

ارزیابی مورفوفیزیولوژیکی چمن آفریقایی تحت تأثیر اسید سالیسیلیک در شرایط تنش کم آبی

سهیلا طاهری^۱، مسعود ارغوانی^{۲*} و سید نجم الدین مرتضوی^۲

۱ و ۲. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۹/۲۰ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۸)

چکیده

اسید سالیسیلیک می‌تواند با تغییر در ویژگی‌های فیزیولوژیکی و ریخت‌شناختی (مورفولوژیکی) گیاه سبب بهبود تحمل به تنش در گیاهان شود. این پژوهش به منظور بررسی پاسخ‌های مورفوفیزیولوژیکی چمن آفریقایی (*Cynodon dactylon* (L.) Pers) به تنش کم آبی و کاربرد اسید سالیسیلیک در سال ۱۳۹۴ در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشگاه زنجان انجام شد. سه سطح آب قابل دسترس خاک (۴۰، ۷۰ و ۱۰۰ درصد) و اسید سالیسیلیک (۰، ۱ و ۲ میلی مولار) به صورت یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در چهار تکرار اعمال شدند. نتایج نشان داد، تنش کم آبی (۴۰ درصد آب قابل دسترس) محتوای نسبی آب برگ و رشد شاخساره را کاهش داد. در صورتی که رشد ریشه، نسبت ریشه به شاخساره، ظرفیت پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی)، نشت یونی، پرولین، فنل کل و میزان سبزینه (کلروفیل) برگ‌ها با کاهش آب قابل دسترس خاک افزایش یافت. کاربرد اسید سالیسیلیک از راه افزایش ظرفیت پاداکسندگی، میزان پرولین و سبزینه برگ‌ها و همچنین کاهش نشت یونی، تأثیر منفی تنش کم آبی را بهبود بخشید و این تأثیر در غلظت ۲ میلی مولار واضح تر بود.

واژه‌های کلیدی: آب قابل دسترس، پرولین، رشد شاخساره، سبزینه، فنل کل.

Morphophysiological evaluation of Bermuda grass under salicylic acid treatment in water deficit conditions

Soheila Taheri¹, Masoud Arghavani^{2*} and Najmmaddin Mortazavi²

1, 2. Former M. Sc. Student and Assistant Professor, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Iran

(Received: Dec. 10, 2016 - Accepted: Feb. 26, 2015)

ABSTRACT

Salicylic acid can improve plant stress tolerance by changing physiological and morphological characteristics of plants. This experiment was conducted in order to investigate morphophysiological responses of Bermuda grass (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) to water deficit stress and salicylic acid application in Research greenhouses of horticultural science department at the University of Zanjan in 2015. Three soil available water levels (40, 70 and 100%) and salicylic acid (0, 1 and 2 millimolar) were applied in a factorial experiment based on completely randomized design with four replications. Results showed that water deficit (40 % available water) reduced leaves relative water content and shoot growth whereas, root growth, root to shoot ratio, leaves antioxidant capacity, electrolyte leakage, proline, total phenol and chlorophyll content increased with decreasing soil available water. Salicylic acid application ameliorate adverse effects of water deficit in bermuda grass by increasing leaves antioxidant capacity, proline, and chlorophyll content as well as reducing electrolyte leakage and this effect was more pronounced in concentration of 2 mM.

Keywords: Available water, chlorophyll, proline, shoot growth, total phenol.

* Corresponding author E-mail: Arghavani@znu.ac.ir

مقدمه

فضاهای سبز از لحاظ زیست‌محیطی به‌عنوان شریان‌های حیاتی شهرها به‌شمار می‌آیند و با توجه به رشد روزافزون شهرنشینی، ایجاد فضاهای سبز کلان به‌عنوان مهم‌ترین تعدیل‌کننده زیست‌محیطی شهرها، ضروری است. بسیاری از چمن‌های مورد استفاده در فضای سبز برای حفظ کیفیت و رشد مناسب به مقادیر بالایی آب نیاز دارند که رفع این نیاز در مناطق خشک و نیمه‌خشک بسیار دشوار و پرهزینه است (Cynodon Tehranifar et al., 2009). چمن آفریقایی *dactylon* گیاهی از تیره گندمیان^۱ و یکی از انواع مهم چمن است. این چمن در مناطق گرم و خشک جهان به‌ویژه در جنوب ایران برای پوشش زمین‌های ورزشی به‌عنوان گیاهی زینتی در فضای سبز کشت و کار می‌شود. تنش کم‌آبی هنگامی رخ می‌دهد که میزان کاهش آب گیاه در اثر تبخیر و تعرق بیشتر از جذب آب از خاک باشد و می‌تواند بسیاری از جنبه‌های سوخت‌وساز (متابولیسم) و رشد گیاه را تحت تأثیر قرار دهد. کمبود آب با تأثیر بر آماس یاخته‌ای و باز و بسته شدن روزنه‌ها، می‌تواند فرآیند نورساخت (فتوسنتز)، تنفس و تعرق را تحت تأثیر قرار داده و از سوی دیگر با تأثیر بر فرآیندهای آنزیمی که به‌طور مستقیم با پتانسیل آب کنترل می‌شوند، بر رشد گیاه اثر منفی می‌گذارد (Pessarakli, 1999). اسید سالیسیلیک^۲ یک تنظیم‌کننده رشد گیاهی از گروه فنل‌ها است و در تنظیم بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی در گیاهان در غلظت‌های کم مؤثر است. اسید سالیسیلیک نقش محوری در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف مانند جوانه‌زنی بذر، بسته شدن روزنه، مهار زیست‌ساخت (بیوسنتز) اتیلن گیاه، افزایش میزان نورساخت و محتوای سبزینه (کلروفیل) گیاه، تولید میوه، تولید گرما و گلیکولیز ایفا می‌کند (El-Tayeb, 2005). در پژوهشی که روی گندم انجام شد کاربرد اسید سالیسیلیک توانست محتوای نسبی آب برگ را در شرایط تنش کم‌آبی افزایش دهد

(Mehrabiyani Moghaddam, 2011). همچنین در شرایط تنش کم‌آبی، اسید سالیسیلیک سبب افزایش ارتفاع گیاه ذرت شد، درحالی‌که در شرایط بدون تنش، تیمار با اسید سالیسیلیک نتیجه معکوس بر ارتفاع گیاه داشت (Mehrabiyani Moghaddam, 2011). در این پژوهش با توجه به نتایج بررسی‌های گذشته در رابطه با دیگر گیاهان و با هدف افزایش تحمل به کم‌آبی چمن آفریقایی، ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی این گیاه تحت تأثیر کاربرد اسید سالیسیلیک بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر اسید سالیسیلیک بر تحمل به کم‌آبی چمن آفریقایی، پژوهشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در چهار تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح آبیاری (۷۰، ۴۰، و ۱۰۰ درصد آب قابل دسترس) و اسید سالیسیلیک در سه سطح (۰، ۱ و ۲ میلی مولار) بود. برای این منظور بذرهای چمن آفریقایی در گلدان‌هایی به ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر و قطر ۱۴ سانتی‌متر که با خاک شن لومی پر شده بودند، کاشت شدند. چمن‌ها ضمن دریافت آب کافی تا هنگام آغاز اعمال تیمارها به‌صورت هفتگی با کود کامل کریستالون (TE ۲۰+۲۰-۲۰) کوددهی شدند. تا هنگام اعمال تیمارها، چمن‌ها به‌صورت هفتگی از ارتفاع ۴ سانتی‌متری به‌صورت دستی سربردار و با آبیاری کافی اجازه داده شد تا کامل استقرار یابند. با استقرار کامل گیاهان پس از شش ماه و پوشش کامل سطح گلدان، اعمال تیمارها به مدت هشت هفته انجام شد.

به‌منظور اعمال تنش کم‌آبی (FAO, 2000)، میزان رطوبت خاک در حالت ظرفیت مزرعه^۳ (۳۱/۴ درصد حجمی) و نقطه پژمردگی دائم^۴ (۱۰/۲ درصد حجمی) در آزمایشگاه خاک‌شناسی مشخص شد. از تفاضل اعداد رطوبتی ظرفیت مزرعه و نقطه پژمردگی دائم، میزان آب قابل دسترس^۵ (۲۱/۲ درصد حجمی) به

3. Field Capacity

4. Permanent Wilting Point

5. Available Water

1. Poaceae

2. Salicylic Acid (SA)

اندازه‌گیری شد. پس از آن نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو با دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند و پس از سرد شدن، دوباره هدایت الکتریکی آن‌ها اندازه‌گیری شد. میزان نشت یونی به صورت درصد، از تقسیم هدایت الکتریکی اولیه بر هدایت الکتریکی یاخته‌های مرده محاسبه شد (Sullivan & Ross, 1979).

برای اندازه‌گیری میزان سبزینه، عصاره‌گیری از برگ‌ها با استون ۸۰ درصد انجام شد. آنگاه نمونه‌ها در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند. میزان جذب روشناور در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر به ترتیب برای سبزینه a و b توسط طیف‌سنج نوری (اسپکتروفتومتر) خوانده و سبزینه کل بر پایه رابطه زیر محاسبه شد (Arnon, 1949).

$$\text{Chl total} = \frac{[20.2(A_{645}) + 8.02(A_{663})] \times V}{(1000W)}$$

$W =$ وزن تازه بافت استخراج شده، $V =$ حجم نهایی عصاره سبزینه در استون ۸۰ درصد

محتوای نسبی آب برگ با رابطه زیر محاسبه شد (Barrs & Weatherley, 1962).

$$\text{RWC} = \frac{(\text{FW} - \text{DW})}{(\text{SW} - \text{DW}) \times 100}$$

$\text{FW} =$ وزن تر نمونه‌های برگ، $\text{SW} =$ وزن تر نمونه‌هایی که به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق خیس‌انده شده‌اند، $\text{DW} =$ وزن خشک نمونه‌های برگ.

استخراج عصاره برگ، برای اندازه‌گیری فنل کل و ظرفیت پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی) با استفاده از متانول و استیک اسید انجام شد (Bakshi & Arakawa, 2006). برای محاسبه ظرفیت پاداکسندگی، ۵۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی و ۹۵۰ میکرولیتر از محلول (DPPH) ۰/۱ نرمال با هم مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در یک محفظه تاریک در دمای اتاق نگهداری شدند. نمونه بلانک و استاندارد به ترتیب شامل ۱ میلی‌لیتر حلال استخراج و ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ نرمال (DPPH) بود. میزان جذب

دست آمد و تیمارهای ۱۰۰، ۷۰ و ۴۰ درصد آب قابل دسترس اجرا شدند. برای اندازه‌گیری رطوبت خاک و محاسبه تغییر آن در حفاصل دو آبیاری از دستگاه تتاپروب^۱ استفاده شد. به منظور واسنجی (کالیبراسیون) دستگاه از آب (رطوبت ۱۰۰ درصد) و خاک کامل خشک (رطوبت صفر) استفاده شد. در طول آزمایش به منظور پی بردن به میزان رطوبت خاک گلدان‌ها، حسگر (سنسور)‌های دستگاه در عمق ۱۲ سانتی‌متری خاک قرار داده می‌شدند و رطوبت حجمی خاک ثبت می‌شد. رطوبت خاک اندازه‌گیری و در زمان‌های معین بر پایه تیمارهای آزمایش آبیاری انجام می‌شد. اسید سالیسیلیک طی هشت مرحله به صورت هفتگی و با پاشش (اسپری ۲۰ سی‌سی در هر گلدان) روی گیاهان مصرف شد. پس از هشت هفته از اعمال تیمارها، اندازه‌گیری صفات مورد نظر صورت گرفت.

برای اندازه‌گیری رشد شاخساره پس از هر سربرداری، چمن‌های چیده شده به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلسیوس خشک شدند و وزن خشک آن‌ها محاسبه شد. میزان رشد شاخساره از مجموع وزن خشک چمن‌های زده شده در هشت هفته دوره آزمایش و وزن خشک بخش هوایی چمن‌ها در پایان آزمایش به دست آمد. برای محاسبه میزان رشد ریشه‌ها، در پایان آزمایش پس از بیرون آوردن گیاهان از گلدان ریشه‌ها جدا شده و پس از شستشو و جدا شدن ذرات ماسه، به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلسیوس خشک و وزن خشک آن‌ها محاسبه شد. نسبت ریشه به شاخساره از تقسیم وزن خشک ریشه و شاخساره به دست آمد (Arghavani, 2010).

میزان پرولین با استفاده از معرف نین‌هیدرین اندازه‌گیری شد. در این روش از معرف نین‌هیدرین و اسید استیک گلاسیال برای اندازه‌گیری پرولین استفاده و نتایج برحسب میکرومول بر گرم وزن تر برگ‌ها گزارش شد (Bates et al., 1973).

به منظور محاسبه نشت یونی، نمونه‌های برگ همراه با آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت روی دستگاه لرزا (شیکر) قرار داده شدند و هدایت الکتریکی

1. Theta Probe (Spectrum, TDR 100, USA)

میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (سطح احتمال ۵ درصد) استفاده شد. رسم نمودارها به کمک نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج به‌دست‌آمده از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد، تیمارهای تنش کم‌آبی و اسید سالیسیلیک روی صفات اندازه‌گیری‌شده تأثیر معنی‌داری داشته است. اثر متقابل تنش کم‌آبی و اسید سالیسیلیک بر وزن خشک شاخساره، نشت یونی، محتوای نسبی آب برگ، پرولین، پاداکسنده کل و فنل کل تفاوت معنی‌داری داشت ولی در صفات وزن خشک ریشه، نسبت ریشه به شاخساره و سبزینه کل تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۱).

نتایج نشان داد، کمترین وزن خشک ریشه (۸/۰۶ گرم) در تیمار آبیاری کامل و بیشترین آن (۱۰/۶۲ گرم) در تنش شدید رطوبتی به دست آمد. همچنین نتایج نشان داد، اسید سالیسیلیک باعث افزایش وزن خشک ریشه شد. (شکل ۱). اثر متقابل تنش کم‌آبی و اسید سالیسیلیک بر وزن خشک ریشه و نسبت ریشه به شاخساره معنی‌دار نشد.

استاندارد و نمونه‌ها با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نوری (مدل Analytikjena specord 250) در طول موج ۵۱۷ نانومتر تعیین شد. ظرفیت پاداکسندگی عصاره‌ها به صورت درصد بازدارندگی رادیکال‌های آزاد اکسیژن (DPPH) با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Eberhardt *et al.*, 2000).

$$DPPH = \frac{(A_{cont} - A_{smp})}{(A_{cont})} \times 100$$

DPPH = درصد بازدارندگی رادیکال آزاد، A_{cont} = میزان جذب DPPH، A_{smp} = میزان جذب عصاره.

برای اندازه‌گیری فنل کل ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره گیاهی با ۰/۵ میلی‌لیتر از معرف فولین و ۷ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد و به مدت سه دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت، سپس ۱ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲۰ درصد به مخلوط اضافه شد. پس از گذشت یک ساعت میزان جذب رنگ در طول موج ۷۲۵ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نوری خوانده شد (SeEVERS & Daly, 1970).

در نهایت، تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (9.1) انجام شد و برای مقایسه

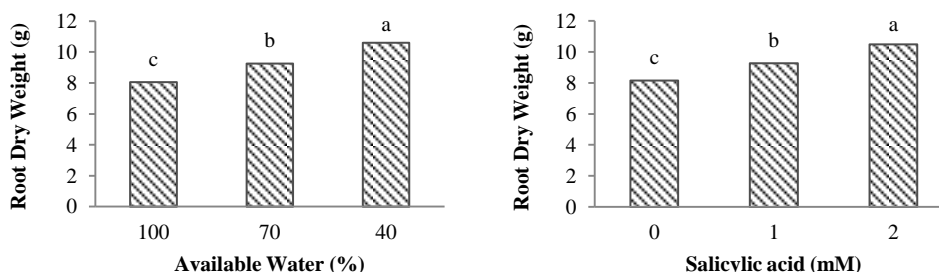
جدول ۱. تجزیه واریانس تأثیر تنش کم‌آبی و اسید سالیسیلیک بر صفات اندازه‌گیری‌شده چمن آفریقایی

Table 1. Variance analysis of the effects of water deficit stress and salicylic acid on the traits measured for bermuda grass

Source of Variation	df	Root dry weight	Shoot dry weight	Root to shoot ratio	Electrolyte leakage	Total chlorophyll content	Relative water content	Proline content	Antioxidant capacity	Total phenol
water deficit stress	2	19.67**	83.41**	0.105**	2477.9**	0.997**	301.48**	7.94**	336.43**	0.00024**
Salicylic acid	2	16.44**	11.48**	0.010**	470.32**	0.159**	114.57**	8.22**	142.32**	0.0026**
water deficit stress × Salicylic acid	4	1.12 ^{ns}	3.69*	0.002 ^{ns}	17.57*	0.013 ^{ns}	27.48*	0.47*	3.72**	0.00001**
Experimental error	27	0.83	1.46	0.001	5.88	0.023	10.66	0.19	0.90	0.000002
Coefficient of Variation (%)	-	9.81	4.86	9.30	4.6	7.08	5.40	10.25	4.76	3.39

*, **, ns: Non significant, Significant at 5 and 1%, Respectively.

ns: به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.



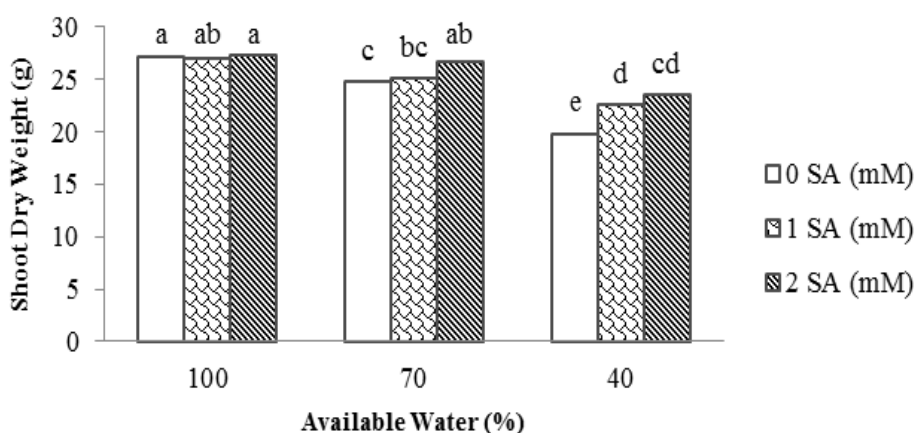
شکل ۱. تأثیر سطوح مختلف آبیاری و اسید سالیسیلیک بر وزن خشک ریشه چمن آفریقایی. در هر نمودار میانگین‌های دارای حرف مشترک اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند.

Figure 1. Effect of different levels of irrigation and salicylic acid on root dry weight of bermudagrass. Values followed by the same letters were not significantly different at 5% level (DMRT).

با توجه به آنکه در گراس‌ها تقسیم و توسعه یافته‌ای در قاعده برگ‌ها صورت می‌گیرد، در نتیجه تنش کم‌آبی منطقه رشد در قاعده برگ‌ها کوچک‌تر است که این امر منجر به کاهش رشد یافته‌ای و در نهایت کاهش وزن و ارتفاع رشد در بافت گیاهی می‌شود (Kafi & Mahdavi Damghani, 2007). کاهش سطح برگ و در پی آن کاهش نورساخت می‌تواند به‌عنوان عامل‌های محدودکننده رشد شاخساره طی تنش مطرح باشند (Bhatt & Rao, 2005). از این دیدگاه، کاهش معنی‌دار رشد چمن‌ها با تشدید تنش کم‌آبی در این آزمایش‌ها، با یافته‌های بررسی‌های پیشین همخوانی دارد (Viera *et al.*, 1991; Alvarz *et al.*, 2009). پیشنهاد شده است که نقش اسید سالیسیلیک در افزایش رشد گیاه با افزایش در فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده که از گیاه در برابر آسیب‌های اکسایشی (اکسیداتیو) حفاظت می‌کند می‌تواند مرتبط باشد (EL-Tayeb, 2005). گزارش شد محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید باعث افزایش معناداری در ارتفاع گیاه گندم شد (Hayat *et al.*, 2005). تیمار با ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک، تقسیم یافته‌ای را درون ژاتاک (مریستم) رأسی گیاهچه گندم افزایش داده و رشد گیاهچه را بهبود بخشید (Shakirova *et al.*, 2003).

افزایش وزن ریشه در گراس‌ها در شرایط کم‌آبی یکی از مهم‌ترین سازوکارهای سازگاری برای بهبود کارایی جذب آب است (Huang *et al.*, 1997). هنگامی که جذب آب کم باشد، توسعه برگ نخستین فرآیندی است که تحت تأثیر قرار می‌گیرد. جلوگیری در توسعه برگ باعث کاهش در مصرف کربوهیدرات‌ها و انرژی شده و بخش بیشتری از مواد نورساختی تولیدشده می‌تواند به سمت ریشه‌ها هدایت شوند که می‌تواند تضمین‌کننده رشد بیشتر ریشه باشد (Taiz & Zaiger, 2006). یکی از اثرگذاری‌های مهم اسید سالیسیلیک، تأثیر آن بر افزایش رشد ریشه است. افزایش رشد شبکه ریشه‌ای و حفظ سلامت آن به‌وسیله اسید سالیسیلیک باعث جذب بیشتر آب و مواد غذایی شده که در نهایت منجر به افزایش رشد گیاه می‌شود. برابر با نتایج این پژوهش گزارش شد وزن ریشه گل همیشه‌بهار مکزیکی تحت تأثیر غلظت‌های کم اسید سالیسیلیک افزایش یافت (Sandoval-Yapiz, 2004).

بنا بر نتایج، کمترین وزن خشک شاخساره (۱۹/۸۷ گرم) در تنش شدید رطوبتی و غلظت صفر اسید سالیسیلیک و بیشترین آن (۲۷/۳۹ گرم) در هنگام آبیاری کامل به دست آمد. در شرایط تنش متوسط و شدید اسید سالیسیلیک موجب افزایش وزن خشک شد (شکل ۲).



شکل ۲. برهمکنش تنش کم‌آبی و اسید سالیسیلیک بر وزن خشک شاخساره چمن آفریقایی. در هر نمودار میانگین‌های دارای حرف مشترک اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند.

Figure 2. Interaction between water deficit stress and salicylic acid on shoot dry weight of bermudagrass. Values followed by the same letters were not significantly different at 5% level (DMRT).

2001). برابر با نتایج این پژوهش تیمار با اسید سالیسیلیک سبب کاهش نشت یونی تا ۳۲ درصد در گیاهان برنج تحت تنش کم‌آبی شد (Sawada *et al.*, 2006).

نتایج این پژوهش نشان داد، با شدت یافتن تنش کم‌آبی میزان سبزینه افزایش پیدا کرد به گونه‌ای که بیشترین و کمترین میزان سبزینه به ترتیب در ۴۰ و ۱۰۰ درصد آب قابل دسترس مشاهده شد. همچنین نتایج نشان داد، اسید سالیسیلیک باعث افزایش میزان سبزینه شد. برهمکنش تنش کم‌آبی و اسید سالیسیلیک بر میزان سبزینه معنی‌دار نشد (شکل ۵).

یکی از اثرگذاری‌های تنش کم‌آبی، کاهش تقسیم یاخته‌ای و نیز کاهش اندازه یاخته است در این شرایط شمار کلروپلاست در واحد سطح افزایش یافته و میزان سبزینه افزایش می‌یابد (Rahman, 2004). این احتمال وجود دارد که کم‌آبی با کاهش سطح برگ، باعث تجمع سبزینه در سطح کمتر برگ‌ها و بنابراین افزایش غلظت آن شده باشد. اگر تنش کم‌آبی خیلی شدید نباشد، میزان سبزینه در اثر تنش افزایش نشان می‌دهد، این افزایش احتمال دارد به دلیل کاهش وزن تر گیاه باشد و سبزینه نیز بر پایه وزن تر بیان می‌شود. در گیاهان در شرایط تنش برای اندازه‌گیری سبزینه میزان بیشتری از برگ استفاده می‌شود (Arghavani, 2010) افزایش میزان سبزینه در نتیجه تنش کم‌آبی در گلرنگ پاییزه نیز گزارش شده است (Movahhedi *et al.*, 2004).

همسو با یافته‌های این پژوهش، در نتایج یک تحقیق نشان داده شد، هنگامی دانه‌های گندم با اسید سالیسیلیک تیمار شدند صرف‌نظر از غلظت اسید سالیسیلیک (۱ تا ۳ میلی مولار) و میزان تنش آبی، فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز و محتوای کل سبزینه این گیاهان در مقایسه با دانه‌هایی که تیمار نشدند بیشتر بود (Singh & Usha, 2003). به نظر می‌رسد که در یاخته‌های تحت تیمار با اسید سالیسیلیک نظام‌های پاداکسندگی فعال شده و با ساخت (سنتز) پروتئین‌های جدید از تخریب رنگیزه‌ها جلوگیری می‌کنند (Avancini *et al.*, 2003).

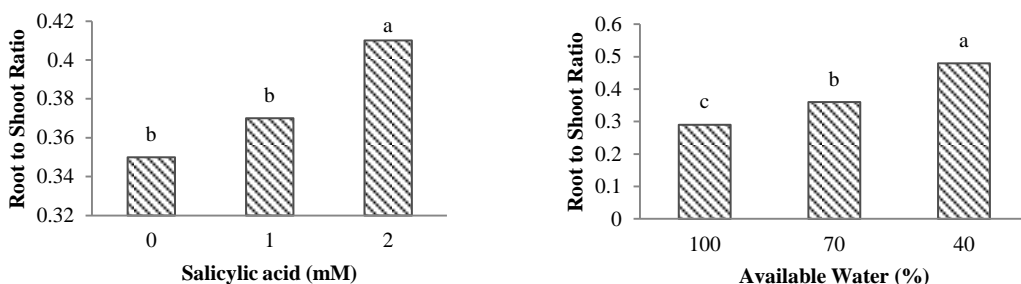
نتایج نشان داد، با کاهش آب قابل دسترس و افزایش غلظت اسید سالیسیلیک، نسبت وزن خشک ریشه به شاخساره افزایش یافت به طوری که بیشترین نسبت وزن خشک ریشه به شاخساره مربوط به ۴۰ درصد آب قابل دسترس و غلظت ۲ میلی مولار اسید سالیسیلیک بود. این افزایش ممکن است به دلیل افزایش میزان ریشه، افزایش طول ریشه، کاهش در میزان توسعه برگ‌ها و یا افزایش ریزش برگ باشد (Atkinson *et al.*, 1999). در این پژوهش نیز یکی از سازوکارهای مهمی که در افزایش جذب آب و جلوگیری از تنش کم‌آبی دخالت دارد کاهش رشد شاخساره و افزایش رشد ریشه است (شکل ۳).

در این پژوهش تنش کم‌آبی میزان نشت یونی را به طور معنی‌داری افزایش داد، اما تیمار با اسید سالیسیلیک توانست میزان نشت یونی را کاهش دهد. بیشترین میزان نشت یونی در ۴۰ درصد آب قابل دسترس و در غلظت ۰ اسید سالیسیلیک و کمترین میزان نشت یونی در ۱۰۰ درصد آب قابل دسترس و غلظت ۲ میلی مولار اسید سالیسیلیک مشاهده شد (شکل ۴).

از جمله شاخص‌های فیزیولوژیکی مهم در ارزیابی تنش کم‌آبی، نشت یونی است. افزایش نشت یونی نشان‌دهنده بروز آسیب‌های غشایی است (Jinrong *et al.*, 2008). تنش کم‌آبی با القای تنش اکسایشی و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، سبب پراکسیداسیون اسیدهای چرب غشاهای یاخته‌ای شده و نفوذپذیری غشا و نشت یونی را افزایش می‌دهد. نتایج به دست آمده با نتایج بررسی‌های پیشین که گزارش شده است با پیشرفت تنش، نشت یونی افزایش می‌یابد همخوانی دارد (Guo *et al.*, 2006). از سوی دیگر اسید سالیسیلیک به عنوان پاداکسنده عمل کرده و باعث پاکروبی رادیکال‌های آزاد تولیدشده توسط فرآیند اکسایش (اکسیداسیون) می‌شود (Burguires *et al.*, 2007) که به این وسیله از آسیب‌رسانی به اسیدهای چرب غیراشباع و کاهش نفوذپذیری غشا جلوگیری کرده و در نتیجه باعث حفاظت از غشای تیلاکوئیدی در زمان تنش می‌شود (Borsanio *et al.*, 2003).

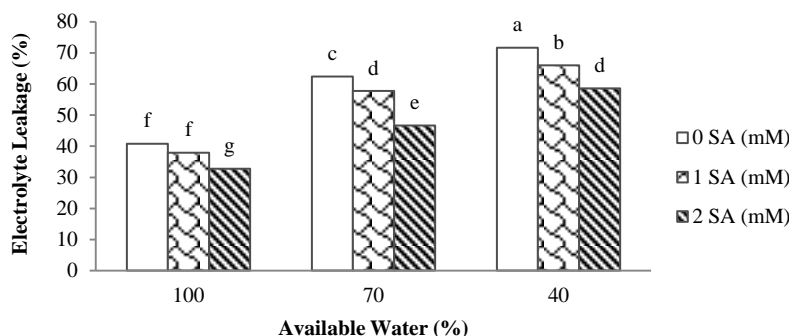
کمترین محتوای نسبی آب برگ در تنش شدید رطوبتی (۴۰ درصد آب قابل دسترس) به ترتیب مربوط به غلظت ۲ میلی مولار و ۰ اسید سالیسیلیک به دست آمد (شکل ۶).

بررسی اثر متقابل اسید سالیسیلیک و تنش کم آبی نشان داد، کاربرد اسید سالیسیلیک سبب افزایش محتوای نسبی آب برگ در شرایط تنش ۴۰ و ۷۰ درصد آب قابل دسترس شد به گونه ای که بیشترین و



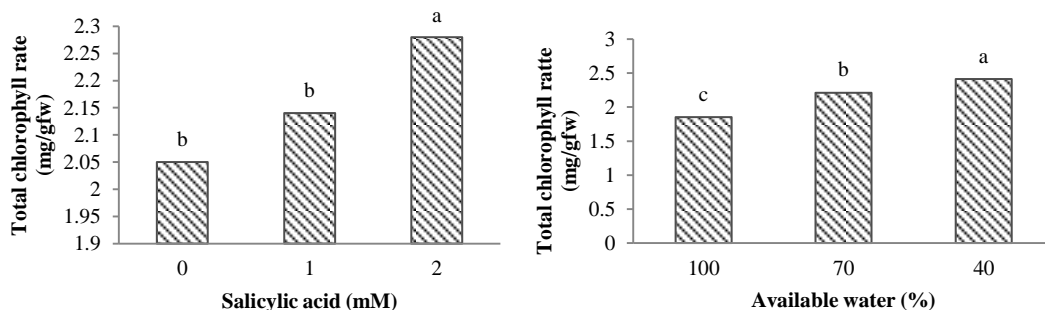
شکل ۳. تأثیر سطوح مختلف آبیاری و اسید سالیسیلیک بر نسبت وزن خشک ریشه به شاخساره چمن آفریقایی. در هر نمودار میانگین‌های دارای حرف مشترک اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند.

Figure 5. Effect of different levels of irrigation and salicylic acid on root to shoot ratio of bermudagrass. Values followed by the same letters were not significantly different at 5% level (DMRT).



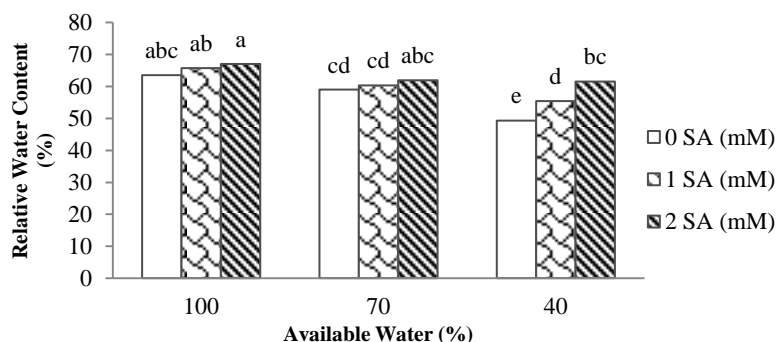
شکل ۴. برهمکنش تنش کم آبی و اسید سالیسیلیک بر نشت یونی چمن آفریقایی. در هر نمودار میانگین‌های دارای حرف مشترک اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند.

Figure 4. Interaction between water deficit stress and salicylic acid on electrolyte leakage of bermudagrass. Values followed by the same letters were not significantly different at 5% level (DMRT).



شکل ۵. تأثیر سطوح مختلف آبیاری و اسید سالیسیلیک بر محتوای سبزینه کل چمن آفریقایی. در هر نمودار میانگین‌های دارای حرف مشترک اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند.

Figure 5. Effect of different levels of irrigation and salicylic acid on total chlorophyll content of bermudagrass. Values followed by the same letters were not significantly different at 5% level (DMRT).



شکل ۶. برهمکنش تنش کم‌آبی و اسید سالیسیلیک بر محتوای نسبی آب برگ چمن آفریقایی. در هر نمودار میانگین‌های دارای حرف مشترک اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند.

Figure 6. Interaction between water deficit stress and salicylic acid on relative water content of bermudagrass. Values followed by the same letters were not significantly different at 5% level (DMRT).

پروپین در ۱۰۰ درصد آب قابل دسترس و غلظت ۰ اسید سالیسیلیک مشاهده شد. اسید سالیسیلیک باعث افزایش تجمع پروپین در شرایط تنش شدید و متوسط کم‌آبی شد (شکل ۷).

هنگامی که گیاه در معرض تنش کم‌آبی قرار می‌گیرد، تجزیه پروتئین‌ها و در نتیجه افزایش آمینواسیدها و آمیدها تسریع می‌شود. یکی از این آمینواسیدها پروپین است (Barker *et al.*, 1993). پروپین به‌عنوان محافظ اسمزی خاصیت پاداکسندگی در شرایط تنش دارد (KaviKishor & Sreenivasulu, 2014). تجمع پروپین در شرایط تنش کمبود آب به‌عنوان یک عامل تنظیم اسمزی در سیتوپلاسم شناسایی شده است و باعث بقا و رشد گیاه گندم تحت این تنش می‌شود (Mansour, 2000). به نظر می‌رسد که تأثیر اسید سالیسیلیک بر تجمع پروپین، از راه القای تولید آبسزیک اسید است. آبسزیک اسید باعث تحریک ساخت پروپین در گیاهان تحت تنش می‌شود (Shakirova *et al.*, 2003). اسید سالیسیلیک موجب القا تجمع پروپین در گیاهچه‌های گندم در شرایط تنش شد. در نتیجه باعث کاهش تأثیر زیان‌آور تنش شوری و کم‌آبی بر گیاهچه‌ها شد (Shakirova *et al.*, 2003) که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد.

نتایج نشان داد، فعالیت پاداکسندگی روند افزایشی از شاهد تا تنش شدید کم‌آبی دارد. بیشترین میزان پاداکسندگی کل مربوط به تنش شدید کم‌آبی (۴۰ درصد آب قابل دسترس) با غلظت ۲ میلی مولار اسید سالیسیلیک بود (شکل ۸).

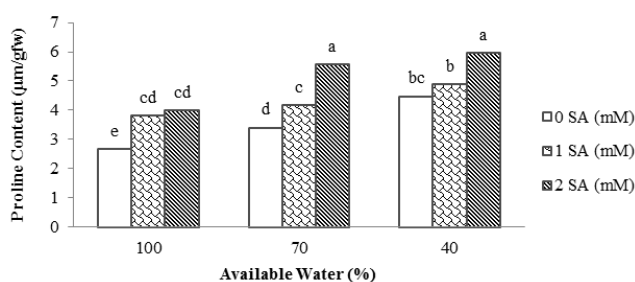
محتوای نسبی آب برگ شاخسی است که نشان‌دهنده میزان آب موجود در اندام‌های گیاه یا شادابی آن بوده و قابلیت یک گیاه در حفظ آب در شرایط تنش را مشخص می‌کند. کاهش محتوای نسبی آب برگ در بافت‌های گیاهان در شرایط تنش کم‌آبی باعث محدود شدن رشد و برخی تغییرپذیری‌های فیزیولوژیکی و سوخت‌وسازی (متابولیکی) در آن‌ها می‌شود. در واقع کاهش محتوای نسبی آب برگ از راه تأثیر بر تنظیم اسمزی در برای تحمل گیاه به کم‌آبی کمک می‌کند (Irrigoyen *et al.*, 1992). کاهش میزان محتوای نسبی آب برگ با افزایش تنش کم‌آبی در جنس‌های مختلف چمن گزارش شد که با نتایج این آزمایش همخوانی دارد (Fu *et al.*, 2004). در این پژوهش تیمار با اسید سالیسیلیک بازدارنده از دست رفتن آب در شرایط تنش شد. اسید سالیسیلیک موجب تولید ترکیب‌های فنولیک می‌شود و ترکیب‌های فنولیک در دیواره یاخته به‌عنوان یک مانع در برابر هدر رفت رطوبت عمل کرده و بازدارنده کاهش محتوای آب گیاه می‌شوند (Burguieres *et al.*, 2007). گزارش شد پیش تیمار بذر گندم با سالیسیلیک اسید سبب بهبود محتوای نسبی آب برگ در شرایط شاهد (آبیاری بهینه) و در شرایط تنش کم‌آبی شد، اما تأثیر سالیسیلیک اسید در شرایط تنش بیشتر از شرایط آبیاری بهینه بود (Naghizadeh & Gholami, 2012).

نتایج نشان داد، بیشترین تجمع پروپین در تنش شدید کم‌آبی (۴۰ درصد آب قابل دسترس) و غلظت ۲ میلی مولار اسید سالیسیلیک و کمترین میزان

گوجه‌فرنگی و لوبیا نشان دادند، به کار بردن اسید سالیسیلیک در شرایط تنش کم‌آبی، فعالیت پاداکسندگی را افزایش می‌دهد که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد (Senaratna *et al.*, 2000).

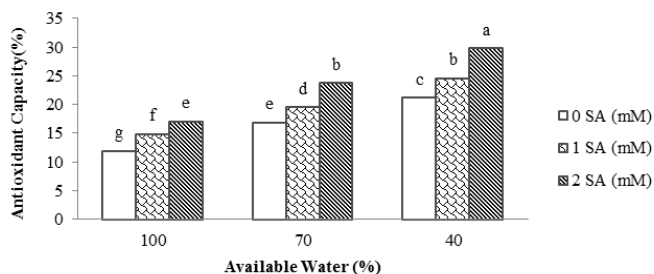
بررسی اثر متقابل تنش کم‌آبی و اسید سالیسیلیک نشان داد، بیشترین میزان فنل کل در تنش شدید کم‌آبی (۴۰ درصد آب قابل دسترس) و با غلظت ۲ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و کمترین آن در مشاهده شد. اسید سالیسیلیک در همه سطوح تنش کم‌آبی میزان فنل کل را افزایش داد (شکل ۹).

مشاهده شده است، در شرایط تنش کم‌آبی فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی در گیاهان متحمل بیش از گیاهان حساس است، از این‌رو به نظر می‌رسد آنزیم‌های پاداکسندگی در افزایش تحمل گیاهان به تنش کم‌آبی نقش مهمی دارند (Hatamzadeh *et al.*, 2015). نتایج بررسی‌های اخیر نشان داد، اسید سالیسیلیک در پاسخ‌های گیاهی به تنش شوری و اسمزی نقش مهمی را در آسیب‌های ناشی از گونه‌های اکسیژن فعال بازی می‌کند (Borsanio *et al.*, 2001). محققان در نتایج بررسی‌های خود روی دو گیاه



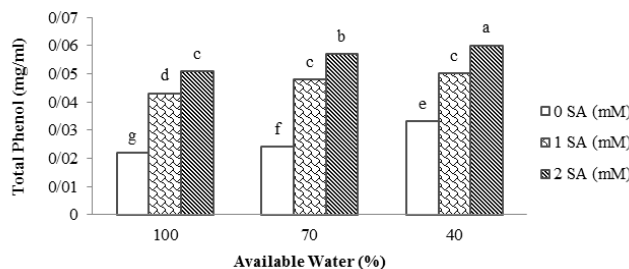
شکل ۷. برهمکنش تنش کم‌آبی و اسید سالیسیلیک بر میزان پرولین چمن آفریقایی. در هر نمودار میانگین‌های دارای حرف مشترک اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند.

Figure 7. Interaction between water deficit stress and salicylic acid on proline content of bermudagrass. Values followed by the same letters were not significantly different at 5% level (DMRT).



شکل ۸. برهمکنش تنش کم‌آبی و اسید سالیسیلیک بر فعالیت پاداکسندگی کل برگ چمن آفریقایی. در هر نمودار میانگین‌های دارای حرف مشترک اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند.

Figure 8. Interaction between water deficit stress and salicylic acid on antioxidant capacity of bermudagrass. Values followed by the same letters were not significantly different at 5% level (DMRT).



شکل ۹. برهمکنش تنش کم‌آبی و اسید سالیسیلیک بر فنل کل برگ چمن آفریقایی. در هر نمودار میانگین‌های دارای حرف مشترک اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند.

Figure 9. Interaction between water deficit stress and salicylic acid on total phenol of bermudagrass. Values followed by the same letters were not significantly different at 5% level (DMRT).

۱۰ به ۵۰ میکرو مول سبب افزایش میزان فنل شد (Mehrabani *et al.*, 2012).

در مجموع با توجه به تأثیر اسید سالیسیلیک در کاهش میزان نشت یونی و حفظ محتوای نسبی آب برگ و افزایش میزان سبزینه، پرولین، ظرفیت پاداکسندگی، فنل کل و وزن خشک ریشه و شاخساره می‌توان پیشنهاد کرد که کاربرد این ماده در چمن آفریقایی تأثیر تنش کم‌آبی را کاهش داد به طوری که اثرگذاری منفی ناشی از تنش کم‌آبی را کاهش داد. بنا بر نتایج به دست آمده در این پژوهش کاربرد ۲ میلی مولار اسید سالیسیلیک نتیجه بهتری از ۱ میلی مولار داشت و این احتمال وجود دارد که غلظت‌های بالاتر از ۲ میلی مولار مفیدتر باشد. البته حجم مصرفی محلول در واحد سطح هم باید مورد توجه قرار گیرد. بنابراین با توجه به ارزان قیمت بودن اسید سالیسیلیک می‌توان با کاربرد این هورمون آبیاری کمتر را نیز توصیه کرد.

ترکیب‌های فنلی با دادن الکترون به آنزیم‌های پراکسیداز و سم‌زدایی آب‌اکسیژنه تولید شده، می‌توانند در یاخته به‌عنوان عامل پاداکسنده عمل کنند (Sakihama *et al.*, 2002). افزایش میزان ترکیب‌های فنلی احتمال دارد به دلیل نقش پاداکسندگی آن‌ها در برابر گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن باشد. به همین دلیل می‌توانند متوقف‌کننده زنجیره پراکسیداسیون چربی‌ها و باعث ثبات غشاها باشند (Sakihama *et al.*, 2002). سالیسیلیک اسید به‌عنوان یک جزء پیام‌رسان کلیدی در فعال‌سازی پاسخ‌های اختصاصی دفاعی گیاه شناخته می‌شود. پاسخ‌های دفاعی گیاه منجر به زیست‌ساخت و تجمع انواع ترکیب‌های ثانویه از جمله ترکیب‌های فنلی گیاهی می‌شود (Mueller *et al.*, 1993). برابر با این پژوهش گزارش شد در بررسی میزان فنل کل در گیاه چای کوهی^۱ از طریق کشت پینه (کالوس)، با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک از

REFERENCES

- Alvarz, S., Navarro, A., Banon, S. & Sanchez-Blanco, M. J. (2009). Regulated deficit irrigation in potted *Dianthus* plants Effects of severe and moderate water stress on growth and physiological responses. *Scientia Horticulture*, 122, 579-585.
- Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidases in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24(5), 1-15.
- Arghavani, M. (2010). *A physiological and morphological study on Lolium perenne L. and Poa pratensis L. as affected by trinexapac-ethyl, mowing management and nitrogen source under salt stress conditions*. Ph.D. Thesis.. Faculty of Agriculture Tehran University, Iran.
- Atkinson, C. H. J., Poloicarp, M., Webster, A. D. & Kuden, A. M. (1999). Drought tolerance of apple rootstocks: Production and partitioning of dry matter. *Journal Plant and Soil*, 206, 223-235.
- Avancini, G., Abreu, I. N., Saldana, M. D. A., Mohamed, R. S. & Mazzafera, P. (2003). Induction of pilocarpine formation in jaborandi leaves by salicylic acid and methylasmonate. *Phytochemistry*, 63, 171-175.
- Bakhshi, D. & Arakawa, O. (2006). Induction of phenolic compounds biosynthesis with light irradiation in the flesh of red and yellow apples. *Journal of Applied Horticulture*, 8, 101-104.
- Barker, D. J., Sullivan, C. Y. & Moser, L. E. (1993). Water deficit effects on osmotic potential, cell wall elasticity and praline in five forage grasses. *Agronomy Journal*, 85, 270-275.
- Barrs, H. D. & Weatherley, P. E. (1962). A re-examination of the relative turgidity technique for the estimating of water deficits in leaves. *Australian Journal of Biological Sciences*, 15, 413-428.
- Bates, L., Waldern, R. P. & Teare, D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205-207.
- Bhatt, R. M. & Srinivasa-Rao, N. K. (2005). Influence of pod load on response of okra to water stress. *Journal Plant Physiology*, 10, 54-59.
- Borsanio, F., Balpuestsa, V. & Botella, M. A. (2001). Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in *Arabidopsis* seedling. *Plant Physiology*, 126, 1024-1030.
- Burguires, E., McCu, P., Kwon, Y. I. & Shetty, K., (2007). Effect of vitamin C and folic acid on seed vigour respondent phenolic-linked antioxidant activity. *Bioresource Technology*, 98(7), 1393-1404.

13. Eberhardt, M. V., Lee, C. Y. & Liu, R. H. (2000). Antioxidant activity of fresh apples. *Nature*, 405, 903-904.
14. El-Tayeb, M. A. (2005). Response of barley grain to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regul*, 42, 215-224.
15. FAO. (2000). *Deficit irrigation practices. Food and Agriculture Organization (FAO). Rome. Italy.* Water Reports, 22, 102.
16. Fu, J., Fry, J. & Huang, B. (2004). Minimum water requirements of four turfgrass in the transition zone. *Horticulture Science*, 39(7), 1740-1744.
17. Guo, Z., Ou, W., Lu, S. & Zhong, Q. (2006). Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. *Plant Physiology Biochemistry*, 44, 828-836.
18. Hatamzadeh, A., Molaahmad Nalouisi, A., Ghasemnezhad, M. & Biglouei, M. H. (2015). The potential of nitric oxide for reducing oxidative damage induced by drought stress in two turfgrass species, creeping bentgrass and tall fescue. *Grass and Forage Science*, 70(3), 538-548.
19. Hayat, S., Fariduddin, Q., Ali, B. & Ahmad, A. (2005). Effect of salicylic acid on growth and enzyme activities of wheat seedlings. *Acta Agronomica Hungarica*. 53,433-437.
20. Huang, B., Duncan, R. R. & Carrow, R. N. (1997). Drought resistance mechanisms of seven warm season Turfgrasses under surface soil drying: II. Root aspect. *Crop Science*, 37, 1863-1869.
21. Irrigoyen, J. H., Emerich, D. W. & Sanchez Diaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentration of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Journal Physiologia Plantarum*, 84, 55-66.
22. Jinrong, L., Xiaorong, X., Jianxiong, D., Jixiong, S. & Xiaomin, B. (2008). Effects of simultaneous drought and heat stress on Kentucky bluegrass. *Scientia Horticulturae*, 115, 190-195.
23. Kafi, M. & Mahdavi Damghani, A. (2007). *Resistance mechanisms of plants to environmental stresses (Translation)*. University of Mashhad.
24. KaviKishor, P. B. & Sreenivasulu, N. (2014). Is proline accumulation per se correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue. *Plant, Cell and Environment*, 37, 300-311.
25. Pessarakli, M. (1999). *Handbook of Plant and Crop Stress*, Marcel Dekker, Inc., New York.
26. Mansour, M. M. F. (2000). Nitrogen containing compounds and adaptation of plants to salinity stress. *Plant Biology*, 43, 491-500.
27. Mehrabani, B., Nazeri, S. & Piri, Kh. (2012). Considering total phenol content in plants *Stachys (Stachys lavandulifolia Vahi)* via callus culture and the possibility of increasing the use of stimulants. *Journal of Agricultural biotechnology*, 2, 77-88. (in Farsi)
28. Mehrabiyan Moghaddam, N., Arvin, M. J., Khajavinezhad, Gh. & Maghsodi, K. (2011). Effect of Salicylic Acid on growth and forage and grain yield of Maize under drought stress in field conditions. *Seed and Plant Production Journal*, 27(1), 41-55. (in Farsi)
29. Movahhedi Dehnavi, M., Modarres Sanavi, A. M., Soroush-Zade, A. & Jalali, M. (2004). Changes of proline, total soluble sugars, chlorophyll (SPAD) content and chlorophyll fluorescence in safflower varieties under drought stress and foliar application of zinc and maganese. *Biaban*, 9(1), 93-110. (in Farsi)
30. Mueller, M. E., Gruenthal, M. & Olson, W. L. (1993). Gabapentin for relief of upper motor neuron symptoms in multiple sclerosis. *Archives Physical Medicine Rehabilitation*, 78, 521-4.
31. Naghizadeh, M. & gholami, M. (2012). Effect of seed priming with salicylic acid on yield and yield components under drought stress conditions. *Agroecology Journal*, 6(1), 162-170. (in Farsi)
32. Rahman, M. U., Gul, S. & Ahmad, I. (2004). Effects of water stress on growth and photosynthetic pigments of corn (*Zea mayz L.*) cultivars. *International Journal Agriculture Biology*, 4, 652-655.
33. Sakihama, Y., Cohen, M., Grace, S. & Yamasaki, H. (2002). Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolic-induced oxidative damage mediated by metals in plant. *Toxicology*, 177, 67-80.
34. Sandoval-Yepiz, M. R. (2004). Reguladores de crecimiento XXIII: Efecto del acido salicilico en la biomasa Del cempazchitl (*Tagetes erecta*). *Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico Agropecuario, Conkal, Yucatan, México*.
35. Sawada, H., Shim, I. S. & Usui, K. (2006). Induction of benzoic acid 2-hydroxylase and salicylic acid biosynthesis-modulation by salt stress in rice seedling. *Plant Science*, 171, 263-270.
36. Seevers, P. M. & Daly, J. M. (1970). Studies on wheat stem rust resistance control at sr6 locus. 1- The role of phenolic compounds. *Phytopathology*, 6, 1322-1328.
37. Senaratna, T., Touchell, D., Bunn, E. & Dixon, K. (2000). Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Plant Growth Regulation*, 30, 157-161.
38. Shakirova, F. M., Sakhabutdinova, A. R., Bezrukova, M. V. & Fatkhutdinova, D. R. (2003). Changes in the hormonal status of wheat seedling induced by salicylic acid and salinity. *Plant Science*, 164, 317-322.
39. Singh, B. & Usha, K. (2003). Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. *Plant Growth Regulation*, 39, 141-137.

40. Sullivan, C. Y. & Ross, W. M. (1979). Selection for drought and heat resistance in grain sorghum. In: H. Mussel & R. C Staoles (eds), *Stress Physiology in Crop Plants*. (pp.263-281.). John Wiley and Sons, New York.
41. Taiz, L. & Zeiger, E. (2006). *Plant Physiology*. (4th Ed.). Sinauer Association, Inc, Publishers Sunderland, Massachusetts, 764 pages.
42. Tehranifar, A., Salahvarzi, Y., Gazanchian, A. & Aroei, H. (2009). Considering responses of native and imported grasses in how to avoid drought stress. *Journal of Horticultural Science*, 23(1), 1-9. (in Farsi)
43. Viera, H. J., Bergamaschi, H., Angelocci, L. R. & Libardi, P. L. (1991). Performance of two bean cultivars under two water availability regimes. II. Stomatal resistance to vapour diffusion, transpiration flux density and water potential in the plant. *Pesquisa Agropecuària Brasileira*, 9, 1035-1045.