاک را باعث می‌شود و گیاه به کم‌آبی دچار می‌شود که بسته‌شدن روزنه‌ها را سبب می‌شود (Salimi *et al.*, 2012). کاربرد سالیسیلیک اسید در گیاه سیاه‌دانه در تنش شوری، افزایش محتوای رطوبت نسبی برگ را باعث می‌شود و به نظر می‌رسد دلیل احتمالی آن افزایش محلول‌های سازگار و درنتیجه کاهش پتانسیل اسمزی گیاهان باشد که افزایش جذب آب را در محیط‌های نامساعد سبب می‌شود (Levent Tuna *et al.*, 2007). همچنین Daneshmand و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند محتوای نسبی آب برگ در گیاه گلرنگ، بر اثر تیمار سالیسیلیک اسید در شرایط تنش شوری افزایش یافت که با نتایج ما مطابقت دارد. تیمار سالیسیلیک اسید به تولید اسمولیت‌ها برای حفظ فشار اسمزی گیاه در تنش شوری کمک می‌کند. تولید اسمولیت‌ها فشار اسمزی داخل سلول را کاهش می‌دهد که هم به حفظ آب داخل سلول کمک می‌کند و مانع از خشکی سلول می‌شود و هم با کمک به جذب آب از محلول خاک افزایش فشار آماس و میزان محتوای نسبی آب برگ را باعث می‌شود (Levent Tuna *et al.*, 2007).

غشای سلولی یکی از هدف‌های اولیه در بسیاری از تنش‌های محیطی ازجمله شوری به شمار می‌رود و ثبات غشا در شرایط تنش، یکی از نشانه‌های تحمل است؛ بنابراین اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدهید تولیدشده در پراکسیداسیون لیپیدها و اندازه‌گیری میزان نشت یونی، شاخص‌های خوبی برای اندازه‌گیری میزان آسیب اکسیداتیو واردشده به غشا هستند (Bandeoglu *et al.*, 2004). بر اثر آسیب‌پذیری غشای سیتوپلاسمی، محتویات سلول به بیرون تراوش می‌کند که مقدار این خسارت با اندازه‌گیری نشت یونی تعیین می‌شود (Jouyban, 2012). گزارش شده است تنش شوری یا خشکی افزایش مقدار پراکسیداسیون لیپیدها و نشت یونی را در گیاهان حساس به این تنش‌ها موجب می‌شوند (Juan *et al.*, 2005)؛ بنابراین به نظر می‌رسد افزایش پراکسیداسیون لیپیدها یا نشت یونی در گیاه بررسی‌شده در شرایط تنش، از افزایش تولید انواع

Archive of SID

www.SID.ir

ROS در شرایط تنش اکسیداتیو ناشی شود که حذف یا خاموش‌کردن آنها خارج از توان گیاه بوده است و نشان‌دهندهٔ این است که سازوکارهای دفاعی ایجادشده در گیاه درمقابل تنش اکسیداتیو کافی نبوده‌اند (Jouyban, 2012). همچنین Daneshmand و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند نشت یونی در گیاه گلرنگ، در شرایط تنش شوری افزایش یافته است که با نتایج ما مطابقت دارد.

تنش شوری، تنش اکسیداتیو را سبب می‌شود. گیاهان برای مقابله با این اکسیدان‌ها، سازوکارهای حفاظتی دارند که شامل مولکول‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان هستند. آنتی‌اکسیدان‌ها به سه گروه تقسیم‌بندی می‌شوند که عبارتند از: ۱- ترکیبات غشایی و محلول در چربی مانند کارتنوئیدها؛ ۲- ترکیبات محلول در آب مانند فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها و ۳- آنزیم‌هایی مانند کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز. آنزیم‌ها در افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی نقش دارند (Agarwal and Pandey, 2004). نتایج ما نشان دادند تنش شوری کاهش مقدار آنتوسیانین را در گیاه سیاه‌دانه باعث شد. استفاده از سالیسیلیک اسید مقدار آنتوسیانین را در شرایط تنش و غیرتنش (عدم کاربرد نمک) افزایش داد. فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌های سنتزشونده از مسیر فنیل پروپانوئید با عملکرد آنتی‌اکسیدانی خود، خاموش‌کننده یا جاروب‌کنندهٔ انواع ROS در گیاهان هستند (Syvacy and Sokmen, 2004). این ترکیبات با سازوکارهای متعددی مانند قطع‌کردن واکنش‌های زنجیره‌وار اکسیداسیون، اهدای هیدروژن، کلات‌کردن یون‌های فلزی یا قرارگرفتن به‌صورت سوبسترای آنزیم‌های پراکسیداز نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا می‌کنند (Chu *et al.*, 2000). کاربرد سالیسیلیک اسید افزایش ترکیبات فنلی و کاتچین و درنتیجه افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را در کالوس‌های در معرض تنش گیاه *Lepidium meyenni* موجب شده است (Wagner, 1979). علاوه بر این، گزارش شده است تیمار سالیسیلیک اسید مقدار آنتوسیانین را در هویج (Eraslan *et al.*, 2007) و اسفناج (Eraslan *et al.*, 2008) در شرایط تنش شوری افزایش داده است. افزایش ترکیبات مختلف فنلی مانند آنتوسیانین و آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی کاهش‌دهندهٔ آثار تنش است (Syvacy and Sokmen, 2004).

یکی از راه‌های مقابله با تنش‌های محیطی مانند شوری و خشکی، سنتز ترکیبات اسموتیک و محافظ اسمزی است که پرولین یکی از این ترکیبات است. افزایش پرولین در گیاهان هنگام تنش، نوعی سازوکار دفاعی است. پرولین با چندین سازوکار مانند تنظیم اسمزی و جلوگیری از تخریب آنزیم، تحمل گیاه را دربرابر تنش‌ها افزایش می‌دهد. کاربرد سالیسیلیک اسید درمقابل تنش می‌تواند افزایش میزان پرولین را باعث شود. گزارش شده است پرولین درگیاه *Salvia officinalis* و توتون (Celik and Atak, 2012) در تنش شوری به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که نشان‌دهندهٔ به کار افتادن سامانهٔ مقاومتی گیاه و تولید اسمولیت دربرابر آسیب‌های ناشی از تنش شوری در گیاه است. گیاه *Salvia officinalis* با

Archive of SID

www.SID.ir

تیمار سالیسیلیک اسید، میزان پرولین را افزایش داد (Khosravi *et al*., 2011). پرولین علاوه‌براینکه ماده‌ای اسمززا و محافظ اسمزی است، در حفظ تعادل آب، حفظ ثبات پروتئین‌ها، حفظ ساختار سه‌بعدی پروتئین‌ها، تثبیت‌کردن غشاها و دستگاه سنتز پروتئین، کاهش خطرهای ناشی از تولید ROS، جاروب‌کردن رادیکال‌های هیدروکسیل و تنظیم pH سلولی نقش دارد (Verbruggen and Hermans 2008). گزارش شده است پرولین با جاروب‌کردن یا کاهش تولید اکسیژن یکتایی در کاهش آسیب نوری غشای تیلاکوئیدها مؤثر بوده است (Chaitanya *et al*., 2009).

در شرایط تنش، میزان تولید انواع ROSها بیشتر می‌شود و درنتیجه تنش اکسیداتیو رخ می‌دهد. آنزیم‌هایی مانند آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز از آنزیم‌های مهم سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاهان هستند (Abdul Jaleel *et al*., 2009). با افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز و درنتیجه فعال‌شدن چرخهٔ آسکوربات - گلوتاتیون و افزایش فعالیت جاروب کننده‌های هیدروژن پراکسید مانند کاتالاز و سایر پراکسیدازها، با تنش اکسیداتیو مقابله می‌شود. افزایش فعالیت این آنزیم‌ها با کاهش مقدار پراکسیداسیون لیپید، هیدروژن پراکسید و نشت یونی (He and Zhu, 2008) همراه است.

افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بر اثر تیمار سالیسیلیک اسید در تنش شوری در سایر گیاهان ازجمله اسفناج (Eraslan *et al*., 2008)، گندم (Multu *et al*., 2009)، ذرت (Momeni *et al*., 2013) و درمنه (Eskandari Zanjani, 2013)، گزارش شده است. سالیسیلیک اسید با فعال‌کردن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان آنزیمی، افزایش مقاومت گیاه سیاه‌دانه را به تنش اکسیداتیو ناشی از تنش شوری موجب می‌شود.

جمع‌بندی

تنش شوری در گیاه سیاه‌دانه کاهش محتوای نسبی آب برگ و محتوای آنتوسیانین و نیز افزایش نشت یونی، مالون‌دی‌آلدهید، پرولین، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز را موجب شد.

تیمار سالیسیلیک اسید ویژگی‌های بررسی‌شده را بهبود می‌دهد و با افزایش سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی (کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز) و غیرآنزیمی (آنتوسیانین) تنش اکسیداتیو را کاهش می‌دهد که افزایش مقاومت گیاه را به تنش موجب می‌شود. باتوجه‌به وجود زمین‌های شور در بیشتر مناطق ایران، توجه بیشتر به کاربرد هورمون گیاهی سالیسیلیک اسید در مناطق شور پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری

نگارندگان از همهٔ اساتید ارجمند و آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه ایلام برای همکاری در انجام مراحل گوناگون پژوهش حاضر سپاسگزاری می‌کنند.

References

Abdul Jaleel, C., Riadh, K., Gopi, R., Manivannan, P., Ines, J., Al-Juburi, H. J., Chang-Xing, Z., Hong-Bo, S. and Panneerselvam, R. (2009) Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constrains. Acta Physiologiae Plantarum 31: 427-436.

Archive of SID

www.SID.ir

stress in *Cassia angustifolia*. Iranian Journal of Plant Biology 48(4): 555-560.

Antuono, D. L. F., Moretti, A. and Lovato, A. F. S. (2002) Seed yield, yield components, oil content and essential oil content and composition of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascena*. Industrial Crops and Products 15: 59-69.

Askary, M., Amini, F. and Hosseinpour, L. (2016) Study of variability in growth, antioxidant defense system and protein content by zinc element application in periwinkle (*Catharanthus roseus* L.) under salinity stress. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 32: 35-46 (in Persian).

Bandeoglu, E., Egidogan, F., Yucel, M. and Avni Oktem, H. (2004) Antioxidant responses of shoots and roots of lentil to NaCl salinity stress. Plant Growth Regulation 42: 69-77.

Bassim Atta, M. (2003) Some characteristic of *Nigella* (*Nigella sativa* L.) seed cultivated in Egypt and its lipid profile. Food Chemistry 83(1): 63-68.

Bates, L. S. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 39: 205-207.

Behnamnia, M. and Shenavai Zare, A. (2013) The effects of salicylic acid on licorice seedlings *Glycyrrhiza glabra* L.) under salt stress. Journal of Plant Process and Function 3: 73-83 (in Persian).

Belkhadi, A., Hediji, H., Abbes, Z., Nouairi, I., Barhoumi, Z., Zarrouk, M., Chaibi, W. and Djebali, W. (2010) Effects of exogenous salicylic acid pre-treatment on cadmium toxicity and leaf lipid content in *Linum usitatissimum* L.. Ecotoxicology and Environmental Safety uk 73(5): 1004-1011.

Celik, O. and Atak, C. (2012) The effect of salt stress on antioxidative enzymes and proline content of two Turkish *tobacco varieties*. Turkish Journal of Biology 36: 339-356.

Chaitanya, K. V., Rasineni, G. K. and Agarwal, S. and Pandey, V. (2004) Antioxidant enzyme responses to NaCl Reddy, A. R. (2009) Biochemical responses to drought stress in mulberry *(Morus alba* L.*)*: evaluation of proline, glycine betaine and abscisic acid accumulation in five cultivars. Acta Physiologiae Plantarum 31: 437-447.

Chaparzadeh, N. and Zarandi, L. (2011) The effects of salinity on pigments content and growth of two canola (*Brassica napus*) cultivars. Iranian Journal of Plant Biology 3(9): 13-26 (in Persian).

Chu, Y. H., Chang, C. L. and Hsu, H. F. (2000) Flavonoid content of several vegetable and their antioxidant activity. Journal of the Science of Food and Agriculture. 80: 561-566.

Daneshmand, F., Arvin, M. J. and Keramat, B. (2014) Salicylic acid induced changes in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under salinity stress. Iranian Journal of Plant Biology 27 (2): 204-215 (in Persian).

Elyasi, R., Majdi, M., Bahramnejad, B. and Mirzaghaderi, Gh. (2016) Spatial modulation and abiotic elicitors responses of the biosynthesis related genes of mono/triterpenes in black cumin (*Nigella sativa*). Industrial Crops and Products 79: 240-247.

Eraslan, F., Inal, A., Gunes, A. and Alpaslan, M. (2007) Impact of exogenous salicylic acid on the growth, antioxidant activity and physiology of carrot plants subjected to combined salinity and boron toxicity. Scientia Horticulturae 113: 120-128.

Eraslan, F., Inal, A., Pilbeam, D. J. and Gunes, A. (2008) Interactive effects of salicylic acid and silicon on oxidative damage and antioxidant activity in spinach (*Spinacia oleracea* L. cv. Matador) grown under boron toxicity and salinity. Plant Growth Regulation 55: 207-219.

Eskandari Zanjani, K., Shirani Rad, A. H., Moradi Aghdam, A. and Taherkhani, T.

Archive of SID

www.SID.ir

(2013) Effect of salicylic acid application under salinity conditions on physiological and morphological characteristics of *Artemisia* (*Artemisia annua* L.). Journal of Crop Ecophysiology 6(4): 415-428 (in Persian).

Garratt, L. C., Janagoudr, B. S., Lowe, K. C., Anthony, P., Power, J. B. and Davey, M. R. (2002) Salinity tolerance and antioxidant status in cotton cultures. Free Radical Biology and Medicine 33: 511-502.

Gholami, R., Kashefi, B. and Saeidi Sar, S. (2013) Effect salicylic acid on alleviation of salt stress on growth traits of *Salvia limbata* L.. Journal of Plant Ecophysiology 15: 63-73 (in Persian).

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 (in Persian).

Gurung, R. L., Lim, S. N., Khaw, A. K., Soon, J. F., Shenoy, K., Ali, S. M., Jayapal, M., Sethu, S., Baskar, R. and Hande, M. P. (2010) Thymoquinone induces telomere shortening, DNA damage and apoptosis in human glioblastoma cells. Plos One 5(8): e12124

Hajar, A. S., Zidan, M. A. and Al-zahrani, H. S. (1996) Effect of salinity stress on the germination, growth and physiological activities of *Nigella sativa* L.. The Arab Gulf Journal of Science Reseach 14(2): 445-454.

Hamed, K. B., Castagna, A., Salem, E., Ranieri, A. and Abdelly, C. (2007) Sea fennel (*Crithmum maritimum* L.) under salinity conditions: a comparison of leaf and root antioxidant responses. Plant Growth Regulation 53(3): 185-194.

He, Y. and Zhu, Z. Y. (2008) Exogenous salicylic acid alleviates NaCl toxicity and increases antioxidative enzyme activity in *Lycopersicun esculentum*. Biological Plantarum 52: 792-795.

Heath, R. L. and Packer, L. (1969) Photoperoxidation in isolated chloroplast kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics 125: 189-198.

Jaleel, C. A., Sankar, B., Sridharan, R. and Panneerselvam, R. (2013) Soil salinity alters growth, chlorophyll content and secondary metabolite accumulation in *Catharanthus roseus*. Turkish Journal of Biology 32: 79-83.

Jouyban, Z. (2012) The effect of salt stress on plant growth. Technical Journal of Engineering and Applied Science 2(1): 7-10.

Juan, M., Rivero, R. M., Romero, L. and Ruiz, J. M. (2005) Evaluation of some nutritional and biochemical indicators in selecting salt-resistant tomato cultivars. Environmental and Experimental Botany 54(3): 193-201.

Khosravi, S., Baghizadeh, A. and Nezami, M. T. (2011) The salicylic acid effect on the *Salvia officinalis* L. under salinity (NACL) stress. Journal of Stress Physiology and Biochemistry 7(4): 80-87.

Levent Tuna, A., Kaya, C., Dikilitas, M., Yokas, I. B., Burun, B. and Altunlu, H. (2007) Comparative effects of various salicylic acid derivatives on key growth parameters and some enzyme activities in salinity stressed maize (*Zea mays* L.) plants. Pakistan Journal of Botany 39(3): 787-798.

Momeni, N., Arvin, M., Khagoei negad, Gh., Keramat, B. and Daneshmand, F. (2013) Effects of sodium chloride and salicylic acid on some photosynthetic parameters and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) plants. Plant Biology 5(15): 15-30 (in Persian).

Multu, S., Alici, O. and Nalbantoglu, B. (2009) Effects of salicylic acid and salinity on apoplastic antioxidant

Archive of SID

www.SID.ir

enzymes in two wheat cultivars differing in salt tolerance. Biologia Plantarum 53: 344-338.

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

Orcutt, D. M. and Nilsen, E. T. (2000) The physiology of plants under stress, soil and biotic factors. John Wiley and Sons, New York.

Salem, M. L. (2005) Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seeds. International Immunopharmacology 5: 1749-1770.

Salimi, F., Shekari, F., Azimi, M. R. and Zangani, E. (2012) Role of methyl jasmonate on improving salt resistance through some physiological characters in German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). Iranian Journal of Plant Biology 27: 700-711 (in Persian).

Shakirova, F. M., Sakhabutdinova, A. R., Bozrutkova, M. V., Fatkhutdinova, R. A. and Fatkhutdinova, D. R. (2003) Changes in the hormonalstatus of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. Plant Scienc 164: 317-322.

Syvacy, A. and Sokmen, M. (2004) Seasonal changes in antioxidant activity, total phenolic and nthocyanin constituent of the stems of two Morus species (*Morus alba* L.and *Morus nigra* L.). Plant Growth Regulation 44: 251-256.

Verbruggen, N. and Hermans, C. (2008) Proline accumulation in plants: a review. Amino acids 35: 753-759.

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

Wagner, G. J. (1979) Content and vacuole/ extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids and anthocyanin in protoplasts. Plant physiology 64: 88-93.

Archive of SID

www.SID.ir