نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد بیست و ششم، شماره چهارم، ۱۳۹۸
۱۶۳-۱۷۶
http://jopp.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/jopp.2019.15790.2417

بررسی اثر اسید سالیسیلیک بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژی گیاه به‌لیمو (*Lippia citriodora*) تحت تنش شوری

*مصطفی قاسمی[۱]، شیوا قاسمی[۱]، فاطمه‌السادات حسینی‌نسب[۲] و نجمه رضایی[۳]

[۱]عضو هیأت علمی، بخش تحقیقات زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان قزوین، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، قزوین، ایران، [۲]عضو هیأت علمی گروه شیمی، دانشگاه هرمزگان، [۳]کارشناس دانشکده کشاورزی، دانشگاه هرمزگان، هرمزگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۸/۱۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۱۸

چکیده

سابقه و هدف: به‌لیمو با نام علمی *Lippia citriodora* درختچه‌ای از خانواده شاهپسند (Verbenaceae) می‌باشد که به‌دلیل اهمیت فراوان اقتصادی، امروزه در صنایع غذایی و عطرسازی در اکثر کشورها کشت و کار می‌شود. برگ‌های این گیاه که بخش‌های قابل‌استفاده این گیاه هستند دارای اسانس معطر و ترکیبات ارزشمندی هستند که به‌صورت دمنوش مورد استفاده قرار می‌گیرند. یکی از مشکلات خاک‌های ایران، شوری آن می‌باشد که یکی از عوامل مهم محدودکننده تولید محصولات کشاورزی می‌باشد. با توجه به اهمیت اقتصادی گیاه به‌لیمو و مشکل شوری که می‌تواند سبب محدودیت در کشت این گیاه شود این پژوهش صورت گرفت.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلک بر تحمل به شوری دانهال‌های گیاه دارویی به‌لیمو در شرایط گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. طرح آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی بود. فاکتورها شامل شوری در چهار سطح (۰، ۵۰ و ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و اسید سالیسیلیک در سه سطح (۰، ۰/۵، ۱ میلی‌مولار) با ۳ تکرار بودند. پارامترهای وزن خشک برگ، ارتفاع ساقه، محتوای آب نسبی برگ، نشت یونی، میزان کلروفیل، کربوهیدرات کل، پرولین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و درصد اسانس در گیاهان اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که اثر شوری بر همه پارامترها به‌جز محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار بود ($P\leq۰/۰۱$). اثر اسید سالیسیلیک نیز بر همه پارامترها به‌جز وزن خشک برگ، محتوای نسبی آب برگ و میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز معنی‌دار بود. در شرایط تنش شوری وزن خشک برگ، ارتفاع ساقه، میزان کلروفیل کاهش یافتند. درصد کاهش وزن خشک برگ در مقایسه با تیمار عدم شوری در تیمارهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار به‌ترتیب ۱۰/۳، ۲۴/۴ و ۳۰/۱ درصد بودند. بیش‌ترین مقدار تجمع پرولین، کربوهیدرات، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و نشت یونی در تیمار شوری ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد. به‌طوری‌که بالاترین میزان نشت یونی (۷۸/۷۷ درصد) متعلق به سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و کم‌ترین مقدار (۵۲/۵ درصد) در شرایط عدم شوری به‌دست آمد. کاربرد اسید سالیسیلیک ۱ میلی‌مولار سبب افزایش ارتفاع ساقه، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، کلروفیل، کربوهیدرات، پرولین و درصد اسانس شد. غلظت ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به‌طور معنی‌داری سبب افزایش ارتفاع ساقه، افزایش قندهای

* مسئول مکاتبه: mostafaghasemi1417@gmail.com

محلول، افزایش میزان کلروفیل و پرولین و کاهش میزان نشت یونی برگ دانهال‌های به‌لیمو در مقایسه با عدم محلول‌پاشی گردید. بیش‌ترین میزان فعالیت کاتالاز ($u/mg.fw^{-1}$ ۹۵/۱) و پراکسیداز ($u/mg.fw^{-1}$ ۲٦/٤) نیز در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و غلظت اسید سالیسیلیک ۱ میلی‌مولار مشاهده شد. از نظر درصد اسانس نتایج نشان داد که با افزایش سطح شوری تا ۱۰۰ میلی‌مولار درصد اسانس ۲۵ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت و از نظر آماری اختلاف معنی‌دار بود.

نتیجه‌گیری: به‌طورکلی محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک به‌ویژه غلظت ۱ میلی‌مولار توانست تأثیر سوء تنش شوری بر دانهال‌های به‌لیمو را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، به‌لیمو، پرولین، نشت یونی

مقدمه

به‌لیمو با نام علمی *Lippia citriodora* L. درختچه‌ای از خانواده شاهپسند (Verbenaceae) می‌باشد که به‌دلیل اهمیت فراوان اقتصادی، امروزه در بیش‌تر کشورها کشت و کار می‌شود. برگ‌های این گیاه که بخش‌های قابل‌استفاده این گیاه هستند دارای اسانس معطری می‌باشند که ترکیبات ارزشمندی دارد. این اسانس در صنایع عطرسازی بسیار ارزشمند است. از هر ۱۰۰ کیلوگرم برگ خشک گیاه، حدود ۵۱۰ گرم اسانس به‌دست می‌آید (۳۰). یکی از مشکلات خاک‌های ایران وجود تنش شوری می‌باشد که از عوامل محدودکننده مهم تولید محصولات کشاورزی می‌باشد (۲۹). بررسی‌ها نشان داده که گیاه به‌لیمو تحمل ضعیفی به شوری دارد و کشت آن در اراضی با شوری بالای ۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر مناسب نمی‌باشد باقریان لمراسکی و همکاران (۲۰۱۷) و شوری می‌تواند عملکرد این گیاه را به‌طور قابل‌توجهی کاهش دهد (۸).

تنش‌های شوری و خشکی منجر به تولید و تجمع گونه‌های سمی اکسیژن مانند رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل (OH^-)، سوپر اکسید (O^{2-})و هیدروژن پراکسید (H_2O_2) می‌شود. در غلظت‌های زیاد، این گونه‌های فعال اکسیژن از طریق اکسیداسیون چربی (لیپید)، پروتئین، رنگدانه و اسیدهای نوکلئیک باعث اختلال در اعمال فیزیولوژیکی سلول می‌شوند و خسارت زیادی ایجاد می‌کنند (۱، ٤ و ۲۲). پاسخ گیاهان به شوری بسیار پیچیده و تحت‌تأثیر غلظت نمک، نوع یون‌ها، مرحله رشدی و عوامل مختلف محیطی می‌باشد (۲۰). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌عنوان سریع‌ترین واحدهای مقابله‌کننده در برابر حمله اکسیژن‌های فعال به‌شمار می‌آیند (۱۷). از جمله آنزیم‌های دخیل در فرآیند غیرسمی کردن و غیرفعال‌کردن رادیکال‌های فعال اکسیژن در درون سلول می‌توان به سوپر اکسید دیسموتاز، گلوتاتیون ردوکتاز، پراکسیداز و کاتالاز اشاره نمود (۲۲). افزایش فعالیت این آنزیم‌ها طی تنش‌های مختلف در بسیاری گیاهان گزارش شده است. اگرچه در ارقام متحمل این افزایش بیش‌تر می‌باشد (۲۵).

استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی مانند اسید سالیسیلیک می‌تواند به‌عنوان راه‌حلی کوتاه‌مدت، برای رفع اثرات منفی تنش‌های مختلف مدنظر قرار گیرد. اسید سالیسیلیک یک تنظیم‌کننده رشد درونی از گروه ترکیبات فنلی طبیعی می‌باشد که در تنظیم فرایندهای گیاه نقش دارد (۳۵). نتایج پژوهش‌های انجام‌شده نشان داده است که اسید سالیسیلیک بر دامنه وسیعی از صفات مانند جوانه‌زنی بذر، رشد، عملکرد، اجزای عملکرد، فیزیولوژی و زیست- شیمیایی گیاهان، به‌ویژه در شرایط شور، اثر مثبت داشته است (۷). گزارش

شده که اسید سالیسیلیک بر افزایش عملکرد ریحان و مرزنجوش اثر مثبتی دارد (۱۹). نتایج پیراسته انوشه و همکاران (۲۰۱۷) نشان داد که در هر دو شرایط غیرشور و شور، محتوای پرولین در بوته‌های محلول‌پاشی‌شده با اسید سالیسیلیک بیش‌تر از بوته‌های تیمارنشده جو بود (۲۸). علی‌رغم مطالعات گسترده‌ای که در مورد اثر ترکیبات مختلف بر رشد و عملکرد گیاهان دارویی مختلف در شرایط تنش شوری انجام شده است و همچنین حساسیت گیاه به‌لیمو نسبت به شوری، در مورد اثر اسید سالیسیلیک بر گیاه به‌لیمو تحت تنش شوری، مطالعه خاصی صورت نگرفته است. بنابراین در این پژوهش هدف بررسی اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلک بر تحمل به شوری دانهال‌های گیاه دارویی به لیمو بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه دانشگاه هرمزگان در سال ۱۳۹۵ اجرا گردید. متوسط دمای روزانه گلخانه ۳۰–۳۸ درجه سانتی‌گراد، دمای شبانه ۲۵–۳۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵±٤٥ درصد بود. ترکیب تیماری شامل شوری در چهار سطح (۰، ۵۰ و ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم ساخت شرکت سیگما) و اسید سالیسیلیک (ساخت شرکت مرک آلمان) در سه سطح (۰، ۰/۵، ۱ میلی‌مولار) با ۳ تکرار بودند. ابتدا نشاهای به‌لیمو از مزرعه زرگیاه در فیروزآباد استان فارس تهیه و در گلدان‌های پلاستیکی ۱۱ لیتری و دارای خاک با بافت لومی- شنی کشت شدند. پس از رشد و مراقبت‌های لازم، تیمارهای تنش شوری به‌مدت دو ماه روی گیاهان اعمال شد. جهت اجتناب از ایجاد شوک ناشی از شوری، مقادیر نمک در هر یک از تیمارها به‌تدریج به آب آبیاری اضافه شد تا در نهایت پس از چهار دوره آبیاری، نمک مصرفی به اندازه تیمار موردنظر رسید. آبیاری دانهال‌های شاهد، تنها با آب آبیاری صورت گرفت. آبیاری هر دو روز یک‌بار طوری انجام شد که رطوبت گلدان‌ها در حد ظرفیت مزرعه نگه‌داری شدند. برای تعیین ظرفیت مزرعه بعد از غروب آفتاب که تبخیر و تعرق متوقف شد همه گلدان‌ها آبیاری شدند و اجازه داده شد آب زهکش آن‌ها خارج و گلدان‌ها به وزن ثابت یا ظرفیت گلدان (مزرعه) رسیدند. با وزن کردن گلدان‌ها ظرفیت مزرعه (گلدانی) مشخص گردید. سپس هر دو روز یک‌بار گلدان‌ها در یک ساعت معین مجدداً وزن می‌شدند و به اندازه کاهش وزن، به آن‌ها آب داده می‌شد.

در این آزمایش پارامترهای وزن خشک برگ، ارتفاع ساقه، محتوای آب نسبی برگ، نشت یونی، میزان کلروفیل، کربوهیدرات کل، پرولین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز و همچنین درصد اسانس گیاهان اندازه‌گیری شدند. برداشت گیاهان در مرحله تمام گل انجام گرفت. گیاهان برداشت‌شده برای خشک‌شدن به سایه و دمای معمولی منتقل شدند. پس از گذشت دو هفته برگ‌ها با حداکثر دقت از ساقه جدا و پس از ارزیابی وزن خشک، برای استخراج اسانس به آزمایشگاه منتقل شدند.

محتوای آب نسبی برگ (RWC) مطابق با روش توصیف شده توسط ریچی و همکاران (۱۹۹۰) روی جوان‌ترین برگ‌های بالغ گیاه اندازه‌گیری شد (۳۱). بدین‌منظور از قسمت میانی پهنک برگ، دیسک‌هایی به قطر ۸ میلی‌متر (هر تکرار ۱۰ دیسک برگی) تهیه شد. این دیسک‌های برگی پس از تعیین وزن‌تر، به ظرف پتری درب‌دار دارای آب مقطر منتقل شدند و به‌مدت ۲٤ ساعت در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد در تاریکی قرار گرفتند و وزن آماس آن‌ها اندازه‌گیری شد. دیسک‌ها سپس به‌مدت ٤٨ ساعت در آون (۷۰ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند و وزن خشک

آن‌ها تعیین گردید. میزان نسبی آب برگ با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد:

$$RAW=\frac{\text{وزن خشک} - \text{وزن تر}}{\text{وزن خشک} - \text{وزن آماس}}\times 100 \quad (1)$$

میزان نشت یونی و میزان آسیب به غشا نیز توسط روش لوتس و همکاران (۱۹۹٦) با اندک تغییراتی اندازه‌گیری شد (۲٤). برای این منظور در پایان آزمایش اقدام به تهیه نمونه‌های برگی از بخش‌های میانی شاخه‌های اطراف تاج پوشش هر گیاه گردید. پس از سه بار شستشوی برگ‌ها با آب دو بار تقطیر، ۷ دیسک ۸ میلی‌مترمربعی از برگ‌های تازه بالغ شده به لوله‌های آزمایش دارای ۱۵ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر انتقال داده شد. لوله‌های دارای نمونه برگی به‌مدت ۲٤ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد روی شیکر با RPM ۱۲۰ قرار گرفتند. سپس هدایت الکتریکی آن‌ها با EC متر اندازه‌گیری شد (هدایت الکتریکی اولیه). بعد از اندازه‌گیری هدایت الکتریکی اولیه، نمونه‌ها به‌مدت ٦۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و با فشار ۱۵ اتمسفر اتوکلاو شدند تا تمام محتویات سلول خارج شود. سپس وقتی دمای آن‌ها به دمای محیط رسید (۲۵ درجه سانتی‌گراد) مجدداً میزان هدایت الکتریکی محلول اندازه‌گیری شد (هدایت الکتریکی ثانویه) و درصد نشت یونی از رابطه ۲ محاسبه گردید:

$$\text{درصد نشت یونی} = \frac{\text{هدایت الکتریکی اولیه}\times 100}{\text{هدایت الکتریکی ثانویه}} \quad (2)$$

اندازه‌گیری میزان کلروفیل نیز توسط روش آرنون انجام گردید (٦). برای این منظور ۰/۵ گرم برگ تازه در هاون چینی له و به‌وسیله ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد عصاره‌گیری شد. عصاره به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ٦۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و جذب رو شناورها در طول موج ٦٦۳ و٦٤۵ نانومتر قرائت شد.

برای اندازه‌گیری میزان کربوهیدرات محلول از روش رنگ‌سنجی فنل- اسیدسولفوریک استفاده شد (۱۸). برای این منظور ۰/۱ گرم برگ خشک با الکل ۷۰ درصد به حجم ۱۵ میلی‌لیتر رسانده شد و مخلوط حاصل یک هفته در یخچال نگهداری و هر روز بهم زده شد. پس از یک هفته ۲ میلی‌لیتر از نمونه با یک میلی‌لیتر فنل ۵ درصد به خوبی مخلوط شد. سپس ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ روی آن اضافه شد. نمونه‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه به حالت ساکن نگهداری شدند. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ٤۸۵ نانومتر قرائت گردید.

میزان پرولین: اندازه‌گیری میزان فعالیت پرولین نیز براساس روش بیتس و همکاران (۱۹۷۳) انجام گرفت (۹). برای استخراج پرولین ۰/۵ گرم نمونه برگی از برگ‌های تازه یا منجمدشده وزن و در هاون چینی له شد و سپس مقدار ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد به آن اضافه شد. قسمت بالای محلول (روشناور) جدا شد و با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد مجدداً استخراج عصاره بر روی رسوبات باقی‌مانده ادامه یافت. عصاره استخراج‌شده به‌مدت ۱۵ دقیقه در ٤۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از عصاره و استانداردها در لوله‌های آزمایش درپوش‌دار ریخته شد و به آن ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال اضافه شد. مخلوط حاصل پس از بهم زدن به‌مدت ٦۰ دقیقه در حمام آب جوش گرم شد تا واکنش ایمینواسید با نین هیدرین انجام شود. شدت جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر مدل Halo DB-20 اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

تهیه عصاره آنزیمی: برای این منظور ۱ گرم برگ گیاهان بعد از ساییده شدن در هاون چینی سرد شده توسط نیتروژن مایع، در لوله‌های پلاستیکی ۱۵ میلی‌لیتری قرار داده شد. سپس برای استخراج پروتئین محلول برگ، ۳ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات ۰/۱ مولار با pH برابر ۷ به آن‌ها اضافه شد. لوله‌های دارای نمونه برگی و بافر به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۸۰۰۰ دور در دقیقه با دستگاه سانتریفیوژ مدل Universal 320 R ساخت آلمان سانتریفیوژ شدند و از روشناورها به‌عنوان منبع آنزیمی استفاده شد.

اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز: برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز برای هر نمونه، ۲/۵ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH =۷) و ۳۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار (سوبسترا) مخلوط شدند (مخلوط واکنش). مخلوط واکنش در کووت کوارتز ریخته شد و درست قبل از اندازه‌گیری سرعت واکنش، ۳۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به آن اضافه شد. میزان کاهش جذب مقدار پراکسید هیدروژن در طول موج ۲٤۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Halo DB-20 ساخت شرکت Dynamica انگلستان بین زمان‌های ۱۵ و ۷۵ ثانیه اندازه‌گیری شد و سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از محاسبه کاهش جذب H_2O_2 در ۲٤۰ نانومتر انجام شد (۱۵).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز: برای این منظور ۳۰ میکرولیتر از ترکیب آلی گایاکول ۲۰۰ میلی‌مولار و ۲/۵ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات ۰/۰۵ میلی‌مولار (pH =۷) و ۳۰ میکرولیتر سوبسترا (پراکسید هیدروژن ۰/۳ درصد) مخلوط شدند (مخلوط واکنش). مخلوط واکنش در کووت کوارتز ریخته شد و درست قبل از اندازه‌گیری سرعت واکنش، ۳۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به آن اضافه شد. اکسیژن حاصل از تجزیه پراکسید هیدروژن با گایاکول (دهنده الکترون) واکنش و تولید رنگ قهوه‌ای می‌کند که می‌توان این رنگ قهوه‌ای را با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٤۷۰ نانومتر اندازه‌گیری کرد (۱۲).

استخراج اسانس: استخراج اسانس برگ‌های خشک شده به روش تقطیر با آب به‌مدت ۳ ساعت، توسط دستگاه کلونجر و بر اساس فارماکوپه بریتانیا (۱۳) انجام شد. برای این منظور از ۳۰ گرم پودر خشک برگ با سه تکرار استفاده شد. درصد اسانس (وزنی به وزنی) نمونه‌ها بر حسب مقدار وزن خشک مورداستفاده محاسبه گردید.

تجزیه آماری داده‌ها با نرم‌افزار MSTAT-C و Excel انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با توجه به آزمون دانکن صورت گرفت.

نتایج

تجزیه واریانس: نتایج نشان داد اثر شوری بر همه پارامترهای مورد بررسی به‌جز محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار ($P\leq ۰/۰۱$) بود (جدول ۱). اثر اسید سالیسیلیک نیز بر صفات ارتفاع گیاه، میزان کلروفیل، قند، پرولین، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و درصد اسانس در سطح یک درصد و بر نشت یونی در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود، اما بر پارامترهای وزن خشک برگ، محتوای نسبی آب برگ و فعالیت آنزیم پراکسیداز معنی‌دار نبود. نتایج برهمکنش شوری و اسید سالیسیلیک نیز بر صفات کلروفیل، قند، پرولین و فعالیت آنزیم پراکسیداز در سطح ۱ درصد و بر فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. پارامترهای وزن خشک برگ، ارتفاع ساقه، محتوای نسبی آب برگ، نشت یونی و درصد اسانس تحت‌تأثیر برهمکنش شوری و اسید سالیسیلیک قرار نگرفتند (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر شوری و اسید سالیسیلیک بر پارامترهای مختلف گیاه به‌لیمو.

Table 1. Analysis of variance of Salinity and Salicylic Acid Effects on Different Parameters of Lemon Verbena.

منبع تغییرات Variation source	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات									
		وزن خشک برگ Leaf dry weight	ارتفاع Height	آب نسبی برگ Relative water content	نشت یونی Ionic leakage	کاتالاز Catalase	پراکسیداز Peroxidase	کربوهیدرات Carbohydrate	کلروفیل Chlorophyll	پرولین Proline	اسانس Essential oil
شوری (A) Salinity(A)	3	478.1**	685.1**	132.2 ns	1055.7**	9635.8**	44.8**	4675.6**	0.04**	1851.8**	0.1**
اسید سالیسیلیک (B) Salicylic acid(B)	2	19.2 ns	149.2**	529.7 ns	126.8*	191.7**	0.4 ns	364.1**	0.02**	267.9**	0.01**
A×B	6	27.7 ns	46.1 ns	284.0 ns	43.5 ns	43.7*	6.5**	819.1**	0.01**	75.0**	0.0 ns
Error	24	36.9	26.2	215.1	32.2	15.0	1.4	4.2	0.0	17.6	0.0
C.V. (%)		13.5	6.27	20.1	8.7	8.7	5.2	1.65	5.28	11.9	4.8

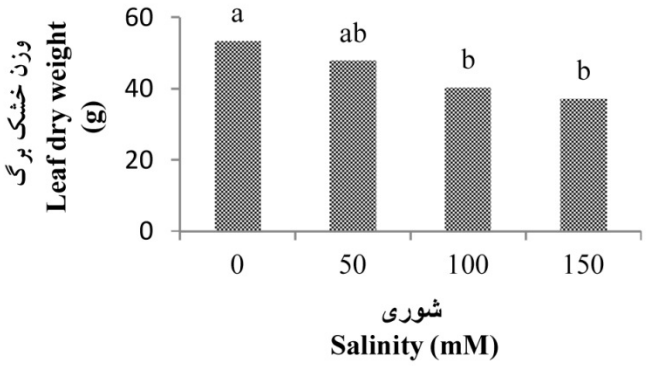
**، * و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح ۱ و ۵ درصد و غیرمعنی‌دار.

**, * and ns are significant at α=0.01, 0.05 and non-significant.

نتایج مقایسه میانگین صفات ریخت‌شناسی

وزن خشک برگ: تأثیر شوری بر وزن خشک برگ معنی‌دار بود (P≤ ۰/۰۱) ولی اثر اسید سالیسیلیک و برهمکنش شوری و اسید سالیسیلیک معنی‌دار نبود (P≤۰/۰۵). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیش‌ترین وزن خشک برگ (۵۳/٤ گرم) در تیمار عدم شوری و کم‌ترین آن (۳۷/۳ گرم) در بالاترین غلظت شوری یعنی ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد. تفاوت بین تیمار ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار شوری معنی‌دار نبود (شکل ۱).

با افزایش شوری، میزان آب سلول‌های برگ کاهش می‌یابد که این امر، کاهش سرعت طویل و تقسیم شدن سلول‌ها را به همراه داشته و باعث کوچک‌تر شدن اندازه برگ‌ها و کاهش سطح آن ها و در نتیجه کاهش وزن خشک برگ می‌شود (۲٦). نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج سیلسپور و همکاران (۱۳۹۵) مبنی بر کاهش معنی‌دار وزن خشک برگ ارقام زیتون با افزایش شوری مطابقت دارد (۳۳).

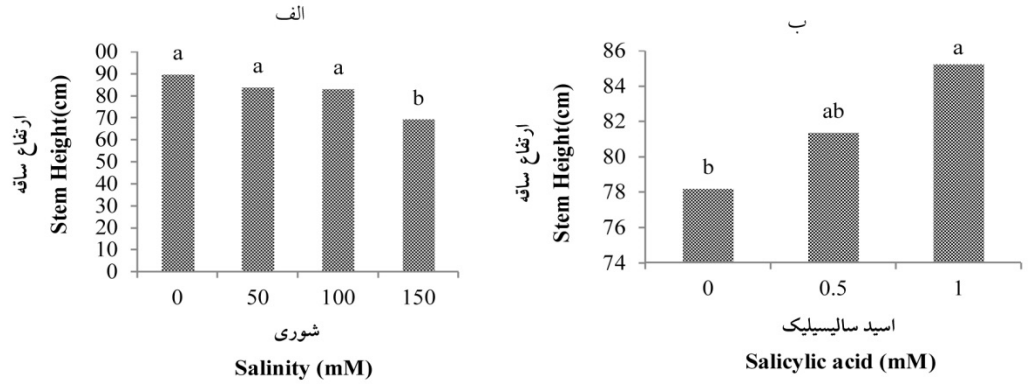


شکل ۱- اثر تیمارهای شوری بر وزن خشک برگ.

Fig. 1. Effect of salinity treatments on leaf dry weight.

ارتفاع ساقه: نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر شوری و اسید سالیسیلیک بر ارتفاع ساقه معنی‌دار (P≤۰/۰۱) بود (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد شوری سبب کاهش طول ساقه گیاهان شد اما تنها شوری ۱۵۰ میلی‌مولار تفاوت معنی‌داری با سایر سطوح نشان داد. با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک ارتفاع ساقه افزایش یافت و بیش‌ترین ارتفاع (۸۵/۲ سانتی‌متر) در غلظت ۱ میلی‌مولار مشاهده شد. تفاوت بین تیمار ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک معنی‌دار نبود (شکل ۲). باقریان و همکاران (۲۰۱۷) اثر شوری را به تنهایی روی صفات کمی و کیفی گیاه به‌لیمو مورد بررسی قرار دادند و نتایج آن‌ها نشان داد که شوری سبب کاهش قابل‌توجه ارتفاع، تعداد شاخه فرعی و وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه گیاه گردید (۸).

در شرایط شوری میزان اسید آبسزیک در برگ افزایش می‌یابد که موجب بسته شدن روزنه‌ها، کاهش جذب آب و کاهش سطح برگ می‌شود. کاهش سطح برگ مهم‌ترین دلیل کاهش رشد و طویل شدن گیاه در اثر شوری محسوب می‌شود (۳۲). شکیرووا و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که اسید سالیسیلیک با افزایش در مقدار هورمون‌های اکسین و سیتوکینین سبب افزایش رشد گیاه می‌شود (۳٤).

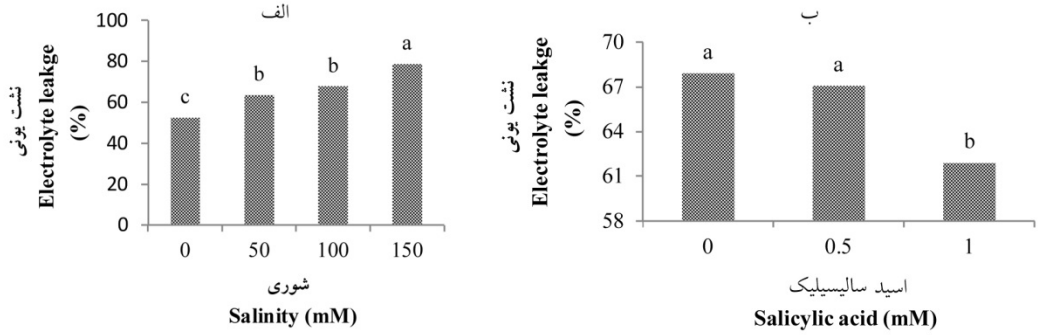


شکل ۲- اثر تیمارهای شوری (الف) و اسید سالیسیلیک (ب) بر ارتفاع ساقه.

Fig. 2. Effect of salinity treatments and salicylic acid on Stem Height.

نشت یونی برگ: نتایج نشان داد اثر شوری بر نشت یونی در سطح ۱ درصد و اثر اسید سالیسیلیک در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). براساس نتایج مشاهده شد با افزایش شوری نشت یونی افزایش یافت (شکل ۳). گرچه تفاوت بین تیمارهای شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار معنی‌دار نبود. کاربرد اسید سالیسیلیک سبب کاهش نشت یونی شد (شکل ۳). اثر غلظت ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک بر کاهش نشت یونی معنی‌دار نبود.

حفظ پایداری غشای سلولی در طی تنش، نقش محوری در افزایش تحمل گیاه دارد و شاخص مناسبی از میزان تحمل گیاه به تنش است. غشاهای سلولی و اندامک‌ها، اولین محل آسیب به سلول‌ها در شرایط تنش توسط گونه‌های فعال اکسیژن هستند (١٤). رادیکال‌های سوپر اکسید ایجاد شده در شرایط تنش شوری باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و افزایش محتوای مالون دی‌آلدئید و در نتیجه آسیب به غشاهای سلولی می‌شوند (۲۸). گزارش شده است که اسید سالیسیلیک با مهار گونه‌های اکسیژن واکنشگر، از آسیب به اسیدهای چرب جلوگیری و نفوذپذیری و نشت یونی غشاء را کاهش و از غشاء تیلاکوئیدی در مقابل تنش شوری محافظت می‌کند (۷). در بررسی پیراسته انوشه و همکاران (۲۰۱۷) در گیاهان جو نشان داده شد که شاخص نشت یونی تحت‌تأثیر معنی‌دار شوری و اسید سالیسیلیک قرار گرفت و بوته‌های جو در شرایط تنش شوری نشت یونی بیش‌تری نشان دادند. همچنین غلظت‌های بالای ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک سبب کاهش نشت یونی گردید (۲۸).



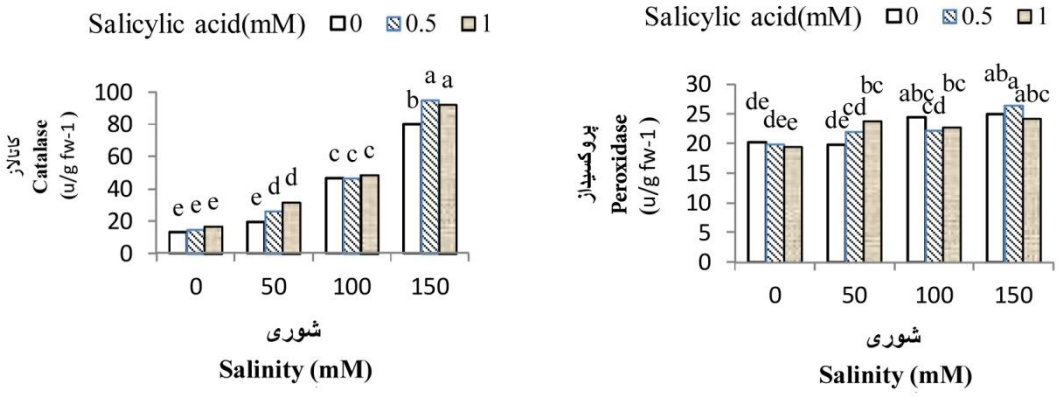
شکل ۳- اثر تیمارهای شوری (الف) و اسید سالیسیلیک بر نشت یونی (ب).

Fig. 3. Effect of salinity and salicylic acid treatments on Ion leakage.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده شد اثر متقابل شوری و اسید سالیسیلیک بر فعالیت کاتالاز در سطح ۵ درصد و پراکسیداز در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد شوری سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گردید. کاربرد اسید سالیسیلیک نیز سبب افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نسبت به شاهد گردید (شکل ٤).

در شرایط تنش، عدم توازن بین فرآیند جذب انرژی و مصرف آن توسط اندام فتوسنتزی باعث تولید انواع اکسیژن فعال و ناتوانی گیاه در مهار آن می‌گردد که در نهایت منجر به بروز تنش در غشاء سلول و بروز علائم ناشی از صدمات اکسیداتیو می‌شود (۱۱). در این شرایط میزان آنتی‌اکسیدان‌ها در جهت کاهش اثرات سمی ناشی از تنش اکسیداتیو حاصل از تنش شوری، افزایش پیدا می‌کنند. نتایج بررسی دیانت و همکاران (۲۰۱٦) روی به‌لیمو نشان داد با افزایش شدت تنش خشکی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان افزایش یافت (۱٦). در بررسی آلودسدا کوستا و همکاران (۲۰۰۵) میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز برگ سورگوم تحت شوری افزایش یافت اما از میزان فعالیت کاتالاز کاسته شد (۳).

کاتالاز یکی از این آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌باشد که باعث تجزیه H_2O_2 و تبدیل آن به آب و اکسیژن می‌گردد و سلول را از اثرات سمی پراکسید هیدروژن محافظت می‌کند. افزایش فعالیت کاتالاز یک پاسخ سازشی برای غلبه بر آسیب‌های ناشی از سطوح سمی و احیاکننده H_2O_2 می‌باشد که طی متابولیسم سلول تولید می‌گردد. پراکسیداز نیز که یک اکسید و ردوکتاز می‌باشد باعث تجزیه H_2O_2 می‌گردد (۳). گزارش شده که اسید سالیسیلیک از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز و پراکسیداز، گیاه را از صدمات حاصل از واکنش‌های اکسیداتیو محافظت می‌کند (۱۰).

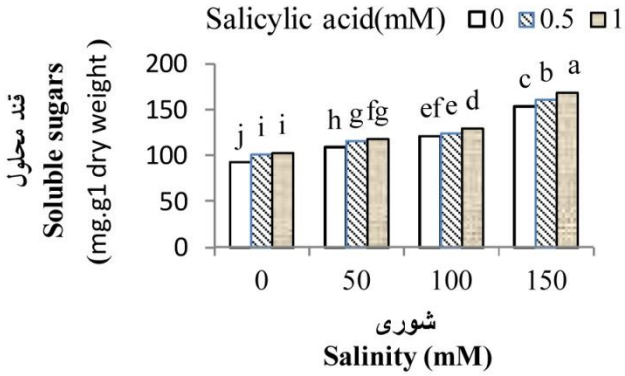


شکل ٤- اثر متقابل شوری و اسید سالیسیلیک بر فعالیت کاتالاز و پراکسیداز.

Fig. 4. Effect of interaction of salinity and salicylic acid on activity of catalase and peroxidase.

میزان کربوهیدرات محلول: اثر شوری، اسید سالیسیلیک و برهمکنش آن‌ها بر میزان کربوهیدرات محلول برگ معنی‌دار (P≤۰/۰۱) بود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که شوری سبب افزایش غلظت قندهای محلول گردید. به‌طوری‌که بیش‌ترین قند (۱٦۹ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در بالاترین غلظت شوری یعنی ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده گردید و اختلاف معنی‌داری با سایر سطوح شوری نشان داد. تیمار با اسید سالیسیلیک نیز سبب افزایش غلظت کربوهیدرات محلول برگ گردید. غلظت ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک تفاوت معنی‌داری را نسبت به تیمار عدم محلول‌پاشی از این نظر نشان داد. در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار هر سه غلظت اسید سالیسیلیک تفاوت معنی‌داری نشان دادند (شکل ۵).

گزارش شده گیاهان به‌منظور مقابله با تنش‌های اسمزی مانند خشکی و شوری، غلظت مواد محلول درون‌سلولی خود مانند کربوهیدرات‌های محلول را بالا می‌برند و بدین‌وسیله فشار اسمزی داخلی خود را حفظ می‌کنند و بنابراین در مقابل از دست‌رفتن آب مقاومت می‌کنند (۲۰).

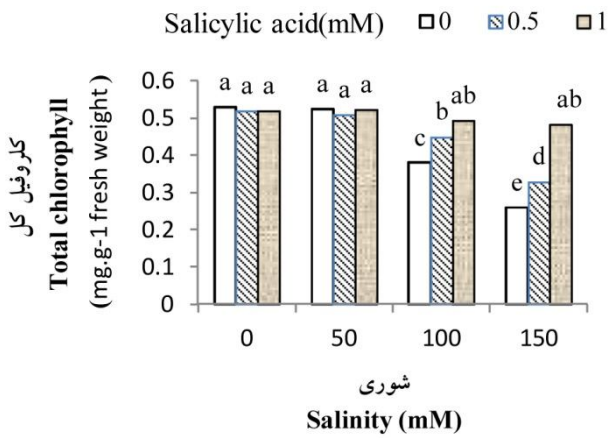


شکل ۵- اثر متقابل شوری و اسید سالیسیلیک بر میزان قندهای محلول.

Fig. 5. Effect interaction of salinity and salicylic acid on Soluble sugars.

میزان کلروفیل: اثر شوری، اسید سالیسیلیک و برهمکنش آن‌ها بر میزان کلروفیل برگ معنی‌دار (P≤۰/۰۱) بود (جدول ۱). از نظر میزان کلروفیل مشاهده شد که شوری سبب کاهش غلظت کلروفیل برگ گردید (شکل ٦). به‌طوری‌که بیش‌ترین کلروفیل (۵۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار شاهد یا عدم شوری مشاهده گردید و اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با سایر سطوح شوری نشان داد. کاربرد اسید سالیسیلیک در شرایط عدم شوری و تیمار ۵۰ میلی‌مولار مؤثر نبود ولی در تیمارهای شوری ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار سبب افزایش معنی‌دار غلظت کلروفیل برگ گردید.

در بررسی سیلسپور و همکاران (۱۳۹۵) نیز شوری سبب کاهش معنی‌دار کلروفیل در برگ زیتون گردید (۳۳). گزارش شده در اثر شوری مقدار اتیلن برگ افزایش و به‌دلیل افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز، میزان کلروفیل گیاه به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد و کلروفیل و کلروپلاست‌ها تجزیه می‌شوند (۲۷). اسید سالیسیلیک با جلوگیری از تخریب ساختار کلروپلاست در شرایط تنش شوری از کاهش کلروفیل ممانعت می‌کند (۲۳).



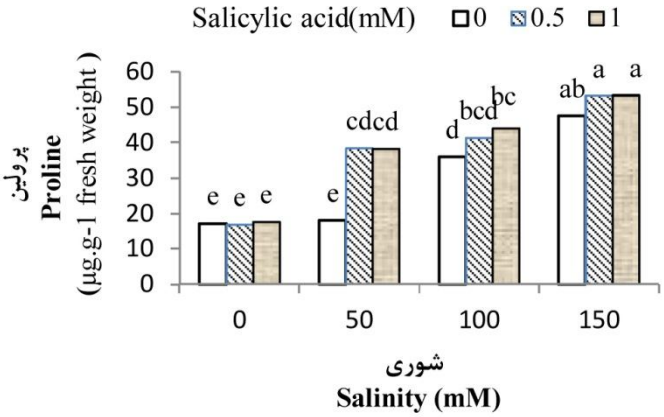
شکل ٦- اثر متقابل شوری و اسید سالیسیلیک بر میزان کلروفیل برگ.

Fig. 6. The interaction effect of salinity and salicylic acid on leaf chlorophyll content.

پرولین: نتایج نشان داد اثر شوری، اسید سالیسیلیک و برهمکنش آن‌ها بر میزان پرولین برگ معنی‌دار (P≤۰/۰۱) بود (جدول ۱). براساس مقایسه میانگین‌ها مشخص شد که شوری سبب افزایش غلظت پرولین می‌شود (شکل ۷). به‌طوری‌که بیش‌ترین پرولین (۵۳/۳٦ میکروگرم بر گرم وزن تر) در بالاترین غلظت شوری یعنی ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده گردید و اختلاف معنی‌داری با سایر سطوح شوری نشان داد (شکل ۷).

گزارش شده اسید آمینه پرولین که در گیاهان تحت شرایط تنش جمع می‌شود، ممکن به‌عنوان منبع نیتروژن و کربن برای گیاهان تحت تنش شدید عمل کند و یا ممکن است نقشی را در تنظیم اسمزی بر عهده داشته باشند و بدین‌وسیله تحمل گیاه را در برابر تنش افزایش دهد (۲).

کاربرد اسید سالیسیلیک نیز به‌طور معنی‌داری سبب افزایش پرولین نسبت به عدم محلول‌پاشی در همه سطوح شوری گردید (شکل ۷). گرچه تفاوت غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار معنی‌دار نبود. افزایش محتوای پروتئین‌های محلول از طریق جلوگیری از تخریب آن‌ها یا تحریک سنتز آن‌ها، یکی از سازوکارهای اسید سالیسیلیک برای القای تحمل به تنش گزارش شده است (۲۸).

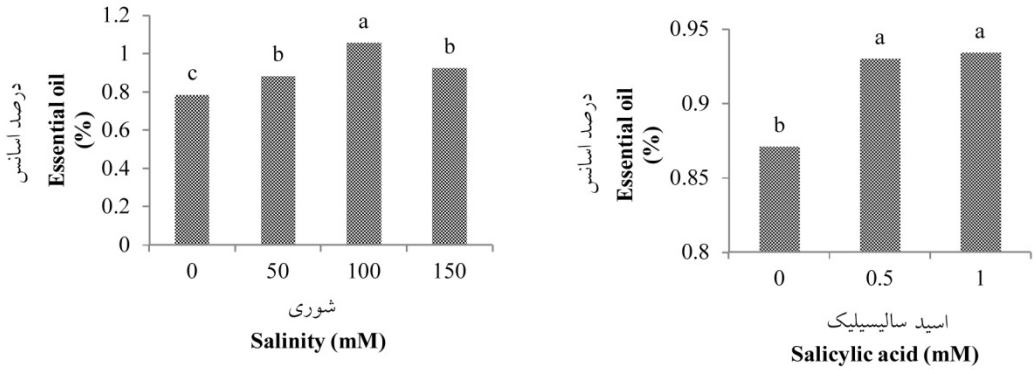


شکل ۷- اثر متقابل تیمارهای شوری و اسید سالیسیلیک بر میزان پرولین برگ.

Fig. 7. The interaction effect of salinity and salicylic acid on leaf proline.

درصد اسانس: نتایج نشان داد اثر شوری و اسید سالیسیلیک بر میزان اسانس معنی‌دار (P≤۰/۰۱) بود (جدول ۱). با افزایش شوری تا ۱۰۰ میلی‌مولار درصد اسانس برگ افزایش یافت اما با افزایش شوری مجدد کاهش یافت (شکل ۸). کاربرد اسید سالیسیلیک نیز به‌طور معنی‌داری سبب افزایش درصد اسانس نسبت به عدم محلول‌پاشی شده است. گرچه تفاوت غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار معنی‌دار نبود.

تولید اسانس و سایر متابولیت‌های ثانویه در گیاه در شرایط تنش‌ها به‌منظور سازگاری گیاه صورت گرفته و به منزله به‌کار افتادن یک نوع جریان دفاعی در جهت استمرار فعالیت‌های حیاتی گیاه و تحمل به تنش می‌باشد (۲۱). نکته قابل‌توجه این است که همیشه با بالارفتن میزان تنش، درصد اسانس نمی‌تواند افزایش یابد چرا که در تنش‌های شدید، گیاه بیش‌تر مواد فتوسنتزی خود را صرف تولید ترکیبات تنظیم‌کننده‌های اسمزی از جمله پرولین، گلیسین‌بتائین و ترکیبات قندی همانند ساکارز، فروکتوز و فروکتان می‌کند که بتواند شرایط لازم برای ادامه حیات خود در این شرایط را فراهم کند (۵). در بررسی گرگینی شبانکاره و خراسانی‌نژاد (۱۳۹۵) با افزایش شوری تا ۱ دسی‌زیمنس بر متر نیز میزان اسانس ریحان افزایش داشت ولی با شوری بیش‌تر میزان اسانس کاهش یافت (۲۰). فاتما و غریب (۲۰۰۷) در پژوهش خود در ریحان و مرزنجوش گزارش کردند که اسید سالیسیلیک با افزایش عملکرد پیکر رویشی ریحان و مرزنجوش منجر به افزایش عملکرد اسانس دو گونه گردید (۱۹).



شکل ۸- اثر تیمارهای شوری و اسید سالیسیلیک بر درصد اسانس برگ.

Fig. 8. Effect of treatments of salinity and salicylic acid on percentage of essential oil.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که اثر شوری بر همه متغیرها به‌جز محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار بود. اثر اسید سالیسیلیک نیز بر همه پارامترها به‌جز وزن خشک برگ، محتوای نسبی آب برگ و میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز معنی‌دار بود. تنش شوری سبب کاهش وزن خشک برگ، ارتفاع ساقه و میزان کلروفیل برگ شد. بیش‌ترین مقدار تجمع پرولین، کربوهیدرات، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و نشت یونی در تیمارهای تنش شدید مشاهده شد. کاربرد اسید سالیسیلیک سبب افزایش ارتفاع ساقه، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، کلروفیل، کربوهیدرات، پرولین و درصد اسانس شد. به‌طورکلی محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک به‌ویژه غلظت ۱ میلی‌مولار تأثیر سوء تنش شوری بر دانهال‌های به‌لیمو را کاهش داد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از دانشگاه هرمزگان به‌خاطر در اختیار قرار دادن فضای گلخانه برای انجام این پژوهش سپاسگزاری می‌نمایند.

منابع

1. Ahmadi Mousavi, E., Kalantari Kh., Jafari, R., Hasibi, N. and Mahdavian, K. 2010. Study of the effects of 24-epibrassinolide and water stress on some physiological parameters in canola (*Brassica napus* L.) seedling. Iran. J. Biol. 3: 2. 275-286. (In Persian)
2. Amini, S., Ghobadi, C. and Yamchi, A. 2015. Proline auumulation and osmotic stress: an overview of P5CS gene in plants. J. Plant Mol. Breed, 3: 2. 44-55.
3. Alvesda Costa, P.H., Azevedo Neto, A.D., Alves Bezerra, M., Tarquinio Paisco, J. and Gomes-Filho, E. 2005. Antioxidantive–enzymatic system of two sorghum genotypes differing in salt tolerance. Plant Physiol. 17: 4. 353-361.
4. Appel, K. and Hirt, H. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. Annu. Rev. Plant Biol. 55: 373-399.
5. Arazmjo, A., Heidari, M., Ghanbari, A., Siahsar, B. and Ahmadian, A. 2010. Effects of three types of fertilizers on essential oil, photosynthetic pigments, and osmoregulators in chamomile under drought stress. Environ. Stress. Crop Sci. 3: 1. 23-33. (In Persian)
6. Arnon, A. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agron. J. 23: 112-121.
7. Ashraf, M., Akram, N.A., Arteca, R.N. and Foolad, M.R. 2010. The physiological, biochemical and molecular roles of brassinosteroids and salicylic acid in plant processes and salt tolerance. Crit. Rev. Plant Sci. 29: 162-190.
8. Bagherian Lemraski, H., Rezvan Beidokhti, S., Masoud Sinaki, J., Hashemi Moghadam, H. and Soroori, S. 2017. Effect of different levels of salt stress on qualitative and quantitative traits on lemon verbena (*Lippia citriodora* L.). Cell. Mol. Plant Biol. J. 12: 2. 5-14. (In Persian)
9. Bates, L., Waldren, R.P. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. J. Plant Soil. 39: 205-207.
10. Bayat, H., Mardani, H., Arouie, H. and Salahvarzi, Y. 2011. Effects of salicylic acid on morphological and physiological characteristics of cucumber seedling (*Cucumis sativus* cv. Super Dominus) under drought stress. J. Plant Prod. 18: 3. 63-76. (In Persian)
11. Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagestedt, K.V. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A review. Ann. Bot. 91: 179-194.
12. Bowen, W.R. and Baxter, W.D. 1980. Exp. Cell Biol. An Integrated Laboratory Guide and Text, Macmillan Publishing Co, Inc., New York.
13. British pharmacopoeia.1993. HMSO: London. ISBN 0-11-321543-6.
14. Candan, N. and Tarhan, L. 2003. The correlation between antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in *Mentha pulegium* organs grown in Ca^{2+}, Mg^{2+}, Cu^{2+}, Zn^{2+} and Mn^{2+} stress conditions. Plant Sci. 163: 769-779.
15. Dhindsa, R.S. and Motowe, W. 1981. Drought tolerance in two mosses: correlation with enzymatic defense against lipid peroxidation. J. Exp. Bot. 32: 79-91.
16. Dianat, M., Saharkhiz, M.J. and Tavassolian, I. 2016. Salicylic acid mitigates drought stress in *Lippia citriodora* L. Effects on biochemical traits and essential oil yield. Biocatal. Agric. Biotechnol. 8: 286-293.
17. Dirk, I. and Montago, M.V. 2002. Oxidative Stress in Plants, Taylor & Fransis.
18. Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Ann. Chem. 28: 350-356.
19. Fatma, A.E. and Gharib, L. 2007. Effect of salicylic acid on the growth, metabolic activities and oil content of basil and majoram. Int. J. Agric. Biol. 4: 485-492.
20. Gorgini-Shabankareh, H. and Khorasani Nejad, S. 2016. Comparison of quantitative and qualitative traits of essential oil compounds of Basil (*Ocimum basilicum*) under salinity stress. First National Conference on medicinal plants. (In Persian)

21. Hassani, A. and Omidbeigi, R. 2002. Effects of water stress on some morphological, physiological and metabolical characteristics of basil (*Ocimum basilicum*). Agric. Knowledge, 12: 3. 47-59.
22. Jabbari, F., Ahmadi, A., Poostini, K. and Alizadeh, H. 2006. Investigating the relationship between the activity of some antioxidant enzymes and cell membrane stability and chlorophyll in drought resistant and drought susceptible cultivars of wheats. J. Agri. Sci. Iran. 1: 37: 2. 307-316. (In Persian)
23. Khodary, S.E.A. 2004. Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt-stressed maize plants. Intl. J. Agri. Biol. 6: 5-8.
24. Lutts, S., Kinet, J.M. and Bouharmont, J. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. Ann. Bot. 8: 389-398.
25. Moradi, F. and Abdelbaghi, M.I. 2007. Responses of photosynthesis, chlorophyll fluorescence and ROS-scav enging systems to salt stress during seedling and reproductive stages in rice. Ann. Bot. 99: 1161-1173.
26. Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell Environ. 25: 239-250.
27. Parida, A.K., Das, A.B. and Mittra, B. 2004. Effects of salt on growth, Ion accumulation, photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove. Trees. 18: 167-174.
28. Pirasteh-Anosheh, H., Emam, Y., Rousta, M.J. and Hashemi, S.E. 2017. Effect of salicylic acid on biochemical attributes and grain yield of barley (*Hordeum vulgare* L. cv. Nosrat) under saline conditions. Iran. J. Crop Sci. 18: 3. 232-244. (In Persian)
29. Ranjbar, Gh. and Pirasteh-Anoosheh, H. 2015. A glance to the salinity research in Iran with emphasis on improvement of field crops production. Iran. J. Crop Sci. 17: 2. 165-178. (In Persian)
30. Rezaei, M.B. and Jaimand, K. 2001. Study the chemical composition of the essential oil of Lemon verbena (*Lippia citriodora*). Pajohesh Sazandegi. 53: 3. 13-15. (In Persian)
31. Ritchie, S.W., Nguyen, H.T. and Halody, A.S. 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Sci. 30: 105-111.
32. Salimi, F. and Shekari, F. 2012. The effects of methyl jasmonate and salinity on some morphological characters and flower yield of German chamomile (*Matricaria chamomilia* L.). J. Integr. Plant Biol. 4: 11. 27-38. (In Persian)
33. Seilsepour, M., Golchin, A. and Roozban, M.R. 2016. Evaluation of salt tolerance in two olive rootstocks based on growth characteristics and regression analysis to salinity. J. Soil Manage. Sustain. Prod. 6: 2. 83-100.
34. Shakirova, F.M., Sakhabutdinova, A.R., Bozrutkova, M.V., Fatkhutdinova, R.A. and Fatkhutdinova, D.R. 2003. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. Plant Sci. 164: 317.
35. Waseem, M., Athar, H.U.R. and Ashraf, M. 2006. Effect of salicylic acid applied through rooting medium on drought tolerance of wheat. Pak. J. Bot. 38: 4. 1127-1136.