



Impact of Foliar Application of Salicylic Acid and Jasmonic Acid on Biochemical and Agronomic Properties of *Thymus vulgaris* L. under Drought Stress

Mohamad Nasri^{1✉} | Zahra Karimi² | Meysam Oveysi³ | Pourang Kasraie⁴ | Hamidreza Larjani⁵

1. Corresponding Author, Department of Agronomy, Islamic Azad University, Varamin, Tehran, Iran. E-mail: dr.nasri@iauvaramin.ac.ir
2. Department of Agronomy, Islamic Azad University, Varamin, Tehran, Iran. E-mail: meysam.oveysi@yahoo.com
3. Department of Agronomy, Islamic Azad University, Varamin, Tehran, Iran. E-mail: meysam.oveysi@yahoo.com
4. Department of Agronomy, Islamic Azad University, Varamin, Tehran, Iran. E-mail: drkasraie@yahoo.com
5. Department of Agronomy, Islamic Azad University, Varamin, Tehran, Iran. E-mail: larjani2004@gmail.com

Article Info**ABSTRACT****Article type:**

Research Article

To investigate the effect of different levels of foliar applications of salicylic acid and jasmonic acid on biochemical characteristics and yield of *Thymus vulgaris* under drought stress conditions, a split factorial experiment has been performed based on randomized complete design with three replications during cropping seasons of 2019-2020 in Varamin region. The main factor include irrigation levels (60 (normal) and 110 mm of evaporation from the evaporation pan (drought stress)), with the sub factors being different levels of foliar application of salicylic acid (three level: control (zero), 25, and 50 mg l⁻¹) and jasmonic acid (three level: control (zero), one, and two mg l⁻¹). The effect of irrigation × foliar application treatments has been significant for all studied traits at 1%. The highest plant height (38.2 cm), wet and dry weights (7112.3 and 1778.7 kg h⁻¹), percentage of secondary metabolites (essential oil 0.28 and thymol 60.9%), and concentrations of salicylic and jasmonic acid of leaves and the lowest activity of antioxidant enzymes (SOD, CAT and GPX) of thyme are observed in normal irrigation with 50 and 2 mg l⁻¹ salicylic and jasmonic acid treatment. Thus, external use of salicylic and jasmonic acid (50 and 2 mg l⁻¹) in drought stress conditions can be considered in improving related traits of yield and increasing the production of thyme.

Keywords:

Catalase (CAT),
essential oil,
glutathione peroxidase (GPX),
superoxide dismutase (SOD),
thymol.

Cite this article: Nasri, M., Karimi, Z., Oveysi, M., Kasraie, P., & Larjani, H. R. (2022). Impact of Foliar Application of Salicylic Acid and Jasmonic Acid on Biochemical and Agronomic Properties of *Thymus vulgaris* L. under Drought Stress. *Journal of Crops Improvement*, 24 (4), 1359-1372.

DOI: <http://doi.org/10.22059/jci.2022.329510.2605>

© The Authors.

DOI: <http://doi.org/10.22059/jci.2022.329510.2605>

Publisher: University of Tehran Press.



اثر محلول پاشی سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید بر ویژگی های بیوشیمیایی و زراعی آویشن (*Thymus vulgaris L.*) در شرایط تنفس خشکی

محمد نصری^۱ | زهرا کریمی^۲ | میثم اویسی^۳ | پورنگ کسرایی^۴ | حمیدرضا لاریجانی^۵

۱. نویسنده مسئول، گروه زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین، تهران، ایران. رایانامه: dr.nasri@iauvaramin.ac.ir
۲. گروه زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین، تهران، ایران. رایانامه: navid.soraya@yahoo.com
۳. گروه زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین، تهران، ایران. رایانامه: meysam.oveisi@yahoo.com
۴. گروه زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین، تهران، ایران. رایانامه: drkasraie@yahoo.com
۵. گروه زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین، تهران، ایران. رایانامه: larijani2004@gmail.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی	جهت بررسی اثر محلول پاشی سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید بر ویژگی های بیوشیمیایی آویشن، آزمایشی مزروعه ای به صورت اسپلیت پلات فاکتوریل و در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار در سال زراعی ۱۳۹۸-۹۹ در منطقه ورامین اجرا شد. عامل اصلی، سطوح آبیاری [۶۰] (نرمال) و ۱۱۰ میلی متر تبخیر از تشتک تبخیر (تنفس خشکی) و فاکتورهای فرعی نیز محلول پاشی سطوح مختلف سالیسیلیک اسید [سه سطح شاهد (صفر)، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر لیتر] و جاسمونیک اسید [سه سطح شاهد (صفر)، ۱ و ۲ میلی گرم بر لیتر] بود. برهم کنش سه گانه تنفس خشکی × محلول پاشی سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید در تمام صفات مردمطالعه در این پژوهش در سطح انتقال یک درصد معنی دار بود. بیشترین ارتفاع بوته [۳۸/۲ سانتی متر]، وزن های تر و خشک شاخصاره [۷۱۱۲/۳ و ۱۷۷۸/۷ کیلو گرم در هکتار]، درصد متابولیت های ثانویه [اسانس ۲۸/۰ و تیمول ۶۰/۹ درصد] و غلظت سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید برگ و کمترین فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی آویشن باعی در تیمار آبیاری معمول همراه با محلول پاشی ۵۰ و ۲ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید مشاهده شد. محلول پاشی همزمان سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید در شرایط تنفس خشکی، به ترتیب با کاهش ۷۰، ۸۵ و ۲۲ درصدی فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی سوپراکسیداز دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز نسبت به شاهد باعث شد که آسیمیلاسیون تولیدی صرف تولید ماده خشک شود. بنابراین استفاده خارجی ۵۰ و ۲ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید در شرایط تنفس خشکی، در بهبود صفات مرتبط با عملکرد و افزایش تولید گیاه آویشن می تواند مدنظر باشد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۰۴	تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۱۰/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۰۳	تاریخ انتشار: ۱۴۰۱/۰۹/۲۶
کلیدواژه ها:	اسانس، تیمول، سوپراکسیداز دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX).

استناد: نصری، م، کریمی، ز، اویسی، م، کسرایی، پ، و لاریجانی، ح، ر (۱۴۰۱)، اثر محلول پاشی سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید بر ویژگی های بیوشیمیایی و زراعی آویشن (*Thymus vulgaris L.*) در شرایط تنفس خشکی. به زراعی کشاورزی، ۲۴ (۴)، ۱۳۵۹-۱۳۷۲.

DOI: <http://doi.org/10.22059/jci.2022.329510.2605>



© نویسنده

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

۱. مقدمه

آویشن (*Thymus vulgaris* L.) از مهم‌ترین گیاهان دارویی ایران است که به لحاظ کاربرد فراوان در صنایع دارویی و غذایی، جایگاه ویژه‌ای را در سطح تجارت بین‌الملل دارد (Jafarnia et al., 2011). آویشن گیاهی خشکی، چندساله و از خانواده نعناعیان است که فرم‌های رویشی، زایشی و ترکیب‌های اسانس متفاوتی دارد (Alramamneh, 2009). اندام رویشی یا هوایی (برگ و گل) آویشن مصرف دارویی داشته و سرشاخه‌های آن حاوی اسانس، تانن، ساپونین و ضدغوفونی‌کننده‌های گیاهی است (Yavari et al., 2012). اسانس آویشن از جمله ۱۰ اسانس برتر است که دارای خواص ضدباکتریایی و قارچی، آنتی‌اکسیدانی، بادشکن، ضدکرم، خلط‌آور و نگهدارنده طبیعی غذا بوده و در صنایع غذایی، دارویی، بهداشتی و آرایشی استفاده متنوعی دارد. اسانس آویشن حاوی ۱۷ ترکیب فنلی، الکی، مونوترين و غیره هستند که معمولاً عمدت‌ترین ترکیب فنلی گونه‌های مختلف آویشن، تیمول و کارواکرول می‌باشد که به صورت گلوكوزید و لاكتوزید در اسانس وجود دارند (Alamdaray et al., 2012).

كمبود آب (تنش خشکی)، از مهم‌ترین عوامل محیطی محدود‌کننده رشد و نمو بسیاری از گیاهان زراعی، باغی و دارویی در مناطق خشک و نیمه‌خشک است (Bhatt & Roa, 2015) که با تأثیر بر فعالیت‌های فیزیولوژیک (تعرق، فتوسترن، تقسیم سلولی و فعالیت‌های آنزیمی) عملکرد گیاهان را کاهش می‌دهد (Sabaghpour et al., 2016). محققین اظهار داشتند که با افزایش تنش خشکی ارتفاع بوته، تعداد ساقه جانبی، وزن خشک اندام هوایی، حجم، وزن و طول ریشه گیاه دارویی آویشن کاهش یافت (Letchamo et al., 2015; Ghaderi et al., 2017). زمانی که گیاه در معرض تنش قرار می‌گیرد، تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، سبب غیرفعال سازی آنزیم‌های فتوسترنی می‌شوند (Ferrarese et al., 2003)، لذا سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی با کارایی بالا در گیاهان وجود دارد که می‌تواند رادیکال‌های آزاد را از بین ببرد (Guo et al., 2018). این سیستم شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیداسیون از جمله کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربیات پراکسیداز و گلوتاتیون پراکسیداز می‌باشد (Shahid et al., 2014). یکی از روش‌های ساده و ارزان جهت افزایش مقاومت گیاهان به تنش خشکی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشدی همچون سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید است (Daneshmand, 2009).

سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید به عنوان مهیج، الیستور^۱ یا تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی مطرح هستند که نقش حفاظتی و دفاعی در گیاه دارند (Kheiry & Sanikhani, 2014). سالیسیلیک اسید ترکیبی فنلی است که به وسیله سلول‌های ریشه در مقادیر کم تولید و به اشکال مختلف در سطح برگ و اطراف ریشه وجود دارد (Zhang et al., 2017). سالیسیلیک اسید نقش آنتی‌اکسیدانی در گیاه داشته و کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید با افزایش تقسیم سلولی، تنظیم فرایندهای فیزیولوژیک و حذف رادیکال‌های آزاد، باعث افزایش تحمل به تنش‌های غیرزیستی خشکی و شوری می‌شود (Ma et al., 2017; Pakar et al., 2016). جاسمونیک اسید با تجمع کلروفیل، ممانعت از پیری و ریزش برگ‌ها، باعث افزایش ظرفیت فتوسترنی و عملکرد بیولوژیک گیاه شده و به عنوان محرک‌هایی برای متabolیسم ثانویه در گونه‌های مختلف گیاهی در تنش خشکی شناخته شدند (Leon & Sanchez Serrano, 2014). پژوهش‌گران گزارش کردند که محلول‌پاشی همزمان سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی (سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز) و محتوای نسبی برگ و توقف پراکسیداسیون لیپید، اثرهای منفی تنش خشکی بر رشد و عملکرد گیاهان را کاهش داده و تولید متabolیت‌های ثانویه را به میزان قابل توجهی افزایش می‌دهند (Mardani et al., 2011; Wu et al., 2012).

افزایش تحمل گیاه به تنش خشکی و تولیدات گیاهان دارویی می‌تواند مؤثر باشد. در این راستا، آزمایش حاضر با هدف بررسی اثر محلول‌پاشی سالیسیلیک‌اسید و جاسمونیک‌اسید بر درصد متابولیت‌های ثانویه، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و برخی از صفات زراعی آویشن باعث در شرایط تنش خشکی انجام شد.

۲. مواد و روش‌ها

در سال زراعی ۱۳۹۸-۹۹، آزمایشی مزرعه‌ای به صورت اسپلیت‌پلات فاکتوریل، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۸ تیمار و سه تکرار در منطقه ورامین انجام شد. منطقه ورامین در ۴۰ کیلومتری جنوب‌شرقی استان تهران و در حاشیه غربی کویر مرکزی و در طول جغرافیایی ۵۱ درجه، ۴۰ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۳۰ دقیقه در ارتفاع تقریبی ۱۰۰۰ متر از سطح دریا واقع شده است. اقلیم این منطقه خشک بوده و از ویژگی‌های این مناطق بارندگی کم، گرمای زیاد و دوره خشک طولانی می‌باشد. بالاترین میزان بارندگی در ایستگاه ورامین ۲۱۸ میلی‌متر می‌باشد.

عامل اصلی سطوح آبیاری بود که پس از ۶۰ (آبیاری معمول) و ۱۱۰ (تنش خشکی) میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A اعمال شد. اولین آبیاری قبل از کاشت، دومین آبیاری به فاصله سه روز پس از کاشت و آبیاری‌های بعدی در کرت‌هایی که دارای تیمار آبیاری بودند، براساس تبخیر از تشتک تبخیر صورت گرفت. مراحل اولیه رشد به تنش‌های محیطی مانند تنش خشکی حساس هستند، لذا در مرحله جوانه‌زنی، آبیاری به اندازه کافی انجام شد تا آسیبی به گیاه وارد نشود. همچنین معمولاً در مراحل اولیه رشد مشکل کمیود آب وجود ندارد، بنابراین پس از استقرار کامل گیاه تیمارهای آبیاری اعمال شد. آبیاری به صورت نشی و با استفاده از لوله‌های سیفونی انجام شد. آبیاری هر کرت به صورت دستی و کنترل شده، با استفاده از لوله‌های انتقال آب به گونه‌ای انجام شد که آب موردنیاز، به طور یکنواخت در هر کرت توزیع شد. حجم آب موردنیاز در هر بار آبیاری برای هر کرت، بر پایه حجم آب مصرفی در واحد سطح، از راه آبیاری تحت فشار در شرایط مرسوم آبیاری در زراعت آویشن کوهی تعیین شد (Nazarli *et al.*, 2017). این حجم آب، با توجه به زمان لازم برای رساندن رطوبت خاک در عمق گسترش گیاه به حد ظرفیت زراعی مزرعه، تعیین شد. به این ترتیب برای هر کرت، میزان ۵۹۶ لیتر آب در هر بار آبیاری محاسبه شد.

با جمع‌آوری اطلاعات مربوط به تبخیر روزانه از ایستگاه هواشناسی و محاسبه تبخیر تجمعی، تیمارهای رطوبتی اعمال شدند. افزون بر تبخیر از تشتک تبخیر در تعیین تیمارهای رطوبتی، درصد رطوبت خاک در هر تیمار و پیش از هر بار آبیاری تیمارها اندازه‌گیری شد (جدول ۱). بدین منظور، در هر بار و از هر تکرار، سه نمونه خاک از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری (عمق گسترش ریشه)، تهیه شد و درصد رطوبت وزنی خاک محاسبه شد. عامل‌های فرعی نیز محلول‌پاشی سطوح مختلف سالیسیلیک‌اسید [سه سطح شاهد (صفر)، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر] و جاسمونیک‌اسید [سه سطح شاهد (صفر)، یک و دو میلی‌گرم بر لیتر] بودند (Kohanmoo *et al.*, 2016). تیمارهای مذکور در دو مرحله [ساقه‌روی (۲۵ اردیبهشت‌ماه) و شروع گلدھی (۲۸ خردادماه)]، قبل از طلوع آفتاب بر روی اندام‌های هوایی گیاه آویشن باعث با استفاده از دستگاه سمپاش میکرونز SKN (مدل ۷۰۰۰، کشور ایران) محلول‌پاشی شدند.

جدول ۱. میانگین درصد رطوبت خاک قبل از هر بار آبیاری در رژیم‌های رطوبتی (میلی‌متر تبخیر از تشتک کلاس A)

(mm) ۱۱۰	(mm) ۶۰	درصد رطوبت خاک
۷/۹	۱۱/۱	محتوای آب نقلی
۱۲/۰	۱۶/۸	محتوای آب حجمی
۳۷/۶	۵۲/۷	ظرفیت زراعی (FC)

به منظور بررسی ویژگی خاک مزرعه آزمایشی بر پایه عمق نفوذ ریشه، از اعمق مختلف اقدام به نمونه برداری از چندین نقطه مزرعه شد. براساس نتیجه تجزیه، بافت خاک مزرعه‌های آزمایشی لوم رسی بود (جدول ۲). به منظور اجرای طرح، عملیات آماده‌سازی زمین در نیمه اول فروردین ماه صورت گرفت. بدین منظور پس از عملیات دیسکزنی جهت تسطیح خاک با استفاده از فارور اقدام به احداث جوی و پشته شد. هر واحد آزمایشی دارای شش خط کاشت به طول چهار متر با فاصله ۵۰ سانتی‌متر بود که با اعمال فاصله حدود ۱۵ سانتی‌متر روی ردیف، تراکم بوته در متربمربع ۱۳۰ عدد در نظر گرفته شد. براساس نتایج آزمون خاک قبل از کاشت حدود ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره، ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیز کود فسفات آمونیوم و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار سوپرفسفات تریپل مصرف شد و در طول فصل رشد نیز مناسب با نیاز کودی، ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره در مرحله اولی ساقده‌ی به صورت سرک مصرف شد. در هر دو منطقه عملیات کاشت بذرها در نیمه دوم فروردین ماه به صورت دستی انجام شد و پس از اتمام عملیات کاشت مزرعه آبیاری شد. لازم به ذکر است که جهت اطمینان از خلوص بذرها، بذر گیاه آویشن با غی از مرکز فروش بذر گیاهان دارویی استان شیراز تهیه شد. علف‌های هرز مزرعه نیز به صورت دستی وجین شد و مزارع عاری از هرگونه آفات و بیماری بودند، لذا هیچ کنترلی انجام نشد.

جدول ۲. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه مورد آزمایش در عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری

بافت	کلسیم	آهن	سدیم	پتاسیم	فسفر	هدایت الکتریکی	نیترات	کربن آلی	ماده آلی	عمق
لومی رسی	۵۷/۳	۲۴/۵	۱/۲	۷۰۰/۰	۲۱۳/۵	۲/۹	۰/۲	۴/۶	۷/۶	(cm)

در انتهای رشد و مرحله بلوغ فیزیولوژیک جهت اندازه‌گیری وزن‌های تر و خشک، در مرحله برداشت نهایی (۵ آبان‌ماه) از دو ردیف وسط هر کرت پس از حذف اثر حاشیه‌ای (۵۰ سانتی‌متر ابتدایی و انتهایی هر واحد آزمایشی)، حدود یک متربمربع برداشت شد و پس از ثبت وزن تر، ۱۰ بوته کامل از هر کرت نیز به طور تصادفی جهت اندازه‌گیری انتفاع بوته انتخاب شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک (عملکرد زیستی)، نیز اندام‌های مورد هدف به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و با ترازووهای دیجیتالی گرمی (مدل EK610I، کشور ژاپن) توزین شدند. جهت اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در مرحله گله‌دهی ۱۰ عدد برگ جوان و کاملاً ظهره یافته از هر تیمار، قبل از گرمشدن هوا برداشت و جهت انتقال به آزمایشگاه، در محفظه حاوی از یخ قرار داده شد. در آزمایشگاه نمونه برگ‌ها پس از شستشو با آب مقطر بلا فاصله در محلول بافر فسفات تریس ۱۶/۰ مول (اسیدیته ۷/۵) ترکیب شد. بافر حاوی دی‌جیتوئین (آنزیم هضم‌کننده دیواره) جهت هضم غشا و دیواره‌های سلولی اضافه به آن شد. میزان ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول هموژن برای سنجش پروتئین برداشته شد و مقدار پروتئین آن بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین شد (Lowry, 1951). در باقی‌مانده محلول استخراجی فوق، مقدار هر یک از آنزیم‌ها به روش تعریف‌شده برای هر کدام تعیین شد. تغییرات آنزیم SOD، توسط روش Misra & Fridovich (1972) تعیین شد. ابتدا محلول بافر تریس (حاوی فسفات و دی‌سیدیک با اسیدیته ۷/۲)، به همراه ۱/۳ میلی‌مول EDTA و ۰/۰ میلی‌مول کربنات منوسدیک تهیه شد. پس از آماده‌سازی سوبسترا از اپی‌نفرین با غلظت ۰/۲۵، محلول تهیه شده به آن اضافه گردید و تغییرات جذب نوری حاصله از اکسیداسیون اپی‌نفرین، جهت تعیین فعالیت آنزیمی ارزیابی شد. از آنزیم استاندارد و خالص نیز جهت استاندارد نمودن نتایج استفاده شد که واحد آن اکسیداسیون ۵/۰ میلی‌مول اپی‌نفرین در یک دقیقه در نظر گرفته شد. کاتالاز (CAT) یک آنزیم پاکسازی کننده پراکسید هیدروژن است که با افزایش فعالیت این آنزیم، پراکسید هیدروژن

از طریق شکستن آن به آب و اکسیژن، حذف می‌شود. جهت محاسبه فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Paglia (1997) استفاده شد. در این روش شدت حذف آب اکسیژنه به عنوان سوبسترا ارزیابی شد. بافر زمینه برای انجام کار حاوی ۰/۱۷ میلی‌مول فسفات دی سدیک (اسیدیته ۷/۵) به همراه ۰/۱۵ مول EDTA، ۰/۱۱ میلی‌مول کلربیدمنیزیم در نظر گرفته شد (Lowry, 1951). واحد فعالیت آنزیم کاتالاز معادل نسبت تبدیل آب اکسیژنه در مدت یک دقیقه به هنگام پیشرفت واکنش درجه اول در نظر گرفته شد.

برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) نیز مقدار ۵/۰ میلی‌لیتر از محلول هموژن برای سنجش پروتئین برداشت شد و مقدار پروتئین آن بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید. سپس طبق روش Paglia (1997)، در باقیمانده محلول استخراجی مقدار آنزیم گلوتاتیون اندازه‌گیری شد. عصاره استخراجی با محلول بافر حاوی فسفات منو پتاسیک ۵۶/۰ مول (اسیدیته ۷/۵)، همراه ۱/۲ میلی‌مول EDTA و یک میلی‌مول NaNO₃ و ۰/۲ میلی‌مول NADPH ترکیب شد. به آن ۰/۲ میلی‌لیتر گلوتاتیون احیا به همراه ۱/۰ میلی‌مول از آب اکسیژنه اضافه شد. بالافاصله میزان اکسیداسیون NADPH که از طریق تعیین مقدار تغییر جذب در ۳۴۰ نانومتر در ۳۰ درجه سانتی‌گراد توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل 100z-u-shimaszu-u، کشور ژاپن) اندازه‌گیری شد. هم‌زمان یک محلول بلانک حاوی تمام مواد فوق بدون حضور عصاره استخراجی برای تصحیح و حذف خطاها احتمالی مورد استفاده قرار گرفت. یک واحد از فعالیت آنزیم GPX معادل مقدار آنزیمی که بتواند یک میکرومول از سوبسترا NADPH در یک دقیقه کاتالیز کند، در نظر گرفته شد. برای استاندارد سازی از نمونه آنزیم GPX استفاده شد.

جهت اندازه‌گیری درصد و ترکیب انسانس ۲۰ گرم برگ توسط آسیاب برقی پودر شد و سپس همراه با ۲۵۰ میلی‌لیتر آب و مقداری هگزان جهت حل شدن انسانس استخراج شده، در یک بالن نیم لیتری کلونجر ریخته شد و حدود چهار ساعت با گرم کن برقی حرارت داده شد تا با جوش‌آمدن آب، انسانس‌گیری انجام شود. هگزان و انسانس حل شده به بشر منتقل و سپس با سولفات سدیم آب‌گیری شد. انسانس حل شده در هگزان در ظروف کوچکی جمع‌آوری شده و به کمک گاز نیتروژن، حلال هگزان تبخیر شد و در نهایت میزان انسانس به صورت درصد وزنی محاسبه شد. انسانس‌ها تا زمان تجزیه در فریزر نگهداری شدند و با استفاده از دستگاه طیفسنج جرمی (مدل GC/MC، کشور ژاپن) تجزیه، شناسایی نوع و میزان ترکیب تیمول با برنامه‌ریزی حرارتی انجام شد. شروع کار از ۵۰ درجه سانتی‌گراد با پنج دقیقه توقف و افزایش درجه حرارت تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد به تدریج با چهار درجه سانتی‌گراد افزایش در هر دقیقه انجام شد (Adams, 1995).

در نهایت بعد از جمع‌آوری داده‌ها، تجزیه‌های آماری صورت گرفته در پژوهش حاضر با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS صورت گرفت. قبل از تجزیه واریانس، از نرمال‌بودن توزیع خطای آزمایشی در هر یک از تیمارها و یکنواخت‌بودن آن در بلوک‌های آزمایشی اطمینان حاصل شد و سپس عملیات تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون دانکن در سطح یک درصد انجام شد.

۳. نتایج و بحث

نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که برهم‌کنش سه‌گانه تنفس خشکی × محلول‌پاشی سالیسیلیک‌اسید و جاسمونیک‌اسید در تمام صفات مورد مطالعه در این پژوهش در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند (جدول ۳). بنابراین مقایسه میانگین داده‌ها براساس اثر متقابل سه‌گانه تیمارهای تنفس و محلول‌پاشی انجام گرفت (جدول ۴).

۱.۱. صفات زراعی (ارتفاع بوته، وزن های تر و خشک)

تیمارهای آبیاری معمول همراه با محلول پاشی ۵۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید و ۲ میلی گرم جاسمونیک اسید ($S_0 \times S_0 \times JA_2$)، آبیاری معمول همراه با ۵۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید و یک میلی گرم جاسمونیک اسید ($S_0 \times SA_2 \times JA_1$) و آبیاری معمول همراه با ۲۵ میلی گرم سالیسیلیک اسید و دو میلی گرم جاسمونیک اسید ($S_0 \times SA_1 \times JA_2$) به ترتیب بیشترین ارتفاع بوته (۳۸/۲، ۳۷/۳ و ۳۵/۳ سانتی متر)، وزن تر (۶۴۴۱/۲، ۷۱۱۲/۳ و ۶۵۳۲/۰ کیلوگرم در هکتار) و وزن خشک بوته (۱۷۷۸/۷، ۱۶۶۳/۵ و ۱۶۶۸/۱ کیلوگرم در هکتار)، را داشتند (جدول ۴). کمترین ارتفاع بوته (۱۳/۶ سانتی متر)، وزن های تر و خشک بوته (به ترتیب ۴۱۰/۳ و ۱۵۴۹/۴ کیلوگرم در هکتار) آویشن باعی نیز در تیمار تنش خشکی و عدم محلول پاشی ($S_1 \times JA_0 \times SA_0$) مشاهده شد.

بنابراین نتایج نشان داد که کاربرد همزمان یا تکی سطوح بالاتر تنظیم کننده های رشد سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید همراه با آبیاری معمول و بدون تنش خشکی باعث افزایش ۵۵ درصدی ارتفاع بوته، ۷۳ درصدی وزن های تر و خشک شاخصاره گیاه دارویی آویشن باعی نسبت به شاهد شد، لذا کاربرد دو الیستور مذکور می تواند اثرات منفی تنش خشکی را در گیاه آویشن باعی کاهش دهد. محلول پاشی سطوح بالای سالیسیلیک اسید (۵۰ میلی گرم در لیتر) در شرایط تنش خشکی ($S_1 \times SA_2 \times JA_0$)، نسبت به تیمار شاهد سالیسیلیک اسید در تنش خشکی ($S_1 \times SA_0 \times JA_0$)، ارتفاع بوته آویشن باعی را حدود ۴۰ درصد (از ۱۶/۲ به ۲۶/۹ سانتی متر)، افزایش داد. کاربرد جاسمونیک اسید (۲ میلی گرم بر لیتر) نیز در تنش خشکی اثر قابل توجهی بر ارتفاع بوته داشت، به طوری که اختلاف بین بیشترین ($S_0 \times SA_0 \times JA_2$) و کمترین ($S_1 \times SA_0 \times JA_0$) ارتفاع بوته ۵۶ درصد بود. پژوهش گران گزارش کردند که در گیاه آویشن تنش خشکی اثر معنی داری بر پارامترهای رشدی و عملکرد اندام رویشی داشت و با افزایش تنش خشکی ارتفاع بوته، تعداد ساقه جانبی، وزن تر و خشک اندام هوایی، حجم ریشه، وزن تر و خشک ریشه و طول ریشه کاهش یافت (Babaee *et al.*, 2010; Ghaderi *et al.*, 2017).

تنش خشکی با دخالت ناقل ها و کانال های یونی در ریشه و کاهش جذب آب و مواد معدنی، موجب کاهش آسیمیلات های تولیدی و در نهایت رشدی رویشی و ارتفاع بوته می گردد که در این تحقیق کاملاً مشهود است. در تنش خشکی، به علت کاهش سطح برگ، مواد فتوستترزی و انتقال مواد آسیمیلاتی به سمت اندام های زایشی، عملکرد سرشاخه های گلدار آویشن کاهش می یابد (Mohammad Noshiae *et al.*, 2016)، لذا نخستین اثر محسوس کم آبی بر گیاهان را می توان از روی اندازه کوچکتر برگ ها و ارتفاع کمتر گیاهان تشخیص داد. سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید در زمان تنش خشکی توانستند احتمالاً با بهبود جذب عناصر غذایی سبب افزایش صفات ظاهری از جمله ارتفاع گیاه، طول و تعداد میانگره شوند.

پژوهش گران اظهار داشتند که سالیسیلیک اسید با افزایش تقسیم و طویل شدن سلولی، افزایش فعالیت های آنزیمی و تولیدات فتوستترزی توانست رشد گیاه را بهبود بخشیده و منجر به افزایش ارتفاع گیاه می شود (Bakry *et al.*, 2012; Eraslan *et al.*, 2007). کاهش مقدار آب آبیاری و تنش ناشی از آن موجب کاهش پتانسیل آب بافت های مریستمی در طول روز شده که موجب نقصان پتانسیل فشاری به حدی کمتر از میزان لازم برای بزرگ شدن سلول ها شده و سبب کاهش ارتفاع بوته می شود و محلول پاشی جاسمونیک اسید می تواند آثار منفی تنش خشکی را جبران کند (& Farzaneh (Tafazoli, 2014

جدول ۳. تجزیه واریانس اثر آبیاری و محلول پاشی سطوح سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و زراعی گیاه آویشن در شرایط تنفس خشکی

میانگین مریعات											
منابع تغییرات	درجه آزادی	تاریخ	وزن تراشمنده	وزن خشک شاخه‌ها	سوزن کسیداز دی‌سموژ	کالاز	گلوتاتیون پرو-اکسیداز	تصد شناسه‌رده	تصد پیغول	غذای ملیپلیک اسید	غذای سامونیک اسید
تکرار	۲	۵۴۱۲۹/۱۶ ns	۶۲۵۲۱/۵۰ ns	۴۴/۳۱ ns	-	-	-	-	-	-	-
تنفس خشکی (S)	۱	۱۸۴۲۲/۱۵*	۳۹۸۳۳/۶۲*	۵۲/۰*	-	-	-	-	-	-	-
خطای (a)	۲	۲۷۰۳۶/۷۵	۵۶۸۳۹/۱۵	۲۱/۲۴	-	-	-	-	-	-	-
سالیسیلیک اسید (SA)	۲	۲۸۷۶۴۹/۱۱*	۱۸۰۲۵۴۶/۲۵*	۲۵۸۷/۰۲*	-	-	-	-	-	-	-
جاسمونیک اسید (JA)	۲	۷۴۳۵۹۱۲/۳۲**	۸۷۴۳۹۰۱۶/۲۱**	۶۹۵/۱۱*	-	-	-	-	-	-	-
SA × JA	۴	۹۵۲۴۶۳/۶۶**	۹۶۵۰۳۹۷۸/۷۵**	۶۵۹/۰*	-	-	-	-	-	-	-
S × SA	۲	۸۷۲۶۴۹۱/۱۳**	۷۲۳۰۹۶۴/۲۱**	۲۵۸۱/۲۲**	-	-	-	-	-	-	-
S × JA	۲	۱۰۵۲۹۶۷۳/۳۵**	۸۶۵۰۱۷۲/۴۱**	۶۷۲۷/۴۱*	-	-	-	-	-	-	-
SA × SA × JA	۴	۶۲۱۳۹۰۴/۶۵**	۳۲۷۸/۱۵**	-	-	-	-	-	-	-	-
خطای (bc)	۳۳	۴۲۱۳۶/۷۲	۳۴۸۹۲۱/۱۵	۱۱۴/۱۹	-	-	-	-	-	-	-
ضریب تغییرات (%)	-	۹/۶۰	۱۵/۷۷	-	-	-	-	-	-	-	-

*: به ترتیب عدم تفاوت معنی‌دار وجود تفاوت معنی‌دار در سطح آماری یک و پنج درصد می‌باشد.

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر آبیاری و محلول پاشی سطوح سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و زراعی گیاه آویشن در شرایط تنفس خشکی

تیمار	ارتفاع بوته (cm)	وزن بوته (kg ha⁻¹)	وزن خشک شاخه (kg ha⁻¹)	سوزن کسیداز دی‌سموژ (u.mgprotein:min)	کالاز (u.mgprotein:min)	گلوتاتیون پرو-اکسیداز (u.mgprotein:min)	تصد اسید (%)	تصد پیغول (%)	غذای ملیپلیک اسید (mol g⁻¹ leaf)	غذای سامونیک اسید (mol g⁻¹ leaf)	میزان اسید (nmol g⁻¹)
S ₀ × SA ₀ × JA ₀	۲۳/۱۰	۴۴۵۰/۰ ef	۱۰۳۳/۲ cd	۱۲/۰ cd	۲۸/۷ c	۱۷/۱ b	۵۵/۸ c	۰/۱۷ e	۷۹/۰ e	۱۹/۹ e	-
S ₀ × SA ₀ × JA ₁	۲۶/۰ bc	۵۲۴۱/۰ de	۱۲۲۴/۹ c	۹/۹ cde	۲۲/۹ d	۱۲/۱ c	۵۸/۵ c	۰/۲۳ de	۸۵/۹ e	۳۳/۲ d	-
S ₀ × SA ₀ × JA ₂	۲۹/۱ bc	۵۳۱۴/۲ d	۱۵۱۸/۷ ab	۸/۱ cde	۱۹/۷ de	۱۱/۴ cd	۶۱/۲ bc	۰/۲۰ d	۹۵/۰ de	۴۱/۱ cd	-
S ₀ × SA ₁ × JA ₀	۲۸/۹ bc	۵۳۱۴/۲ d	۱۳۳۷/۵ bc	۱۱/۴ cd	۲۱/۶ de	۱۱/۴ cd	۵۸/۹ c	۰/۱۹ e	۱۱۵/۵ de	۲۱/۹ e	-
S ₀ × SA ₁ × JA ₁	۳۱/۷ b	۵۹۴۸/۸ c	۱۵۳۰/۲ ab	۷/۵ de	۱۸/۴ de	۱۱/۴ cd	۶۱/۱ bc	۰/۳۲ cd	۶۱/۲ bc	۴۱/۲ cd	-
S ₀ × SA ₁ × JA ₂	۳۵/۳ ab	۵۸۵۲/۰ b	۱۶۶۸/۱ ab	۶/۶ de	۱۲/۱ ef	۷/۶ d	۶۱/۸ bc	۰/۳۹ bc	۶۴/۸ abc	۴۶/۸ abc	-
S ₀ × SA ₂ × JA ₀	۳۱/۲ b	۵۷۴۶/۰ cd	۱۴۴۶/۸ abc	۹/۶ cde	۱۸/۳ e	۹/۶ cde	۶۱/۱ bc	۰/۳۰ d	۶۱/۱ de	۲۵/۱ de	-
S ₀ × SA ₂ × JA ₁	۳۷/۳ a	۶۴۴۱/۲ bc	۱۶۳۶/۵ ab	۶/۸ de	۱۰/۷ f	۶/۸ de	۶۱/۱ bc	۰/۳۴ cd	۶۴/۱ de	۴۷/۱ bc	-
S ₀ × SA ₂ × JA ₂	۳۸/۲ a	۷۱۱۲/۳ a	۱۷۷۸/۷ a	۵/۶ e	۹/۴ f	۶/۳ d	۶۸/۱ ab	۰/۴۲ bc	۶۸/۱ ab	۵۵/۰ ab	-
S ₁ × SA ₀ × JA ₀	۱۳/۶ d	۱۵۴۹/۴ i	۴۱۰/۳ f	۱۹/۰ a	۲۲/۸ de	۲۲/۸ a	۶۰/۹ bc	۰/۲۸ de	۷۰/۹ bc	۲۰/۴ c	-
S ₁ × SA ₀ × JA ₁	۱۷/۴ cd	۶۶۳۲/۱ ef	۲۶۲۷/۲ h	۱۶/۱ ab	۲۰/۵ ab	۲۰/۵ ab	۶۳/۷ bc	۰/۳۵ bc	۶۳/۷ bc	۲۱/۰ ac	-
S ₁ × SA ₀ × JA ₂	۲۱/۸ cd	۳۷۱۱/۱ g	۸۴۱/۲ de	۱۵/۷ abc	۱۷/۷ b	۱۷/۷ b	۶۶/۸ ab	۰/۳۹ bc	۶۶/۸ ab	۲۱/۶ cd	-
S ₁ × SA ₁ × JA ₀	۲۱/۴ cd	۲۴۹۸/۶ h	۷۴۴۸/۸ c	۱۶/۴ ab	۲۰/۲ ab	۱۷/۴ cd	۶۳/۳ ab	۰/۳۴ cd	۶۳/۳ ab	۳۹/۶ cd	-
S ₁ × SA ₁ × JA ₁	۲۳/۱۰	۳۹۰/۰ fg	۸۹۹/۱ id	۱۴/۸ abc	۱۷/۸ ab	۱۷/۸ ab	۶۵/۶ bc	۰/۴۰ bc	۶۵/۶ bc	۵۴/۴ bc	-
S ₁ × SA ₁ × JA ₂	۲۶/۸ bc	۴۸۰/۰ de	۱۱۶۱/۲ cd	۱۳/۴ bc	۲۶/۹ cd	۱۴/۶ bc	۶۸/۷ ab	۰/۴۶ ab	۶۸/۷ ab	۴۸/۴ ab	-
S ₁ × SA ₂ × JA ₀	۲۲/۶ cd	۳۲۸۷/۳ e	۸۱۹/۹ de	۱۴/۰ abc	۱۷/۲ b	۱۷/۲ b	۶۵/۶ bc	۰/۴۴ bc	۶۵/۶ bc	۴۳/۷ c	-
S ₁ × SA ₂ × JA ₁	۲۰/۴ bc	۴۲۰/۱ f	۱۰۱۳/۲ cd	۱۲/۹ c	۱۴/۵ bc	۱۴/۵ bc	۶۸/۱ ab	۰/۴۴ b	۶۸/۱ ab	۴۵/۸ ab	-
S ₁ × SA ₂ × JA ₂	۲۹/۸ bc	۵۴۶۲/۹ cd	۱۳۱۰/۳ bc	۹/۷ cd	۱۰/۱ cd	۱۰/۱ cd	۷۷/۱ a	۰/۵۲ a	۷۷/۱ a	۲۸/۱ a	-

*: میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون مربوط به هر سال فاقد تفاوت معنی‌دار آماری در سطح یک درصد می‌باشند.

*: آبیاری معمول (S₀)، تنفس خشکی (S₁)، محلول پاشی سطوح شاهد (صفر)، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر لیتر سالیسیلیک اسید (به ترتیب S_{A0}، S_{A1} و S_{A2})، محلول پاشی سطوح شاهد (صفر)، یک و دو میلی گرم بر لیتر جاسمونیک اسید (به ترتیب JA₀، JA₁ و JA₂).

۳.۲. فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گلوتاپون پراکسیداز (GPX)

برهم کنش سه گانه تنش خشکی × محلول پاشی سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی SOD، CAT و GPX گیاه دارویی آویشن باعی در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۱). بیشترین فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی SOD، CAT و GPX (به ترتیب $19/0$ ، $44/5$ و $22/4$ u.mgprotein.min) در تیمار تنش خشکی × عدم محلول پاشی سالیسیلیک و جاسمونیک اسید ($S_1 \times JA_0$) و کمترین (به ترتیب $5/6$ ، $9/4$ و $6/3$) در تیمارهای آبیاری معمول و سطوح بالای سالیسیلیک و جاسمونیک اسید ($S_0 \times SA_2$ × JA_2) مشاهده شد (جدول ۴). محلول پاشی سالیسیلیک و جاسمونیک اسید به ترتیب با کاهش $85/70$ و $72/72$ درصدی فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی SOD، CAT و GPX، باعث شد که آسیمیلاسیون تولیدی صرف تولید ماده خشک شود، زیرا در تیمارهایی که فعالیت آنزیم های مذکور کم بود، ارتفاع بوته و وزن های تر و خشک شاخص اره گیاه دارویی آویشن باعی افزایش یافت (جدول ۴).

در پژوهش حاضر برهم کنش تنش خشکی و کاربرد سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید سبب کاهش فعالیت آنزیم ها نسبت به عدم مصرف شد. کاهش فعالیت های آنتی اکسیدانی ممکن است نتیجه غیرفعال شدن آنزیم، از طریق مولکول های تأثیرگذار مرتبط با تنش و همچنین نیاز کمتر سلول ها برای متابولیسم آنتی اکسیدانتیو پس از اعمال محلول پاشی باشد. سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید به طور مستقیم در از بین بردن رادیکال های آزاد نقش داشته و با پاکسازی گونه های فعال و کاهش اثرات تنش، از افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانتیو پس از کنند (Doulatabadian et al., 2008). احتمالاً ایستورهای مذکور با افزایش متابولیت های ثانویه به عنوان اولین سد دفاعی و کاهش انرژی مصرفی جهت تولید آنزیم های آنتی اکسیدانی باعث افزایش رشد رویشی اندام های هوایی (ارتفاع بوته و وزن های تر و خشک) گیاه دارویی آویشن باعی شدند (جدول ۴).

در گیاهان عالی، تحمل به تنش خشکی با سطوح فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی ارتباط مستقیم دارد (Khan & Ashraf, 2008). سالیسیلیک اسید روی سرعت تولید انواع اکسیژن فعال تحت شرایط تنش تأثیر گذاشته و فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانت سوپراکسید دیسموتاز را تغییر و از این طریق تحمل گیاه به تنش های غیرزیستی را افزایش می دهد (Horvath et al., 2007). القای فعالیت کاتالاز باعث غلبه بر تنش اکسیدانتیو از طریق سمزدایی پراکسید هیدروژن شده و از تولید رادیکال هیدروکسیل جلوگیری و پروتئین ها، اسیدهای نوکلئیک و چربی ها را در برابر رادیکال های آزاد محافظت می کند (Rastgoo & Alemzadeh, 2011). پژوهش گران نیز اظهار داشتند که تیمار گیاه چه های گندم با سالیسیلیک اسید موجب افزایش محتوای رطوبت، ماده خشک و افزایش فعالیت آنزیم کربوکسیلاز و رو بیسکو و مجموع محتوا کلروفیل در مقایسه با شاهد شد (Hayat et al., 2010). برخی دیگر از پژوهش گران گزارش کردند که کاربرد خارجی جاسمونیک اسید با افزایش فعالیت آنزیم های ضد اکسیداسیونی موجب حفظ گیاهان در مقابل خسارت تنش اکسیداسیون ناشی از خشکی شد (Mahmood et al., 2012).

۳.۳. متابولیت های ثانویه (درصد اسانس و تیمول)

برهم کنش سه گانه تنش خشکی × محلول پاشی سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید بر تولید متابولیت های ثانویه (درصد اسانس و تیمول شاخص اره) گیاه دارویی آویشن باعی در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۱). بیشترین درصد اسانس و تیمول ($40/0$ و $28/0$ درصد) در تیمار تنش خشکی × محلول پاشی $50/2$ و $2/50$ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید و

جاسمونیک اسید ($S_1 \times SA_2 \times JA_2$) و کمترین مقدار آن (اسانس ۱۷٪ و تیمول ۵۵٪ درصد) در تیمار آبیاری معمول × عدم محلول پاشی سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید ($S_0 \times SA_0 \times JA_0$) مشاهده شد (جدول ۴). کاربرد الیستورهای سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید در شرایط تنفس خشکی و آبیاری معمولی باعث افزایش صفات مذکور نسبت به تیمار شاهد ($S_1 \times SA_0 \times JA_0$ و $S_0 \times SA_0 \times JA_0$) شد.

محلول پاشی ۵۰ میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید در شرایط تنفس خشکی ($S_1 \times SA_2 \times JA_0$)، نسبت به تیمار شاهد (عدم محلول پاشی) در شرایط تنفس خشکی ($S_1 \times SA_0 \times JA_0$ ، درصد اسانس شاخصاره را از ۲۸٪ به ۳۸٪ درصد و درصد تیمول را از ۶۰٪ درصد به ۶۵٪ درصد افزایش داد. در شرایط آبیاری معمول نیز کاربرد سطوح بالای سالیسیلیک اسید ($S_0 \times SA_2 \times JA_0$ ، درصد اسانس شاخصاره را نسبت به تیمار شاهد ($S_0 \times SA_0 \times JA_0$)، از ۱۷٪ به ۳۰٪ و درصد تیمول از ۵۵٪ به ۶۱٪ درصد افزایش داد (جدول ۴).

جاسمونیک اسید اثر قابل توجهی در شرایط تنفس خشکی بر درصد اسانس شاخصاره و تیمول داشت، به طوری که محلول پاشی ۲ میلی گرم در لیتر جاسمونیک اسید در شرایط تنفس خشکی ($S_1 \times SA_0 \times JA_2$)، نسبت به تیمار شاهد (عدم محلول پاشی) در شرایط تنفس خشکی ($S_1 \times SA_0 \times JA_0$ ، درصد اسانس شاخصاره را از ۲۸٪ به ۳۹٪ درصد و درصد تیمول را از ۶۰٪ درصد به ۶۶٪ درصد افزایش داد. در شرایط آبیاری معمول نیز در اثر کاربرد جاسمونیک اسید ($S_0 \times SA_0 \times JA_2$ ، درصد اسانس شاخصاره را نسبت به تیمار شاهد ($S_0 \times SA_0 \times JA_0$)، از ۱۷٪ به ۳۰٪ و درصد تیمول از ۵۵٪ به ۶۱٪ درصد افزایش داد (جدول ۴). بنابراین تنفس خشکی موجب افزایش متابولیت‌های ثانویه (درصد اسانس) که نقش حفاظتی در گیاه داشته و مقدار مناسب سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید نیز باختنی کردن رادیکال‌های آزاد و فرم‌های فعال اکسیژن تولید شده در اثر تنفس خشکی، سبب افزایش مقدار اسانس در آویشن باگی شده‌اند.

پژوهش گران اظهار داشتند که تنفس خشکی بر رشد، عملکرد متابولیت‌های ثانویه و ترکیب و عملکرد اسانس گیاه دارویی آویشن تأثیر معنی‌داری داشت، به طوری که تنفس متوسط عملکرد اسانس را افزایش داد (Bourd *et al.*, 2014; Nowak *et al.*, 2010). زیرا که طبق فرضیه موازن‌رشد-تمایز هر کمبودی که رشد را بیش از فتوستتر محدود کند، تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه را افزایش می‌دهد (Herms & Mattson, 1992). افزایش متابولیت‌های ثانویه و اجزای اسانس در زمان تنفس نشان‌دهنده نقش حفاظتی این ترکیبات به عنوان عوامل غیر آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که با افزایش مقدار منتوول و تیمول در گیاه آویشن همراه است (Gao-Bin *et al.*, 2009). پژوهش گران گزارش کردند که در شرایط تنفس تعییرات ترکیب‌های اسانس ناشی از فعالیت آنزیم‌ها و بهبود متابولیسم است (Hendawy & Khalid, 2005). پژوهش گران اظهار داشتند که محلول پاشی جاسمونیک اسید ممکن است سبب افزایش و یا کاهش برخی متابولیت‌های ثانویه به ویژه ترکیب‌های فلزی مهم در اسانس آویشن شود (Ashrafi *et al.*, 2012). کاربرد خارجی جاسمونیک اسید در گیاهان دارویی مانند آویشن ممکن است منجر به تعییر میزان برخی از ترکیب‌های ثانویه مهم مثل تیمول شود که اختلاف معنی‌داری بین مقدار تیمول با کاربرد غلظت ۱۰۰ میکرومول جاسمونیک مشاهده شد که در این پژوهش مشهود است و با پژوهش‌های برخی از پژوهش گران مطابقت داشت (Hamedи *et al.*, 2014).

۳.۴. غلظت سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید برگ

برهم‌کنش سه‌گانه تنفس خشکی × محلول پاشی بر میزان غلظت سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید برگ گیاه دارویی آویشن باگی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). بیشترین میزان سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید (به ترتیب ۲۸۱ و ۶۳ مول در گرم) در تیمار تنفس خشکی × محلول پاشی ۵۰ و دو میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید و

جاسمونیک اسید ($S_1 \times SA_2 \times JA_2$)، و کمترین (به ترتیب ۷۹ و ۱۹ مول در گرم) در تیمار آبیاری معمول × عدم محلول پاشی سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید ($S_0 \times SA_0 \times JA_0$) مشاهده شد (جدول ۴). بنابراین کاربرد خارجی و همزمان دو الیستور مذکور در شرایط تنش خشکی باعث افزایش ۷۲ و ۷۰ درصدی غلظت سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید برگ آویشن باغی شد. سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید به عنوان الیستور در شرایط تنش خشکی با تجمعی در کلروفیل برگ، با تولید متابولیت‌های ثانویه و تأثیر بر مسیرهای متابولیکی گیاه، اثرات منفی تنش خشکی را خنثی می‌کند که در این پژوهش نیز مشهود بود. پژوهش گران اظهار داشتند که کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید در گیاه جو اثرات مخرب کمبود آب روی غشاء سلولی را کاهش و موجب افزایش محتواهای آبسزیک اسید در برگ‌ها و در نهایت افزایش تحمل به تنش خشکی شد (Bandurska & Stroinski, 2010).

۴. نتیجه‌گیری

با افزایش تنش خشکی ناشی از تشتک تبخیر ارتفاع بوته، وزن‌های تر و خشک اندام‌های هوایی آویشن باغی کاهش و درصد متابولیت‌های ثانویه (اسانس و تیمول) و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپر اکسیداز دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و کاتالاز (CAT)، افزایش یافتد. در گیاه دارویی آویشن باغی محلول پاشی سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید به ترتیب با کاهش ۷۰، ۸۵ و ۷۲ درصدی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، CAT و GPX باعث شد که آسیمیلاسیون تولیدی صرف تولید ماده خشک شود، زیرا در تیمارهایی که فعالیت آنزیم‌های مذکور کم بود، ارتفاع بوته و وزن‌های تر و خشک شاسخاره گیاه دارویی آویشن باغی افزایش یافت. بیشترین درصد متابولیت‌های ثانویه اسانس و تیمول و غلظت سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید نیز در تیمار تنش خشکی × سطوح ۵۰ و دو میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید مشاهده شد.

بنابراین محلول پاشی سطوح ۵۰ و ۲ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید در شرایط تنش خشکی، با افزایش غلظت و تجمع دو الیستور مذکور در برگ، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، درصد تولید متابولیت‌های ثانویه (اسانس و تیمول) و رشد اندام‌های رویشی (وزن‌های خشک و تر و ارتفاع بوته) را افزایش داد، لذا استفاده خارجی سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید، می‌تواند اثرات منفی تنش خشکی را بر تولید گیاه دارویی آویشن باغی در منطقه ورامین کاهش دهد.

۵. تشکر و قدردانی

از تمامی پرسنل رحمت‌کش آزمایشگاه و مدیر گروه محترم گروه کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین جهت همکاری مستمر و پیشبرد اهداف این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

۶. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندها وجود ندارد.

۷. منابع مورد استفاده

Adams, R.P. (1995). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, 811 p.

- Alamdar, S.B.L., Safarnejad, A., & Nematzadeh, G.A. (2012). Using RAPD marker for genetic diversity assessment of several *Thymus* species. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 20(2), 192-201. (In Persian).
- Alramamneh, E.D.M. (2009). Plant growth strategies of *Thymus vulgaris* L. in response to population density. *Industrial Crops and Products*, 30, 389-394.
- Ashrafi, M., Ghasemi Baloti, A., Rahimmalek, M., & Hamid, B. (2012). The effect of jasmonic acid sprayed on the composition of (*Thymus daenensis Celak.*). *Herbal Medicines*, 3(2), 75-80.
- Babaee, K., M., Modares Sanavi, S.A.M., & Jabbari, R. (2010). Water deficit effect on morphology, prolin content and thymol percentage of Thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 26(2), 239-251.
- Bakry, B.A., El-Hariri, D.M., Mervat, S.S., & El-Bassiouny, H.M.S. (2012). Drought stress mitigation by foliar application of salicylic acid in two linseed varieties grown under newly reclaimed sandy soil. *Journal of applied sciences research*, 7, 3503-3514.
- Bandurska, H., & Stroinski, A. (2010). The effect of salicylic acid on barley response to water deficit. *Acta Physiologiae Plantarum*, 27(3), 379-386.
- Bhatt, R.M., & Roa, N.K. (2015). Influence of pod load on response of okra to water stress. *Indian Journal of Plant Physiology*, 20, 124-129.
- Boabdil, R., Rezazadeh, S.H., Nagavi, M., Omidi, M., Torabi, S., Parvaneh, S., Hariri Akbari, F., & Taghizadeh Farid, R. (2014). Variation in the essential oil of *Artemisia annua* L. apical shoots at different developmental stages. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 45(3), 319-324. (In Persian).
- Daneshmand, F., Arvin, M.J. & Kalantari, K.M. (2009). Effect of acetylsalicylic acid (Aspirin) on salt and osmotic stress tolerance in *Solanum bulbocastanum* in vitro: enzymatic antioxidants. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 6, 92-99.
- Doulatabadian, A., Modarres Sanavi, S.A.M., & Etemadi, F. (2008). Effect of pretreatment of salicylic acid on wheat (*Triticum aestivum* L.) seed germination under salt stress. *Iranian Journal of Plant Biology*, 5, 692-702. (In Persian).
- Eraslan, F., Inal, A., Gunes, A., & Alpaslan, M. (2007). Impact of exogenous salicylic acid on growth, antioxidant activity and physiology of carrot plants subjected to combined salinity and boron toxicity. *Scientia Horticulturae*, 113, 120-128.
- Farzaneh, M., & Tafazoli, A.S. (2014). Methyl jasmonic acid effect on carotenoid pigments and morphological characters of tomato under salt stress conditions. *The First National Conference on Medicinal Plants and Sustainable Agriculture*, 10 October, 125-135.
- Ferrarese, N.G., Huber, M.L.L., Ravagnani, D.A., & Ferrarese, A.L.S. (2003). Conola (*Brassica napus* L.) seed effects on germination of Glycine max effects of cinnamic acid and benzoic acids and derivatives. *Seed Science and technology*, 31, 39-48.
- Gao-Bin, P.U., Dong-Ming, M.A., Jian-Lin, C., Hong Wang, A., Guo-Feng, L., He-Chun, Y., & Ben-Ye, L. (2009). Salicylic acid activates artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua* L. *Plant Cell Reports*, 28, 1127-1135.
- Ghaderi, A.A., Fakheri, B.A., & Mahdi-nezhad, N. (2017). Evaluation of the morphological and physiological traits of Thyme under water deficit stress and foliar application of ascorbic acid. *Agricultural Crop Management, Online Publication*.
- Guo, Y., Tian, S., Liu, S., Wang, W. & Sui, N. (2018). Energy dissipation and antioxidant enzyme system protect photosystem II of sweet sorghum under drought stress. *Photosynthetica*, 5, 1-12.
- Hamed, B., Ghasemi Pirbalouti, A., & Moradi, P. (2014). The effect of foliar application of jasmonic acid on hypericin content of *Hypericum perforatum* L. *Electronic Journal of Biology*, 10(2), 35-39.

- Hayat, Q., Hayat, S., Irfan, M., & Ahmad, A. (2010). Effect of exogenous salicylic acid under changing environment (a review). *Environmental and Experimental Botany*, 68, 14-25.
- Hendawy, S.F., & Khalid, K.A. (2005). Response of sage (*Salvia officinalis L.*) plants to zinc application under different salinity levels. *Journal of Applied Sciences Research*, 1(2), 147-155.
- Herms, D.A., & Mattson, W.J. (1992). The dilemma of plants: To grow or defend. *The Quarterly Review of Biology*, 67, 283- 325.
- Horvath, E., Szalai, G., & Janda, T. (2007). Induction of Abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. *Plant Growth and Regulation*, 26, 290-300.
- Jafarnia, S., Safaei Khoram, M., & Khosroshahi, S. (2011). The most important medicinal plant in the world. Sokhan Gostar and Sabze Iran, Agricultural Education Complex. 442 p. (In Persian).
- Khan, A., & Ashraf, M. (2008). Exogenously applied ascorbic acid alleviates salt-induced oxidative stress in wheat. *Environmental and Experimental Botany*, 63, 224 - 31.
- Kheiry, A., Tori, H., & Mortazavi, N., 2017. Effects of drought stress and jasmonic acid elicitors on morphological and phytochemical characteristics of peppermint (*Mentha piperita L.*). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 33. (In Persian).
- Kohanmoo, M.A., Modaresi, M., & Bagheri Kahkesh, Z. (2016). Effects of spraying salicylic acid and jasmonic acid on the morphological and biochemical characteristics of chamomile (*Matricaria chamomilla L.*) under Bushehr climate conditions. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 23(3), 429-435. (In Persian).
- Leon, J., & Sanchez Serrano, J.J. (2014). Molecular biology of jasmonic acid biosynthesis in plants. *Plant Physiology and biochemistry*, 37, 373 - 380.
- Letchamo, W., Marquard, R., Holzl, J., & Gosselin, A. (2015). Effect of water supply and light intensity on growth and essential oil of two *Thymus vulgaris* selections. *Journal of Medicinal Plants*, 65, 11028.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., & Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.
- Ma, Q.D., Turner, W., Levy, D., & Cowling, W.A. (2017). Solute accumulation and osmotic adjustment in leaves of *Brassica* oil seeds in response to soil water deficit. *Australian Journal of Agricultural Research*, 118, 42-47.
- Mahmood, M., Bidabadi, S.S., Ghobadi, C., & Gray, D.J. (2012). Effect of methyl jasmonate treatments on alleviation of polyethylene glycol-mediated water stress in banana (*Musa acuminata*) shoot tip cultures. *Plant Growth Regulation*, 68, 161-169.
- Mardani, H., Bayat, H., & Azizi, M. (2011). Effect of foliar application of salicylic acid on morphological and physiological parameters of cucumber (*Cucumis sativus*) under drought stress. *Journal of Horticultural Science*, 25, 320-326. (In Persian).
- Misra, H.P., & Fridovich, I. (1972). The Generation of super oxide radical during oxidation. *Journal of Materials Chemistry*, 110, 51-62.
- Nazarli, H., Moradi, P. & Mohebi, M. (2017). Thymus. Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO). *Ministry of Agriculture Jahad*, 17 p.
- Nowak, A., Martin Corina, E., Tarnita, B., Edward, O., & Wilson, V. (2010). The evolution of eusociality. *International Journal of Science*, 466, 1057-1062.
- Paglia, D. (1997). Studies on the quantitative trait dase. *Journal of Laboratory Medicine*, 70, 158-165.
- Pakar, N., Pirasteh-Anosheh, H., & Emam, Y. (2016). The effect of different concentrations of salicylic acid on barley under saline conditions. *Journal of Crop Production and Processing*, 14, 191-201. (In Persian).
- Rastgoo, L., & Alemzadeh, A. (2011). Biochemical responses of Gouan (*Aeluropus littoralis*) to heavy metals stress. *Australian Journal of Crop Science*, 5(4), 375-383.
- Sabaghpour, S.H., Mahmodi, A.A., Saeed, A., Masood, K., & Malhotra, R.S. (2016). Study on chickpea drought tolerance lines under dry land condition of Iran. *Indian Journal of Crop Science*, 11, 126-134.

- Shahid, M., Pourrut, B., Dumat, C., Nadeem, M., Aslam, M., & Pinelli, E. (2014). Heavy-metal induced reactive oxygen species: Phytotoxicity and physicochemical changes in plants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 232, 1-44.
- Wu, H., Wu, X., Li, Z., Duan, L., & Zhang, M. (2012). Physiological evaluation of drought stress tolerance and recovery in cauliflower (*Brassica oleracea* L.) seedlings treated with methyl jasmonate and coronatine. *Journal of Plant Growth Regulation*, 31, 113-123.
- Yavari, A., Nazeri, V., Sefidkon, F., Zamani, Z., & Hasani, M. (2012). Investigation of genetic variation in between and within sime of azarbeyjan thyme populations (*Thymus migricus*) using rapd markers. *Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 28, 35-47.
- Zhang, W., Cao, Z., Xie, Z., Lang, D., Zhou, L., Chu, Y., Zhao, Q., Zhang, X., & Zhao, Y. (2017). Effect of water stress on roots biomass and secondary metabolites in the medicinal plant *Stellaria dichotoma* L. *Scientia Horticulturae*, 224, 280-285.