

تأثیر محلول پاشی سلنیم بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی رزماری تحت تنش خشکی

امین‌اله شمسانی^۱، مهدی آران^{۲*}، براتعلی فاخری^۳

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد باغبانی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۲- گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۳- گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

* مسئول مکاتبه: Mehdiaran@uoz.ac.ir

DOI: 10.22034/csrar.2021.257878.1069

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۹/۲۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۲۷

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر محلول پاشی سلنیم بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی رزماری تحت تیمارهای آبیاری، آزمایشی در سال ۹۷-۱۳۹۶ در گلخانه پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل تیمارهای آبیاری در دو سطح (۳۰ و ۸۰ درصد ظرفیت زراعی) و محلول پاشی سلنیم در چهار سطح (صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بود. نتایج نشان داد که میزان محتوای نسبی آب برگ، کاروتنوئید، پروتئین و آنزیم آسکوربات پراکسیداز در شرایط تنش با محلول پاشی سلنیم افزایش یافت و بیشترین میزان این صفات با محلول پاشی سلنیم در غلظت‌های ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به دست آمد. محلول پاشی سلنیم خصوصاً در غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر در شرایط تنش میزان کربوهیدرات محلول، فنل کل، آنزیم گایاکول پراکسیداز، آنزیم پلی‌فنل اکسیداز و درصد اسانس را افزایش داد. میزان نشت یونی، پرولین و آنزیم کاتالاز با اعمال تنش افزایش و میزان کلروفیل a، b و کل کاهش یافت. میزان کلروفیل a، b و کل، پرولین و آنزیم کاتالاز با محلول پاشی سلنیم خصوصاً در غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر افزایش یافت و میزان نشت یونی با محلول پاشی سلنیم خصوصاً در غلظت‌های ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کاهش یافت. به‌طور کلی محلول پاشی سلنیم با افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (فنل، فلاونوئید و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان)، تنظیم‌کننده‌های اسمزی (پرولین و کربوهیدرات محلول) و رنگیزه‌های فتوسنتزی باعث تعدیل اثرات تنش و افزایش مقاومت به خشکی در گیاه رزماری شد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پرولین، درصد اسانس، گیاه دارویی

مقدمه

خشک و نیمه‌خشک ایران می‌باشد. اثر تنش خشکی بر رشد و عملکرد گیاهان بستگی به مدت‌زمان، دوام و شدت تنش و ژنوتیپ گیاه دارد (Bannayan et al., 2008). تنش خشکی با تغییر در محتوای کلروفیل، فتوسنتز گیاه، فعالیت‌های فیتوشیمیایی و فعالیت آنزیم‌های چرخه کلورین را کاهش می‌دهد (Monakhova and Chernayadev, 2002). اولین اثر تنش خشکی می‌تواند کاهش فشار تورژسانس باشد که سرعت رشد سلول و اندازه نهائی آن را کاهش می‌دهد و احتمالاً حساس‌ترین فرایند سلولی به تنش می‌باشد (Bhatt and Srinivasa-Rao, 2005). گیاهان برای مقابله با تنش خشکی، پاسخ‌ها و سازش‌های متنوعی را در سطوح مختلف مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی نشان می‌دهند (Munns and Tester, 2008). گیاهان در شرایط تنش خشکی، با استفاده از برخی مکانیسم‌های

رزماری گیاهی از خانواده نعنائیان، بوته‌ای، معطر، چندساله و همیشه سبز می‌باشد (Wang et al., 2008). این گیاه از گذشته‌های دور به دلیل دارا بودن خواص دارویی فراوان مورد استفاده قرار می‌گرفته و در طب سنتی به‌عنوان کاهش‌دهنده التهاب، ضد درد، گرفتگی عضلات و سم‌زدایی بدن استفاده می‌شود (McKay et al., 2006). اسانس رزماری، دارای اثرات ضد روماتیسمی بوده، باعث افزایش گردش خون در بدن شده و دردهای عصبی را کاهش می‌دهد (Luqman et al., 2007). همچنین این گیاه به دلیل دارا بودن ترکیبات فنلی زیاد، خاصیت ضد میکروبی بالایی علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی دارد (Tavassoli et al., 2011).

تنش خشکی یکی از عوامل اصلی در کاهش تولید محصولات کشاورزی در بسیاری از نقاط دنیا به‌ویژه مناطق

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۹۷-۱۳۹۶ به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و پنج گلدان برای هر تکرار در گلخانه پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل (چاه نیمه) اجرا گردید. در این تحقیق نشاهای گیاه رزماری از پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل، تهیه و در گلدان‌های پلاستیکی ۸ کیلوگرمی با قطر دهانه ۴۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر کشت شدند. خاک مورد استفاده مخلوطی از ماسه الک شده، خاک زراعی و خاک‌برگ به نسبت مساوی و بافت شنی - لومی بود.

فاکتورهای آزمایش شامل، تیمارهای آبیاری در دو سطح به صورت شاهد (۸۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) و محلول‌پاشی سلنیم در چهار سطح صفر، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از منبع سلنات سدیم (Na_2SeO_4) بود. در طول مدت آزمایش دمای میانگین گلخانه در روز ۳۰ درجه و شب ۲۲ درجه سانتی‌گراد بود.

برای اعمال تیمارهای آبیاری (به مدت دو ماه) از روش وزنی استفاده شد. با وزن کردن روزانه گلدان‌ها، وضعیت رطوبتی آنها تعیین و بدین صورت نقصان رطوبتی گلدان‌ها با اضافه نمودن آب به حد تنش موردنظر جبران گردید. به منظور به حداقل رساندن خطا در محاسبه میزان آب موردنیاز و حذف اثر افزایشی وزن گیاه و اطمینان از تنظیم رطوبت گلدان‌ها به روش وزنی، از گلدان‌های فاقد گیاه و هم‌وزن با گلدان‌های آزمایشی استفاده گردید. تیمارهای محلول‌پاشی پس از شروع تیمارهای آبیاری، در دو مرحله به فاصله ۳۰ روز انجام شدند. در پایان آزمایش ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی به شرح زیر انجام گردید: برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ (RWC)^۱، ابتدا از برگ‌های کامل و جوان، نمونه‌های برگی تهیه و از آنها ۵ قطعه به مساحت تقریبی ۹-۱۰ میلی‌متر مربع تهیه و سریعاً وزن تازه آنها (WF) تعیین گردید. سپس تکه‌های برگ در پتری‌های درب‌دار داخل آب مقطر در شرایط آزمایشگاه و نور کم به مدت ۴ ساعت شناور شدند، پس از این مدت تکه‌های برگ از آب مقطر خارج و سطح آن‌ها به آرامی به وسیله دستمال کاغذی خشک و سریعاً وزن آماس آن‌ها (WT) تعیین شد. بعد از آن نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد در آون قرار داده شدند

فیزیولوژیکی برای افزایش جذب آب، محتوای آب بافت‌های خود را تنظیم می‌کنند (Jangpromma *et al.*, 2010). کاهش میزان آبیاری تا یک سوم ظرفیت زراعی در گیاه رزماری تأثیر معنی‌داری در کاهش شاخص‌های رشدی و عملکرد اسانس و افزایش درصد اسانس داشت (Dehghani Bidgoli *et al.*, 2018). تنش خشکی در گیاه رزماری به طور معنی‌داری باعث کاهش محتوای نسبی آب برگ و محتوای کلروفیل (Munne-Bosch and Alegre, 2000; Hassan *et al.*, 2013) و افزایش میزان کربوهیدرات شد (Hassan *et al.*, 2013).

نقش سلنیم در کاهش اثرات تنش‌های محیطی در انسان و حیوانات به طور گسترده و در گیاهان به میزان کمتر مورد بررسی قرار گرفته است (Mistry *et al.*, 2012). سلنیم در ترکیب با پروتئین‌ها موادی به نام سلنوپروتئین تولید می‌کند که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله آن‌ها می‌باشند (Xue *et al.*, 2001). سلنیم دارای اثر آنتی‌اکسیدانی بوده و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و تحمل گیاه در شرایط تنش خشکی را افزایش می‌دهد (Qiang-Yun, 2008). کاربرد سلنیم به صورت محلول‌پاشی به میزان قابل‌توجهی عوارض جانبی اثرات تنش خشکی در بادرشبو را کاهش داده است (Salimi *et al.*, 2019). این عنصر در شرایط تنش خشکی باعث تنظیم وضعیت آب گیاه از طریق افزایش ظرفیت جذب آب توسط سیستم ریشه می‌شود (Kuznetsov *et al.*, 2003). محلول‌پاشی سلنیم در شرایط تنش خشکی در گیاه دارویی کدوی پوست کاغذی باعث افزایش میزان محتوای نسبی آب برگ، پروتئین و آنزیم‌های کاتالاز، گاپاکول پراکسیداز و آسکوربیک پراکسیداز نسبت به تیمار شاهد شد (Naeemi *et al.*, 2012). سلنیم از کاهش کلروفیل در شرایط تنش خشکی در سبب‌زمینی جلوگیری کرده و با بهبود فتوسنتز و تأخیر در پیری برگ‌ها سبب افزایش تولید آسیمیلات‌ها و انتقال آن‌ها به دانه‌ها و در نتیجه افزایش عملکرد شد (Seppanen *et al.*, 2003). باتوجه به نیاز و تولید متابولیت‌های ثانویه جهت تولید داروهای گیاهی و کمبود آب برای کشت گیاهان دارویی، پژوهش حاضر با هدف مطالعه اثر تنش خشکی و همچنین تأثیر محلول‌پاشی سلنیم در تعدیل اثرات تنش خشکی روی گیاه دارویی رزماری انجام گرفت.

1. Relative Water Content

آنزیم کاتالاز حاوی بافر فسفات پتاسیم (pH= ۷، ۵۰ mM)، پراکسید هیدروژن ۱۵ mM و عصاره آنزیم بود. با افزودن پراکسید هیدروژن به مخلوط واکنش، واکنش شروع و کاهش در جذب آب اکسیژنه در طول موج ۲۴۰ نانومتر و به مدت ۶۰ ثانیه با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (Dhindsa et al., 1981).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز از روش زانگ و همکاران (۲۰۰۵) استفاده شد. فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با استفاده از پیش ماده گایاکول اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش حاوی بافر پتاسیم فسفات (pH= ۷، ۵۰ mM)، ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول ۲ درصد بود که با ۲۰ میکرولیتر عصاره گیاهی و ۱۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن مخلوط شد و میزان جذب نور در طول موج ۴۷۰ نانومتر در مدت ۶۰ ثانیه، ثبت گردید (Zhang et al., 2005).

مخلوط واکنش سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز حاوی بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH= ۷)، آسکوربات ۰/۵ میلی‌مولار، پراکسید هیدروژن ۰/۱ میلی‌مولار و ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت آسکوربات پراکسیداز بر اساس اکسیداسیون آسکوربیک اسید و کاهش در جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت دو دقیقه اندازه‌گیری شد (Nakano and Asada, 1981).

همچنین میزان فنل (McDonald et al., 2001)، فلاونوئید (Chang et al., 2002)، پروتئین کل (Bradford, 1976)، آنزیم پلی‌فنل اکسیداز (Janovitz-Klapp et al., 1990) و درصد اسانس (توسط کلونجر) اندازه‌گیری شد. آنالیز داده‌ها در این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج‌درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

محتوای نسبی آب برگ

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده تیمارهای آبیاری و محلول پاشی سلنیم در سطح احتمال یک درصد و اثرات متقابل تیمارهای آبیاری و محلول پاشی سلنیم در سطح احتمال پنج درصد بر میزان RWC معنی‌دار شد (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در شرایط آبیاری کامل محلول پاشی سلنیم تأثیر معنی‌داری بر میزان محتوای نسبی آب برگ نداشت. در شرایط تنش آبیاری میزان محتوای نسبی آب برگ کاهش معنی‌داری را نشان داد و

و وزن خشک آن‌ها (WD) گرفته شد و سپس محتوای نسبی آب برگ از رابطه زیر محاسبه شد (Filella et al., 1998):

$$RWC (\%) = [(WF - WD) / (WT - WD)] \times 100 \quad (1)$$

شاخص نشت یونی به وسیله اندازه‌گیری هدایت الکتریکی عصاره نشت شده از برگ‌ها، در آب مقطر تعیین شد. ابتدا ۰/۱ گرم نمونه برگ به اندازه‌های یکسان تهیه گردیده و در ظروف حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده شدند. بعد از آن EC آن‌ها با استفاده از دستگاه هدایت سنج الکتریکی اندازه‌گیری شد (EC1). سپس نمونه‌ها در حمام آب ۱۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه حرارت داده شده و به وسیله دستگاه هدایت سنج الکتریکی EC آن اندازه‌گیری شد (EC2) (Sairam, 1994).

برای سنجش میزان کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها ابتدا ۰/۲ گرم برگ با ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۹۹ درصد در هاون چینی سائیده شده و سپس محلول حاصل به مدت ۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ شده و سپس جذب محلول رویی جهت تعیین میزان کلروفیل‌ها و کاروتنوئید توسط اسپکتروفتومتر (UV-vis spectrophotometer Model Gold 54-USA) در طول موج‌های ۶۵۳، ۶۶۶ و ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید. به منظور اندازه‌گیری میزان قندهای محلول کل، به عصاره‌های حاصل از ۰/۵ گرم برگ به همراه ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد، ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون اضافه و پس از اعمال ۱۰ دقیقه دمای آب جوش، میزان جذب نور در طول موج ۶۳۰ نانومتر قرائت گردید (Hedge and Hofreiter, 1962). برای تعیین میزان پرولین از دستگاه اسپکتروفتومتر و روش پیشنهادی Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد (Bates et al., 1973).

به منظور اندازه‌گیری آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز ۵۰۰ میلی‌گرم برگ پودر شده در نیتروژن مایع با ۱ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات (pH= ۷/۵، ۵۰ mM) خیلی سرد حاوی ۵۰ میلی‌مولار EDTA و پلی‌وینیل پیرولیدین یک درصد هموژنایز شده و محلول همگن شده برای مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ °C و ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول روشن‌رنگ به دست آمده برای تعیین فعالیت آنزیم‌ها بکار رفت (Gapinska et al., 2008).

فعالیت آنزیم کاتالاز به وسیله‌ی اندازه‌گیری سرعت ناپدید شدن پراکسید هیدروژن ارزیابی شد. ۳ میلی‌لیتر مخلوط واکنش سنجش

درصد بر میزان نشت یونی معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تنش آبیاری باعث افزایش درصد نشت یونی نسبت به تیمار آبیاری کامل شد. تیمارهای محلول‌پاشی سلنیم باعث کاهش معنی‌دار درصد نشت یونی نسبت به شاهد شد و کمترین میزان این صفت در تیمارهای سلنیم با غلظت ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (به ترتیب ۱۹/۶۹ و ۱۸/۳۲ درصد) به دست آمد (جدول ۳). غشاهای بیولوژیکی نخستین هدف بسیاری از تنش‌های غیر زنده هستند. حفظ و ثبات غشاهای تحت تنش آبی، جزء اصلی تحمل خشکی در گیاهان است (Bajji et al., 2002). پایداری غشاء سلولی و متعاقب آن آسیب به غشاء سلولی در شرایط تنش، شاخص فیزیولوژیکی است که به طور گسترده‌ای برای ارزیابی تحمل به خشکی به کار می‌رود (Premachandra et al., 1996). افزایش نشت یونی به دلیل خسارت وارده به غشاء سلولی و کاهش مقاومت آن گزارش شده است (Gunes et al., 2008). در ارزیابی مقاومت به خشکی ارقام جو، تخریب کمتری در غشاهای سلولی ارقام مقاوم به خشکی مشاهده شد (Kocheva and Georgive, 2003). در ارقام کانولا در شرایط تنش خشکی، محلول‌پاشی سلنیم باعث کاهش نشت الکترولیت‌ها شد (Zahedi et al., 2012). سلنیم در سلول‌های گیاهی با افزایش میزان جذب پتاسیم، باعث افزایش پایداری غشاء سلولی می‌گردد (Kuznetsov et al., 2003).

محلول‌پاشی سلنیم با غلظت‌های ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث بهبود محتوای رطوبت نسبی برگ نسبت به شاهد شد به طوری که بیشترین میزان محتوای نسبی آب برگ (به ترتیب ۵۵/۱۷ و ۵۱/۴ درصد) در این دو تیمار مشاهده شد (جدول ۲). مطابق با نتایج این پژوهش محتوای نسبی آب برگ و پتانسیل تورژسانس گلرنگ بهاره تحت رژیم‌های مختلف آبیاری کاهش یافت (Singh et al., 2016). خشکی نه تنها از طریق کاهش فشار آماس و کاهش پتانسیل آبی کل روابط آبی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد، بلکه باعث کاهش محتوای نسبی آب برگ، بسته شدن روزنه‌ها، محدودیت تبادلات گازی، کاهش فتوسنتز و کاهش تعرق نیز می‌شود (Guo et al., 2014). تیمار سلنیم در شرایط تنش خشکی در زیتون محتوای نسبی آب برگ را به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد افزایش داد (Proietti et al., 2013) که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. محلول‌پاشی سلنیم در کدوی پوست کاغذی در همه تیمارهای آبیاری میزان محتوای نسبی آب برگ را افزایش داد و کمترین میزان آن در تیمار عدم کاربرد سلنیم و در شرایط تنش کم‌آبی به دست آمد (Naeemi et al., 2012). همچنین کاربرد سلنیم در گیاه فلفل تند در شرایط تنش خشکی باعث افزایش محتوای نسبی آب برگ نسبت به تیمار شاهد شد (Shekari et al., 2015).

نشت یونی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده تیمارهای آبیاری و محلول‌پاشی سلنیم در سطح احتمال یک

جدول ۱- میانگین مربعات ویژگی‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی رزماری تحت تأثیر تنش خشکی و محلول‌پاشی سلنیم
Table 1- Mean squares of biochemical and physiological characteristics of rosemary under drought stress and selenium foliar application

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df	محتوای نسبی آب برگ RWC	نشت یونی Electrolyte leakage	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll	کاروتنوئید Carotenoid
آبیاری Irrigation	1	3366.08**	268.43**	0.57**	0.083**	1.096**	4.05**
محلول‌پاشی Foliar application	3	89.63**	57.87**	0.20**	0.013**	0.301**	0.317*
آبیاری×محلول‌پاشی Irrigation×Foliar application	3	57.60*	9.19 ^{ns}	0.013 ^{ns}	0.005 ^{ns}	0.034 ^{ns}	0.25*
خطا Error	16	11.07	4.31	0.017	0.0016	0.02	0.12
ضریب تغییرات CV (%)	-	5.57	9.66	10.29	6.37	7.75	13.39

^{ns}: غیر معنی‌داری، * و ** به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

ns, *, and ** is no significant, significant at 5 and 1% probability level, respectively.

رنگیزه‌های فتوسنتزی

میلی گرم بر لیتر (به ترتیب ۳/۲۷ و ۳/۴۷ میلی گرم بر گرم وزن تر) به دست آمد (جدول ۲). کاهش در میزان غلظت کلروفیل در شرایط تنش خشکی، ناشی از تجزیه کلروفیل در اثر افزایش میزان آنزیم کلروفیلاز، پراکسیداز و ترکیبات فنلی می‌باشد. از طرف دیگر تنش باعث افزایش غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد مانند اتیلن و اسید آبسزیک می‌شود که سنتز آنزیم کلروفیلاز را تحریک می‌کند و کلروفیل تحت تأثیر این آنزیم تجزیه می‌شود (Orabi et al., 2010). در گیاهچه‌های گندم (Yao et al., 2011) و اسفناج (Sharma et al., 2010) تیمار شده با سلنیم محتوای کلروفیل a و b افزایش یافتند. در تنش‌های شدید میزان کاروتنوئید به‌عنوان عامل محافظت‌کننده کلروفیل در برابر اکسیداسیون نوری، افزایش می‌یابد تا از تخریب بیشتر کلروفیل جلوگیری کند. کاروتنوئید با جذب رادیکال‌های فعال اکسیژن سبب محافظت کلروفیل در برابر تنش می‌شود (Tewari et al., 2008).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده تیمارهای آبیاری بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در سطح احتمال یک درصد و اثرات ساده تیمارهای محلول پاشی سلنیم بر میزان کلروفیل a, b و کل در سطح احتمال یک درصد و بر میزان کاروتنوئید در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد. اثرات متقابل تیمارهای آبیاری و محلول پاشی سلنیم بر میزان کاروتنوئید در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). با اعمال تنش آبیاری میزان کلروفیل a, b و کل کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد. تیمارهای محلول پاشی سلنیم باعث افزایش میزان این رنگیزه‌ها شد به طوری که بیشترین میزان آنها در تیمار ۷۵ میلی گرم بر لیتر به دست آمد (جدول ۳). در شرایط آبیاری کامل محلول پاشی سلنیم تأثیر معنی‌داری بر میزان کاروتنوئید نداشت ولی در شرایط تنش آبیاری، محلول پاشی سلنیم باعث افزایش میزان کاروتنوئید شد و بیشترین میزان آن در تیمارهای محلول پاشی ۷۵ و ۱۰۰

جدول ۲- اثر محلول پاشی سلنیم بر برخی از ویژگی‌های رزماری تحت تأثیر تیمارهای آبیاری
Table 2- Effect of selenium foliar application on some rosemary properties under irrigation treatments

آبیاری Irrigation (%F.C)	محلول پاشی سلنیم Selenium foliar application (mg/l)	محتوای نسبی آب برگ RWC (%)	کاروتنوئید Carotenoid (mg/g FW)	اسانس Essential oil (%)	کربوهیدرات محلول Soluble Carbohydrate (mg/g FW)	فنل کل Total phenol (mg/g FW)
80	0	70.32a	2.31cd	0.28e	35.27c	11.66d
	50	70.25a	2.17d	0.35d	31.12c	15.11bc
	75	70.01a	2.08d	0.37d	32.14c	12.57cd
	100	75.42a	2.34cd	0.34d	42.83c	15.51b
30	0	41.91c	2.91b	0.51c	58.14b	14.69bc
	50	42.82c	2.53c	0.55ab	66.12ab	15.62b
	75	55.17b	3.27a	0.58a	75.08a	19.71a
	100	51.40b	3.47a	0.53bc	55.21b	15.13bc

حروف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار نیست
Same letters in each column are not significant at the 5% level based on the Duncan Multi-Range Test (DMRT).

درصد اسانس

درصد) در تیمار آبیاری کامل و بدون محلول پاشی به دست آمد (جدول ۲). در اکثر گیاهان دارویی متابولیت‌های بیشتری در شرایط تنش خشکی تولید شده که باعث جلوگیری از عمل اکسیداسیون در سلول‌ها می‌شوند (Manieval et al., 2001). با کاهش میزان آبیاری درصد اسانس در گیاهان رزماری افزایش یافت (Dehghani Bidgoli et al., 2018). همچنین درصد اسانس گیاه دارویی پونه کوهی مکزیک با اعمال تنش خشکی افزایش معنی‌داری داشت (Dunford and Vazquez, 2005).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده تیمارهای آبیاری و محلول پاشی سلنیم در سطح احتمال یک درصد و اثرات متقابل تیمارهای آبیاری و محلول پاشی سلنیم در سطح احتمال پنج درصد بر میزان درصد اسانس معنی‌دار شد (جدول ۴). با اعمال تیمار تنش خشکی و محلول پاشی سلنیم درصد اسانس افزایش معنی‌داری را نشان داد، به طوری که بیشترین میزان اسانس (۵۸/۰ درصد) در تیمار تنش و محلول پاشی ۷۵ میلی گرم بر لیتر سلنیم و کمترین میزان آن (۲۸/۰

جدول ۳- اثر تیمارهای آبیاری و محلول پاشی سلنیم بر برخی از ویژگی‌های رزماری

Table 3- Effect of irrigation and selenium foliar application treatments on some rosemary traits

تیمار Treatment	نشت یونی Electrolyte leakage (%)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg/g FW)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg/g FW)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg/g FW)	پرولین Proline (μmol/g FW)	کاتالاز Catalases (unit/mg pro)
آبیاری Irrigation	80% FC	18.15b	1.44a	0.63a	2.07a	6.80b
	30% FC	24.84a	1.13b	0.51b	1.64b	9.32a
محلول پاشی سلنیم Selenium foliar application (mg/l)	0	25.26a	1.12c	0.50b	1.62c	6.99b
	50	22.73b	1.17c	0.57a	1.74c	7.93ab
	75	19.69c	1.52a	0.61a	2.13a	9.05a
	100	18.32c	1.34b	0.59a	1.94b	8.27ab

حروف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار نیست.

Same letters in each column are not significant at the 5% level based on the Duncan Multi-Range Test (DMRT).

کربوهیدرات‌های محلول نسبت به شاهد شد و بیشترین میزان آن (۷۵/۰۸ میلی‌گرم بر گرم) در تیمار ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر سلنیم به دست آمد (جدول ۲). در شرایط تنش خشکی افزایش تجزیه هیدرات‌های کربن نامحلول و در نتیجه بالا رفتن سطح قندهای محلول، توقف رشد، کاهش سرعت انتقال مواد، سنتز مواد اسمزی از مسیرهای غیر فتوسنتزی و افزایش میزان سنتز سوکروز به دلیل فعال‌سازی آنزیم سوکروز فسفات سنتاز باعث افزایش کربوهیدرات‌های محلول می‌شود (Arndt *et al.*, 2001). میزان کربوهیدرات‌های محلول تحت تأثیر هر دو تیمار سلنیم و خشکی در کلزا افزایش یافت (Hajiboland *et al.*, 2015). سلنیم با افزایش میزان فتوسنتز باعث افزایش کربوهیدرات‌های محلول می‌شود که احتمالاً علاوه بر تحریک رشد عمومی و رشد طولی ریشه‌ها، در حفظ تعادل آبی مؤثر است (Cheraghi *et al.*, 2014).

فنل کل و فلاونوئید

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده تیمارهای آبیاری و اثرات متقابل تیمارهای آبیاری و محلول پاشی سلنیم در سطح احتمال یک درصد و اثرات ساده تیمارهای محلول پاشی سلنیم در سطح احتمال پنج درصد بر میزان فنل کل و فلاونوئید معنی دار شد (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای آبیاری و محلول پاشی نشان داد که تیمار محلول پاشی سلنیم در غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر در شرایط تنش بیشترین میزان فنل کل (۱۹/۷۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) را داشت (جدول ۲). گیاهان در شرایط تنش با تجمع رادیکال‌های آزاد آسیب دیده

پرولین

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده تیمارهای آبیاری در سطح احتمال یک درصد و اثرات ساده تیمارهای محلول پاشی سلنیم در سطح احتمال پنج درصد بر میزان پرولین معنی دار شد (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش میزان پرولین نسبت به شاهد شد. همچنین اعمال تیمارهای محلول پاشی سلنیم باعث افزایش میزان پرولین نسبت به شاهد شد و بیشترین میزان پرولین (۹/۰۵ میلی‌گرم بر گرم) در تیمار ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر سلنیم به دست آمد (جدول ۳). تنش خشکی سبب افزایش معنی داری در غلظت کربوهیدرات و پرولین روی گیاه گشنیز شد (Nourzad *et al.*, 2015). محلول پاشی سلنیم در گندم در شرایط تنش خشکی باعث افزایش معنی داری در محتوای پرولین شد (Yao *et al.*, 2009). سلنیم به وسیله تحریک بیوسنتز پرولین و تولید پراکسیداز نقش آنتی‌اکسیدانی در جهت کاهش غلظت گونه‌های اکسیژن فعال دارد (Kuznetsov *et al.*, 2003).

کربوهیدرات محلول

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده تیمارهای آبیاری و اثرات متقابل تیمارهای آبیاری و محلول پاشی سلنیم در سطح احتمال یک درصد بر میزان کربوهیدرات‌های محلول معنی دار شد (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که اعمال تیمارهای محلول پاشی در شرایط آبیاری کامل تأثیری بر میزان کربوهیدرات‌های محلول نداشت، اما محلول پاشی سلنیم در شرایط تنش باعث افزایش معنی دار میزان

و برای ادامه رشد خود ترکیباتی مانند ترکیبات فنلی که می‌توانند صدمات ناشی از رادیکال‌های آزاد را کاهش دهند، تولید می‌کنند (Gharibi *et al.*, 2012). محلول پاشی سلنیم باعث افزایش غلظت فنل‌ها به‌عنوان ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالاز در برگ‌های گیاه دارویی بادرنجبویه شد (Habibi *et al.*, 2016).

جدول ۴- میانگین مربعات ویژگی‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی رزماری تحت تأثیر تنش خشکی و محلول پاشی سلنیم
Table 4- Mean squares of biochemical and physiological characteristics of rosemary under drought stress and selenium foliar application

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df	اسانس Essential oil	پرولین Proline	کربوهیدرات محلول Soluble Carbohydrate	فنل کل Total phenol	فلاونوئید Flavonoid
آبیاری Irrigation	1	0.26**	38.01**	4802.95**	39.77**	16025.73**
محلول پاشی Foliar application	3	0.0068**	4.39*	51.41 ^{ns}	9.71*	770.24*
آبیاری×محلول پاشی Irrigation× Foliar application	3	0.0038*	2.59 ^{ns}	270.89**	17.02**	978.41*
خطا Error	16	0.00053	1.27	43.86	2.11	249.14
ضریب تغییرات CV (%)	-	5.27	14.01	13.38	9.67	10.69

ns, *, and ** is no significant, significant at 5 and 1% probability level, respectively. غیر معنی‌داری، * و ** به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

این رادیکال‌ها دارند و آنها را پاکسازی می‌کنند (Sangtarash *et al.*, 2009). پیش از آنکه سیستم آنزیمی برای از بین بردن رادیکال‌های آزاد فعال شوند، فلاونوئیدها به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی به‌طور مستقیم در پاک‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن عمل می‌کنند (Jubany *et al.*, 2010). در شرایط تنش میزان فلاونوئید در گیاه دارویی کتان افزایش یافت (Ghorbanli *et al.*, 2012).

بیشترین میزان فلاونوئید (۱۴۵/۴۳ میلی‌گرم کوئرستین بر لیتر) در شرایط آبیاری کامل در تیمار ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر سلنیم به دست آمد. تنش خشکی باعث افزایش میزان فلاونوئید شد اما تیمارهای محلول پاشی در شرایط تنش تأثیر معنی‌داری بر میزان فلاونوئید نسبت به شاهد نداشتند (جدول ۶). فلاونوئیدها با مهار تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن نقش حفاظتی کلیدی در برابر

جدول ۵- میانگین مربعات ویژگی‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی رزماری تحت تأثیر تنش خشکی و محلول پاشی سلنیم
Table 5- Mean squares of biochemical and physiological characteristics of rosemary under drought stress and selenium foliar application

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df	پروتئین Protein	کاتالاز Catalases	گایاکول پراکسیداز Guaiacol Peroxidase	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidases	پلی فنل اکسیداز Polyphenol oxidase
آبیاری Irrigation	1	1291.32**	0.106**	0.017**	0.33**	2.1**
محلول پاشی Foliar application	3	211.17**	0.028**	0.006**	0.07**	0.22**
آبیاری×محلول پاشی Irrigation× Foliar application	3	85.46*	0.003 ^{ns}	0.003*	0.03**	0.15**
خطا Error	16	35.93	0.004	0.0006	0.0007	0.009
ضریب تغییرات CV (%)	-	11.15	13.27	15.24	7.4	10.32

ns, *, and ** is no significant, significant at 5 and 1% probability level, respectively. غیر معنی‌داری، * و ** به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

پروتئین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده تیمارهای آبیاری و محلول‌پاشی سلنیم بر میزان پروتئین و آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز در سطح احتمال یک درصد و اثرات متقابل تیمارهای آبیاری و محلول‌پاشی سلنیم بر میزان پروتئین و آنزیم گایاکول پراکسیداز در سطح احتمال پنج درصد و بر میزان آسکوربات پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۵).

محلول‌پاشی سلنیم در هر دو تیمار آبیاری باعث افزایش میزان پروتئین شد و بیشترین میزان پروتئین (۷۰/۱۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار تنش و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنیم به دست آمد (جدول ۶). تنش خشکی باعث افزایش میزان کاتالاز نسبت به شاهد شد و اعمال تیمارهای محلول‌پاشی سلنیم نیز باعث افزایش معنی‌دار میزان کاتالاز نسبت به شاهد شد، ولی بین غلظت‌های مختلف سلنیم تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۳). تیمارهای محلول‌پاشی سلنیم در شرایط آبیاری کامل تفاوت معنی‌داری را در میزان آنزیم گایاکول پراکسیداز نسبت به شاهد نداشتند ولی در شرایط تنش تیمارهای سلنیم ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش معنی‌دار این آنزیم نسبت به شاهد شد و بیشترین میزان آن (۰/۲۷) واحد بر

میلی‌گرم پروتئین) در تیمار ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر سلنیم بدست آمد. بیشترین میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز در شرایط تنش خشکی و تیمارهای محلول‌پاشی سلنیم با غلظت ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد که نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری را داشتند. همچنین بیشترین میزان آنزیم پلی‌فنل اکسیداز (۱/۵۵) واحد بر میلی‌گرم پروتئین) در تیمار تنش و محلول‌پاشی با ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر سلنیم بدست آمد (جدول ۶). بیشترین مقدار پروتئین دانه نخود (Cheraghi *et al.*, 2014) و بیش‌ترین درصد پروتئین گیاه گلرنگ (Khademi *et al.*, 2015) با محلول‌پاشی سلنیم بدست آمد. سلنیم با تاثیر بر عملکرد آنزیم‌ها و سایر پروتئین‌های وابسته، گیاهان را در مقابل آسیب سلولی ناشی از رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند (Schweizer *et al.*, 2004). تنش خشکی در دو رقم بابونه فعالیت آنزیم کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز را افزایش داد (Nazarli *et al.*, 2015). تیمار گیاه با سلنیم می‌تواند مقاومت گیاه به خشکی را افزایش دهد، به‌طوری‌که این افزایش مقاومت می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان باشد (Seppanen *et al.*, 2003). تیمار سلتات در شرایط تنش خشکی سبب القای سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاه گشنیز گردید و فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان را افزایش داد (Buick *et al.*, 2013).

جدول ۶- اثر محلول‌پاشی سلنیم بر برخی از ویژگی‌های رزماری تحت تاثیر تیمارهای آبیاری
Table 6- Effect of selenium foliar application on some rosemary properties under irrigation treatments

آبیاری Irrigation (F.C %)	محلول‌پاشی سلنیم Selenium foliar application (mg/l)	فلاونوئید Flavonoid (mg Quercetin/l)	پروتئین Protein (mg/g)	گایاکول پراکسیداز Guaiacol Peroxidase (unit/mg pro)	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidases (unit/mg pro)	پلی‌فنل اکسیداز Polyphenol oxidase (unit/mg pro)
	0	97.83d	39.16d	0.13c	0.31c	0.41e
80	50	137.77c	46.07cd	0.14c	0.14e	0.91cd
	75	145.43bc	49.41cd	0.15c	0.38b	0.75d
	100	105.90d	50.22c	0.14c	0.21d	0.41e
30	0	168.59ab	54.88b	0.15c	0.37b	1.00c
	50	171.87ab	55.41bc	0.15c	0.37b	1.05c
	75	171.05ab	64.37ab	0.27a	0.64a	1.55a
	100	182.16a	70.15a	0.20b	0.61a	1.28b

حروف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار نیست.
Same letters in each column are not significant at the 5% level based on the Duncan Multi-Range Test (DMRT).

نتیجه‌گیری کلی

گایاکول پراکسیداز و درصد اسانس را افزایش داد. میزان فلاونوئید در شرایط تنش با محلول پاشی سلنیم افزایش یافت و تفاوتی بین غلظت‌های مختلف سلنیم مشاهده نشد. به‌طور کلی محلول پاشی سلنیم بخصوص در غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر با افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (فنل، فلاونوئید و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان)، تنظیم‌کننده‌های اسمزی (پرولین و کربوهیدرات محلول) و رنگیزه‌های فتوسنتزی باعث تعدیل اثرات تنش و مقاومت به خشکی در گیاه رزماری شد.

سیاسگزار

نویسندگان از دانشگاه زابل به‌خاطر تأمین هزینه‌های این پژوهش (با شماره پژوهانه UOZ-GR-9718-89) تشکر و قدردانی می‌کنند.

نتایج نشان داد که میزان نشت یونی، کاروتنوئید، پرولین، کربوهیدرات محلول، فنل کل، فلاونوئید، پروتئین، آنزیم‌های پلی‌فنل اکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و درصد اسانس در شرایط تنش خشکی افزایش و میزان کلروفیل a، b و کل و محتوای رطوبت نسبی برگ کاهش یافت. نتایج کاربرد محلول پاشی سلنیم نشان داد که محلول پاشی بر صفات مورد بررسی تأثیر معنی‌داری داشت. محتوای رطوبت نسبی برگ، کاروتنوئید، پروتئین و آسکوربات پراکسیداز در شرایط تنش با محلول پاشی سلنیم افزایش یافت و بیشترین میزان این صفات در شرایط تنش و محلول پاشی سلنیم با غلظت ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بدست آمد. محلول پاشی سلنیم خصوصاً در غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر در شرایط تنش میزان کربوهیدرات محلول، فنل کل، آنزیم پلی‌فنل اکسیداز، آنزیم

References

- Bajji, M., Kinet, J. and Lutts, S. 2002. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. *Plant Growth Regulation*, 36: 61-70.
- Bannayan, M., Nadjafi, F., Azizi, M., Tabrizi, L. and Rastgoo, M. 2008. Yield and seed quality of *Plantago ovata* and *Nigella sativa* under different irrigation treatments. *Journal Industrial Crops and Products*, 27: 11-16.
- Bates, L.S., Waldren, S.P. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water- stress studies. *Plant Soil*, 39: 205-207.
- Bhatt, R.M. and Srinivasa-Rao, N.K. 2005. Influence of pod load on response of okra to water stress. *Indian Journal Plant Physiology*, 10: 54-59.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- Buick, Z., Hassanpoure Darvishi, H., Mozafari, H. and Habibi, D. 2013. Effect of selenium foliar application on antioxidant enzymes activity and MDA in coriander (*Coriandrum sativum* L.) medicinal plant under drought stress conditions. *Journal of Crop Production Research*, 5(1): 35-48. (In Persian).
- Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chen, J. 2002. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Food and Drug Analysis*, 10: 178-82.
- Cheraghi, A.M., Sajedi, N.A. and Gomarian, M. 2014. The effect of foliar application of salicylic acid and selenium on agronomic, physiological and quality characteristics of chickpea in rainfed condition. *Iranian Journal of Pulses Research*, 5(2): 31-42. (In Persian).
- Curtin, D., Hanson, R., Lindley, T.N. and Butler, R.C. 2006. Selenium concentration in wheat (*Triticum aestivum*) grain as influenced by method, rate and timing of sodium selenite application. New Zealand. *Journal of Crop and Horticultural Science*, 34: 329-339.

- Dehghani Bidgoli, R., Azrnejad, N. and Akhbari, M.** 2018. Reducing the effects of drought stress in rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) plant by using PGPR. *Applied Research of Plant Ecophysiology*, 4(2): 67-80. (In Persian).
- Dere, S., Gunes, T. and Sivaci, R.** 1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll-a, b and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Journal of Botany*, 22: 13-17.
- Dhindsa, R.S., Dhindsa, P. and Thorpe, T.** 1981. Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decrease levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, 32: 93-101.
- Dunford, N.T. and Vazquez, R.S.** 2005. Effect of water stress on plant growth and thymol and carvacrol concentrations in Mexican oregano grown under controlled conditions. *Journal of Applied Horticulture*, 7(1): 20-22.
- Filella, I., Llusia, J., Pin, J.O. and Pen, J.U.** 1998. Leaf gas exchange and fluorescence of *Phillyrea latifolia*, *Pistacia lentiscus* and *Quercus ilex* saplings in severe drought and high temperature conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 39: 213-220.
- Gapinska, M., Sklodowska M. and Gabara. B.** 2008. Effect of short- and long-term salinity on the activities of antioxidative enzymes and lipid peroxidation in tomato roots. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30: 11-18.
- Gharibi, S., Badraddin Ebrahim Sayed Tabatabaei, B.E., Saeidi, G., Hossein Goli, S.A. and Talebi, M.** 2012. Effect of drought stress on some physiological properties and antioxidant activity of *Achillea tenuifolia* Lam. *Journal of herbal drugs*, 3(3): 181-190. (In Persian).
- Ghorbanli, M., Bakhshi Khaniki, Gh. and Zakeri, A.** 2012. Investigation on the effects of water stress on antioxidant compounds of *Linum usitatissimum* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 27(4): 647-658. (In Persian).
- Gunes, A., Adak, A., Bagci, M.S., Cicek, E.G. and Ersalan, F.** 2008. Effect of drought stress implemented at pre-or post-anthesis stage on some physiological parameters as screening criteria in chickpea cultivars. *Russian Journal of Plant Physiology*, 55(1): 59-67.
- Guo, J., Ling, H., Wu, Q., Xu, L. and Que, Y.** 2014. The choice of reference genes for assessing gene expression in sugarcane under salinity and drought stresses. *Scientific Reports*, 4: 1-10.
- Habibi, Gh., Ghorbanzade, P. and Abedini, M.** 2016. Effects of selenium application on physiological parameters of *Melissa officinalis* L. plants. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 32(4): 698-715. (In Persian).
- Hajiboland, R., Keyvanfar, N., Joudmand, A., Rezaee, H. and Yousefnejad, M.** 2015. Effect of selenium Treatment on Drought Tolerance of Canola Plants. *Journal of plant research*, 27(4): 557-568. (In Persian).
- Hassan, F.A.S., Bazaid. S. and Ali, E.F.** 2013. Effect of Deficit Irrigation on Growth, Yield and Volatile Oil Content on *Rosmarinus officinalis* L. Plant. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 1(3): 12-21.
- Hedge, J.E.Z. and Hofreiter, B.T.** 1962. *Carbohydrate Chemistry*. PP. 17-22. In: R.L. Whistler and B. Miller (Eds.), Academic Press.
- Jangpromma, N., Kitthaisong, S., Lomthaisong, K., Daduang, S., Jaisil, P. and Thammasirirak, S.** 2010. A proteomics analysis of drought stress-responsive proteins as biomarker for drought-tolerant sugarcane cultivars. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 6 (2): 89-102.

- Janovitz-Klapp, A.H., Richard, F.C., Goupy, P.M. and Nicolas, J.J.** 1990. Inhibition studies on apple polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 38: 926-931.
- Jubany-Mari, T., Munne-Bosch, S. and Alegre, L.** 2010. Redox regulation of water stress responses in field-grown plants. Role of hydrogen peroxide and ascorbate. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(5): 351-358.
- Khademi, B., Shaibani, H.A. and Borzou, A.** 2015. Effect of foliar application of selenium on quality traits and enzyme activities of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under different soil moisture regimes stress in varamin region. *Agronomic research in semi desert region*, 12(3): 183-196. (In Persian).
- Kocheva, K. and Georgiev, G.** 2003. Evaluation of the reaction of two contrasting barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars in response to osmotic stress with PEG6000. *Journal of Plant Physiology*, 12: 290-294.
- Kuznetsov, V.V., Kholodova, V.P. and Yagodin, B.A.** 2003. Selenium regulates the water status of plants exposed to drought. *Dokl. Biology Science*, 390: 266-268.
- Luqman, S., Dwivedi, G.R. and Darokar, M.R.** 2007. Potential of rosemary oil to be used in drug-resistant infections. *Alternative therapies*, 13(5):54-59.
- Manieval, S., Thierry, D. and Christiane, G.** 2001. Relationship between biomass and phenolic in grain sorghum grown under different conditions. *Agronomy Journal*, 93: 49-54.
- McDonald, S., Prenzler, P.D., Autolovich, M. and Robards, K.** 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, 73:73-84.
- McKay, D.L. and Blumberg, J.B.** 2006. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytother Research*, 26: 619-633.
- Mistry, D., Hite, D., Fiona, B. and Pipkin, D.** 2012. Selenium in reproductive health. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 206: 21-30.
- Monakhova, O.F. and Chernyad'ev, I.I.** 2002. Protective role of karolin-4 in wheat plants exposed to soil drought. *Prikladnaia Biochemiia Microbiologiya*, 38: 373-380.
- Munne-Bosch, S. and Alegre, L.** 2000. Changes in carotenoids, tocopherols and diterpenes during drought and recovery, and the biological significance of chlorophyll loss in *Rosmarinus officinalis* plants. *Planta*, 210: 925-931.
- Munns, R. and Tester, M.** 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59: 651-681.
- Naeemi M., Ali Akbari, G., Shirani Rad, A.H., Hassanlou, T. and Akbari, G.A.** 2012. Effect of zeolite application and selenium spraying on water relations traits and antioxidant enzymes in medicinal pumpkin under water deficit stress conditions. *Journal of Crops Improvement*, 14(1): 67-81. (In Persian).
- Nakano, Y. and Asada, K.** 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplast. *Plant Cell Physiology*, 22: 867-880.
- Nazarli, H., Ahmadi, A. and Hadian, J.** 2015. Putrescine induces drought tolerance and alters the activities of antioxidant enzymes in growing chamomile plants (*Matricaria Chamomilla* L.). *Iranian Journal of Field Crop Sciences*, 46(2): 227-235. (In Persian).
- Nourzad, S., Ahmadian, A. and Moghaddam, M.** 2015. Proline, Total Chlorophyll, Carbohydrate Amount and Nutrients Uptake in Coriander (*Coriandrum Sativum* L.) under Drought Stress and Fertilizers Application. *Iranian Journal of Field Crop Research*, 13(1): 131-139. (In Persian).

- Orabi, S.A., Salman, S.R. and Shalaby, M.A.** 2010. Increasing resistance to oxidative damage in cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants by exogenous application of salicylic acid and paclobutrazol. *Journal of Agricultural Sciences*, 6(3): 252-259.
- Premachandra, G.S., Saneoka, H., Kanaya, M. and Ogata, S.** 1991. Cell membrane stability and leaf surface wax content as affected by increasing water deficits in maize. *Journal of Experiment Botany*, 42:167-171.
- Proietti, P., Nasini, L., Daniele Buono, D., D'Amato, R., Tedeschini, E. and Businelli, D.** 2013. Selenium protects olive (*Olea europaea* L.) from drought stress. *Scientia Horticulturae*, 164: 165-171.
- Qiang-yun, Sh., Turakainen, M. Seppanen, M. and Makela, P.** 2008. Effects of selenium on maize ovary development at pollination stage under water deficits. *Agricultural Sciences in China*, 7(11): 1298-1307.
- Sairam, R.K.** 1994. Effect of moisture stress on physiological activities of two contrasting wheat genotypes. *Indian Journal of Experimental Biology*, 32: 594- 597.
- Salimi, Gh., Feizian, M. and Aliasgharzad, N.** 2019. Interaction between arbuscular mycorrhizae fungi inoculation (*Glomus verciforme*) and selenium nutrition on growth and biochemical indices of Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) under drought stress condition. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 35(1): 158-169.
- Sangtarash, M.H., Qaderi, M.M., Chinnappa, C.C. and Reid, D.M.** 2009. Carotenoid differential sensitivity of canola (*Brassica napus*) seedlings to ultraviolet-B radiation, water stress and abscisic acid. *Environmental and Experimental Botany*, 66 (2): 212-219.
- Schweizer, U., Brauer, A. and Kohrle, J.** 2004. Selenium and brain function: a poorly recognized liaison. *Brain Res Reviews*, 45(3):164-78.
- Seppanen, M., Turakainen, M. and Hartikainen, H.** 2003. Selenium effects on oxidative stress in potato. *Plant Science*, 165: 311-319.
- Sharma, S., Bansal, A., Surjit, K. D. and Dhillon, K. D.** 2010. Comparative effects of selenate and selenite on growth and biochemical composition of rapeseed (*Brassica napus* L.). *Plant Soil*, 329: 339-348.
- Shekari, L., Kamelmanesh, M.M., Mozafarian, M. and Sadeghi, F.** 2015. Beneficial Effects of Selenium on Some Morphological and Physiological Trait of Hot Pepper (*Capsicum anuum*). *Journal of Horticultural Sciences*, 29(4): 594-600. (In Persian).
- Singh, S., Angadi, S.V., Grover, K., Begna, S. and Auld, D.** 2016. Drought response and yield formation of spring safflower under different water regimes in the semiarid Southern High Plains. *Agricultural Water Management*, 163: 354-362.
- Tavassoli S, Mousavi, S.M. and Emam-Djomeh, Z.** 2011. Comparative study of the antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and methanolic extract. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 9(4): 467-71.
- Tewari, R.K., Kumar, P. and Sharma, P.N.** 2008. Morphology and physiology of zinc-stressed mulberry plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 171, 286-294.
- Wang, W., Wu, N., Zu, Y.G. and Fu, Y.J.** 2008: Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food Chemistry*, 108(3): 1019-1022.
- Xue, T.L., Hartikainen, H. and Piironen, V.** 2001. Antioxidative and growth-promoting effects of selenium on senescing lettuce. *Plant and Soil*, 273: 55-61.

- Yao, X., Chu, J. and Wang, G.** 2009. Effects of selenium on wheat seedlings under drought stress. *Biological Trace Element Research*, 130: 283-290.
- Yao, X., Chu, J., He, X. and Ba, C.** 2011. Protective role of selenium in wheat seedlings subjected to enhanced UV-B radiation. *Russian Journal of Plant Physiology*, 58(2): 283-289.
- Zahedi, H., Shirsni Rad, A.H. and Tohidi Moghadam, H.R.** 2012. Effect of zeolite and selenium foliar application on growth, production and some physiological attributes of three canola (*Brassica napus* L.) cultivars subjected to drought stress. *Revista Científica UDO Agrícola*, 12(1): 135-142.
- Zhang, Z., Pang, X., Duan, X., Ji, Z.L. and Jiang, Y.** 2005. Role of peroxidase in anthocyanin degradation in litchi fruit pericarp. *Food Chemistry*, 90: 47-52.

The effect of foliar application of selenium on physiological and biochemical characteristics of rosemary under drought stress

Amin Allah Shamsai¹, Mehdi Aran^{2*}, Barat Ali Fakheri³

¹MSc graduate of Horticulture, University of Zabol, Zabol, Iran

²Department of Horticulture and Landscape, University of Zabol, Zabol, Iran

³Department of Plant Breeding and Biotechnology, University of Zabol, Zabol, Iran

*Corresponding Author: [Mehdiaran @uoz.ac.ir](mailto:Mehdiaran@uoz.ac.ir)

Received: 17 November 2020

Accepted: 11 December 2020

DOI: 10.22034/csrar.2021.257878.1069

Abstract

In order to investigate the effect of selenium foliar application on the physiological and biochemical characteristics of rosemary under irrigation treatments, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design in the greenhouse of University of Zabol, Agricultural Research Institute in 2018. The first factor was two levels of irrigation (80% and 30% of field capacity) and the second factor was four levels of selenium foliar application (0, 50, 75 and 100 mg/l). The results showed that foliar application of selenium increased the RWC, carotenoid, protein and ascorbate peroxidase under stress conditions, and the highest amount of these traits were obtained at 75 and 100 mg/l selenium. Foliar application of selenium especially at 75 mg/l under stress conditions increased the soluble carbohydrate, total phenol, guaiacol peroxidase enzyme, polyphenol oxidase enzyme and essential oil percent. The content of ion leakage, proline and catalase increased with stress and the contents of chlorophyll a, b and total decreased. The content of chlorophyll a, b and total, proline and catalase enzymes were increased by foliar application of selenium, especially at 75 mg/l and ion leakage was reduced by selenium foliar application, especially at 75 and 100 mg/l. In general, selenium application by increasing antioxidant compounds (phenol, flavonoid and antioxidant enzymes), osmotic regulators (proline and soluble carbohydrates) and photosynthetic pigments, and reducing ion leakage, alleviation drought stress in rosemary.

Keywords: Antioxidant enzymes, Essential oil percent, Medicinal plant, Proline