

تأثیر کاربرد اسیدسالیسیلیک بر روی دو رقم زیتون (دزفولی و کورونایکی) در شرایط تنش خشکی

هوشنگ نظری^۱، رسول جلیلی‌مندی^۲، عباس حسنی^{۳*} و جلیل خارا^۴

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۱۷ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۳/۷)

چکیده

اسیدسالیسیلیک یک ترکیب فنلی امیدبخش است که به دلیل نقش آن در مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی مختلف مانند خشکی، توجه زیادی را به خود جلب کرده است. بر همین مبنا به منظور بررسی تأثیر محلول پاشی اسیدسالیسیلیک (در غلظت‌های صفر، ۱ و ۳ میلی‌مولار هر ۱۵ روز یکبار) بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی نهال‌های دو رقم زیتون (کورونایکی و دزفولی) در شرایط تنش خشکی (آبیاری با فواصل ۵، ۱۰ و ۱۵ روز یکبار)، یک آزمایش گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه انجام گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که با افزایش تنش خشکی پارامترهای رشدی شامل ارتفاع نهال، تعداد و سطح برگ در مقایسه با شاهد کاهش و میزان پروتئین کل، مالون دی‌آلدئید، گلیسین‌بتائین، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز افزایش یافتند. نتایج همچنین نشان داد که سطح برگ، پروتئین کل، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول پراکسیداز در رقم دزفولی بیشتر از رقم کورونایکی و ارتفاع نهال، تعداد برگ، محتوی گلیسین‌بتائین و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در رقم کورونایکی بیشتر از رقم دزفولی بود. کاربرد اسیدسالیسیلیک باعث افزایش ارتفاع نهال و تعداد برگ شد. همچنین کاربرد اسیدسالیسیلیک باعث کاهش مالون دی‌آلدئید و افزایش گلیسین‌بتائین، پروتئین کل و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز گردید. در مجموع یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که رقم دزفولی تحمل بیشتری به خشکی داشته و کاربرد اسیدسالیسیلیک توانست اثرات تنش خشکی را کاهش دهد.

کلمات کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، تنش کم‌آبی، صفات رشدی، گلیسین‌بتائین، مالون دی‌آلدئید

۱- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ایران.

۲- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ایران.

۳- استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ایران.

۴- استاد گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ایران.

* پست الکترونیک: a.hassani@urmia.ac.ir

مقدمه

درخت زیتون (*Olea europaea* L.) یکی از گسترده‌ترین محصولات باغی در اکوسیستم‌های کشاورزی از نوع مدیترانه‌ای است که از اهمیت اقتصادی و اجتماعی بالایی برخوردار است. در مناطق نیمه‌خشک حوزه مدیترانه، کمبود بارش همراه با شرایط آب و هوایی شدید مانند دمای بالا، تنش آبی را در درختان زیتون افزایش می‌دهد. این درخت عموماً به عنوان یک محصول متحمل در برابر خشکی شناخته می‌شود، با این حال، اکنون توسط تغییرات اقلیمی تهدید می‌شود (دی-اولاس^۱ و همکاران، ۲۰۱۹). ایران یکی از آسیب‌پذیرترین مناطق جهان در برابر اثرات تغییرات اقلیمی، به‌ویژه تنش خشکی است. بنابراین نگرانی‌های جدی در مورد تأثیر تغییرات آب و هوایی بر بهره‌وری کشاورزی زیتون مطرح شده است. درک مکانیسم‌هایی که درختان زیتون برای تحمل در برابر تنش خشکی تکامل یافته‌اند برای انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی و بهبود عملکرد و کیفیت روغن زیتون مهم است (سوفو^۲ و همکاران، ۲۰۰۴). در شرایط تنش آبی، درختان زیتون وضعیت آب برگ را با سازگاری‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی تنظیم می‌کنند (گوورفل^۳ و همکاران، ۲۰۰۹). در واقع، کمبود آب بر روابط آبی برگ و مکانیسم‌های تبادل گاز ارقام زیتون تأثیر می‌گذارد (ترابلسی^۴ و همکاران، ۲۰۱۹). برخی از محققان کاهش سرعت فتوسنتز در پاسخ به تنش آبی را به کاهش هدایت روزنه‌ای و محدودیت‌های بیوشیمیایی نسبت داده‌اند (پرز-مارتین^۵ و همکاران، ۲۰۱۴؛ بن-حامد^۶ و همکاران، ۲۰۱۶؛ باکاری^۷ و همکاران، ۲۰۲۰). کنترل روزنه‌ای مکانیسم موثری است که باعث کاهش اتلاف آب از طریق تبخیر و عرق در شرایط خشکی می‌شود (پرز-مارتین و همکاران، ۲۰۱۴).

محدودیت جذب CO₂ در درختان زیتون تحت تنش آب منجر به کاهش بیش از حد زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی می‌شود. از آنجایی که کلروپلاست‌ها نمی‌توانند انرژی نوری

اضافی را از بین ببرند، انرژی فوتون به فرآیندهایی هدایت می‌شود که منجر به افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (حسن اوزمان^۸ و همکاران، ۲۰۱۷). غلظت زیاد گونه‌های فعال اکسیژن می‌تواند به‌طور جدی متابولیسم گیاه را مختل کند و باعث مهار آنزیم‌ها، اکسیداسیون پروتئین و پراکسیداسیون لیپید غشایی شود و گیاهان از طریق افزایش اسمولیت‌های سازگار و سیستم آنتی‌اکسیدانی از دستگاه فتوسنتزی در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت می‌کنند (باکاری و همکاران، ۲۰۲۰). تأثیر تنش خشکی بر نهال‌های زیتون زرد توسط موسوی‌دهموردی و همکاران (۱۳۹۷) بررسی شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که تنش آبیاری منجر به کاهش وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه و میزان کلروفیل زیتون شد.

اسیدسالیسیلیک یک هورمون گیاهی با نقش‌های مختلف نظیر تنظیم رشد و متابولیسم گیاه و تحمل به تنش‌های غیرزیستی است (عرفان^۹ و همکاران، ۲۰۰۷؛ خان^{۱۰} و همکاران، ۲۰۱۵، نایک^{۱۱} و همکاران، ۲۰۲۴). در سال‌های اخیر، تعداد قابل توجهی از مطالعات نشان داده‌اند که کاربرد اسید سالیسیلیک به‌صورت خارجی به‌عنوان یک عامل تیماری مؤثر برای گیاهان، مانند ایجاد مقاومت در برابر شرایط تنش‌های غیرزیستی یا محافظت در برابر عوامل بیماری‌زا عمل می‌کند (کوو^{۱۲} و همکاران، ۲۰۲۰). در طول تنش زیستی و غیرزیستی، اسیدسالیسیلیک نقش مهمی در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در طول کل طول عمر گیاه ایفا می‌کند و بر طیف گسترده‌ای از فرآیندها مانند جوانه‌زنی بذر، فرآیندهای فتوسنتزی، رشد، گلدهی، رسیدن میوه و غیره تأثیر می‌گذارد (ریواس-سان‌ویسنت و پلاسنگیا^{۱۳}، ۲۰۱۱؛ کوو^{۱۴} و همکاران، ۲۰۲۰). با این حال، اثرات یاد شده اسیدسالیسیلیک بسته به روش کاربرد، گونه‌های گیاهی، مرحله رشد گیاه و غلظت مورد استفاده همیشه ثابت نیست (ریواس-سان‌ویسنت و پلاسنگیا، ۲۰۱۱).

8. Hasanuzzaman

9. Arfan

10. Khan

11. Naik

12. Koo

13. Rivas-San Vicente and Plasencia

14. Koo

1. De Ollas

2. Sofo

3. Guerfel

4. Trabelsi

5. Perez-Martin

6. Ben Hamed

7. Baccari

بهبود بخشید. غلظت اکسیدان‌هایی مانند پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های سوپراکسید، همراه با مالون‌دی‌آلدهید و نشت الکترولیت در شرایط کمبود آب خاک افزایش یافت، اما در گیاهان محلول‌پاشی شده با اسیدسالیسیلیک به دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز کاهش یافت.

در سال‌های اخیر، تغییرات اقلیمی شدید و بحرانی شدن مشکل کم‌آبی در ایران، کشت و توسعه باغات حتی گونه‌های متحمل به خشکی نظیر زیتون را با مشکل جدی مواجه ساخته است. بنابراین یافتن روش‌های عملی برای کاهش اثرات منفی تنش خشکی بر درختان زیتون در کنار تلاش برای شناسایی و معرفی ارقام متحمل به خشکی بسیار ضروری است. بر همین مبنا، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در تعدیل اثرات تنش خشکی در نهال‌های دو رقم زیتون (ارقام کورونایکی و دزفولی) انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه انجام گرفت. در این تحقیق نهال‌های سه‌ساله زیتون ارقام کورونایکی و دزفولی انتخاب و در گلخانه دانشکده کشاورزی جهت استقرار در گلدان‌ها و عادت به شرایط گلخانه کشت گردیدند. در طول مدت آزمایش دمای حداقل و حداکثر گلخانه به‌طور متوسط ۱۹/۵ و ۲۸ درجه سانتی‌گراد بود و روشنایی مورد نیاز گیاه با تابش طبیعی نور آفتاب تأمین گردید. به‌منظور بررسی وضعیت خاک مورد استفاده در گلدان‌های آزمایشی، نمونه‌ای از خاک مذکور جهت انجام تجزیه‌های مربوطه به آزمایشگاه گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه ارسال گردید. نتایج حاصل از تجزیه خاک در جدول ۱ نمایش داده شده است.

این پژوهش به‌صورت یک آزمایش گلدانی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و به‌مدت ۱۲۰ روز (از ۱۵ اردیبهشت تا ۱۵ شهریور) اجرا گردید.

بسیاری از مطالعات نقش اسیدسالیسیلیک را در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند فتوسنتز، تولید اسمولیت‌ها و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برجسته کرده‌اند، بنابراین رابطه آب با گیاه را تحت تنش بهبود می‌بخشد (حیات^۱ و همکاران، ۲۰۰۸). مطالعات نشان داده‌اند که کاربرد اسیدسالیسیلیک از طریق خیساندن بذر، مخلوط کردن با محلول غذایی یا محلول‌پاشی منجر به افزایش قابل توجه تحمل به تنش غیرزیستی در گیاهان شده است (فاطمی^۲ و همکاران، ۲۰۲۴). بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که کاربرد اسیدسالیسیلیک با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مختلف و بهبود ظرفیت فتوسنتزی برگ در شرایط تنش‌های غیرزیستی مختلف به حفظ پایداری غشای سلولی (نایک و همکاران، ۲۰۲۴) کمک می‌کند. افزایش پتانسیل آب برگ و کاهش نشت الکترولیت و پراکسیداسیون لیپیدی پس از استفاده از اسیدسالیسیلیک مشاهده شده است. کاربرد اسید سالیسیلیک بسته به غلظت مورد استفاده، عملکردهای مختلف گیاه را القا یا مهار می‌کند (حیات و همکاران، ۲۰۰۸). بنابراین، اگرچه اسیدسالیسیلیک یک راه حل کوتاه‌مدت برای بهبود تحمل گیاه به تنش آبی (جسوس^۳ و همکاران، ۲۰۱۵) در نظر گرفته شده است، اما غلظت بهینه اسیدسالیسیلیک بسته به نوع گونه گیاهی متفاوت خواهد بود (باپیر و حامد^۴، ۲۰۲۳). در مطالعه‌ای عزیزی‌فر و همکاران (۱۴۰۰) تأثیر اسید سالیسیلیک و کاتولین را بر عملکرد و برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی زیتون در شرایط تنش خشکی بررسی کردند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش محتوای نسبی آب، میزان کربوهیدرات و میزان کلروفیل، همچنین باعث افزایش میزان فنل و پرولین شد. ظفر^۵ و همکاران (۲۰۲۱) تأثیر کاربرد محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک را در بهبود تحمل به خشکی درخت آلوی جاوایی یا جم^۶ بررسی کردند. نتایج نشان داد که کمبود آب خاک باعث کاهش معنی‌دار وزن خشک برگ، ساقه و کل، ویژگی‌های تبادل گاز برگ و کلروفیل a، b شد. محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک به‌طور قابل‌توجهی کلروفیل a، b، ویژگی‌های تبادل گاز برگ و تولید وزن خشک تحت کمبود آب خاک را

4. Bapir and Hamad

5. Zafar

6. *Syzygium cumini*

1. Hayat

2. Fatima

3. Jesus

جدول ۱- نتایج آزمایش تجزیه خاک

پتاسیم (mg/kg)	فسفر (mg/kg)	ازت کل (%)	کربنات کلسیم (%)	بافت خاک	شن (%)	سیلت (%)	رس (%)	کربن آلی (%)	EC (ds/m)	pH
۶۳۴	۴۳	۰/۱۵	۱۶/۱	شنی لومی	۵۴	۲۰/۵	۲۵/۵	۰/۹۶	۲/۶	۷/۶

استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری و اختلاف ارتفاع آن‌ها محاسبه و در اندازه‌گیری‌ها منظور گردید. همچنین برای اندازه‌گیری سطح برگ در هر نهال سه برگ کوچک، متوسط و بزرگ را انتخاب و پس از محاسبه میانگین سطح یک برگ، در تعداد کل برگ‌های یک نهال ضرب و عدد نهایی سطح برگ یک نهال محاسبه شد.

مالون‌دی‌آلدئید (MDA)

برای اندازه‌گیری MDA از روش هلت و پاکر^۱ (۱۹۶۸) استفاده گردید. یک گرم بافت تر برگ توزین و توسط ۲/۵ml محلول تری‌کلرواستیک‌اسید ۱۰ درصد خوب ساییده شد. سپس محلول حاصله به مدت ۲۰ دقیقه در داخل سانتیفریوژ با دور ۸۰۰۰ گذاشته شد. بعد از عمل سانتیفریوژ، حجم مساوی از عصاره، تیوباربیتوریک‌اسید (TBA) ۰/۵^۲ درصد در تری‌کلرواستیک‌اسید ۲۰ درصد به داخل لوله آزمایش منتقل شده و به مدت ۳۰ دقیقه در داخل حمام آب جوش ۹۶ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در نهایت لوله‌ها را به مدت ۵ دقیقه وارد آب یخ نموده و به مدت ۵ دقیقه در داخل سانتیفریوژ با دور ۸۰۰۰ گذاشته شد. جذب محلول حاصل توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲nm و ۶۰۰nm اندازه‌گیری گردید. میزان MDA از طریق خاموشی (۱۵۵Mm⁻¹cm⁻¹) و با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد.

رابطه ۱)

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

پروتئین کل

برای تعیین میزان پروتئین محلول کل از روش برادفورد^۳ (۱۹۷۶) استفاده شد. برای این منظور ۱۰۰ میلی‌گرم کومایسی بلو را با ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد حل نموده سپس با اضافه نمودن ۱۰۰ میلی‌لیتر اسیدفسفریک ۸۵ درصد به حجم ۱ لیتر رسانیده و از کاغذ صافی عبور داده

فاکتور اول شامل رقم زیتون در دو سطح (دزفولی و کورونایکی) و فاکتور دوم شامل دوره‌های آبیاری در سه سطح (آبیاری ۵، ۱۰ و ۱۵ روز یک‌بار) و فاکتور سوم اسیدسالیسیلیک در سه سطح (صفر، ۱ و ۳ میلی‌مولار) بودند. اولین محلول‌پاشی همزمان با شروع دوره‌های آبیاری اعمال گردید و برای جلوگیری از برگ‌شت و همچنین حفظ اثرات اسیدسالیسیلیک محلول‌پاشی‌های بعدی هر ۱۵ روز یکبار تا انتهای دوره آزمایش تکرار شد. هر واحد آزمایشی متشکل از ۲ گلدان و مجموعاً ۱۰۸ گلدان مورد استفاده قرار گرفت. گلدان‌های مورد استفاده از نوع پلاستیکی با قطر دهانه ۲۲ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۴ سانتی‌متر بودند. پس از توزین گلدان‌های خالی، در کف گلدان‌ها به مقدار مساوی شن درشت استریل شده (جهت انجام زهکشی) ریخته شد. مخلوط خاکی به کار رفته در گلدان‌ها شامل ۲ قسمت خاک معمولی، ۱ قسمت خاکبرگ و ۱ قسمت ماسه بود. حدود دوماه پس از کاشت و اطمینان از استقرار نهال‌ها، اعمال تیمارهای آبیاری شروع گردید. در ابتدای آزمایش ارتفاع نهال، سطح برگ و تعداد برگ اندازه‌گیری شد. در پایان آزمایش (۱۲۰ روز بعد از شروع دوره‌های آبیاری) از هر واحد آزمایشی یک گلدان به‌طور تصادفی انتخاب و صفات رشدی نظیر: ارتفاع نهال و تعداد برگ و صفات بیوشیمیایی برگ نظیر: مالون‌دی‌آلدئید، گلیسین‌بتائین، پروتئین کل، آنزیم‌های کاتالاز، گاپاکول‌پراکسیداز و آسکوربات‌پراکسیداز اندازه‌گیری شد.

شاخص‌های رشدی

به‌منظور بررسی اثر تنش خشکی بر برخی از خصوصیات رویشی نهال‌های مورد آزمایش، در پایان آزمایش، نهال‌های موجود در گلدان‌ها به‌همراه ریشه از خاک خارج گردید و اختلاف ارتفاع نهال، تعداد و سطح برگ اندازه‌گیری شد. برای این منظور رشد طولی نهال‌ها در ابتدا و انتهای آزمایش با

3. Bradford

1. Heath and Packer
2. Thiobarbituric acid

استخراج عصاره گیاهی برای سنجش فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و کاتالاز

برای تهیه عصاره گیاهی از روش کانگ و سالتویت^۴ (۲۰۰۲) با اندکی تغییرات استفاده شد. ۰/۵ گرم وزن تر بافت از برگ‌های انتهایی به‌طور جداگانه از کلیه تیمارها توزین گردید و سپس به‌داخل هاون سرد منتقل شد و توسط ۳ ml بافر (شامل بافر تریس-HCl ۰/۰۵ مولار با pH ۷/۵، $MgCl_2$ ۳ میلی مولار، EDTA ۱ میلی مولار) در هاون خوب ساییده شد. بافر استخراجی جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) شامل ۰/۲ میلی مولار آسکوربات نیز بود. هموژنات سپس به‌مدت ۲۰ دقیقه در داخل سانتریفیوژ با ۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت. محلول رویی حاصله به‌عنوان عصاره خام برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و کاتالاز مورد استفاده قرار گردید.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از روش ناکانو و آسادا^۴ (۱۹۸۱) با اندکی تغییرات اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ ml بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با pH ۷ شامل ADTA ۰/۱ میلی مولار، آسکوربات سدیم ۱ میلی مولار، H_2O_2 ۱۰/۲ ml (۱۰ میلی مولار) برداشته و روی آن ۰/۱ ml عصاره استخراجی اضافه نموده سپس فعالیت آنزیم از طریق اکسید شدن آسکوربات توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۹۰ nm و از رابطه ۲ اندازه‌گیری شد که همراه با کاهش جذب در طی یک دقیقه فعالیت آنزیم بود ($\epsilon = 2.8 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ضریب خاموشی).

رابطه (۲)

$$\text{Units } \frac{mM}{\min} = \frac{do D}{\min(slope)} \times vol. of assay (0.0003) \\ \text{Extinction coefficient}(2.8)$$

سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با استفاده از روش آپدیا^۵ و همکاران (۱۹۸۵) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با pH ۷ محتوی ۱ میلی لیتر گایاکول ۱ درصد، ۱ میلی لیتر H_2O_2 ۱ درصد و ۰/۱ میلی لیتر عصاره استخراجی بود. فعالیت گایاکول پراکسیداز به

شد. برای تهیه محلول استاندارد از آلبومین سرم گاوی^۱ (BSA) استفاده شد. در داخل سل‌های یک‌بار مصرف ۲/۵ میلی لیتر از محلول کومایسی‌بلو آماده شده، ریخته شد و سپس ۱۰۰ میکرولیتر عصاره برگ از هر نمونه داخل یک سل اضافه شد و نهایتاً میزان جذب نمونه‌ها و محلول‌های استاندارد با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد و میزان پروتئین پس از رسم منحنی استاندارد به‌دست آمده و به‌صورت میلی گرم در صد گرم وزن تر بیان گردید (برادفورد، ۱۹۷۶).

گلابسین بتائین

برای اندازه‌گیری گلابسین بتائین از روش گریو و گراتان^۲ (۱۹۸۳) استفاده گردید. ابتدا نمونه‌های گیاهی را در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ ساعت خشک نموده و ۰/۵ گرم از برگ را توزین کرده و آن را در ارلن ریخته و ۲۰ میلی لیتر آب دیونیزه به آن اضافه گردید و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد روی شیکر قرار داده شد. سپس نمونه‌ها از کاغذ صافی عبور داده شوند. پس از تهیه اسیدسولفوریک ۲ نرمال، یک میلی لیتر از عصاره گیاهی را با یک میلی لیتر اسید مخلوط و سپس مقدار ۰/۵ میلی لیتر از ترکیب حاصله را در لوله آزمایش ریخته و در حمام آب یخ به‌مدت یک ساعت قرار داده و نهایتاً پس از تهیه مخلوط ید و یدیدپتاسیم (۱۵/۷ گرم ید خالص بعلاوه ۲۰ گرم یدیدپتاسیم) مقدار ۰/۲ میلی لیتر از مخلوط یاد شده را به لوله آزمایش اضافه کرده و آنرا ورتکس می‌نمائیم. در این مرحله نمونه‌ها به‌مدت ۱۶ ساعت در دمای صفر تا ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. بعد از آن نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای صفر درجه سانتی‌گراد با دور ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. در هر لوله آزمایش فار محلول رویی جدا و فقط کریستال موجود در کف لوله نگه داشته شد. این مراحل حتماً بایستی در محیط آب یخ انجام شود تا خطای آزمایش کاهش یابد. سپس کریستال‌های موجود را در ۹ میلی لیتر از محلول ۱ و ۲ دی‌کلرواتان حل کرده و پس از عمل ورتکس و گذشت ۲ ساعت، مقدار جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۶۵ nm اندازه‌گیری شد.

4. Nakano and Asada
5. Updhyaya

1. Bovine serum albumin
2. Greive and Grattans
3. Kang and Saltveit

برای انجام تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌های صفات اندازه‌گیری شده از نرم‌افزار SAS سری ۹/۱ استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت. همچنین برای رسم نمودار از نرم‌افزار Excel سری ۲۰۱۰ استفاده گردید.

نتایج و بحث

سطح برگ

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) بیانگر تأثیر معنی‌دار سطوح مختلف آبیاری و رقم بر سطح برگ (در سطح ۱ درصد) می‌باشد. مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر رقم بر سطح برگ (شکل ۱ الف) نشان داد که سطح برگ در رقم دزفولی بیشتر از کورونایکی بود. همچنین مشاهده گردید که با افزایش شدت تنش خشکی (افزایش فواصل آبیاری)، سطح برگ در هر دو رقم کاهش یافت، بطوریکه بالاترین میزان سطح برگ در دور آبیاری ۵ روز یک‌بار (۲۸۲۰/۸ میلی‌متر) و پایین‌ترین میزان سطح برگ در تنش شدید آبیاری هر ۱۵ روز یک‌بار (۲۵۰۱/۹ سانتی‌متر) مشاهده گردید (شکل ۱ ب).

صورت افزایش در طی یک دقیقه در طول موج ۴۹۰nm محاسبه شد. برای سنجش میزان فعالیت از ضریب خاموشی ($26/6 \text{ m M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) و رابطه ۳ استفاده شد.

رابطه ۳

$$\text{Units } \frac{mM}{\min} = \frac{do D}{\min(sl ope)} \times Vol \text{ of assay } (0.0001)$$

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش ابی^۱ (۱۹۸۴) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH ۷ محتوی ۰/۲ میلی‌لیتر H_2O_2 ۱ درصد و ۰/۳ میلی‌لیتر عصاره استخراجی بود. فعالیت آنزیم کاتالاز به صورت کاهش در جذب طی یک دقیقه در طول موج ۲۴۰nm محاسبه شد. برای سنجش میزان فعالیت از ضریب خاموشی ($43/6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) و رابطه ۴ استفاده شد.

رابطه ۴

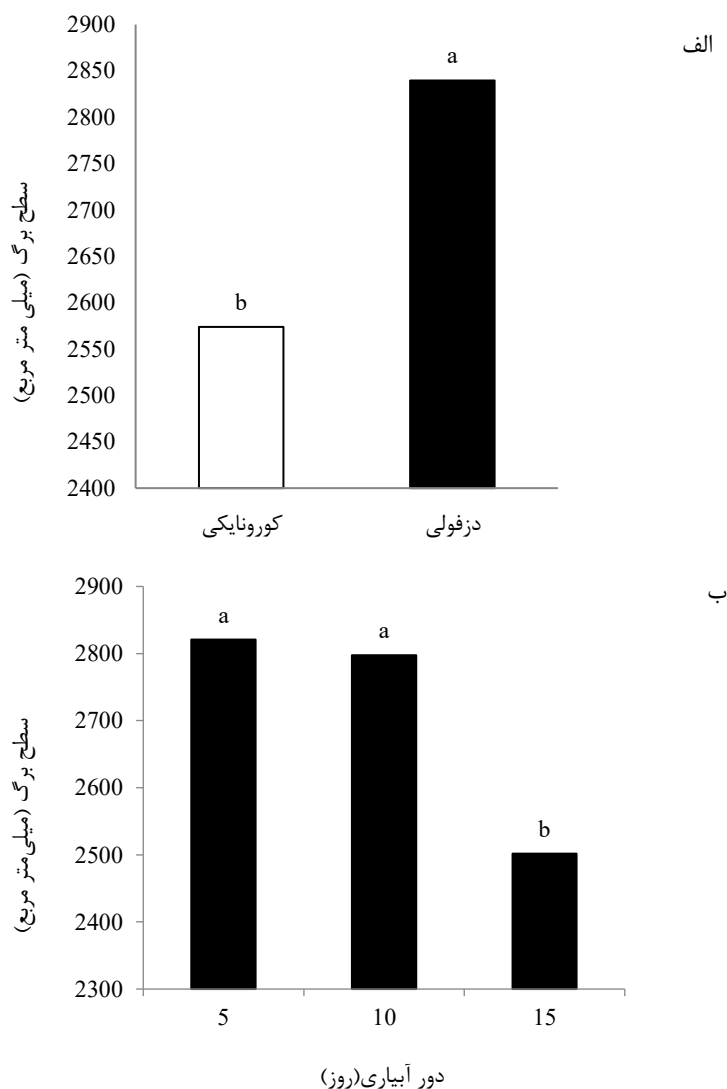
$$\text{units } \frac{mM}{\min} = \frac{doD}{\min(sl ope)} \times vol. \text{ of assay } (0.0003)$$

$$\text{Extinction coefficient } (43.6)$$

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثرات رقم، سطوح خشکی و غلظت‌های مختلف اسیدسالیسیلیک بر برخی صفات رشدی و بیوشیمیایی دو رقم زیتون

میانگین مربعات										منابع تغییرات	درجه آزادی
آنزیم کاتالاز	آنزیم گایاکول پراکسیداز	آنزیم آسکوربات پراکسیداز	پروتئین	گلاسیسین بتائین	مالون دی آلدهید	ارتفاع نهال	تعداد برگ	سطح برگ			
۰/۰۰۰۰۰۰۳۵ ^{ns}	۰/۰۰۵ ^{ns}	۰/۰۳۰ ^{ns}	۰/۰۰۴ ^{ns}	۴/۱۷۱ ^{ns}	۰/۳۲۱ ^{ns}	۱۰/۸۰۵ ^{ns}	۳۱۸/۳۸۹ ^{ns}	۸۶۹۷۹/۷۹۶ ^{ns}	۲	بلوک	
۰/۰۰۰۰۰۰۶ ^{ns}	۰/۰۵۱ ^{**}	۰/۰۴۹ ^{ns}	۰/۰۱۴ [*]	۹/۱۶۷ ^{ns}	۰/۱۸۵ ^{ns}	۴۶۷/۷۷۲ ^{**}	۹۲۲۱/۳۰۳ ^{**}	۹۵۲۸۱۳/۵۰۰ ^{**}	۱	رقم	
۰/۰۲۳۳ ^{**}	۰/۳۴۴ ^{**}	۰/۰۵۵۹ ^{**}	۰/۰۲۲ ^{**}	۳۶۱/۶۴۲ ^{**}	۱۱/۱۴۵ ^{**}	۱۷۶۷/۳۵۲ ^{**}	۲۴۳۳۶/۲۳۴ ^{**}	۵۶۹۲۴۰/۲۴۱ ^{**}	۲	خشکی	
۰/۰۰۲۲ ^{**}	۰/۰۰۴ ^{ns}	۰/۰۵۸ [*]	۰/۰۰۵ ^{ns}	۱۹۱/۴۷۵ ^{**}	۰/۰۷۵ ^{ns}	۳۹/۶۶۴ ^{**}	۱۰۷۱/۵۷۸ [*]	۱۹۹۲۱۱/۴۶۳ ^{ns}	۲	اسیدسالیسیلیک	
۰/۰۰۴۱ ^{**}	۰/۰۰۸ [*]	۰/۰۸۷ ^{**}	۰/۰۱۴ ^{**}	۱۰/۸۰۷ ^{ns}	۰/۰۳۵ ^{ns}	۹۵/۳۸۱ ^{**}	۱۱۰۸/۰۶۸ [*]	۱۸۷۰۲۸/۳۸۹ ^{ns}	۲	رقم×خشکی	
۰/۰۰۰۰۲۶ ^{ns}	۰/۰۱۴ ^{**}	۰/۰۱۵ ^{ns}	۰/۰۰۷ [*]	۸۴/۹۰۳ ^{**}	۱/۱۸۲ ^{**}	۶/۳۹۲ ^{**}	۶۵۰/۱۳۶ ^{ns}	۱۲۹۳۶/۱۶۷ ^{ns}	۲	رقم×اسیدسالیسیلیک	
۰/۰۰۰۰۴۳ ^{ns}	۰/۰۰۵ [*]	۰/۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۰۵ ^{ns}	۶۷/۱۵۴ ^{**}	۰/۲۰۴ ^{ns}	۱۸/۳۹۷ ^{ns}	۵۵۳/۶۷۶ ^{ns}	۱۱۳۱۳۵/۱۳۰ ^{ns}	۴	خشکی×اسیدسالیسیلیک	
۰/۰۰۰۲۱ ^{**}	۰/۰۱۰ ^{**}	۰/۰۰۴ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۳۷/۰۶۴ [*]	۰/۱۶۵ ^{ns}	۱۸/۹۰۱ ^{**}	۶۰۲/۲۰۷ ^{ns}	۲۳۴۰۱۲/۲۲۲ ^{ns}	۴	رقم×اسیدسالیسیلیک×خشکی	
۰/۰۰۰۰۲	۰/۰۰۲۱	۰/۰۱۴	۰/۰۰۲	۱۲/۴۳۷	۰/۱۳۱	۳/۹۴۰	۲۷۹/۰۵۰	۹۰۱۸۹/۱۱۰	۳۴	اشتباه آزمایشی	
۲۴/۵۹	۲۱/۳۰	۲۴/۷۰	۱۲/۸۹	۶/۰۹	۹/۱۳	۱۶/۱۵	۲۸/۲۳	۱۱/۰۹		ضریب تغییرات	

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪



شکل ۱- مقایسه میانگین تأثیر نوع رقم (الف) و تنش خشکی (ب) روی سطح برگ. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشند.

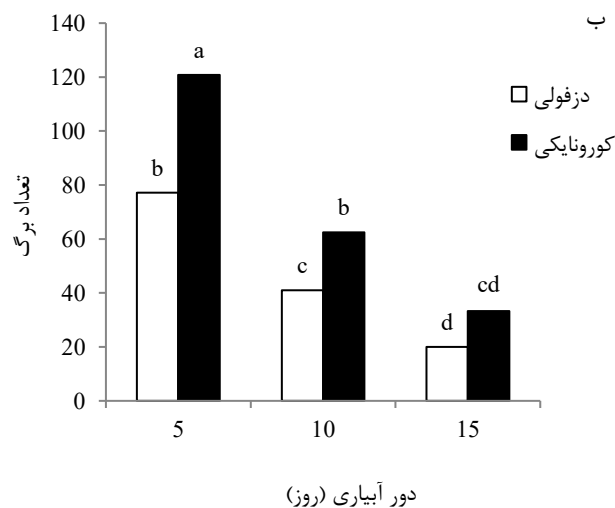
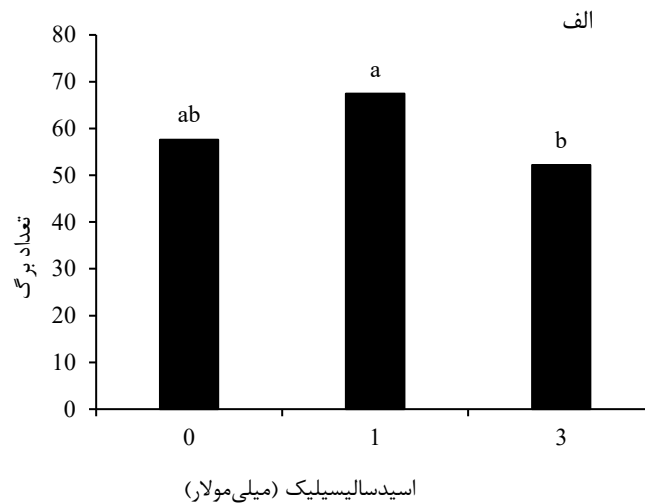
تعداد برگ

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) بیانگر تأثیر معنی‌دار سطوح مختلف خشکی و رقم (در سطح ۱ درصد) و تیمار اسید سالیسیلیک (در سطح ۵ درصد) و همچنین اثر متقابل رقم در خشکی در (سطح ۵ درصد) بر تعداد برگ می‌باشد. نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک (شکل ۲ الف) نشان داد که بیشترین میزان تعداد برگ در غلظت ۱ میلی‌مولار (۶۷/۴۴) و کمترین میزان تعداد برگ در غلظت ۳ میلی‌مولار (۵۲/۲۲) حاصل شده است. همچنین طبق نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به اثرات متقابل رقم و

سطوح مختلف خشکی، بیشترین تعداد برگ در رقم کورونایکی و دور آبیاری ۵ روز یک‌بار و کمترین تعداد برگ در رقم دزفولی و هر ۱۵ روز یک‌بار آبیاری حاصل گردید (شکل ۲ ب).

ارتفاع نهال

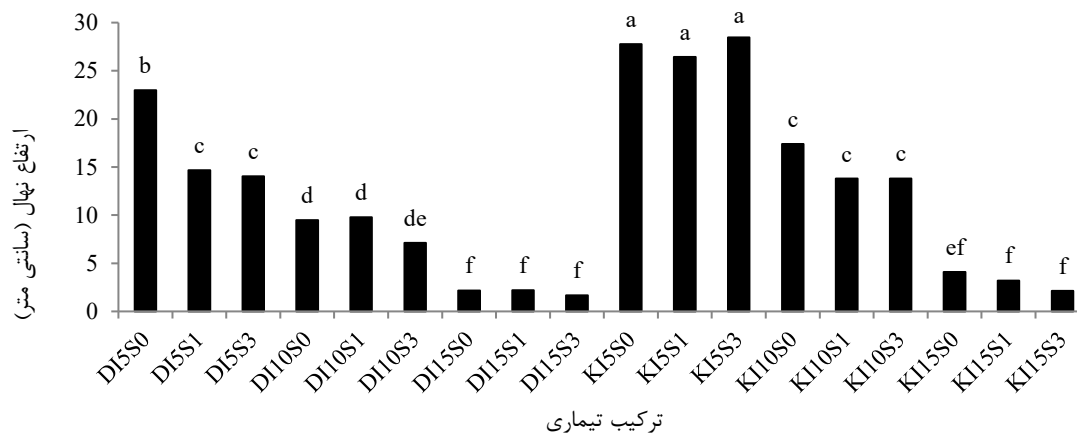
نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) بیانگر تأثیر معنی‌دار اثرات ساده سطوح مختلف خشکی، رقم، اسیدسالیسیلیک و اثر متقابل این سه عامل (در سطح ۱ درصد) بر ارتفاع نهال می‌باشد. نتایج مقایسه میانگین‌ها (نمودار ۳) نشان می‌دهد که با افزایش فواصل آبیاری ارتفاع نهال کاهش معنی‌داری پیدا



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر ساده اسیدسالیسیلیک (الف) و اثر متقابل رقم و سطوح مختلف خشکی (ب) بر تعداد برگ دو رقم زیتون. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشند.

بر اساس نتایج به‌دست آمده مشخص شد که تنش خشکی روی فاکتورهای مورفولوژیکی تأثیر کاهنده داشت به‌طوری‌که سطح برگ، تعداد برگ و ارتفاع نهال در شرایط تنش کاهش یافتند. کاربرد اسیدسالیسیلیک در غلظت ۱ میلی‌مولار منجر به افزایش تعداد برگ و همچنین ارتفاع نهال شد. بیشترین سطح برگ در رقم دزفولی و بیشترین تعداد برگ و ارتفاع نهال در رقم کورونایکی مشاهده شد. تنش خشکی از جمله تنش‌های غیرزیستی مهم است که بر بسیاری از فاکتورهای مورفولوژیکی گیاهان از جمله ارتفاع

می‌کند و غلظت‌های مختلف اسیدسالیسیلیک در سطوح مختلف خشکی و در ارقام مختلف اثرات متفاوتی بر ارتفاع نهال گذاشته است. نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به اثرات متقابل این سه عامل نشان می‌دهد که بیشترین ارتفاع نهال در رقم کورونایکی و تیمار دوره‌های آبیاری ۵ روز یکبار و غلظت‌های اسیدسالیسیلیک صفر، ۱ و ۳ میلی‌مولار و کمترین ارتفاع نهال در رقم دزفولی و تیمار دوره‌های آبیاری هر ۱۵ روز یکبار و غلظت‌های اسیدسالیسیلیک صفر، ۱ و ۳ میلی‌مولار حاصل شد (شکل ۳).



شکل ۳- مقایسه میانگین اثرات متقابل رقم، سطوح مختلف خشکی و اسیدسالیسیلیک بر ارتفاع نهال. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون چنددامنه‌ای دانکن می‌باشد.
 D: دزفولی، K: کورونایی، S0: اسیدسالیسیلیک صفر میلی‌مولار، S1: اسیدسالیسیلیک ۱ میلی‌مولار، S3: اسیدسالیسیلیک ۳ میلی‌مولار، I5: دور آبیاری ۵ روز، I10: دور آبیاری ۱۰ روز، I15: دور آبیاری ۱۵ روز.

تنش خشکی میزان رشد آن را افزایش داده و باعث جذب بیش‌تر آب و مواد غذایی شده که در نهایت منجر به افزایش رشد گیاه می‌شود. این افزایش رشد همراه با تولید برگ‌های جدید خواهد بود که در نهایت تعداد برگ افزایش خواهد یافت (لی^۶ و همکاران، ۲۰۲۲). با توجه به اینکه تنش خشکی سبب کاهش فعالیت آنزیم روبیسکو می‌شود (دامالاس، ۲۰۱۹) به‌نظر می‌رسد اسیدسالیسیلیک با افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو و در نتیجه بهبود فتوسنتز سبب افزایش تعداد برگ می‌شود (مردانی و همکاران، ۱۳۹۰). همچنین گزارش شده است که اسیدسالیسیلیک تأثیر مستقیمی روی فعالیت سایتوکینین دارد و از طرفی سایتوکینین در تمایز کلروپلاست‌ها و توسعه سلول‌ها مؤثر است. همچنین غلظت‌های پایین اسیدسالیسیلیک باعث افزایش تقسیم سلولی در مریستم انتهایی گیاهچه شده و موجب افزایش رشد می‌گردد (کوو و همکاران، ۲۰۲۰) که می‌تواند توجیه‌کننده افزایش تعداد برگ و ارتفاع نهال در مطالعه حاضر باشند.

مالون‌دی‌آلدهید

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان می‌دهد که فقط سطوح مختلف خشکی و اثر متقابل رقم در اسیدسالیسیلیک بر

گیاه و تعداد برگ تأثیر می‌گذارد با توجه به اینکه برگ‌ها مسئول فتوسنتز هستند و همچنین برگ‌ها حاوی رنگدانه‌های فتوسنتزی هستند لذا تنش خشکی سطح برگ و زیست‌توده کل گیاه را از طریق کاهش رشد برگ و تأثیر بر فتوسنتز به‌طور چشمگیری کاهش می‌دهد (دامالاس^۱، ۲۰۱۹). تأثیر تنش خشکی روی کاهش سطح برگ در انگور^۲ توسط دولتی‌بانه و همکاران (۱۳۹۸) و همچنین کاهش ارتفاع گیاه و سطح برگ در کاج تهران^۳ و زیتون تلخ^۴ توسط عسگری و همکاران (۱۴۰۲) گزارش شده است که با نتایج مطالعه حاضر در یک راستا است. تنش خشکی از طریق ممانعت از رشد و توسعه سلولی مانع از توسعه برگ می‌شود. همین امر باعث کاهش تعرق و کاهش جذب آب از خاک می‌شود. کاهش سطح برگ اولین پاسخ دفاعی گیاه به‌منظور تحمل تنش خشکی است. علاوه بر این گزارش شده است که اولین اثر تنش خشکی، کوچک شدن برگ یا ارتفاع گیاه است و علت آن به کاهش جذب آب و مواد غذایی نسبت داده شده است (گومز-دل-کامپو^۵ و همکاران، ۲۰۰۲).

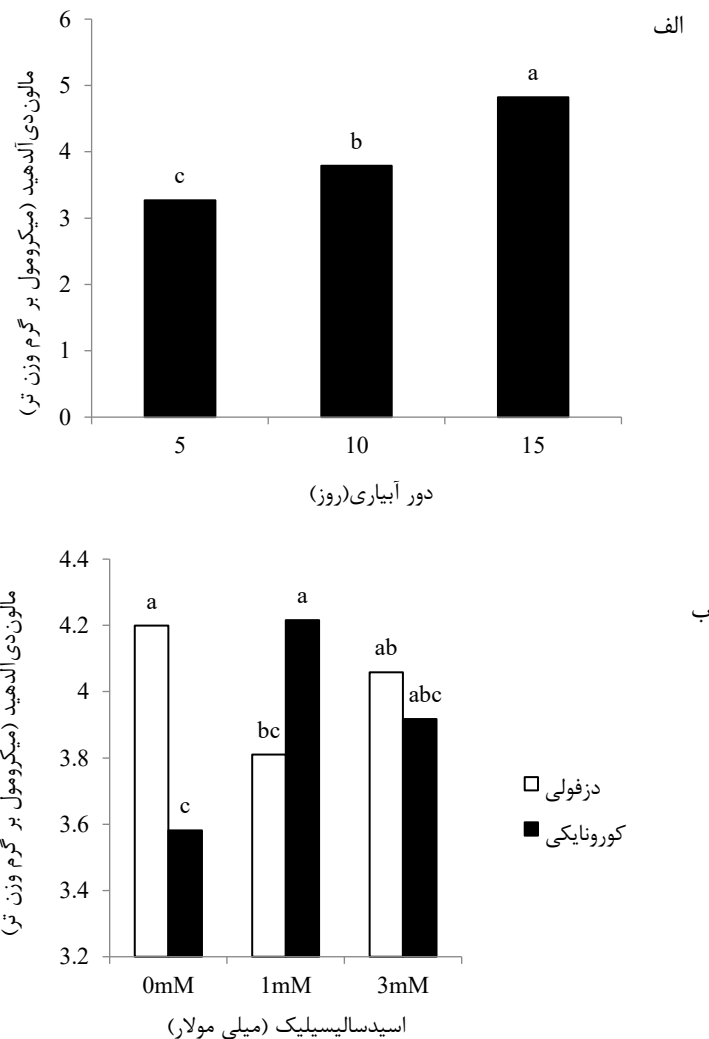
همان‌طور که مشاهده شد کاربرد اسیدسالیسیلیک باعث افزایش تعداد برگ و ارتفاع نهال شد. اسیدسالیسیلیک از طریق حفظ سلامت سیستم ریشه‌ای در برابر اثرات مخرب

4. *Melia azedarach*
 5. Gómez-del-Campo
 6. Li

1. Damalas
 2. *Vitis vinifera*
 3. *Pinus eldarica*

میزان مالون دی آلدیید (در سطح ۱ درصد) معنی دار بود. نتایج مقایسه میانگین های مربوط به تأثیر سطوح مختلف آبیاری نشان داد که با افزایش شدت تنش، میزان تجمع مالون دی آلدیید در برگ ها نیز افزایش یافت و از این نظر اختلاف بین دور آبیاری هر ۵ روز یکبار، ۱۰ روز یکبار و ۱۵ روز یکبار معنی دار بوده و بیشترین میزان تجمع مالون دی آلدیید در دور آبیاری هر ۱۵ روز یکبار (۴/۸۲) و کمترین میزان آن در دور آبیاری هر ۵ روز یکبار (۳/۲۷) مشاهده گردید (شکل ۴ الف). در بررسی اثر متقابل رقم و تیمار اسیدسالیسیلیک مشاهده گردید که میزان

مالون دی آلدیید در رقم دزفولی با محلول پاشی اسید سالیسیلیک به ویژه در غلظت ۱ میلی مولار کاهش معنی داری یافت. برعکس در رقم کورونایکی، میزان مالون دی آلدیید با محلول پاشی اسیدسالیسیلیک به ویژه در غلظت ۱ میلی مولار نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت (شکل ۴ ب). با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر مشاهده شد که تنش خشکی منجر به افزایش تجمع مالون دی آلدیید شد با این حال محلول پاشی اسیدسالیسیلیک به ویژه در غلظت ۱ میلی مولار منجر به کاهش تجمع مالون دی آلدیید در رقم دزفولی شد. مالون دی آلدیید فرآورده پراکسیداسیون لیپید



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر ساده تنش خشکی (الف) و اثر متقابل رقم و اسیدسالیسیلیک (ب) بر میزان مالون دی آلدیید دو رقم زیتون. حروف غیرمشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵٪ در بین میانگین ها در آزمون دانکن می باشند.

اثرات متقابل رقم در اسیدسالیسیلیک و خشکی در اسیدسالیسیلیک (در سطح ۱ درصد) و نیز اثرات متقابل رقم، خشکی و اسیدسالیسیلیک (در سطح ۵ درصد) بر میزان گلايسين‌بتائين معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به اثرات متقابل رقم، خشکی و اسیدسالیسیلیک بر میزان گلايسين‌بتائين نشان می‌دهد که با افزایش دور آبیاری (تشدید تنش خشکی) میزان انباشت گلايسين‌بتائين در هر دو رقم افزایش یافت. تأثیر تیمار اسیدسالیسیلیک بر میزان این صفت، بسته به رقم و سطح تنش متفاوت بود. بیشترین میزان گلايسين‌بتائين در رقم کورونایی، دور آبیاری ۱۵ روز یکبار و اسیدسالیسیلیک صفر میلی‌مولار و کمترین میزان آن در رقم دزفولی دور آبیاری ۵ روز یکبار و اسیدسالیسیلیک ۱ میلی‌مولار حاصل شد (شکل ۵).

پروتئین کل

بر اساس نتایج تجزیهٔ واریانس (جدول ۲) اثر رقم (در سطح ۵ درصد) و سطوح مختلف خشکی (در سطح ۱ درصد) و همچنین اثرات متقابل رقم در خشکی (در سطح ۱ درصد) و رقم در اسیدسالیسیلیک (در سطح ۵ درصد) بر میزان پروتئین کل معنی‌دار بود. بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها با طولانی شدن دور آبیاری میزان پروتئین کل در هر دو رقم افزایش یافت. بیشترین میزان پروتئین کل در رقم دزفولی و دور آبیاری ۱۰ روز یکبار و کمترین میزان آن در رقم دزفولی و کورونایی در دور آبیاری ۵ روز یکبار بدست آمد (شکل ۶ الف). علاوه بر این در مقایسه میانگین‌های اثر متقابل رقم و اسید سالیسیلیک بر میزان پروتئین کل مشاهده شد که رقم دزفولی با محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک ۳ میلی‌مولار از بیشترین میزان پروتئین (۰/۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و رقم کورونایی با محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک ۳ میلی‌مولار از کمترین میزان پروتئین (۰/۳۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر) برخوردار بود (شکل ۶ ب).

نتایج به‌دست آمده بیانگر افزایش میزان گلايسين‌بتائين و پروتئین کل در شرایط تنش خشکی بود. تنش خشکی باعث افزایش تجمع متابولیت‌های سازگار در گیاهان می‌شود که

می‌باشد که باعث آسیب به غشاهای سلول گیاهی می‌شود و از این طریق باعث افزایش نشت الکترولیت‌ها می‌شود. در واقع مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان نشانه آسیب غشایی الفا شده توسط تنش در نظر گرفته می‌شود. پراکسیداسیون لیپیدها در غشاهای بیولوژیکی و افزایش تولید مالون‌دی‌آلدئید از جمله نشانه‌های تنش اکسیداتیو و پاسخی برای آسیب غشای سلول شامل تغییرات خواص درونی غشا از قبیل سیالیت، انتقال یون، کاهش فعالیت آنزیم و پروتئین است. این تغییرات باعث مرگ سلولی می‌شوند (شارما و ژنگ^۱، ۲۰۱۹). تنش خشکی باعث فرآیند تنش اکسیداتیو در بین گونه‌های گیاهی می‌شود و همین این امر منجر به کاهش پایداری غشاء به‌دلیل پراکسیداسیون لیپیدی و در نتیجه آسیب غشای سلولی می‌گردد (صوفی^۲ و همکاران، ۲۰۲۱). تأثیر تنش خشکی روی افزایش میزان مالون‌دی‌آلدئید توسط سعیدی ابوالسحقی و همکاران (۱۴۰۰) روی نهال‌های ارغوان^۳ نیز گزارش شد که با نتایج مطالعه حاضر در یک راستا است.

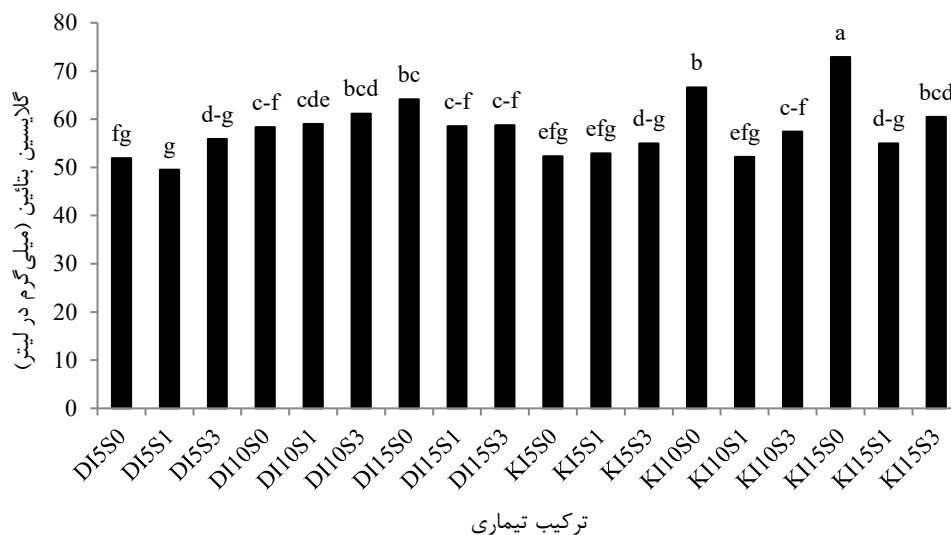
آزمایش‌ها نشان می‌دهند که اسیدسالیسیلیک می‌تواند با تنظیم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و بیان برخی پروتئین‌ها و مولکول‌ها در گیاهان، باعث مهار رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید شده در شرایط تنش شود (چاوو^۴ و همکاران، ۲۰۱۰). همچنین گزارش شده که اسیدسالیسیلیک تولید و تجمع رادیکال‌های H_2O_2 را در گیاهان کاهش می‌دهد. همین امر به حفظ تعادل بین تولید گونه‌های اکسیژن فعال و یکپارچگی غشاء کمک می‌کند و در نتیجه مانع از اختلال غشاء می‌شود (شارما^۵ و همکاران، ۲۰۲۰). اخیراً لو^۶ و همکاران (۲۰۱۸) و گوو^۷ و همکاران (۲۰۱۸) فعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و سایر پراکسیدازها را در *Nymphaea tetragona* و *Lemna minor* در اثر تیمار اسیدسالیسیلیک در گیاهان تحت تنش گزارش کرده‌اند که با نتایج مطالعه حاضر در یک راستا است.

گلايسين‌بتائين

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان می‌دهد که سطوح مختلف خشکی و تیمار اسیدسالیسیلیک (در سطح ۱ درصد)،

5. Sharma
6. Lu
7. Gu

1. Sharma and Zheng
2. Sofy
3. *Cercis siliquastrum*
4. Chao



شکل ۵- مقایسه میانگین اثرات متقابل رقم، سطوح مختلف خشکی و اسیدسالیسیلیک بر میزان گلاسیسین بتائین. حروف غیرمشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.
D: دزفولی، K: کورونایکی، S0: اسیدسالیسیلیک صفر میلی‌مولار، S1: اسیدسالیسیلیک ۱ میلی‌مولار، S3: اسیدسالیسیلیک ۳ میلی‌مولار، I5: دور آبیاری ۵ روز، I10: دور آبیاری ۱۰ روز، I15: دور آبیاری ۱۵ روز.

از دزفولی بود. پژوهشگران نیز گزارش‌های مشابهی منتشر کرده‌اند که بیشتر گیاهان و همچنین درختان چندساله در شرایط تنش خشکی با تجمع مواد محلول سازگار در داخل سلول از جمله بتائین که فشار اسمزی را تعدیل می‌کند، پاسخ می‌دهند (هرناندز^۶ و همکاران، ۲۰۲۱). اسید سالیسیلیک به عنوان یک ملکول پیام‌رسان در نظر گرفته می‌شود. این ملکول پیام‌رسان، سبب افزایش ترکیبات دفاعی همچون گلاسیسین بتائین می‌شود (شمی^۷ و همکاران، ۲۰۲۱). اسیدسالیسیک با تأثیر بر آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیدازها و تنظیم‌کننده‌های اسمزی مثل گلاسیسین بتائین آثار ناشی از تنش خشکی، فلزات سنگین، گرما، سرما و شوری را کاهش می‌دهد (سلایمارکر^۸ و همکاران، ۲۰۰۲). به نظر می‌رسد که شیوه عمل گلاسیسین بتائین، بیشتر به دلیل تنظیم اسمزی، حفاظت از کمپلکس آزادسازی اکسیژن، کلروپلاست و حفاظت غشاهای پلاسمایی سلول‌های برگی باشد.

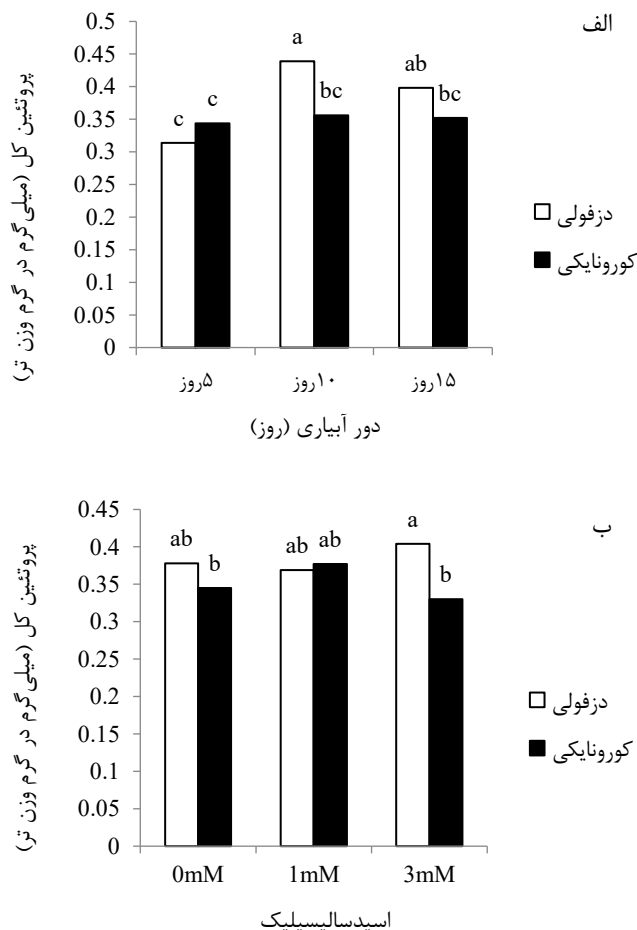
افزایش میزان پروتئین‌های محلول در تنش خشکی به نظر می‌رسد از تولید پروتئین‌های تنش حاصل شده باشد که این

نقش مهمی در تنظیم پاسخ‌های گیاه به این تنش دارند. متابولیت‌های سازگار، ترکیباتی هستند که توانایی حفظ تعادل اسموتیک و محافظت از ساختارهای بیولوژیکی در شرایط تنشی را دارند (سارکر و اوبا^۱، ۲۰۱۸). گلاسیسین بتائین به طور گسترده در برخی از گیاهان به عنوان پاسخ به تنش خشکی تجمع پیدا می‌کند. این ترکیب می‌تواند باعث حفظ تعادل اسموتیک سلول‌ها شده و از تخریب سلولی جلوگیری کند (وهاب^۲ و همکاران، ۲۰۲۲). پروتئین محلول نیز در پاسخ به تنش افزایش پیدا می‌کند (اوزتورک^۳ و همکاران، ۲۰۲۱). تأثیر تنش خشکی در افزایش گلاسیسین بتائین توسط عبدال^۴ و همکاران (۲۰۲۱) نیز گزارش شده است که با نتایج مطالعه حاضر در یک راستا است. همچنین گزارش شده است که گلیسین بتائین باعث کاهش محتوای مالون دی‌آلدهید به منظور محافظت از غشای پلاسمایی می‌شود (خردمند^۵ و همکاران، ۲۰۱۴).

نتایج این پژوهش نشان که تجمع گلاسیسین بتائین در شرایط تنش در هر دو رقم افزایش یافت اما در رقم کورونایکی بیشتر

5. Kheradmand
6. Hernandez
7. Shemi
8. Slaymarker

1. Sarker and Oba
2. Wahab
3. Ozturk
4. Abdelaal



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و سطوح مختلف خشکی (الف) و رقم و اسیدسالیسیلیک (ب) بر میزان پروتئین کل دو رقم زیتون. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشند.

به‌وسیله سلول در پاسخ به تنش‌های محیطی که ایجاد دهیدراسیون می‌کنند، مثل خشکی، شوری یا سرما تولید می‌شوند. دهیدرین‌ها از طریق خصوصیات چاپرونی (محافظتی) که دارند به‌صورت همیاری با مواد محلول سازگار عمل می‌کنند و همچنین از دنا‌توراسیون بیشتر پروتئین‌های سلولی جلوگیری می‌کنند (شیراکو^۱ و همکاران، ۲۰۲۲). گروه دیگری از پروتئین‌های مربوط به تنش خشکی Heat Shock Proteins (HSP) هستند. این پروتئین‌ها نیز به‌عنوان چاپرون‌های (محافظ یا همراه) مولکولی عمل می‌کنند و احتمالاً در پیچش پروتئین‌ها و انتقال آنها دخالت دارند (جیانگ و هوانگ^۲، ۲۰۰۲). دو فرضیه وجود دارد

پروتئین‌های جدیداً سنتز شده به اسمولیت‌های سازگار در تنظیم اسمزی کمک می‌کنند و می‌توانند وظایفی مشابه پرولین یا قند محلول انجام دهند (محمدخانی، ۱۳۸۶). پروتئین‌های Late Embryogenesis Abundant (LEA) به‌خصوص گروه II آن‌ها یعنی دهیدرین‌ها نقش مهمی در محافظت گیاه در شرایط خشکی دارند. پتانسیل این پروتئین‌ها برای دهیدراسیون زیاد است. به‌خاطر این خصوصیت ویژه، دهیدرین‌ها به ماکرومولکول‌های درون سلولی ملحق می‌شوند و اطراف آنها ایجاد لایه آب می‌کنند یا با گروه‌های سطحی پروتئین‌های دیگر واکنش داده و آنها را از اثرات تنش آبی محافظت می‌کنند. دهیدرین‌ها

نشان می‌دهد که با تشدید تنش خشکی، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافت. تیمار اسیدسالیسیلیک بسته به رقم و سطوح مختلف خشکی اثرات متفاوتی نشان داد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم دزفولی با دور آبیاری ۱۵ روز یکبار و اسیدسالیسیلیک ۱ و ۳ میلی‌مولار و کمترین میزان آن در رقم دزفولی با دور آبیاری ۵ روز یکبار و محلول پاشی صفر و ۱ میلی‌مولار اسیدسالیسیلیک و رقم کوروناییکی با دور آبیاری ۵ روز یکبار و اسیدسالیسیلیک صفر میلی‌مولار حاصل شد (شکل ۷).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) سطوح مختلف خشکی (در سطح ۱ درصد)، غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک (در سطح ۵ درصد) و همچنین اثر متقابل رقم و خشکی (در سطح ۱ درصد) تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز داشته است. نتایج مقایسه میانگین‌ها در رابطه با محلول پاشی اسیدسالیسیلیک حاکی از این است که تیمار اسیدسالیسیلیک باعث افزایش میزان فعالیت این آنزیم شده است که بیشترین میزان آن در غلظت ۳ میلی‌مولار (۰/۵۳۷) میلی‌مول پراکسیدهیدروژن تجزیه شده در یک دقیقه در یک گرم وزن تر) و کمترین میزان آن (۰/۴۲۸) میلی‌مول پراکسیدهیدروژن تجزیه شده در یک دقیقه در یک گرم وزن تر) در غلظت صفر میلی‌مولار (شاهد) به دست آمد (شکل ۸ الف). نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در رابطه با اثرات متقابل سطوح مختلف خشکی و نوع رقم نشان می‌دهد که در هر دو رقم با افزایش فواصل آبیاری میزان فعالیت آنزیم نیز افزایش می‌یابد به طوری که بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به ترتیب در دور آبیاری هر ۱۵ روز یکبار و ۵ روز یکبار به دست آمد (شکل ۸ ب). نتایج همچنین بیانگر آن است که روند افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در رقم کوروناییکی شدیدتر از رقم دزفولی بوده است.

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز

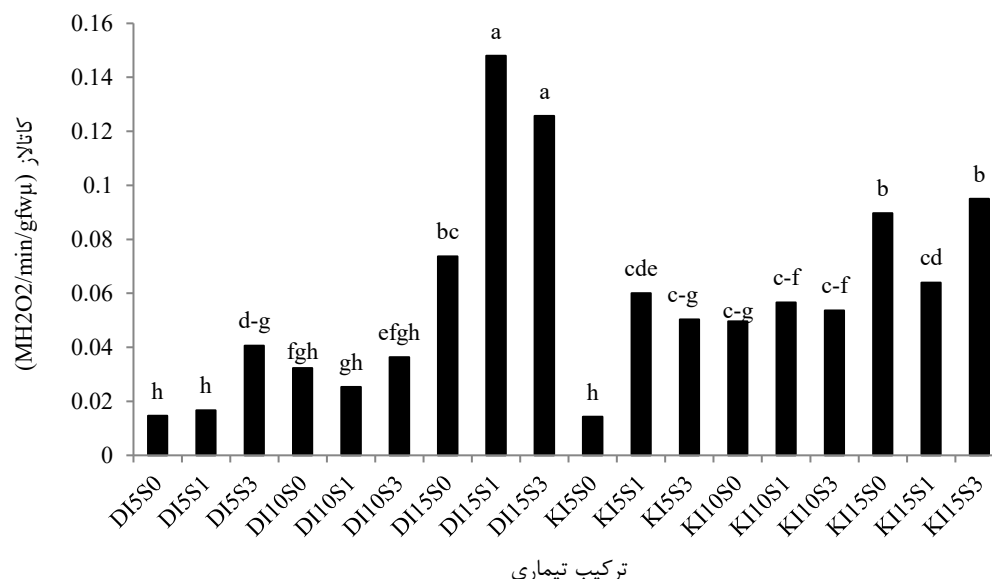
بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲)، اثر سطوح مختلف خشکی و رقم (در سطح ۱ درصد) اثر متقابل رقم در خشکی

که شاید بتواند مکانیسمی را که به وسیله آن تنش خشکی، بیان پروتئین‌های شبیه دهیدرین را القا می‌کند، توضیح دهد. فرضیه، اول این است که شاید خشکی نمو را در نتیجه بیان سریع پروتئین‌های شبیه دهیدرین تسریع کند. براساس این فرضیه پروتئین‌های شبیه دهیدرین به علت نمو بیان می‌شوند تا شرایط تنش، اما بعید به نظر می‌رسد که القای پروتئین‌های دهیدرین به وسیله تنش خشکی منجر به تسریع نمو شود. فرضیه دوم این است که تغییر در پتانسیل آب تحت تنش خشکی باعث بیان پروتئین‌های شبیه دهیدرین شود (دانبر^۱ و همکاران، ۱۹۹۷). به نظر می‌رسد نتایج مطالعات ما با فرضیه دوم بیشتر همخوانی دارد، یعنی افزایش تنش خشکی و کاهش پتانسیل آب منجر به بیان پروتئین‌های شبیه دهیدرین می‌شود و احتمالاً افزایش میزان پروتئین کل در این مطالعه مربوط به افزایش پروتئین‌های دهیدرین باشد. افزایش پروتئین کل تحت تنش خشکی در گندم توسط خالوندی^۲ و همکاران (۲۰۲۱) نیز گزارش شده است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

مطالعات نشان می‌دهد اسیدسالیسیلیک می‌تواند باعث افزایش پروتئین HSP که در شرایط تنش هم تولید می‌شود، گردد (پاولوا^۳ و همکاران، ۲۰۰۹). همچنین اسیدسالیسیلیک در افزایش بیان بسیاری از ژن‌ها از جمله فنیل آلانین آمونیا لیاز مؤثر است. اسیدسالیسیلیک باعث افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز نیز شده که باعث افزایش ازت و پروتئین در گیاه می‌گردد (سینگ و اوشا^۴، ۲۰۰۳).

فعالیت آنزیم کاتالاز

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) بیانگر تأثیر معنی‌دار سطوح مختلف خشکی، تیمار اسیدسالیسیلیک، اثر متقابل رقم و خشکی و نیز اثرات متقابل رقم، خشکی و اسیدسالیسیلیک (در سطح ۱ درصد) بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز می‌باشد. نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به اثرات متقابل رقم، خشکی و اسیدسالیسیلیک بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز



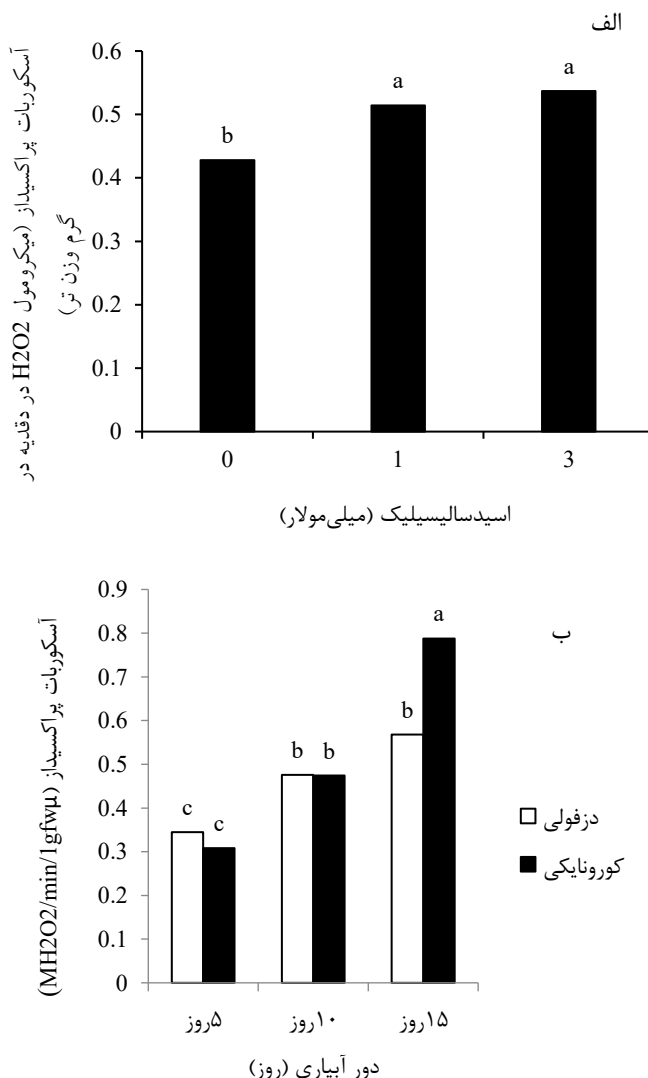
شکل ۷- مقایسه میانگین اثرات متقابل رقم، سطوح مختلف خشکی و اسیدسالیسیلیک بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز دو رقم زیتون. حروف غیر مشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.
D: دزفولی، K: کورونایکی، S0: اسیدسالیسیلیک صفر میلی‌مولار، S1: اسیدسالیسیلیک ۱ میلی‌مولار، S3: اسیدسالیسیلیک ۳ میلی‌مولار، I5: دور آبیاری ۵ روز، I10: دور آبیاری ۱۰ روز، I15: دور آبیاری ۱۵ روز.

پروتئین‌ها و ... می‌شود. افزایش گونه‌های اکسیژن فعال باعث ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شود لذا گیاهان برای مقابله با اثرات زیانبار آن‌ها از سیستم‌های دفاعی آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی استفاده می‌کنند (حسن اوزمان و همکاران، ۲۰۲۰). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش خشکی در نهال‌های سیب نیز گزارش شده است (میهاجویچ^۱ و همکاران، ۲۰۲۱) که با نتایج مطالعه حاضر در یک راستا است. گیاهان دارای سیستم‌های دفاعی آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی هستند که تنش اکسیداتیو را از طریق مهار گونه‌های اکسیژن فعال تنظیم و سلول‌های گیاهی را از آسیب اکسیداتیو محافظت می‌کند (تایب^۲ و همکاران، ۲۰۲۰). کاتالاز یک آنزیم حاوی هم است و تولید بیش از حد H_2O_2 را تحت تنش اکسیداتیو از طریق تبدیل H_2O_2 به H_2O و O_2 به حداقل می‌رساند (واسزکزاک^۳ و همکاران، ۲۰۱۸). مسیر آسکوربات-گلوتاتیون یک سیستم اصلی سم‌زدایی H_2O_2 در سلول‌های گیاهی است که در آن H_2O_2 توسط آسکوربات‌پراکسیداز کاهش می‌یابد که در آن

و خشکی در اسیدسالیسیلیک (در سطح ۵ درصد) و اثر متقابل رقم در اسیدسالیسیلیک و نیز اثرات متقابل رقم، خشکی و اسیدسالیسیلیک در (سطح ۱ درصد) بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز معنی‌دار می‌باشد. نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به اثرات متقابل رقم، خشکی و اسید سالیسیلیک بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز نشان می‌دهد که در هر دو رقم با تشدید تنش خشکی میزان فعالیت این آنزیم افزایش یافته است. بیشترین میزان فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز در رقم دزفولی با دور آبیاری ۱۵ روز یک‌بار و محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک ۳ میلی‌مولار و کمترین میزان آن در رقم کورونایکی با دور آبیاری ۵ روز یک‌بار و غلظت اسیدسالیسیلیک صفر میلی‌مولار مشاهده شد (شکل ۹). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از قبیل کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیداز و گایاکول‌پراکسیداز در شرایط تنش خشکی افزایش یافت. روبه‌رو شدن گیاه با عوامل تنش‌زا باعث افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال می‌شود و همین امر منجر به آسیب به ماکرومولکول‌هایی از قبیل DNA،

3. Waszczak

1. Mihaljević
2. Tanyab



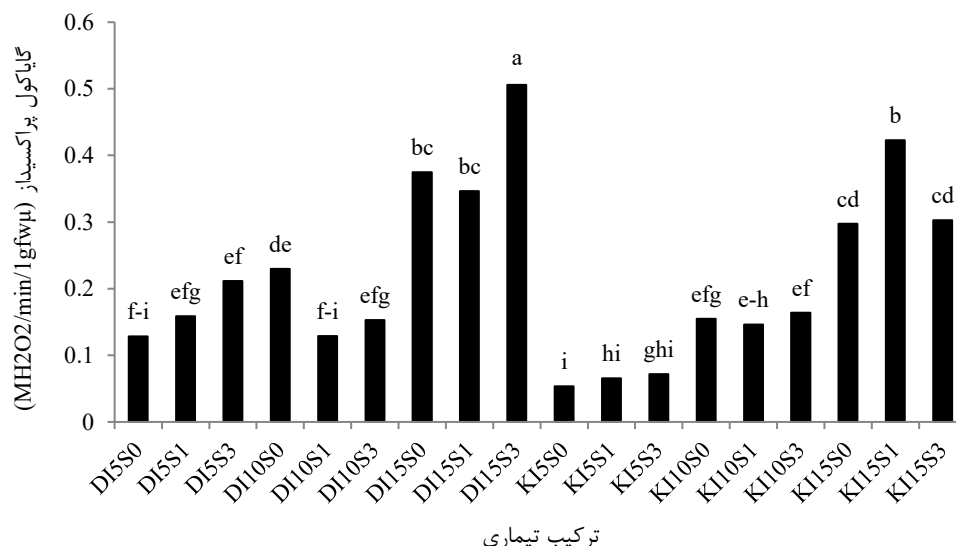
شکل ۸- مقایسه میانگین اثر ساده اسیدسالیسیلیک (الف) و اثر متقابل رقم و سطوح مختلف خشکی (ب) بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز دو رقم زیتون. حروف غیرمشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵٪ در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشند.

مشابه یافته‌های مطالعات دیگر است (میشرا و پاندا، ۲۰۱۷؛ ملاندری^۳ و همکاران، ۲۰۲۰؛ گاوو^۴ و همکاران، ۲۰۲۰). گزارش شده است که اثربخشی فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی به گونه‌های گیاهی و شدت و مدت تنش خشکی بستگی دارد (مروارد^۵ و همکاران، ۲۰۱۸). مشاهده شده است که کاربرد خارجی اسیدسالیسیلیک فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز را در

آسکوربات به‌عنوان یک دهنده الکترون عمل می‌کند (گیل و توتجا، ۲۰۱۰). گایاکول پراکسیداز نه تنها گونه‌های اکسیژن فعال را پاکسازی می‌کند بلکه ترکیبات مرتبطی مانند لیگنین، گایاکول و پایراگالول را نیز تولید می‌کند. این ترکیبات به‌عنوان دهنده الکترون برای مهار H₂O₂ در داخل و خارج سلولی عمل می‌کنند (میشرا و پاندا، ۲۰۱۷). در مطالعه حاضر، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز روند افزایشی را نشان دادند که

4. Gao
5. Merwad

1. Gill and Tuteja
2. Mishra and Panda
3. Melandri



شکل ۹- مقایسه میانگین اثرات متقابل رقم، سطوح مختلف خشکی و اسیدسالیسیلیک بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز دو رقم زیتون. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون چنددامنه‌ای دانکن می‌باشد. D: دزفولی، K: کورونایکی، S0: اسیدسالیسیلیک صفر میلی‌مولار، S1: اسیدسالیسیلیک ۱ میلی‌مولار، S3: اسیدسالیسیلیک ۳ میلی‌مولار، I5: دور آبیاری ۵ روز، I10: دور آبیاری ۱۰ روز، I15: دور آبیاری ۱۵ روز.

تحریک سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی بهره می‌گیرد. رقم دزفولی با به کار بستن بیشتر مکانیسم‌های فوق توانسته است اثرات منفی خشکی را روی خصوصیات مورفولوژیک خود به حداقل برساند. به‌طور کلی استفاده از اسیدسالیسیلیک باعث بهبود خصوصیات مورفولوژیکی (ارتفاع نهال، تعداد برگ و سطح برگ) و بیوشیمیایی (آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز، پروتئین کل و گلیاسین‌بتائین) زیتون شد. براساس نتایج این پژوهش می‌توان نتیجه‌گیری نمود که رقم دزفولی در مقایسه با رقم کورونایکی از نظر فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دارای تحمل بیشتری در برابر تنش خشکی بوده است.

گونه‌های مختلف گیاهی تحت تنش آبی افزایش می‌دهد (مروارد و همکاران، ۲۰۱۸؛ سمیدا^۱ و همکاران، ۲۰۱۹). مشابه مطالعه قبلی، در مطالعه حاضر، کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک فعالیت کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز را افزایش داد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد که تنش خشکی، شاخص‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه زیتون را تحت تأثیر قرار می‌دهد. زیتون برای مقابله با تنش کم‌آبی از مکانیسم‌های مختلفی نظیر انباشت متابولیت‌های سازگار و

منابع

- دولتی‌بانه، ح.، احمدآلی، ج. و رسولی، م. ۱۳۹۸. تأثیر تنش خشکی بر برخی صفات مورفوفیزیولوژیکی در تعدادی از ارقام تجاری داخلی و خارجی انگور. پژوهش‌های میوه‌کاری، ۴(۲): ۱۲۷-۱۴۲.
- سعیدی ابواسحق، ز.، پیاهور، ب. و سیدنا، س.و. ۱۴۰۰. اثر تنش خشکی بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نهال‌های ارغوان (*Cercis siliquastrum* L.). تحقیقات جنگل و صنوبر ایران، ۲۹(۱): ۹۱-۱۰۰.

- عزیزی فر، ص.، عبدوسی، و.، غلامی، ر.، قوامی، م. و محمدی ترکشوند، ع. ۱۴۰۰. بررسی اثرات کاتولین و اسیدسالیسیلیک بر عملکرد و برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی زیتون تحت تنش خشکی. نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)، ۳۵(۴): ۶۰۵-۶۱۹.
- عسگری، م.، جوان میری پور، م. اعتماد، و. و احمدآلی، خ. ۱۴۰۲. تأثیر تنش خشکی بر ویژگی‌های ریختی کاج تهران (*Pinus eldarica* Medw.) و زیتون تلخ (*Melia azedarach* L.) در سن‌های مختلف. مجله پژوهش‌های خشکسالی و تغییر اقلیم، ۱(۴): ۸۷-۱۰۴.
- محمدخانی، ن. ۱۳۸۶. اثر تنش خشکی روی برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دو رقم ذرت (*Zea mays* L. 704 and *Zea mays* L. 301) پایان‌نامه دانشکده علوم دانشگاه ارومیه. ۱۰۵ ص.
- مردانی، ح.، بیات، ح. و عزیزی، م. ۱۳۹۰. تأثیر محلول پاشی سالیسیلیک اسید بر خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک دانهال‌های خیار تحت شرایط تنش خشکی. علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)، ۲۵(۳): ۳۲۰-۳۲۶.
- موسوی دهموردی، س. ز.، غلامی، م.، و بانی‌نسب، ب. ۱۳۹۷. اثر کود ورمی‌کمپوست بر رشد و تحمل به تشن خشکی نهال‌های زیتون رقم زرد (*Olea europaea* L.). فرآیند و کارکرد گیاهی، ۷(۲۳): ۱-۱۹.
- Abdelaal, K., AlKahtani, M., Attia, K., Hafez, Y., Király, L. and Künstler, A. 2021. The role of plant growth-promoting bacteria in alleviating the adverse effects of drought on plants. *Biology*, 10(6): 520.
- Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. In *Methods in Enzymology*, 105: 121-126. Academic press.
- Arfan, M., Athar, H.R. and Ashraf, M. 2007. Does exogenous application of salicylic acid through the rooting medium modulate growth and photosynthetic capacity in two differently adapted spring wheat cultivars under salt stress?. *Journal of Plant Physiology*, 164(6): 685-694.
- Baccari, S., Elloumi, O., Chaari-Rkhis, A., Fenollosa, E., Morales, M., Drira, N., Ben Abdallah, F., Fki, L. and Munné-Bosch, S. 2020. Linking leaf water potential, photosynthesis and chlorophyll loss with mechanisms of photo-and antioxidant protection in juvenile olive trees subjected to severe drought. *Frontiers in Plant Science*, 11: 614144.
- Bapir, S.H. and Hamad, S.W. 2023. Interactive Effect of Irrigation Skipping and Salicylic Acid on Growth of Sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Zanco Journal of Pure and Applied Sciences*, 35(1): 109-125.
- Ben Hamed, S., Lefi, E. and Chaieb, M. 2016. Physiological responses of *Pistacia vera* L. versus *Pistacia atlantica* Desf. to water stress conditions under arid bioclimate in Tunisia. *Scientia Horticulturae*, 203: 224-230.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2): 248-254.
- Chao, Y.Y., Chen, C.Y., Huang, W.D. and Kao, C.H. 2010. Salicylic acid-mediated hydrogen peroxide accumulation and protection against Cd toxicity in rice leaves. *Plant and Soil*, 329(1): 327-337.
- Damalas, C.A. 2019. Improving drought tolerance in sweet basil (*Ocimum basilicum*) with salicylic acid. *Scientia Horticulturae*, 246: 360-365.
- De Ollas, C., Morillón, R., Fotopoulos, V., Puértolas, J., Ollitrault, P., Gómez-Cadenas, A. and Arbona, V. 2019. Facing climate change: biotechnology of iconic Mediterranean woody crops. *Frontiers in Plant Science*, 10: 427.
- Dunbar, B., Elthon, T.E., Osterman, J.C., Whitaker, B.A. and Wilson, S.B. 1997. Identification of plant mitochondrial proteins: a procedure linking two-dimensional gel electrophoresis to protein sequencing from PVDF membranes using a fastblot cycle. *Plant Molecular Biology Reporter*, 15(1): 46-61.
- Fatima, I., Khurshid, U., Shahid, R.T., Rasheed, R., Tehreem, N., Bashir, U., Mushtaq, S., Khan, A.A., Abid, M. and Rauf, A. 2024. Role of Potential Plant Hormones for Activation and Enhancing Physiological Processes. Growth and Development. *Scholars Bulletin*, 10(2): 46-52.
- Gao, S., Wang, Y., Yu, S., Huang, Y., Liu, H., Chen, W. and He, X. 2020. Effects of drought stress on growth, physiology and secondary metabolites of Two Adonis species in Northeast China. *Scientia Horticulturae*, 259: 108795.
- Gill, S.S. and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12): 909-930.

- Gómez-del-Campo, M., Ruiz, C. and Lissarrague, J.R. 2002. Effect of water stress on leaf area development, photosynthesis, and productivity in Chardonnay and Airén grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53(2): 138-143.
- Greive, C.M. and Grattan, S.R. 1983. Rapid assay for determination of water-soluble quaternary amino compounds. *Plant Soil*, 70(2): 303-307.
- Gu, C.S., Yang, Y.H., Shao, Y.F., Wu, K.W. and Liu, Z.L. 2018. The effects of exogenous salicylic acid on alleviating cadmium toxicity in *Nymphaea tetragona* Georgi. *South African Journal of Botany*, 114: 267-271.
- Guerfel, M., Baccouri, O., Boujnah, D., Chaïbi, W. and Zarrouk, M. 2009. Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Scientia Horticulturae*, 119(3): 257-263.
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M.B., Parvin, K., Bhuiyan, T.F., Anee, T.I., Nahar, K., Hossen, M.S., Zulfiqar, F., Alam, M.M. and Fujita, M. 2020. Regulation of ROS metabolism in plants under environmental stress: A review of recent experimental evidence. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22): 8695.
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Hossain, M. S., Mahmud, J. A., Rahman, A., Inafuku, M. and Fujita, M. 2017. Coordinated actions of glyoxalase and antioxidant defense systems in conferring abiotic stress tolerance in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1): 200.
- Hayat, S., Hasan, S. A., Fariduddin, Q. and Ahmad, A. 2008. Growth of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in response to salicylic acid under water stress. *Journal of Plant Interactions*, 3(4): 297-304.
- Heath, R.L. and Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: II. Role of electron transfer. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125(3): 850-857.
- Hernandez, J.O., An, J.Y., Combalicer, M.S., Chun, J.P., Oh, S.K. and Park, B.B. 2021. Morpho-anatomical traits and soluble sugar concentration largely explain the responses of three deciduous tree species to progressive water stress. *Frontiers in Plant Science*, 12: 738301.
- Jesus, C., Meijon, M., Monteiro, P., Correia, B., Amaral, J., Escandón, M., Canal, M.J. and Pinto, G. 2015. Salicylic acid application modulates physiological and hormonal changes in *Eucalyptus globulus* under water deficit. *Environmental and Experimental Botany*, 118: 56-66.
- Jiang, Y. and Huang, B. 2002. Protein alterations in tall fescue in response to drought stress and abscisic acid. *Crop Science*, 42(1): 202-207.
- Kang, H.M. and Saltveit, M.E. 2002. Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling leaves and roots are differentially affected by salicylic acid. *Physiologia Plantarum*, 115(4): 571-576.
- Khalvandi, M., Siosemardeh, A., Roohi, E. and Keramati, S. 2021. Salicylic acid alleviated the effect of drought stress on photosynthetic characteristics and leaf protein pattern in winter wheat. *Heliyon*, 7(1): e05908.
- Khan, M. I. R., Fatma, M., Per, T. S., Anjum, N. A. and Khan, N. A. 2015. Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. *Frontiers in Plant Science*, 6: 462.
- Kheradmand, M.A., Shahmoradzadeh, F.S., Fatahi, E. and Raoofi, M.M. 2014. Effect of water stress on oil yield and some characteristics of *Brassica napus*. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*, 8: 1447-1453.
- Koo, Y. M., Heo, A. Y. and Choi, H. W. 2020. Salicylic acid as a safe plant protector and growth regulator. *The Plant Pathology Journal*, 36(1): 1-10.
- Li, A., Sun, X. and Liu, L. 2022. Action of salicylic acid on plant growth. *Frontiers in Plant Science*, 13: 878076.
- Lu, Q., Zhang, T., Zhang, W., Su, C., Yang, Y., Hu, D. and Xu, Q. 2018. Alleviation of cadmium toxicity in *Lemna minor* by exogenous salicylic acid. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147: 500-508.
- Melandri, G., Abdelgawad, H., Riewe, D., Hageman, J.A., Asard, H., Beemster, G.T., Kadam, N., Jagadish, K., Altmann, T., Ruyter-Spira, C. and Bouwmeester, H. 2020. Biomarkers for grain yield stability in rice under drought stress. *Journal of Experimental Botany*, 71(2): 669-683.
- Merwad, A.R.M. Desoky, E.S.M. and Rady, M.M. 2018. Response of water deficit-stressed *Vigna unguiculata* performances to silicon, proline or methionine foliar application. *Scientia Horticulturae*, 228: 132-144.

- Mihaljević, I., Viljevac Vuletić, M., Šimić, D., Tomaš, V., Horvat, D., Josipović, M., Zdunić, Z., Dugalić, K. and Vuković, D. 2021. Comparative study of drought stress effects on traditional and modern apple cultivars. *Plants*, 10(3): 561.
- Mishra, S.S. and Panda, D. 2017. Leaf traits and antioxidant defense for drought tolerance during early growth stage in some popular traditional rice landraces from Koraput, India. *Rice Science*, 24(4): 207-217.
- Naik, B. V., Ahmad, M. A., Jangde, S., Sanodiya, P., Ray, M., Reddy, K. M. and Jat, M. 2024. Effects of foliar application of salicylic acid on morphological, biochemical and yield attributes of maize (*Zea mays* L.) under rainfed condition. *Bangladesh Journal of Botany*, 53(2): 273-278.
- Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5): 867-880.
- Ozturk, M., Turkyilmaz Unal, B., García-Caparrós, P., Khursheed, A., Gul, A. and Hasanuzzaman, M. 2021. Osmoregulation and its actions during the drought stress in plants. *Physiologia Plantarum*, 172(2): 1321-1335.
- Pavlova, E.L., Rikhvanov, E.G., Tauson, E.L., Varakina, N.N., Gamburg, K.Z., Rusaleva, T.M., Borovskii, G.B. and Voinikov, V.K. 2009. Effect of salicylic acid on the development of induced thermotolerance and induction of heat shock protein synthesis in the *Arabidopsis thaliana* cell culture. *Russian Journal of Plant Physiology*, 56(1): 68-73.
- Perez-Martin, A., Michelazzo, C., Torres-Ruiz, J.M., Flexas, J., Fernández, J.E., Sebastiani, L. and Diaz-Espejo, A. 2014. Regulation of photosynthesis and stomatal and mesophyll conductance under water stress and recovery in olive trees: correlation with gene expression of carbonic anhydrase and aquaporins. *Journal of Experimental Botany*, 65(12): 3143-3156.
- Rivas-San Vicente, M. and Plasencia, J. 2011. Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development. *Journal of Experimental Botany*, 62(10): 3321-3338.
- Sarker, U. and Oba, S. 2018. Drought stress enhances nutritional and bioactive compounds, phenolic acids and antioxidant capacity of *Amaranthus* leafy vegetable. *BMC Plant Biology*, 18(1): 258.
- Semida, W.M., Abd El-Mageed, T.A., Hemida, K. and Rady, M.M. 2019. Natural bee-honey based biostimulants confer salt tolerance in onion via modulation of the antioxidant defence system. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 94(5): 632-642.
- Sharma, A. and Zheng, B. 2019. Melatonin mediated regulation of drought stress: physiological and molecular aspects. *Plants*, 8(7): 190.
- Sharma, A., Sidhu, G.P.S., Araniti, F., Bali, A.S., Shahzad, B., Tripathi, D.K. and Landi, M. 2020. The role of salicylic acid in plants exposed to heavy metals. *Molecules*, 25(3): 540.
- Shemi, R., Wang, R., Gheith, E.S.M., Hussain, H.A., Hussain, S., Irfan, M. and Wang, L. 2021. Effects of salicylic acid, zinc and glycine betaine on morpho-physiological growth and yield of maize under drought stress. *Scientific Reports*, 11(1): 3195.
- Shiraku, M.L., Magwanga, R.O., Zhang, Y., Hou, Y., Kirungu, J.N., Mehari, T.G., Xu, Y., Wang, Y., Wang, K., Cai, X. and Zhou, Z. 2022. Late embryogenesis abundant gene LEA3 (Gh_A08G0694) enhances drought and salt stress tolerance in cotton. *International Journal of Biological Macromolecules*, 207: 700-714.
- Singh, B. and Usha, K. 2003. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. *Plant Growth Regulation*, 39(2): 137-141.
- Slaymaker, D.H., Navarre, D.A., Clark, D. Pozo, O.D., Martin, G.B. and Klessig, D.F. 2002. The tobacco salicylic acid- binding protein 3 (SABP3) is the chloroplast carbonic anhydrase, which exihibition antioxidant activity and plays a role in the hypersensitive defense response. *Plants*, 99(18): 11640-11645.
- Sofa, A., Dichio, B., Xiloyannis, C. and Masia, A. 2004. Lipxygenase activity and proline accumulation in leaves and roots of olive trees in response to drought stress. *Physiologia Plantarum*, 121(1): 58-65.
- Sofy, M.R., Aboseidah, A.A., Heneidak, S.A. and Ahmed, H.R. 2021. ACC deaminase containing endophytic bacteria ameliorate salt stress in *Pisum sativum* through reduced oxidative damage and induction of antioxidative defense systems. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(30): 40971-40991.
- Tayyab, N., Naz, R., Yasmin, H., Nosheen, A., Keyani, R., Sajjad, M., Hassan, M.N. and Roberts, T.H. 2020. Combined seed and foliar pre-treatments with exogenous methyl jasmonate and salicylic acid mitigate drought-induced stress in maize. *Plos one*, 15(5): e0232269.

- Trabelsi, L., Gargouri, K., Hassena, A.B., Mbadra, C., Ghrab, M., Ncube, B., Van Staden, J. and Gargouri, R. 2019. Impact of drought and salinity on olive water status and physiological performance in an arid climate. *Agricultural Water Management*, 213: 749-759.
- Upadhyaya, A., Sankhla, D., Davis, T.D., Sankhla, N. and Smith, B.N. 1985. Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. *Journal of Plant Physiology*, 121: 453-461.
- Wahab, A., Abdi, G., Saleem, M. H., Ali, B., Ullah, S., Shah, W. and Marc, R.A. 2022. Plants' physio-biochemical and phyto-hormonal responses to alleviate the adverse effects of drought stress: A comprehensive review. *Plants*, 11(13): 1620.
- Waszczak, C., Carmody, M. and Kangasjärvi, J. 2018. Reactive oxygen species in plant signaling. *Annual Review of Plant Biology*, 69: 209-236.
- Zafar, Z., Rasheed, F., Atif, R. M., Maqsood, M. and Gailing, O. 2021. Salicylic acid-induced morpho-physiological and biochemical changes triggered water deficit tolerance in *Syzygium cumini* L. saplings. *Forests*, 12(4): 491.