

اثر محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و عملکرد دانه جو (*Hordeum vulgare* L.) رقم نصرت در شرایط تنش شوری

Effect of foliar application of salicylic acid on biochemical attributes and grain yield of barley (*Hordeum vulgare* L. cv. Nosrat) under saline conditions

هادی پیرسته انوشه^۱، یحیی امام^۲، محمدجواد روستا^۳ و سیده الهه هاشمی^۴

چکیده

پیرسته انوشه، ه. ی. امام، م. ج. روستا و س. ا. هاشمی. ۱۳۹۵. اثر محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و عملکرد دانه جو (*Hordeum vulgare* L.) رقم نصرت در شرایط تنش شوری. *مجله علوم زراعی ایران*. ۱۸ (۳): ۲۴۴-۲۳۲.

اگرچه نقش اسید سالیسیلیک بر تحمل شوری گیاهان به خوبی نشان داده شده است، لیکن برای درک بهتر سازوکارهای فیزیولوژیک آن به پژوهش‌های بیشتری نیاز است. در این پژوهش اثر محلول پاشی غلظت‌های اسید سالیسیلیک (صفر، ۰/۵، ۱/۰، ۱/۵ و ۲/۰ میلی‌مولار) بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و عملکرد دانه جو رقم نصرت در شرایط غیرشور و شور (به ترتیب ۲ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) در مرکز ملی تحقیقات شوری در استان یزد در سال‌های زراعی ۹۲-۱۳۹۱ و ۹۳-۱۳۹۲ مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تنش شوری باعث افزایش محتوای پروتئین‌های محلول، پرولین آزاد، مالون دی‌آلدئید و نشت یونی به ترتیب به میزان ۲۲/۱، ۱۴۷/۷، ۸۷/۲ و ۱۰۲/۹ درصد شد، در حالی که شاخص پایداری غشا و غلظت کلروفیل‌های a و b را به ترتیب به میزان ۳۳/۲، ۳۱/۴ و ۵۹/۳ درصد کاهش داد. تنش شوری همچنین باعث کاهش معنی‌دار عملکرد دانه به میزان ۳۴/۲ و ۴۰/۹ درصد (به ترتیب در سال‌های اول و دوم آزمایش) شد. محلول پاشی اسید سالیسیلیک باعث تعدیل اثر منفی تنش شوری گردیده و افت عملکرد دانه در اثر تنش شوری از ۴۲/۱ درصد در تیمار بدون محلول پاشی به ۲۷/۳ درصد در تیمار ۱/۵ میلی‌مولار در سال اول و از ۴۳/۷ درصد در تیمار بدون محلول پاشی به ۳۳/۸ درصد در تیمار ۱/۰ میلی‌مولار در سال دوم کاهش یافت. محلول پاشی اسید سالیسیلیک باعث افزایش پروتئین‌های محلول، پرولین آزاد، غلظت کلروفیل‌های a و b و کاروتنوئیدها و همچنین شاخص پایداری غشا گردید و از سوی دیگر میزان مالون دی‌آلدئید و نشت یونی را کاهش داد. نتایج نشان داد که اسید سالیسیلیک در شرایط غیرشور و شور به ترتیب تا غلظت‌های ۲/۰ و ۱/۵ میلی‌مولار اثر بهتری بر گیاه جو داشتند. نتایج کلی این آزمایش نشان داد که محلول پاشی اسید سالیسیلیک با بهبود ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه جو، باعث بهبود تحمل گیاه به شوری و کاهش اثر منفی تنش شوری و افزایش عملکرد دانه آن می‌شود.

واژه‌های کلیدی: تنش شوری، پروتئین‌های محلول، پرولین، جو، کلروفیل و مالون دی‌آلدئید.

این مقاله مستخرج از رساله دانشجوی دکتری نگارنده اول می‌باشد.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۴/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۹/۲۴

۱- استادیار مرکز ملی تحقیقات شوری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یزد، ایران. عضو انجمن علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران (مکاتبه کننده)
(پست الکترونیک: h.pirasteh.a@gmail.com)

۲- استاد بخش زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۳- دانشیار بخش تحقیقات حفاظت خاک و آبخیزداری مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران

۴- دانش آموخته کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

مقدمه

تنش شوری یکی از مهم ترین عوامل کاهش تولیدات کشاورزی بیش از حدود ۱۰۰ سال اخیر است که موضوع بسیاری از پژوهش های جهانی (Kafi and Khan, 2008) بوده و از حدود ۵۰ سال، مورد توجه پژوهش های داخلی قرار گرفته است (Ranjbar and Pirasteh-Anosheh, 2015). شوری رشد گیاهان را به دو صورت تحت تأثیر قرار می دهد. غلظت های بالای نمک خاک از یک طرف باعث کاهش پتانسیل آب خاک شده (تنش اسمزی) و از طرف دیگر برای گیاه سمیت ایجاد می نماید (سمیت یونی) که منجر به تغییرات بیوشیمیایی در گیاه و پاسخ های فیزیولوژیک آن می شود (Munns, 2005). مسمومیت یونی در اثر تجمع یون های خاص به ویژه سدیم، باعث اختلال در واکنش های متابولیک گیاه می شوند (Munns and Tester, 2008). در شرایط تنش اسمزی از جمله پرولین و کربوهیدرات های محلول (پدیده تنظیم اسمزی)، به جذب ادامه می دهد (Demiral and Turkan, 2005).

بسیاری از اثرات فیزیولوژیک شوری در گیاه ممکن است در اثر تغییر در توازن هورمون های گیاهی به وجود آیند. تنظیم کننده های رشد مانند اسید سالیسیلیک، با ایجاد توازن در محتوای هورمون های گیاهی، در کنترل پاسخ های گیاه به شوری نقش مهمی دارند (Pirasteh-Anosheh et al., 2014). به علاوه اسید سالیسیلیک در شرایط تنش شوری روی بسیاری از ویژگی های بیوشیمیایی گیاه اثر می گذارد. نتایج تحقیقات انجام شده نشان داده است که اسید سالیسیلیک بر طیف وسیعی از صفات مانند جوانه زنی، بذر، رشد، عملکرد، اجزای عملکرد، فیزیولوژی و بیوشیمی گیاهان، به ویژه در شرایط شور، اثر مثبت داشته است، با این وجود هنوز اتفاق نظر کلی در مورد غلظت بهینه برای استفاده از اسید سالیسیلیک وجود

ندارد (Ashraf et al., 2010). نقش اسید سالیسیلیک در بهبود ویژگی های بیوشیمیایی گیاه مانند محتوای پروتئین های محلول، پرولین آزاد، رنگیزه های فتوسنتزی و میزان هورمون های گیاهی و در نتیجه افزایش عملکرد در شرایط تنش شوری در بسیاری از گیاهان مانند جو (Bandurska and Stroinski, 2005; El-Tayeb, 2005; Pakar et al., 2016; Shakirova, 2007; Pirasteh-Anosheh et al., 2012; Shakirova et al., 2003) نشان داده شده است. پژوهش های قابل توجهی در رابطه با اثر اسید سالیسیلیک بر القای تحمل شوری گونه های مختلف گیاهی در مراحل اولیه رشد انجام شده است، با این وجود پژوهش های بیشتری در ارتباط با درک بهتر سازوکارهای فیزیولوژیک اسید سالیسیلیک مورد نیاز است. در پژوهش حاضر سازوکارهای احتمالی مانند افزایش سنتز پروتئین های محلول، تجمع ترکیبات محلول، محافظت از غشا و حفظ رنگیزه های فتوسنتزی در القای تحمل شوری توسط اسید سالیسیلیک مورد بررسی قرار گرفت. هدف اصلی این تحقیق بررسی ویژگی های بیوشیمیایی و عملکرد دانه جو رقم نصرت در تیمارهای محلول پاشی اسید سالیسیلیک در شرایط غیرشور و شور بوده است.

مواد و روش ها

این پژوهش مزرعه ای به صورت کرت های خرد شده در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار در سال های زراعی ۹۲-۱۳۹۱ و ۹۳-۱۳۹۲ در ایستگاه تحقیقات شوری صدوق، مرکز ملی تحقیقات شوری در استان یزد (طول جغرافیایی ۵۴ درجه و ۱۴ دقیقه شرقی و عرض ۳۲ درجه و ۰۳ دقیقه شمالی و ۳۷۲۵ متر ارتفاع از سطح دریا) اجرا شد. نتایج آزمون خاک محل اجرای آزمایش پیش از شروع آزمایش در جدول ۱ و میزان بارش و حجم آب آبیاری در دو سال زراعی در جدول ۲ ارائه شده است. رقم جو مورد مطالعه نصرت

(کارون در کویر) بود که یک رقم شش ردیفه، آبی با تیپ رشد بینابین، نیمه زودرس، ارتفاع متوسط (میانگین ۱۰۵ سانتیمتر) با کیفیت خوب (میانگین پروتئین دانه ۱۲ درصد) و نیمه متحمل به شوری می باشد. تیمارهای آزمایشی شامل آبیاری (عامل اصلی) با آب مطلوب با هدایت الکتریکی ۲ دسی زیمنس بر متر (غیر شور) و آبیاری با آب شور با هدایت الکتریکی ۱۲ دسی زیمنس بر متر (شور) و میزان اسید سالیسیلیک (عامل فرعی) در پنج سطح صفر، ۰/۵، ۱/۰، ۱/۵ و ۲/۰ میلی مولار بودند.

جدول ۱- ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش پیش از آبیاری

Table 1. Physico-chemical properties of soil in the experimental site before leaching

عمق خاک Soil depth (cm)	EC (dS.m ⁻¹)	بافت Texture	FC (%)	PWP (%)	اسیدیته pH	فسفر P (mg.kg ⁻¹)	پتاسیم K (mg.kg ⁻¹)	نیترژن N (%)	ماده آلی O.C.
0-30	5.0	Sandy loam	21.6	7.3	7.37	16.2	142.0	0.039	0.64
30-60	4.6				7.61	10.3	121.3	0.033	0.38

جدول ۲- حجم آب آبیاری و اطلاعات هواشناسی محل اجرای آزمایش (۹۲-۱۳۹۱ و ۹۳-۱۳۹۲)

Table 2. Irrigation water rate and meteorological information of the experimental site (2012-2014)

سال Year	حجم آبیاری Irrigation water (m ³ .ha ⁻¹)		بارندگی Precipitations (mm)					
	Non-saline غیر شور	Saline شور						
2012-2013	6128.2	5083.4	110					
2013-2014	6546.4	5537.8	67.2					
سال Year	دما Temperature (°C)							
	Nov.	Dec.	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	Jun.
2012-2013	14.2	8.9	9.4	8.8	16.8	20.2	25.1	31.9
2013-2014	13.9	7.9	6.4	5.6	15.8	22.4	27.1	33.1
سال Year	رطوبت نسبی RH (%)							
	Nov.	Dec.	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	Jun.
2012-2013	49	50	43	39	30	27	23	13
2013-2014	46	36	45	38	29	24	21	10

سانتی متری و در ۴ مرحله در هر کرت اصلی، نمونه برداری انجام شد. میانگین شوری عصاره گل اشباع در عمق صفر تا ۹۰ سانتی متر در طول فصل رشد در کرت های غیر شور و شور به ترتیب ۲/۹ و ۱۱/۶ دسی زیمنس بر متر بود.

تنش شوری پس از استقرار کامل گیاهچه ها از طریق آبیاری با شوری های مدنظر اعمال شد. آب شور با هدایت الکتریکی ۱۲ دسی زیمنس بر متر از ترکیب آب دو استخر موجود در مزرعه با هدایت های الکتریکی ۲ و ۱۴ دسی زیمنس بر متر تهیه شد. تجزیه شیمیایی آب آبیاری در جدول ۳ ارائه شده است.

پس از شخم زمین با گاو آهن برگردان دار و دو بار دیسک عمود بر هم و تسطیح، کرت هایی با ابعاد ۴×۳ متر تهیه شدند. بذرها ی یکنواخت گیاه جو در ردیف هایی به طول ۴ متر و با فاصله بین ردیف ۲۰ سانتی متر کاشته شدند تا تراکم ۳۵۰ بذر در متر مربع حاصل شود. بر اساس نتایج آزمون خاک (جدول ۱)، ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار نیترژن خالص در دو مرحله پیش از کاشت و ابتدای ساقه روی (از منبع اوره) و ۶۰ کیلوگرم در هکتار فسفر (از منبع سوپرفسفات تریپل) پیش از کاشت به خاک اضافه شدند. در طول فصل رشد گیاه به منظور تعیین شوری خاک تا عمق ۹۰

اعمال شوری با غلظت‌های مورد نظر با استفاده از سمپاش پستی دقیق با فشار یک بار و به میزان ۵۰۰ لیتر در هکتار انجام شد. کرت‌های بدون محلول‌پاشی نیز به همان میزان با آب خالص محلول‌پاشی شدند.

آبیاری در حد ظرفیت مزرعه به علاوه ۳۰ درصد سهم آبشویی انجام شد. برای تهیه محلول‌های اسید سالیسیلیک از اتانول و آب گرم استفاده شد. محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک نیز یک هفته پس از

جدول ۳- تجزیه شیمیایی آب آبیاری غیر شور و شور

Table 3. Chemical analysis of non-saline and saline irrigation water

EC (dS.m ⁻¹)	pH	HCO ₃ ⁻	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	K ⁺
2	8.25	1.69	15.00	7.44	3.95	7.75	12.76	0.17
12	7.71	3.23	92.31	26.46	9.03	28.36	84.65	0.51

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که محتوای کل پروتئین‌های محلول تحت تأثیر معنی‌دار شوری و اسید سالیسیلیک و محتوای پروتئین آزاد تحت تأثیر معنی‌دار شوری، اسید سالیسیلیک و برهمکنش آن‌ها قرار گرفت. شوری باعث کاهش ۲۲/۱ درصدی محتوای پروتئین برگ پرچم گردید (جدول ۴). گزارش شده است که اگرچه سطوح ملایم تنش شوری باعث افزایش برخی پروتئین‌ها برای افزایش تحمل گیاه می‌شود (Munns and Tester 2008)، ولی سطوح شوری بالاتر از حد آستانه گیاه، به‌طور مستقیم با کاهش سنتز پروتئین (Kafi and Khan, 2008) و یا به‌طور غیرمستقیم با القای تنش اکسیداتیو و تخریب پروتئین‌ها به وسیله گونه‌های اکسیژن واکنشگر (Sairam *et al.*, 2002)، باعث کاهش پروتئین‌های محلول گیاه می‌شود. محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک باعث افزایش محتوای پروتئین برگ پرچم شد (جدول ۴). با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک اثر آن بر محتوای پروتئین بیشتر شد و غلظت‌های ۱/۵ و ۲/۰ میلی مولار اثر معنی‌داری داشتند. این دو غلظت محتوای پروتئین برگ پرچم را نسبت به شاهد بدون محلول‌پاشی به ترتیب ۴۰/۶ و ۴۵/۳ درصد افزایش دادند. افزایش محتوای پروتئین‌های محلول از طریق جلوگیری از تخریب آن‌ها یا تحریک سنتز آن‌ها، یکی از سازوکارهای اسید سالیسیلیک

همزمان با شروع پرشدن دانه نمونه‌برداری از برگ پرچم به‌منظور اندازه‌گیری ویژگی‌های بیوشیمیایی انجام شد. نمونه‌ها در نیتروژن مایع منجمد و به آزمایشگاه انتقال داده شدند. در این پژوهش پروتئین‌های کل محلول (Bradford, 1976)، پروتئین آزاد (Bates *et al.*, 1973) و مالون‌دی‌آلدئید (Health and Packer, 1969) و محتوای کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کاروتنوئیدها (Lichtenthaler and Wellburn, 1983) با دستگاه استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شدند. سنجش نشی یونی و شاخص پایداری غشا به روش حمام بن‌ماری انجام شد (Sairam, 1994). در زمان رسیدگی کامل، با رعایت اثر حاشیه، محصول دو متر مربع از ناحیه مرکزی هر کرت برداشت شده و عملکرد دانه اندازه‌گیری شد. تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد. ضرایب همبستگی بین عملکرد دانه با سایر صفات با استفاده از نرم‌افزار MINITAB برآورد شد. در مواردی که برهمکنش سال با تیمارها معنی‌دار شد، داده‌های دو سال به‌طور جداگانه مقایسه شدند، در سایر موارد از میانگین دو سال برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد.

برای القای تحمل به تنش گزارش شده است (Pirasteh-Anosheh *et al.*, 2012; Pirasteh-Anosheh *et al.*, 2016). اعتقاد بر این است که محلول پاشی اسید سالیسیلیک با تأثیر بر پروتئین‌های آپوپلاستی، باعث افزایش تحمل گندم به تنش شوری می‌شود (Tasgin *et al.*, 2006).

افزایش شوری آب آبیاری به ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر با افزایش حدود ۲/۵ برابری محتوای پرولین آزاد برگ پرچم همراه بود (شکل ۱). گزارش شده است که در شرایط شوری، گیاه به منظور ادامه جذب آب از طریق تجمع ترکیبات اسمزی از جمله پرولین و کربوهیدرات‌های محلول، پتانسیل اسمزی خود را کاهش داده و باعث بروز پدیده تنظیم اسمزی می‌شود (Demiral and Turkan, 2005). این کار باعث می‌شود که گیاهان با حفظ آماس برگ در شرایط پتانسیل پایین آب، به رشد خود ادامه داده و با استفاده از پدیده تنظیم اسمزی، تا حدودی از اثر سوء تنش اجتناب کنند (Pirasteh-Anosheh *et al.*, 2016). نتایج نشان داد که در هر دو شرایط غیرشور و شور، محتوای پرولین در بوته‌های محلول پاشی شده با اسید سالیسیلیک بیشتر از بوته‌های تیمار نشده بود. در شرایط غیرشور و شور به ترتیب اثر غلظت‌های ۱/۰ و ۰/۵ میلی‌مولار معنی‌دار بود، با این وجود محلول پاشی اسید سالیسیلیک با غلظت ۲/۰ میلی‌مولار در شرایط غیرشور (۲/۱ برابر) تأثیر

بیشتری نسبت به شرایط شور (۱/۸ برابر) داشت (شکل ۱). این موضوع نشان می‌دهد که در شرایط شور، غلظت‌های متوسط اسید سالیسیلیک اثر بهتری بر محتوای پرولین آزاد برگ دارند. به طور کلی، تجمع پرولین شاخصی برای تحمل گیاه نسبت به تنش‌های محیطی محسوب می‌شود. پرولین در سازگاری گیاهان به تنش‌های محیطی نقش مثبت داشته و دارای آثار بیولوژیک زیادی مانند تنظیم اسمزی، حفاظت از سلول، نقش آنتی اکسیدانی، انتقال انرژی، ذخیره کربن و نیتروژن که برای پایداری سلول و سازگاری به شرایط جدید لازم است، می‌باشد (Kuznetsov and Shevyakova, 1999).

محتوای مالون دی‌آلدئید و شاخص پایداری غشا تحت تأثیر معنی‌دار شوری، اسید سالیسیلیک و برهمکنش آن‌ها و نشت یونی تحت تأثیر معنی‌دار شوری و اسید سالیسیلیک قرار گرفتند. بوته‌های جو در شرایط تنش شوری دارای محتوای مالون دی‌آلدئید (شکل ۲الف) و نشت یونی (جدول ۴) بیشتر (به ترتیب ۸۷/۲ و ۱۰۲/۹ درصد) و شاخص پایداری غشا کمتر (۳۳/۲ درصد) (شکل ۲ب) بودند. به نظر می‌رسد که پایداری غشای سلولی در شرایط تنش شوری با سنتز پروتئین‌های ویژه و آنزیم‌های کلیدی فتوسنتز گیاه و غشاهای تیلاکوئیدی مرتبط است (Sairam *et al.*, 2002) و حفظ پایداری غشای سلولی در طی تنش،

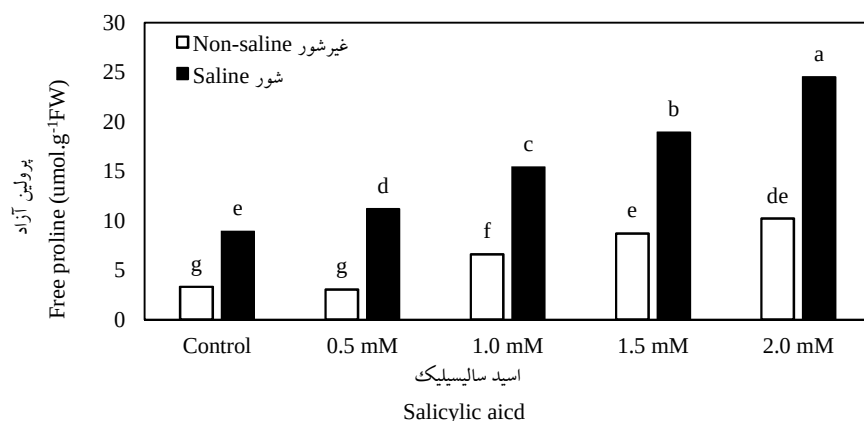
جدول ۴- اثر شوری آب آبیاری و محلول پاشی اسید سالیسیلیک بر ویژگی‌های بیوشیمیایی جو

Table 4. Effect of salinity of irrigation water and salicylic acid application on biochemical traits of barley

نشت یونی	کلروفیل b	پروتئین‌های کل محلول	تیمارهای آزمایشی
EL (%)	Ch _b (mg.g ⁻¹ FW)	TSP (mg.g ⁻¹)	Treatments
24.36b	12.36a	18.80b	شوری آب آبیاری 2 dS.m ⁻¹
49.44a	5.032b	22.95a	Salinity of irrigation water 12 dS.m ⁻¹
48.35a	6.40c	17.77b	شاهد Control
47.45a	7.66c	18.01b	0.5 mM
35.25b	7.90c	17.78b	اسید سالیسیلیک 1.0 mM
28.15c	9.78b	24.98a	1.5 mM
25.30c	11.74a	25.82a	2.0 mM

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different at 1% probability level, using LSD test



شکل ۱- اثر تیمارهای اسید سالیسیلیک بر محتوای پرولین آزاد برگ پرچم جو در شرایط غیرشور و شور
ستون‌های با حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری ندارند

Fig. 1. Effect of salicylic acid treatments on free proline content of flag leaf of barley under non-saline and saline conditions

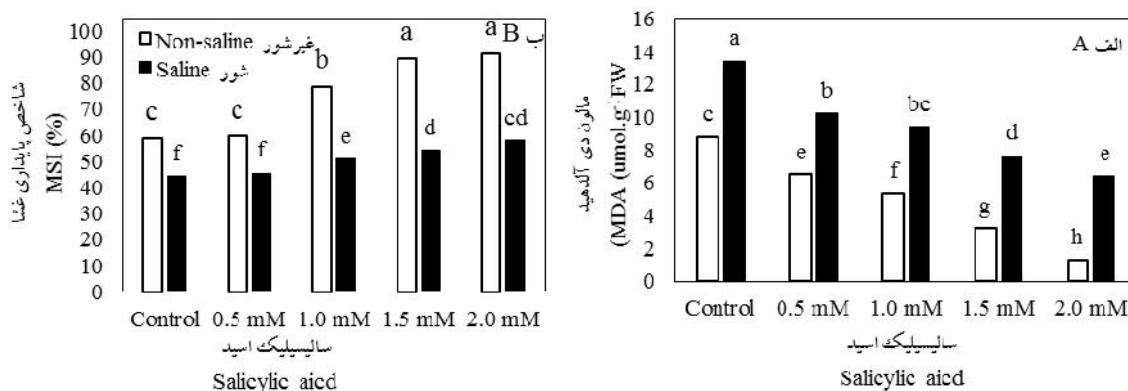
Columns with similar letter(s) are not significantly different at 1% probability level, using LSD test

در هر دو شرایط غیرشور و شور محلول‌پاشی کلیه سطوح اسید سالیسیلیک باعث کاهش محتوای مالون دی‌آلدئید (شکل ۲الف) و در تیمارهای ۱/۰ میلی مولار و بیشتر، باعث افزایش شاخص پایداری غشا (شکل ۲ب) گردید. با این وجود کمترین سطح مالون دی‌آلدئید (۱/۳ واحد مول در گرم وزن تر) و بالاترین شاخص پایداری غشا (۹۱/۴ درصد) در تیمار ۲/۰ میلی مولار در شرایط غیرشور مشاهده شد (شکل ۲). گسترش آسیب اکسیداتیو با کاهش شاخص پایداری غشا و افزایش محتوای مالون دی‌آلدئید که یکی از محصولات پراکسیداسیون لیپیدها است، مشخص می‌شود (Candan and Tarhan, 2003). رادیکال‌های سوپر اکسید ایجاد شده در شرایط تنش شوری باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و افزایش محتوای مالون دی‌آلدئید و در نتیجه آسیب به غشاهای سلولی می‌شود (Borsani et al., 2001; Sairam et al., 2002). تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی مانند اسید سالیسیلیک با جلوگیری از آسیب به اسیدهای چرب و کاهش نفوذپذیری غشاء و حفاظت از غشاء تیلاکوئیدی در اثر تنش شوری، نقش مثبت خود را ایفا می‌کند و این اثر را

نقش محوری در افزایش تحمل گیاه دارد. (Borsani et al., 2001) گزارش شده است که پایداری غشای سلولی، حتی در مراحل ابتدایی تنش، شاخص مناسبی از میزان تحمل گیاه به تنش است. به علاوه، نتایج برخی از پژوهش‌ها نشان داده است که غشاهای سلولی و اندامک‌ها، اولین محل آسیب به سلول‌ها در شرایط تنش توسط گونه‌های فعال اکسیژن هستند (Candan and Tarhan, 2003). نتایج نشان داد که غلظت بیشتر از ۱/۰ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک باعث کاهش معنی‌دار نشت یونی در بوته‌های جو تیمار شده گردید. تیمارهای ۱/۰، ۱/۵ و ۲/۰ میلی‌مولار به ترتیب ۲۷/۱، ۴۱/۸ و ۴۷/۷ درصد باعث کاهش میزان نشت یونی شدند (جدول ۴). گزارش شده است که اسید سالیسیلیک با مهار گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر باعث کاهش آسیب به غشای سلولی و کاهش نشت یونی می‌شود (Ashraf et al., 2010). این سازوکار یک راهکار مهم برای کاهش اثر سوء تنش شوری بر گیاه توسط اسید سالیسیلیک بوده و در آزمایش‌های متعددی گزارش شده است (Stevens et al., 2006; Ahmed et al., 2009).

نتیجه استفاده از اسید سالیسیلیک به عنوان یک آنتی اکسیدان غیر آنزیمی در حذف رادیکال‌های فعال اکسیژن دانست.

احتمالا با کاهش میزان پراکسید هیدروژن انجام می‌دهد (Borsani et al., 2001). از سوی دیگر علت کاهش پراکسیداسیون لیپیدها در بوته‌های جو را می‌توان در



شکل ۲- اثر تیمارهای اسید سالیسیلیک بر محتوای مالون دی‌آلدئید (الف) و شاخص پایداری غشاء (ب) برگ پرچم جو در شرایط غیر شور و شور. ستون‌های با حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری ندارند

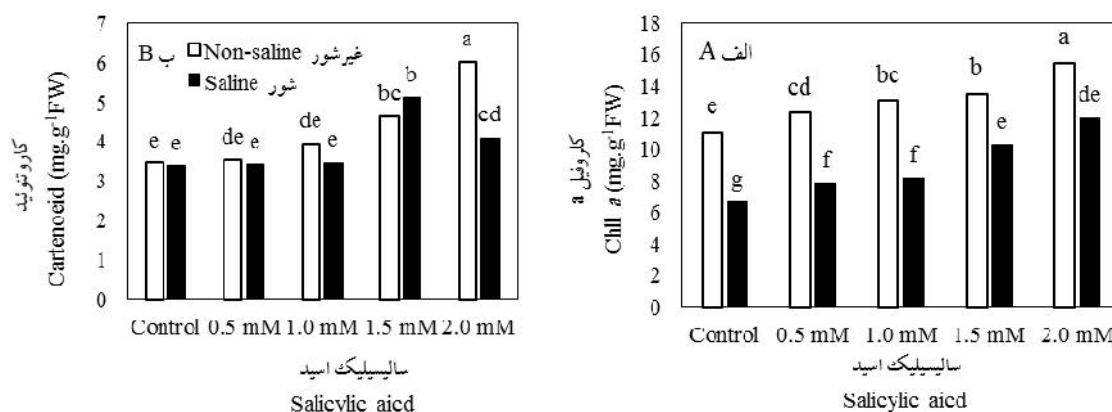
Fig. 2. Effect of salicylic acid treatments on malon dialdehyde (MDA) (A) and membrane stability index (MSI) (B) of flag leaf of barley under non-saline and saline conditions. Columns with similar letter(s) are not significantly different at 1% probability level, using LSD test

رنگیزه‌های کلروفیل a و کاروتنوئیدها شد (شکل ۳). افزایش محتوای کلروفیل a در کلیه غلظت‌های اسید سالیسیلیک و برای کاروتنوئیدها تنها در غلظت‌های بالا (۱/۵ و ۲/۰ میلی‌مولار) مشاهده شد. بیشترین میزان کلروفیل a (شکل ۳الف) و کاروتنوئیدها (شکل ۳ب) در تیمار محلول پاشی ۲/۰ میلی‌مولار در شرایط غیر شور (به ترتیب ۱۵/۵ و ۶/۰ میلی گرم در گرم وزن تر) به دست آمد. گزارش شده است که تنش شوری با اختلال در جذب برخی عناصر دخیل در سنتز کلروفیل مانند آهن و منیزیم، باعث کاهش محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها در برگ می‌شود. این کاهش می‌تواند با تخریب ساختار کلروپلاست و دستگاه فتوسنتزی، فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها، تخریب پیش ماده‌های سنتز کلروفیل و جلوگیری از بیوسنتز کلروفیل‌های جدید و فعال شدن آنزیم‌های تجزیه کننده کلروفیل از جمله

اثر شوری بر محتوای کلروفیل a و b، اثر اسید سالیسیلیک بر محتوای کلروفیل‌های a و b و کاروتنوئیدها و برهمکنش آنها بر محتوای کلروفیل a معنی‌دار بود. اگرچه تنش شوری میزان هر دو نوع کلروفیل a و b را کاهش داد، ولی میزان کاهش این دو نوع کلروفیل باهم متفاوت بود (کلروفیل a: ۳۱/۴ درصد و کلروفیل b: ۵۹/۳ درصد) (به ترتیب شکل ۳الف و جدول ۴). تنش شوری با افزایش غلظت تنظیم کننده‌های رشد مانند اسید آبسزیک و اتیلن باعث تحریک آنزیم کلروفیل‌لاز شده و بر اثر آن کلروفیل‌ها تجزیه می‌شوند (Orabi et al., 2010). تجمع یون‌های سدیم و کلر در برگ‌ها در شرایط شوری نیز بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی اثر منفی دارد (Stepien and Klobus, 2006). در هر دو شرایط غیر شور و شور محلول پاشی اسید سالیسیلیک باعث افزایش محتوای

محتوای کاروتنوئیدها شد، ولی افزایش غلظت محلول پاشی تا سطح ۲/۰ میلی مولار باعث کاهش محتوای کاروتنوئیدها شد (شکل ۳ب). این موضوع احتمالا ناشی از برهمکنش منفی بین تنش شوری با غلظت های بالای اسید سالیسیلیک است. گزارش شده است که اسید سالیسیلیک در غلظت های پایین به دلیل تحریک سیستم آنتی اکسیدانی گیاه، نقش افزایش تحمل به شوری را ایفا می کند، ولی در غلظت های بالاتر به عنوان آنتی اکسیدان غیر آنزیمی با آنزیم های آنتی اکسیدان برهمکنش ایجاد می کند (Ashraf et al., 2010). این موضوع که غلظت های پایین و متوسط سالیسیلیک اسید باعث افزایش فعالیت های آنتی اکسیدانی گیاه و بهبود تحمل آن به شوری شده و در غلظت های بالا با ایجاد تداخل در سیستم آنتی اکسیدانی اثر منفی دارد، در سایر پژوهش ها نیز گزارش شده است (Shakirova, 2007; Pirasteh-Anosheh et al., 2015; Ranjbar et al., 2017).

کلروفیلز و اختلالات هورمونی مرتبط باشد (Neocleous and Vasilakakis, 2007). اسید سالیسیلیک با جلوگیری از تخریب ساختار کلروپلاست در شرایط شور (Khodary, 2004)، باعث بهبود متابولیسم های گیاه و افزایش تحمل آن به تنش شوری می شود. محلول پاشی اسید سالیسیلیک در غلظت های ۱/۵ و ۲/۰ میلی مولار باعث افزایش معنی دار کلروفیل b گردید و بیشترین میزان (۱۱/۷ میلی گرم در گرم وزن تر) در تیمار ۲/۰ میلی مولار به دست آمد (جدول ۴). اثر مثبت اسید سالیسیلیک در افزایش محتوای کلروفیل a در جو (Pirasteh-Anosheh et al., 2005)، گندم (El-Tayeb, 2005)، و ذرت (Khodary, 2004) گزارش شده است. این اثر می تواند به نقش اسید سالیسیلیک اسید در افزایش سبزمانی گیاه (Pirasteh-Anosheh et al., 2016) و جلوگیری از تخریب کلروپلاست ها (Khodary, 2004) نسبت داده شود. اگرچه محلول پاشی اسید سالیسیلیک با غلظت ۱/۵ میلی مولار باعث افزایش



شکل ۳- اثر تیمارهای اسید سالیسیلیک بر محتوای کلروفیل a (الف) و کاروتنوئیدها (ب) در برگ پرچم جو در شرایط غیر شور و شور. ستون های با حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی داری ندارند.

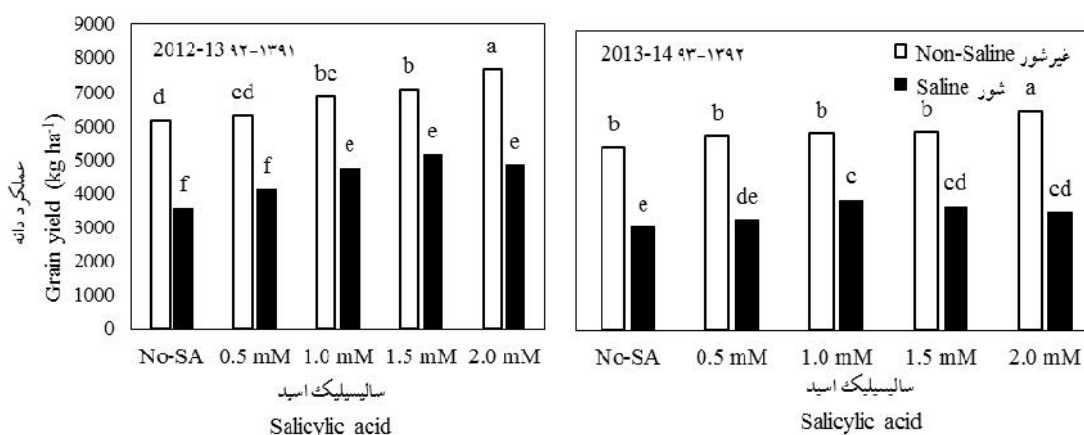
Fig. 3. Effect of salicylic acid treatments on chlorophyll a (A) and carotenoids (B) content of flag leaf of barley under non-saline and saline conditions. Columns with similar letter(s) are not significantly different at 1% probability level, using LSD test

شوری باعث کاهش عملکرد دانه در سال های اول و دوم (به ترتیب ۳۴/۲ و ۴۰/۹ درصد) شد (شکل ۴). در

اثر شوری، اسید سالیسیلیک و برهمکنش آن ها و همچنین اثر سال بر عملکرد دانه معنی دار بود. تنش

افزایش یکپارچگی غشاهای زیستی، و در شرایط غیر شور به افزایش میزان فتوسنتز و فعالیت آنزیم روبیسکو و همچنین بهبود متابولیسم نیتروژن و تغذیه معدنی گیاه اشاره کرد (Stevens *et al.*, 2006; Korkmaz *et al.*, 2007; Popova *et al.*, 2009; Pirasteh-Anosheh *et al.*, 2016). برخی از این سازوکارها مانند حفاظت از رنگیزه‌های فتوسنتزی و بهبود ساختار غشاهای سلولی در پژوهش حاضر نیز نشان داده شد. نتایج تجزیه همبستگی نیز این موضوع را تایید کرد (جدول ۵). ضرایب همبستگی نشان داد که عملکرد دانه با محتوای مالون دی‌آلدئید و نشت یونی همبستگی منفی و معنی‌دار و با محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و شاخص پایداری غشا همبستگی مثبت و معنی‌دار داشت.

سال دوم به دلیل کاهش میزان آبیاری و افزایش دمای هوا (جدول ۲) آسیب تنش شوری تشدید شد. در شرایط غیر شور، محلول پاشی تا بالاترین غلظت اسید سالیسیلیک (۲/۰ میلی مولار) اثر معنی‌داری بر عملکرد دانه داشت، ولی در شرایط شور بیشترین عملکرد دانه در سال اول در غلظت ۱/۵ میلی مولار (بدون تفاوت معنی‌دار با غلظت‌های ۱/۰ و ۲/۰ میلی مولار) و در سال دوم در غلظت ۱/۰ میلی مولار، مشاهده شد. از دلایل افزایش عملکرد دانه جو در تیمار اسید سالیسیلیک در شرایط شور، می‌توان به نقش آن در حفاظت از دستگاه فتوسنتزی و محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، افزایش هدایت روزنه‌ای، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیداسیونی و همچنین کاهش نشت یونی در اثر



شکل ۴- اثر تیمارهای اسید سالیسیلیک بر عملکرد دانه جو در شرایط غیر شور و شور (۹۲-۱۳۹۱ و ۹۳-۱۳۹۲)

ستون‌های با حروف مشابه بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری ندارند

Fig. 4. Effect of salicylic acid treatments on grain yield of barley under non-saline and saline conditions (2012-2014).

Columns with similar letter(s) are not significantly different at 1% probability level, using LSD test

(شکل ۴). اگرچه در سایر تحقیقات، اثر تعدیل کنندگی اسید سالیسیلیک مورد پذیرش کلی قرار گرفته است، ولی هنوز در مورد غلظت بهینه برای محلول پاشی آن اتفاق نظر وجود ندارد (Ashraf *et al.*, 2010; Pirasteh-Anosheh *et al.*, 2016) و برای دستیابی به بهترین عملکرد جو در شرایط شور، غلظت‌های متفاوتی پیشنهاد شده است. به عنوان مثال

اثر منفی تنش شوری بر عملکرد دانه در اثر محلول پاشی اسید سالیسیلیک تعدیل شد. کمترین کاهش عملکرد در اثر تنش شوری در سال اول و دوم به ترتیب در غلظت‌های ۱/۵ و ۱/۰ میلی مولار (به ترتیب ۲۷/۳ و ۳۳/۸ درصد) بدست آمد. نتایج نشان داد که تشدید شوری در سال دوم بر تاثیر مثبت و تعدیل کنندگی اسید سالیسیلیک نیز اثر منفی داشت

غلظت‌های ۱/۰ تا ۱/۵ میلی‌مولار (Pakar *et al.*, 2016)،
و ۱/۰۵ و ۰/۷۰ میلی‌مولار به ترتیب در شرایط
غیرشور و شور (Ranjbar *et al.*, 2017) گزارش
شده است. غیرشور و شور (Pirasteh-Anosheh *et al.*, 2015)

جدول ۵- ضرایب همبستگی بین صفات بیوشیمیایی با عملکرد دانه جو در تیمارهای اسید سالیسیلیک در شرایط غیرشور و شور

Table 5. Correlation coefficients between chemical traits with grain yield of barley in salicylic acid treatments under non-saline and saline conditions

شاخص پایداری غشا MSI	نشت یونی EL	کاروتنوئیدها Car	کلروفیل b Ch-b	کلروفیل a Ch-a	مالون دی‌آلدئید MDA	پروлін آزاد FP	پروتئین‌های کل محلول TSP	عملکرد دانه GY
0.894**	-0.894**	0.511 ^{ns}	0.744*	0.904**	-0.854**	-0.506 ^{ns}	-0.249 ^{ns}	

^{ns} غیرمعنی‌دار؛ * و **: به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد. از میانگین دو ساله داده‌ها استفاده شده است
ns: Not significant, * and **: significant at 5% and 1% probability levels, respectively. Average of two years was used for correlation coefficient analysis

نتیجه‌گیری

منفی شوری بر عملکرد دانه را نیز کاهش داد.
بر اساس نتایج این آزمایش به نظر می‌رسد
که در شرایط شور، محلول‌پاشی با غلظت کمتری
از اسید سالیسیلیک مورد نیاز باشد. نتایج این
پژوهش نشان داد که محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک
از طریق تعدیل اثر منفی تنش شوری بر فیزیولوژی
گیاه جو، باعث بهبود تحمل آن به شوری
خواهد شد.

نتایج این تحقیق نشان داد که تنش شوری با
ایجاد تغییرات فیزیولوژیک نظیر افزایش پروتئین‌های
محلول، محتوای پروлін، مالون دی‌آلدئید و نشت یونی
و کاهش شاخص پایداری غشا و محتوای کلروفیل‌ها،
باعث افت عملکرد دانه جو شد. محلول‌پاشی
اسید سالیسیلیک این تغییرات فیزیولوژیک ناشی
از اثر سوء تنش شوری را کاهش داده و اثر

References

منابع مورد استفاده

- Ahmed, B., H. Abidi, F. Manaa, A. M. Hajer and Z. Ezzeddine. 2009. Salicylic acid induced changes on some physiological parameters in tomato grown under salinity. In Proceeding of 16th International Plant Nutrition, 12 April, Davis. USA.
- Ashraf, M., N. A. Akram, R. N. Arteca and M. R. Foolad. 2010. The physiological, biochemical and molecular roles of brassinosteroids and salicylic acid in plant processes and salt tolerance. Crit. Rev. Plant Sci. 29:162–190.
- Bandurska, H. and A. Stroinski. 2005. The effect of salicylic acid on barley response to water deficit. Acta Physiol. Plant. 27: 379–386.
- Bates L. S., R. P. Waldren and I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant Soil. 39: 205-207.
- Borsani, O., V. Valpuestan and M. A. Botella. 2001. Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in Arabidopsis seedlings. Plant Physiol. 126: 1024-1030.

- Bradford, M. M. 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytic. Biochem.* 72: 248-254.
- Candan, N. and L. Tarhan. 2003.** The correlation between antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in *Mentha pulegium* organs grown in Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} and Mn^{2+} stress conditions. *Plant Sci.* 163: 769-779.
- Demiral, T. and I. Turkan. 2005.** Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environ. Exp. Bot.* 53: 247-257.
- El-Tayeb M. A. 2005.** Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regul.* 45: 215-224.
- Health, R. L. and L. Packer. 1969.** Phytoperoxidation in isolate chloroplast .I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch. Bioch. Biophys.* 125:189-198.
- Kafi, M. and M. A. Khan. 2008.** Crop and Forage Production Using Saline Waters. Daya Publishers, New Delhi, India.
- Khodary, S. E. A. 2004.** Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt-stressed maize plants. *Int. J. Agric. Biol.* 6: 5-8.
- Korkmaz, A., M. Uzunlu and A. R. Demirkairan. 2007.** Treatment with acetylsalicylic acid protects muskmelon seedlings against drought stress. *Acta Physiol. Plant.* 29: 503-508.
- Kuznetsov, V. and N. I. Shevyakova. 1999.** Proline under stress, biological role, metabolism and regulation. *Rus. J. Plant Physiol.* 46: 274-287.
- Lichtenthaler, H. and A. R. Wellburn. 1983.** Determination of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* in leaf extracts in different solvents. *Biochem. Soc. Trans.* 603: 591-592.
- Munns, R. 2005.** Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytol.* 167: 645-63.
- Munns, R. and M. Tester. 2008.** Mechanisms of salinity tolerance. *Ann. Rev. Plant Biol.* 59: 651-681.
- Neocleous, D. and M. Vasilakakis. 2007.** Effects of NaCl stress on red raspberry (*Rubus idaeus* L. "Autumn Bliss"). *Sci. Hort.* 112: 282-289.
- Orabi, S. A., S. R. Salman and A. F. Shalaby. 2010.** Increasing resistance to oxidative damage in cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants by exogenous application of salicylic acid and paclobutrazol. *World J. Agric. Sci.* 6: 252- 259.
- Pakar, N., H. Pirasteh-Anosheh and Y. Emam. 2014.** The effect of different concentrations of salicylic acid on barley qualitative and quantitative characteristics under salt stress conditions. *J. Crop Prod. Proc.* 14: 191-201. (In Persian with English abstract).
- Pakar, N., H. Pirasteh-Anosheh and Y. Emam. 2016.** Barley growth, yield, antioxidant enzymes and ion accumulation as affected by PGRs under salinity stress conditions. *J. Plant. Nutr.* 39(10): 1372-1379.
- Pirasteh-Anosheh, H., Y. Emam, M. Ashraf and M. R. Foolad. 2012.** Exogenous application of salicylic acid

- and chlormequat chloride alleviates negative effects of drought stress in wheat. *Adv. Stud. Biol.* 11: 501-520
- Pirasteh-Anosheh, H., M. J. Roustae and Y. Emam. 2014.** Different methods of plants treatment with salicylic acid in salinity research. Publication of National Salinity Research Center, Yazd, Iran. (In Persian).
- Pirasteh-Anosheh, H., Y. Emam and A. R. Sepaskhah. 2015.** Improving barley performance by proper foliar applied salicylic-acid under saline conditions. *Int. J. Plant Prod.* 9 (3): 467-486.
- Pirasteh-Anosheh, H., G. Ranjbar, H. Pakniyat and Y. Emam. 2016.** Physiological Mechanisms of Salt Stress Tolerance in Plants; an Overview. p. 141-160. *In: Azooz, M. M. and P. Ahmad (Eds.). Plant-Environment Interaction: Responses and Approaches to Mitigate Stress.* John Wiley & Sons, London.
- Popova, L. P., L. T. Maslenkova, R. Y. Yordanova, A. P. Ivanova, A. P. Krantev, G. Szalai and T. Janda. 2009.** Exogenous treatment with salicylic acid attenuates cadmium toxicity in pea seedlings. *Plant Physiol. Biochem.* 47: 224-231.
- Ranjbar, G. and H. Pirasteh-Anosheh. 2015.** A glance to the salinity research in Iran with emphasis on improvement of field crops production. *Iran. J. Crop Sci.* 17(2): 165 -178. (In Persian with English abstract).
- Ranjbar, G., H. Pirasteh-Anosheh and N. Besharat. 2017.** Determination of the optimum concentration and time of salicylic acid foliar application for improving barley growth under non-saline and saline conditions. *J. Crop Prod.* 22: 61-73
- Sairam, R. K., K. V. Rao and G. C. Srivastava. 2002.** Differential response of wheat genotypes to longterm salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Sci.* 163: 1037-1046.
- Sairam, R. K. 1994.** Effect of moisture stress on physiological activities of two contrasting wheat genotypes. *Ind. J. Exp. Bio.* 32: 584-593.
- Shakirova, F. M. 2007.** Role of Hormonal System in the Manifestation of Growth Promoting and Anti-Stress Action of Salicylic Acid. *In: Hayat, H. and A. Ahmad (Eds.) Salicylic Acid, A Plant Hormone.* Springer, Dordrecht.
- Shakirova, F. M., A. R. Sakhabutdinova, M. V. Bezrukova, R. A. Fatkhutdinova and D. R. Fatkhutdinova. 2003.** Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Plant Sci.* 164: 317-322.
- Stepien, P. and G. Klobus. 2006.** Water relations and photosynthesis in *Cucumis sativus* L. leaves under salt stress. *Biol. Plant.* 50(4): 610-616.
- 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 stabilization. *Plant Growth Regul.* 49: 77-83.
- Tasgin, E., O. Atici, B. Nalbantoglou and L. P. Popova. 2006.** Effects of salicylic acid and cold treatments on protein levels and on the activities of antioxidants enzymes in the apoplast of winter wheat leaves. *Phytochemistry.* 67: 710-15.

Effect of salicylic acid on biochemical attributes and grain yield of barley (*Horedum vulgare* L. cv. Nosrat) under saline conditions

Pirasteh-Anosheh, H.¹, Y. Emam², M. J. Rousta³ and S. E. Hashemi⁴

ABSTRACT

Pirasteh-Anosheh, H., Y. Emam, M. J. Rousta and S. E. Hashemi. 2017. Effect of salicylic acid on biochemical attributes and grain yield of barley (*Hordeum vulgare* L. cv. Nosrat) under saline conditions. *Iranian Journal of Crop Sciences*. 18(3): 232-244. (In Persian).

Although role of salicylic acid (SA) in enhancement of salinity tolerance of plants has been well shown, more researches are needed for better understanding of its physiological mechanisms. In this experiment, the effect of different SA concentrations (0, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mM) was examined on biochemical attributes and grain yield of barley cv. Nosrat under non-saline and saline conditions (2 and 12 dS.m⁻¹, respectively) during 2012-13 and 2013-14 growing seasons at the National Salinity Research Center, Yazd, Iran. Salt stress enhanced soluble proteins content, free proline, malondialdehyde and electrolyte leakage by 22.1%, 147.7%, 87.2% and 102.9%, respectively. However, membrane stability index as well as concentrations of chlorophyll *a* and *b* reduced by 33.2%, 31.4% and 59.3%, respectively. Salt stress also decreased grain yield by 34.2% and 40.9% in the first and second year, respectively. Salicylic acid reduced the negative effect of salt stress on grain yield, therefore, SA foliar application decreased the rate of grain yield reduction under saline condition from 42.1 in no-SA to 27.3% in 1.5 mM in the first year and from 43.7% in no-SA to 33.8% in 1.0 mM in the second year. This mitigation could be related to biochemical attributes, as SA at different concentration levels enhanced soluble proteins content, free proline, concentration of chlorophyll *a* and *b* and carotenoids as well as membrane stability index, and reduced malondialdehyde and electrolyte leakage. It can be concluded that SA had better effect up to 2.0 and 1.0 mM under non-saline and saline conditions, respectively. In Genral, SA with reducing negative impact of salt stress on biochemical attributes could improve salinity tolerance and increase grain yield of barely cv. Nosrat.

Key words: Barley, Chlorophyll, Malondialdehyde, Proline, Salt stress and Soluble proteins.

Received: July 2016

Accepted: December 2017

1-Assistant Professor, National Salinity Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Yazd, Iran (Corresponding author) (Email: h.pirasteh.a@gmail.com)

2-Professor, Shiraz University, Shiraz, Iran

3-Associate Professor, Fars Agricultural and Natural Resources Education, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shiraz, Iran

4- Graduated MSc Student, Shiraz University, Shiraz, Iran