

نقش تعدیل کننده اسیدسالیسیلیک در ویژگی های فیزیولوژیک گوجه فرنگی رقم Namib تحت تنش شوری در کشت بدون خاک

شادی احمدی^۱، یاور وفایی^{۱*}، محمود کوشش صبا^۱ و لولاو زارعی^۱

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۷/۲۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۳/۲۹)

چکیده

تنش شوری از مهمترین عواملی است که رشد و عملکرد گیاهان را در سطح جهان کاهش می دهد. یکی از روش های کاهش اثرهای مخرب تنش شوری، استفاده از محلول پاشی برخی مواد شیمیایی مانند اسیدسالیسیلیک در جهت افزایش تحمل به شوری گیاهان است. این پژوهش در سال زراعی ۹۵-۱۳۹۴ با هدف بررسی تغییرات فیزیولوژیک گوجه فرنگی تحت تنش شوری و تیمار اسیدسالیسیلیک در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه کردستان صورت گرفت. تیمار شوری در دو سطح (صفر (شاهد) و ۵۰ میلی مولار) و تیمار اسیدسالیسیلیک در سه غلظت (صفر، ۱ و ۲ میلی مولار) به صورت محلول پاشی برخی اعمال شد. بر اساس نتایج به دست آمده، بیشتر صفات فیزیولوژیک مورد مطالعه تحت تأثیر تنش شوری قرار گرفتند. در این ارتباط، اسیدسالیسیلیک باعث افزایش محتوای نسبی آب برگ، پایداری غشاء سلولی، کلروفیل کل، کربوهیدرات های محلول کل و پرولین نسبت به گیاهان تنش دیده بدون اعمال اسیدسالیسیلیک گردید. بنابراین، استفاده از اسیدسالیسیلیک برای تحریک مقاومت و بهبود خصوصیات فیزیولوژیک گوجه فرنگی تحت تنش شوری توصیه می شود.

کلمات کلیدی: خصوصیات فیزیولوژیک، پرولین آزاد، کربوهیدرات های محلول

مقدمه

پوکه معدنی، پرلیت، ورمیکولیت، رس های حجیم شده یا پشم سنگ قرار می گیرند (۴۵). با وجود مزیت های فراوان کشت های بدون خاک، از جمله عاری بودن از بیماری های خاکزی، عدم نیاز به روش های خطرناک ضد عفونی خاک، صرفه جویی در مصرف آب و افزایش کارایی جذب عناصر غذایی، یکی از مشکلات این سیستم ها استفاده از آب های شور حاوی کلرید سدیم و تجمع عناصر غذایی در محیط ریشه است که در نهایت به صورت تنش شوری تجلی می یابد (۵۲).

یک سوم زمین را مناطق خشک و نیمه خشک تشکیل می دهد که نیمی از این نواحی دارای خاک های شور هستند و منجر به شور شدن آب آبیاری نیز می شوند. کشت های بدون خاک (Soiless culture) به عنوان "هرگونه روش رشد گیاهان بدون استفاده از خاک به عنوان محیط ریشه" شناخته می شوند که در آنها مواد معدنی از طریق آب آبیاری در اختیار ریشه قرار می گیرند. در چنین کشت هایی، ریشه یا در محیط های کشت متخلخل همانند

۱. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج

*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: y.vafae@uok.ac.ir

گونگون فیزیولوژیک در گیاهان ایفا می‌کند که شامل رشد (۲۹)، گرمزایی، القای گل، جذب مواد غذایی، بیوستنز اتیلن (۱۸)، حرکت روزنه (۳۵) و فتوستنز (۱۳) می‌باشد. مقاومت به بیماری و تحمل به تنش‌های غیرزنده از نقش‌های دیگر اسیدسالیسیلیک است (۲۶) می‌باشد. در این بین، نقش اسیدسالیسیلیک برای مقابله با تنش فلزات سنگین (۷)، تنش سرمای (۵۷)، تنش گرمایی (۲۰) و شوری (۶۰) گزارش شده است.

اسیدسالیسیلیک محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها را در گیاه ذرت افزایش داده است (۳۲). تباری و همکاران (۵۶) با اندازه‌گیری متغیرهایی همانند کارایی فتوستنز، میزان تیوباریتورات، پتانسیل آب برگ، میزان سدیم و کلر و قندهای محلول برگ و میزان اتیلن نتیجه گرفتند که تیمار طولانی مدت گوجه‌فرنگی با غلظت‌های کم SA گیاهان را قادر می‌سازد که تنش شوری ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم را تحمل کنند. مطالعات روی کشت گوجه‌فرنگی نشان داده که کاربرد SA در محلول غذایی (۵۴)، خاک (۵۵)، یا اسپری برگی (۲۱)، باعث بهبود مقاومت گیاه به تنش اکسیداتیو ناشی از غلظت زیاد شوری شده است. تحریک مقاومت به تنش‌های مختلف در گیاهان به وسیله کاربرد خارجی اسیدسالیسیلیک و مشتقات آن ممکن است کاربرد علمی مهمی در کشاورزی، باغبانی و جنگلداری داشته باشد (۵۰). با توجه به مطالب گفته شده و با توجه به اینکه رقم Namib از ارقام تحت کشت و کار در ایران است، هدف اصلی این تحقیق بررسی عکس‌العمل فیزیولوژیک و پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی گیاهان تحت تنش شوری گوجه‌فرنگی به محلول‌پاشی سطوح مختلف SA در شرایط کشت بدون خاک می‌باشد.

مواد و روش‌ها

بذر گوجه‌فرنگی رقم Namib در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی (دمای روز ۲۵ درجه سلسیوس، دمای شب ۱۷ درجه سلسیوس) دانشگاه کردستان در اسفند ۱۳۹۴ در ظرف‌های

گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicom* Mill.) متعلق به تیره سولاناسه است. تولید جهانی این محصول در سال ۲۰۱۴ حدود ۱۶۳ میلیون تن میوه از ۴/۷ میلیون هکتار بوده است (۱۲). گوجه‌فرنگی دومین سبزی مهم در سرتاسر دنیا است (۳۶). تنش شوری بر جنبه‌های مختلف رشد و نمو گوجه‌فرنگی از مرحله جوانه‌زنی تا مرحله رسیدن میوه تأثیر می‌گذارد. در این ارتباط، اعمال شوری روی بذرهای در حال جوانه‌زنی گوجه‌فرنگی منجر به وارد شدن این بذرها به رکود و عدم جوانه‌زنی شده است (۴). شوری، تعادل در جذب عناصر غذایی اصلی همانند نیتروژن، پتاسیم و فسفر را بر هم زده و باعث کاهش رشد ابتدایی بوته‌های گوجه‌فرنگی و در نهایت کاهش میزان تولید میوه می‌شود (۳۸، ۴۱، ۴۲ و ۵۱). شوری در گوجه‌فرنگی با تحریک بیوستنز تنظیم‌کننده‌های رشد همانند اتیلن و اسید آبسزیک منجر به تسریع پیری برگ‌ها و در نتیجه کوتاه شدن طول دوره میوه‌دهی می‌شود (۱۷). انباشت سدیم و پرولین در برگ، کاهش جریان آب به میوه‌های در حال رشد، کاهش تنفس میوه و کاهش ماده خشک میوه از دیگر تأثیرات گزارش شده تنش شوری در گوجه‌فرنگی می‌باشد (۴۳ و ۴۴). در نقطه مقابل، اثرات مثبت تنش ملایم شوری بر کیفیت میوه گوجه‌فرنگی نیز مشاهده شده است. در یک تحقیق روی ارقام M-09 و Dino-RN شوری باعث افزایش میزان ماده خشک، قندهای محلول و اسیدیته میوه شد (۵۸). همچنین، آبیاری با آب شور، محتوی کاروتنوئید و ظرفیت ضد اکسایشی عصاره میوه گوجه‌فرنگی را افزایش داده است (۸).

استفاده از برخی کودها، ترکیبات شیمیایی و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی به صورت اضافه کردن مستقیم به محلول غذایی کشت‌های بدون خاک یا به صورت محلول‌پاشی با فعال‌سازی سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی در گیاه، به ویژه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، می‌تواند اثر مثبتی در کاهش برآیندهای مضر شوری در گیاهان داشته باشد (۱۰). در این ارتباط، اسیدسالیسیلیک (SA) یک ترکیب فنولی است که به عنوان یک هورمون گیاهی شناخته شده است (۱۸). این ماده، نقش‌های

نهایت، محتوای نسبی آب برگ با استفاده از رابطه زیر به صورت درصد محاسبه شد (۱۴).

$$\text{وزن آماس} / (\text{وزن خشک} - \text{وزن تر}) = \text{محتوی نسبی آب برگ} \quad [1]$$

$$\times 100 \text{ (وزن خشک)}$$

به منظور اندازه‌گیری شاخص پایداری غشای سلولی (Membrane stability index, MSI)، قطعاتی از برگ قطع شده و ۴ گرم از قطعات برگ با آب مقطر شستشو داده شده و در لوله‌های حاوی ۱۰ میلی‌متر آب مقطر قرار داده شدند. لوله‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم ۴۰ درجه سلسیوس قرار گرفته و هدایت الکتریکی آنها پس از سرد شدن تا دمای ۲۵ درجه سلسیوس با دستگاه هدایت‌سنج قرائت شد (C۱). سپس، فاکتورها به مدت ۲۰ دقیقه در آب ۱۰۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند و هدایت الکتریکی آنها پس از سرد شدن تا ۲۵ درجه سلسیوس قرائت شد (C۲). شاخص پایداری غشاء سلولی با استفاده از رابطه زیر به صورت درصد محاسبه گردید (۴۹).

$$MSI = (1 - (C1 - C2)) \times 100 \quad [2]$$

که C۱ هدایت الکتریکی پس از قرار گرفتن در معرض دمای ۴۰ درجه و C۲ هدایت الکتریکی پس از قرار گرفتن در معرض دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس است.

برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل از روش لیختن‌تالر و بوخمن (۳۷) استفاده شد. طبق این روش، ۱/۰ گرم نمونه برگ را وزن کرده و با نیتروژن مایع پودر شدند. سپس، در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ و ۱/۰ گرم منیزیم اکسید کاملاً ساییده شدند و به مدت ۱۰ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ (HERMLE Z206A) قرار داده شدند. سپس، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-S2100) میزان جذب کلروفیل a و b در طول‌های موج ۶۴۶ و ۶۴۶ و میزان کاروتنوئید در طول موج ۴۷۰ نانومتر قرائت شدند و با استفاده از روابط زیر، میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید (برحسب میلی‌گرم در گرم وزن تر) محاسبه گردید:

$$Chl_a \left(\text{mg mL}^{-1} \right) = (12/25 \times A_{663}) - (2/79 \times A_{646}) \quad [3]$$

یکبار مصرف حاوی مخلوطی از پرلیت، ورمی‌کولیت و کوکوپیت به نسبت ۱:۱:۱ کشت شد. بعد از ۸ هفته، نشاهای سالم و عاری از هرگونه آفت و بیماری به گلدان‌های ۱۰ لیتری حاوی محیط کشت کوکوپیت و پرلایت به نسبت ۱ به ۱ انتقال داده شدند. آبیاری و تغذیه نشاها به صورت یک روز در میان به ترتیب با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب شهری و ۵۰۰ میلی‌لیتر محلول غذایی هوگلند انجام شد. بعد از استقرار بوته‌ها و با ظهور اولین خوشه گل، تیمار شوری در دو سطح صفر (شاهد) و ۵۰ میلی‌مولار با اضافه کردن NaCl به آب آبیاری اعمال شد. تیمار اسیدسالیسیلیک نیز در سه غلظت (صفر، ۱ و ۲ میلی‌مولار) به صورت محلول‌پاشی برگی (به صورت یکنواخت، به گونه‌ای که تمام سطح برگ‌ها را در برگیرد) در سرتاسر بوته‌ها انجام گرفت. جهت تهیه تیمار محلول‌پاشی مقدار مشخص اسیدسالیسیلیک توزین و در آب مقطر حل شد و به همه محلول‌ها ۵٪ توپین-۲۰ اضافه گردید. محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک به فاصله دو هفته سه بار انجام گردید. از برگ‌ها نمونه‌گیری شد و در فریزر ۷۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. خصوصیات فیزیولوژیک شامل محتوای نسبی آب برگ، شاخص پایداری غشاء سلولی، پروتئین محلول کل، میزان قندهای محلول، پرولین کلروفیل a، b و کل و فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی در برگ اندازه‌گیری شد.

به منظور اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ، برگ‌های کاملاً توسعه یافته را قطع کرده و پس از توزین تکه‌های برگ با استفاده از ترازوی دیجیتال (با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم)، وزن تر آنها محاسبه گردید. دیسک‌های برگ توزین شده به پتری‌دیش‌های درب‌دار محتوی آب مقطر منتقل شده و به مدت ۲۴ ساعت در یخچال (۴ درجه سلسیوس) و در تاریکی قرار داده شدند. پس از خارج کردن نمونه‌های برگی از آب مقطر برای حذف رطوبت اضافی، بین دو لایه دستمال کاغذی خشک شده و برای به دست آوردن وزن آماس، دوباره وزن شدند. پس از تعیین وزن آماس، قطعات برگی را به آون ۷۰ درجه سلسیوس انتقال داده و پس از ۲۴ ساعت، وزن خشک آنها تعیین گردید. در

درجه سلسیوس قرار داده شدند و بعد از سرد شدن ۱/۵ میلی‌لیتر از فاز رویی با ۱/۵ میلی‌لیتر محلول واسنجی (۱ میلی‌لیتر اتانول ۰.۷٪ + ۳ میلی‌لیتر آنترون) را در کووت ریخته و میزان جذب در طول موج ۶۲۵ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت گردید. غلظت کربوهیدرات‌های محلول کل برحسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه برگ بیان شد. از غلظت‌های مختلف گلوکز جهت رسم نمودار استاندارد و محاسبه نهایی میزان کربوهیدرات‌های محلول استفاده شد.

برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین‌های محلول کل از روش بردفورد (۶) استفاده شد. طبق این روش، ۰/۲ گرم نمونه برگ را وزن کرده در هاون چینی ریخته و همزمان نیتروژن مایع اضافه شد. در حین خرد کردن برگ، ۲۰ میلی‌گرم (پلی وینیل پروپیلیدین) PVP به آن اضافه گردید و همزمان با هم زدن ۱/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم (pH=۷) حاوی سدیم متابای سولفیت (۰/۱۹ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر) به آن اضافه شد. ترکیب حاصل به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۵۰۰۰ دور و در دمای ۴ درجه سلسیوس در سانتیفریوژ یخچال‌دار (HETTICH, Germany) سانتیفریوژ گردید. پس از اتمام سانتیفریوژ، فاز رویی را که حاوی پروتئین‌های محلول نمونه بود، با نمونه‌بردار خارج نموده و ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره با ۱۷۵ میکرولیتر گلیسرول ۵۰٪ مخلوط شد. برای اندازه‌گیری پروتئین، ۳۰ میکرولیتر عصاره برگ را به همراه ۷۲۰ میکرولیتر محلول بردفورد مخلوط نموده و پس از ۵ دقیقه، میزان جذب نوری محلول در طول موج ۵۹۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر UV-2100 قرائت شد. جهت رسم منحنی استاندارد از سرم آلبومین گاوی (BSA) استفاده شد. با توجه به منحنی استاندارد و میزان جذب نوری در طول موج ۵۹۵ نانومتر، پروتئین نمونه‌ها برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر ارائه شد.

بعد از آماده‌سازی عصاره‌های پروتئینی، سنجش آنزیم پراکسیداز با روش همادا و کلاین (۱۹) صورت گرفت. جهت سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز از مواد زیر استفاده شد: ۷۸۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار ۶/۶ pH،

$$Chl_b \left(mg mL^{-1} \right) = (21/21 \times A_{666}) - (5 \times A_{663}) \quad [4]$$

$$Ch_{total} \left(mg mL^{-1} \right) = Chl_a + Chl_b \quad [5]$$

$$Carotenoid \left(mg mL^{-1} \right) = \left((1000 \times A_{470}) - (1/8 \times Chl_a) - (85/02 \times Chl_b) \right) / 198 \quad [6]$$

برای اندازه‌گیری میزان پروکلین آزاد بافت برگ، اول ۰/۵ گرم از بافت تازه برگ وزن شده و در هاون چینی در ۱۰ میلی‌لیتر محلول آبی اسید سولفوسالیسیلیک ۰/۳ سائیده شد و مخلوط هموژنیزه به مدت ۵ دقیقه با دور ۶۰۰۰ سانتیفریوژ شد. دو میلی‌لیتر از محلول روشن‌آور به لوله‌های درب‌دار منتقل شد و به تمام لوله‌ها ۲ میلی‌لیتر معرف ناین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک گلاسیال اضافه گردید. سپس، نمونه‌ها را به مدت یک ساعت در حمام آب ۱۰۰ درجه سلسیوس انتقال داده و بلافاصله پس از خارج کردن از حمام آب به مدت چند دقیقه در حمام یخ قرار گرفتند. سپس، به هر لوله آزمایش ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه شده و نمونه‌ها تکان داده شدند تا کاملاً یکنواخت شوند. سپس، در داخل لوله آزمایش دو فاز رویی و زیرین کاملاً از هم قابل تشخیص شده و فاز رویی را که به رنگ قرمز و حاوی پروکلین محلول در تولوئن بود برداشته و در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد (۳). غلظت پروکلین برحسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه برگ بیان شد.

برای اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول کل برگ از روش ایریگوین و همکاران (۲۳) استفاده شد. بدین صورت که ۰/۱ گرم از بافت برگ توزین شده و با نیتروژن مایع در هاون چینی پودر کرده و با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۰/۹۵ به خوبی ساییده شد و سپس عصاره رویی را در فالدکون ریخته و ته‌مانده برگی دوباره با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۰/۷٪ ساییده و به فالدکن اضافه گردید. سپس، در دستگاه سانتیفریوژ با ۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتیفریوژ شد. سپس، ۱ میلی‌لیتر از عصاره الکلی را برداشته و در لوله فالدکن ریخته و ۳ میلی‌لیتر آنترون تازه تهیه شده (۱۵۰ میلی‌گرم آنترون + ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۰/۷۲٪) به آن افزوده شد. جهت ایجاد فاز رنگی، لوله‌های فالدکون به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم ۱۰۰

تجزیه و تحلیل اطلاعات

این آزمایش به صورت فاکتوریل با دو عامل شوری (در دو سطح) و اسیدسالیسیلیک (در سه سطح) در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد و آنالیز داده‌ها با نرم‌افزار MSTATC و مقایسه میانگین‌ها با روش LSD در سطح ۵٪ صورت گرفت. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2016 استفاده شد.

نتایج و بحث

محتوای نسبی آب برگ (RWC)

میزان RWC تحت تنش شوری، در مقایسه با تیمار شاهد (۸۲/۵۴ درصد)، ۶۸/۳۵ درصد کاهش یافت. کاربرد اسیدسالیسیلیک باعث افزایش میزان RWC تحت شرایط تنش شد. اما در شرایط غیر تنش، اثر معنی‌داری نداشت (شکل A-۱). کاهش پتانسیل آب محیط ریشه به واسطه افزایش غلظت املاح و کلرید سدیم، ضمن وقوع تنش اسمزی، محتوای نسبی آب برگ را نیز کاهش می‌دهد و منجر به از دست دادن فشار تورژسانس سلول و در نتیجه بسته شدن روزنه‌ها، کاهش جذب دی‌اکسید کربن و کاهش سرعت فتوسنتز می‌شود (۴۷). در واقع، ریشه، قدرت جذب آب برای جبران آب از دست رفته از طریق تبخیر و تعرق را در شرایط شوری از دست می‌دهد (۴۰). اثر مثبت SA در افزایش RWC تحت تنش شوری می‌تواند ناشی از افزایش اسید آسزیک باشد که به حفظ بهتر تعادل آبی گیاه کمک می‌کند (۵۳). از طرف دیگر، گفته شده که خود اسیدسالیسیلیک می‌تواند به عنوان یک تنش خفیف سبب بیدار شدن سد دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه و در نتیجه آمادگی برای مقابله با تنش شود (۴۶).

شاخص پایداری غشای سلولی (MSI)

کمترین میزان پایداری غشا در شرایط تنش شوری مشاهده شد (۵۷/۶۶ درصد). استفاده از سالیسیلیک اسید هم در شرایط عدم تنش و هم در شرایط تنش شوری باعث بهبود پایداری غشا

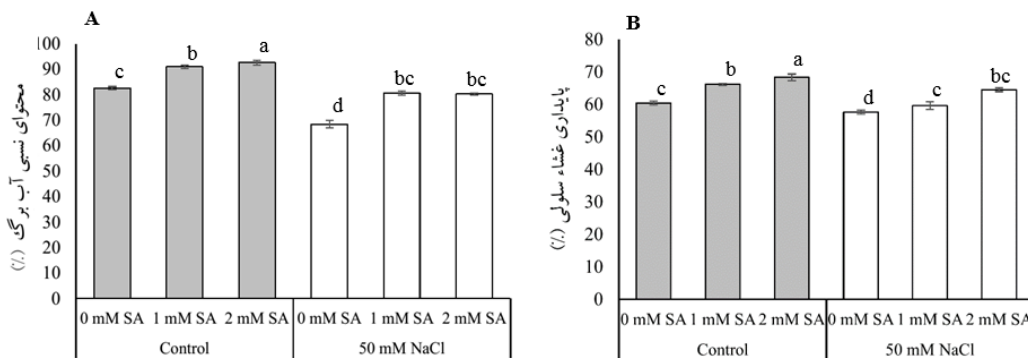
۹۰ میکرولیتر گایاکول ۱٪، ۹۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۳٪، مواد فوق را در بستر یخ در یک کووت (۱ میلی‌لیتری) با هم مخلوط کرده و بلافاصله ۲۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی استخراج شده از برگ گوجه‌فرنگی که حاوی آنزیم‌های گیاهی است به کووت اضافه گردید. منحنی تغییرات جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Analytik JENA, SPECIRD210) در مدت ۶۰ ثانیه با فواصل زمانی در سه قرائت ثبت شده و در نهایت فعالیت آنزیم پراکسیداز برحسب میکرومول پراکسید هیدروژن تجزیه شده در میلی‌گرم پروتئین در دقیقه ارائه شد.

$$\text{Activity (u / ml)} = \Delta A_{290} \times 0.5 \times V_t \times df \times \epsilon l \times t \times V_s \quad [V]$$
 که ضریب مولکولی اجزای واکنش = ۰/۵، V_t حجم مخلوط واکنش، D_f فاکتور رقیق کننده (آب مقطر استریل)، V_s حجم عصاره‌ی آنزیمی، ϵ ضریب خاموشی ($8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)، t زمان (۶۰ ثانیه) و l طول مسیر عبور نور از مخلوط واکنش است.

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از روش بایر و فریدویچ (۵) سنجیده شد. طبق این روش، ۲۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار pH=۷/۸ را تهیه نموده، سپس ۰/۳۵ گرم ال-متیونین، ۰/۰۴ گرم NBT و ۷/۵ میکرولیتر تریتون ۱۰۰X را به آن اضافه کرده و جداگانه ۰/۰۱۱ گرم ریوفلاوین را در ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل نموده، سپس ۱ میلی‌لیتر از بافر فسفات پتاسیم، ۱۰ میکرولیتر ریوفلاوین و ۲۰ میکرولیتر از عصاره پروتئینی استخراج شده را با هم مخلوط و در میکروتیوب ریخته شدند. میکروتیوب‌ها در فاصله ۳۵ سانتی‌متری از لامپ فلورسنت ۱۵ وات به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند. در این آزمایش، یک نمونه شاهد مورد استفاده قرار گرفت که بدون عصاره آنزیمی بود. جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و در نهایت، میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز برحسب واحد در دقیقه به ازای میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد.

$$\text{SOD فعالیت} = \left[\left(\frac{A_{\max} - A_{560}}{A_{\max}} \right) \times 100 \right] / \text{protein} \quad [8]$$

که A_{\max} جذب در نمونه شاهد است.



شکل ۱. تغییرات محتوای نسبی آب برگ (A) و شاخص پایداری غشای سلولی (B) در برگ‌های گوجه‌فرنگی رقم Namib تیمار شده با اسیدسالیسیلیک (صفر، ۱ و ۲ میلی‌مولار) تحت تنش شوری (صفر و ۵۰ میلی‌مولار) داده‌ها بیانگر میانگین \pm خطای استاندارد (n=۳) است

جدول ۱. تغییرات کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل، کاروتنوئید، پرولین و کربوهیدرات محلول تحت اثر تیمار اسیدسالیسیلیک و تنش شوری

تیمار	کلروفیل a (mg/g FW)	کلروفیل b (mg/g FW)	کلروفیل کل (mg/g FW)	کاروتنوئید (mg/g FW)	پرولین (mg/g FW)	کربوهیدرات محلول کل (mg/g FW)
SA ۰ mM	۰/۶۲۶b	۰/۱۴۶a	۰/۷۷۳bc	۰/۲۳۵a	۰/۱۷۷d	۱۴/۵۷d
SA ۱ mM	۰/۷۱۹a	۰/۱۴۷a	۰/۸۶۶a	۰/۲۴۲ a	۰/۱۹۴cd	۲۰/۷۹c
SA ۲ mM	۰/۶۸۶a	۰/۱۲۳a	۰/۸۱۰ab	۰/۲۴۶ a	۰/۲۱۳c	۲۰/۸۹ c
SA ۰ mM	۰/۴۷۹d	۰/۱۱۸a	۰/۵۹۷e	۰/۱۷۷b	۰/۴۰۱b	۲۲/۹۸b
SA ۱ mM شوری	۰/۵۵۲c	۰/۱۴۳a	۰/۶۹۶cd	۰/۱۸۳ b	۰/۴۵۱a	۲۴/۷۷a
SA ۲ mM	۰/۵۲۸cd	۰/۱۱۸a	۰/۶۴۷de	۰/۱۸۰b	۰/۴۵۹ a	۲۵/۳۹a

میانگین‌های هر ستون که حداقل یک حرف مشترک دارند، اختلاف معنی‌داری در سطح ۰.۰۵ ندارند

آنتی‌اکسیدان و در نتیجه حذف انواع اکسیژن واکنشگر باعث افزایش پایداری غشا تحت تأثیر تنش شوری می‌شود. از طرف دیگر، اسیدسالیسیلیک با حفظ پتانسیل اسمزی، سبب افزایش پایداری غشا می‌شود (۳۰).

میزان کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید

هم شوری و هم SA بر میزان کلروفیل a، کلروفیل کل و کاروتنوئید به‌طور معنی‌داری تأثیرگذار بودند. بیشترین میزان کلروفیل a مربوط به تیمار ۱ و ۲ میلی‌مولار اسیدسالیسیلیک بدون تنش شوری بود و کمترین میزان در تیمار شاهد در شرایط تنش شوری مشاهده گردید (جدول ۱). بیشترین میزان

شد، به‌گونه‌ای که بیشترین پایداری غشا (۶۸/۶۶ درصد) در غلظت ۲ میلی‌مولار اسیدسالیسیلیک در شرایط غیر تنش مشاهده شد (شکل B-۱). در شرایط تنش شوری، تشکیل انواع اکسیژن واکنشگر افزایش می‌یابد که نتیجه آن افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و در نهایت کاهش پایداری غشا می‌باشد (۹). از طرف دیگر، تنش شوری باعث عدم تعادل مواد غذایی و در نتیجه کاهش جذب کلسیم می‌شود که نتیجه آن از دست رفتن یکپارچگی غشای سلولی و افزایش نشت الکترولیت‌ها می‌شود (۵۹). اثر تعدیل‌کننده اسیدسالیسیلیک در افزایش پایداری غشای سلولی یک اثر غیر مستقیم می‌باشد. به این صورت که اسیدسالیسیلیک با فعال‌سازی و تقویت آنزیم‌های

بیوشیمیایی گیاهان جهت بهبود تحمل به شوری، سنتز و تجمع مواد محلول سازگار، همانند پرولین، است. پرولین علاوه بر تنظیم اسمزی گیاه، در حفاظت از غشای پلاسمایی و حذف رادیکال‌های هیدروکسیل و اکسیژن فعال نیز نقش دارد و می‌تواند منبعی برای کربن و نیتروژن در گیاه باشد (۲۲). براساس یافته‌های هامادا (۱۸)، در تنش آبی، میزان پروتئین محلول و پرولین در ریشه‌ها و میزان پرولین و آمینواسیدهای دیگر در نواخه‌ها افزایش می‌یابد. SA باعث افزایش بیشتری در میزان پرولین تحت شرایط شوری شده است. به نظر می‌رسد که یکی از برآیندهای دیگر استفاده از SA در افزایش مقاومت به شوری گیاه، جدا از بیدار کردن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گوجه‌فرنگی، افزایش میزان پرولین به عنوان یک محافظ اسمزی باشد (۳۳).

کربوهیدرات‌های محلول کل

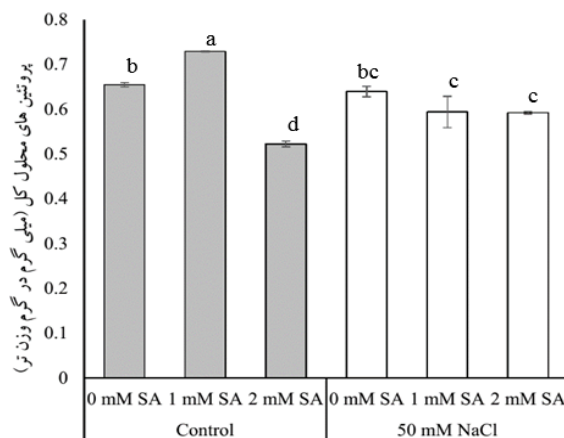
اثر متقابل تنش شوری و اسیدسالیسیلیک بر میزان کربوهیدرات‌های محلول کل معنی دار بود. نتایج آزمایش نشان داد که تنش شوری سبب افزایش مقدار کربوهیدرات‌های محلول کل می‌شود، به طوری که بیشترین میزان کربوهیدرات (۲۵/۳۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) در تیمار ۲ میلی‌مولار اسیدسالیسیلیک تحت تنش شوری و کمترین مقدار آن (۱۴/۵۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) در تیمار بدون شوری با غلظت ۲ میلی‌مولار اسیدسالیسیلیک مشاهده شد (جدول ۱). نقش قندها با افزایش تحمل به شوری در ارتباط است. تجمع کربوهیدرات‌ها علاوه بر تنظیم اسمزی، به ذخیره‌سازی کربن و مهار رادیکال‌های آزاد تحت تنش شوری و یا خشکی حفظ ساختار پروتئین‌ها و آنزیم‌ها کمک می‌کند (۳۴). قندهای محلول معمولاً در جوانه‌ها و ریشه گیاهان با افزایش شوری افزایش می‌یابد (۱۱). گزارش شده که در برگ‌های گوجه‌فرنگی مقدار قند محلول و ساکاریدهای کل به طور قابل توجهی در تیمار شوری افزایش یافته، اما مقدار نشاسته تغییر معنی‌داری نشان نداد (۱۵). گزارش‌هایی در مورد اثر اسیدسالیسیلیک در غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌مولار بر مقدار

کلروفیل کل مربوط به تیمار ۱ میلی‌مولار اسیدسالیسیلیک و کمترین میزان آن در تیمار شاهد تحت تنش شوری مشاهده شد (جدول ۱). در ارتباط با کاروتنوئید، فقط تیمار شوری تأثیرگذار بود و این تأثیر کاهش بود، به طوری که کمترین میزان کاروتنوئید در شرایط تنش شوری مشاهده شد (جدول ۱).

گزارش‌های متعددی از کاهش میزان فتوسنتز، محتوای کلروفیل و کاروتنوئید و ریزش و زرد شدن برگ‌های پیر تحت تنش شوری وجود دارد. این می‌تواند به علت کاهش بیوسنتز و یا افزایش تجزیه کلروفیل به دلیل فعالیت انواع اکسیژن واکشنر باشد (۲۸). برخی از محققان، تغییر در متابولیسم نیتروژن و سنتز ترکیباتی مانند پرولین، کاهش ضخامت تیغه‌های گرانوم و تخریب کلروپلاست‌ها را علت کاهش محتوای کلروفیل ذکر کردند (۲). مطالعات انجام شده توسط ژائو و همکاران (۶۱) نشان داد که مقدار رنگیزه‌ها در گیاهان تیمار شده با سالیسیلیک اسید افزایش می‌یابد. همچنین، مقدار کلروفیل و کاروتنوئیدها در برگ‌های ذرت افزایش می‌یابد (۵۴). خودداری (۳۲) در گیاهان ذرت تحت تنش شوری و تیمار شده با سالیسیلیک اسید نتایج مشابهی به دست آورد. اسیدسالیسیلیک به طور غیر مستقیم با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مثل پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز باعث تخفیف اثرهای مضر شوری بر میزان کلروفیل می‌شود (۴۶). از طرف دیگر، افزایش میزان سیتوکینین و کاهش فعالیت آنزیم آمینوکرپوکسیلات سنتتاز (ACC) در گیاهان تیمار شده به وسیله SA نیز می‌تواند یکی از دلایل حفظ و کاهش تجزیه رنگیزه‌های کلروفیل تحت شرایط شوری باشد (۳۳).

میزان پرولین آزاد

نتایج حاصل نشان داد که اسیدسالیسیلیک، چه در شرایط شوری و چه در شرایط غیر شور، باعث افزایش میزان پرولین آزاد در برگ شد. بیشترین مقدار پرولین (۰/۴۵۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) در تیمار ۲ میلی‌مولار اسیدسالیسیلیک تحت تنش شوری مشاهده گردید (جدول ۱). یکی از راهکارهای



شکل ۲. تأثیر اسیدسالیسیلیک بر محتوای پروتئین کل در گوجه‌فرنگی رقم Namib تحت تنش شوری

داده‌ها بیانگر میانگین \pm خطای استاندارد (n=۳) است

افزایش یا کاهش سطح پروتئین در مواجهه با تنش شوری وجود دارد. پروتئین‌های محلول و اسید آمینه‌های آزاد با افزایش NaCl در ریشه و جوانه گیاهان افزایش می‌یابند (۱۱). افزایش اسیدهای آمینه در بافت‌های گیاهی تحت تنش شوری ناشی از شکستن پروتئین‌هاست (۲۲). تنش شوری باعث کاهش پروتئین‌های خاص در ریشه و برگ جو و افزایش محتوی اسید آمینه در گندم شده است (۹ و ۴۸).

به نظر می‌رسد که افزایش میزان فعالیت پراکسیداز در جهت حذف گونه‌های اکسیژن فعال، یک سازوکار عمومی در جهت افزایش مقاومت گیاه در مقابل تنش شوری باشد و در این ارتباط اسیدسالیسیلیک با فعال‌تر کردن این آنزیم نقش مهمی در تعدیل بیشتر اثر شوری ایفا کرده است (۱ و ۴۴). افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز تحت تنش شوری نیز یکی از ارکان این سازوکار می‌باشد که افزایش هر دوی این آنزیم‌ها همراه با بهبود پایداری غشا می‌باشد (شکل B-۱). در نقطه مقابل، کاهش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز تحت تأثیر اسیدسالیسیلیک می‌تواند به دلیل محافظت غشاهای سلولی و جلوگیری از تخریب آن توسط انواع اکسیژن واکنشگر و در نتیجه کاهش نیاز به آنزیم‌هایی همانند سوپر اکسید دیسموتاز باشد (۱۶ و ۳۶).

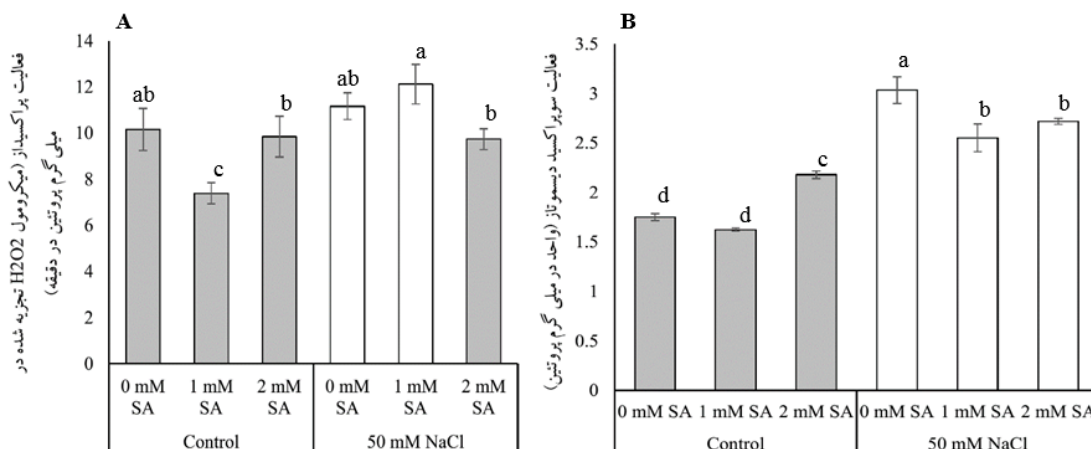
اسیدسالیسیلیک با افزایش دادن مقاومت گیاهچه‌ها به شوری از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌ها برای مقابله با تنش

کربوهیدرات و پروتئین گوجه‌فرنگی و گندم وجود دارد (۳۹). گزارش شده که در گوجه‌فرنگی (۳۱)، *Kochia prostrata* (۲۷) و نارنگی (۳۳) به دنبال تنش اکسیداتیو، مقدار تجمع قندها با تیمار هورمون اسیدسالیسیلیک افزایش می‌یابد.

میزان پروتئین‌های محلول کل و فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز

و سوپراکسید دیسموتاز

نتایج نشان داد که اثر تنش شوری و محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک بر میزان پروتئین، آنزیم پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز معنی‌دار بوده است. بیشترین میزان پروتئین مربوط به تیمار ۱ میلی‌مولار سالیسیلیک است (شکل ۲). در شرایط تنش شوری، تجمع پروتئین‌ها منبع ذخیره نیتروژن را برای گیاه فراهم می‌کند و نقش کلیدی در تنظیم اسمزی دارند. تعداد زیادی از پروتئین‌های سیتوپلاسمی باعث تغییرات در ویسکوزیته سیتوپلاسمی سلول تحریک شده توسط شوری می‌شوند. تحت تنش شوری، میزان پراکسیداز افزایش یافت و بیشترین مقدار آن در تیمار ۱ میلی‌مولار اسیدسالیسیلیک تحت تنش شوری مشاهده شد (شکل A-۳). تنش شوری سبب افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز شد و بیشترین میزان در تنش شوری مشاهده گردید (شکل B-۳). گزارش‌های زیادی در ارتباط با



شکل ۳. تغییرات مربوط به فعالیت پراکسیداز (A) و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (B) در گوجه‌فرنگی رقم Namib تیمار شده با

اسیدسالیسیلیک (صفر، ۱، ۲ میلی‌مولار) تحت تنش شوری (صفر و ۵۰ میلی‌مولار)

داده‌ها بیانگر میانگین \pm خطای استاندارد (n=۳) است

بر خصوصیات فیزیولوژیک گوجه‌فرنگی رقم Namib مؤثر بود. کاربرد اسیدسالیسیلیک منجر به بهبود پارامترهای فیزیولوژیک و افزایش مقاومت گیاه گوجه‌فرنگی در برابر تنش شوری گردید. اسیدسالیسیلیک با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه موجب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی گردید. در بیشتر صفات، اثر تعدیل‌کنندگی هر دو غلظت ۱ و ۲ میلی‌مولار اسیدسالیسیلیک یکسان بود. از طرف دیگر، میزان پروتئین محلول کل و فعالیت آسکوربات پراکسیداز در غلظت ۱ میلی‌مولار بیشتر بود. در حالی که بیشترین محتوای نسبی آب برگ و بیشترین پایداری غشا در غلظت ۲ میلی‌مولار به دست آمد.

عمل می‌کند. تأثیر سالیسیلیک اسید در تعدیل پاسخ گیاه و کاهش فعالیت آنزیم‌ها در محدوده وسیعی از تنش‌های اکسیداتیو گزارش شده است (۵۳). در ذرت نیز پیش‌تیمار بذر با سالیسیلیک اسید سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شده است (۲۴). نتایج نشان می‌دهد که سالیسیلیک اسید می‌تواند تا حدودی باعث برطرف شدن برخی اثرهای سمی و مخرب تنش شوری در گیاه گردد.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که تنش شوری و اسیدسالیسیلیک

منابع مورد استفاده

۱. پسندی پور، ا. ح. فرحبخش، م. صفاری و ب. کرامت، ۱۳۹۲. اثر اسیدسالیسیلیک بر برخی واکنش‌های فیزیولوژیک گیاه سنبله (*Trigonella graecum-foenum*) تحت تنش شوری. نشریه اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی ۷(۲): ۱-۱۱.
۲. ناظم بکایی، ز. و ح. فهیمی بررسی تأثیر متقابل شوری و هورمون‌های گیاهی (اکسین و جیبرلین) بر رویش بذر گیاه باقلا. پژوهش و سازندگی ۲۲: ۴۵-۵۰.
3. Bates, L.S., R.P. Waldren and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. J. Plant Soil 39: 205-207.
4. Bozcuk, B. 1981. Effects of kinetin and salinity on germination of tomato, barley and cotton seeds. Ann. Bot. 48:

- 81-84.
5. Beyer Jr., W.F. and I. Fridovich. 1987. Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions. *Anal. Biochem.* 161: 559-566.
 6. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
 7. Choudhury, S. and S.K. Panda. 2004. Role of salicylic acid in regulating cadmium induced oxidative stress in *Oryza sativa* L. roots. *Bulg. J. Plant Physiol.* 30: 95110.
 8. De Pascale, S., A. Maggio, A. Fogliano, P. Ambrosino and A. Ritieni. 2016. Irrigation with saline water improves carotenoids content and antioxidant activity of tomato. *J. Hort. Sci. Biotech.* 76: 447-453.
 9. El-Bassiouny, H.M. and M.A. Bakheta. 2005. Effect of salt stress on relative water content, lipid peroxidation, polyamines, amino acids and ethylene of two wheat cultivars. *Int. J. Agric. Biol.* 7: 363-365.
 10. El-Fouly, M.M., Z.M. Moubarak and Z.A. Salama. 2000. Micronutrient foliar application increases salt tolerance of tomato seedlings. *International Symposium on Techniques to Control Salination for Horticultural Productivity*, 573: 467-474.
 11. El-Tayeb, M.A. 2005. Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regul.* 45: 215-224.
 12. FAO. 2013. *Statistics for Perennial Crops and Fruits*. FAO Publication, Rome, Italy.
 13. Fariduddin, Q., S. Hayat and A. Ahmad. 2003. Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity and seed yield in *Brassica juncea*. *Photosynthetica* 41: 281284.
 14. Galmes, J., J. Flexas, R. Save H. Medrano. 2007. Water relations and stomatal characteristics of Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits: Responses to water stress and recovery. *J. Plant Soil* 290: 139-155.
 15. Gao, Z.F., M. Sag and S.H. Lips. 1998. Carbohydrate metabolism in leaves and assimilate partitioning in fruits of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) as affected by salinity. *Plant Sci.* 135: 149-159.
 16. Giannopolitis, C. and S.K. Ries. 1997. Superoxide desmutase. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol.* 59: 309-314.
 17. Ghanem, M.E., A. Albacete, C. Martinez-Andujar, M. Acosta, M. Romero-Aranda, I.C. Dodd, S. Lutts and F. Perez-Alfocea. 2008. Hormonal changes during salinity-induced leaf senescence in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Exp. Bot.* 59: 3039-3050.
 18. Hayat, S. and A. Ahmad. 2007. *Salicylic Acid: A Plant Hormone*. Springer Verlag, Heidelberg, Germany, 401 p.
 19. Hemeda, H.M. and B.P. Kelin. 1990. Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetables extracts. *J. Food Sci.* 55: 184-185.
 20. He, Y., Y. Liu, W. Cao, M. Huai, B. Xu and B. Huang. 2005. Effect of salicylic acid on heat tolerance associated with antioxidant metabolism in Kentucky Blue grass. *Crop Sci.* 45: 988-995.
 21. He, Y. and Z.J. Zhu. 2008. Exogenous salicylic acid alleviates NaCl toxicity and increases antioxidative enzyme activity in *Lycopersicon esculentum*. *Biol. Plant.* 52: 792-795.
 22. Hossein, M.M., L.K. Balbaa and M.S. Gaballah. 2007. Salicylic acid and salinity effects on growth of maize plants. *Res. J. Agric. Biol. Sci.* 3: 321-328.
 23. Irigoyen, J.J., D.W. Einerich and M. Sanchez-Diaz. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiol. Plant.* 84: 55-60.
 24. Janda, T., G. Szalai, I. Tari and E. Paldi. 1999. Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants. *Planta* 208: 175-180.
 25. Janda, T., E. Horvath, G. Szalai and E. Pald. 2007. Role of salicylic acid in the induction of abiotic stress tolerance. *In: Hayat. S. and A. Ahmad (Eds.), Salicylic Acid: A Plant Hormone*. Springer, The Netherlands.
 26. Karimi, G., M. Ghorbanli, H. Heidari, R.A. Khavarinejad and M.H. Assareh. 2005. The effects of NaCl on growth, water relations, osmolytes and ion content in *Kochia prostrata*. *Biol. Plant.* 49: 301-304.
 27. Kaya, C.H., H. Krinak, D. Higgs and K. Satali. 2002. Supplementary calcium enhances plant growth and fruit yield in strawberry cultivars grown at high NaCl salinity. *Sci. Hort.* 93: 65-74.
 28. Khan, W., B. Prithviraj and D. Smith. 2003. Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. *J. Plant Physiol.* 160: 485-492.
 29. Khan, N.A., S. Syeed, A. Masood, R. Nazar and N. Iqbal. 2010. Application of salicylic acid increases contents of nutrients and antioxidative metabolism in mungbean and alleviates adverse effects of salinity stress. *Int. J. Plant Biol.* 1: 1-8.
 30. Khavarinejad, R.A. and N. Ghafarzadeh. 1998. The effects of NaCl and CaCl₂ on photosynthesis and growth of alfalfa plants. *Photosynthetica* 35: 461-466.
 31. Khodary, S.E.A. 2004. Effect of salicylic acid on growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed maize plants. *Int. J. Agric. Biol.* 6: 5-8.

32. Khoshbakht, D. and M.R. Asgharei. 2015. Influence of foliar-applied salicylic acid on growth, gas-exchange characteristics, and chlorophyll fluorescence in citrus under saline conditions. *Photosynthetica* 53: 410.
33. Koch, K. 1996. Carbohydrate-modulated gene expression in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 47: 509-540.
34. Larque-Saavedra, A. 1979. Stomatal closure in response to acetal salicylic acid treatment. *Z. Pflanzenphysiol* 93: 371-375.
35. Lenucci, M.S., M. Durante, M. Anna, G. Dalessandro and G. Piro. 2013. Possible use of the carbohydrates present in tomato pomace and in byproducts of the supercritical carbon dioxide lycopene extraction process as biomass for bioethanol production. *J. Agric. Food Chem.* 61: 3683-3692.
36. Lichtenthaler, H.K. and C. Buschmann. 2001. Extraction of photosynthetic tissues: Chlorophylls and carotenoids. *Curr. Protocols Food Anal. Chem.* 22: 45-49
37. Mishra, N.P., R.K. Mishra and G.S. Singhal. 1995. Changes in the activities of anti-oxidant enzymes during exposure of intact wheat leaves to strong visual light at different temperatures in the presence of protein synthesis inhibitors. *Plant Physiol.* 102: 903-910.
38. Mohammad, M., R. Shibli, M. Ajouni and L. Nimvi. 1998. Tomato root and shoot responses to salt stress under different level of phosphorus nutrition. *J. Plant Nutr.* 21: 1667-1680.
39. Neumann, P.M. 1997. Salinity resistance and plant growth revisited. *Plant Cell Environ.* 20: 1193-1198.
40. Papadopoulos, I. and V.V. Rendig. 1983. Interactive effects of salinity and nitrogen on growth and yield of tomato plants. *Plant Soil* 73: 47-57.
41. Perez-Alfocea, E., M.E. Balibrea A. Santa Cruz and M.T. Estafi. 1996. Agronomical and physiological characterization of salinity tolerance in a commercial tomato hybrid. *Plant Soil* 180: 251-257.
42. Perez-Alfocea, F., M.E. Estan, A. Santa-Cruz and M.C. Bolarin. 1993. Effects of salinity on nitrate, total nitrogen, soluble protein and free amino acid levels in tomato plants. *J. Hort. Sci. Biotech.* 68: 1021-1027.
43. Plaut, Z., A. Grava, C. Yehezkel and E. Matan. 2004. How do salinity and water stress affect transport of water, assimilates and ions to tomato fruits?. *Physiol. Plant.* 122: 429-442.
44. Putra, A.P. and H. Yuliando. 2015. Soilless culture system to support water use efficiency and product quality: A review. *Agric. Agric. Sci. Proced.* 3: 283-288.
45. Sahu, G.K. 2013. Salicylic acid: Role in plant physiology and stress tolerance. PP 217-259. *In: Rout, G.R. and A.B. Das (Eds.), Molecular Stress Physiology of Plants, Springer Verlag, Heidelberg, Germany.*
46. Sairam, R.K., K.V. Rao and G.C. Srivastava. 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Sci.* 163: 1037-1046.
47. Sakhubudinova, A.R., D.R. Fatkhudinova, M.V.R. Bezrukova and F.M. Shakirova. 2003. Salicylic acid prevents the damaging action of stress factors on wheat plants. *Bulg. J. Plant Physiol.* 5: 314-319.
48. Schonfeld, M.P., J.C. Richard, B.P. Carver and N.W. Mornhi. 1998. Water relation in winter wheat as drought resistant indicators. *Crop Sci.* 28: 526-531.
49. Senaratna, T., D. Touchell, E. Bunn and K. Dixon. 2000. Acetyl salicylic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Plant Growth Regul.* 30: 157-161.
50. Shirasu, K., H. Nakajima, K. Rajashekar, R.A. Dixon and C. Lamb. 1997. Salicylic acid potentiates an agonist-dependent gain control that amplifies pathogen signal in the activation of defense mechanisms. *Plant Cell.* 9: 261-270.
51. Signore, A., F. Serio and P. Santamaria. 2016. A targeted management of the nutrient solution in a soilless tomato crop according to plant needs. *Front. Plant Sci.* 7: 391.
52. Singh, B. and K. Usha. 2003. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. *Plant Growth Regul.* 39: 137-141.
53. Sinha, S.K., H.S. Srivastava and R.D. Tripathi. 1993. Influence of some growth regulators and cations on inhibition of chlorophyll biosynthesis by lead in maize. *Bull. Environ. Cont. Toxicol.* 51: 241-246.
54. Stevens, J., T. Senaratna and K. Sivasithamparam. 2006. Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): Associated changes in gas exchange, water relations and membrane stabilisation. *Plant Growth Regul.* 49: 77-83.
55. Tari, I., J. Csiszar, G. Szalai, F. Horvath, A. Pecsaradi, G. Kiss, A. Szepesi, M. Szabo and L. Erdei. 2002. Acclimation of tomato plants to salinity stress after a salicylic acid pre-treatment. *Acta Biol. Szegediensis* 46: 55-56.
56. Tasgin, E., O. Atici and B. Nalbantoglu. 2003. Effect of salicylic acid and cold on freezing tolerance in wheat leaves. *Plant Growth Regul.* 41: 231-236.
57. Tüzel, Y., I.H. Tüzel and F. Üçer. 2003. Effects of salinity on tomato growing in substrate culture. *Acta Hort.* 609: 329-335.
58. Weisany, W., Y. Sohrabi, G. Heidari, A. Siosemardeh and K. Ghassemi-Golezani. 2012. Changes in antioxidant enzymes activity and plant performance by salinity stress and zinc application in soybean (*Glycine max* L.). *Plant Omics J.* 15: 60-67.

59. Yusuf, M., S.A. Hasan, S. Hayat, Q. Fariduddin and A. Ahmad. 2008. Effect of salicylic acid on salinity-induced changes in *Brassica juncea*. J. Integ. Plant. Biol., 50: 1096-1102.
60. Zhao, H.J., X.W. Lin, H.Z. Shi and S.M. Chang. 1995 The regulating effects of phenolic compounds on the physiological characteristics and yield of soybeans. Acta Agron. Sinica 21: 351-255.