به‌زراعی کشاورزی

دوره ۱۷ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۴

صفحه‌های ۷۲۷-۷۱۳

تأثیر کم‌آبیاری و اسید سالیسیلیک بر اسانس و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه رازیانه

فاطمه سالارپور غربا[۱]* و حسن فرحبخش[۲]

۱. کارشناس ارشد، گروه زراعت، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
۲. دانشیار گروه زراعت، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۳/۰۶/۲۵ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۷/۱۷

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر اسید سالیسیلیک بر خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.) تحت شرایط کم‌آبی، آزمایشی به‌صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح مربع لاتین با سه تکرار، در مزرعهٔ تحقیقاتی دانشگاه شهید باهنر کرمان در سال ۱۳۹۱ به اجرا درآمد. فاکتور اصلی، آبیاری در سه سطح (۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)؛ و فاکتور فرعی، غلظت اسید سالیسیلیک در سه سطح (صفر، ۰/۵ و یک میلی‌مولار) درنظر گرفته شد. محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در مرحلهٔ چهاربرگی و قبل از اعمال تیمار آبیاری انجام گرفت. کم‌آبیاری سبب کاهش معنادار عملکرد دانه، درصد و عملکرد اسانس و افزایش معنادار آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گایاکول پراکسیداز نسبت به تیمار شاهد شد. با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک، افزایش معناداری در عملکرد دانه، درصد و عملکرد اسانس و آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گایاکول پراکسیداز نسبت به تیمار شاهد دیده شد. همچنین اثر متقابل کم‌آبیاری در اسید سالیسیلیک بر عملکرد دانه، عملکرد اسانس و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان معنادار بود. افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نشان‌دهندهٔ کاهش خسارت اکسیداتیو و نقش اسید سالیسیلیک در افزایش تحمل رازیانه در برابر کمبود آب است.

کلیدواژه‌ها: سوپراکسید دیسموتاز، صفات بیوشیمیایی، صفات فیزیولوژیکی، عملکرد اسانس، گایاکول پراکسیداز.

* نویسنده مسئول Email: salarpourfatemeh@gmail.com

۱. مقدمه

تنش‌ها به‌عنوان عوامل محدودکنندهٔ رشد گیاهان و تولید محصولات زراعی جهان مطرح‌اند [۳]. تنش خشکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی محدودکنندهٔ تولید گیاهان زراعی در سراسر جهان است [۳۸] که تأثیر آن بر رشد، به شدت و مدت زمان تنش، گونهٔ گیاهی و مرحلهٔ رشد گیاه بستگی دارد [۲۷]. بروز تنش خشکی سبب اختلالات متابولیسمی در سلول‌های گیاهی می‌شود که از آن جمله می‌توان به افزایش تولید فرم‌های فعال اکسیژن نظیر رادیکال سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل به‌عنوان یکی از فاکتورهای اصلی اختلالات متابولیسمی سلول اشاره کرد [۳۶]. ازآنجا که پراکسید هیدروژن تأثیر مهمی به‌عنوان پیام‌رسان ثانویه برای القای ژن‌ها در پاسخ به تنش‌های محیطی دارد، این افزایش موقتی پراکسید هیدروژن، مقاوم کردن[1] را به عهده دارد که موجب قدرت سیستم دفاعی گیاهان می‌شود [۱۹].

گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو ایجادشده، سیستم دفاعی کارامدی دارند که می‌تواند رادیکال‌های آزاد را از بین ببرد یا خنثی کند. این سیستم دفاعی شامل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز و سیستم غیرآنزیمی شامل آسکوربات، توکوفرول، کاروتنوئیدها و ترکیبات متفرقه (از جمله فلاونوئیدها، مانیتول‌ها و پلی‌فنول‌ها) است [۱۰]. افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با افزایش شدت تنش خشکی در گندم و برنج گزارش شده است [۴۴ ، ۳۳].

اسید سالیسیلیک، نوعی ترکیب فنولی گیاهی است که هورمونی گیاهی و تنظیم‌کنندهٔ رشد محسوب می‌شود و تأثیر آن در زمینهٔ سازوکارهای دفاعی در برابر عوامل استرس‌زای زیستی و غیرزیستی به‌خوبی مشخص شده است. این اسید از جمله ترکیباتی است که در ایجاد تحمل در برابر تنش خشکی در گیاهان مؤثر است [۲۴]. علاوه‌بر این، اسید سالیسیلیک با تأثیر بر ثبات و پایداری[2] کلسیم در سلول، موجب افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی می‌شود. در شرایط عادی، مقدار کلسیم آزاد در سیتوسول بسیار اندک و در اندامک‌های درون‌سلولی و خارج سلول غلظت آن بیشتر است. سیگنال‌های خارجی سلول می‌توانند پاسخ و سازش گیاهان به تغییرات محیطی را از طریق تنظیم حضور کلسیم در فضاهای مختلف سلول القا کنند [۳۲]. کلسیم، ترشح و فعال شدن آنزیم گایاکول پراکسیداز را در گیاه گردو تنظیم می‌کند [۴۸].

محققان با تأکید بر تأثیر سیستم آنتی‌اکسیدان در فرایند خنثی‌سازی آثار تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی در دو گیاه لوبیا و گوجه‌فرنگی نشان دادند که به‌کار بردن اسید سالیسیلیک به‌صورت خارجی در شرایط تنش، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز را بهبود می‌بخشد [۴۳]. یک تحقیق مشابه نیز افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را پس از کاربرد اسید سالیسیلیک تحت تنش سرما در گیاه گندم گزارش کرد [۵۰]. همچنین افزایش فعالیت پراکسیداز در گیاه نخود پس از به‌کار بردن اسید سالیسیلیک، تحت تنش گرما گزارش شده است [۱۲].

رازیانه[3] نوعی گیاه دارویی اسانس‌دار است که اهمیت زیادی در ایران و جهان دارد و از مادهٔ مؤثرهٔ آن در صنایع مختلف داروسازی، غذایی، آرایشی و بهداشتی استفاده می‌شود. مهم‌ترین ترکیب اسانس رازیانه را آنتول تشکیل می‌دهد که تأثیری تعیین‌کننده در کیفیت اسانس آن دارد. ترکیب‌های مهم دیگر شامل فنکون، لیمونن، استراگول، آلفاپینن و آنیزالدئید است [۳۱]. براساس شواهد موجود، تشکیل و تجمع اسانس در گیاهان تحت شرایط محیطی

1 . Hardening

2 . Homeostasis

3 . *Foeniculum vulgare* Mill

خشک، به افزایش تمایل نشان می‌دهد [۹ ، ۴]. هدف پژوهش حاضر، بررسی اثر کمبود آب و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک بر بهبود برخی خصوصیات بیوشیمیایی گیاه دارویی رازیانه بود.

۲. مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر در مزرعهٔ تحقیقاتی دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان واقع در ۶ کیلومتری جنوب شرقی کرمان با طول جغرافیایی ۵۷ درجه و ۱ دقیقهٔ شرقی و عرض جغرافیایی ۳۰ درجه و ۱۵ دقیقهٔ شمالی با میانگین بارندگی کمتر از ۱۵۰ میلی‌متر و ارتفاع ۱۷۴۵ متر از سطح دریا، در بهار ۱۳۹۱ انجام گرفت. آب‌وهوای کرمان براساس روش آمبرژه خشک نیمه‌بیابانی است. بافت خاک محل آزمایش از نوع لومی - شنی بود. خصوصیات خاک آزمایش‌شده در جدول ۱ مشخص شده است.

جدول ۱. نتایج آزمایش خاک مربوط به مزرعهٔ آزمایشی در سال ۱۳۹۱

هدایت الکتریکی	اسیدیتهٔ	گل اشباع	کربن آلی	ازت کل	فسفر	پتاسیم	شن	لای	رس	HCO_3	SO_4^{2-}
(ds/m)			(٪)	(٪)	(mg/kg)		(٪)	(٪)	(٪)	(Me/lit)	
۳/۶	۷/۴		۰/۰۹	۰/۰۶	۱۲	۲۸۰	۷۴	۱۴	۱۲	۰/۸	۳۶

آزمایش به‌صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح مربع لاتین با سه تکرار صورت پذیرفت. به‌دلیل سهولت در اجرای آزمایش و افزایش دقت در بررسی اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک، تیمار آبیاری با سه سطح (۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)، فاکتور اصلی؛ و غلظت‌های اسید سالیسیلیک با سه سطح (صفر، ۰/۵ و یک میلی‌مولار)، فاکتورهای فرعی درنظر گرفته شدند. هر واحد آزمایشی (کرت) شامل پنج ردیف کاشت به‌طول ۳ متر و فاصلهٔ بین ردیف‌ها ۴۰ سانتی‌متر و فاصلهٔ گیاهان روی ردیف ۲۵ سانتی‌متر بود. در یک ردیف، فاصلهٔ بین کرت‌های اصلی ۲ متر و فاصلهٔ بین ردیف‌ها ۲/۵ متر درنظر گرفته شد تا رطوبت کرت‌های مجاور اثری بر هم نداشته باشند.

پس از اجرای مراحل آماده‌سازی و ایجاد جوی و پشته، اولین آبیاری قبل از کاشت انجام گرفت که پس از گاورو شدن زمین، عملیات کاشت رازیانه (تودهٔ اصفهان) در هفتهٔ اول فروردین، به‌صورت دستی روی پشته‌ها در عمق ۱/۵ سانتی‌متر اجرا شد و پس از استقرار گیاه در مرحلهٔ سه تا چهاربرگی محلول‌پاشی اول بر روی گیاه اعمال شد. محلول‌پاشی مرحلهٔ دوم یک هفته و اعمال تنش خشکی دو هفته بعد از محلول‌پاشی اول اجرا شد. برای آبیاری واحدهای آزمایشی از لوله‌های پلی‌اتیلن همراه با کنتور حجمی استفاده شد. مقدار آب لازم با استفاده از لایسیمترکار گذاشته‌شده در مزرعه و دور آبیاری با استفاده از تشتک تبخیر براساس ۱۰۰ میلی‌لیتر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A تعیین شد. در تمام فصل رشد وجین علف‌های هرز به‌صورت دستی انجام گرفت.

در مرحلهٔ ۵۰ درصد گلدهی، ۱۰ بوته برای هر تیمار در هر تکرار به‌طور تصادفی انتخاب و صفات مورد نظر اندازه‌گیری شد. در اواسط تا اواخر شهریور برای تعیین

عملکرد نهایی در هر کرت دو ردیف کناری و ۰/۵ متر از ابتدا و انتهای هر کرت به‌عنوان اثر حاشیه‌ای حذف شد و پس از آن برداشت گیاهان در سطح باقی‌مانده انجام گرفت. تجزیهٔ آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای آماری SAS و MSTAT-C و مقایسهٔ میانگین‌ها با آزمون دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

محاسبهٔ درصد اسانس و عملکرد اسانس

استخراج اسانس از بافت خشک گیاه به‌روش تقطیر با آب به‌وسیلهٔ کلونجر انجام گرفت. برای اندازه‌گیری وزن بذور خشک گیاه و نیز آماده‌سازی نمونه برای تهیهٔ اسانس، بذر گیاهان پس از برداشت به‌مدت دو هفته در دمای معمولی در شرایط سایه، در محیط آزمایشگاه خشک شدند. پس از پایان اسانس‌گیری، اسانس جمع‌آوری‌شده در قسمت مدرج دستگاه به یک لولهٔ آزمایش منتقل شد. سپس مقداری سولفات سدیم بی‌آب به آن اضافه شد تا کاملاً عاری از آب شود. مقدار اسانس با ترازوی دقیق آزمایشگاهی با دقت ۰/۰۰۰۱ اندازه‌گیری شد. عملکرد اسانس از ضرب درصد اسانس در عملکرد دانه به‌دست آمد [۲].

۱.۲. استخراج عصارهٔ آنزیمی

۵۰۰ میلی‌گرم از بافت‌های تر گیاهی در ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم (اسیدیتهٔ ۷/۵ و ۵۰ میلی‌مولار) حاوی پلی‌وینیل پیرولیدین ۱ درصد، Na_2-EDTA ۱ میلی‌مولار ساییده شد. تمام مراحل استخراج عصاره در یخ انجام گرفت. سپس عصاره‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در ۱۵۰۰۰g و در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. سنجش‌های آنزیمی در مایع رویی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری و در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد انجام پذیرفت [۱۱].

۲.۲. سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

در این روش، بازدارندگی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم، اساس اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم است. براساس این روش، ۳ میلی‌لیتر مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (اسیدیته ۷/۸)، متیونین ۱۳ میلی‌مولار، نیتروبلوتترازولیوم ۷۵ میکرومولار، ریبوفلاوین ۲۰ میکرومولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی بود. واکنش با برداشتن فویل آلومینیومی و قرار دادن نمونه‌ها در مقابل نور (۵۰۰۰ لوکس) شروع شد. پس از ۱۵ دقیقه نور قطع شده و بی‌درنگ جذب نمونه‌ها در ۵۶۰ نانومتر خوانده شد. در این آزمایش، دو نمونه شاهد استفاده شد که هر دو بدون عصارهٔ آنزیمی بودند. نمونهٔ اول بدون دریافت نور و نمونهٔ دوم ۱۵ دقیقه در مقابل منبع نوری قرار گرفت. یک واحد فعالیت آنزیمی مقداری از آنزیم است که موجب ۵۰ درصد ممانعت احیای نیتروبلوتترازولیوم در ۵۶۰ نانومتر می‌شود. میزان فعالیت آنزیم برحسب یک واحد در دقیقه به‌ازای میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد [۱۷].

۳.۲. سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز براساس روش پل و همکاران (۱۹۹۴) اندازه‌گیری شد. در این روش، ۳ میلی‌لیتر مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (اسیدیتهٔ ۷) گایاکول ۲۰ میلی‌مولار، آب اکسیژنهٔ ۱۰ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی بود. افزایش جذب به‌دلیل اکسیداسیون گایاکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر به‌مدت سه دقیقه اندازه‌گیری شد. در نهایت فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با استفاده از ضریب خاموشی معادل $۲۶/۶\ mM^{-1}cm^{-1}$ محاسبه و برحسب یک واحد (میکرومول تتراگایاکول تولیدشده در دقیقه) به‌ازای میلی‌گرم پروتئین بیان شد [۴۰].

۳. نتایج و بحث

تنش خشکی و غلظت اسید سالیسیلیک (در سطح ۱ درصد) و برهمکنش دو فاکتور تنش خشکی و غلظت اسید سالیسیلیک (در سطح ۵ درصد) عملکرد دانه را به‌طور معناداری تحت تأثیر قرار دادند (جدول ۲).

با افزایش تنش خشکی، عملکرد دانه رازیانه نسبت به شاهد کاهش یافت، به‌نحوی که عملکرد دانه در تیمار شاهد ۲۲/۳ و ۵۱ درصد بیشتر از تیمار ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی بود (جدول ۳). با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک، عملکرد دانهٔ رازیانه افزایش یافت، به‌نحوی که عملکرد دانه در غلظت ۱ میلی‌مولار ۱۷/۵ و ۲۶/۷ درصد بیشتر از غلظت ۰/۵ و صفر میلی‌مولار بود (جدول ۳).

جدول ۲. تجزیهٔ واریانس اثر کمبود آب و سطوح اسید سالیسیلیک بر صفات اندازه‌گیری‌شده در گیاه رازیانه

منابع تغییرات	درجهٔ آزادی	عملکرد دانه	درصد اسانس	عملکرد اسانس	سوپراکسید دیسموتاز	گایاکول پراکسیداز
ردیف (R)	۲	۱۸۸۸۳/۳۶^{ns}	۰/۰۰۸^{ns}	۲۰/۶۱^{ns}	۷۲/۵۱*	۰/۰۱^{ns}
ستون (C)	۲	۸۴۷/۶۸^{ns}	۰/۰۵^{ns}	۱/۶۸^{ns}	۱۲۵/۰۳**	۰/۰۰۴^{ns}
تنش (A)	۲	۳۰۵۷۸۵/۲۸*	۱/۰۵**	۳۷۳/۹۸*	۱۷۵۱/۳۶**	۰/۲۸**
خطای اول	۲	۴۵۵۷/۱۷	۰/۰۰۸	۷/۰۶	۰/۸۹	۰/۰۰۱
محلول (B)	۲	۱۱۱۴۵۲/۸۸**	۰/۱۶**	۱۴۷/۴۹**	۱۰۸۱/۴۱**	۰/۰۹**
A × B	۴	۷۶۵۱/۴۹*	۰/۰۱^{ns}	۱۱/۱۹**	۵۴/۸۴*	۰/۰۱*
خطای کل	۱۲	۱۷۹۹/۶۵	۰/۰۰۸	۱/۶۴	۱۵/۳۸	۰/۰۰۲

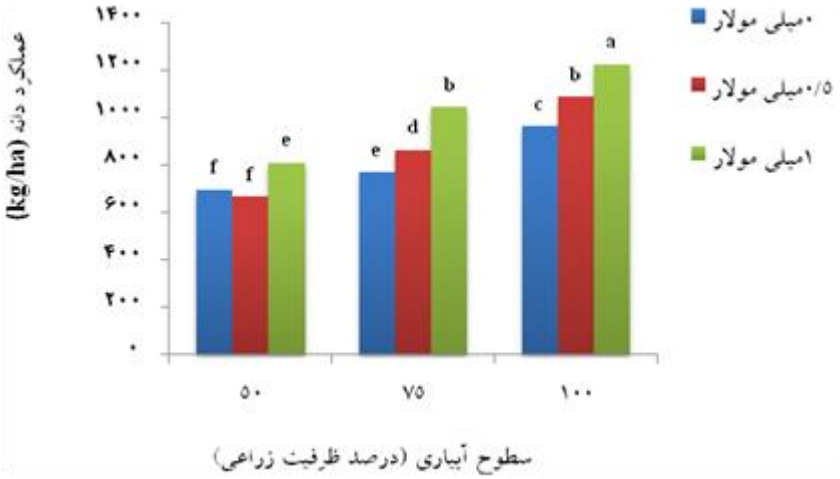
*، **، ns : به‌ترتیب معنادار در سطح ۵ و ۱ درصد و غیرمعنادار است.

جدول ۳. مقایسهٔ میانگین‌های صفات اندازه‌گیری‌شده در گیاه رازیانه تحت تأثیر کم آبیاری و سطوح اسید سالیسیلیک

تیمار	عملکرد دانه (Kg/ha)	درصد اسانس (%)	عملکرد اسانس (kg/ha)	سوپراکسید دیسموتاز (u/mg.pro)	گایاکول پراکسیداز (u/mg.pro)
سطوح آبیاری					
۱۰۰٪ ظرفیت زراعی (شاهد)	۱۰۹۰/۱۴^{a}	۲/۵۴^{b}	۲۷/۸۴^{a}	۶۹/۴۵^{c}	۰/۳۱۱^{c}
۷۵٪ ظرفیت زراعی	۸۹۱/۱۷^{b}	۲/۸۴^{a}	۲۵/۵۳^{a}	۷۵/۸۶^{b}	۰/۴۴۷^{b}
۵۰٪ ظرفیت زراعی	۷۲۱/۸۹^{c}	۲/۱۶^{c}	۱۵/۷۰^{b}	۹۶/۱۷^{a}	۰/۶۶۱^{a}
اسید سالیسیلیک					
۰ میلی‌مولار (شاهد)	۸۰۷/۸۷^{c}	۲/۴۷^{b}	۲۰/۱۱^{b}	۷۵/۷۴۴^{b}	۰/۳۷۴^{c}
۰/۵ میلی‌مولار	۸۷۱/۰۶^{b}	۲/۴۱^{b}	۲۱/۳۱^{b}	۷۲/۷۱۴^{b}	۰/۴۶۹^{b}
۱ میلی‌مولار	۱۰۲۴/۲۸^{a}	۲/۶۷^{a}	۲۷/۶۵^{a}	۹۳/۰۳۳^{a}	۰/۵۷۷^{a}

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون دارای تفاوت معناداری نیست (آزمون دانکن).

عملکرد دانه به‌طور معناداری تحت تأثیر اثر متقابل دو فاکتور تنش خشکی و غلظت اسید سالیسیلیک قرار گرفت، به‌نحوی که بیشترین عملکرد دانه در تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (شاهد) و غلظت ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک (۱۲۲۳/۴۵ کیلوگرم در هکتار) و کمترین عملکرد، در تیمار ۵۰ درصد ظرفیت زراعی و در غلظت‌های ۰/۵ و صفر میلی‌مولار اسید سالیسیلیک (۶۶۴/۷ و ۶۹۴/۲ کیلوگرم در هکتار) حاصل شد (شکل ۱).



شکل ۱. اثر متقابل سطوح آبیاری × غلظت اسید سالیسیلیک بر عملکرد اسانس

افزایش سطوح تنش خشکی، پارامترهای رشدی گیاه را کاهش داد، این مسئله احتمالاً نتیجهٔ اختلال در فتوسنتز، تعرق و فرایندهای متابولیکی گیاه است که در نهایت کاهش عملکرد دانه را به‌دنبال دارد. تنش خشکی از طریق اختلال در روند جذب و انتقال عناصر غذایی، عرضهٔ مواد پرورده را کاهش داد و موجب تغییر اجزای عملکرد و کاهش عملکرد دانهٔ ذرت شد [۵]. کاهش عملکرد دانه، در اثر تنش خشکی در گیاه گندم نیز گزارش شده است [۴۱]. به‌نظر می‌رسد اسید سالیسیلیک با تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در طی حیات گیاه در مواجهه با تنش‌های زنده و غیرزنده، سبب افزایش چشمگیر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه شود. اسید سالیسیلیک بر فتوسنتز و رشد گیاه تحت شرایط تنش، اثر مثبت دارد و در واقع از طریق توسعهٔ واکنش‌های ضدتنشی، نظیر افزایش تجمع پرولین، سبب تسریع در بهبود رشد پس از رفع تنش می‌شود [۴۵]. افزایش عملکرد در گوجه‌فرنگی و خیار [۲۴] و گندم [۴۵] نیز تحت تیمار اسید سالیسیلیک گزارش شده است.

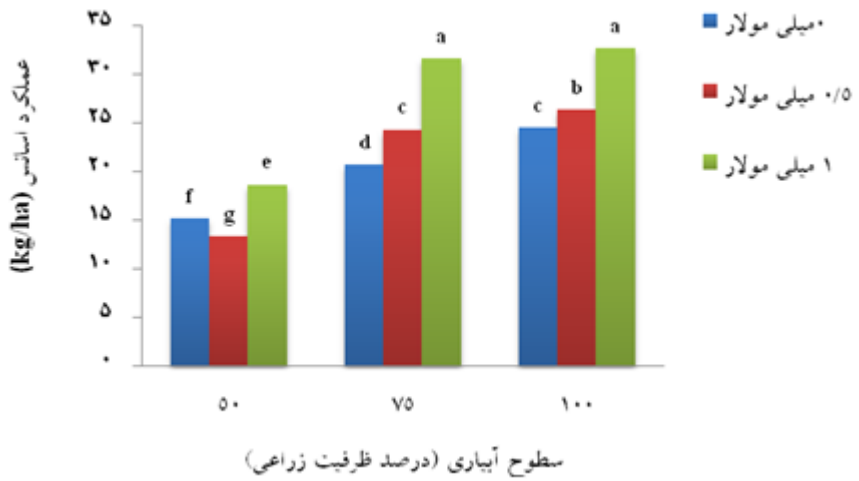
سطوح آبیاری و غلظت اسید سالیسیلیک (در سطح ۱ درصد) بر درصد اسانس و سطوح آبیاری (در سطح ۵ درصد) و غلظت اسید سالیسیلیک (در سطح ۱ درصد) بر عملکرد اسانس دانهٔ گیاه رازیانه اثر معناداری نشان دادند، درحالی که برهمکنش دو فاکتور سطوح آبیاری و غلظت اسید سالیسیلیک (در سطح ۱ درصد) تنها بر عملکرد اسانس معنادار شد (جدول ۲). درصد اسانس در گیاه رازیانه با تشدید کمبود آب ابتدا روند صعودی داشت، به‌طوری که در تنش ملایم (تیمار ۷۵ درصد ظرفیت

زراعی) بیشترین مقدار آن مشاهده شد. با ادامهٔ این کمبود، روند نزولی درصد اسانس آغاز شد، به‌نحوی که کمترین درصد اسانس در کمبود آب شدید (تیمار ۵۰ درصد ظرفیت زراعی) مشاهده شد (جدول ۳). درصد اسانس در تیمار ۷۵ درصد ظرفیت زراعی به‌ترتیب ۱۱/۸ و ۳۱/۴ درصد نسبت به تیمار شاهد و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی افزایش نشان داد. درصد اسانس با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک اثر متفاوتی نشان داد، به‌نحوی که بیشترین درصد اسانس در تیمار ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و کمترین آن در تیمار ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک مشاهده شد. درصد اسانس در تیمار ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک نسبت به شاهد و تیمار ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک ۸ و ۱۰/۷ درصد افزایش نشان داد (جدول ۳).

با تشدید کمبود آب، عملکرد اسانس کاهش یافت و بیشترین عملکرد اسانس در تیمار بدون تنش مشاهده شد که ۹ و ۷۷/۳ درصد نسبت به تیمارهای ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی افزایش نشان داد. عملکرد اسانس با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک افزایش یافت، به‌طوری که در تیمار ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک ۲۹/۷ و ۳۷/۴ درصد نسبت به تیمارهای ۰/۵ میلی‌مولار و شاهد اسید سالیسیلیک افزایش نشان داد (جدول ۳).

عملکرد اسانس به‌طور معناداری تحت تأثیر اثر متقابل دو فاکتور سطوح آبیاری و غلظت اسید سالیسیلیک قرار گرفت، به‌نحوی که بیشترین مقدار آن، در تیمار شاهد و ۷۵ درصد ظرفیت زراعی و غلظت ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک (۳۲/۶۶ و ۳۱/۶۱ کیلوگرم در هکتار) و کمترین مقدار آن، در تیمار ۵۰ درصد ظرفیت زراعی و غلظت ۰/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید (۱۳/۳۱ کیلوگرم در هکتار) مشاهده شد (شکل ۲).

دلایل اثبات‌شده‌ای مبنی بر نحوهٔ واکنش متابولیت‌های ثانویهٔ گیاهان دارویی به تنش خشکی وجود ندارد. تنها دو فرضیه در مورد نحوهٔ تأثیر شرایط محیطی بر متابولیت‌های ثانویهٔ این گیاهان تکوین یافته است. فرضیهٔ اول موازنهٔ کربن عناصر غذایی (CNB) است که میزان هزینهٔ کربن را برای تولید متابولیت‌های ثانویه (به‌عنوان موازنهٔ بین فتوسنتز و رشد) توضیح می‌دهد [۴۷].



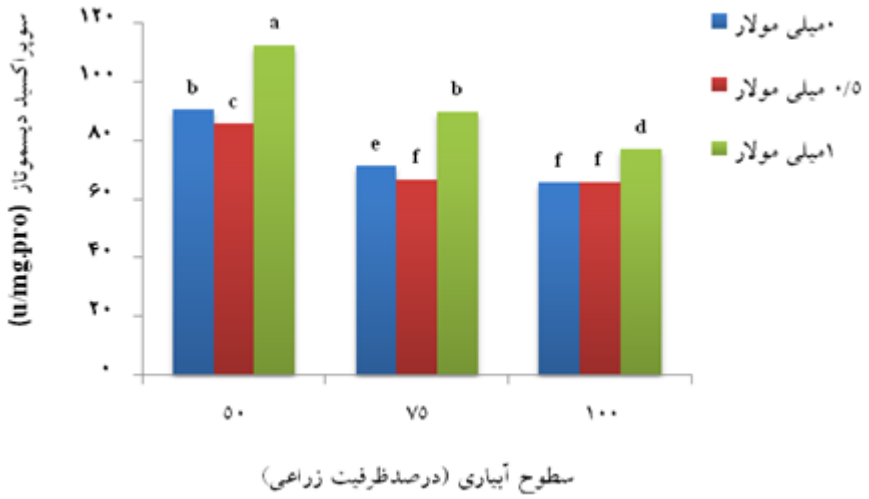
شکل ۲. اثر متقابل سطوح آبیاری × غلظت اسید سالیسیلیک بر عملکرد اسانس

براساس این فرضیه، گیاه در زمان دسترسی به عناصر غذایی لازم، کربن را برای رشد اختصاص می‌دهد؛ درحالی که کمبود عناصر غذایی رشد را بیش از فتوسنتز محدود می‌کند و به تشکیل هیدرات‌های کربنی منجر می‌شود که متابولیت‌های ثانویهٔ کربن‌دار را تولید می‌کنند. فرضیهٔ دوم یا موازنهٔ رشد – تمایز عنوان می‌کند تا زمانی‌که شرایط، اجازهٔ تقسیم و گسترش سلولی را بدهد، کربن صرف رشد می‌شود؛ ولی با وقوع تنش کم‌آبی، رشد متوقف می‌شود، سلول‌ها تمایز می‌یابند و مخازن متابولیت‌های ثانویه را تشکیل می‌دهند و گیاه کربن را به تولید مواد مؤثرهٔ دارویی اختصاص می‌دهد [۳۴]. به‌نظر می‌رسد درصد اسانس با افزایش سطح تنش زیاد می‌شود، اما همیشه همراه با افزایش تنش، درصد اسانس نمی‌تواند افزایش یابد، زیرا در تنش‌های شدید، گیاه بیشتر مواد فتوسنتزی خود را صرف تولید ترکیبات تنظیم‌کنندهٔ اسمزی از جمله پرولین، گلیسین – بتائین و ترکیبات قندی همانند ساکارز، فروکتوز و فروکتان می‌کند تا بتواند پتانسیل آب سلولی را کاهش دهد. کمبود آب ملایم، درصد اسانس را در گیاه گشنیز افزایش داد، زیرا در برخی از گیاهان در شرایط تنش، تولید مواد ثانویه (اسانس) در گیاه افزایش می‌یابد. در این صورت با افزایش اسانس، از اکسیداسیون درونی سلول‌ها نیز جلوگیری می‌شود [۲۲].

عملکرد اسانس تابع درصد اسانس و عملکرد دانه است که تحت تأثیر شرایط کم‌آبی قرار می‌گیرند و رفتارهای متفاوتی نشان می‌دهند. تشکیل و تجمع اسانس، در گیاهان تحت شرایط محیطی خشک، تمایل به افزایش نشان می‌دهد [۹ ، ۴]. افزایش درصد اسانس در گیاهان همیشه‌بهار [۴۲] و جاوا [۱۵] تحت تنش کم‌آبی ملایم بود؛ ولی تحقیقات دربارهٔ گیاه جعفری نشان داد که تنش خشکی سبب کاهش عملکرد اسانس در این گیاه شد [۳۹]. استرس خشکی، بر عملکرد روغن و درصد روغن ضروری در گیاه همیشه‌بهار نیز تأثیر معناداری داشت. بیشترین عملکرد روغن در شرایط بدون استرس و بیشترین درصد روغن در شرایط استرس به‌دست آمد [۴۲]. کاهش عملکرد اسانس در اثر کاهش رطوبت خاک ممکن است ناشی از اثر زیان‌آور تنش خشکی بر رشد پیکر رویشی و عملکرد گیاه باشد که در گیاه ریحان گزارش شده است [۲۳]. افزایش عملکرد اسانس در شرایط تنش رطوبتی ملایم و کاهش آن با شدیدتر شدن تنش در گیاه بادرنجبویه نیز گزارش شده است [۳۷].

اثر سطوح آبیاری و غلظت اسید سالیسیلیک (در سطح ۱ درصد) و برهمکنش دو فاکتور سطوح آبیاری و غلظت اسید سالیسیلیک (در سطح ۵ درصد) بر آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاه رازیانه معنادار بودند (جدول ۲). با افزایش شدت کمبود آب، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافت، به‌نحوی که در تیمار ۵۰ درصد ظرفیت زراعی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ۳۸/۴۷ و ۲۶/۷۷ درصد نسبت به تیمارهای ۱۰۰ و ۷۵ درصد ظرفیت زراعی افزایش نشان داد (جدول ۳). افزایش غلظت اسید سالیسیلیک در گیاه رازیانه، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را در ابتدا کاهش و سپس افزایش داد، به‌نحوی که تیمار ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک ۲۷/۹۴ و ۲۲/۸۲ درصد آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را نسبت به تیمارهای ۰/۵ و صفر (شاهد) میلی‌مولار اسید سالیسیلیک افزایش داد (جدول ۳).

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به‌طور معناداری تحت تأثیر اثر متقابل دو فاکتور سطوح آبیاری و غلظت اسید سالیسیلیک قرار گرفت، به‌نحوی که بیشترین مقدار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمار ۵۰ درصد ظرفیت زراعی و غلظت ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک (۹۰/۳۸ واحد به‌ازای میلی‌گرم پروتئین) و کمترین مقدار آن، در تیمارهای ۷۵ درصد ظرفیت زراعی و غلظت ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک (۶۶/۶۸ واحد به‌ازای میلی‌گرم پروتئین) و شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) و غلظت‌های صفر و ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک (۶۵/۶۵ و ۶۵/۸۹ واحد به‌ازای میلی‌گرم پروتئین) مشاهده شد (شکل ۳).



شکل ۳. اثر متقابل سطوح آبیاری × غلظت سالیسیلیک اسید بر مقدار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

به‌نظر می‌رسد گیاهان دارای سیستم آنتی‌اکسیدانی هستند که تولید اضافی گونه‌های فعال اکسیژن را تحت شرایط تنش کنترل کرده و بنابراین، آنها را در مقابل آثار مضر گونه‌های فعال اکسیژن محافظت می‌کند و از سوی دیگر، سطح مناسبی از اکسیژن فعال را برای رشد و مسیر انتقال پیام حفظ می‌کند. این سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان شامل آنتی‌اکسیدان‌هایی با وزن مولکولی کم نظیر بتاکاروتن‌ها، اسید آسکوربیک، آلفاتوکوفرول و گلوتاتیون احیاشده و نیز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز و گایاکول پراکسیداز است [۴۹]. سوپراکسید دیسموتاز نوعی آنتی‌اکسیدان قوی است که اولین مادهٔ تولیدشده از احیای یک‌ظرفیتی اکسیژن، یعنی رادیکال سوپراکسید را از بین می‌برد؛ بنابراین به سوپراکسید دیسموتاز دفاع اولیه در مقابل رادیکال‌های آزاد اکسیژن اطلاق می‌شود [۶]. رادیکال سوپراکسید می‌تواند با پراکسید هیدروژن ترکیب شود و با اجرای واکنش هابر – ویز رادیکال فوق‌العادهٔ خطرناک هیدروکسیل را به‌وجود آورد [۳۵]. افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سلول‌ها، تحت تنش خشکی در توتون [۸]، پریوش [۲۸]، لوتوس [۱۳] و رز [۲۹] گزارش شده است.

اسید سالیسیلیک یا اورتو هیدروکسی بنزوئیک اسید، یک تنظیم‌کنندهٔ رشد درونی از گروه ترکیبات فنولی طبیعی است که در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه تأثیر دارد. هنگامی که اسید سالیسیلیک در غلظت و زمان مناسب به‌کار رود، سبب ایجاد تنش اکسیداتیو موقت و گذرا در سلول‌های گیاهی می‌شود که به‌عنوان نوعی فرایند مقاوم-سازی عمل می‌کند و سبب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول می‌شود [۲۵ ، ۲۴]. اسید سالیسیلیک برون‌زا بر سرعت تولید انواع اکسیژن فعال تحت شرایط تنش تأثیر می‌گذارد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر سوپراکسید دیسموتاز را تغییر داده و از این طریق، تحمل گیاه به تنش‌های غیرزیستی را افزایش می‌دهد [۲۵].

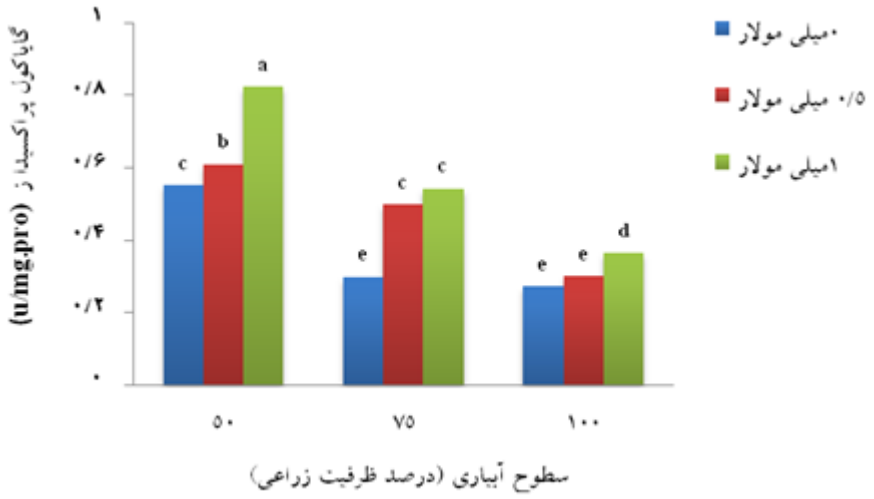
براساس گزارش‌های موجود، اسید سالیسیلیک سبب افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاه می‌شود [۵۱ ، ۱۴]. بررسی‌های مشابهی مربوط به افزایش فعالیت

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به‌وسیلهٔ پیش‌تیمار با اسید سالیسیلیک در گیاهان برنج تحت تنش کادمیوم نیز گزارش شده است [۱۹ ، ۱۸].

سطوح آبیاری و غلظت اسید سالیسیلیک (در سطح ۱ درصد) و برهمکنش دو فاکتور سطوح آبیاری و غلظت اسید سالیسیلیک (در سطح ۵ درصد) آنزیم گایاکول پراکسیداز را به‌طور معناداری تحت تأثیر قرار دادند (جدول ۲). با افزایش شدت کمبود آب، آنزیم گایاکول پراکسیداز در گیاه رازیانه نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت، به‌نحوی که آنزیم گایاکول پراکسیداز در تیمار ۵۰ درصد ظرفیت زراعی، نسبت به تیمار شاهد به بیش از دو برابر و نسبت به تیمار ۷۵ درصد ظرفیت زراعی ۴۷/۸۷ درصد افزایش نشان داد (جدول ۳). با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک، آنزیم گایاکول پراکسیداز در گیاه رازیانه افزایش یافت، به‌نحوی که آنزیم گایاکول پراکسیداز در غلظت ۱ میلی‌مولار ۲۳/۰۲ و ۵۴/۲۷ درصد بیشتر از غلظت ۰/۵ و صفر میلی‌مولار بود (جدول ۳).

آنزیم گایاکول پراکسیداز به‌طور معناداری تحت تأثیر اثر متقابل دو فاکتور سطوح آبیاری و غلظت اسید سالیسیلیک قرار گرفت، به‌نحوی که بیشترین مقدار آنزیم گایاکول پراکسیداز در تیمار ۵۰ درصد ظرفیت زراعی و غلظت ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک (۰/۸۲)، و کمترین مقدار آن در تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (شاهد) و غلظت‌های صفر و ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک (۰/۲۷ و ۰/۳ واحد به‌ازای میلی‌گرم پروتئین) و تیمار ۷۵ درصد ظرفیت زراعی و تیمار شاهد اسید سالیسیلیک (۰/۲۹ واحد به‌ازای میلی‌گرم پروتئین) حاصل شد (شکل ۴).

تنش خشکی تولید گونه‌های فعال اکسیژن نظیر پراکسید هیدروژن، رادیکال‌های سوپراکسید و هیدروکسیل را افزایش می‌دهد که تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در سلول می‌تواند به تنش اکسیداتیو منجر شود. به‌نظر می‌رسد سلول‌های گیاهی قادرند از طریق القای سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بر شرایط تنش اکسیداتیو ایجادشدهٔ تحت تنش غلبه کنند. بنابراین، توانایی به‌دام انداختن گونه‌های فعال اکسیژن راهکاری سازشی در گیاهان است که گونه‌های گیاهی از آن برای مقابله با تنش اکسیداتیو استفاده می‌کنند [۱۶].



شکل ۴. اثر متقابل سطوح آبیاری × غلظت سالیسیلیک اسید بر مقدار گایاکول پراکسیداز

مقاومت گیاه به تنش‌های مختلف محیطی ممکن است با سطح فعالیت آنزیم‌های مسئول به دام انداختن رادیکال‌های آزاد اکسیژن مرتبط باشد. گونه‌های گیاهی مقاوم، به‌طور معمول ظرفیت حفاظتی کارامدتری در مقابل تنش اکسیداتیو القاشده توسط تنش کم‌آبی دارند که می‌توانند از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان فزونی یابد [۲۶].

پراکسید هیدروژن ترکیبی سمی برای سلول‌هاست و باید به‌سرعت توسط سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی به آب و اکسیژن تبدیل شود [۲۰]. در غیر این صورت، می‌تواند از طریق پراکسیداسیون لیپیدها به غشای سلولی، ساختمان پروتئین‌ها و DNA آسیب وارد کند و از فرایند فتوسنتز و فعالیت آنزیم‌های دیگر جلوگیری کند [۲۱]. چندین آنزیم سطوح پراکسید هیدروژن را درون سلول تنظیم می‌کنند که مهم‌ترین آنها کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز (گایاکول پراکسیداز) هستند. پراکسیدازها گلیکوپروتئین‌های حاوی هِم هستند که توسط یک خانوادهٔ چندژنی رمزگذاری می‌شوند. این آنزیم‌ها اکسایش و کاهش بین هیدروژن و کاهنده‌های گوناگون را بر عهده دارند [۷]. گایاکول پراکسیداز، از مهم‌ترین گروه‌های پراکسیداز است که گایاکول را به‌عنوان یک سوبسترای کاهنده، اکسید می‌کند. واکنش گایاکول با پراکسید هیدروژن به تولید ترکیبی به‌نام تتراگایاکوکوئینون منجر می‌شود [۷].

بررسی اثر تنش خشکی بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاه کلزا نشان داد که تنش خشکی سبب افزایش فعالیت در چندین آنزیم آنتی‌اکسیدان از جمله گایاکول پراکسیداز می‌شود. افزایش گایاکول پراکسیداز می‌تواند عاملی مهم برای تجزیهٔ پراکسید هیدروژن به‌ویژه هنگام غیرفعال شدن کاتالاز باشد [۳]. افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در مطالعات دیگر در برگ‌های گیاه خلر در مواجهه با تنش شوری نیز مشاهده شده است [۱].

اسید سالیسیلیک از ترکیبات فنولی است که در تعداد زیادی از گیاهان وجود دارد و امروزه ماده‌ای شبه‌هورمون محسوب می‌شود که تأثیر مهمی در رشدونمو گیاهان دارد. اما اسید سالیسیلیک اثرهای مختلفی بر سازگاری تنش و همچنین گسترش آسیب در گیاهان دارد که به گونهٔ گیاهی، غلظت اسید سالیسیلیک، روش و زمان استعمال اسید سالیسیلیک بستگی دارد. اسید سالیسیلیک برون‌زا می‌تواند سبب افزایش پراکسید هیدروژن بافت گیاهی شده و به این ترتیب، موجب القای بیان ژن‌های رمزگذار آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو و افزایش مقاومت گیاه نسبت به تنش‌های غیرزیستی شود [۴۶].

تیمار اسید سالیسیلیک در گیاه سیاه‌دانه، سبب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیم گایاکول پراکسیداز و به‌دنبال آن کاهش پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپید شد. عملکرد اسید سالیسیلیک سبب افزایش آنزیم‌های نابودکننده شده و با کاهش آسیب اکسیداتیو، موجب مقاومت گیاه به تنش خشکی می‌شود [۳۰]. افزایش فعالیت گایاکول پراکسیداز تحت تأثیر اسید سالیسیلیک در پوستهٔ میوه‌های هسته‌دار نیز مشاهده شده است [۵۱].

۴. نتیجه‌گیری کلی

نتایج تحقیق حاکی از پاسخ مثبت گیاه رازیانه به مصرف اسید سالیسیلیک به‌صورت محلول‌پاشی و برتری غلظت ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک در شرایط کمبود آب است. به‌نظر می‌رسد با به‌کارگیری اسید سالیسیلیک تحت شرایط کمبود آب، به‌دلیل توانایی اسید سالیسیلیک در تولید آنتی‌اکسیدان‌ها به‌هنگام کمبود آب و فرو نشاندن گونه‌های اکسیژن فعال، اکثر خصوصیات مورد بررسی گیاه بهبود و در نتیجه مقاومت گیاه در مقابل شرایط کم‌آبی افزایش یافت. بنابراین کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک را می‌توان راهکاری کم‌هزینه برای تولید رازیانه در شرایط کمبود آب به‌شمار آورد و بدین صورت از آب موجود استفاده بهینهٔ کرد.

منابع

۱. اسفندیاری ع، عباسی ا، عنایتی و و موسوی ب (۱۳۸۹) رفتار متفاوت ریشه و برگ تودهٔ بومی خلر در پاسخ به تنش اکسیداتیو ناشی از شوری. دانش کشاورزی و تولید پایدار. ۲۰(۴): ۷۵-۶۶.

۲. قاسمی دهکردی ن و طالب ا (۱۳۸۹) استخراج، شناسایی و تعیین مقدار ترکیبات موجود در گیاهان دارویی شاخص. انتشارات سبز آرنگ با همکاری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان. ۲۴۰ ص.

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

4. Abreu IN and Mazzafera P (2005) Effect of water and temperature stress on the content of active contitiuents of *Hypercium brasiliense* Choisy. Plant Physiology and Biochemistry. 43: 241-248.

5. Al-Omran AM, Sheta AS, Falatan AM and Al–Harb AR (2000) Effect of drip irrigation on squash (*Cucrbita pepo*) yield and water use efficiency in sandy calcareous soils amended with clay deposits. Agricultural Water Management. 37: 111-112.

6. Alscher RG, Erturk N and Heath LS (2002) Role of superoxide dismutases (SOD) in controlling oxidative stress in plant. Experimental Botany. 153: 1331-1341.

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

8. Badawi GH, Yamauchi Y, Shimada E, Sasaki R, Kawano N, Tanaka Ku and Tanaka Ki (2003) Enhanced tolerance to salt stress and water deficit by overexpressing superoxide dismutase in tobacco (*Nicotiana tabacum*) chloroplasts. Plant Science. 166: 919-928.

9. Bannayan M, Nadjafi F, Azizi M, Tabrizi L and Rastgoo M (2008) Yield and seed quality of *Plantago ovata* and *Nigella sativa* under different irrigation treatments. Industrial Crops and Products. 27: 11-16.

10. Blokhin O, Virolainen E and Fagerstedt K (2003) Antioxidant oxidative damage and oxygen deprivation stress. Annals of Botany. 91: 179-194.

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

12. Chakraborty U and Tongden C (2005) Evaluation of heat acclimation and salicylic acid treatments as potent inducers of thermotolerance in *Cicer arietinum* L. Current Science. 89: 384-389.

13. Diaz P, Monza J and Marquez A (2005) Drought and saline stress, Lotus japonicus, Handbook 39-50.

14. Ervin EH, Zhang X and Schmidt RE (2005) Exogenous salicylic acid enhances post-transplant success of heated Kentucky bluegrass and tall fescue sod. Crop Science. 45(1): 240-244.

15. Fatima S, Farooqi A, Sharma S, Kumar S, Kukerja AK, Dwivedi S and Singh AK (2000) Effect of drought stress and plant density on growth and essential oil metabolism in citronella java (*Cymbopogon winterianus*) cultivars. Medicinal and Aromatic Plant Sciences. 22(1B): 563-567.

16. Foyer C and Noctor G (2003) Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. Physiologia Plantarum. 119: 355-364.

17. Giannopolitis CN and Ries SK (1977) Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. Plant Physiology. 59: 309-314.

18. Guo B, Liang Y and Zhu Y (2009) Does salicylic acid regulate antioxidant defense system, cell death, cadmium uptake and partitioning to acquire cadmium tolerance in rice?. Plant Physiology. 166(1): 20-31.

19. Guo B, Liang YC, Zhu YG and Zhao FJ (2007) Role of salicylic acid in alleviating oxidative damage in rice roots (*Oryza sativa*) subjected to cadmium stress. Environmental Pollution. 147: 743-749.

20. Guo Z, Ouw Lu S and Zhong Q (2006) Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. Plant Physiology and Biochemistry. 44: 828-836.

21. Gupta S and Gupta NK (2005) High temperature induced antioxidative defense mechanism in contrasting wheat seedlings. Plant Physiology. 10: 73-75.

22. Hamrouni I, Salah H and Marzouk B (2001) Effects of water-deficit on oil of coriander aerial parts. INRST, Laboratoire d'Adaptation et d'Amelioration des Plants, BP 95 2050. Hammam-Lif, Tunisia. 95: 21-52.

23. Hasani A, Omidbiygi R and Heidari Sharifabad H (2002) Effect of soil water levels on growth, yield and osmolytes accumulation in basil (*Ocimum basilicum*). Soil and Water Science. 17(2): 20-28.

24. Hayat S and Ahmad A (2007) Salicylic Acid: A Plant Hormone. Springer. Pp. 97-99.

25. Horvath E, Szalai G and Janda T (2007) Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. Plant Growth Regulation. 26(3): 290-300.

26. Hosseini Boldaji SA, Khavari-Nejad RA, Hassan Sajedi R, Fahimi H and Saadatmand S (2012) Water availability effects on antioxidant enzyme activities lipid peroxidation, and reducing sugar contents of alfalfa (*Medicago sativa* L.). Acta Physiologia Plantarum. 34: 1177-1186.

27. Jaleel CA, Manivannan P, Wahid A, Farooq M, Somasundaram R and Panneerselvam R (2009) Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. Agriculture and Biology. 11: 100-105.

28. Jaleel C, Manivannan P, Sankar B, Kishorekumar A, Gopi R, Somasundaram R and Panneerselvam R (2007) Induction of drought stress tolerance by ketoconazole in *Catharanthus roseus* is mediated by enhanced antioxidant potentials and secondary metabolite accumulation. Colloids Surf B Biointerfaces. 60: 201-206.

29. Jin J, Ningwei Sh, Jinhe B and Junping G (2006) Regulation of ascorbate peroxides at the transcript level is involved in tolerance to post harvest water deficit stress in the cut Rose (*Rose hybrida* L.) CV. Samantha. Agricultural Science and Technology. 7: 90-103.

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

31. Kapoor R, Giri B and Mukerji KG (2004) Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare* Mill on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. Bioresource Technology. 93: 307-311.

32. Larkindale J and Knight MR (2002) Protection against heat stress-induced oxidative damage in *Arabidopsis* involves calcium, abscisic acide, ethylene and salicylic acide. Plant Physiology. 128: 682-695.

33. Lascano HR, Antonicelli GE, Luna CM, Melchiorre MN, Gomez LD, Racca RW, Trippi VS and Casano LM (2005) Antioxidant system response of different wheat cultivars under drought: field and *in vitro* studies. Plant Physiology. 28: 1095-1102.

34. Lorio PL (1986) Growth - differentiation balance: A basis for understanding southern pin beetle-tree interaction. Forest Ecology Management. 14: 259-273.

35. Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M and Breusegem FV (2004) Reactive oxygen gene network of plants. Trends-in-Plant-Science. 9: 490-498.

36. Mittler R (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science. 7: 405-410.

37. Munne S and Alegre L (2000) The significance of beta carotene, alpha, tocopherol and the xanthophylls cycle in droughted *Melissa officinalis* plant. Plant Physiology. 27(2): 139-146.

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

39. Petropoulos SA, Daferera D, Polissiou MG and Passam HC (2007) The effect of water deficit stress on the growth, yield and composition of essential oils of parsley. Scientia Horticulturae. 115(4): 393-397.

40. Polle A, Otter T and Seifert F (1994) Apoplastic peroxidases and lignification in needles of Norway spruce (*Picea abies* L.). Plant Physiology. 106(1): 53-60.

41. Radwan DEM, Fayez KHA, Mahmoud SU, Hamad A and Lua G (2006) Salicylic acid alleviates growth inhibition and oxidative stress caused by zucchini yellow mosaic virus infection in *Cucurbita pepo* leaves. Physiological and Molecular Plant Pathology. 69: 172-181.

42. Rahmani N, Aliabadi Farahani H and Valadabadi SAR (2008) Effects of nitrogen on oil yield and its component of Calendula (*Calendula officinalis* L.) in drought stress conditions. Abstracts Book of the world congress on medicinal and aromatic plants. South Africa, 364 p.

43. Senaratna T, Touchell D, Bunn E and Dixon K (2000) Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. Plant Growth Regulation. 30: 157-161.

44. Sharma P and Dubey RS (2005) Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. Plant Growth Regulation. 46: 209-221.

45. Shibli RA, Kushad M, Yousef GG and Lila MA (2007) Physiological and biochemical responses of tomato micro shoots to induced salinity stress with associated ethylene accumulation. Plant Growth Regulation. 51: 159-169.

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

47. Tuomi J, Niemela P, Haukioja E and Neuvonen S (1984) Nutrient stress an explan- at ion for plant anti herbivore responses to defoliation. Oecologia. 61: 208-210.

48. Wang LG and Li SH (2006) Salicylic acid-induced heat or cold tolerance in relation to ca^{2-} homeostasis and antioxidant systems in young grape plants. Plant Science. 170: 685-695.

49. Xu PL, Guo YK, Bai JG, Shang L and Wang XJ (2008) Effects of long-term chilling on ultrastructure and antioxidant activity in leaves of two cucumber cultivars under low light. Physiologia Plantarum. 132: 467-478.

50. Yordanova R and Popova L (2007) Effect of exogenous treatment with salicylic acid on photosynthetic activity and antioxidant capacity of chilled wheat plants, Gen. Appl. Plant Physiology. 33: 155-170.

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