

The Effect of Foliar Application of Salicylic Acid on Induced Salinity Tolerance in Hydroponic Culture of Shallot (*Allium hirtifolium* Boiss.)

N. Farhadi^{1*}, M. Abdeslahian¹, S. Mottagi¹

1- Greenhouse and Controlled Environments Research Center (GCER), Horticultural Science Research Institute (HSRI), AREEO, Karaj, Iran

(*- Corresponding author's Email: n.farhadi@areeo.ac.ir; nasrin.farhadi88@gmail.com)

Received: 09 February 2025

Revised: 24 March 2025

Accepted: 26 May 2025

Available Online: 26 May 2025

How to cite this article:

Farhadi, N., Abdeslahian, M., & Mottagi, S. (2026). The effect of foliar application of salicylic acid on induced salinity tolerance in hydroponic culture of shallot (*Allium hirtifolium* Boiss.). *Journal of Horticultural Science*, 40(2), 237-250. (In Persian). <https://doi.org/10.22067/jhs.2025.92108.1412>

Introduction

Currently, salinity stress is one of the most important challenges in the agriculture and is the main growth limiting factor of many plant species. Saline stress adversely affects the plant's physiological and biochemical process which leads to a considerable reduction of plant growth and yield. Shallot (*Allium hirtifolium* Boiss.) is a perennial plant from the Alliaceae family, which is one of the native and valuable plants of Iran and wildy grows in the slopes of the Zagros Mountain range. The nutritional and medicinal value of shallots is due to the presence of sulfur compounds, especially allicin in the bulbs.

Materials and Methods

The present study was conducted to investigate the effect of foliar application of salicylic acid on the changes in growth, physiological and biochemical traits of shallot under different levels of salinity stress in a factorial design based on a completely randomized design with three replications. The investigated treatments were four levels of salinity (0, 30, 60 and 90 mM NaCl) and four levels of salicylic acid (0, 1, 1.5 and 2 mM). Distilled water (control) and salicylic acid (1, 1.5 and 2 mM) were foliar sprayed on the whole plants at 4, 6 and 8 weeks after sowing date. At the end of the growing season (beginning of yellowing of the leaves of the plants), growth, physiological and biochemical traits were evaluated. Evaluation of lipid peroxidation, osmolality compounds and activity of antioxidant enzymes was carried out in the leaves of treated plants and the amount of pyruvate and allicin was measured in harvested shallot bulbs.

Results and Discussion

Various abiotic stresses restrict plant productivity, and many efforts have been made to reduce plant growth inhibition by alleviating the disorder's effects of these stresses. Exogenous application of plant growth regulators has been reported as an economic procedure to improve plant resistance to environmental stresses. It has been previously reported that salicylic acid as a signaling molecule alleviated the adverse effects of different stress conditions. In this experiment, shallot resistance to saline conditions was enhanced by the foliar spray of salicylic acid. The results showed a significant link between salicylic acid treatment and improvement of bulb biomass under saline conditions. Lipid peroxidation regards to accumulation of malondialdehyde and hydrogen peroxide increased with increasing salinity intensity. Also, saline stress significantly enhanced the proline and glycine betaine content in stressed plants of shallot. The plant antioxidant activity induced under stress conditions increased the total phenol content as well as the activity of catalase, peroxidase, ascorbate peroxidase and superoxide dismutase enzymes. The pyruvate and allicin content of the shallot bulb increased with



Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

<https://doi.org/10.22067/jhs.2025.92108.1412>

increasing salinity stress. The decreased in the photosynthetic pigments (total chlorophyll and carotenoids) led to a decrease in plant growth with the intensification of stress level. So that the lowest leaf area, fresh and dry weight of bulbs were obtained in severely salinity-stressed plants (90 mM NaCl). Foliar application of salicylic acid increased the antioxidant compounds (total phenol, pyruvate and allicin) and the activity of antioxidant enzymes (CAT, POX, APX and SOD) limited the accumulation of hydrogen peroxide and lipid peroxidation. The accumulated osmolyte compounds proline and glycine betaine were decreased in treated plant with salicylic acid. The treatment of salicylic acid considerably improved the chlorophyll and carotenoid content especially in salinity-stressed plants. Thus the application of salicylic acid, especially at a concentration of 2 mM, reduced the harmful effects of salinity stress on plant growth and bulb yield by increasing the photosynthetic pigments and consequently photosynthetic efficiency. Also increased growth in the treated plants with salicylic acid has been attributed to changes in the concentration of plant hormones, especially auxins and cytokinin's (the most important plant growth-stimulating hormones). Nevertheless, the growth reactions of treated plants to salicylic acid are different depending on the used concentration, the plant species and the growth stage at the treatment time.

Conclusion

In several studies, the effects of salicylic acid on plant growth enhancement under unfavorable environmental condition attributed to salicylic acid-induced changes in plant biochemical and physiological processes. Based on the obtained results, the salinity resistance of the shallot plant in response to salicylic acid is related to the increased antioxidant capacity of the stressed plants, which leads to the improvement of the photosynthetic pigments, and consequently plant growth and bulb biomass under saline condition. Although the present study was performed in the glass greenhouse, the obtained findings showed that salicylic acid application could also be a promising treatment for improving salinity tolerance of *A. hirtifolium* under field conditions.

Keywords: *Allium hirtifolium*, Salinity, Osmolality compounds, Antioxidant capacity

مقاله پژوهشی

جلد ۴۰، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۵، ص. ۲۵۰-۲۳۷

اثر محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر افزایش مقاومت به شوری در کشت هیدروپونیک گیاه

موسیر (*Allium hirtifolium* Boiss.)نسرین فرهادی * - مژگان عبدشاهیان^۱ - سمانه متقی^۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۰۵

چکیده

شوری یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد در بسیاری از گونه‌های گیاهی می‌باشد، بنابراین استفاده از راهکارهایی جهت افزایش مقاومت گیاهان به شوری حائز اهمیت می‌باشد. پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر افزایش مقاومت به شوری گیاه موسیر (*Allium hirtifolium* Boiss.) در قالب طرح فاکتوریل برپایه طرح بلوک‌های تصادفی با سه تکرار در سال ۱۴۰۳-۱۴۰۲ انجام شد. تیمارهای مورد بررسی شامل تنش شوری در چهار سطح (صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و محلول پاشی با اسید سالیسیلیک در چهار سطح (صفر، ۱ و ۱/۵ و ۲ میلی‌مولار) می‌باشد. با افزایش سطح شوری، سطح برگ و رنگ‌ده‌های فتوسنتزی در گیاه موسیر به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، به‌طوری‌که کمترین وزن تر و خشک پیاز در گیاهان تحت تنش شدید شوری (۹۰ میلی‌مولار) ثبت گردید. تیمار شوری از زمان کشت پیازها اعمال شد و محلول پاشی اسید سالیسیلیک در چهار، شش و هشت هفته بعد از کاشت انجام گردید. مقدار ترکیبات اسمولیتی، فنل کل، آلپسین و پیروات و همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با افزایش شدت تنش افزایش معنی‌داری نشان دادند. براساس نتایج حاصل، محلول پاشی اسید سالیسیلیک در افزایش مقاومت به شوری گیاه موسیر مؤثر بود، به‌طوری‌که از طریق افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از نظر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (فنل کل، پیروات و آلپسین) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز)، منجر به محدود شدن قابل توجه تجمع پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدها در موسیر گردید. براساس نتایج حاصل، مقاومت به شوری گیاه موسیر در واکنش به محلول پاشی اسید سالیسیلیک با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه در ارتباط می‌باشد که منجر به بهبود میزان رنگ‌ده‌های فتوسنتزی و در نتیجه عملکرد پیاز موسیر در شرایط شوری شد.

واژه‌های کلیدی: موسیر، شوری، ترکیبات اسمولیتی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

مقدمه

شوری یکی از عوامل بسیار مهم در محدود نمودن توسعه کشاورزی در سراسر جهان می‌باشد که در حال حاضر کشت گونه‌های مختلف گیاهی را در بسیاری از مناطق کشورمان و جهان تحت تأثیر قرار داده است و تأمین نیاز غذایی میلیون‌ها انسان را با چالش بسیار جدی مواجه کرده است. ازاین‌رو بررسی راهکارهای افزایش تحمل به شوری و به‌دنبال آن کم‌آبی در گیاهان زراعی بسیار با اهمیت می‌باشد (Saeidi et al., 2023). با توجه به اینکه رشد گیاه نتیجه توسعه

یکپارچه سلول‌های جوان است که به‌وسیله تقسیم مداوم مرستمی ایجاد می‌شود، شوری می‌تواند تقسیم و توسعه سلولی را در بافت‌های در حال رشد ریشه‌ها، ساقه‌ها و برگ‌ها محدود کند که همراه با کاهش رشد گیاه می‌باشد (Hosseini et al., 2021). تنش شوری سبب بروز تغییرات ریخت‌شناختی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متعددی در گیاه می‌گردد (Negrao et al., 2017). باین‌وجود اثرات تنش شوری روی گیاهان مختلف با توجه به شرایط آب‌وهوایی، نوع گیاه و رقم، مرحله رشدی گیاه و سطح تغذیه‌ای آن متغیر است (Solouki et al., 2023). تنش شوری از طریق اختلال در تعادل یونی، کاهش آماس سلولی، بسته شدن روزنه‌ها و کاهش جذب دی‌اکسید کربن و در نهایت کاهش راندمان فتوسنتز، تولید ماده خشک در گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Desire & Arslan, 2021). به‌طورکلی، در شرایط شوری فشار اسمزی محیط اطراف

۱- پژوهشکده گلخانه و محیط‌های کنترل‌شده، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
(*)- نویسنده مسئول: Email: n.farhadi@areeo.ac.ir; nasrin.farhadi88@gmail.com
<https://doi.org/10.22067/jhs.2025.92108.1412>

عملکرد پیاز و برخی تغییرات آنتی اکسیدانی و مواد مؤثره گیاه موسیر در واکنش به اعمال تنش شوری انجام گردید.

مواد و روش‌ها

محل اجرای آزمایش

پژوهش حاضر در سال ۱۴۰۳-۱۴۰۲ به صورت فاکتوریل با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. پیازهای موسیر اکوتیپ زنجان از رویشگاه‌های طبیعی این گیاه در شهر زنجان (عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۳۵ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۴۷ درجه و ۱۵ دقیقه شرقی) تهیه گردید. پس از ضد فونی با قارچ کش کاپتان به غلظت دو در هزار، برای رفع خواب پیازها و تحریک جوانه‌زنی به مدت دو ماه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. با اندازه‌گیری وزن پیازها، تعداد کافی پیاز یکنواخت و یکدست انتخاب و به گلخانه منتقل گردید. تیمارهای مورد آزمایش شامل چهار سطح شوری (صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و چهار سطح محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک (صفر، ۱ و ۱/۵ و ۲ میلی‌مولار) بود. تیمار شوری از زمان کشت پیازها اعمال شد و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در چهار، شش و هشت هفته بعد از کاشت انجام شد. تیمارهای ۳۰، ۷۰ و ۹۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به ترتیب به عنوان تنش ملایم، متوسط و شدید در نظر گرفته شد.

اعمال تیمارها

برای اعمال تیمارها، ۵۲ گلدان پلاستیکی با قطر دهانه و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر مورد استفاده قرار گرفتند که با یک کیلوگرم پرلیت دانه متوسط و کوکوپیت با نسبت سه به یک پر گردید. ۴۸ گلدان مربوط به تیمارهای مورد نظر بود و چهار گلدان نیز برای تعیین زمان آبیاری و نگهداری پتانسیل آب بستر کشت در محدوده ظرفیت زراعی (FC) در سطوح مختلف شوری در نظر گرفته شده بودند. پیازهای موسیر در عمق ۱۰ سانتی‌متری از سطح بستر کاشته شدند. سپس گلدان‌های شاهد با آب شهری (۵۶/۰ دسی‌زیمنس بر متر) و سایر گلدان‌ها با محلول سدیم کلرید مورد نظر تا رسیدن به ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای آبیاری گردید. به منظور تعیین دقیق زمان آبیاری، چهار گلدان کشت نشده نیز با آب شهری و محلول‌های نمک مورد بررسی در حد ظرفیت زراعی آبیاری و سپس توزین شدند. برای تأمین نیاز غذایی گیاهچه‌های موسیر از محلول غذایی هوگلند با هدایت الکتریکی ۱/۶ دسی‌زیمنس بر متر استفاده گردید. در طول دوره رشد با توزین مکرر گلدان‌های کشت نشده، کمبود آب از حد ظرفیت زراعی با محلول غذایی هوگلند جبران می‌شد. برای جلوگیری از افزایش میزان شوری واحدهای آزمایشی بر اثر محلول غذایی هوگلند، گلدان‌ها هر ۲۰ روز یک بار با آب شهری شسته شده و مجدداً

ریشه نسبت به سلول‌های ریشه گیاه افزایش می‌یابد و با افزایش مدت زمان قرارگیری گیاهان در شرایط تنش و افزایش شدت آن، پایداری و تراوایی غشاهای سلولی را تحت تأثیر قرار داده و منجر به تجمع نمک در ساقه و عدم توانایی گیاه در تحمل یون‌های تجمع‌یافته می‌شود (Kumar et al., 2022). گیاهان مختلف در مواجهه با تنش واکنش‌های متفاوتی از خود نشان می‌دهند و به دو صورت اجتناب و تحمل می‌توانند در برابر تنش اسمزی ناشی از شوری مقاومت کنند (Shams & Khadivi, 2023; Zhao et al., 2021). بسیاری از گونه‌های گیاهی با فعال کردن سیستم دفاعی خود شامل ظرفیت آنتی اکسیدانی (ترکیبات و آنزیم‌های آنتی اکسیدان) (Skrypnik et al., 2022; Kumar et al., 2022) و تجمع ترکیبات آلی مانند پرولین و گلاسیسین بتائین (Singh et al., 2022; Shams & Khadivi, 2023) در سلول‌های خود به تنش اسمزی واکنش نشان می‌دهند. استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی راهکار مناسبی برای غلبه بر بی‌نظمی‌های فیزیولوژیکی ایجادشده در گیاهان تحت تنش شوری می‌باشد. اسید سالیسیلیک یکی از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی است که در برخی از فرآیندهای فیزیولوژیکی و نمو مانند جوانه‌زنی دانه، تقسیم سلولی، افزایش میزان کلروفیل، تنفس، واکنش به تنش‌های زیستی و غیرزیستی و متابولیسم رادیکال‌های آزاد اکسیژن نقش دارد (Shanshan et al., 2023). در بسیاری از گونه‌های گیاهی تیمار با اسید سالیسیلیک از طریق تغییر واکنش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی موجب افزایش مقاومت به تنش شوری شده است (Tavasolee et al., 2024; Shirzadi & Bideshki, 2018; Yousefvand et al., 2025).

موسیر با نام علمی *Allium hirtifolium* Boiss. چندساله از خانواده Alliaceae است که از جمله گیاهان بومی و با ارزش ایران می‌باشد و به صورت وحشی در مراتع و دامنه رشته کوه زاگرس می‌روید (Panahandeh et al., 2016). ارزش غذایی و دارویی موسیر به دلیل وجود ترکیبات گوگردی به ویژه آلیسین در پیاز موسیر می‌باشد. در حال حاضر، به دلیل بهره‌برداری‌های بی‌رویه و برداشت نادرست در بسیاری از مراتع، تراکم گیاه موسیر در واحد سطح به شدت پایین آمده است و از گونه‌های در خطر انقراض به شمار می‌رود (Farhadi & Alizadeh Salteh, 2017). از این رو، انجام تحقیقاتی در راستای بررسی واکنش این گیاه به شرایط محیطی مختلف در راستای حفظ و گسترش کشت آن اهمیت فراوانی دارد. با توجه به بررسی‌های انجام‌شده، شناخت واکنش گیاه موسیر به شرایط مختلف محیطی نیازمند مطالعات و تحقیقات بیشتری است. بر همین اساس، این پژوهش با هدف ارزیابی اثرات اسید سالیسیلیک بر

گلایسین بتائین نمونه‌های مورد مطالعه برحسب میکروگرم در گرم وزن خشک برگ استفاده شد (Grieve & Grattan, 1983).

فنل کل

مقدار فنل کل در نمونه‌های برگ گیاه موسیر با استفاده از معرف فولین-سیوکالتو (Singleton & Rossi, 1965) در عصاره متانولی تهیه‌شده با متانول ۸۵ درصد اندازه‌گیری شد. ۱۰۰ میکرولیتر محلول روشناور حاصل از عصاره استخراج‌شده با آب مقطر رقیق شده و سپس معرف فولین-سیوکالتو به مخلوط واکنش اضافه گردید. پس از چهار دقیقه تاریکی، سدیم کربنات ۷/۵ درصد به محلول فوق افزوده شد و پس از ۳۰ دقیقه، جذب در ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. مقدار فنل کل برحسب میلی‌گرم اسید گالیک در هر گرم وزن تازه براساس منحنی استاندارد اسید گالیک اندازه‌گیری گردید.

آلیسین

مقدار آلیسین در پیازهای موسیر براساس روش اسپکتروفتومتری با استفاده از ترکیب ۴-مرکاپتوپیریدین و کاهش جذب در طول موج ۳۲۴ نانومتر اندازه‌گیری شد و براساس میلی‌گرم در گرم وزن تر پیاز گزارش گردید (Miron et al., 2002).

پیرووات

مقدار پیرووات به‌عنوان شاخصی از تندی پیازهای موسیر با استفاده از ترکیب دی نیترو فیل هیدرازین (DNPH) اندازه‌گیری شد (Anthon & Barrett, 2003). ابتدا داخل فالكون ۱۰۲۰ میکرولیتر آب مقطر و ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول دی نیترو فیل هیدرازین (۰/۱۲۵ گرم در یک لیتر اسید کلریدریک دو مولار) ریخته شد. سپس عصاره وزن مشخصی از پیاز موسیر را گرفته و ۲۰ میکرولیتر از آن داخل فالكون اضافه گردید. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از این مدت، به هر یک از نمونه‌ها پنج میلی‌لیتر سود ۰/۶ مولار اضافه گردید. پس از مشاهده تغییر رنگ، میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۲۰ نانومتر قرائت و مقدار پیرووات بر حسب میکرومول در هر گرم وزن تازه پیاز محاسبه شد.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (کاتالاز، پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز)، ۰/۵ گرم برگ تازه در ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (با pH برابر ۶/۸) در دمای چهار درجه سانتی‌گراد استخراج شد. عصاره حاصل به مدت ۲۰ دقیقه

تیمارهای شوری اعمال می‌گردید. در طول آزمایش از نور طبیعی در دوره رشد گیاهان استفاده گردید و دمای گلخانه در محدوده ۲۰-۳۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی بین ۷۰-۸۰ درصد متغیر بود. در انتهای فصل رشد (شروع زرد شدن برگ‌های بوته‌ها)، صفات رشدی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مورد ارزیابی قرار گرفت. ارزیابی پراکسیداسیون لیپیدی، ترکیبات اسمولیتی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در برگ گیاهان تیمار شده انجام شد و مقدار پیرووات و آلیسین در پیازهای برداشت‌شده موسیر اندازه‌گیری گردید.

صفات مورد ارزیابی

صفات رشدی

در گیاهان تیمار شده ارتفاع گیاه، سطح برگ، وزن تر و خشک پیاز اندازه‌گیری شد. پس از برداشت پیازها، وزن تر آن‌ها تعیین و سپس به مدت ۴۸ ساعت در داخل آون با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید و دوباره توزین شدند (Hossaini, 1994).

صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

ترکیبات اسمولیتی

برای اندازه‌گیری مقدار پرولین در برگ گیاه موسیر، از روش بیتس و همکاران (Bates et al., 1973) با استفاده از معرف نین‌هیدرین استفاده شد. استخراج عصاره گیاهی در محلول آبی سولفوسالسیلیک اسید سه درصد انجام و محلول روشناور حاصل از سانتریفیوژ با آب مقطر، معرف نین‌هیدرین و استیک‌اسید گلاسیال مخلوط شد. محلول حاصل یک ساعت در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس بلافاصله در داخل یخ سرد شده و به دمای اتاق رسید. به محلول حاصل دو میلی‌لیتر تولوئن افزوده شد که در این حالت دو فاز تشکیل شده و پرولین وارد فاز فوقانی رنگی (فاز تولوئن) گردید. هم‌زمان محلول‌های استاندارد پرولین (صفر تا پنج میکرومولار) تهیه شد. فاز فوقانی نمونه‌های گیاهی و محلول‌های استاندارد جدا شده و جذب آن‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید. مقدار پرولین هر نمونه با استفاده از منحنی‌های استاندارد تهیه‌شده محاسبه و به‌صورت میکروگرم در گرم وزن تر برگ گزارش گردید.

برای اندازه‌گیری گلایسین بتائین، به ۰/۵ گرم برگ خشک‌شده، ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بر روی شیکر قرار داده شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره حاصل با یک میلی‌لیتر اسید سولفوریک دو نرمال مخلوط و در حمام آب یخ قرار گرفت و در نهایت ۰/۱ میلی‌لیتر از پتاسیم یدید و ید به مخلوط واکنش اضافه شد. مقدار جذب محلول حاصل در طول موج ۳۶۵ نانومتر قرائت گردید. از بتائین به‌عنوان استاندارد برای محاسبه مقدار

سانتریفیوژ و محلول رویی به عنوان عصاره آنزیمی برای اندازه گیری فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان استفاده گردید. اندازه گیری پروتئین محلول به منظور سنجش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان با استفاده از سرم آلبومین گاوی به عنوان استاندارد طبق روش بردفورد (Bradford, 1976) صورت گرفت.

کاتالاز: فعالیت آنزیم کاتالاز براساس میلی مول پراکسید هیدروژن تجزیه شده در طول موج ۲۴۰ نانومتر ارزیابی گردید. در این روش، آنزیم کاتالاز موجود در عصاره گیاهی با تجزیه پراکسید هیدروژن سبب کاهش جذب این ماده در طول موج مذکور شده و از تفاوت جذب در واحد زمان، فعالیت آنزیم اندازه گیری می شود. مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار، پراکسید هیدروژن ۱۰ میلی مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. میزان پراکسید هیدروژن تجزیه شده با در نظر گرفتن ضریب خاموشی (۳۹/۴ در میلی مول در سانتی متر) برحسب میلی مول پراکسید هیدروژن تجزیه شده در یک دقیقه (Unit) در میلی گرم پروتئین محاسبه گردید (Aebi, 1983).

پراکسیداز: فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از آزمون گایاکول و براساس میزان تولید تتراگایاکول سنجش شد. واکنش با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به محلول واکنش (بافر فسفات پتاسیم، پراکسید هیدروژن و محلول گایاکول) در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد آغاز گردید. تغییرات جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۹۰ ثانیه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر ثبت شد و فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی تتراگایاکول (۲۶/۶ در میلی مول در سانتی متر) برحسب میلی مول تتراگایاکول در دقیقه (Unit) در میلی گرم پروتئین محاسبه گردید (Chance & Maehly, 1955).

آسکوربات پراکسیداز: به منظور اندازه گیری فعالیت آسکوربات پراکسیداز از روش ناکانو و آسادا (Nakano & Asada, 1981) استفاده شد. سنجش فعالیت آنزیم با اضافه نمودن ۱۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۰۰ میلی مولار به مخلوط واکنش شامل ۶۸۰ میکرولیتر بافر پتاسیم فسفات ۱۰۰ میلی مولار، ۱۰۰ میکرولیتر اسید آسکوربیک ۱۰ میلی مولار، ۱۰۰ میکرولیتر EDTA ۱۰ میلی مولار و ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی انجام گردید. کاهش در جذب مخلوط واکنش در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت ۱۲۰ ثانیه ثبت شد. فعالیت ویژه آنزیم براساس میلی مول آسکوربات اکسید شده در هر میلی گرم پروتئین در یک دقیقه با استفاده از ضریب خاموشی ۲/۸ در میلی مول در سانتی متر گزارش گردید.

سوپراکسید دیسموتاز: اندازه گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز براساس میزان تولید رادیکال سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$) به وسیله فتولیز ریپوفلاوین در محیط واکنش می باشد، که

متعاقب آن نیترو بلو تترازولیوم را به ترکیب ارغوانی دی فورمازان احیاء می کند. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در عصاره با درصد ممانعت تشکیل رنگ به وسیله آنزیم در محلول واکنش تعریف می شود. محلول واکنش شامل عصاره آنزیمی، بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار، متیونین ۱۲ میلی مولار، نیترو بلو تترازولیوم ۷۵ میکرومولار و سدیم کربنات ۵۰ میلی مولار بود که برای آغاز واکنش، ۳۰ میکرولیتر ریپوفلاوین یک میکرومولار به محلول واکنش اضافه گردید. یک واحد فعالیت آنزیم به عنوان مقدار آنزیم لازم جهت القای ۵۰ درصد ممانعت احیای نیترو بلو تترازولیوم در ۵۶۰ نانومتر تعریف می شود که با نمونه های شاهد بدون عصاره آنزیمی مقایسه گردید. نتایج برحسب واحد (Unit) در میلی گرم پروتئین در یک دقیقه گزارش شد (Giannopolitis & Ries, 1977).

پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید

جهت استخراج پراکسید هیدروژن، نمونه های گیاهی با تری کلرواستیک استخراج و به مدت ده دقیقه سانتریفیوژ گردید و عصاره حاصل به محلول واکنش شامل ۰/۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی مولار (pH=7) و یک میلی لیتر پتاسیم یدید یک مولار اضافه شد. بعد از افزودن عصاره، نمونه ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شده، سپس مقدار پراکسید هیدروژن در ۳۹۰ نانومتر براساس میکرومول در گرم تر گزارش گردید (Velikova et al., 2000).

میزان پراکسیداسیون لیپیدی براساس مقدار مالون دی آلدئید تشکیل شده در محلول واکنش محاسبه گردید. برای استخراج عصاره گیاهی از محلول تری کلرواستیک اسید استفاده شد. عصاره حاصل بعد از سانتریفیوژ به محلول تری کلرواستیک اسید حاوی تیوباربیتوریک اسید به نسبت ۱ به ۳ در داخل لوله های آزمایش ریخته شد. محلول در ۹۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم قرار داده شد و سپس سرد گردید. شدت جذب نور محلول حاصل در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. جذب سایر رنگیزه های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر خوانده شد و از این مقدار کسر گردید. مقدار مالون دی آلدئید هر نمونه براساس نانومول در گرم وزن تر گزارش شد (Davey et al., 2005).

رنگیزه های فتوسنتزی

نمونه ها در استون ۸۰ درصد استخراج گردید و سپس به مدت ۲۴ ساعت در یخچال و شرایط تاریکی نگه داشته شدند. مراحل استخراج، به منظور جلوگیری از تخریب در دمای ۴ درجه سانتی گراد انجام گرفت. به وسیله اسپکتروفتومتر جذب کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در

طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۸ و ۶۶۴ نانومتر قرائت شد و مقدار هر یک از آن‌ها بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر گیاه گزارش گردید (Lichtenthaler, 1987).

تجزیه آماری

پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام شد. مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

اثر تیمار اسید سالیسیلیک بر میزان ترکیبات اسمولیتی گیاه موسیر تحت تنش شوری

در این پژوهش، میزان ترکیبات اسمولیتی اندازه‌گیری شده شامل پرولین و گلايسين بتائين در برگ‌های گیاه موسیر به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تنش شوری و تیمار اسید سالیسیلیک بود، همچنین اثرات متقابل این تیمارها بر مقدار این ترکیبات معنی‌دار بود. افزایش شدت تنش شوری، میزان پرولین و گلايسين بتائين را به‌ترتیب به‌میزان ۳۰/۶۸ و ۲۳/۶۰ درصد در مقایسه با شرایط بدون تنش افزایش داد.

کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک تأثیری بر تجمع پرولین و گلايسين بتائين در گیاهان بدون تنش نداشت. با این حال، تجمع این ترکیبات در برگ‌های گیاه موسیر تحت تنش شوری در واکنش به محلول پاشی اسید سالیسیلیک به‌میزان قابل توجهی کاهش داشت. محلول پاشی اسید سالیسیلیک به‌ویژه با غلظت دو میلی‌مولار اثر معنی‌داری در کاهش مقدار ترکیبات پرولین و گلايسين بتائين به‌ترتیب به‌میزان ۸/۲۶ و ۸/۰۶ درصد در برگ‌های گیاه موسیر تحت تنش شوری داشت (جدول ۱).

افزایش ترکیبات اسمولیتی از مهم‌ترین واکنش‌های دفاعی گونه‌های مختلف گیاهی در واکنش به تنش‌های مختلف زیستی و غیرزیستی می‌باشد (Zhao et al., 2021). گلايسين بتائين نقش مهمی در فعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، محافظت از فتوسیستم‌ها و غشای سلولی در شرایط تنش اکسیداتیو دارد و تجمع آن در ارقام مقام به تنش شوری زیاد است (Shams & Khadivi, 2023). افزایش پرولین نیز همانند گلايسين بتائين نقش مهمی در تسریع واکنش گیاهان به تنش دارد و منجر به کاهش اثرات منفی تنش شوری بر رشد گیاه می‌شود. پرولین از ساختار روبیسکو با غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن و تنظیم اسمزی محافظت می‌کند (Singh et al., 2022).

جدول ۱- اثر اسید سالیسیلیک بر میزان اسمولیت‌ها، فنل کل و پیرووات در گیاه موسیر تحت سطوح مختلف تنش شوری

Table 1- The effect of salicylic acid on the osmolytes, total phenol and pyroval content of *Allium hirtifolium* under different levels of salinity stress

اسید سالیسیلیک Salicylic acid (mM)	تنش شوری Salinity stress (mM NaCl)	پرولین Proline ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$)	گلايسين بتائين Glycine betaine ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{DW}$)	فنل کل Total phenol ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$)	پیرووات Pyroval ($\mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$)
0	0	0.352 k*	0.251 h	0.653 n	69.33 m
	30	0.378 h	0.273 f	0.673 k	73.43 l
	60	0.400 e	0.290 c	0.691 g	74.78 k
	90	0.460 a	0.310 a	0.711 e	75.98 g
1	0	0.351 k	0.247 i	0.662 m	69.39 m
	30	0.361 j	0.261 g	0.681 j	74.91 j
	60	0.390 f	0.281 e	0.701 f	75.90 h
	90	0.440 b	0.308 a	0.715 d	77.22 e
1.5	0	0.353 k	0.251 h	0.670 l	69.39 m
	30	0.359 j	0.260 g	0.689 h	76.37 f
	60	0.386 g	0.276 f	0.710 e	77.86 c
	90	0.436 c	0.299 b	0.720 c	77.98 b
2	0	0.353 k	0.250 hi	0.670 l	69.32 m
	30	0.360 j	0.258 g	0.684 i	75.27 i
	60	0.372 i	0.274 f	0.722 b	77.78 d
	90	0.422 d	0.285 d	0.739 a	79.42 a

* در هر صفت و گروه مقایسه‌شده، تیمارهای با حروف یکسان اختلاف معنی‌داری با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

* Values followed by the same letter in each trait have no significant difference based on DMRT test at the 5% of probability level.

(al., 2022) و موگوانیا و همکاران (Mugwanya et al., 2023) گزارش شده است. به نظر می‌رسد که تیمار اسید سالیسیلیک از طریق سازوکارهای دیگر موجب تعدیل اثرات تنش شوری شده که کاهش مقدار پرولین و گلايسين بتائين مؤید این مطلب می‌باشد. سنتز

در پژوهش حاضر، محلول پاشی اسید سالیسیلیک موجب کاهش مقدار هر دو ترکیب اسمولیتی مورد ارزیابی گردید. با این وجود، افزایش پرولین و گلايسين بتائين در گیاهان تیمار شده با اسید سالیسیلیک در شرایط تنش بیشتر توسط یوسف‌وند و همکاران (Yousefvand et

ترکیبات آنتی اکسیدانی از جمله ترکیبات مختلف فنلی موجب افزایش مقاومت گیاهان تحت تنش می گردد. افزایش مقدار ترکیبات فنلی در واکنش به محلول پاشی اسید سالیسیلیک به افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز نسبت داده می شود (Skrypnik et al., 2022). فنیل آلانین آمونیالیز، آنزیم اصلی در مسیر فنیل پروپانوییدی است که نقش کلیدی در متابولیسم فنل ها و بیوستز ترکیبات مختلف فنلی به ویژه فلاونوئیدها از فنیل آلانین دارد.

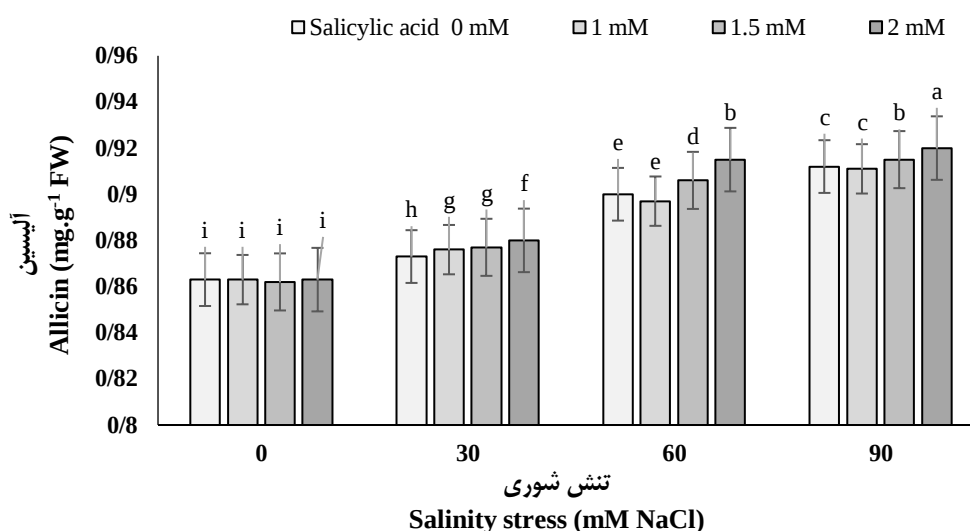
اثر تیمار اسید سالیسیلیک بر مقدار آلپسین و پیرووات

نتایج تجزیه واریانس بیانگر این است که تنش شوری، محلول پاشی اسید سالیسیلیک و اثرات متقابل آن ها برای مقدار آلپسین و پیرووات پیاز موسیر معنی دار بود. با افزایش تنش شوری، مقدار آلپسین (شکل ۱) و پیرووات (جدول ۱) پیاز موسیر به ترتیب به میزان ۵/۶۸ و ۹/۵۹ درصد افزایش یافت و بیشترین مقدار این ترکیبات در پیازهای رشد یافته تحت تنش شدید (۹۰ میلی مولار) اندازه گیری شد. محلول پاشی با غلظت های مختلف اسید سالیسیلیک به طور قابل توجهی مقدار آلپسین (شکل ۱) و پیرووات (جدول ۱) را در تمام سطوح شوری افزایش داد. اثر تیمار اسید سالیسیلیک بر تولید این ترکیبات با افزایش شدت تنش روند صعودی داشت، بنابراین بیشترین مقدار آلپسین (۰/۹۲ میلی گرم در گرم وزن تر پیاز) و پیرووات (۷۹/۴۲ میکرومولار در گرم وزن تر پیاز) در تیمار دو میلی مولار اسید سالیسیلیک تحت تنش شدید شوری حاصل شد (شکل ۱ و جدول ۱).

ترکیبات اسمولیتی برای گیاه هزینه بر بوده و در شرایط تنش گیاه برای حفظ حیات، بخشی از انرژی تولیدی را به جای رشد، صرف تولید ترکیباتی مانند پرولین و گلایسین بتائین می کند و تیمار اسید سالیسیلیک با تعدیل شرایط تنش مانع از صرف انرژی گیاه برای تولید ترکیبات اسمولیتی می شود (Yang et al, 2023).

اثر تیمار اسید سالیسیلیک بر میزان فنل کل گیاه موسیر تحت تنش شوری

مقدار فنل کل برگ های گیاه موسیر به طور معنی داری تحت تأثیر تنش شوری و اسید سالیسیلیک بود و اثر متقابل تنش و محلول پاشی نیز بر مقدار این ترکیبات معنی دار بود. با افزایش شدت تنش، مقدار فنل کل افزایش معنی داری داشت و بیشترین مقدار آن (۰/۷۱۱ میلی گرم در گرم وزن تر) تحت تنش شدید شوری ثبت گردید. محلول پاشی اسید سالیسیلیک اثر معنی داری بر مقدار فنل کل در گیاهان موسیر رشد یافته در شرایط بدون تنش و سطوح مختلف تنش شوری داشت و بیشترین افزایش در مقدار این ترکیبات در گیاهان تیمار شده با دو میلی مولار اسید سالیسیلیک حاصل شد (جدول ۱). ترکیبات فنلی به عنوان آنتی اکسیدان های قوی با حذف گونه های فعال اکسیژن، نقش مهمی در حفاظت از گیاهان در برابر تنش های اکسیداتیو دارند. فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنلی به خواص احیاکنندگی و قدرت حذف گونه های فعال اکسیژن نسبت داده می شود (Ali, 2021). براساس یافته های کومار و همکاران (Kumar et al., 2022)، تیمار اسید سالیسیلیک از طریق تحریک مسیر بیوستز



شکل ۱- اثر اسید سالیسیلیک بر مقدار آلپسین پیاز موسیر تحت سطوح مختلف تنش شوری

Figure 1- The effect salicylic acid on allicin content of *Allium hirtifolium* bulb under different levels of salinity stress (DMRT, $p \leq 0.05$)

شوری افزایش تدریجی نشان دادند که پاسخ معمول بسیاری از گونه-های گیاهی به تنش‌های مختلف محیطی است (Desire & Arslan, 2021; Alam et al., 2022). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدان در شرایط نامساعد محیطی می‌تواند در نتیجه افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن باشد که سازوکار محافظتی سلول‌های گیاهی را برای کاهش آسیب اکسیداتیو فعال می‌کند. بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه در شرایط نامساعد محیطی با سازوکارهای دفاعی گیاهان در ارتباط می‌باشد (Solouki et al., 2023). فعالیت‌های آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز در گیاه موسیر در واکنش به محلول پاشی اسید سالیسیلیک افزایش داشته است. در گونه‌های مختلف گیاهی محلول پاشی اسید سالیسیلیک با تحریک آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان منجر به تقویت سیستم‌های دفاعی شده و باعث افزایش مقاومت به تنش‌های مختلف محیطی شده است (Shanshan et al., 2023; Yang et al., 2023).

اثر تیمار اسید سالیسیلیک بر میزان پراکسیداسیون لیپیدها گیاه موسیر تحت تنش شوری

آسیب اکسیداتیو تنش شوری در گیاه موسیر با بررسی میزان افزایش ترکیبات پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید در برگ گیاهان تیمار شده ارزیابی شد. براساس نتایج آنالیز واریانس، اثرات تنش شوری و محلول پاشی و همچنین اثرات متقابل تیمارهای مورد بررسی بر میزان پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید معنی‌دار بود. افزایش سطح شوری باعث افزایش دو برابری میزان پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید نسبت به شرایط بدون تنش گردید. محلول پاشی با اسید سالیسیلیک اثر معنی‌داری در کاهش اثرات منفی تنش شوری از نظر تجمع پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید در برگ‌های گیاه موسیر در سطوح مختلف تنش شوری داشت (جدول ۳). تمام غلظت‌های اسید سالیسیلیک مورد استفاده در کاهش تجمع این ترکیبات در گیاهان تحت تنش شوری مؤثر بودند، با این وجود تیمار گیاهان با دو میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به ترتیب ۱۲/۴۵ و ۲۹/۰۶ درصد تجمع پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید را در گیاهان تحت تنش کاهش داد (جدول ۳). افزایش قابل توجه تجمع پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید به دلیل تنش شوری، نشان‌دهنده میزان آسیب شوری به غشای سلولی است که در گونه‌های مختلف گیاهی گزارش شده است (Solouki et al., 2023; Negrao et al., 2017).

در شرایط نامساعد محیطی، تخصیص منابع کربن برای متابولیسم ثانویه بیشتر از متابولیسم اولیه گیاه است که در این تغییرات به صورت کاهش زیست‌توده گیاهی و افزایش میزان متابولیت‌های ثانویه تظاهر پیدا می‌کند (Shanshan et al., 2023). پیرووات و آلپسین به عنوان ترکیبات گوگردی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکال‌های آزاد هستند، بنابراین افزایش تجمع این ترکیبات یک سازوکار دفاعی برای اطمینان از بقای گیاه در شرایط نامساعد محیطی است (Mugwanya et al., 2023; Ali, 2021). افزایش مقدار پیرووات و آلپسین در پیاز گونه‌های مختلف آلیوم‌ها در سطوح مختلف تنش در واکنش به تیمار اسید سالیسیلیک به افزایش فعالیت‌های آنزیم‌های درگیر در مسیر بیوسنتز این ترکیبات نسبت داده شده است (Yousefvand et al., 2022; Yousefvand, 2025). از طرف دیگر، تأثیر مثبت اسید سالیسیلیک بر تولید پیرووات و آلپسین ممکن است در ارتباط با بهبود سطح هورمون‌های درگیر در مسیرهای بیوسنتز ترکیبات گوگردی باشد (Shama et al., 2016).

اثر تیمار اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه موسیر تحت تنش شوری

نتایج تجزیه واریانس، اثر معنی‌دار تنش شوری، اسید سالیسیلیک و اثرات متقابل آن‌ها را بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مورد ارزیابی (کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز) را نشان می‌دهد. میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با افزایش شدت تنش، روند صعودی داشتند. تنش شدید شوری به ترتیب فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز را ۳/۲۳، ۷/۰۴، ۲۱/۵۳ و ۱۹/۶۱ درصد افزایش داد. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان رشد یافته در شرایط غیرتنش در واکنش به محلول پاشی اسید سالیسیلیک تغییرات قابل توجهی نداشت. با این وجود در تمام سطوح تنش (ملایم، متوسط و شدید)، فعالیت آنزیم‌ها در واکنش به محلول پاشی با غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک افزایش یافت. تحت تنش ملایم، اسید سالیسیلیک در غلظت ۱/۵ میلی‌مولار در افزایش فعالیت آنزیم‌های مورد ارزیابی مؤثرتر از سایر غلظت‌ها بود. با این وجود بیشترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان تحت تنش متوسط و شدید در تیمار دو میلی‌مولار اسید سالیسیلیک مشاهده گردید (جدول ۲). در پژوهش حاضر، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با افزایش شدت تنش

Table 2- The effect of salicylic acid on the antioxidant enzymes of *Allium hirtifolium* under different levels of salinity stress

اسید سالیسیلیک Salicylic acid (mM)	تنش شوری Salinity stress (mM NaCl)	کاتالاز CAT (U.mg ⁻¹ protein)	پراکسیداز POX (U.mg ⁻¹ protein)	آسکوربات پراکسیداز APX (U.mg ⁻¹ protein)	سوپراکسید دیسموتاز SOD (U.mg ⁻¹ protein)
0	0	0.465 i*	0.739 ij	60.48 k	66.19 p
	30	0.470 h	0.742 h	63.94 j	68.30 l
	60	0.473 gh	0.761 efg	69.04 f	70.89 j
	90	0.480 de	0.791 cd	73.50 e	79.17 d
1	0	0.466 i	0.739 ij	60.23 kl	67.34 n
	30	0.477 efg	0.759 fg	64.99 i	70.04 k
	60	0.475 fg	0.764 e	73.40 e	71.13 i
	90	0.482 d	0.795 c	74.67 d	80.45 c
1.5	0	0.465 i	0.741 ij	60.28 kl	67.73 m
	30	0.478 def	0.763 ef	67.20 g	73.11 g
	60	0.479 de	0.787 d	74.86 cd	76.54 f
	90	0.493 c	0.826 b	74.99 c	83.99 b
2	0	0.466 i	0.730 j	60.18 m	67.02 o
	30	0.477 efg	0.756 g	66.01 h	72.43 h
	60	0.497 b	0.792 c	75.32 b	77.46 e
	90	0.513 a	0.848 a	83.52 a	86.42 a

* در هر صفت و گروه مقایسه شده، تیمارهای با حروف یکسان اختلاف معنی داری با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

* Values followed by the same letter in each trait have no significant difference based on DMRT test at the 5% of probability level.

جدول ۳- اثر اسید سالیسیلیک بر میزان پراکسیداسیون لیپیدی و رنگی‌های فتوسنتزی گیاه موسیر تحت سطوح مختلف تنش شوری
Table 3- The effect of salicylic acid on the amount of lipid peroxidation and photosynthetic pigments of *Allium hirtifolium* under different levels of salinity stress

اسید سالیسیلیک Salicylic acid (mM)	تنش شوری Salinity stress (mM NaCl)	پراکسید هیدروژن Hydrogen peroxide (μM.g ⁻¹ FW)	مالون دی آلدئید Malondialdehyde (nM.g ⁻¹ FW)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg.g ⁻¹ FW)	کاروتنوئیدها Carotenoids (mg.g ⁻¹ FW)
0	0	9.20 l*	20.10 ij	4.49 d	0.240 c
	30	13.41 h	20.62 h	4.25 f	0.221 e
	60	16.78 d	35.03 e	3.90 j	0.201 i
	90	21.93 a	56.91 a	3.47 m	0.190 k
1	0	9.11 m	20.23 ij	4.67 b	0.254 b
	30	12.42 i	20.40 hi	4.47 d	0.239 c
	60	15.88 e	29.95 f	3.99 i	0.208 g
	90	20.66 b	49.44 b	3.57 l	0.193 j
1.5	0	8.18 n	19.92 j	4.73 a	0.263 a
	30	12.21 k	20.45 hi	4.44 de	0.240 c
	60	15.63 f	29.86 f	4.10 h	0.213 f
	90	20.66 b	46.87 c	3.69 k	0.204 h
2	0	8.19 n	20.10 ij	4.60 c	0.256 b
	30	12.27 j	20.40 hi	4.41 e	0.236 d
	60	14.82 g	28.04 g	4.15 g	0.221 e
	90	19.30 c	40.37 d	3.72 k	0.211 f

* در هر صفت و گروه مقایسه شده، تیمارهای با حروف یکسان اختلاف معنی داری با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

* Values followed by the same letter in each trait have no significant difference based on DMRT at the 5% of probability level.

با بهبود ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاه، غشای سلولی گیاهان را در برابر پراکسیداسیون لیپید حفظ می کند که به صورت کاهش در مقدار تجمع پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید ظاهر می یابد (Naeem et al., 2020). از طرف دیگر، طبق گزارش کوچ و همکاران (Koche et al., 2021) کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در واکنش به تیمار اسید

در پژوهش حاضر، کاهش مقدار پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدی در گیاهان تیمار شده با اسید سالیسیلیک در نتیجه افزایش سنتز ترکیبات آنتی اکسیدانی (فنل کل، پیروات و آلیسین) و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی (کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز) است. اسید سالیسیلیک

سالیسیلیک در ارتباط با کاهش انتقال و تجمع هورمون آبسزیک اسید در سلول های گیاهی تحت تنش می باشد.

اثر تیمار اسید سالیسیلیک بر رنگیزه های فتوسنتزی گیاه موسیر تحت تنش شوری

میانگین مربعات اثر شوری و اسید سالیسیلیک و همچنین اثر متقابل آن ها برای مقدار رنگیزه های فتوسنتزی (کلروفیل کل و کاروتنوئیدها) در برگ گیاه موسیر معنی دار بود. مقدار کلروفیل کل و کاروتنوئیدهای برگ ها با افزایش سطح شوری کاهش یافت و کمترین مقدار کلروفیل کل (۳/۴۷ میلی گرم در گرم وزن تر) و کاروتنوئیدها (۰/۱۹ میلی گرم در گرم وزن تر) در گیاهان رشد یافته تحت تنش شدید (۹۰ میلی مولار) ثبت شد. اگرچه تیمار اسید سالیسیلیک، مقدار کلروفیل کل و کاروتنوئیدها را در گیاهان بدون تنش و تحت تنش شوری بهبود بخشید، اما افزایش رنگیزه های فتوسنتزی در واکنش به تیمار محلول پاشی در گیاهان تحت تنش بیشتر بود. گیاهانی که با دو میلی مولار اسید سالیسیلیک تحت تنش شدید تیمار شدند، به ترتیب ۷/۲۰ و ۱۱/۰۵ درصد محتوای کلروفیل و کاروتنوئید بیشتری نسبت به گیاهان تیمار نشده داشتند (جدول ۳). کاهش مقدار کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در گیاهان تنش دیده به اکسیداسیون نوری رنگدانه ها و تجزیه کلروفیل در نتیجه تنش اکسیداتیو نسبت داده می شود (Desire & Arslan, 2021). آسیب فتوسیستم ها و تجزیه کلروفیل در نتیجه افزایش فعالیت کلروفیلاز در واکنش به تنش ناشی از شوری منجر به کاهش غلظت رنگیزه های فتوسنتزی می گردد (Negrao et al., 2017). تیمار اسید سالیسیلیک با بهبود سیستم دفاعی گیاه از طریق افزایش ترکیبات آنتی اکسیدانی (جدول ۱) و آنزیم های آنتی اکسیدانی (جدول ۲) از غشای سلولی تیلاکوئیدها در برابر پراکسیداسیون لیپیدها محافظت می کند (جدول ۳) و در نتیجه آسیب وارد شده به رنگدانه ها را کاهش می دهد (Alam et al., 2022).

اثر تیمار اسید سالیسیلیک بر رشد گیاه موسیر تحت تنش شوری

تیمارهای شوری و اسید سالیسیلیک و همچنین اثرات متقابل آن ها به طور معنی داری صفات رشدی مورد ارزیابی (سطح برگ، وزن تر و خشک پیاز) در گیاه موسیر را تحت تأثیر قرار دادند. تعداد پیازهای جدید تشکیل شده در موسیر تحت تأثیر تیمارهای مورد مطالعه قرار نگرفت و در همه تیمارها در هر گیاه تنها یک پیاز تشکیل شده بود. افزایش شوری منجر به کاهش قابل توجه سطح برگ گیاه

موسیر گردید. سطح برگ در گیاهان رشد یافته در شرایط تنش شدید شوری، ۳۳/۵۸ درصد کمتر از گیاهان رشد یافته در شرایط بدون تنش بود. اگرچه تأثیر محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر سطح برگ گیاهان بدون تنش معنی دار بود، اما اثر اسید سالیسیلیک به ویژه در غلظت دو میلی مولار در افزایش سطح برگ با افزایش شدت تنش بارزتر بود (جدول ۴). وزن تر و خشک پیاز موسیر با افزایش شدت شوری به طور معنی داری کاهش یافت، به طوری که کمترین وزن تر (۶۹/۸۳ گرم) و خشک (۱۸/۷۱ گرم) پیاز در گیاهان رشد یافته در شرایط ۹۰ میلی مولار حاصل شد. کاربرد اسید سالیسیلیک در بهبود زیست توده پیاز موسیر در هر دو شرایط غیرتنش و تنش شوری کارآمد بود و با افزایش شدت تنش، اثر تیمار محلول پاشی در بهبود وزن تر و خشک پیاز بارزتر گردید. محلول پاشی اسید سالیسیلیک توانست اثر منفی تنش را بر وزن تر و خشک پیاز موسیر را به ترتیب به میزان ۶/۴ و ۱۷/۵۳ درصد کاهش دهد (جدول ۴).

کاهش رشد موسیر تحت شوری ممکن است با کاهش فعالیت مریستم و افزایش طول سلول به دلیل تغییر در رابطه آب گیاه و فعال شدن برخی آنزیم های هیدرولیز دیواره سلولی همراه باشد که جذب آب و مواد مغذی در این شرایط کاهش می یابد (Hosseini et al., 2021). کاهش وزن تر و خشک پیاز موسیر در شرایط تنش شوری در ارتباط با کاهش سطح برگ و در نتیجه کاهش رنگیزه های فتوسنتزی است. در پژوهش حاضر، بهبود زیست توده پیاز موسیر در واکنش به محلول پاشی اسید سالیسیلیک به دلیل افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاهان تحت تنش بوده که منجر به کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و بهبود مقدار رنگیزه های فتوسنتزی می باشد. بهبود عملکرد گیاهان موسیر، سیر و پیاز در واکنش به تیمار اسید سالیسیلیک به ترتیب بیشتر توسط سعیدی و همکاران (Saeidi et al., 2023)، توسلی و همکاران (Tavasolee et al., 2024) و ساتیامورتی و همکاران (Sathiyamurthy et al., 2017) گزارش شده است. افزایش رشد در گیاهان تیمار شده با اسید سالیسیلیک به تغییرات در غلظت هورمون های گیاهی به ویژه اکسین ها و سیتوکینین ها (مهم ترین هورمون های محرک رشد گیاه) نسبت داده شده است (Shirzadi & Bideshki, 2018). باین وجود، واکنش های رشدی گیاهان به اسید سالیسیلیک بسته به غلظت استفاده شده، گونه گیاهی و مرحله رشد در زمان تیمار متفاوت می باشد (Shama et al., 2016).

Table 4- The mean comparison of the effect salicylic acid on growth traits of *Allium hirtifolium* under different levels of salinity stress

اسید سالیسیلیک Salicylic acid (mM)	تنش شوری Salinity stress (mM NaCl)	تعداد پیاز Bulb number (per plant)	سطح برگ Leaf area (cm ² . plant ⁻¹)	وزن تر پیاز موسیر Bulb fresh weight (g . plant ⁻¹)	وزن خشک پیاز موسیر Bulb dry weight (g . plant ⁻¹)
0	0	1	498.33 b*	90.25 cd	32.06 c
	30	1	449.00 d	89.92 d	29.20 d
	60	1	408.00 f	77.38 g	21.43 g
	90	1	331.00 i	69.83 i	18.71 h
1	0	1	503.33 b	94.02 ab	35.50 ab
	30	1	443.00 d	92.43 bc	31.25 c
	60	1	409.00 f	77.16 g	23.28 f
	90	1	335.33 i	70.53 i	19.91 gh
1.5	0	1	520.00 a	95.61 a	36.87 a
	30	1	454.66 d	94.20 ab	34.60 b
	60	1	426.66 e	79.66 f	24.99 ef
	90	1	348.66 h	73.43 h	21.24 g
2	0	1	515.66 a	93.36 ab	35.74 ab
	30	1	474.33 c	93.61 ab	34.20 b
	60	1	443.33 d	81.92 e	26.51 e
	90	1	383.00 g	75.16 gh	23.79 f

* در هر صفت و گروه مقایسه شده، تیمارهای با حروف یکسان اختلاف معنی داری با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

* Values followed by the same letter in each trait have no significant difference based on DMRT at the 5% of probability level.

نتیجه گیری

فیتوشیمیایی گیاه موسیر در شرایط تنش متوسط و شدید مشاهده شد. تقویت سیستم آنتی اکسیدانی از طریق افزایش فنل کل، ترکیبات گوگردی و فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانی در پاسخ به تیمار اسید سالیسیلیک باعث افزایش بهبود فعالیت فتوسنتزی و زیست توده پیاز گیاه موسیر در سطوح مختلف تنش شوری گردید. بنابراین در شرایط شوری، محلول پاشی گیاه موسیر با اسید سالیسیلیک در غلظت دو میلی مولار می تواند علاوه بر حفظ زیست توده پیاز موسیر تحت تنش منجر به افزایش مقدار آلبسین و در نتیجه بهبود خواص آنتی اکسیدانی پیاز تولید شده شود.

نتایج نشان داد که رشد و زیست توده پیاز موسیر تحت تأثیر تنش ملایم شوری (۳۰ میلی مولار) قرار نگیرد، ولی افزایش شدت تنش تأثیر منفی بر خصوصیات فیزیولوژیکی و رشد گیاه موسیر داشت و تنش در سطوح متوسط و شدید به طور قابل توجهی وزن تر و خشک پیاز موسیر را کاهش داد. نتایج نشان داد که محلول پاشی با اسید سالیسیلیک می تواند به عنوان یک ترکیب بیوشیمیایی کارآمد برای افزایش تحمل به شوری گیاه موسیر استفاده شود. بیشترین تأثیر قابل توجه اسید سالیسیلیک بر شاخص های رشدی، فیزیولوژیکی و

References

1. Aebi, H. (1983). Catalase. In: H. Bergmeyer (ed). Methods of Enzymatic Analysis. Verlag Chemie, Weinheim, Germany, 3, 273-277.
2. Alam, P., Balawi, T. A., & Faizan, M. (2022). Salicylic acid's impact on growth, photosynthesis, and antioxidant enzyme activity of *Triticum aestivum* when exposed to salt. *Molecules*, 23, 28(1), 100. <https://doi.org/10.3390/molecules28010100>
3. Ali, B. (2021). Salicylic acid: An efficient elicitor of secondary metabolite production in plants. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 31, 101884. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101884>
4. Anthon, G. E., & Barrett, D. M. (2003). Modified method for the determination of pyruvic acid with dinitrophenylhydrazine in the assessment of onion pungency. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 1210-1213. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1525>
5. Bates, L. E., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, 39, 205-207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
6. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Chemistry*, 72, 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
7. Chance, B., & Maehly, A. C. (1955). Assay of catalases and peroxidases. In: S. P. Colowick & N. O. Kaplan (eds). Methods in Enzymology. Academic Press, New York, 2, 764-775.

8. Davey, M. W. E., Stals, B., Panis, J., & Keulemans, R. L. (2005). High throughput determination of malon dialdehyde in plant tissues. *Analytical Biochemistry*, 347, 201-207. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2005.09.041>
9. Desire, M., & Arslan, H. (2021). The effect of salicylic acid on photosynthetic characteristics, growth attributes, and some antioxidant enzymes on parsley (*Petroselinum crispum* L.) under salinity stress. *Gesunde Pflanzen*, 73, 435-444. <https://doi.org/10.1007/s10343-021-00565-3>
10. Farhadi, N., & Alizadeh Salteh, S. (2017). The Effect of forchlorfenuron on bulblet formation, antioxidant characteristics and phytochemicals compounds of Persian shallot (*Allium hirtifolium*). *Journal of Horticultural Science*, 31(3), 565-576. (In Persian). <https://doi.org/10.22067/jhorts4.v31i3.56997>
11. Giannopolitis, C., & Ries, S. (1977). Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 59, 309-314. <https://doi.org/10.1104/pp.59.2.309>
12. Grieve, C. M., & Grattan, S. R. (1983). Rapid assay for the determination of water-soluble quaternary ammonium compounds. *Plant Soil*, 70, 303-307. <https://doi.org/10.1007/BF02374789>
13. Hossaini, Z. (1994). Common Methods in Food Analysis. Shiraz University Press, Shiraz, Iran. No. 261, 210 pp. (In Persian)
14. Hosseini, Z., Zare-Bavani, M., & Zare, A. (2021). Investigation of some biochemical responses to salt stress in edible onion (*Allium cepa* L.) cultivars. *Journal of Plant Biological Sciences*, 13(2), 101-118. (In Persian). <https://doi.org/10.22108/ijpb.2021.118177.1160>
15. Koche, D., Gandhi, R., Rathod, S., & Shirsat, R. (2021). An update on role of salicylic acid (SA) in abiotic stress tolerance in crop plants: A review. *Agricultural and Biological Research*, 37, 216-225.
16. Kumar, S., Abass Ahanger, M., Alshaya, H., Latief Jan, B., & Yerramilli, V. (2022). Salicylic acid mitigates salt induced toxicity through the modifications of biochemical attributes and some key antioxidants in *Capsicum annum*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(3), 1337-1347. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.01.028>
17. Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic bio membranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350-382.
18. Miron, T., Shin, I., Feigenblat, G., Weiner, L., Mirelman, D., Wilchek, M., & Rabinkov, A. (2002). A spectrophotometric assay for allacin, alliin, and alliinase (alliin lyase) with a chromogenic thiol: Reaction of 4-mercaptopyridine with thiosulfinates. *Analytical Biochemistry*, 307, 76-83. [https://doi.org/10.1016/S0003-2697\(02\)00010-6](https://doi.org/10.1016/S0003-2697(02)00010-6)
19. Mugwanya, M., Kimera, F., Abdelnaser, A., & Sewilam, H. (2023). Coping with water stress: Ameliorative effects of combined treatments of salicylic acid and glycine betaine on the biometric traits and water-use efficiency of onion (*Allium cepa*) cultivated under deficit drip irrigation. *Biomolecules*, 9, 13(11), 1634. <https://doi.org/10.3390/biom13111634>
20. Naeem, M., Basit, A., & Ahmad, I. (2020). Effect of salicylic acid and salinity stress on the performance of tomato plants. *Gesunde Pflanzen*, 72, 393-402. <https://doi.org/10.1007/s10343-020-00521-7>
21. Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology*, 22, 867-280. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>
22. Negrao, S., Schmockel, S., & Tester, M. (2017). Evaluating physiological responses of plants to salinity stress. *Annals of Botany*, 119, 1-11. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw191>
23. Panahandeh, J., Farhadi, N., Motallebi Azar, A., & Alizadeh Salteh, S. (2016). Evaluation of persian shallot (*Allium hirtifolium*) ecotypes for phytochemical components and antioxidant activity. *Journal of Medicinal Plants and By-Products*, 2, 217-226. <https://doi.org/10.22092/jmpb.2016.109399>
24. Saeidi, R., Zarrabi, M. M., & Babaei, D. (2023). Effect of salicylic acid spraying on shallot yield under salinity stress conditions. *Journal of Water Research in Agriculture*, 37, 269-284. (In Persian). <https://doi.org/10.22092/jwra.2023.363044.1002>
25. Sathiyamurthy, V. A., Saraswathi, T., Tamilselvi, N. A., Sobha Thingalmanian, K., Beaulah, A., Rohini, N., & Arumugam, T. (2017). Effect of salicylic acid on growth, yield and storage quality of onion (*Allium cepa* L.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4, 78-86.
26. Shama, M., Moussa, S., & Abo El Fadel, N. (2016). Salicylic acid efficacy on resistance of garlic plants (*Allium sativum*, L.) to water salinity stress on growth, yield and its quality. *Alexandria Science Exchange Journal*, 37, 165-174.
27. Shams, M., & Khadivi, A. (2023). Mechanisms of salinity tolerance and their possible application in the breeding of vegetables. *BMC Plant Biology*, 14, 23(1), 139. <https://doi.org/10.1186/s12870-023-04152-8>
28. Shanshan, C., Chun-Bo, Z., Rui-Min, R., & Jun-Hai, J. (2023). Salicylic acid had the potential to enhance tolerance in horticultural crops against abiotic stress. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1141918. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1141918>

29. Shirzadi, M. H., & Bideshki, A. (2018). The effect of salicylic acid and methyl jasmonate on growth parameters and bulb yield of field – grown onion under drought stress conditions. *Journal of Crop Production and Processing*, 8, 47-60. (In Persian). <https://doi.org/10.29252/JCPP.8.2.47>
30. Singh, P., Choudhary, K. K., Chaudhary, N., Gupta, S., Sahu, M., Tejaswini, B., & Sarkar, S. (2022). Salt stress resilience in plants mediated through osmolyte accumulation and its crosstalk mechanism with phytohormones. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1006617. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1006617>
31. Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
32. Skrypnik, L., Golovin, A., & Savina, T. (2022). Effect of salicylic acid on phenolic compounds, antioxidant and antihyperglycemic activity of Lamiaceae plants grown in a temperate climate. *Frontiers in Bioscience*, 14(1), 3. <https://doi.org/10.31083/j.fbe1401003>
33. Solouki, A., Berna-Sicilia, J. Á., Martínez-Alonso, A., Ortiz-Delvaso, N., Bárzana, G., & Carvajal, M. (2023). Onion plants (*Allium cepa* L.) react differently to salinity levels according to the regulation of aquaporins. *Heliyon*, 17, 9(3), e13815. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13815>
34. Tavasolee, A., Ghassemi, S., Ghassemi-Golezani, K., Farhangi-Abriz, S., Bybordi, A., & Khosravi, H. (2024). The effects of plant growth-promoting bacteria, foliar sprays of salicylic acid and silicon on growth parameters of garlic under salt stress. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 55(1), 83-96. (In Persian). <https://doi.org/10.22059/ijswr.2023.366374.669603>
35. Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant system in acid rain treated bean plants: Protective role of exogenous poly amines. *Plant Science*, 151, 59-66. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00197-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00197-1)
36. Yang, H., Fang, R., Luo, L., Yang, W., Huang, Q., Yang, C., Hui, W., Gong, W., & Wang, J. (2023). Uncovering the mechanisms of salicylic acid-mediated abiotic stress tolerance in horticultural crops. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1226041. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1226041>
37. Yousefvand, P., Sohrabi, Y., Heidari, G., Weisany, W., & Mastinu, A. (2022). Salicylic acid stimulates defense systems in *Allium hirtifolium* grown under water deficit stress. *Molecules*, 11(10), 3083. <https://doi.org/10.3390/molecules27103083>
38. Yousefvand, P., Sohrabi, Y., Mastinu, A., Heidari, G., & Weisany, W. (2025). Optimizing growth, yield, and water use efficiency of *Allium hirtifolium* with salicylic acid under water stress conditions. *Heliyon*, 11, e41550. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e41550>
39. Zhao, S., Zhang, Q., Liu, M., Zhou, H., Ma, C., & Wang, P. (2021). Regulation of plant responses to salt stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4609. <https://doi.org/10.3390/ijms22094609>