Archive of SID

Iranian Journal of Field Crop Science
Vol 50, No 1, Spring 2018 (139-150)
DOI: 10.22059/ijfcs.2018.250266.654435

علوم گیاهان زراعی ایران
دورهٔ ۵۰، شمارهٔ ۱، بهار ۱۳۹۸ (ص. ۱۵۰- ۱۳۹)

تاثیر الیسیتورهای غیرزیستی بر آنتی‌اکسیدان‌ها و صفات فیتوشیمیایی مامیران کبیر (*Chelidonium majus*) تحت تنش خشکی

صدیقه فابریکی اورنگ *[1] و هانیه سادات شهاب زاده[2]

۱ و۲. استادیار و دانشجوی کارشناسی ارشد گروه اصلاح نباتات، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۶/۱۰/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۳/۱۹)

چکیده

این تحقیق جهت بررسی تاثیر متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک‌اسید بر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و خصوصیات فیزیولوژیکی- بیوشیمیایی گیاه دارویی مامیران کبیر (*Chelidonium majus*) تحت شرایط تنش خشکی اجرا شد. بدین منظور آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار طی سال ۹۶- ۱۳۹۵ در دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین اجرا شد. سه فاکتور مورد مطالعه شامل تنش خشکی در دو سطح (بدون تنش و تنش خشکی به‌ترتیب با میزان آبیاری ۱۰۰ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی خاک)، الیسیتور در سه سطح (شاهد؛ صفر، متیل‌جاسمونات ۱۰۰ میکرومولار و سالیسیلیک‌اسید ۲ میلی‌مولار) و اندام گیاهی (ریشه، ساقه و برگ) بودند. نتایج حاصل از تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها نشان داد که متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک‌اسید فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) را کاهش دادند. هر دو الیسیتور سالیسیلیک‌اسید و متیل‌جاسمونات در فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) تاثیری نداشتند اما متیل‌جاسمونات باعث افزایش فعالیت گایاکول پراکسیداز (GPX) و سالیسیلیک‌اسید تحت تنش خشکی باعث کاهش فعالیت آسکوربات پراکسیداز (APX) شد. همچنین متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک-اسید باعث کاهش فعالیت APX نسبت به شاهد شدند. بیشترین میزان پروتئین کل در ریشه و در رتبه دوم در برگ مشاهده گردید. سالیسیلیک-اسید باعث افزایش ۳۴ درصدی محتوای پروتئین نسبت به تیمار شاهد گردید. متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک‌اسید موجب افزایش کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و میزان کاروتنوئیدها، فلاونوئید و آنتوسیانین نسبت به تیمار شاهد شدند. سالیسیلیک‌اسید در افزایش محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها و متیل‌جاسمونات در افزایش فلاونوئید و آنتوسیانین نسبت به هم برتر بودند. بنابر نتایج به‌دست آمده از این پژوهش، متیل-جاسمونات و سالیسیلیک‌اسید باعث افزایش توانایی گیاه مامیران در پاسخ به تنش خشکی گردیده و علاوه بر اثر محافظتی در برابر اکسیداسیون ناشی از خشکی، باعث افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و برخی متابولیت‌های گیاه شدند.

واژه‌های کلیدی: خشکی، سالیسیلیک اسید، مامیران، ومتیل‌جاسمونات.

The effect of abiotic elicitors on antioxidants and phytochemical traits of celandine (*Chelidonium majus*) under drought stress

Sedigheh Fabriki-Ourang [1*] and Haniyeh-Sadat Shahabzadeh[2]

1 and 2. Assistant professor and M.Sc. Student Department of Plant Breeding, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran

(Received: January 15, 2018– Accepted: June 9, 2018)

ABSTRACT

This experiment was carried out to investigate the effect of methyl jasmonate and salicylic acid on the antioxidant production and physiological-biochemical properties of *Chelidonium majus* under drought stress condition. For this, an experiment was conducted as factorial based on completely randomized design with four replications in Imam Khomeini International University, Iran during 2016-2017. Three factors included drought stress in two levels (non-stress and drought stress with 100% and 50% field capacity irrigation, respectively), elicitor in three levels (control, 100 µm methyl-jasmonate and 2 mM salicylic acid) and plant organs (root, stem and leaf). Analysis of variance and mean comparisons showed that methyl-jasmonate and salicylic acid reduced the activity of CAT enzyme. Both salicylic acid and methyl-jasmonate did not affect the activity of SOD, but methyl-jasmonate increased the activity of GPX and salicylic acid reduced APX activity under drought stress. Also, methyl-jasmonate and salicylic acid reduced APX activity compared to control treatment. The highest amount of protein content was observed in root and then in leaf. Salicylic acid increased total protein content up to 34% compared to control treatment. Both Methyl-jasmonate and salicylic acid increased chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoids, flavonoids and anthocyanin compared to control treatment, but salicylic acid was superior in increasing of chlorophyll and carotenoids whereas methyl-jasmonate was superior in increasing of flavonoids and anthocyanin. In conclusion, methyl-jasmonate and salicylic acid have increased the ability of celandine in response to drought stress, and also, in addition to the protective effect against drought-induced oxidation, they increased photosynthetic pigments and some of metabolites.

KeyWords: Celandine, Drought, Methyl Jasmonate, Salicylic Acid.

* Corresponding author E-mail: s.ourang910@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

افزایش مقاومت گیاهان به تنش خشکی از راه‌های مختلف شامل به‌نژادی و استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد عملی است. اما در مقایسه با روش‌های به‌نژادی که اغلب بلند مدت و هزینه‌بر هستند، استفاده از مواد شیمیایی شامل جاسمونیک‌اسید و سالیسیلیک‌اسید آسان‌تر و ارزان‌تر است (El-Tayeb, 2005). یکی از اثرات تنش کم‌آبی، همانند دیگر تنش‌های محیطی، ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو می‌باشد که رادیکال‌های آزاد اکسیژن باعث این آسیب می‌شوند. گیاهان برای کاهش دادن اثر مخرب گونه‌های اکسیژن فعال عملکردهای متفاوتی دارند. از جمله این عملکردها می‌توان به سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی اشاره کرد.

مهم‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدان شامل گلوتاتیون، توکوفرول‌ها، فلاوونوئیدها و آسکوربات می‌باشند که در پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن به‌طور مستقیم نقش دارند. همچنین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، پلی‌فنول اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در پاکسازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول نقش دارند (Agarwal & Pandy, 2004). سالیسیلیک‌اسید و متیل‌جاسمونات از جمله هورمون‌های گیاهی هستند که نقش مهمی در فرآیندهای متابولیکی سلول زنده از جمله، رسیدگی میوه، تولید دانه گرده زنده و فعال، رشد ریشه، پاسخ به زخم و تنش‌های غیرزیستی و دفاع در برابر میکرب‌های بیماری‌زا و حشرات را تحت ایفا می‌کنند.

سالیسیلیک‌اسید که نقشی کلیدی در ایجاد مقاومت گیاهان به تنش آب دارد از ترکیبات تنظیم‌کننده‌ی رشد و ترکیبات فنلی در گیاهان محسوب می‌شود، که نقش بسیار مهمی در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه و در تنش‌های محیطی اثر محافظتی داشته و موجب بهبود روند رشد در گیاه می‌گردد (Fathi *et al*., 2015). با این‌حال برخی از مطالعات نشان داده‌اند که تاثیر سالیسیلیک‌اسید خارجی به عوامل گوناگونی مانند نوع گونه، مرحله نموی گیاه، روش کاربرد و غلظت سالیسیلیک‌اسید بستگی دارد (Horvath *et al*., 2007). جاسمونیک‌اسید و متیل‌استرهای آن (متیل جاسمونات) که در حالت کلی به جاسمونات‌ها معروف هستند، ترکیبات ویژه‌ای از سیکلوپنتان حلقوی و مشتقات لینولئیک‌اسید هستند و از مسیر بیوسنتزی اکتادکانوئید تولید می‌شوند که با تغییر در میزان بیان ژن‌ها، اثر تنش‌های محیطی را کم می‌کنند (Creelman *et al*., 1992). تاثیر متیل‌جاسمونات‌ها بر تنش‌های خشکی، سرما، شوری و در مقابله با پاتوژن‌ها و حشرات مشخص شده است (Yu *et al*., 2001). گزارشات دیگری نیز نقش سالیسیلیک‌اسید را جهت برطرف کردن اثرات تنش خشکی و بهبود رشد گیاه به اثبات رسانده‌اند (Senaratan *et al*., 2000). نتایج آزمایش تاثیر تنش خشکی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه دارویی قره‌داغ (*Nitraria schober*) نشان داد که سالیسیلیک‌اسید باعث مهار فعالیت کاتالاز و تحریک فعالیت آنزیم پراکسیداز گردید که این رویداد می‌تواند منجر به افزایش H_2O_2 شود که به‌عنوان ملکول سیگنالی در ایجاد مقاومت دخالت دارد و همچنین به‌عنوان پیش‌ماده‌ای برای فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌کار رود (Bayan *et al*., 2014). در آزمایشی دیگر آسکوربات با هدف کنترل تنش اکسیداتیو در تحمل به کمبود آب گیاه انیسون (*Pimpinella anisum* L.) به‌کار گرفته شد. با پیشرفت تنش، محتوای کلروفیل کم شد، در حالی‌که مقدار فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها افزایش یافت. آسکوربات، میزان کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها را افزایش، اما میزان فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها را کاهش داد و تاثیر چشمگیری در افزایش ترکیب‌های فنلی کل اندام‌ها در تمام سطوح داشت.

بنابر نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، آسکوربات خارجی توانست با مکانیسم‌های مختلفی توانایی گیاه انیسون را در پاسخ به تنش خشکی افزایش داده و اثر محافظتی در برابر اکسیداسیون لیپیدها (که ناشی از خشکی می‌باشد) داشته باشد (Asadi Kavan *et al*., 2010). در آزمایشی دیگر اثر دو غلظت سالیسیک‌اسید (10^{-4} و 10^{-7} مولار) تحت دو تنش خشکی ملایم (۲۵ درصد ظرفیت اشباع خاک) و شدید (۱۵ درصد ظرفیت اشباع خاک) بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در برگ و ریشه گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum*) مورد ارزیابی قرار گرفت. در این تحقیق مشخص شد اعمال تنش خشکی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ریشه و برگ گیاه به غیر از آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز گردید. محلول-

www.SID.ir

Archive of SID

پاشی سالیسیک‌اسید در غلظت‌های مختلف موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برگ و افزایش فعالیت آنها در ریشه شد (Niakan & Zanganeh, 2015).

ماميران كبير (*Chelidonium majus* L.) متعلق به خانواده Papaveraceae می‌باشد که ارتفاع آن تا یک متر می‌رسد. ماميران كبير گیاهی علفی و چند ساله است و گل‌آذین آن به شکل چتر می‌باشد. میوه ماميران كبير باریک و دراز بوده که دانه‌ها در داخل آن جای گرفته‌اند و شیره‌ای زرد رنگ در آن وجود دارد. اندام دارویی این گیاه قسمت هوایی آن است که در هنگام گلدهی جمع‌آوری می‌شود (Dragana *et al.*, 2013). ماميران كبير دارای متابولیت‌های ثانویه از قبیل sanguinarine، chelidonine، chelerythrine، berberine و coptisine می‌باشد که دارای خواص ضدویروسی، ضدتومور، ضدمیکروبی و ضدسرطانی است. این گیاه در طب سنتی برای درمان برخی بیماری‌ها به‌ویژه سرطان‌های دستگاه گوارش مورد استفاده قرار می‌گیرد. این پژوهش با هدف بررسی اثر دو تیمار سالیسیلیک‌اسید و متیل جاسمونات (به‌عنوان الیسیتورهای غیرزیستی) در بهبود تحمل خشکی و بررسی اثرات آن بر روی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی-بیوشیمیایی گیاه دارویی ماميران كبير اجرا شد.

مواد و روش‌ها

جهت مطالعه اثرات سالیسیلیک‌اسید و متیل‌جاسمونات بر آنتی‌اکسیدان‌ها و صفات فیزیولوژیکی-بیوشیمیایی ماميران كبير تحت تنش خشکی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار در سال ۹۶-۱۳۹۵ درگلخانه و آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره) انجام شد. سه فاکتور مورد مطالعه شامل تنش خشکی در دو سطح (۱۰۰ درصد و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی خاک)، فاکتور هورمون در سه سطح (بدون هورمون (آب مقطر)، متیل‌جاسمونات ۱۰۰ میکرومولار و اسیدسالیسیلیک ۲ میلی‌مولار) و فاکتور اندام گیاهی در سه سطح (برگ، ساقه و ریشه) بودند. بذر ماميران كبير از موسسه جنگل‌ها و مراتع کشور تهیه و در گلدان‌ها کشت گردیدند. هر واحد آزمایشی شامل یک گلدان پلاستیکی و محتوای هر گلدان نیز شامل مخلوطی از خاک زراعی و ماسه با نسبت ۳:۱ (ماسه : خاک) بود. ظرفیت زراعی هر گلدان بر اساس میزان آب داده‌شده به هر گلدان طی اعمال تنش بر اساس اختلاف وزن تر و خشک به‌دست‌آمده از خاک گلدان و نیز درصد تعیین‌شده (۵۰ و ۱۰۰ درصد) صورت گرفت. شرایط رشدی گلخانه با دوره نوری ۱۶: ۸ (روشنایی: تاریکی) و شرایط دمایی ۲۵– ۲۰ درجه سلسیوس در حد مطلوب برای رشد گیاهچه‌ها بهینه گردید. پس از رشد و استقرار گیاهان اعمال تیمارها در مرحله رویشی گیاه (گیاهان ۵۰ روزه) انجام شد. طول دوره اعمال تنش خشکی به‌مدت ۱۸ روز بود و هورمون‌های متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک‌اسید هم به‌صورت محلول-پاشی و هم به‌صورت مخلوط با آب آبیاری در دو سری متوالی به‌فاصله چهار روزه در هشت روز انتهائی دوره تنش خشکی به گیاهان تنش‌دیده و عدم تنش‌داده شد. پس از اعمال تیمارهای آزمایش، نمونه‌گیری از اندام‌های ریشه، ساقه و برگ مربوط به پنج بوته هر گلدان جداگانه انجام و از نمونه‌های مخلوط‌شده برای اندازه‌گیری صفات استفاده شد. صفات اندازه‌گیری‌شده شامل میزان آنتی‌اکسیدان‌های کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز، گایاکول‌پراکسیداز، پروتئین کل، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید، فلاونوئید و آنتوسیانین بودند. تهیه عصاره آنزیمی: نیم گرم بافت تازه از سه اندام ریشه، ساقه و برگ با استفاده از نیتروژن مایع کوبیده‌شده و عصاره آنزیمی تهیه و سنجش‌های آنزیمی و پروتئینی مورد استفاده قرار گرفت. سنجش محتوای پروتئین کل و آنزیم-های آنتی‌اکسیدان: محتوای پروتئین کل با استفاده از روش بردفورد با استفاده از آلبومین سرم گاوی (BSA) به‌عنوان یک استاندارد تعیین شد. میزان سوپراکسیددیسموتاز (SOD) به‌وسیله اندازه‌گیری توانایی آن در ممانعت از کاهش فیتوشیمیایی NBT و میزان کاتالاز (CAT) به‌وسیله اندازه‌گیری از بین‌رفتن هیدروژن پراکسید مورد سنجش قرار گرفتند.

فعالیت آسکوربات‌پراکسیداز (APX) و گایاکول-پراکسیداز (GPX) به‌ترتیب با روش Chen &Asada (1982) و Upadhyava *et al.* (1985) اندازه‌گیری شدند.

سنجش کلروفیل و کاروتنوئید: میزان کلروفیل و کاروتنوئید از طریق مقدار جذب در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵، ۴۸۰ و۵۱۰ نانومتر قرائت گردیده و از روابط

www.SID.ir

Archive of SID

Arnon (1949) برای سنجش غلظت کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید استفاده شد. سنجش فلاونوئید و آنتوسیانین: یک گرم بافت‌تر هر نمونه در ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (شامل الکل متیلیک ۹۹/۵ درصد و هیدروکلریک اسید خالص به نسبت ۹۹ به ۱) همگن و سانتریفیوز شد. سپس جذب عصاره رویی در ۳۰۰ و ۵۳۰ نانومتر به‌ترتیب برای فلاونوئید و آنتوسیانین با دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد و نتایج به‌صورت جذب در گرم وزن تر (OD.g-1FW) مورد محاسبه قرار گرفت. تجزیه آماری داده‌ها:

تجزیه واریانس صفات به‌صورت فاکتوریل (بافت+تنش+الیسیتور) در قالب طرح پایه کاملا تصادفی (CRD) در چهار تکرار انجام گرفت و مقایسه میانگین داده-ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن بررسی شد. برای تجزیه داده‌های آماری از نرم‌افزارهای MSTATC و SPSS و برای ترسیم شکل‌ها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) اثرات اصلی تنش خشکی، اندام و نوع الیسیتور (سالیسیلیک‌اسید و متیل-جاسمونات) و اثرات متقابل بین آنها از نظر تمام آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (به جز اثر اصلی خشکی و اثر متقابل تنش×الیسیتور برای گایاکول‌پراکسیداز) در سطوح احتمال ($P\leq0.01, 0.05$) معنی‌دار شدند.

با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها بیشترین میزان آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و آسکوربات-پراکسیداز به‌ترتیب در ساقه، برگ و ریشه و بیشترین میزان پروتئین کل در ریشه و سپس در برگ مشاهده گردید. هر دو تیمار متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک‌اسید باعث کاهش میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان SOD، CAT و APX شدند، در حالی‌که تیمار متیل‌جاسمونات باعث افزایش فعالیت آنزیم GPX شد. همچنین تیمار سالیسیلیک‌اسید باعث افزایش ۳۴ درصدی محتوای پروتئین کل نسبت به تیمار عدم کاربرد هورمون گردید. مقایسه میانگین اثر متقابل اندام× تنش (شکل ۱) نشان داد تنش خشکی در اندام برگ میزان فعالیت آنزیم‌های CAT و SOD را نسبت به عدم تنش، افزایش و میزان آنزیم GPX را کاهش داد. در اندام ساقه در تنش خشکی فعالیت آنزیم SOD افزایش و فعالیت آنزیم‌های CAT، GPX و APX کاهش یافت. در اندام ریشه فعالیت آنزیم GPX تحت تنش خشکی افزایش نشان داد. مقایسه میانگین اثر متقابل تنش× الیسیتور (شکل ۲) نشان داد که تیمار متیل‌جاسمونات باعث افزایش میزان آنزیم GPX در هر دو شرایط تنش خشکی و عدم تنش شد، همچنین متیل‌جاسمونات هنگام تنش خشکی فعالیت SOD را نسبت به شرایط عدم تنش افزایش داد. در اثر تیمار سالیسیلیک‌اسید میزان آنزیم‌های SOD و APX تحت تنش خشکی نسبت به عدم تنش کاهش یافتند؛ در حالی‌که در تیمار بدون هورمون، خشکی باعث افزایش میزان آنزیم SOD شده است؛ بنابراین به‌نظر می‌رسد تیمار سالیسیلیک‌اسید به‌عنوان تعدیل‌کننده اثر تنش خشکی باعث شده است که گیاه نیاز به افزایش آنزیم‌های SOD و APX برای مقابله با اثرات سوء تنش نداشته باشد (شکل ۲).

مقایسه میانگین اثر متقابل اندام× الیسیتور (شکل ۳) نشان داد هر دو تیمار سالیسیلیک‌اسید و متیل‌جاسمونات نسبت به عدم مصرف هورمون باعث کاهش میزان آنزیم-های CAT و APX و افزایش آنزیم‌های SOD و GPX در اندام ساقه شدند. در مورد اندام برگ هر دو تیمار سالیسیلیک‌اسید و متیل‌جاسمونات باعث افزایش معنی‌دار GPX و کاهش معنی‌دار SOD نسبت به عدم مصرف هورمون شدند. در مقایسه میانگین اثر متقابل اندام× تنش (شکل ۴-a2) میزان پروتئین کل تحت تنش خشکی، نسبت به عدم تنش در هر دو اندام ساقه و ریشه، کاهش نشان داد؛ اما در برگ تحت تنش افزایش نشان داد. در مقایسه میانگین اثر متقابل الیسیتور× تنش (شکل ۴-a1) میزان پروتئین کل بر خلاف کاهش در تنش خشکی تحت تیمار بدون هورمون، در اثر تیمار با سالیسیلیک‌اسید در هر دو شرایط تنش و عدم تنش افزایش معنی‌داری نسبت به شرایط عدم مصرف هورمون نشان داد در حالی‌که متیل جاسمونات کاهش پروتئین را در شرایط تنش خشکی باعث گردید. البته میزان پروتئین در تیمار سالیسیلیک‌اسید نسبت به متیل‌جاسمونات زیادتر بود. در مقایسه میانگین اثر متقابل اندام× الیسیتور (شکل ۴-a3) تیمار متیل-جاسمونات فقط باعث افزایش میزان پروتئین کل در اندام برگ شد؛ ولیکن سالیسیلیک‌اسید باعث افزایش پروتئین کل در هر دو اندام ریشه و برگ شد.

www.SID.ir

Archive of SID

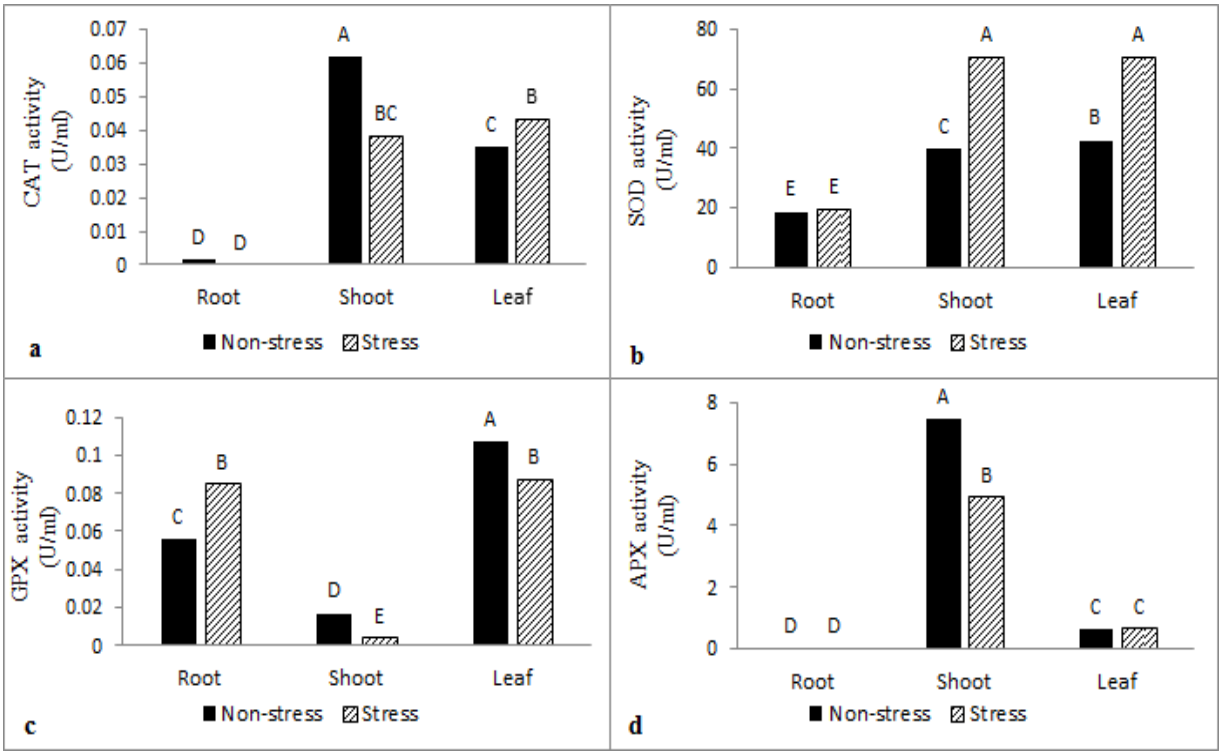
جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تنش خشکی، الیسیتور و اندام گیاهی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و صفات فیتوشیمیایی مامیران کبیر

Table 1- Variance Analysis of drought stress, elicitor and organ on antioxidant enzymes activity and phytochemical traits in greater celandine

Source of Variation	d.f	Mean of square										
		Catalase	Superoxide dismutase	Guiacol Peroxidase	Ascorbate peroxidase	Total protein	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Total Chlorophyll	Carotenoid	Flavonoid	Anthocyanin
Drought	1	0.001*	368**	0.000^{ns}	13.13*	184**	0.001*	0.004*	0.002^{ns}	0.002^{ns}	0.53*	0.004^{ns}
Elicitor	2	0.003*	1402*	0.027*	4.01**	1635**	0.001*	0.01**	0.02**	0.013*	0.98*	0.75**
Organ	2	0.016*	7977*	0.048*	278**	23771*	1.95**	6.07**	15.8**	0.82**	6.78*	0.48**
Drought×Elicitor	2	0.001*	1169*	0.000^{ns}	3.4**	80*	0.003*	0.019*	0.037*	0.001^{ns}	0.29^{ns}	44.6**
Drought×Organ	2	0.002*	3801*	0.004*	13**	396**	0.004*	0.009*	0.025*	0.00^{ns}	0.56*	0.30**
Elicitor× Organ	4	0.002*	2872*	5.3**	5.3**	1241**	0.00**	0.007*	0.01**	0.005^{ns}	0.46*	1.33**
Drought×Elicitor×Organ	4	0.002*	4086*	0.008*	4.2**	142**	0.001*	0.016*	0.025*	0.006*	0.69*	0.86**
Error	54	0.000	5.59	0.000	0.09	17.6	0.000	0.001	0.002	0.002	0.15	0.05
CV%		17.6	6.5	15.7	13.6	8.1	3.1	9.6	6.8	24	7.9	19.3

ns ، ** و*: به‌ترتیب اختلاف غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال یک و پنج درصد

ns, * and **: non-significant and significant at P≤0.05, 0.01, respectively.

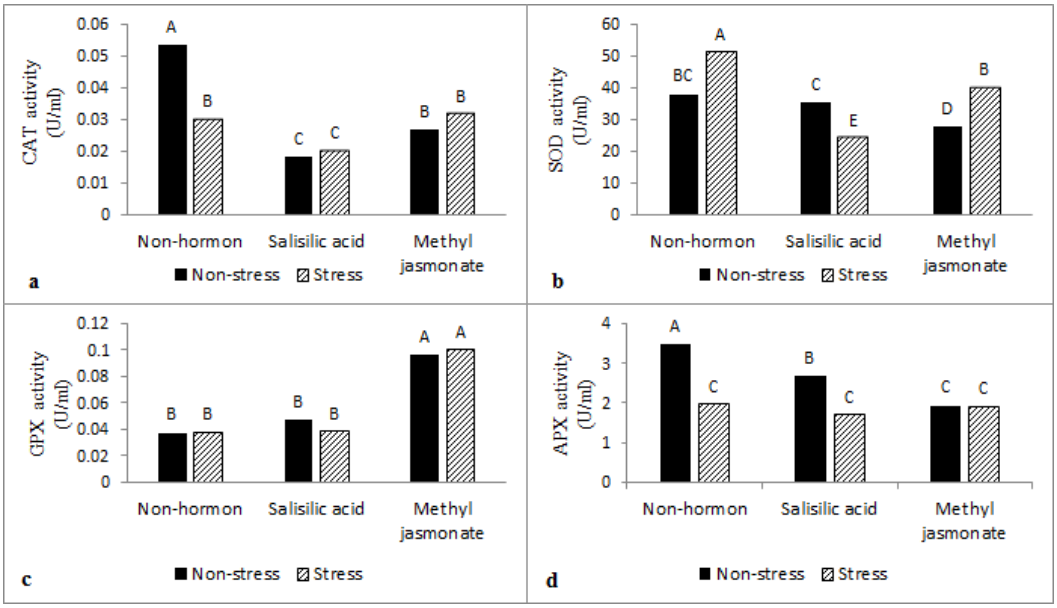


شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش× اندام در تغییرات میزان a) کاتالاز، b) سوپراکسید دیسموتاز، c) گایاکول پروکسیداز، d) آسکوربات‌پراکسیداز در مامیران کبیر (حروف غیر مشابه روی هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن)

Figure 1. Mean comparison of stress × organ in changes of a) Catalase, b) Superoxide dismutase, c) Guaiacol peroxidase, d) Ascorbate peroxidase in greater celandine (non-similar letters on each column indicate a significant difference based on Duncan's test)

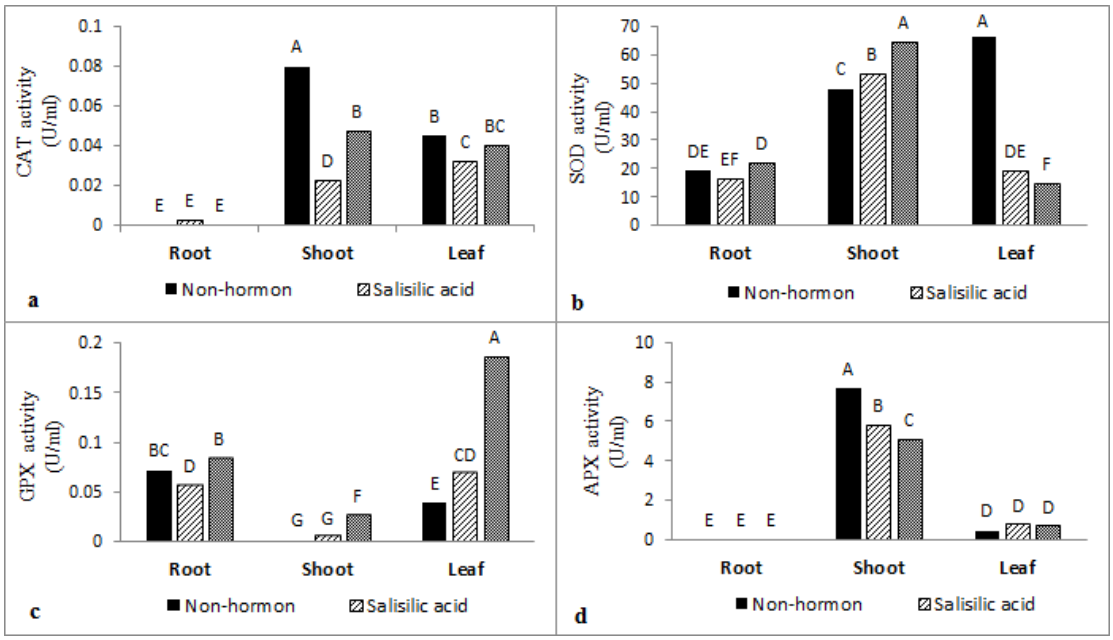
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش× الیسیتور در تغییرات میزان a) کاتالاز، b) سوپراکسیددیسموتاز، c) گایاکول‌پروکسیداز، d) آسکوربات‌پراکسیداز در ماميران کبیر (حروف غیر مشابه روی هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن)

Figure 2. Mean comparison of stress × elicitor in the changes of a) Catalase, b) Superoxide dismutase, c) Guiacol proxidase, d) Ascorbate peroxidase in greater celandine (non-similar letters on each column indicate a significant difference based on Duncan's test)



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل الیسیتور× اندام در تغییرات میزان a) کاتالاز، b) سوپراکسیددیسموتاز، c) گایاکول‌پروکسیداز، d) آسکوربات‌پراکسیداز در ماميران کبیر (حروف غیر مشابه روی هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن)

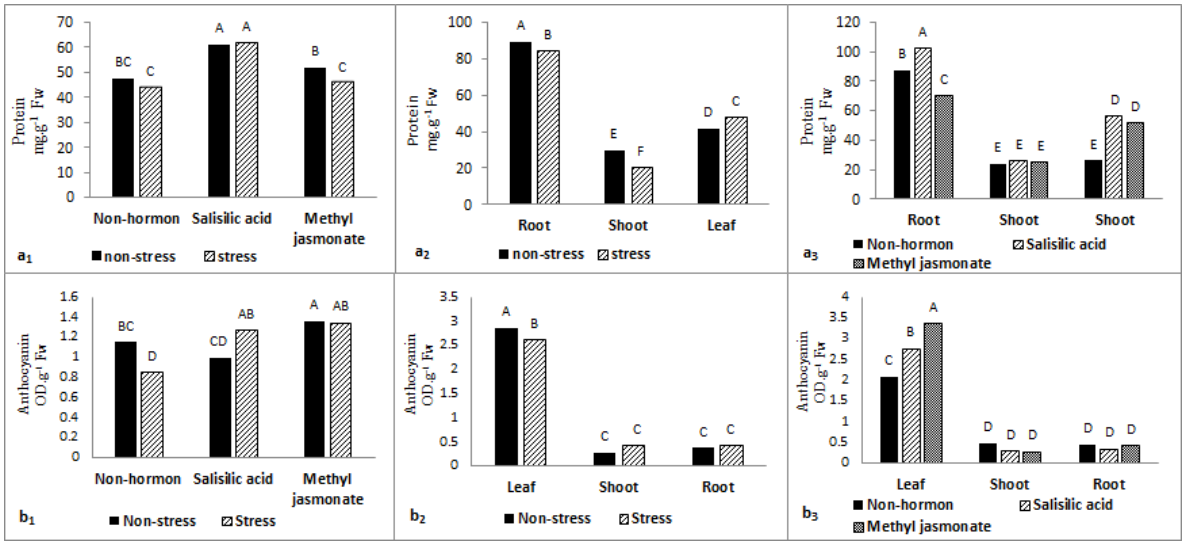
Figure 3. Mean comparison of organ × elicitor in changes of a) Catalase; b) Superoxide dismutase; c) Guiacol peroxidase; d) Ascorbate peroxidase in greater celandine (non-similar letters on each column indicate a significant difference based on Duncan's test)

با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر ساده تنش خشکی، الیسیتور و اندام و همچنین اغلب اثرات دوگانه و سه‌گانه آن‌ها تاثیر معنی‌داری بر محتوای کلروفیلa، b، کلروفیل کل، کارتنوئید، فلاونوئید و

www.SID.ir

Archive of SID

آنتوسیانین داشتند. بر اساس مقایسه میانگین، خشکی باعث کاهش معنی‌دار کلروفیل b و افزایش کلروفیل a گردید، هر دو تیمار متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک‌اسید موجب افزایش کلروفیل a، b، کلروفیل کل و میزان کارتنوئید، فلاونوئید و آنتوسیانین نسبت به تیمار عدم هورمون شدند. البته میزان اثر سالیسیلیک‌اسید در افزایش کلروفیل a، b و کلروفیل کل و کارتنوئید نسبت به متیل-جاسمونات بیشتر بود اما در مورد میزان افزایش فلاونوئید و آنتوسیانین تیمار متیل‌جاسمونات نقش بیشتری نسبت به سالیسیلیک‌اسید نشان داد.



شکل ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش× الیسیتور، تنش×اندام و الیسیتور×اندام در تغییرات a) پروتئین کل و b) آنتوسیانین در مامیران کبیر (حروف غیر مشابه روی هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن)

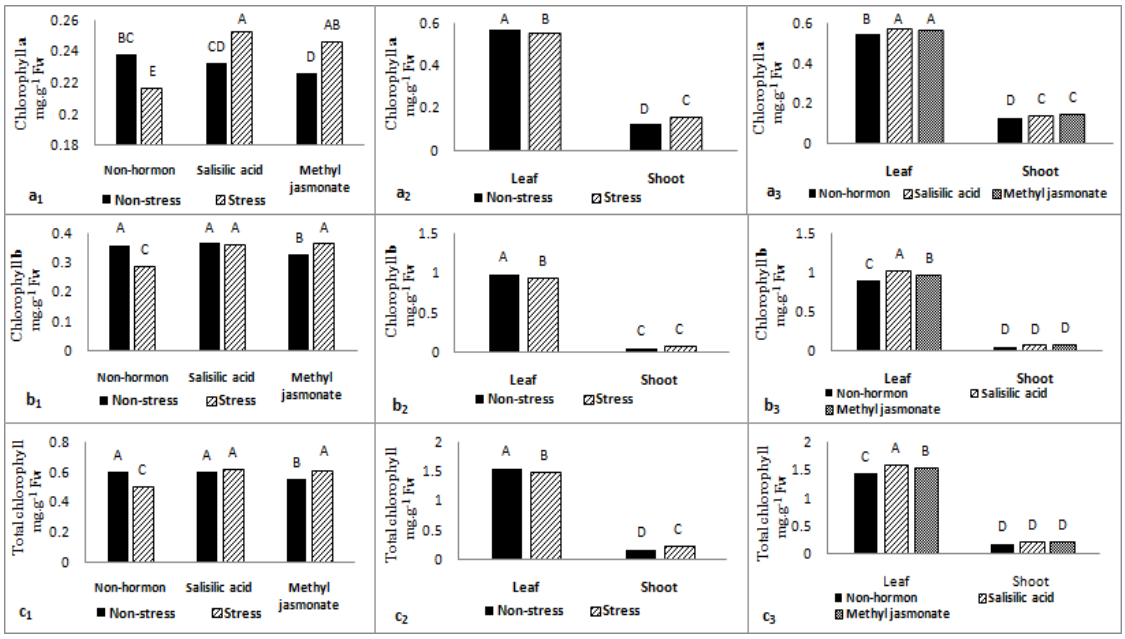
Figure 4. Mean comparison of stress × elicitor, stress × organ and elicitor × organ in changes of a) Total protein and b) Anthocyanin in greater celandine (non-similar letters on each column indicate a significant difference based on Duncan's test)

در مقایسه میانگین اثر متقابل اندام×تنش (شکل ۵-a2، b2، c2) مشخص شد تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار میزان کلروفیلa، b، کلروفیل کل در برگ گردید، اما در ساقه (افزایش کم) و ریشه تغییر زیادی در مقدار آنها ایجاد نشد. همچنین محتوای کارتنوئید، فلاونوئید در اثر تنش خشکی در سه اندام (به جز فلاونوئید در ساقه) مورد مطالعه کاهش نشان ندادند. در مقایسه میانگین اثر متقابل اندام× الیسیتور (شکل ۵-a3،b3،c3) مشخص گردید هر دو تیمار متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک‌اسید باعث افزایش کلروفیل a، b و کلروفیل کل در برگ شدند. تاثیر تیمار سالیسیلیک‌اسید در میزان افزایش کلروفیل b و کلروفیل کل بیشتر از متیل‌جاسمونات بود. در مقایسه میانگین اثر متقابل الیسیتور× تنش (شکل ۵a1،b1، c1) مشاهده شد برخلاف تیمار عدم هورمون که تنش باعث کاهش کلروفیل a، b و کلروفیل کل شد، متیل‌جاسمونات باعث افزایش محتوای کلروفیل a، b و کلروفیل کل در تنش خشکی نسبت به عدم تنش گردید؛ ولیکن سالیسیلیک‌اسید فقط باعث افزایش کلروفیل a شد. هر دو تیمار هورمونی متیل-جاسمونات و سالیسیلیک‌اسید باعث افزایش میزان کارتنوئید در سه اندام برگ، ساقه و ریشه شدند (شکل ۶-a3)، اما از نظر فلاونوئید هر دو تیمار هورمونی به‌جز افزایش در برگ باعث کاهش جزئی در ریشه و ساقه شدند (شکل ۶-b3). همچنین سالیسیلیک‌اسید باعث کاهش معنی‌دار فلاونوئید در شرایط تنش نسبت به عدم تنش شد (شکل ۶b1) اما در مورد کاروتنوئید هر دو تیمار متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک‌اسید باعث افزایش و کاهش غیرمعنی‌داری در خشکی نسبت به عدم تنش شدند (شکل ۶-a1). در شرایط تنش خشکی، افزایش غلظت پراکسید هیدروژن توسط فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز برای تجزیهٔ پراکسید هیدروژن می‌شود، اما در شرایط بدون تنش به‌دلیل عدم تولید بیش از حد رادیکال-های آزاد اکسیژن، تولید پراکسید هیدروژن ناشی از یون

www.SID.ir

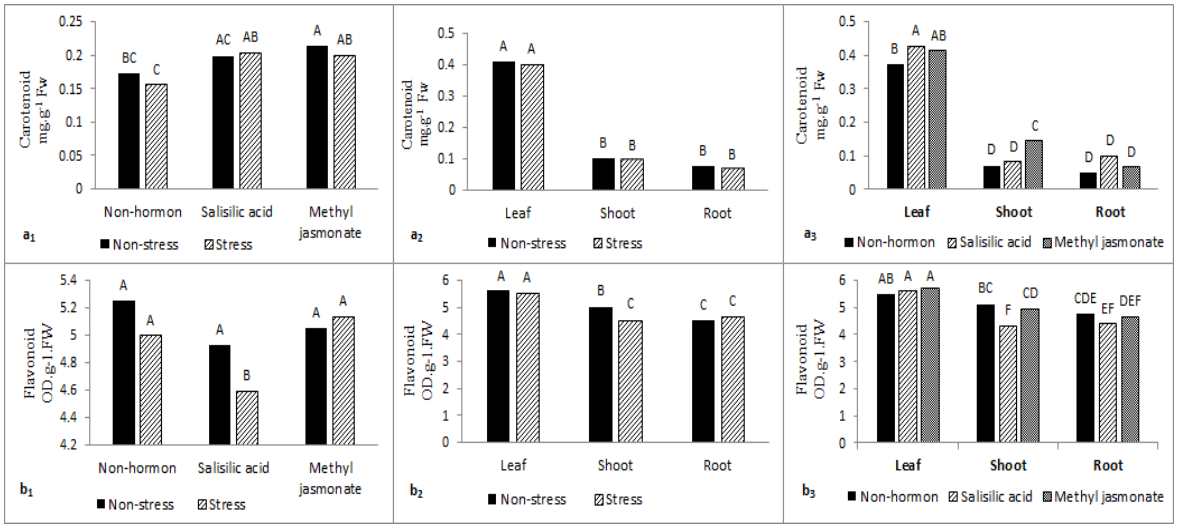
Archive of SID

سوپراکسید کاهش می‌یابد و در نتیجه فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش پیدا می‌کند (Bowler *et al*., 1992).



شکل ۵- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش× الیسیتور، تنش× اندام و الیسیتور× اندام در تغییرات میزان a) کلروفیلA، b) کلروفیل B و c) کلروفیل کل در مامیران کبیر (حروف غیر مشابه روی هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن)

Figure 5. Mean comparison of stress × elicitor, stress × organ and elicitor × organ in changes of a) Chlorophyll a, b) Chlorophyll b and c) Total chlorophyll in greater celandine (non-similar letters on each column indicate a significant difference based on Duncan's test)



شکل ۶- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش×الیسیتور، تنش×اندام و الیسیتور×اندام در تغییرات محتوای کارتنوئید (a1,a2,a3) و فلاونوئید (b1,b2,b3) در مامیران کبیر (حروف غیر مشابه روی هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن)

Figure 6. Mean comparison of stress × elicitor, stress × organ and elicitor × organ in changes of carotenoids (a1, a2, a3) and flavonoids (b1, b2, b3) in greater celandine (non-similar letters on each column indicate a significant difference based on Duncan's test)

در این آزمایش نیز میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در هنگام تنش خشکی نسبت به شاهد افزایش داشت، ولی افزایش فعالیت در آنزیم کاتالاز مشاهده نشد. در این مطالعه متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک‌اسید،

www.SID.ir

Archive of SID

فعالیت آنزیم کاتالاز را در ساقه و برگ کاهش دادند که این کاهش در تیمار سالیسیلیک‌اسید بیشتر بود. نتایج سایر آزمایشات نیز نشان داده است که سالیسیلیک‌اسید سبب کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در چند گونه گیاهی دیگر می‌شود (Senaratna *et al.*, 2000). همسو با کاهش آنزیم CAT در این تحقیق گزارش شده است که به‌طور معمول در شرایط تنش از میزان فعالیت کاتالاز کاسته می‌شود، در حالی‌که میزان فعالیت سایر آنزیم‌های دفاعی افزایش می‌یابد (Horvath *et al.*, 2000). نقش اصلی دفاعی در مقابل تنش اکسیداتیو را آنزیم SOD برعهده دارد. این آنزیم متعلق به متالوآنزیم‌ها می‌باشد که تبدیل رادیکال سوپراکسید به اکسیژن و پراکسید هیدروژن را سبب می‌شود. تنش سبب تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کلروپلاست و اندامک‌های سلولی گیاه می‌گردد، که این رادیکال‌های آزاد اکسیژن به‌وسیله آنزیم SOD تبدیل به پراکسید هیدروژن می‌شود و سپس توسط APX و GR در کلروپلاست تبدیل به آب شود (Hausladen & Alscher, 1993). آنزیم GPX با اکسیداسیون ترکیبات فنلی نظیر گایاکول باعث سم‌زدایی و تجزیه آب اکسیژنه می‌شود که این آنزیم در دیواره سلولی، واکوئل و سیتوزول مشاهده می‌شود. گایاکول در واقع دهنده الکترون به پراکسید هیدروژن می‌باشد (Petrov & Breusegem, 2012). در این تحقیق بیشترین میزان فعالیت SOD و GPX به‌ترتیب در ساقه و برگ مشاهده شد و تنش خشکی باعث افزایش فعالیت SOD در ساقه و برگ شد ولی تاثیری بر میزان فعالیت این آنزیم در ریشه نداشت. همچنین تنش خشکی باعث افزایش فعالیت GPX در برگ و ریشه گردید ولی در ساقه کاهش یافت. در فعالیت آنزیم SOD تیمارهای سالیسیلیک‌اسید و متیل‌جاسمونات اثر مثبتی نداشتند ولی متیل‌جاسمونات باعث افزایش فعالیت GPX گردید. در توافق با این نتیجه، در آزمایشی متیل‌جاسمونات در گیاه آرابیدوپسیس باعث افزایش فعالیت GPX شده است (Jung, 2004). سالیسیلیک‌اسید سبب کاهش فعالیت آنزیم CAT و SOD نسبت شاهد در گیاه درمنه شده است، که همراستا با نتایج این آزمایش می‌باشد. این امر می‌تواند نتیجه این باشد که این ماده از طریق تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدان فنولیک، به‌طور مستقیم در از بین بردن رادیکال‌های آزاد نقش داشته و با پاکسازی این گونه‌های فعال و کاهش اثرات تنش، از افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر CAT و SOD جلوگیری می‌کند Eskandari (*et al.*, 2012). سلول‌های گیاهی برای مقابله با ROS تولیدشده تحت شرایط تنش دو راهکار اساسی را در پیش می‌گیرند، اولی کاهش ROS در کل ساختمان گیاه و دومی سازگاری فیزیولوژیکی با ROS می‌باشد. APX نقش کلیدی حفاظت سلول‌ها را با پاکسازی ROS در جلبک و گیاهان عالی بر عهده دارد. در این تحقیق، تحت تنش خشکی، تیمار سالیسیلیک‌اسید باعث کاهش فعالیت APX شد. همچنین هر دو تیمار متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک‌اسید باعث کاهش فعالیت APX نسبت به زمان عدم استفاده از هورمون شدند و بیشترین فعالیت APX به‌ترتیب در ساقه و برگ مشاهده شد. در پژوهشی گزارش شده میزان فعالیت آنزیم‌های CAT و APX در اندام هوایی و ریشه در تیمار با سالیسیلیک‌اسید پس از ۲۴ ساعت همراه با افزایش بود، ولی با گذشت ۴۸ ساعت فعالیت CAT و APX کاهش یافت. در همین پژوهش بر خلاف نتایج این آزمایش مقدار CAT و APX در تیمار با متیل‌جاسمونات افزایش یافته است (Shabani & Ehsanpour, 2009). به‌نظر می‌رسد فاکتور زمان تاثیر مستقیم بر میزان فعالیت APX هنگام تیمار با سالیسیلیک‌اسید دارد. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان جزء پروتئین‌های پاسخ‌دهنده به تنش می‌باشند، که در نتیجه افزایش آنها پروتئین کل افزایش می‌یابد (Jung, 2004). در این تحقیق میزان پروتئین کل اندازه‌گیری‌شده در ریشه بیشتر از برگ و در برگ بیشتر از ساقه بود که سالیسیلیک-اسید مقدار آن را در ریشه و برگ و متیل‌جاسمونات مقدار آن را در برگ افزایش داد. افزایش میزان پروتئین در هنگام استفاده از متیل‌جاسمونات می‌تواند به‌دلیل فعال‌شدن مسیر پروپانوئیدی و در نتیجه سنتز بیشتر آنزیم‌های شرکت‌کننده در این مسیر و نیز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باشد (Rauf-Fard *et al.*, 2014). در توافق با نتایج این آزمایش، در گیاه آگاستا متیل‌جاسمونات با غلظت ۱ و ۰/۱ میلی مولار بعد از گذشت ۲۴ ساعت پس از اعمال تیمار محتوای پروتئین کل را نسبت به گیاه شاهد افزایش داد (Esfandiari *et al.*, 2010). در کلروپلاست‌ها، کاروتنوئیدها به‌عنوان رنگیزه کمکی عمل می‌کنند اما نقش مهم‌تر آنها نقش آنتی‌اکسیدانی آنها می‌باشد (Egert & Tevin, 2002). در این پژوهش تنش خشکی محتوای

www.SID.ir

Archive of SID

کلروفیل a و b را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی در گلرنگ نیز در اثر تنش خشکی به اثبات رسیده است (Amiri *et al*., 2016). کمبود آب باعث تجزیه کلروفیل گردیده و گلوتامات که پیش‌ماده کلروفیل و پرولین است در اثر این تنش به پرولین تبدیل شده و در نتیجه از محتوای کلروفیل کاسته می‌گردد (Lawlor & Cornic, 2002).

در این آزمایش در اثر محلول‌پاشی سالیسیلیک‌اسید میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کارتنوئید به‌طور معنی‌داری افزایش نشان دادند. نتایج دیگر گزارشات اثر مثبت سالیسیلیک‌اسید بر رنگیزه‌های فتوسنتزی (Kang *et al*., 2003) و غیرفتوسنتزی (کاروتنوئید و گزانتوفیل) را تائید می‌کنند (Kaydan *et al*., 2007). همچنین گزارش شده است که اسپری برگی سالیسیلیک‌اسید در گیاه کلزا مقدار کارتنوئیدها را افزایش داد (Ghai *et al*., 2002). در این تحقیق محلول‌پاشی متیل‌جاسمونات نسبت به عدم محلول‌پاشی اثر معنی‌داری را بر روی رنگیزه‌های فتوسنتزی نشان داد ولی این مقدار افزایش نسبت به تیمار سالیسیلیک‌اسید مقدار کمتری بود. احتمالا تاثیر متیل-جاسمونات بر مقدار رنگدانه‌ها ناشی از افزایش فعالیت ACC سنتتاز و بیوسنتز اتیلن است (See *et al*., 2011). عامل محرک پیری و تخریب‌کننده کلروفیل (سنتز کلروفیلاز) در گیاهان در اثر تیمار متیل‌جاسمونات القاء شده و سبب تخریب کلروفیل می‌شود و از آنجا که رنگدانه-های کاروتنوئید در بخش زیرین کلروفیل‌ها قرارگرفته‌اند، با تخریب و تجزیه کلروفیل بر اثر اتیلن القایی و متیل-جاسمونات، رنگ کاروتنوئید ظاهر می‌شود (Tsuchiya *et al*., 1995). در این تحقیق محلول‌پاشی سالیسیلیک‌اسید و متیل-جاسمونات به‌صورت جداگانه باعث افزایش کلروفیل a, b، کلروفیل کل و کارتنوئید شدند. سالیسیلیک‌اسید از طریق افزایش توان آنتی‌اکسیدان‌های سلولی و سنتز پروتئین‌های جدید از دستگاه فتوسنتزی حمایت می‌کند (Alfonso & Martin-Mex, 2007). همچنین این ترکیبات آلی به‌دلیل داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی سبب جاروب-کردن رادیکال‌های اکسیژن تولیدشده توسط تنش خشکی گردیده و در نتیجه میزان کلروفیل گیاه را افزایش می‌دهند (Ramroudi & Khamar, 2013). در این تحقیق تنش خشکی اثر معنی‌داری بر مقدار فلاونوئید و آنتوسیانین نشان نداد. در تحقیقی بر روی مرزه نیز اختلاف معنی‌داری در میزان فلاونوئید تحت تنش خشکی مشاهده نشد (Fabriki-Ourang & Mehrabad-Pourbenab, 2016). همچنین در رابطه با اثر تنش خشکی بر گیاه دارویی همیشه‌بهار گزارش داده‌اند که با افزایش خشکی، طول ریشه، آنتوسیانین، کارتنوئید و کلروفیل کل، a و b افزایش یافته است (Jafarzadeh *et al*., 2013). از طرفی دیگر برخلاف نتاج این آزمایش، تنش خشکی شدید و متوسط (۲۵ و ۶۰ درصد ظرفیت‌زراعی) در گیاه آنیسون باعث افزایش میزان فلاونوئید و آنتوسیانین شده است (Asadi *et al*., 2009). در تحقیق حاضر متیل‌جاسمونات باعث افزایش مقدار آنتوسیانین نسبت به شاهد شد درحالی که سالیسیلیک‌اسید اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت. در این راستا تیمار ۲۰ میکرومولار سالیسیلیک‌اسید افزایش قابل‌توجهی بر میزان فلاونوئیدها در گیاه *Panax ginseng* داشت (Yu *et al*., 2006).

نتیجه‌گیری کلی

تیمارهای متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک‌اسید فعالیت آنزیم CAT را در ساقه و برگ کاهش دادند و این کاهش در تیمار سالیسیلیک‌اسید بیشتر بود. هر دو الیسیتور سالیسیلیک‌اسید و متیل‌جاسمونات در فعالیت آنزیم SOD تاثیری نداشتند، ولی متیل‌جاسمونات باعث افزایش فعالیت GPX گردید. در این تحقیق سالیسیلیک‌اسید تحت تنش خشکی باعث کاهش فعالیت APX شد، همچنین هم متیل‌جاسمونات و هم سالیسیلیک‌اسید باعث کاهش فعالیت APX نسبت به زمان عدم استفاده از هورمون شدند.

سالیسیلیک‌اسید باعث افزایش ۳۴ درصدی محتوای پروتئین کل نسبت به تیمار عدم هورمون گردید. سالیسیلیک‌اسید میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کارتنوئید را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. همچنین متیل-جاسمونات تاثیر مثبتی در افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی نشان داد ولی مقدار افزایش آن نسبت به سالیسیلیک‌اسید کمتر بود. سالیسیلیک‌اسید در افزایش کلروفیل و کارتنوئید و متیل‌جاسمونات در افزایش فلاونوئید و آنتوسیانین نسبت به هم برتر بودند. نتایج این پژوهش نشان داد که مصرف متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک‌اسید باعث افزایش توانایی

www.SID.ir

Archive of SID

گیاه مامیران در پاسخ به تنش خشکی گردیده و علاوه بر اثر محافظتی در برابر اکسیداسیون ناشی از خشکی، باعث افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و برخی متابولیت‌های گیاه شدند.

REFERENCES

1. Arnon, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts; polyphenol-oxidase in *Beta vulgaris*.
2. Plant Physiol. 24, 1-15.
3. Agarwal, S. & Pandey, V. (2004). Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. *Plant Biol*ogy, 48, 555-560.
4. Alfonso, L. V. & Martin-Mex, R. (2007). Effect of salicylic acid on the bioproductivity of plants. *Springer*, 15-23.
5. Amiri, A., Sirous-Mehr, A. R., Yadollahi, P., Asgharpur, M. R. & Ismail Zadeh Bahabadi, S. (2016). Effect of drought stress and spraying salicylic acid and chitosan on photosynthetic pigmentation and antioxidant enzymes of safflower. *Journal of Crop Agricultural*, 18(2), 453-466. (In Farsi)
6. Asadi Kavan, Zh., Ghorbanli, M. & Sateei, A. (2010). The effect of drought stress and exogenous ascorbate on photosynthetic pigments, flavonoids, phenol compounds and lipid peroxidation in *Pimpinella anisum* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 25(4): 456-469.
7. Bayan, M., Amini, F. & Askari, M. (2014). Effect of salicylic acid on organic osmolites accumulation and antioxidant activity of *Nitraria shoberi* L. under drought stress Conditions. *Journal of Plant Production*, 20 (4): 177-188. (In Farsi)
8. Bowler, C., Van Montagu, M. & Inze, D. (1992). Superoxie dismutase and stress tolerance. *Annual review of plant physiology and plant molecular biology*, 43, 83-116.
9. Chen, G. X. & Asada, K. (1989). Ascorbate peroxidase in tea leaves: occurrence of two isozymes and the differences in their enzymatic and molecular propertyes. *Plant Cell Physiol*ogy, 30, 987–998.
10. Creelman, R.A., Tierney, M.L. & Mullet, J.E. (1992). Jasmonic acid/methyl jasmonate accumulate in wounded soybean hypocotyls and modulate wound gene expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 89: 4938-4941.
11. Dragana Jakovljevic, D., Milan Stankovic, S. & Marina Topuzovic, D. (2013). Seasonal variability of *Chelidonium majus* L. secondary metabolites content and antioxidant activity. *Experimental and Clinical Sciences*, 12, 260-268.
12. Egert, M. & Tevini, M. (2002). Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). *Environmental and Experimental Botany*, 48, 43-49.
13. El-Tayeb, M. A. (2005). Response of barley grain to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation*, 45, 215-225.
14. Esfandiari, A., Tajik, T., Shakerpour, M. & Firoozabadi, M. (2010). The destructive effects of active oxygen species on cell defense ability with increasing age of leaves in wheat. *Production of Crops*, 3, 219-227. (In Farsi)
15. Eskandari-Zanjani, K., Shiranirad, A. M., Moradi-Aghdam, A. & Taherkhani, T. (2012). Effect of salicylic acid application in salt stress conditions on physiological and morphological characteristics of Artemisia (*Artemisia annua* L.). *Ecophysiology of Crop Plants*, 4(24), 428-415. (In Farsi)
16. Fabriki-Ourang, S. & Mehrabad-Pourbenab, S. (2016). Study of drought and salinity effect on morphological and biochemical characteristics on *satureja hortensis* L. *Echophytochimistry of Medicinal Plants.* 15(4), 23-35. (In Farsi)
17. Fathi, GH., Esmaeilpour, B. & Jalilvan, P. (2015). *Plant growth regulator (principles and application)*. Mashhad Jahadeh Daneshgahi Press. (In Farsi)
18. Ghai, N., Setia, R. C. & Setia, N. (2002). Effect of paclobutrazol and salicylic acid on chlorophyll content, hill activity and yield components in *Brassica napus* L. *Phytomorphology*, 52, 83-87.
19. Hausladen, A., Alscher, R.G. (1993). Glutathione. In: R.G. Alscher, J.L. Hess, (Ed), *Antioxidants in higher Plants.* (pp. 1–30.) Boca Raton, CRC Press.
20. Horvath, E., Pal, M., Szalai, G., Paldi, E. & Janda, T. (2007). Exogenous 4-hydroxybenzoic acid and salicylic acid modulate the effect of short-term drought and freezing stress on wheat plants. *Biologia Plantarum*, 51:480-487.
21. Horvath, E., Szalai, G. & Janda, T. (2000). Induction of abiotic Stress tolerance by salicylic acid signaling: Review. *Plant Growth Regulation*, 26, 290-300.
22. Jafarzadeh, L., Omidi, H. & Bustani, A. (2013). The effect of drought and nitrogen biofertilizer on some biochemical characteristics of spring flower. *Journal of Iranian Biology*, 2(27), 180-193. (In Farsi)
23. Jung, S. (2004). Effect of chlorophyll reduction in *Arabidopsis thaliana* by methyl jasmonate or norflurazon on

www.SID.ir

Archive of SID

antioxidant systems. *Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 42, 231-255.
24. Kang, G. Z., Wang, C. H., Sun, G. C. & Wang, Z. X. (2003). Salicylic acid changes activities of H2O2-metabolizin.g enzymes and increases the chilling tolerance of banana seedlings. *Environmental and Experimental Botany*, 50, 9-15.
25. Kaydan, D., Yagmur, M. & Okut, N. (2007). Effects of salicylic acid on the growth and some physiological characters in salt stressed wheat (*Triticum aestivum* L.). *Tarim Bilimleri Dergisi*, 13(2), 114-119.
26. Lawlor, D. W. & Cornic, G. (2002). Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant Cell and Environment*, 25, 275-294.
27. Niakan, M. & Zanganeh, A. (2015). Effect of drought stress and salicylic acid on the activity of antioxidant enzymes in Fenugreek. *Iranian Plant Ecophysiological studies*, 33(1): 38-45. (In Farsi)
28. Petrov, V. D. & Breusegem, F. V. (2012). Hydrogen peroxide-a central hub for information flow in plant cells. *Cell Biology*, 14, 1093-1206.
29. Ramroudi, M. & Khamar, A. R. (2013). Interaction effects of salicylic acid solution and irrigation treatments on some quantitative, qualitative and osmotic parameters of basil. *Applied Research of Plant Ecophysiology*, 1(1), 19-32.
30. Rauf-Fard, F., Sharifi, M., Omidbeigi, R., Sefidkon, F., Bahmanesh, M. & Ahmadi, N. (2014). The Effect of methyl-jasmonate on metabolism enzymes and phenolic materials in agustact drug. *Iranian Journal of Medicinal Plants and Herbs Research*, 30(3), 369-361. (In Farsi)
31. See, K. S., Bhatt, A. & Keng, C. L. (2011). Effect of sucrose and methyl jasmonate on biomass and anthocyanin production in cell suspension culture of *Melastoma malabathricum*. *International Journal of Tropical Biology and Conservation*, 59(2), 597- 606.
32. Senaratna, T., Touchell, D., Bunn, E. & Dixon, K. (2000). Acetyl salicylic acid (Asprin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Plant Growth Regulation*, 30, 157-161.
33. Shabani, L. & Ehsanpour, A. (2009). Induction of antioxidant enzymes, phenolic compounds and flavonoids in cultivation in licorice using methyl-jasmonate and salicylic acid. *Iranian Biology*, 22(4), 691-703. (In Farsi)
34. Tsuchiya, T., Ohta, H., Okawa, K., Lwamatsu, A., Shimada, H., Masuda, T. & Takamiya, K. I. (1995). Cloning of chlorophyllase, the key enzyme in chlorophyll degradation: finding of a lipase motif and the induction by methyl jasmonate. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(26), 15362-15367.
35. Upadhyaya, A., Sankhla, D., Davis, T. D., Sankhla, N. & Smith, B. N. (1985). Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. *Journal of Plant Physiology*, 121, 453-461.
36. Yu, L.J., Lan, W.Z., Qin, W.M. & Xu, H.B. (2001). Effects of salicylic acid on fungal elicitor induced membrane-lipid peroxidation and Taxol production in cell suspension cultures of Taxus chinensis. *Process Biochemistry*. 37:477-82.
37. Yu, Z. Z., Fu, C., Han, Y. S., Li, Y. X. & Zhao, D. X. (2006). Salicylic acid enhances jaceosidin and syringin production in cell cultures of *Saussurea medusa*. *Biotechnology Letter*, 28, 1027-1031.

www.SID.ir