

اثر محلول پاشی اسید جاسمونیک بر برخی صفات مورفوفیزیولوژیکی، فعالیت آنٹی اکسیدانی و عملکرد اسانس مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) تحت تنش خشکی

ایوب مزارعی^۱، سید محسن موسوی نیک^۲، احمد قنبری^۳ و لیلا فهمیده^{۴*}

۱- دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۲- دانشیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۳- استاد، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۴- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

پست الکترونیک: Leila.fahmideh@yahoo.com؛ l.fahmideh@uoz.ac.ir

تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۷

تاریخ اصلاح نهایی: آبان ۱۳۹۷

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۹۶

چکیده

کمبود آب یکی از مهمترین عوامل محیطی محدودکننده رشد گیاهان و محصولات آنهاست. در این مطالعه، به منظور بررسی اثر اسید جاسمونیک بر کاهش صدمات ناشی از تنش خشکی روی شاخص‌های رشدی و برخی از پاسخ‌های فیزیولوژیکی و آنٹی اکسیدانی گیاه دارویی مریم گلی (*Salvia officinalis* L.)، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در دانشگاه زابل اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل تنش خشکی (آبیاری در حد ظرفیت زراعی، تخلیه ۵۰٪ و ۷۵٪ رطوبت ظرفیت زراعی) و محلول پاشی اسید جاسمونیک (صفر (شاهد)، ۷۵ و ۱۵۰ میلی گرم در لیتر) بودند. نتایج نشان داد که محلول پاشی با غلظت ۱۵۰ مولار اسید جاسمونیک در شرایط تنش خشکی ارتفاع (۱۰/۰۲٪)، وزن تر (۲۷/۸۸٪) و خشک گیاه (۱۲/۸۱٪)، محتوای نسبی آب برگ (۲۱/۰۴٪)، کلروفیل a و b (۱۲/۱۵٪ و ۱۰/۳۴٪) را افزایش داد. بیشترین مقدار فنول کل (۳۴/۱۳ میلی گرم بر وزن تر)، عملکرد اسانس (۲/۱ میلی گرم بر وزن تر)، غلظت پرولین (۵/۵۲ میلی گرم بر وزن تر) و فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز (۳/۱۵ میلی گرم بر وزن تر) و گایاکول پراکسیداز (۰/۷۶ میلی گرم بر وزن تر) در گیاهان محلول پاشی شده با غلظت ۱۵۰ میلی گرم در لیتر اسید جاسمونیک و تخلیه ۷۵٪ رطوبت ظرفیت زراعی حاصل شد و از سویی بیشترین مقدار کاتالاز (۵/۱۲ میلی گرم بر وزن تر)، آسکوربات پراکسیداز (۰/۷۶ میلی گرم بر وزن تر) و سوپراکسید دیسموتاز (۵/۶۴ میلی گرم بر وزن تر) در گیاهان محلول پاشی شده با غلظت ۱۵۰ میلی گرم در لیتر اسید جاسمونیک در تنش خشکی (تخلیه ۵۰٪ و ۷۵٪ رطوبت ظرفیت زراعی) بدست آمد. بنابراین براساس نتایج بدست آمده به نظر می‌رسد که اسید جاسمونیک با افزایش توان دفاع آنٹی اکسیدانی و تجمع تنظیم کننده‌های اسمزی (نظیر پرولین) سبب کاهش تنش اکسیداتیو در گیاهچه‌های تحت تنش خشکی شده، همچنین با حفظ محتوای نسبی آب برگ و رنگیزه‌های فتوسنتزی موجب بهبود شرایط رشدی بوته‌های مریم گلی در شرایط تنش شده است.

واژه‌های کلیدی: پرولین، تنظیم کننده‌های رشد گیاهی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، فنول کل، محتوای نسبی آب برگ.

مقدمه

(شامل آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی و آنزیمی) دارند که اولین سد دفاعی را در برابر تنش ایجاد می‌کنند (Asada, 2000).

اسید جاسمونیک و مشتقات آن تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی پیچیده‌ای هستند که بر طیف وسیعی از واکنش‌های فیزیولوژیکی و نمو گیاه اثر گذاشته و در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی عمل می‌کنند (Wasternack, 2007). اسید جاسمونیک یکی از هورمون‌های مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی است (Rubio et al., 2009). این هورمون بعد از زخم شدن گیاه به سرعت در بافت‌های زخمی و غیرزخمی تجمع پیدا می‌کند. اسید جاسمونیک و مشتقات آن خسارت‌های ناشی از کم‌آبی را کاهش می‌دهند و سبب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها در گیاه و کاهش رادیکال‌های آزاد و ایجاد مقاومت در برابر تنش خشکی می‌شوند (Bari & Jones, 2009). پژوهشگران عقیده دارند که کاربرد خارجی اسید جاسمونیک منجر به تغییرات اولیه در مورفولوژی مرستم انتهایی، گسترش سلولی و تمایز بافتی می‌گردد (Emongor, 2007) و با افزایش تقسیم سلولی درون مرستم‌ها، رشد گیاهان را بهبود می‌دهد و با تسریع رشد ریشه در جذب آب سبب افزایش شاخص‌های رشدی گیاه مانند سطح برگ و وزن تر و خشک گیاهان می‌شود (Mandhanis et al., 2006).

بنابراین با توجه به موارد ذکر شده در این پژوهش سعی شده است اثر محلول‌پاشی اسید جاسمونیک بر روی برخی از صفات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی مریم‌گلی تحت تنش خشکی مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به منظور بررسی اثر تنش خشکی و محلول‌پاشی اسید جاسمونیک بر برخی خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی مریم‌گلی، به صورت فاکتوریل در قالب طرح

مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) گیاهی چندساله و نیمه‌خشبی از تیره نعنائیان است. ساقه مستقیم، چهارگوش و ارتفاع آن بین ۵۰ تا ۸۰ سانتی‌متر است. اندام‌های هوایی گیاه به ویژه برگ‌ها حاوی اسانس هستند، مقدار اسانس در شرایط اقلیمی مختلف متفاوت و بین ۲/۵-۱٪ است. مهمترین ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس آن شامل توژون (۳۰-۵۰٪)، سینئول (۱۵-۱۰٪)، کامفور (۱۰-۶٪)، بورنتول (۱۴-۶٪) و پینن (۲-۱٪) هستند (Omidbaigi, 2005).

گیاهان در محیط‌های طبیعی دستخوش انواع تنش‌ها می‌شوند که اثر منفی روی رشد آنها دارد، در این بین، خشکی بزرگترین عامل محدودکننده تولید محصولات کشاورزی است (Reddy et al., 2004b). تنش خشکی موجب تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متعددی در گیاهان می‌گردد و واکنش گیاهان به تنش خشکی به ماهیت کمبود آب وابسته است. تنش ناشی از کمبود آب سبب کاهش رشد قسمت‌های مختلف گیاه اعم از ریشه‌ها، کاهش سطح برگ، ارتفاع، وزن خشک، بسته شدن روزنه‌ها، تخریب آنزیم‌ها و پروتئین‌ها، تجمع اسیدهای آمینه و کاهش کلروفیل می‌شود (Oliviera-Neto et al., 2009).

تنظیم اسمزی و افزایش ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی از مهمترین سازوکارها گیاهان در مواجهه با کمبود آب به‌شمار می‌رود. تنظیم اسمزی با هدف حفظ تورژسانس سلولی، تداوم جذب از محیط ریشه و پایداری غشاها انجام می‌شود. در گیاهان تحت تنش خشکی، گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن (Reactive Oxygen Species: ROS) تجمع می‌یابند. گونه‌های اکسیژن فعال از طریق پراکسیداسیون لیپیدها و تخریب پروتئین‌ها سبب ایجاد تنش ثانویه اکسیداتیو شده که منجر به خسارت جدی به ساختارهای سلولی می‌شود (Ma et al., 2006). گیاهان مختلف سازوکارهای حفاظتی مختلفی برای حذف ROS

وزن شد و پس از آسیاب شدن مختصر با دوسوم آب بالان در داخل دستگاه کلونجر به مدت پنج ساعت جوشانده شد (Sefidkon & Nazar alipoor, 2002).

اندازه‌گیری میزان پرولین

میزان پرولین با روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری و به کمک رسم منحنی و تهیه رابطه خطی منحنی استاندارد غلظت پرولین تعیین و برحسب میلی گرم بر گرم محاسبه شد.

محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی

محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی با روش Prochazka و همکاران (۱۹۹۸) تعیین و از روابط زیر استفاده شد.

$$\text{Chl a} = 12/25A2/79 - 663A646$$

$$\text{Chl b} = 21/21A5/1 - 646A663$$

$$\text{Chl T} = \text{Chl a} + \text{Chl b}$$

سنجش میزان فنول

مقادیر فنول کل در نمونه‌های عصاره گیاهی توسط روش فولین سیوکالتو اندازه‌گیری شد (McDonald *et al.*, 2001).

محتوای نسبی آب برگ

برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ از روش Levitt (۱۹۸۰) استفاده شد. محتوای نسبی آب برگ در نهایت به وسیله رابطه زیر محاسبه گردید.

$$\text{RWC} = (\text{LWF} - \text{LWD}) / (\text{LWT} - \text{LWD})$$

که در این رابطه، RWC: محتوای نسبی آب برگ، LWF: وزن تر، LWT: وزن آماس و LWD: وزن خشک برگ‌هاست.

کاملاً تصادفی در سه تکرار در سال ۱۳۹۴ در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه زابل (واقع در چاه نیمه) اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل محلول پاشی اسید جاسمونیک در دو سطح ۷۵ و ۱۵۰ میلی گرم در لیتر و بدون محلول پاشی به عنوان شاهد و سطوح مختلف تنش خشکی در دو سطح ۵۰ و ۷۵٪ تخلیه ظرفیت زراعی و آبیاری کامل (نگهداری رطوبت در حد ظرفیت زراعی) به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. بافت خاک محل آزمایش لومی شنی بود. خاک مورد استفاده براساس نتایج آزمون خاک دارای ۲۸٪ رس، ۴۱٪ شن، ۳۱٪ لای و pH برابر ۷/۷ بود. در هر گلدان ۲۰ عدد بذر کاشته شد و در مرحله ۴ برگی عمل تنک کردن بر روی گلدان‌ها انجام گردید و در نهایت تعداد ۳ بوته درون هر گلدان باقی ماند. پس از استقرار کامل بوته‌ها و ۱/۵ ماه بعد از کاشت تیمار خشکی اعمال شد. برای اندازه‌گیری میزان رطوبت خاک و تعیین زمان آبیاری از دستگاه (TDR Time Domain Reflectometer) استفاده شد (Topp & Davies, 1985). صفات مورد بررسی شامل ارتفاع، وزن تر و خشک گیاه، محتوای نسبی آب برگ، پرولین، فنول کل و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بود.

شاخص‌های رشدی

برای اندازه‌گیری ارتفاع، وزن تر و وزن خشک بوته‌ها، ابتدا اندام هوایی هر گیاه از ریشه جدا، سپس ارتفاع (برحسب سانتی متر و با خطکش) و وزن تر بوته (بر حسب گرم و با ترازو با دقت ۰/۰۰۱) اندازه‌گیری شد. وزن خشک بوته گیاه پس انتقال بوته‌ها به آن با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت (برحسب گرم و با ترازوی با دقت ۰/۰۰۱) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری میزان اسانس

استخراج اسانس به روش تقطیر با آب و توسط دستگاه کلونجر انجام شد. به این منظور، ۲۰ گرم نمونه از هر تیمار

سطح ۱٪ معنی دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین برهم‌کنش اثر متقابل سطوح جاسمونیک اسید در هر سطح تنش نشان داد که میزان کلروفیل a و b در تیمار ظرفیت زراعی با محلول پاشی ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر جاسمونیک به ترتیب نسبت به شاهد افزایش ۱۲/۱۵ و ۱۰/۳۴ درصدی داشت (جدول ۲).

محتوای نسبی آب برگ

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر سطوح مختلف خشکی، محلول‌پاشی اسید جاسمونیک و اثر متقابل تنش خشکی در اسید جاسمونیک بر روابط آبی گیاه در سطح ۱٪ معنی دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین برهم‌کنش اثر متقابل سطوح جاسمونیک اسید در هر سطح تنش نشان داد که محلول پاشی با ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید جاسمونیک در تیمار ظرفیت زراعی سبب افزایش ۲۱/۰۴ درصدی محتوای نسبی برگ نسبت به شاهد شد (جدول ۲).

پرولین

براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر سطوح مختلف تنش خشکی، محلول پاشی اسید جاسمونیک و اثر متقابل تنش خشکی در جاسمونیک بر مقدار پرولین برگ در سطح ۱٪ معنی دار بود (جدول ۱). در سطوح کاربرد محلول پاشی اسید جاسمونیک در هر سطح تنش بر میزان پرولین افزوده شد، به طوری که در سطح تنش ۷۵٪ تخلیه رطوبت، با کاربرد اسید جاسمونیک (۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) میزان پرولین نسبت به شاهد افزایش ۶۴/۶۷ درصدی داشت (جدول ۲).

عملکرد اسانس

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس جدول ۱ نشان داد که مقدار اسانس تحت تأثیر تیمار تنش خشکی، اسید جاسمونیک و اثر متقابل خشکی در اسید جاسمونیک قرار گرفت و از نظر آماری در سطح ۱٪ دارای اختلاف معنی دار

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

برای اندازه‌گیری مقدار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، ابتدا عصاره آنزیمی به روش Sairam و Saxena (۲۰۰۰) استخراج گردید. فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز به روش Weydert و Cullen (۲۰۱۰)، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به روش Sairam و همکاران (۲۰۰۲)، فعالیت آنزیم‌های اسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز با روش Hameda و Kelin (۱۹۹۰) اندازه‌گیری شد.

داده‌های مربوط به آزمایش‌های مختلف در این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9.1 تجزیه شده و مقایسه میانگین تیمارها نیز با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ انجام شد.

نتایج

صفات مورفولوژیکی

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که برخی از ویژگی‌های رشدی در این آزمایش از قبیل ارتفاع، وزن تر و خشک بوته تحت تأثیر تیمار تنش خشکی و اسید جاسمونیک و اثر متقابل خشکی در اسید جاسمونیک قرار گرفت و اختلاف از نظر آماری در سطح ۱٪ معنی دار گردید. نتایج نشان داد که در سطوح کاربرد محلول پاشی اسید جاسمونیک در هر سطح تنش بر میزان ارتفاع، وزن تر و خشک افزوده شد، اما بیشترین میزان صفات مورد بررسی در ظرفیت زراعی با محلول پاشی ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید جاسمونیک بود (جدول ۲).

صفات فیزیولوژیکی

رنگی‌های فتوسنتزی

با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها مشاهده شد که اثر خشکی، محلول پاشی اسید جاسمونیک و اثر متقابل تنش خشکی در اسید جاسمونیک بر مقدار کلروفیل a و b در

بحث

صفات مورفولوژیکی

نتایج این مطالعه نشان داد که با افزایش سطوح خشکی برخی ویژگی‌های رشدی در این آزمایش از قبیل ارتفاع، وزن تر و وزن خشک بوته کاهش یافت که با نتایج Reddy و همکاران (۲۰۰۴a) که بیان کردند تنش کمبود آب از مهمترین تنش‌های غیرزیستی به‌شمار می‌رود و سبب کاهش رشد و عملکرد در بسیاری از گیاهان زراعی و دارویی می‌گردد همخوانی دارد. در مطالعه Lebaschy و Sharifi ashoor abadi (۲۰۰۴) اثر تیمارهای آبی (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی) روی مریم‌گلی (*Salvia officinalis*)، همیشه‌بهار (*Matricaria*) و بابونه (*Chamomile*) بررسی شد و نتایج نشان داد که وزن اندام‌های هوایی و ارتفاع در گیاهان مورد مطالعه با تشدید تنش خشکی کاهش داشت که با نتایج این مطالعه همخوانی دارد. Ahmed و همکاران (۲۰۰۲) بیان کردند که کاهش وزن ماده خشک و ارتفاع بوته در شرایط تنش خشکی ممکن است ناشی از کاهش رشد گیاه و کاهش تقسیم سلولی و بزرگ شدن سلول‌ها باشد. نتایج Ardakani و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد که بیشترین عملکرد اندام هوایی، ارتفاع بوته و طول و عرض برگ در گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) از تیمار کنترل (عدم تنش خشکی) حاصل شد. از سویی نتایج آنان نشان داد که با طولانی شدن دور آبیاری ارتفاع بوته کاهش یافت که تأییدی بر نتایج مطالعه فوق است.

گردید. در سطوح کاربرد محلول پاشی اسید جاسمونیک در هر سطح تنش بر مقدار اسانس افزوده شد، به طوری که در سطح تنش ۷۵٪ تخلیه رطوبت، با محلول پاشی ۱۵۰ میلی گرم اسید جاسمونیک مقدار اسانس نسبت به شاهد ۵۴/۷۶٪ افزایش داشت (جدول ۲).

ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که فعالیت برخی از ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی از قبیل پراکسیداز، اسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز و فنول کل تحت تأثیر تیمار تنش خشکی، اسید جاسمونیک و اثر متقابل خشکی در اسید جاسمونیک قرار گرفتند و اختلاف از نظر آماری در سطح ۱٪ معنی دار گردید. در سطوح کاربرد محلول پاشی اسید جاسمونیک در هر سطح تنش بر میزان آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی افزوده شد؛ به طوری که در سطح تنش ۷۵٪ تخلیه رطوبت، با محلول پاشی ۱۵۰ میلی گرم اسید جاسمونیک میزان فنول کل، POD (Peroxidase) و GPX (Guaiacol peroxidase) به ترتیب افزایش ۶۲/۸۱، ۶۹/۷۲ و ۷۸/۹۴ درصدی نشان دادند؛ اما بیشترین میزان CAT (Catalase)، SOD (Superoxide dismutase) و APX (Ascorbate peroxidase) از محلول پاشی ۱۵۰ میلی گرم در لیتر اسید جاسمونیک با تنش خشکی (۵۰٪ و ۷۵٪ تخلیه رطوبت زراعی) حاصل شد. همچنین مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیم‌ها نشان داد که بیشترین فعالیت مربوط به آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بود (جدول ۲).

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس برخی خصوصیات مورد بررسی مریم گلی تحت تأثیر تیمار تنش خشکی و اسید جاسمونیک

منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن تر گیاه	وزن خشک گیاه	ارتفاع	محتوای نسبی آب برگ	کلروفیل a	کلروفیل b	عملکرد اسانس	فول	کاتالاز	سوپراکسید دیسموتاز	پراکسیداز	گایاکول پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	پرولین
تنش خشکی	۲	۱۸۹/۴۸**	۱۷/۰۵**	۲۹۰/۲۴**	۱۴۶۷/۶۲**	۳/۹۷**	۰/۵۳**	۰/۸۴**	۱۶۳/۰۵**	۲/۳۸**	۱۲/۸۶**	۱/۲۳**	۰/۱۰۲**	۰/۰۵۶**	۸/۷۷**
اسید جاسمونیک	۲	۴۸/۹۲**	۴/۴**	۵۴/۳۳**	۱۶۹۴/۶۸**	۰/۰۷۲**	۰/۵۲**	۰/۷۸**	۳۶۹/۶۷**	۲۸/۴۸**	۱۸/۰۷**	۵/۱۸**	۰/۴۲**	۰/۲۸**	۱۶/۳۴**
تنش خشکی x اسید جاسمونیک	۴	۱۴/۶۴**	۱/۳۱**	۱۰/۶۷**	۳۶۲/۵۳**	۰/۰۱۹**	۰/۰۹۶**	۰/۰۴۱**	۸/۲۴**	۰/۴۴**	۰/۲۰**	۰/۱۴۵**	۰/۰۰۲**	۰/۰۰۳**	۰/۱۸**
خطا	۱۸	۲/۷۰	۲/۳۲	۲/۳۲	۳/۶۸	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۱/۸۶	۰/۰۳۸	۰/۰۴۴	۰/۰۰۷	۰/۰۰۳	۰/۰۰۴	۰/۰۷۱
ضریب تغییرات		۱۰/۸۲	۸/۷۵	۹/۵۹	۲/۹۹	۱/۲۵	۳/۳۳	۸/۳۷	۵/۹۶	۵/۵۹	۵/۷۶	۱/۲۸	۴/۷۳	۳/۷۶	۱/۷۷

ns, * و ** به ترتیب عدم اختلاف معنی دار، اختلاف معنی دار در سطح ۰/۵ و ۱/٪

جدول ۲- مقایسه میانگین برخی خصوصیات مورد بررسی مریم گلی تحت تأثیر اثر متقابل تیمار اسید جاسمونیک (میلی لیتر بر لیتر) و تنش خشکی

تیمارها اسید جاسمونیک تنش خشکی	وزن تر گیاه (گرم)	وزن خشک گیاه (گرم)	ارتفاع (سانتی متر)	محتوای نسبی آب برگ (%)	کلروفیل a (میلی گرم بر وزن تر)	کلروفیل b (میلی گرم بر وزن تر)	عملکرد اسانس (میلی گرم بر وزن تر)	فنول (میلی گرم بر وزن تر)	کاتالاز (میلی گرم بر وزن تر)	سوپراکسید دیسموتاز (میلی گرم بر وزن تر)	پراکسیداز (میلی گرم بر وزن تر)	گیاکول پراکسیداز (میلی گرم بر وزن تر)	آسکوربات پراکسیداز (میلی گرم بر وزن تر)	پرولین (میلی گرم بر وزن تر)
ظرفیت زراعی تخلیه ٪۵۰	۱۷/۳۳bc	۵/۲۲bc	۸۳/۰۵b	۱۹/۱۳b	۲/۲۴c	۱/۸۲c	۰/۹۵f	۱۲/۶۹f	۰/۷۶f	۰/۵۱f	۰/۸۶h	۰/۱۶h	۰/۲۶f	۱/۹۵h
ظرفیت زراعی تخلیه ٪۷۵	۱۱/۱۵e	۳/۳e	۴۱/۳۹g	۹/۴۱g	۱/۲۰g	۱/۳۳f	۱/۰۹f	۱۷/۴۶e	۱/۲۳e	۲/۵۴e	۱/۱۴g	۰/۲۷g	۰/۳۵e	۲/۳۲g
ظرفیت زراعی تخلیه ٪۷۵	۹/۱۳f	۲/۸f	۲۶/۰۲h	۸/۵۶g	۱/۱h	۰/۹۷g	۱/۲۳e	۱۸/۴۰e	۲/۵۴dc	۳/۱۱d	۱/۸۵f	۰/۳۲f	۰/۴۴d	۲/۵۴f
ظرفیت زراعی تخلیه ٪۵۰	۲۰/۰۱b	۶/۱۵b	۹۰/۶۵a	۲۱/۲b	۲/۳۵b	۱/۹۳b	۱/۳e	۱۹/۵۲e	۴/۱۲c	۳/۱۸d	۲/۱۴e	۰/۴۴e	۰/۵۵c	۲/۵۵f
ظرفیت زراعی	۱۶c	۴/۸c	۶۶/۳۹d	۱۵/۱۲d	۱/۲۹d	۱/۷۳cd	۱/۷۲c	۲۴/۱۳d	۴/۳۲bc	۴/۴۵c	۲/۴۵c	۰/۶۱c	۰/۶۳b	۴/۱۳d

۷۵

تیمارها	وزن تر	وزن خشک	ارتفاع	محتوای نسبی آب برگ (%)	کلروفیل a	کلروفیل b	عملکرد اسانس	فنول	کاتالاز	سوپراکسید	پراکسیداز	گایاکول	آسکوربات	پرولین
اسید جاسمونیک	گیاه (گرم)	گیاه (گرم)	(سانتی متر)		(میلی گرم تر)	(میلی گرم تر)	(میلی گرم تر)	(میلی گرم تر)	(میلی گرم تر)	(میلی گرم تر)	(میلی گرم تر)	(میلی گرم تر)	(میلی گرم تر)	(میلی گرم تر)
تخلیه	۱۵/۱۱cd	۴/۵cd	۷۵/۷۴c	۱۴/۱۷cd	۱/۲۸de	۱/۷۶cd	۱/۸۲b	۲۶/۷۳c	۴/۵۶b	۴/۹۶b	۲/۴۶c	۰/۶۳c	۰/۶۵b	۴/۳۳c
%۷۵ ظرفیت زراعی														
ظرفیت زراعی	۲۴/۰۳a	۷/۲a	۹۲/۳۰a	۲۴/۲۳a	۲/۵۵a	۲/۰۳a	۱/۶dc	۲۲/۲۴d	۴/۱۵c	۳/۲۳d	۲/۲۴d	۰/۵۲d	۰/۵۷c	۳/۲۵e
تخلیه														
%۵۰ ظرفیت زراعی	۱۲/۲۳de	۳/۷e	۵۴/۱۱e	۱۱/۱۸ef	۱/۲۵f	۱/۶۴e	۱/۸۹b	۳۰/۵۱b	۴/۹۷a	۵/۳۴a	۲/۸۶b	۰/۷۲b	۰/۷۴a	۵/۲۶b
تخلیه														
%۷۵ ظرفیت زراعی	۱۱/۶۶e	۳/۵۵e	۴۶/۰۸f	۱۲/۳۳de	۱/۲۶ef	۱/۶۶de	۲/۱a	۳۴/۱۳a	۵/۱۲a	۵/۶۴a	۳/۱۵a	۰/۷۶a	۰/۷۶a	۵/۵۲a

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده تفاوت غیرمعنی دار بین آنها می باشد.

باعث تجمع کلروفیل در جلبک (*Chlorella vulgaris*) می شود. در تحقیقی بر روی نوعی عدسک آبی گزارش شده است که جاسمونات در غلظت ۰/۱ میکرومولار باعث ترمیم رنگدانه های فتوسنتزی از جمله کلروفیل a و کاروتنوئیدها گردیده است (Piotrowska et al., 2009). آنان همچنین بیان کردند که کاربرد متیل جاسمونات باعث حفاظت کلروفیل ها و افزایش فتوسنتز شده است؛ اما Babst و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که اسید جاسمونیک در گیاه صنوبر هیچ تأثیری بر مقدار کلروفیل و فتوسنتز گیاه نداشته است. در حالی که در این مطالعه بیشترین میزان رنگیزه های فتوسنتزی مربوط به تیمار ۱۵۰ میلی گرم در لیتر اسید جاسمونیک در شرایط ظرفیت زراعی بدست آمد.

محتوای نسبی آب برگ

کاهش محتوای رطوبت نسبی (RWC) برگ ها از بارزترین علائم فیزیولوژیک کمبود رطوبت خاک می باشد. به طوری که زیاد بودن مقدار رطوبت نسبی برگ و کم بودن سرعت از دست رفتن، نشان دهنده سازگاری به خشکی است. براساس نتایج این مطالعه افزایش سطوح تنش خشکی سبب کاهش محتوای نسبی آب برگ شد که با نتایج Munne و Alegre (۲۰۰۳) در گیاه رزماری و بادرنجبویه همخوانی دارد. آنان بیان کردند که تنش خشکی، محتوای رطوبت نسبی رزماری را تا ۴۰٪ و بادرنجبویه را تا ۳۰٪ کاهش داد. نتایج آزمایش های تحمل خشکی در ژنوتیپ های مختلف گیاه *Vigna radiate* در هند نشان داد که تنش خشکی در کلیه ژنوتیپ ها، موجب کاهش محتوای نسبی آب برگ گردید (Nadiu & Naraly, 2001). محققان معتقدند که کاهش میزان محتوای رطوبت نسبی برگ در اثر تنش کم آبی مربوط به بسته شدن روزنه ها می باشد و علت بسته شدن روزنه ها را هورمون اسید آبسزیک ساخته شده در ریشه، در طی شرایط تنش خشکی می دانند که در سلول های روزنه ای تجمع می یابد (Khan et al., 2007)؛ Beltrano & Ronco, 2008). نتایج مطالعه Zabet (۲۰۰۳) نشان داد که محلول پاشی با متیل جاسمونات موجب افزایش

نتایج نشان داد که اسید جاسمونیک در بهبود رشد گیاهانی که تحت تنش قرار داشتند تا حد زیادی مؤثر بود. به عبارتی اسید جاسمونیک اثرهای منفی خشکی بر رشد و پارامترهای رشدی گیاه را کاهش داد؛ چنین نتایجی توسط Reda و همکاران (۲۰۰۷) بر روی گیاه آویشن (*Thymus vulgaris*) نیز گزارش شده است. اسید جاسمونیک و مشتقات آن با تأثیر بر تقسیم سلولی و طویل شدن سلول ها منجر به طویل شدن میان گره های ساقه و افزایش وزن تر و خشک اندام گیاهی می گردد (Emongor, 2007). در بررسی تأثیر متیل جاسمونات روی کنگر فرنگی (*Cynara scolymus*) گزارش شد که پایین ترین غلظت متیل جاسمونات به طور قابل توجهی ارتفاع گیاه، سطح برگ، وزن و طول برگ تازه و وزن تر و خشک سیستم ریشه ای را افزایش داد (Martín-Closas et al., 2002) که با نتایج حاصل از این تحقیق همخوانی دارد.

صفات فیزیولوژیکی

رنگیزه های فتوسنتزی

میزان کلروفیل یکی از عوامل مهم حفظ ظرفیت فتوسنتزی در گیاهان زنده است (Oliviera-Neto et al., 2009). تولید ترکیب های فنولی، افزایش رادیکال های فعال اکسیژن فعال و آسیب رساندن به غشاء کلروپلاست و اختلال در جذب نیتروژن خاک به عنوان مهمترین عوامل کاهنده غلظت کلروفیل در تنش های شدید شناخته شده اند (Silva et al., 2007). در ارزیابی واکنش بابونه به کمبود آب نیز این روند گزارش شد (Arazmjo et al., 2010). بنابراین می توان بیان کرد که با توجه به مشترک بودن پیش ماده کلروفیل و پرولین، شاید یکی از دلایل کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش، افزایش سنتز پرولین باشد (Xiao et al., 2008).

البته در مورد نقش جاسمونات بر مقدار رنگیزه های فتوسنتزی نتایج متفاوتی ذکر شده است. در گزارشی Czerpak و همکاران (۲۰۰۶) بیان کردند که جاسمونات ها

برگ های گوجه فرنگی، تنباکو و یونجه شده و بدین طریق منجر به پایداری پروتئین های گیاهان می شود. استفاده از اسید جاسمونیک در شرایط تنش خشکی ممکن است به دلیل تأثیر بر افزایش پرولین و قندهای محلول و یا هدایت روزنه ای و تحریک بسته شدن روزنه ها، سبب کاهش قابلیت آب در گیاه شود (Bagheri *et al.*, 2011). نتایج این مطالعه نشان داد که میزان پرولین در تنش خشکی و کاربرد اسید جاسمونیک افزایش یافت که به نظر می رسد در واکنش گیاهان نسبت به تنش، جاسمونیک اسید به عنوان تنظیم کننده ژن های پروتئین های بازدارنده، مانند هیدروکسی پرولین و پرولین عمل کرده و با تنظیم افزایشی آنها به ویژه پرولین سبب افزایش میزان این اسید آمینه در شرایط تنش می شود (Bagheri *et al.*, 2011). در مطالعه ای کاربرد متیل جاسمونات را در تنش شوری و کم آبی بررسی و گزارش کردند که این ترکیب با القاء آنزیم سنتزکننده پرولین، باعث افزایش تولید پرولین می شود که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد (Fedina & Benderliev, 2000). همچنین اثر مثبت اسید جاسمونیک را بر میزان پرولین برگ زیتون طی تنش شوری گزارش کردند که با نتایج مطالعه فوق همخوانی دارد (El-Sayed *et al.*, 2014).

مقدار اسانس

Popova و همکاران (۲۰۰۳) بیان کردند که جاسمونیک اسید و مشتقات آن دارای نقش دوگانه در تکامل و دفاع می باشند. این ترکیب ها می توانند با القاء مسیره های علامت رسانی باعث فعال شدن واکنش های دفاعی در گیاه شده، در نتیجه باعث افزایش تولید متابولیت های ثانویه در گیاهان شوند. بنابراین با توجه به افزایش ۵۴/۷۶ درصدی مقدار اسانس مریم گلی پس از تیمار با اسید جاسمونیک در تنش خشکی، می توان نتیجه گرفت که این ترکیب از سویی به عنوان پیام رسان کلیدی در فرایند القاء منجر به تولید متابولیت های ثانویه شده و از سوی دیگر با تحریک علامت رسانی در سلول ها سبب افزایش مقدار اسانس

محتوای نسبی آب برگ گردید که با نتایج مطالعه فوق همخوانی داشت. در مطالعه ای مشاهده شد که بیشترین مقدار محتوای نسبی آب برگ از شوری ملایم (۶ دسی زمینس بر متر) با محلول پاشی ۷۵ میکرومولار متیل جاسمونات بدست آمد (Salimi *et al.*, 2015).

پرولین

نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش سطوح خشکی سبب افزایش میزان پرولین می شود که با نتایج محققان در دو گیاه لوبیا و سویا (Mandhanis *et al.*, 2006)، *Thymus vulgaris* (Babae *et al.*, 2010) و *Festuca lolium* (Bandurska & Jozwiak, 2010) همخوانی دارد. این محققان بیان کردند که با کاهش قابلیت آب گیاه میزان پرولین افزایش می یابد. زمانی که گیاه در معرض تنش خشکی قرار می گیرد آمینواسیدها مثل پرولین با حفظ ظرفیت آبگیری در سیتوپلاسم سلول از تشکیل اشکال نامطلوب و یا قطعه قطعه شدن ماکرومولکول هایی از جمله پروتئین ها و برخی آنزیم های سیتوپلاسمی و میتوکندریایی جلوگیری می کند و دارای نقش محافظت کننده برای تیلوکوئیدهای کلروپلاست و دیگر سیستم های غشایی در شرایط تنش هستند (Jiang & Huang, 2000). پرولین از طریق تنظیم اسمزی، جلوگیری از تخریب آنزیم ها و پاک کردن رادیکال های هیدروکسیل، بردباری و تحمل گیاه را در برابر تنش ها افزایش می دهد و حلالیت پروتئین ها و آنزیم های مختلف را تحت تأثیر قرار می دهد و از تغییر ماهیت آنها جلوگیری می کند (Mishra & Dubey, 2006). تنش خشکی از دو راه باعث افزایش میزان پرولین می شود: الف) افزایش سنتز آنزیم هایی که تولید پرولین را تحریک می کنند، ب) ممانعت از عمل آنزیم هایی که پرولین را تخریب می کنند (Mandhanis *et al.*, 2006).

در گزارشی Farmer و همکاران (۱۹۹۲) بیان کردند که اسید جاسمونیک ممکن است توسط بیان ژن و تحریک سنتز بازدارنده پروتئیناز، مانع تجزیه پروتئین های محلول در

می‌کند و آنها را در مقابل تأثیرات مضر گونه‌های فعال اکسیژن محافظت و از سوی دیگر سطح مناسبی از ROS را برای رشد و مسیر انتقال پیام حفظ می‌کند (Asada, 2000). این سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی شامل آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی (ترکیب‌های فنولی، بتا-کاروتن، اسید آسکوربیک (AA)، آلفا-توکوفرول (α -toc)، گلووتاتیون (GSH)) و آنزیمی (سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گایاکول پراکسیداز (GPX)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، کاتالاز (CAT)، پلی‌فنول اکسیداز (PPO) و گلووتاتیون ردوکتاز) می‌باشند (Xu *et al.*, 2006). همکاری این اجزا با همدیگر سبب تشکیل چرخه‌های بسیار مهمی می‌گردد (Asada, 2000). اجرای این چرخه‌ها به عنوان سازوکارهای دفاعی، سلول را قادر می‌سازد تا از تولید فرم‌های فعال اکسیژن پیشگیری نماید و یا اینکه آنها را جمع‌آوری نموده و اثرهای مضر آنها را کاهش دهد (Mittler *et al.*, 2004).

ترکیب‌های فنولی

در این پژوهش با افزایش تنش خشکی میزان فنول افزایش یافت که با نتایج Sheraphati Chaleshtari و همکاران (۲۰۰۸) که بیان کردند ترکیب‌های فنولی در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی در گیاهان تجمع می‌یابند همخوانی دارد. تنش خشکی با تحریک سنتز فنول‌ها از مسیر اسید شیکمیک یا اسید مالونیک و با مصرف بخشی از فتواسیمپلات‌های گیاهی و اختصاص کمتر آن به مسیرهای رشدی که با کاهش وزن گیاه همراه است سبب افزایش تجمع فنول‌ها می‌شود (Morello *et al.*, 2005). این ترکیب‌ها به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی قادر به بدام انداختن رادیکال‌های آزاد و کاهش تنش اکسیداتیو هستند (Sheraphati Chaleshtari *et al.*, 2008). مطالعات نشان می‌دهد که رابطه مثبتی بین محتوای فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها وجود دارد (Ghasemzadeh *et al.*, 2010). این ترکیب‌ها با سازوکارهای متعددی مانند پاکروبی رادیکال‌های آزاد، دادن هیدروژن، کلات کردن یون‌های

مریم‌گلی می‌گردد (Szepesi *et al.*, 2005). نتایج این تحقیق نشان داد که تنش خشکی سبب افزایش اسانس می‌شود که با نتایج مطالعه Petropoulos و همکاران (۲۰۰۸) که نشان دادند تنش خشکی باعث افزایش اسانس در جعفری شده است، مطابقت داشت. بنابراین به نظر می‌رسد که در شرایط تنش خشکی تولید مواد مؤثره به علت جلوگیری از اکسیداسیون درونی سلولی افزایش می‌یابد. البته دلایل اثبات شده‌ای مبنی بر نحوه واکنش متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی به تنش خشکی وجود ندارد. تنها دو فرضیه در مورد نحوه تأثیر شرایط محیطی بر متابولیت‌های ثانویه گیاهان وجود دارد. فرضیه اول با عنوان موازنه کربن عناصر غذایی، میزان هزینه کربن برای تولید متابولیت‌های ثانویه را به عنوان موازنه بین فتوسنتز و رشد توضیح می‌دهد (Tuomi *et al.*, 1984). براساس این فرضیه هنگامی که عناصر غذایی در دسترس باشند گیاه کربن را برای رشد اختصاص می‌دهد. کمبود عناصر غذایی رشد را بیش از فتوسنتز محدود می‌کند و منجر به تشکیل هیدرات‌های کربنی می‌شود که متابولیت‌های ثانویه کربن‌دار را تولید می‌کنند. فرضیه دوم یا موازنه رشد تمایز عنوان می‌کند تا هر زمانی که شرایط اجازه تقسیم و گسترش سلولی را بدهد کربن صرف رشد می‌شود. با وقوع تنش خشکی رشد متوقف شده، سلول‌ها تمایز یافته و مخازن متابولیت‌های ثانویه را تشکیل می‌دهند و گیاه کربن را به تولید مواد مؤثره دارویی اختصاص می‌دهد (Lorio, 1986). به عبارتی هر کمبودی که رشد را بیش از فتوسنتز محدود کند، تولید متابولیت‌های ثانویه را افزایش می‌دهد. افزایش اسانس گیاهان دارویی نعنا (Simon *et al.*, 2001) و آویشن (Letchamo & Gosselin, 2002) تحت تنش خشکی نیز تأییدکننده مطالب فوق می‌باشد که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد.

ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی

گیاهان دارای یک سیستم آنتی‌اکسیدانی هستند که تولید اضافی گونه‌های فعال اکسیژن را در شرایط تنش کنترل

در افزایش تحمل گیاهان به تنش خشکی دارای نقش مهمی می‌باشند. تحقیقات نشان می‌دهد که تنش‌های محیطی مانند خشکی و سرما باعث افزایش تشکیل انواع اکسیژن فعال و به دنبال آن افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود (Yadegari *et al.*, 2011). ارتباط بین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و بالا رفتن مقاومت گونه‌های گیاهی تحت تنش‌های محیطی در چندین گونه گیاهی تأیید شده است و با توجه به گونه گیاهی و شدت تنش، میزان فعالیت آنها در گیاه تغییر می‌کند (Mittler *et al.*, 2004). کاهش فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز می‌تواند سبب تجمع پراکسید هیدروژن شده و موجب کاهش فعالیت برخی از آنزیم‌های چرخه کالوین مانند ریبولوز مونوفسفات، کیناز و بی‌فسفاتازها گردد (Sunkar, 2010). آنزیم کاتالاز فرایند تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن را بدون نیاز به سوبسترای کمکی انجام می‌دهد. اما آنزیم پراکسیداز با کمک سوبستراهای مختلف به عنوان دهنده الکترون و آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از مولکول آسکوربات به عنوان دهنده الکترون موجب احیاء پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن می‌شوند (Sunkar, 2010).

کاتالاز و اسکوربات پراکسیداز از جمله آنزیم‌های مهم جمع‌آوری‌کننده پراکسید هیدروژن به‌شمار می‌آیند. کاهش فعالیت کاتالاز و اسکوربات پراکسیداز می‌تواند سبب تجمع پراکسید هیدروژن شود که علاوه بر اجرای واکنش هابر-ویز، سبب کاهش فعالیت برخی از آنزیم‌های چرخه کالوین مانند ریبولوز مونوفسفات کیناز و بی‌فسفاتازها می‌گردد (Asada, 2000). کاهش فعالیت این آنزیم‌ها در چرخه کالوین می‌تواند با کاهش نسبت $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ ، H^+ در کلروپلاست سبب افزایش آسیب به بیومولکول‌ها (از جمله لیپیدها) و تولید فرم‌های فعال اکسیژن شود (Mittler *et al.*, 2004). در بررسی‌هایی که بر روی برنج در مرحله نشایی انجام شد، مشخص گردید که افزایش فعالیت پراکسیداز در گیاهان تحت تنش خشکی با واکنش‌های اکسنده بوجود آورنده رادیکال‌های آزاد و پراکسیدهای آلی همبستگی دارد

فلزی و یا در همکاری با پراکسیدازها در جمع‌آوری یا حذف پراکسید هیدروژن، نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفاء می‌کنند؛ وقتی فنول‌ها به‌عنوان آنتی‌اکسیدان در این واکنش‌ها شرکت می‌کنند، به رادیکال فنوکسیل اکسید می‌شوند. رادیکال‌های فنوکسیل از طریق واکنش با آسکوربات به حالت اولیه برمی‌گردند (Sheraphati Chaleshtari *et al.*, 2008).

محققان بیان کردند که کاربرد متیل جاسمونات مقدار ترکیب‌های فنولی را در برخی از گیاهان مانند سیب‌زمینی، سیب قرمز و لوبیا سبز (Heredia & Zavallos, 2009) و مارچوبه (Reyes & Cisneros-Zavallos, 2003) افزایش داده است و با نتایج این تحقیق که نشان داد محلول پاشی با اسید جاسمونیک سبب افزایش فنول کل می‌شود همخوانی دارد. محققان علت افزایش ترکیب‌های فنولی در تیمار با جاسمونات‌ها را اثر این ماده بر فعالیت آنزیم فییل آلانین آمونیالیاز (PAL) و افزایش فعالیت این آنزیم ذکر کرده‌اند. از آنجا که این آنزیم یک آنزیم کلیدی در بیوسنتز همه ترکیب‌های فنولی می‌باشد، به نظر می‌رسد که در این تحقیق نیز تغییر فعالیت این آنزیم یکی از دلایل افزایش مقدار ترکیب‌های فنولی در بوته‌های مریم‌گلی باشد. هر چند در این مطالعه فعالیت PAL اندازه‌گیری نشد، اما افزایش احتمالی فعالیت PAL و دیگر آنزیم‌های درگیر در مسیر شیکمات می‌تواند از دلایل احتمالی افزایش ترکیب‌های فنولی در این مطالعه باشد (Sheraphati Chaleshtari, Heredia & Zavallos, 2009). (Chaleshtari *et al.*, 2008).

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

در این مطالعه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان تحت خشکی در مقایسه با شاهد بیشتر بود، به طوری که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گایاکول اکسیداز، اسکوربات اکسیداز و پراکسیداز تحت تنش افزایش چشمگیری نسبت به شاهد داشتند. از این رو به نظر می‌رسد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

نتایج این مطالعه نشان داد که محلول پاشی با تیمار ۱۵۰ میلی گرم در لیتر اسید جاسمونیک طی تنش خشکی سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شد. گزارش‌های مختلفی مبنی بر تأثیر متیل جاسمونات بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه *Agropyron cristatum* (Shan & Liang, 2010)، کلزا (Kumari et al., 2006)، بادام‌زمینی (Comparot et al., 2002) و آرابیدوپسیس (Jung, 2004) ارائه شده است. گزارش‌های ارائه شده نشان داده است که متیل جاسمونات با تأثیر بر افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، در کاهش رادیکال‌های آزاد در گیاهان نقش داشته و در ایجاد مقاومت گیاهان مذکور به تنش خشکی مؤثر بوده است که با نتایج ارائه شده در این مطالعه همخوانی دارد. نتایج مطالعه Brouki Milan و همکاران (۲۰۱۶) نشان داد که با افزایش غلظت محلول پاشی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، آسکوربات دیسموتاز و پراکسیداز افزایش می‌یابد که با نتایج این پژوهش مطابقت داشت. نتایج مطالعه Parra-Lobato و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که متیل جاسمونات $50 \mu\text{M}$ باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز در آپوپلاست و سیمپلاست ریشه‌های آفتابگردان شده است. در همین زمینه نشان داده شده است که در شرایط تنش خشکی، جاسمونات باعث افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز در گیاهان ذرت مقاوم به استرس گردیده است (Li et al., 1998). در مطالعه دیگری نشان داده شده است که جاسمونیک اسید با تأثیر بر فعالیت آنزیم GalLDH (-Galactono1,4-) و LactoneDehydrogenase که یک آنزیم کلیدی در مسیر بیوسنتز اسید آسکوربیک می‌باشد، محتوای اسید آسکوربیک را در برگ‌های *Agropyron cristatum* در شرایط تنش خشکی تنظیم کرده است (Shan & Liang, 2010). از نتایج بدست‌آمده از این آزمایش می‌توان نتیجه‌گیری کرد که اسید جاسمونیک اثرهای مضر حاصل از تنش خشکی را در گیاه مریم گلی کاهش داده است. این ماده با افزایش محتوای

و پراکسیداز نقش مؤثری در پاکسازی پراکسید هیدروژن دارد (Sharma & Dubey, 2005). براساس نتایج حاصل از این پژوهش، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با افزایش شدت تنش افزایش یافت و بیشترین نقش را در مهار رادیکال‌های فعال اکسیژن داشت. چنین نتیجه‌ای به‌وسیله Ahmad و Parasad (۲۰۱۲) نیز گزارش شده است. مقایسه مقدار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در این مطالعه نشان‌دهنده آنست که بیشترین فعالیت مربوط به آنزیم سوپراکسید دیسموتاز می‌باشد. آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز اولین خط دفاعی را بر علیه رادیکال‌های فعال اکسیژن در سلول تشکیل می‌دهند. سوپراکسید دیسموتاز رادیکال سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌کند. کاهش فعالیت این آنزیم، تجمع رادیکال سوپراکسید را در پی دارد. این رادیکال می‌تواند با پراکسید هیدروژن ترکیب و با اجرای واکنش هابر-ویز رادیکال فوق‌العاده خطرناک هیدروکسیل را بوجود آورد (Mittler et al., 2004). فعالیت کم آنزیم سوپراکسید دیسموتاز کارایی چرخه مهلر (فرایند تشکیل آب از آب اکسیژنه را واکنش یا چرخه مهلر گفته می‌شود) را در کلروپلاست کاهش خواهد داد. کاهش کارایی این چرخه سبب افزایش شدت صدمات به بیومولکول‌های حیاتی می‌گردد که آسیب به غشاءها یکی از مهمترین آنهاست. به‌علاوه تجمع رادیکال سوپراکسید، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیدازها را کاهش می‌دهد (Asada, 2000). این آنزیم‌ها نقش ویژه‌ای در جمع‌آوری پراکسید هیدروژن موجود در سلول دارند (Sunkar, 2010). با توجه به نقش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در کاهش اثر مخرب گونه‌های فعال اکسیژن، به نظر می‌رسد مقدار و فعالیت این دسته از آنزیم‌ها در گیاهان با توان تحمل به خشکی آنها رابطه داشته باشد و حفظ سطوح بالاتر فعالیت آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش خشکی ممکن است از طریق افزایش توانایی سلول برای مقابله با اثرهای سوء تنش اکسیداتیو در مقاومت به خشکی مؤثر باشد (Ahmad & Parasad, 2012).

- varieties of pistachio. *Journal of Horticultural Science*, 42(4): 365-377.
- Bandurska, H. and Jozwiak, W., 2010. A comparison of the effects of drought on proline accumulation and peroxidases activity in leaves of *Festuca rubra* L. and *Lolium perenne* L. *Department of Plant Physiology*, 79(2): 111-116.
 - Bari, R. and Jones, J.D.G., 2009. Role of plant hormones in plant defense responses. *Plant Molecular Biology*, 69: 473-488.
 - Bates, L.S., Waldern, R. P. and Teave, I. D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-207.
 - Beltrano, J. and Ronco, M.G., 2008. Improved tolerance of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) to drought stress and rewatering by thearbuscular mycorrhizal fungus *Glomus claroideum*: Effect on growth and cell membrane stability. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 20(1): 29-37.
 - Brouki Milan, A., Hassani, L., Abdollahi Mandoulakani, B., Darvishzadeh, R., Kheradmand, F. and Hassani, A., 2016. The effect of different concentrations of methyl jasmonate on the activity of antioxidant enzymes and total protein in basil. *Agricultural Crop Management (Journal of Agriculture)*, 18(1): 103-115.
 - Comparot, S.M., Graham, C.M. and Reid, D.M., 2002. Methyl jasmonate elicits a differential antioxidant response in light and dark grown canola (*Brassica napus*) roots and shoots. *Journal Plant Growth Regulation*, 38: 21-30.
 - Czerpak, R., Piotrowska, A. and Szulecka, K., 2006. Jasmonic acid effects changes in the growth and some components content in alga *Chlorella vulgaris*. *Acta Physiologia Plantarum*, 28: 195-203.
 - El-Sayed, O.M., El-Gammal, O.H.M. and Salama, A.S.M., 2014. Effect of ascorbic, proline and jasmonic acid foliar spraying on fruit set and yield of Manzanillo olive trees under salt stress. *Scientia Horticulturae*, 176: 32-37.
 - Emongor, V., 2007. Gibberellin influence on vegetative growth nodulation and yield of Cowpea (*Vigna sp.*). *Journal Agrobiology*, 60(4): 509-517.
 - Farmer, E.E., Johnson, R.R. and Ryan, C.A., 1992. Regulation of expression of proteinase inhibitor genes by methyl jasmonate and jasmonic acid. *Plant Physiology*, 98(3): 995-1002.
 - Fedina, I.S. and Benderliev, K.M., 2000. Response of *Scenedesmus incassatulus* to salt stress as affected by methyl jasmonate. *Biologia Plantarum*, 43: 625-627.
 - Ghasemzadeh, A., Jaafar, H.Z. and Rahmat, A., 2010. Antioxidant activities, total phenolics and flavonoids
- رنگیزه های فتوسنتزی در تولید کلروفیل به خوبی عمل کرده و میزان کلروفیل را افزایش داد. همچنین با افزایش محتوای تنظیم کننده های اسمزی (پرولین) و حفظ تعادل آبی سلول، از کاهش شدید محتوای نسبی آب برگ جلوگیری کرده و با فعال کردن سیستم دفاع آنتی اکسیدانی موجب حذف رادیکال های فعال اکسیژن شده، از این رو می توان بیان کرد که مصرف اسید جاسمونیک می تواند باعث کاهش اثرهای سوء تنش خشکی و بهبود شرایط رشدی در گیاه مریم گلی شود.
- ### منابع مورد استفاده
- Ahmad, P. and Parasad, M.N.V., 2012. *Abiotic Stress Responses in Plants*. Springer, New York, 463p.
 - Ahmed, S., Nawata, E., Hosokawa, M., Domae, Y. and Sakuratani, T., 2002. Alterations in photosynthesis and some antioxidant enzymatic activities of mungbean subjected to water logging. *Journal Plant Science*, 163: 117-123.
 - Ardakani, M.R., Abbaszadeh, B., Sharifi Ashourabadi, A., Lebaschi, M.H. and Paknezhad, F., 2007. The effect of water shortages on the quantity and quality of *Melissa officinalis*. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 23(2): 251-261.
 - Arazmjo, A., Hedari, M., Ghanbari, A., Siasar, B. and Ahmadian, A., 2010. The effect of three types of fertilizers on essential oil, chamomile under drought stress on photosynthetic pigments and osmotic adjustment. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 3(1): 23-33.
 - Asada, K., 2000. The water-water cycle as alternative photon and electron sinks. *Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Sciences*, 355: 1419-1431.
 - Babae, K., Amini Dehaghi, M., Modares Sanavi, S.A.M. and Jabbari, R., 2010. Effect of drought stress on morphological characteristics, amount proline and percent thymol *Thymus vulgaris* L. *Journal of Medicinal and Aromatic Plants of Iran research*, 26(2): 239-251.
 - Babst, B.A., Ferrieri, R.A., Gray, D.W., Lerdau, M., Schlyer, D.J., Schueller, M., Thrope, M.R. and Orians, C.M. 2005. Jasmonic acid induces rapid changes in carbon transport and partitioning in *Populus*. *Journal New Phytologist*, 167: 63-72.
 - Bagheri, V., Shamsheri, M.H., Sherani, H. and Rosta, H.R., 2011. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress on growth, water relations, proline and soluble sugars in plants in two basic

- deficit at different growth stages. *Australian Journal of Agricultural Research*, 57(2): 221-226.
- Mandhanis, S., Madan, S. and Sawhney, V., 2006. Antioxidant defence mechanism under salt stress in wheat seedling. *Biologia Plantarum*, 50(2): 227-231.
 - Martín-Closas, L., Toro, F.J., Calvó, G. and Pelacho, A.M., 2002. Effect of Methyl Jasmonate on the first developmental stages of globe artichoke. *International Society for Horticultural Science, Acta Horticulturae 660 5th International Congress on Artichoke, Bari, Italy.*
 - McDonald, S., Prenzler, P.D., Autolovich, M. and Robards, K., 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, 73: 73-84.
 - Mishra, S. and Dubey, R.S., 2006. Heavy metal up take and detoxification mechanisms in plants. *International Journal of Agricultural Research*, 1(2): 122-141.
 - Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. and Vanbreusegem, F., 2004. Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in Plant Science*, 9: 490-498.
 - Morello, J.R., Romero, M.P., Ramo, T. and Motilva, M.J., 2005. Evaluation of L-phenylalanine ammoniolyase activity and phenolic profile in olive drupe (*Olea europaea*) from fruit setting period to harvesting time. *Plant Science*, 168: 65-72.
 - Munne, S. and Alegre, L., 2003. Role of dew on the recovery of water stressed *Melissa officinalis*. *Journal of Plant Physiology*, 154(5-6):759-766.
 - Nadiu, T. and Naraly, A., 2001. Screening of drought tolerance in green gram (*Vigna radiate* L. Wilczek) genotypes under reducing soil moisture. *Indian Journal of Plant Physiology*, 6(2): 197-201.
 - Oliviera-Neto, C.F., Silva-Lobato, A.K., Goncalves-Vidigal, M.C., Costa, R.C.L., Santosfilho, B.G., Alves, G.A.R., Silva-Maia, W.J.M., Cruz, F.J.R., Neres, H.K.B. and Santos Lopes, M.J., 2009. Carbon compounds and chlorophyll contents in sorghum submitted to water deficit during three growth stages. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 7(3-4): 588-593.
 - Omidbaigi, R., 2005. *Production and Processing of Medicinal Plants (Vol. 3)*. Astan Quds Razavi Press, Mashhad, 400p.
 - Parra-Lobato, M.C., Fernandez-Garcia, N., Olmos, E., Alvares-Tinaut, M. and Gomez Jimenez, C., 2009. Methyl jasmonate-induced antioxidant defence in root apoplast from sunflower seedlings. *Environmental and Experimental Botany*, 66: 9-17.
 - Petropoulos, S., Daferera, A., Polissiou, D. and Passam, H.C., 2008. The effect of water deficit content in two varieties of Malaysia young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Molecules Journal*, 15(6): 4324-4333.
 - Hemedi, H.M. and Kelin, B.P., 1990. Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. *Journal of Food Science*, 55: 184-185.
 - Heredia, J.B. and Zevallos, L.C., 2009. The effects of exogenous ethylene and methyl jasmonate on the accumulation of phenolic antioxidants in selected whole and wounded fresh produce. *Food Chemistry*, 115: 1500-1508.
 - Jiang, Y. and Huang, B., 2000. Effects of drought or heat stress alone and in combination on Kentucky bluegrass. *Crop Science*, 40(5): 1358-1362.
 - Jung, S., 2004. Effect of chlorophyll reduction in *Arabidopsis thaliana* by methyl jasmonate or norflurazon on antioxidant systems. *Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 42: 231-255.
 - Khan, H.U., Link, W., Hocking, T. and Stoddard, F., 2007. Evaluation of physiological biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148: 350-382.
 - Kumari, G.J., Reddy, A.M., Naik, S.T., Kumar, S.G., Prasanthi, J., Sriranganayakulu, G., Reddy, P.C. and Sudhakar, C., 2006. Jasmonic acid induced changes in protein pattern, anti oxidative enzyme activities and peroxidase isozymes in peanut seedlings. *Biologia Plantarum*, 50: 219-226.
 - Lebaschy, M.H. and Sharifi ashoor abadi, A., 2004. Indicators Growth some medicinal plants in various conditions of water stress. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 20(3): 249-261.
 - Letchamo, W. and Gosselin, A., 2002. Transpiration, essential oil glands, epicuticular wax and morphology of *Thymus vulgaris* are influenced by light intensity and water supply. *Journal of Horticultural Science*, 71(1): 123-134.
 - Levitt, J., 1980. *Response of Plants to Environmental Stresses (Vol. 2): Water, Radiation, Salt and Other Stresses*. Academic Press, New York, 650p.
 - Li, L., Staden, V. and Jager, A.K. 1998. Effect of plant growth regulators on the antioxidant system in seedling of two maize cultivars subjected to water stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 25: 81-87.
 - Lorio, P.L., 1986. Growth-differentiation balance: A basis for understanding southern pine beetle-tree interaction. *Forest Ecology Management*, 14: 259-273.
 - Ma, Q., Niknam, S.R. and Turner, D.W., 2006. Response of osmotic adjustment and seed yield of *Brassica napus* and *Brassica jounce* to soilwater

- Salimi, F., Shekari, F. and Hamzeie, G., 2015. Effect of methyl jasmonat salinity stress on some characteristics of *Matricaria chamomilla*. College of Horticulture, 29(1): 87-94.
- Shan, C. and Liang, Z., 2010. Jasmonic acid regulates ascorbate and glutathione metabolism in *Agropyron cristatum* leaves under water stress. Plant Science, 178(2): 130-139.
- Sheraphati Chaleshtari, F., Sheraphati chaleshtari, R. and Momeni, M., 2008. The antimicrobial effects of aqueous extract and ethanol plant *Scrophularia striata* on *E. coli* in laboratory. University of Medical Sciences Shaher Kord, 10(4): 32-37.
- Sharma, P. and Dubey, R.S., 2005. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. Journal of Plant Growth Regulation, 46: 209-221.
- Silva, M.A., Jifon, J.L., Silva, J.A.G. and Sharma, V., 2007. Use of physiological parameters as fast tools to screen fordrought tolerance in sugarcane. Brazilian Journal of Plant Physiology, 19: 193-201.
- Simon, J.E., Bubenheim, R.D., Joly, R.J. and Chares, D.J., 2001. Water stress induced alteration in essential oil content and composition of sweet basil. Journal of Essential Oil Research, 4: 71-75.
- Sunkar, R., 2010. Plant Stress Tolerance Methods and Protocols, Humana Press, 382p.
- Szepesi, A., Csiszar, J., Bajkan, S., Gemes, K., Horvath, F., Erdei, L., Deer, A.K., Simon, M.L. and Tari, I., 2005. Role of salicylic acid and jasmonic acid pre-treatments on the acclimation of tomato plants to salt and osmotic stress. Acta Biologica Szegediensis, 49: 123-125.
- Topp, G.G. and Davies, J.L., 1985. Time domain reflectometry (TDR) and its application to irrigation scheduling. Advances in Irrigation, 3: 107-127.
- Tuomi, J., Niemela, P., Haukioja, E. and Neuvonen, S., 1984. Nutrient stress an explan- ation for plant anti herbivore responses to defoliation. Oecologia, 61: 208-210.
- Wasternack, C., 2007. Jasmonates: An update on biosynthesis, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. Annals of Botany, 74: 1090-1093.
- Weydert, C.J. and Cullen, J., 2010. Measurement of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidasein cultured cells and tissue. Natural Protocol, 5(1): 51-66.
- Xiao, X., Xu, X. and Yang, F., 2008. Adaptive responses to progressive drought stress in two *Populus* cothayanapopulations. Silva Fennica, 42: 705-719.
- stress on the growth, yield and composition of essential oils of parsley. Sciential Horticulture, 115(4): 393-397.
- Piotrowska, A., Bajguz, A., Zylkiewicz, B. and Czerpak, R., 2009. Jasmonic acid modulator of lead toxicity in aquatic plant *Wolffia arrhiza* (Lemnaceae). Environmental and Experimental Botany, 66(3): 507-513.
- Popova, L.P., Ananieva, E., Hristova, V., Christov, K., Georgieva, K., Alexieva, V. and Stoinova. Z.H., 2003. Salicylic acid and methyl jasmonate induced protection on photosynthesis to paraquat oxidative stress. Journal of Plant Physiology, 133-152.
- Prochazka, S., Machaackova, I., Kreekule, J. and Sebanek, J., 1998. Plant Physiology. Academia Praha, 484p.
- Reda, F., Baroty, G.S.A., Talaat, I.M., Abdel Rahim, I.A. and Ayad, H.S., 2007. Effect of some growth regulators and vitamins on essential oil, phenolic content and activity of oxidoreductase enzyme of *Thymus vulgaris*. Journal Agriculture Science, 30: 630-638.
- Reddy, A.R., Chaitanya, K.V., Jutur, P.P. and Sumithra, K., 2004a. Differential antioxidative response to weather stress among five mulberry cultivars. Environement and Experimental Botany, 52: 33-42.
- Reddy, A.R., Chaitanya, K.V. and Vivekanandan, M., 2004b. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Journal of Plant Physiology, 161(11): 1189-1202.
- Reyes, L. and Cisneros-Zevallos, F., 2003. Wounding stress increases the phenolic content and antioxidant capacity of purpleflesh potatoes. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 51: 5296-5300.
- Rubio, V., Bustos, R., Luisa, M.L., Irigoyen, X., Rojas-Triana, M. and Paz-Ares, J., 2009. Plant hormones and nutrient signaling. Plant Molecular Biology, 69: 361-373.
- Sairam, R.K. and Saxena, D.C., 2000. Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. Journal of Agronomy and Crop Science, 184: 55-61.
- Sairam, R.K., Rao, K.V. and Srivastava, G.C., 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science, 163: 1037-1046.
- Sefidkon, F. and Nazar alipoor, A., 2002. Quantitative and qualitative study of aromatic and medicinal essential oils of fetal chamomile (*Tripleurospermum disciforme*). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 6: 33-40.

- Yadegari, L., Hedari, R. and Karaptian, N., 2009. The permeability of biological membranes and antioxidant activity of *Glycine max* in response to low temperature. Iranian Journal of Biology, 2(2): 229-236.
- Xu, Y.C., Zhang, J. B., Jiang, Q.A., Zhou, L.Y. and Miao, H.B., 2006. Effects of water stress on the growth of *Lonicera japonica* and quality of honeysuckle. Zhongyaocai of Chinese, 29(5): 420-423.

Archive of SID

Effects of spraying jasmonic acid on some morpho-physiological traits, antioxidant enzymes activity and essential oil yield of *Salvia officinalis* L. under drought stress

A. Mazarie¹, S.M. Mousavi-nik², A. Ghanbari² and L. Fahmideh^{3*}

1- Ph. D. student of Biotechnology, University of Zabol, Zabol, Iran

2- Department of Agronomy, University of Zabol, Zabol, Iran

3*- Corresponding author, Department of Plant Breeding and Biotechnology, University of Zabol, Zabol, Iran

E-mail: Leila.fahmideh@yahoo.com; l.fahmideh@uoz.ac.ir

Received: February 2018

Revised: November 2018

Accepted: November 2018

Abstract

Water deficit stress is a major environmental limiting factor for plant growth and crop productivity. In present investigation, to study the effects of jasmonic acid on reducing the damage caused by drought on growth parameters, some physiological and antioxidant responses on *Salvia officinalis* L., a factorial experiment in a completely randomized design with three replications was conducted at the University of Zabol. The experimental treatments included drought stress (irrigated in field capacity, depletion of soil water content up to 50% and 75% of FC condition) and foliar jasmonic acid spray (0, 75 and 150 mg.l⁻¹). The results showed that spraying with a concentration of 150 (mg. l⁻¹) jasmonic acid under drought stress increased the height (% 10.02), fresh and dry weight (27.88% and 12.81%), relative water content (21.04%) and chlorophyll a and b content (12.15% and 10.34%). The highest phenolic content (34.13 mg⁻¹fw), proline concentration (5.52 mg⁻¹fw), essential oil yield (2.1 mg⁻¹fw) and the activities of peroxidase (3.15 mg⁻¹fw) and guaiacol peroxidase (0.76 mg⁻¹fw) were obtained in plants sprayed with 150mg.l⁻¹ jasmonic acid and in depletion of soil water content up to 75% of FC. On the other hand, the highest ascorbate peroxidase (0.76 mg⁻¹fw), superoxide dismutase (5.64 mg⁻¹fw) and catalase (5.12 mg⁻¹fw), were obtained in plants sprayed with 150 mg⁻¹ jasmonic acid under drought stress (depletion of soil water content up to 75 and 50% FC). Based on our results, it seemed that Jasmonic acid, with increasing antioxidant defense and accumulation of osmotic regulators (such as proline), reduced the oxidative stress in plants under drought stress. Moreover, maintaining the relative water content and photosynthetic pigment improved growth conditions of sage plants in drought conditions.

Keywords: proline, growth regulators, photosynthetic pigments, total phenol, relative water content.