به‌زراعی کشاورزی

دوره ۱۸ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۵

صفحه‌های ۴۶۶-۴۵۳

تأثیر تنش خشکی و محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک و کیتوزان بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گلرنگ

ایوب امیری[۱]، علی‌رضا سیروس‌مهر[۲]، پرویز یداللهی[۳]، محمدرضا اصغری‌پور[۴]* و صدیقه اسماعیل‌زاده بهابادی[۵]

۱. فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل – ایران
۲. استادیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل – ایران
۳. فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، شهرکرد – ایران
۴. دانشیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل – ایران
۵. استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه زابل، زابل – ایران

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۴/۰۳/۲۳ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۴/۲۱

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر تنش خشکی و محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک و کیتوزان روی غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گلرنگ، آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زابل، طی سال ۱۳۹۱ انجام شد. تیمارها تنش خشکی در سه سطح شامل آبیاری در زمان ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد ظرفیت زراعی خاک (Fc) به عنوان تیمار اصلی و چهار سطح محلول پاشی شامل عدم مصرف (تیمار شاهد)، محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک (۰/۴۲۴ گرم در لیتر)، محلول‌پاشی کیتوزان (۵ گرم در لیتر) و تلفیق اسید سالیسیلیک و کیتوزان به عنوان تیمار فرعی درنظر گرفته شد. با افزایش فاصله آبیاری، محتوای کلروفیل a، b، کل و فلورسانس کلروفیل کاهش معنی داری یافت. تنش خشکی آنزیم‌های اکسیدانی را افزایش داد، اما این افزایش فقط در میزان آنزیم پراکسیداز معنی‌دار بود. همچنین خشکی بر کارتنوئید، عملکرد پروتئین و میزان آنزیم‌های آسکوربات، گایاکول پراکسیداز و کاتالاز اثر معنی‌داری نداشت. تیمارهای محلول‌پاشی با تأثیر بر تمام صفات مورد مطالعه در مقایسه با شاهد باعث افزایش آن‌ها گردید. از بین تیمارهای مختلف محلول‌پاشی کاربرد توأمان اسید سالیسیلیک و کیتوزان در مقایسه با به‌کارگیری جداگانه آن‌ها اثربخش‌تر بود. برهمکنش تنش خشکی و محلول‌پاشی بر کلروفیل a و عملکرد پروتئین معنی‌دار شد. بنابراین، می‌توان با انجام تحقیقات تکمیلی محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و کیتوزان را در افزایش پایداری غشای سلولی و کاهش خسارت ناشی از H_2O_2 حاصل از آبیاری محدود در گلرنگ دخیل دانست.

کلیدواژه‌ها: سیستان، کلروفیل، کم‌آبیاری، گیاهان روغنی، محلول‌پاشی

* نویسنده مسئول Email: m_asgharipour@uoz.ac.ir

۱. مقدمه

تنش خشکی مهم‌ترین عامل محدودکننده تولیدات کشاورزی به شمار می رود که گیاه را از رسیدن به حداکثر توان محصول دهی باز می دارد [۳۱]. کشور ایران در بخشی از کره زمین قرار گرفته است که در بسیاری از نقاط آن نزولات آسمانی، نیاز آبی گیاهان زراعی و باغی را تأمین نمی کند [۸]. بیش از نیمی از سطح کشور ایران دارای بارندگی‌های کمتر از ۱۵۰ میلی‌متر و حدود ۷۵ درصد آن کمتر از ۲۰۰ میلی‌متر در سال می‌باشد، درنتیجه بخش عمده‌ای از آن از کم‌آبی رنج می‌برد [۳]. گزارشات بسیاری اثرات تنش خشکی در کاهش میزان کلروفیل [۸، ۱۰ و ۱۱]، تخریب پروتئین [۱۱] و افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی [۱۰ و ۱۱] را به اثبات رسانده است.

بروز تنش خشکی سبب ایجاد اختلالات متابولیسمی در سلول‌های گیاهی می‌گردد که می‌توان به افزایش تولید فرم‌های فعال اکسیژن به عنوان یکی از فاکتورهای اصلی اختلالات متابولیسمی سلول اشاره کرد [۳۲]. در شرایط تنش احیای ناقص اکسیژن اتمسفری، سبب تشکیل فرم های فعال اکسیژن نظیر رادیکال سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل می‌شود [۱۷]. فرم‌های فعال اکسیژن مولکول‌های زیستی حیاتی سلول همانند اسیدهای نوکلئیک، پروتئین ها و لیپیدها را اکسید می نماید [۱۰]. در هنگام تنش خشکی، کلروپلاست یکی از مکان های اصلی تولید فرم‌های فعال اکسیژن محسوب می‌شود [۳۲]، زیرا در اثر بسته شدن روزنه‌ها نسبت NADP+/NADPH, H+ به دلیل عدم مصرف NADPH و H+ جهت تثبیت دی‌اکسیدکربن در چرخه کالوین در این اندامک کاهش می یابد. افت نسبت مذکور سبب بسته شدن زنجیر انتقال الکترون شده و تولید فرم‌های فعال اکسیژن افزایش می یابد [۳۲]. سلول های گیاهی جهت مقابله با اثرات منفی تنش های محیطی از مکانیسم های دفاعی ویژه‌ای نظیر سنتز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون ردوکتاز، پراکسیدازها و غیره) برخوردارند [۱۷].

باتوجه به اثرات مضر تنش خشکی بر رشد گلرنگ، یافتن راهکارهایی جهت تعدیل این اثرات ضروری به نظر می رسد [۷، ۸ و ۱۱]. همچنین، استفاده از ترکیبات آلی نظیر اسید سالیسیلیک [۳۳] و کیتوزان [۲۱] اثرات ناشی از تنش خشکی را کاهش می‌دهد. کیتین و کیتوزان پلیمر ترکیبی گلوکز آمین و ان-استیل گلوکز آمین است که در کشاورزی از آن برای پوشش دادن بذر، برگ و میوه، به عنوان کود و در کنترل آزادسازی ترکیبات شیمیایی سموم و تحریک جوانه‌زنی و رشد گیاه استفاده می‌شود [۱۲، ۱۸ و ۲۲]. این ماده از ترکیبات اصلی دیواره سلولی بسیاری از گونه های قارچی هستد که نقش آن‌ها برای بهبود ساخت متابولیت های ثانویه در کشت سلولی بسیاری از گیاهان دارویی تأیید شده است [۱۸]. میزان کلروفیل تحت شرایط تنش خشکی کاهش می‌یابد، اما مصرف کیتوزان سبب افزایش کلروفیل در گیاه می‌شود [۲۱].

اسید سالیسیلیک یا اورتو هیدروکسی بنزوئیک اسید از ترکیبات فنلی در گیاهان است و به عنوان ماده شبه‌هورمونی که نقش مهمی در تنظیم رشد و نمو گیاه دارد، محسوب می شود [۲۴ و ۲۶]. این ماده یک مولکول پیام‌رسان مهم برای میانجی‌گری پاسخ‌های گیاهان در برابر تنش‌های محیطی است [۳۶]. اثرات متابولیکی اسید سالیسیلیک و ترکیبات وابسته به آن باتوجه به نوع گیاه، میزان و نحوه کاربرد اسید سالیسیلیک تغییر می کند [۲۳]. استفاده از این ماده تأثیر خود را بر فتوسنتز از طریق تأثیر بر فاکتورهای روزنه‌ای، رنگیزه‌ها و ساختار کلروپلاست و آنزیم های دخیل در مراحل فتوسنتز اعمال می کند [۲۰]. گزارشات بسیاری نقش اسید سالیسیلیک جهت برطرف کردن اثرات تنش خشکی و بهبود رشد گیاه را به اثبات رسانده‌اند [۹ و ۳۶].

گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) یک گیاه چندمنظوره به شمار می‌آید که از دیرباز به دلیل استفاده از رنگیزه‌های موجود در گل‌های آن مورد کشت قرار گرفته است، اما امروزه به عنوان یک گیاه دانه روغنی کشت می‌شود [۱۱]. روغن گلرنگ با بیش از ۸۰ درصد اسیدهای چرب غیراشباع از لحاظ تغذیه‌ای بسیار باارزش می‌باشد [۱۱]. به دلیل محدودیتی که از لحاظ منابع آبی در کشور وجود دارد، امکان در اختیار گرفتن اراضی جدید برای توسعه کشت دانه‌های روغنی، از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه نیست. از این‌رو، باید به دنبال راه‌حلی برای کاهش اثرات خشکی بود. با استناد به یافته های محققین مبنی بر کارایی بالای اسید سالیسیلیک [۴] و کیتوزان [۱۲] در شرایط تنش خشکی در برخی گیاهان، ضرورت انجام این تحقیق نمایان می باشد. لذا هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی اثرات سطوح مختلف تنش خشکی بر کلروفیل و آنزیم های ضداکسنده گلرنگ در اثر کاربرد محلول پاشی کیتوزان و اسیدسالیسیلیک می‌باشد.

مواد و روش‌ها

برای مطالعه اثرات محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک و کیتوزان در شرایط آبیاری محدود بر عملکرد گلرنگ رقم 'گلدشت'، آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار، در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل، طی سال ۱۳۹۱ انجام شد. شهرستان زابل در موقعیت جغرافیایی ۶۱ درجه و ۴۱ دقیقه طول شرقی و عرض جغرافیایی ۳۰ درجه و ۵۴ دقیقه شمالی و در ارتفاع ۴۸۱ متر از سطح دریا قرار دارد. آب و هوای منطقه براساس طبقه‌بندی کوپن جزء اقلیم‌های خشک و بسیار گرم با تابستان‌های گرم و خشک می‌باشد. خاک محل آزمایش دارای بافت لومی - شنی بود. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک پیش از اجرای آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

بافت خاک	شن	رس	لیمون	سدیم	پتاسیم	فسفر	کربن	نیتروژن	pH	EC
	(٪)			(mg/Kg)			(٪)			($dS\ m^{-1}$)
لومی - شنی	۴۱	۳۲	۲۷	۳۸/۷	۱۱۵	۹/۲	۰/۴۷	۰/۰۵	۸/۴	۱/۴۶

تیمارهای آزمایشی شامل سه سطح تنش خشکی شامل آبیاری در حالت ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه (تنش شدید)، آبیاری در حالت ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه (تنش متوسط)، آبیاری در حالت ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه (شاهد) به عنوان عامل اصلی و محلول‌پاشی اسید سالسیلیک (۰/۴۲۴ گرم در لیتر)، کیتوزان (۵ گرم در لیتر)، کاربرد توأم آن‌ها و عدم محلول پاشی (شاهد) به عنوان عامل فرعی بودند. عملیات کاشت در تاریخ ۳۰ آذر و پس از آماده سازی کرت‌های به طول ۴/۵ و عرض ۲/۵ متر و نیز با فاصله ردیف ۳۵ و با فاصله کاشت روی ردیف ۱۰ سانتی‌متر انجام گرفت.

اولین آبیاری برای تمام تیمارها بلافاصله بعد از کاشت

اعمال گردید. پس از استقرار کامل بوته‌ها و یک ماه بعد از کاشت اقدام به اعمال تیمارهای تنش کم‌آبیاری گردید. برای اعمال تیمارهای تنش خشکی از دستگاه رطوبت‌سنج (TDR) استفاده شد. اولین و دومین محلول‌پاشی با کیتوزان به ترتیب در ۶۳ و ۷۰ روز پس از کاشت و در مورد اسید سالسیلیک در ۶۵ و ۷۲ روز پس از کاشت و بعد از اطمینان از آشکار شدن آثار تنش خشکی بر گیاه صورت پذیرفت [۲۱]. محلول پاشی‌ها در ساعت ۴ بعدازظهر و در هوای صاف و ملایم اعمال شد، به‌طوری‌که برگ‌های گیاه کاملاً خیس شدند.

صفات اندازه‌گیری شده شامل فلورسانس کلروفیل، عملکرد پروتئین، کلروفیل a، b، کل، کارتنوئیدها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز بود. جهت اندازه گیری فلورسانس کلروفیل در نمونه‌های برگ جوان و کاملاً توسعه یافته با استفاده از دستگاه قابل حمل کلروفیل سنج[1] و با محاسبه و یاداشت مقادیر F_0، F_m، F_v، F_v/F_m و Tf_m صورت گرفت [۳۹]. برای اندازه گیری میزان پروتئین دانه، میزان نیتروژن کل به دست آمده توسط دستگاه کجلدال [۶] را در عدد ثابت ۶/۲۵ ضرب و میزان پروتئین محاسبه شد [۶]، عملکرد پروتئین دانه نیز از حاصل ضرب عملکرد دانه در درصد پروتئین دانه به‌دست آمد. برای اندازه‌گیری کلروفیل a، b و کلروفیل کل و کارتنوئید نمونه‌ها از دستگاه اسپکتروفتومتر و روابط زیر استفاده شد [۶]:

رابطه ۱) $Chl\ a = (12.19\ A665) - (3.45\ A645)$

رابطه ۲) $Chl\ b = (21.99\ A645) - (5.32\ A665)$

رابطه ۳) $Chl\ t = Chl\ a + Chl\ b$

رابطه ۴)

$Carotenoeid = (1000\ A470 - 2.14\ Chl\ a - 70.16\ Chl\ b) / 220$

در این رابطه‌ها، Chl a، Chl b و Chl t به‌ترتیب کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل و A جذب طول موج ویژه می‌باشد.

افزون بر این، آنزیم‌های کاتالاز (CAT) [۱۵]، پراکسیداز [۳۰]، گایاکول پراکسیداز (GPX) و آسکوربات پراکسیداز (APX) [۳۴] محاسبه و میزان آنزیم‌های استخراجی براساس میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید

تنش خشکی کلروفیل a، b و کل ها را به طور معنی داری تحت تأثیر قرار داد ($P<0/01$) (جدول ۲). کاهش رنگیزه های فتوسنتزی بر اثر افزایش دور آبیاری و ایجاد تنش در گلرنگ [۱ و ۱۱] و سایر گیاهان توسط محققان بسیاری به اثبات رسیده است [۲۳]. در این آزمایش نیز تأخیر در آبیاری تا ۲۵ درصد ظرفیت زراعی کلروفیل های b، کل و کارتنوئید را به ترتیب ۲۷/۶۵ و ۲۴/۰۳ درصد نسبت به عدم تنش (۷۵ درصد ظرفیت زراعی) کاهش داد. شایان ذکر است آبیاری در ۵۰ درصد ظرفیت زراعی تغییر معنی داری را در میزان صفات مذکور نسبت به عدم تنش به‌وجود نیاورد (جدول ۳). کمبود آب باعث تجزیه کلروفیل گردیده و گلوتامات که پیش ماده کلروفیل و پرولین است در اثر این تنش به پرولین تبدیل شده و درنتیجه از محتوی کلروفیل کاسته می گردد [۲۷]. کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی و به طور خاص کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید در گلرنگ در اثر تنش خشکی به اثبات رسیده است [۱، ۷ و ۱۱].

1. Handy chlorophyll florometer (PEA)

جدول ۲. تجزیه واریانس کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید و فلورسانس کلروفیل گلرنگ تحت تأثیر محلول‌پاشی در شرایط تنش خشکی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنوئید	فلورسانس کلروفیل
تکرار	۲	۰/۰۰۲۵	۰/۰۱۲۳	۰/۰۰۵۸	۰/۰۰۵۹۶۹	۰/۲۵۹
تنش خشکی	۲	۰/۰۴۷۹**	۰/۱۹۵۵**	۰/۴۰۳۰**	۰/۰۰۴۰۴۴*	۰/۲۶۴**
a خطای	۴	۰/۰۰۶۳	۰/۰۱۴۳	۰/۰۵۹۴	۰/۰۰۱۰۰۶	۰/۰۳۳
محلول‌پاشی	۳	۰/۰۱۷۴*	۰/۰۴۸۴**	۰/۰۹۹۹*	۰/۰۰۵۲۱۷**	۰/۰۹۴**
محلول‌پاشی × تنش خشکی	۶	۰/۰۲۰۱**	۰/۰۲۲۶ns	۰/۰۹۵۲ns	۰/۰۰۰۶۳۷ns	۰/۰۰۴ns
b خطای	۱۸	۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۸۵	۰/۰۲۵۱	۰/۰۰۰۶۷۲	۰/۰۱۶
ضریب تغییرات (٪)		۱۲/۹۳	۱۱/۲۶	۱۱/۷۹	۱۰/۶۴	۱۴/۸۶

*، ** و ns – به‌ترتیب معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد و عدم معنی‌دار

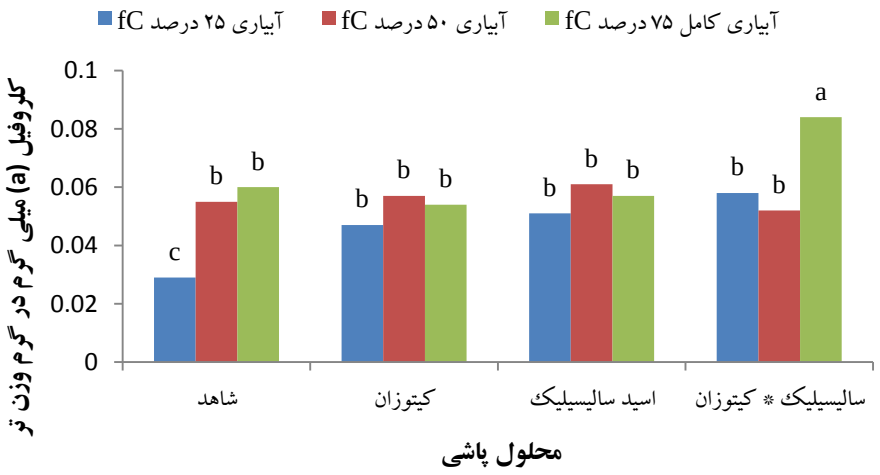
جدول ۳. مقایسه میانگین‌های کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید و فلورسانس کلروفیل گلرنگ تحت تأثیر محلول‌پاشی در شرایط تنش خشکی

تیمارها	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنوئید	فلورسانس کلروفیل
	(mg/g fw)			
تنش خشکی				
آبیاری کامل ۷۵ درصد (Fc)	۰/۹۴۰a	۱/۵۲۷a	۰/۲۶۲a	۰/۹۲۲a
آبیاری ۵۰ درصد (Fc)	۰/۸۳۷a	۱/۳۴۴ab	۰/۲۴۲a	۰/۸۰۳b
آبیاری ۲۵ درصد (Fc)	۰/۶۸۶b	۱/۱۶۰b	۰/۲۲۵a	۰/۷۳۹b
محلول‌پاشی				
شاهد	۰/۷۲۶b	۱/۲۰۹b	۰/۲۱۸b	۰/۹۵۰a
کیتوزان	۰/۸۲۰a	۱/۳۴۹ab	۰/۲۳۸b	۰/۸۹۴a
اسید سالیسیلیک	۰/۹۰۴a	۱/۴۶۶a	۰/۲۴۰b	۰/۸۶۴a
کیتوزان + اسید سالیسیلیک	۰/۸۳۴a	۱/۳۵۱ab	۰/۲۷۶a	۰/۷۱۱b

حروف مشابه در هر ستون، نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن می‌باشد.

محلول‌پاشی ترکیبات آلی کلروفیل a، کل (P<۰/۰۵)، b و کارتنوئید (P<۰/۰۱) را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (جدول‌های ۲ و ۳). اگرچه بیشترین کلروفیل b و کل در تیمار کاربرد جداگانه محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک مشاهده شد، اما محلول‌پاشی ترکیبات آلی به صورت جداگانه و تلفیقی در یک گروه آماری قرار گرفتند. همچنین، میزان بیشترین کارتنوئید با میانگین ۰/۲۷ میلی‌گرم در گرم وزن تر از تیمار تلفیق محلول‌پاشی کیتوزان و اسید سالیسیلیک به دست آمد (جدول ۳). نتایج دیگر گزارشات اثر مثبت اسید سالیسیلیک بر رنگیزه‌های فتوسنتزی [۲۴] و غیرفتوسنتزی (کارتنوئید و گزانتوفیل) [۲۵] را تأیید می کند. در این آزمایش، محلول‌پاشی کیتوزان نیز منجر به افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی نسبت به شاهد گردید (جدول ۳). طبق نتایج دیگر تحقیقات، مصرف کیتوزان باعث افزایش کلروفیل a، b و کل در باقلا می‌شود که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد [۳۷].

اثر متقابل عامل اصلی و فرعی بر کلروفیل a در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۲)، به طوری که تیمار ترکیبی عدم تنش خشکی (۷۵ درصد ظرفیت زراعی) و محلول پاشی تلفیقی ترکیبات آلی با میانگین ۰/۸۴ میلی گرم در گرم وزن تر بیشترین کلروفیل a و کاربرد همزمان تنش شدید خشکی (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) و عدم کاربرد ترکیبات آلی با ۶۵/۴۷ درصد کاهش کمترین صفت مذکور را به خود اختصاص داد (شکل ۱).



شکل ۱ . برهمکنش تنش خشکی و محلول‌پاشی ترکیبات آلی بر کلروفیل a

در اکثر پژوهش‌های انجام شده، مهمترین عمل اسیدسالیسیلیک [۳۱] و کیتوزان [۱۲، ۲۱ و ۳۱] را پاسخ و مقاومت نسبت به برخی تنش‌ها نظیر خشکی بیان کرده‌اند. اسید سالیسیلیک از طریق افزایش توان آنتی‌اکسیدان‌های سلولی و سنتز پروتئین‌های جدید از دستگاه فتوسنتزی حمایت می‌کند [۱۴]. همچنین این ترکیب آلی به دلیل داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی سبب جاروب کردن رادیکال‌های اکسیژن تولید شده توسط تنش خشکی گردید و درنتیجه میزان کلروفیل را در گیاه افزایش داد [۴]. علاوه بر این، کیتوزان در غلظت‌های پایین، با از بین بردن

رادیکال‌های آزاد به‌طور مستقیم و یا توسط آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، از اکسیداسیون چربی‌ها جلوگیری نموده و باعث کاهش پرولین و قندهای محلول در گیاه آفتابگردان می‌گردد [۱۲]، درنتیجه باتوجه به پیش‌ماده مشترک پرولین و کربوهیدرات با رنگیزه‌های فتوسنتزی، افزایش کلروفیل قابل توجیه می‌باشد.

فلورسانس کلروفیل

فلورسانس کلروفیل تحت تأثیر تنش خشکی و محلول-پاشی اسیدسالیسیلیک و کیتوزان قرار گرفت ($P<۰/۰۱$) (جدول ۲). تأخیر در آبیاری تا ۲۵ درصد ظرفیت زراعی باعث کاهش ۱۷/۲۴ درصدی در صفت مذکور نسبت به شاهد گردید (جدول ۳). از آنجایی‌که فلورسانس کلروفیل به عنوان یک معیار سنجش برای بررسی تأثیر تنش‌های محیطی، از جمله تنش آب بر گونه‌های زراعی و تعیین میزان مقاومت به خشکی می‌باشد و یک علامت مفید برای ارزیابی وضعیت فتوشیمی گیاه به کار می‌رود، مشاهده شد که در تنش شدید میزان فلورسانس کلروفیل کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد داشت. در واقع، تنش خشکی با تأثیر سوئی که بر همانندسازی کربن می‌گذارد، ظرفیت پذیرش و انتقال الکترون را کاهش داده، درنتیجه سیستم به سرعت به فلورسانس حداکثر (Fm) می‌رسد که نتیجه آن کاهش فلورسانس متغیر (Fv) خواهد بود. از طرف دیگر، با افزایش شدت نور، سیستم فتوسنتزی با یک روش تنظیمی برای کاهش انرژی القاء شده تحریکی، انرژی مازاد را به طریق افزایش خاموشی غیرفتوشیمیایی به صورت فرآیند غیرتشعشعی از دست می‌دهد. با این مکانیسم تنظیمی، ضمن حفاظت از مرکز واکنش، موجب می‌گردد که حداقل صدمه به این مرکز وارد شود [۱۶]. از این‌رو، کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II به صورت نسبت Fv/Fm (نسبت فلورسانس متغیر به فلورسانس ماکزیمم) بیان می‌شود. بنابراین، تنش‌های محیطی با تأثیر بر فتوسیستم II باعث کاهش این نسبت می‌شود [۲۹]. در همین راستا، یافته‌های دیگر محققان نشان داد که محدودیت آبی گلرنگ، شاخص‌های فلورسانس کلروفیل را کاهش می‌دهد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد [۱۱].

در تحقیق حاضر، محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک و کیتوزان موجب کاهش فلورسانس کلروفیل گردید (جدول ۲). اگرچه تیمارهای شاهد و کاربرد جداگانه کیتوزان و اسید سالیسیلیک از لحاظ آماری در یک گروه آماری قرار گرفتند، اما تغذیه تلفیقی گیاهان با میانگین ۰/۷۱۱ و کاهش ۲۵/۱۵ درصدی صفت مذکور نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان داد و به تنهایی در یک گروه آماری قرار گرفت (جدول ۳).

آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز (GPX)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (PRO)

اگرچه تنش خشکی سبب افزایش تمام آنزیم‌های مورد اندازه‌گیری شد، اما این افزایش از لحاظ آماری فقط بر پراکسیداز معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$) (جدول ۴). بالاترین میزان آنزیم پراکسیداز با میانگین ۰/۰۰۲۴ میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین در شرایط آبیاری در ۲۵ درصد ظرفیت زراعی به‌دست آمد، به‌طوری‌که با کاهش دور آبیاری تا تنش شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) افزایشی معادل ۳۳/۳۳ درصد در این صفت ایجاد شد (جدول ۵). آنزیم پراکسیداز به عنوان جمع‌کننده پراکسید هیدروژن، سبب افزایش تحمل به تنش اکسیداتیو می‌شود [۱ و ۱۱]. عدم تعادل در بین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سبب کاهش کارایی مکانیسم‌های جمع‌آوری‌کننده فرم‌های فعال اکسیژن می‌شود [۱۱]. در همین ارتباط، افزایش آنزیم‌های ضداکسنده بر اثر تنش خشکی در گلرنگ [۱ و ۱۱] و

کنجد [۱۰] گزارش شده است. با افزایش دور آبیاری و اعمال تنش بیشتر آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز نیز افزایش یافتند، اما این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود و کلیه میانگین‌ها در یک کلاس آماری قرار گرفتند (جدول ۵). در همین ارتباط، محققان در بررسی تنش خشکی بر روی گلرنگ به نتایج مشابهی دست یافتند [۱۱].

جدول ۴. تجزیه واریانس کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات، گایاکول و عملکرد پروتئین گلرنگ تحت تأثیر محلول‌پاشی در شرایط تنش خشکی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		کاتالاز	پراکسیداز	آسکوربات	گایاکول
تکرار	۲	۶/۰۰۸	۱/۸۳۲	۴/۲۱۸	۰/۰۰۰۲۸۵
تنش خشکی	۲	۳/۱۷۵^{ns}	۱/۹۳۰*	^{ns}۲/۵۳۳	۰/۰۰۰۲۸۳^{ns}
a خطای	۴	۹/۸۷۹	۱/۵۱۳	۹/۶۳۶	۰/۰۰۰۰۶۷
محلول‌پاشی	۳	۱/۶۴۶*	۱/۵۹۶**	۱/۹۵۸*	۰/۰۰۰۵۱۹**
محلول‌پاشی × تنش خشکی	۶	۲/۰۵۴^{ns}	۷/۰۴۹^{ns}	۳/۲۵۴^{ns}	۰/۰۰۰۰۲۳^{ns}
b خطای	۱۸	۰/۰۰۰۰۰۰۳۷	۰/۰۰۰۰۰۰۰۹	۰/۰۰۰۰۰۰۶۰	۰/۰۰۰۰۳۲
ضریب تغییرات (٪)		۱۸/۴۳	۱۵/۱۵	۲۱/۲۳	۱۲/۰۷

*، ** و ns – به ترتیب معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد و عدم معنی‌داری

جدول ۵. مقایسه میانگین‌های کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات، گایاکول و عملکرد پروتئین گلرنگ تحت تأثیر محلول‌پاشی در شرایط تنش خشکی

تیمارها	کاتالاز (µM/mg protein)	پراکسیداز (µM/mg protein)	آسکوربات (µM/mg protein)	گایاکول (µM/mg protein)
تنش خشکی				
آبیاری کامل ۷۵ درصد (**Fc**)	۰/۰۰۲۸^{a}	۰/۰۰۱۶^{b}	۰/۰۰۳۲^{a}	۰/۰۴۱۸^{a}
آبیاری ۵۰ درصد (**Fc**)	۰/۰۰۳۱^{a}	۰/۰۰۱۹^{ab}	۰/۰۰۳۵^{a}	۰/۰۴۷۵^{a}
آبیاری ۲۵ درصد (**Fc**)	۰/۰۰۳۸^{a}	۰/۰۰۲۴^{a}	۰/۰۰۴۱^{a}	۰/۰۵۱۵^{a}
محلول‌پاشی				
شاهد	۰/۰۰۲۷^{b}	۰/۰۰۱۵^{b}	۰/۰۰۳۰^{b}	۰/۰۳۹۰^{b}
کیتوزان	۰/۰۰۳۱^{ab}	۰/۰۰۱۷^{b}	۰/۰۰۳۷^{ab}	۰/۰۴۱۸^{b}
اسید سالیسیلیک	۰/۰۰۳۵^{a}	۰/۰۰۲۳^{a}	۰/۰۰۳۷^{ab}	۰/۰۵۳۳^{a}
کیتوزان + اسید سالیسیلیک	۰/۰۰۳۶^{a}	۰/۰۰۲۴^{a}	۰/۰۰۴۱^{a}	۰/۰۵۳۵^{a}

حروف مشابه در هر ستون، نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن می‌باشد.

محلول‌پاشی ترکیبات آلی بر آنزیم‌های پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز (P<۰/۰۱) کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز (P<۰/۰۵) اثر معنی داری داشت (جدول ۴). تیمارهای جداگانه اسید سالیسیلیک و تلفیق کیتوزان و اسید سالیسیلیک در کلیه صفات مذکور در یک گروه آماری قرار گرفتند، اما بیشترین میزان آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز به‌ترتیب با ۲۶/۴۱، ۲۶/۸۲، ۲۵ و ۳۷/۵ درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد در محلول پاشی تلفیقی ترکیبات آلی به دست آمد (جدول ۵). اسید سالیسیلیک [۹] و کیتوزان [۱] در شرایط تنش منجر به افزایش آنزیم های ضداکسنده می شوند. کیتوزان ترکیبی با منشأ زیستی است که از طریق القای سیستم دفاعی باعث بیوسنتز و انباشت متابولیت های ثانویه می شوند [۳۱]. کیتوزان با فعال نمودن تعدادی از آنزیم‌ها نظیر کیتینازها [۱۸]، کاتالاز [۱ و ۹] گایاکول پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز [۹] مقاومت گیاه را در برابر شرایط نامساعد محیطی و تنش ها افزایش داده و صدمات ناشی از آن‌ها را کاهش می‌دهد. از سوی دیگر، اسید سالیسیلیک با اثر روی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر کاتالاز، سوپراکسیدازها، اثرات ناشی از تنش‌های خشکی را کاهش می‌دهد [۱۹]. در همین راستا، در شرایط تنش کم‌آبی، کاربرد اسید سالیسیلیک در ذرت [۲۸] باعث افزایش سطح ترکیبات آنتی‌اکسیدان گردید.

عملکرد دانه

تنش خشکی و محلول پاشی بر عملکرد دانه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شدند (جدول ۶). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش عملکرد دانه شد، به‌طوری‌که آبیاری کامل (۷۵ درصد ظرفیت مزرعه) با میانگین ۱۰۰۳/۱ کیلوگرم در هکتار بیشترین عملکرد دانه و تنش شدید (آبیاری ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه) با ۴۲/۷۳ درصد کاهش کمترین میزان صفت مذکور را به خود اختصاص (جدول ۷).

جدول ۶. تجزیه واریانس درصد پروتئین، عملکرد دانه و عملکرد پروتئین گلرنگ تحت تأثیر محلول‌پاشی در شرایط تنش خشکی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		درصد پروتئین	عملکرد دانه	عملکرد پروتئین
تکرار	۲	۱۲/۷۸	۷۱۲۷۲/۱	۴۵۶/۹۷
تنش خشکی	۲	۱۸/۱۲	۲۶۶۷۳۲۱/۲**	۴۸۱/۲۶ns
a خطای	۴	۲۳/۶۰	۶۶۵۴۵/۰	۱۸۷/۹۶
محلول‌پاشی	۳	۲۷/۶۵*	۳۰۷۵۴۵/۲**	۱۶۹۶/۹۲**
محلول‌پاشی × تنش خشکی	۶	۵/۹۵ns	ns۳۰۷۵۴۵/۲	۳۶۱/۳۸*
b خطای	۱۸	۸/۷۴	۳۹۶۲۹/۶	۱۲۳۸/۲۰
ضریب تغییرات (٪)		۱۲/۰۱	۲۲/۴۵	۸/۵۸

*، ** و ns – به‌ترتیب معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد و عدم معنی‌داری

جدول ۷. مقایسه میانگین‌های درصد پروتئین، عملکرد دانه و عملکرد پروتئین گلرنگ تحت تأثیر محلول‌پاشی در شرایط تنش خشکی

تیمارها	درصد پروتئین	عملکرد دانه (**kg/ha**)
تنش خشکی		
آبیاری کامل ۷۵ درصد (**Fc**)	۲۵/۶۹[a]	۱۰۰۳/۱[a]
آبیاری ۵۰ درصد (**Fc**)	۲۴/۸۴[a]	۹۸۲/۳[b]
آبیاری ۲۵ درصد (**Fc**)	۲۳/۲۷[a]	۵۷۴/۴۰[c]
محلول‌پاشی		
شاهد	۲۲/۳۶[b]	۶۳۳/۲۳[b]
کیتوزان	۲۶/۱۰[a]	۸۷۴/۳۱[a]
اسید سالیسیلیک	۲۴/۰۵[ab]	۹۸۲/۴۹[a]
کیتوزان + اسید سالیسیلیک	۲۵/۸۹[a]	۱۰۵۶/۸[a]

حروف مشابه در هر ستون نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن می‌باشد.

به نظر می‌رسد بروز تنش خشکی در مرحله رشد رویشی گیاه منجر به کوچک شدن سطح برگ فتوسنتزکننده و کاهش شاخص سطح برگ می‌شود. کاهش عملکرد در این مرحله ممکن است به واسطه کاهش تعداد دانه در طبق حاصل شود [۸] و چنانچه تنش در مرحله زایشی رخ دهد، کاهش عملکرد به واسطه کاهش دوره پر شدن و وزن دانه‌ها می باشد [۷]. عملکرد دانه گلرنگ در شرایط تنش رطوبتی به میزان ۲۰/۵۸ درصد دچار افت می‌شود [۱۳].

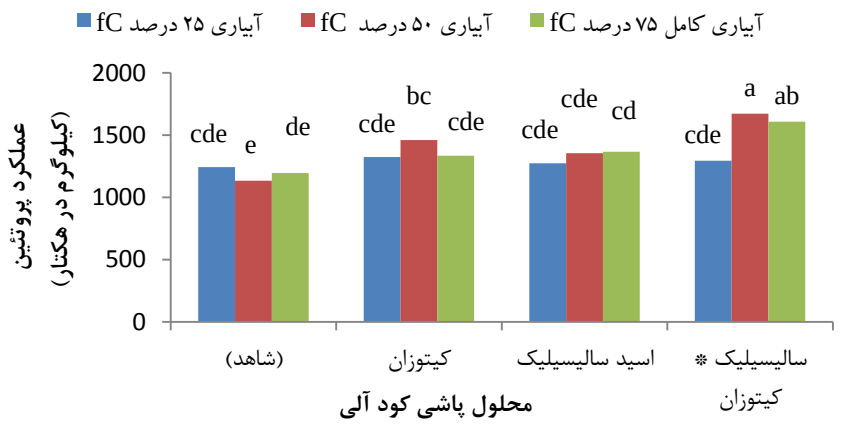
محلول‌پاشی تلفیقی اسید سالیسیلیک و کیتوزان منجر به افزایش ۴۰/۰۸ درصدی عملکرد دانه نسبت به شاهد گردید (جدول ۷). طبق گزارش های دیگر محققین با افزایش مصرف کیتوزان [۱۲] و اسید سالیسیلیک [۵] عملکرد دانه در گیاه افزایش می یابد. تا به حال سازوکار عمل کیتوزان روی رشد ناشناخته مانده است. احتمالاً این ترکیب ممکن است سیگنالی را برای سنتز هورمون‌های گیاهی نظیر جیبرلین القاء کند و رشد و نمو گیاه توسط بعضی مسیرهای سیگنالینگ مربوط به بیوسنتز اکسین، از طریق مسیر وابسته به تریپتوفان افزایش دهد [۱۲].

درصد پروتئین

درصد پروتئین به طور معنی داری تحت تأثیر محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک و کیتوزان قرار گرفت ($P<0/05$) (جدول ۶). محلول‌پاشی کیتوزان به میزان ۱۴/۳۲ درصد باعث افزایش پروتئین دانه نسبت به شاهد شد (جدول ۷). تأثیر اسید سالیسیلیک و کیتوزان بر میزان پروتئین بسته به گونه گیاهی، شدت تنش و غلظت سالیسیلیک و اندام گیاهی متفاوت است، به‌طوری‌که در برخی تحقیقات افزایش و یا کاهش میزان پروتئین گزارش شده است [۳۸]. در تحقیق حاضر، کیتوزان و اسید سالیسیلیک در شرایط تنش بر میزان پروتئین تأثیر معنی داری نداشت که احتمالاً به دلیل شدت تنش و غلظت تیمار استفاده شده باشد.

عملکرد پروتئین

عملکرد پروتئین به طور معنی‌داری تحت تأثیر محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک و کیتوزان (P<۰/۰۵) و برهمکنش تنش خشکی و محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک و کیتوزان قرار گرفت (P<۰/۰۵) (جدول ۴). کاربرد ترکیبات آلی در شرایط تنش شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) کارایی بالا و معنی‌داری در کاهش اثرات تنش و افزایش پروتئین از خود نشان ندادند، اما کاربرد محلول پاشی این ترکیبات آلی موجب کاهش اثرات مضر تنش متوسط (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) بر عملکرد پروتئین گردید، به‌طوری‌که در شرایط تنش خشکی متوسط (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) کاربرد تلفیق ترکیبات آلی با میانگین ۲۶۷/۶ کیلوگرم در هکتار موجب افزایش (۳۲/۱۸ درصد) صفت مذکور نسبت به عدم کاربرد محلول پاشی گردید. در شرایط عدم تنش نیز (۷۵ درصد ظرفیت زراعی) کاربرد تلفیقی اسید سالیسیلیک و کیتوزان با میانگین ۲۶۰ کیلوگرم در هکتار بیشترین میزان صفت مذکور را به خود اختصاص داد (شکل ۲).



شکل ۲. برهمکنش تنش خشکی و محلول‌پاشی کود آلی بر عملکرد پروتئین

تنش خشکی به‌ویژه در هنگام رسیدگی در گیاه گلرنگ، میزان درصد روغن را کاهش، ولی درصد پروتئین را افزایش داد که این حالت به دلیل تسریع در رسیدگی گیاه می‌باشد [۲]. به نظر می‌رسد کاهش پتانسیل آب در برگ‌ها موجب کاهش قابل توجهی در پلی‌ریبوزوم‌ها و مونوریبوزوم‌ها می شود که این امر بیانگر کاهش سنتز پروتئین‌ها می‌باشد. همچنین رادیکال‌های آزاد اکسیژن میل ترکیبی بالایی با پروتئین ها دارند و سبب اکسید شدن آن ها می شود. گزارشات متعددی مبنی بر نقش اسید سالیسیک در کاهش اثرات ناشی از تنش ها و بهبود رشد وجود دارد [۴، ۹ و ۳۵]. اسید سالیسیلیک از طریق افزایش توان آنتی‌اکسیدان‌های سلولی و سنتز پروتئین‌های جدید از دستگاه فتوسنتزی حمایت می‌کند. درضمن این اسید از طریق غیرروزنه‌ای و با کاهش فعالیت آنزیم رابیسکو و همچنین اثر بر بیوسنتز پروتئین های فتوسنتزی، باعث مهار فتوسنتز می‌گردد [۱۴].

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر حاکی از آن است که با افزایش تنش خشکی ناشی از افزایش فواصل آبیاری، رنگیزه‌های

فتوسنتزی و عملکرد پروتئین کاهش ولی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (پراکسیداز) افزایش می یافت. محلول پاشی اسید سالیسیلیک سبب افزایش معنی دار پروتئین و کلیه آنزیم های ضداکسنده مورد بررسی شد. نکته کاربردی در این مطالعه کاهش گیاهان آسیب دیده از تنش خشکی با کاربرد محلول‌پاشی کیتوزان و اسید سالیسیلیک بود. محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۴۲۴ گرم در لیتر و کیتوزان به صورت توأم از طریق افزایش معنی‌دار عملکرد پروتئین و کلروفیل a سبب کاهش خسارت ناشی از تنش خشکی در گلرنگ گردید. لذا با انجام مطالعات تکمیلی می توان کاربرد این دو ماده آلی را برای کاهش تنش خشکی در شرایط آب و هوایی مشابه در گلرنگ پیشنهاد کرد.

منابع

۱. امیری ا، باقری ع ا، خواجه م، نجف‌آبادی ن و یدالهی ده‌چشمه پ (۱۳۹۲) تأثیر محلول‌پاشی سیلیکون بر عملکرد و آنزیم های آنتی اکسیدانی گلرنگ در شرایط تنش خشکی. پژوهش‌های به‌زراعی. ۵(۴): ۳۶۱-۳۷۲.

۲. آلیاری ه و شکاری ف (۱۳۷۹) دانه‌های روغنی (زراعت و فیزیولوژی). انتشارات عمیدی. تبریز. ۱۸۲ ص.

۳. دانشور م ر، تلوری ع، توکلی م و دانائیان م ر (۱۳۸۶) بررسی منطقه ای خشکسالی در مرکز، جنوب و جنوب شرق کشور. پژوهش و سازندگی در منابع طبیعی. ۷۶: ۱۵۸-۱۶۶.

۴. رمرودی م و خمر ع ر (۱۳۹۲) اثرات متقابل محلول پاشی اسید سالیسیلیک و تیمارهای مختلف آبیاری بر برخی ویژگی‌های کمی، کیفی و تنظیم کننده های اسمزی ریحان. تحقیقات کاربردی اکوفیزیولوژی گیاهان. ۱(۱): ۱۹-۳۲.

۵. سیبی م، میرزاخانی م و گماریان م (۱۳۸۹) مطالعه بی‌ثباتی غشای سلولی گلرنگ تحت فشار آب، با استفاده از زئولیت و سالیسیلیک اسید. زراعت و اصلاح نباتات. ۸(۲): ۱۱۹-۱۳۶.

۶. طباطبایی ج (۱۳۸۸) اصول تغذیه معدنی گیاهان. چاپ اول. چاپ و افست خوارزمی، تبریز، ۳۸۹ ص.

۷. عرب ص، برادران فیروزآبادی م، اصغری ح ر، غلامی ا و رحیمی م (۱۳۹۱) بررسی اثرات تنش خشکی بر عملکرد و برخی صفات گلرنگ بهاره تحت تأثیر محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید و اسیدآسکوربیک. اولین همایش ملی تنش‌های گیاهی (غیرزیستی). دانشگاه اصفهان. ۱۰- ۱۱ آبان.

۸. فرخی‌نیا م، رشدی م، پاسبان اسلام ب و ساسان‌دوست ر (۱۳۹۰) بررسی برخی از ویژگی‌های فیزیولوژیک و عملکرد گلرنگ بهاره تحت تنش کمبود آب. علوم گیاهان زراعی ایران. ۴۲(۳): ۵۴۵-۵۵۳.

۹. کاظمی ن، خاوری نژاد ر، فهیمی ح، سعائتمند س و نژادستاری ط (۱۳۸۹) تأثیر سالیسیلیک اسید برون زا بر پراکسیداسیون لیپید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در برگ‌های گیاهان کلزا تحت تنش نیکل. علوم زیستی (دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان). ۳(۳): ۷۱-۸۰.

۱۰. نوری پورسخت ج و احسان‌زاده پ (۱۳۹۱) تغییر برخی آنتی‌اکسیدانت‌ها در کنجد و ارتباط آن با صفات فیزیولوژیک و عملکرد دانه تحت رژیم مختلف آبیاری. علوم گیاهان زراعی ایران. ۴۳(۱): ۸۱-۹۱.

۱۱. یدالهی ده‌چشمه پ، اصغری‌پور م ر، خیری ن و قادری ا (۱۳۹۳) اثر تنش خشکی و کودهای آلی بر عملکرد روغن و ویژگی های بیوشیمیایی گلرنگ. تولید گیاهان روغنی. ۱(۲): ۲۷-۴۰.

۱۲. یدالهی ده چشمه پ، باقری ع ا، امیری ا و اسمعیل زاده ص (۱۳۹۳) اثر تنش خشکی و محلول پاشی کیتوزان بر عملکرد و رنگیزه‌های فتوسنتزی آفتابگردان. فیزیولوژی گیاهان زراعی. ۶(۲۱): ۷۳-۸۳.

13. Abolhasani K and Saeni G (2006) Investigation of Agronomic traits for safflower genotypes in two moisture regimes in Isfahan. Journal of Agricultuar Science and Natural Resources. 13(4): 100-108.

14. Alfonso LV and Martin-Mex R (2007) Effect of Salicylic Acid on the Bioproductivity of Plant. Salicylic Acid- a Plant Hormone. Pp. 15-23.

15. Beers GR and Sizer IV (1952) Aspectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. Biological Chemistry. 195: 133-140.

16. Bhardway R and Singhal G (1981) Effect of water stress on photochemical activity of chloroplasts during greening etiolated barley seedlings. Plant Cell Physiology. 22(2): 155-162.

17. Blokhina O, Virolainen E and Fagerstedt KV (2003) Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A review. Annls of Botany. 91: 179-194.

18. Cheng X, Zhou U and Cui X (2006) Improvement of phenylethanoid glycosides biosynthesis in Cistanche deserticola cell suspension cultures by chitosan elicitor. Biotechnology Journal. 121: 253-260.

19. Choundhury S and Panda SK (2004) Role of salicylic acid in regugating cadmium induced oxidative stress in oryza Sativa L root. Bulgarian Journal of Plant Physiology. 30(3-4): 95-110.

20. Ghai N, Setia RC and Setia N (2002) Effect of paclobutrazol and salicylic acid on chlorophyll content, hill activity and yield components in *Brassica napus* L. (cv. GSL-1). Phytomorphology. 52: 83-87.

21. Gornik K, Grzesik M and Duda BR (2008) The Effect of chitosan on rooting of grapevine cuttings and on subsequent plant growth under drought and temperature stress. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research. 16: 333-343.

22. Guan YJ, Hu J, Wang XJ and Shao CX (2009) Seed priming with chitosan improves maize stress germination and seedling growth in relation to physiology changes under low temperature. Journal of Zhejiang University-Science. 10: 427-433.

23. Hayat S, Hayat Q, Irfan M and Ahmad A (2010) Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. Environmental and Experimental Botany. 68(1): 14-25.

24. Kang GZ, Wang CH, Sun GC and Wang ZX (2003) Salicylic acid changes activities of H_2O_2-metabolizing enzymes and increases the chilling tolerance of banana seedlings. Environmental and Experimental Botany. 50: 9-15.

25. Kaydan D, Yagmur M and Okut N (2007) Effects of salicylic Acid on the Growth and some physiological characters in salt stressed wheat (*Triticum aestivum* L.). Tarim Bilimleri Dergisi. 13(2): 114-119.

26. Khan W, Prithiviraj B and Smith DL (2003) Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. Journal of Plant Physiology. 160: 485-492.

27. Lawlor DW and Cornic G (2002) Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. Plant, Cell and Environment. 25: 275-294.

28. Li L, Vanstaden J and Jager AK (1998) Effects of plant growth regulators on the antioxidant system in seedlings of two maize cultivars subjected to water stress. Plant Growth Regulators. 25: 81-87.

29. Ma BL, Morison MJ and Videng HD (1995) Leaf greenness and photosynthetic rates in soybean. Crop Science. 35: 1411-1414.

30. Mac-Adam JW, Nelson CJ and Sharp RE (1992) Peroxidase Activity in the leaf elongation zone of tall fescue. Plant Physiology. 99: 872-878.

31. Mahdavi B, Modarres Sanavy SAM, Aghaalikhani M, Sharifi M and Dolatabadian A (2011) Chitosan Improves Osmotic Potential Tolerance in Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Seedlings. Journal of Crop Improvement. 25: 728-741.

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

33. Munne-Bosch S and Penuelas J (2003) photo- and antioxidative protection, and a role for salicylic acid during drought and recovery in field-grown Phillyrea angutifolia plants. Planta. 217: 758-766.

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

35. Popova L, Krante A, Janda R and Szalai G (2008) Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on Photosynthesis in maizc. Journal of Plant Physiology. 165: 920-931.

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

37. Sheikha SAK and AL-Malki FM (2009) Growth and chlorophyll responses of bean plants to the chitosan applications. European Journal of Scientific Research. 50: 124-134.

38. Singh VD, Verma SK and Singh BL (1990) Effect of irrigation and phosphorus on safflower (*Carthamus tinctorious* L.) yield in Rajasthan. Indian Journal of Agricultural Science. 40: 644-647.

39. Soltani A (2004) Chlorophyll fluorescence and its application. Internal press. University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan.