

تأثیر محلول پاشی سالیسیلیک اسید بر ویژگی‌های کمی و کیفی کاکوتی کوهی (*Ziziphora clinopodioides* Lam.) در شرایط تنش کم آبی

علی حیدرزاده^۱، وحیده ناظری^{۲*} و لیلا تبریزی^۳

۱، ۲ و ۳. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استاد و استادیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۶ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱/۲۴)

چکیده

به منظور بررسی تأثیر تنش کم آبی و سالیسیلیک اسید بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی کاکوتی کوهی (*Ziziphora clinopodioides* Lam.)، آزمایشی گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار با دو عامل تنش کم آبی در چهار سطح (۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) و محلول پاشی سالیسیلیک اسید در سه سطح (صفر، نیم و یک میلی‌مولار) صورت گرفت. وزن خشک بوته و اندام‌های برگ و ساقه، کلروفیل a، b و کل، کاروتنوئید و عملکرد اسانس در اثر تنش کم آبی کاهش یافت، در حالی که محلول پاشی با سالیسیلیک اسید منجر به افزایش مقادیر این صفات شد. میزان فنل کل در اثر تنش کم آبی و سالیسیلیک اسید افزایش یافت و در تنش ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و سالیسیلیک اسید نیم میلی‌مولار به بیشترین مقدار رسید. بیشترین وزن خشک بوته و اندام‌های برگ و ساقه به ترتیب به میزان ۱۸/۲، ۸ و ۶/۶ گرم در ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و محلول پاشی نیم میلی‌مولار سالیسیلیک اسید مشاهده شد. عملکرد اسانس در اثر تنش کم آبی کاهش پیدا کرد و بیشترین عملکرد اسانس در ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و کاربرد سالیسیلیک اسید نیم میلی‌مولار به دست آمد. با توجه به نتایج حاصل گیاه دارویی کاکوتی کوهی برای داشتن بیشترین عملکرد مورفولوژیکی نیاز به آبیاری کامل و محلول پاشی نیم میلی‌مولار سالیسیلیک اسید دارد.

واژه‌های کلیدی: تنش کم آبی، سالیسیلیک اسید، صفات مورفولوژیکی، عملکرد اسانس، کاکوتی کوهی.

Effect of salicylic acid application on quantitative and qualitative features of *Ziziphora clinopodioides* Lam. under water deficit stress condition

Ali Heidarzadeh¹, Vahideh Nazeri^{2*} and Leila Tabrizi³

1, 2, 3. Former M.Sc. Student, Professor and Assistant Professor, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

(Received: Jan. 26, 2019- Accepted: April 13, 2019)

ABSTRACT

In order to study the effects of water deficit stress and salicylic acid application on morphological and physiological characteristic of *Ziziphora clinopodioides* Lam. a factorial experiment based on a complete randomized block design with four water deficit stress levels (100%, 75%, 50% and 30% FC) and three levels of salicylic acid (0, 0.5 and 1 mM) in three replications was performed in greenhouse condition. Water deficit stress decreased plant, leaf and stem dry weight, leaf area, chlorophyll a, b and total chlorophyll content, carotenoids content and essential oil yield, while these traits increased by application of SA. Total phenol content was increased by water deficit stress and SA application. The highest level of plant (18.2g), leaf (6.6g), and stem (8g) dry weight were observed in 100% FC with 0.5 mM SA. Essential oil yield was decreased by water deficit stress and the highest level of this character was obtained in 100% FC with 0.5 mM SA application. According to the obtained results, *Z. clinopodioides* needs to irrigate at field capacity along with 0.5 mM SA in order to reach to the highest growth and chemical yields.

Keywords: Essential oil yield, morphological, salicylic acid, water stress, *Ziziphora clinopodioides*.

* Corresponding author E-mail: nazeri@ut.ac.ir

مقدمه

ایران در منطقه‌ای با بیش‌ترین تنش کم‌آبی در جهان قرار دارد، به طوری که ۸۴ درصد از کشور شامل مناطق خشک، نیمه‌خشک و فراخشک می‌باشد. همچنین میزان متوسط بارندگی در ۴۸ سال اخیر تا سال ۱۳۹۶ در حدود ۲۴۳ میلی‌متر می‌باشد (Amani, 2017). با توجه به اثرات مثبتی که تنش کم‌آبی روی عملکرد و تغییرات مواد مؤثره گیاهان دارویی دارد، می‌توان از این پتانسیل در تولید این گیاهان در مناطق خشک و نیمه خشک جهان و بخصوص ایران بهره برد. در شرایط کمبود آب، فتوسنتز، سطح برگ و در نتیجه رشد و عملکرد گیاه کاهش می‌یابد (Mizanzadehn & Imam, 2010). در مطالعه‌ای تأثیر تنش کم‌آبی و مایکوزیما روی گیاه دارویی کاکوتی کوهی بررسی شد و نتایج نشان داد که در اثر تنش کم‌آبی وزن ریشه، ساقه، برگ، وزن کل گیاه و ارتفاع گیاه در اثر تنش کم‌آبی کاهش یافت در حالی که تیمار گیاهان با مایکوزیما باعث افزایش این صفات در مقایسه با گیاهان بدون تیمار با مایکوزیما شده است (Azimi et al., 2018). در بررسی تأثیر تنش خشکی و برگ‌زدایی بر برخی خصوصیات کمی آویشن شیرازی، کاکوتی، آویشن باغی و کلپوره، نتایج نشان داد که در مقایسه چهار گونه گیاه دارویی مورد بررسی، کاکوتی مقاوم‌ترین و کلپوره حساس‌ترین گونه به تنش خشکی بود و نسبت وزن خشک برگ به ساقه در هر چهار گونه مورد بررسی کاهش یافت (Koocheki et al., 2005). تنش کم‌آبی منجر به کاهش ارتفاع بوته، فاصله میانگره، وزن تر و خشک گیاه، محتوای نسبی آب برگ در گیاه دارویی نعنا فلفلی (*Mentha piperita* L.) شده است (Gorgini et al., 2015). در گیاه دارویی درمنه (*Artemisia annua* L.) رشد گیاه، تجمع ماده خشک و محتوای رطوبت نسبی در اثر تنش کم‌آبی کاهش یافته است (Priyanka & Malik, 2017). همچنین در رابطه با اثرات تنش کم‌آبی روی گیاهان دارویی آویشن دناپی (*Thymus daenensis*) (Ghasemi Pirbalouti et al., 2014)، مرزه خوزستانی (*Satureja khuzistanica*) (Jamzad, 2009) و مرزه رشینگری (*S. Rechingeri* Jamzad.) (Nooshkam et al., 2016) مریم گلی (*Salvia miltiorrhiza*) (Dong et al., 2010)، ریحان (*cimum*)

(*basilicum* L.) و مرزنجوش (*Majorana hortensis*) (Fatima & Gharib, 2007) مطالعاتی صورت گرفته است.

با کاربرد مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی می‌توان گیاهان را نسبت به شرایط نامساعد و تنش‌های محیطی مقاوم کرد. کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشدی نظیر سالیسیلیک اسید و اسید جاسمونیک نسبت به روش‌های اصلاحی که اغلب بلندمدت و هزینه‌بر می‌باشند، آسان‌تر و ارزان‌تر است (Bartels & Sunkar, 2005). سالیسیلیک اسید یک ترکیب فنلی است که به میزان کم در ریشه گیاهان تولید شده (Raskin, 1992) و با داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی گیاهان نقش داشته و با تحریک مکانیسم‌های مقاومتی سبب افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده می‌شود (Hayat & Ahmad, 2007; Hussein et al., 2007). در گیاه دارویی مرزه (*Satureja hortensis* L.) (Faraji, 2007) محلول پاشی سالیسیلیک اسید وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک سرشاخه‌های گلدار افزایش یافت (Faraji et al., 2016).

کاکوتی کوهی (*Ziziphora clinopodioides* Lam.) گیاهی چند ساله از تیره نعناعیان (Lamiaceae)، با ساقه‌های گلدار و خشبی، به ارتفاع ۵۰-۵ سانتی‌متر، برگ‌های بیضوی یا سرنیزه‌ای یا دایره‌ای، جام گل سفید، قرمز یا ارغوانی، پرچم‌ها دو عدد زایا و دارای بساک‌های زائده‌دار و دو عدد نازا، منتهی به میله‌ای کوتاه و تقلیل یافته و دانه‌ها صاف است (Mozaffarian, 2015). زمان گلدهی گیاه تابستان است و این گیاه معمولاً در مناطق سرد و خشک با ۳۰۰-۴۰۰ میلی‌متر بارندگی سالانه و از ارتفاع حدود ۱۵۰۰-۳۰۰۰ متر از سطح دریا می‌روید. رویشگاه‌های آن در مناطق کوهستانی، دامنه‌های صخره‌ای و واریزه‌ای و مناطق استپی در ارتفاعات مناطق خزری و ایرانی تورانی می‌باشد. محدوده پراکندگی آن ترکیه، ایران، سبیری، قفقاز، آسیای مرکزی، عراق، افغانستان و پاکستان می‌باشد و در ایران در شمال، شمال غرب، شمال شرق، غرب، مرکز و شرق می‌روید (Jamzad, 2009). بیشترین درصد (۹۸/۵٪) اسانس کاکوتی کوهی را ترکیبات مونوترپنی تشکیل می‌دهند و مونوترپن پولگون خود به تنهایی ۵۳/۲٪ اسانس را شامل

به صورت منظم آبیاری شدند. اعمال تنش کم آبی پنج ماه بعد از کشت بذرها و در مرحله رشد رویشی با وزن کردن گلدانها به صورت روزانه و به مدت ۹۰ روز انجام شد. رطوبت بستر کاشت در سطوح تنش کم آبی با استفاده از دستگاه صفحات فشاری (Pressure plate) بر حسب رطوبت ظرفیت مزرعه‌ای اندازه‌گیری شد. محلول پاشی سالیسیلیک اسید سه بار و با فاصله زمانی ۲۰ روزه در مرحله رشد رویشی انجام شد. اولین مرحله محلول پاشی ۲۰ روز پس از اعمال تنش کم آبی بود.

قبل از برداشت نهایی، نمونه‌های برگ برای اندازه‌گیری صفات کیفی تهیه و با نیتروژن مایع فریز و در دمای ۸۰- نگه‌داری شد. برداشت نهایی در اواخر مرحله رشد رویشی انجام شد. برای ارزیابی دقیق عوامل مورد بررسی صفات مورفولوژیکی مثل ارتفاع گیاه با استفاده از خط کش و سطح برگ با دستگاه سطح برگ‌سنج مدل Delta-T انگلستان، وزن خشک بوته، برگ و ساقه با ترازو (با دقت ۰/۰۱ گرم)، اندازه‌گیری شد.

رنگبزه‌های فتوسنتزی

برای اندازه‌گیری مقدار کلروفیل و کاروتنوئید برگ مقدار ۰/۰۵ گرم از برگ‌ها در هاون چینی و با استفاده از نیتروژن مایع به خوبی پودر شد. سپس پودر حاصله به درون میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری ریخته شد و ۲ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به نمونه‌ها اضافه گردید، سپس نمونه‌ها در دستگاه سانتریفیوژ مدل Sigma 3- 16K (آلمان) با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. عصاره روشناور حاصل از سانتریفیوژ به میکروتیوب‌ها منتقل شد و مقداری از عصاره داخل میکروتیوب را در کووت اسپکتروفتومتر مدل Lambda EZ 201 ریخته و سپس به طور جداگانه در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a، ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و ۴۷۰ برای کاروتنوئیدها توسط اسپکتروفتومتر مقدار جذب قرائت گردید. برای نمونه شاهد هم از استون ۸۰ درصد استفاده شد. در نهایت با استفاده از رابطه‌های ۲،۱ و ۳ میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه‌ها محاسبه شد (Lichtenthaler & Bushmann, 2001).

می شود. علاوه بر پولگون، پارامنتا-۲-ان ۱- اول (۴/۲۱/۱)، ۱، ۸- سینئول (۳/۱۰/۱)، پارامنتا-۳،۸- دی ان (۷/۳/۱)، بتا-پینن (۶/۱/۱)، سیس- ایزوپولگون (۵/۱/۱) و بورنیل استات (۲/۱/۱) سایر ترکیبات عمده اسانس این گیاه را تشکیل می دهند (Sajjadi et al., 2003). عصاره کاکوتی کوهی فعالیت ضد توموری دارد (Chachoyan & Oganessian, 1991). همچنین از این گیاه برای درمان ناراحتی‌های قلبی، فشار خون بالا، برونشیت، تپش قلب غیر طبیعی، آسم و آبسه ریه‌ها استفاده می‌شود (Tian et al., 2011).

با توجه به محدودیت منابع آبی، پژوهش حاضر در ارتباط با کاهش اثرات تنش کم آبی با کاربرد سالیسیلیک اسید روی گیاه دارویی کاکوتی کوهی صورت گرفته است و واکنش گیاه کاکوتی کوهی به شرایط مختلف تنش کم آبی و تعیین مقدار مناسب کاربرد سالیسیلیک اسید در این تحقیق مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۵ و در گلخانه تحقیقاتی گروه مهندسی علوم باغبانی و فضای سبز دانشگاه تهران واقع در کرج و به منظور بررسی اثر تنش کم آبی و سطوح مختلف سالیسیلیک اسید روی کاکوتی کوهی انجام شد. این آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو عامل تنش کم آبی در چهار سطح آبیاری پس از رسیدن آب گلدان به ۱۰۰ (شاهد)، ۷۵، ۵۰ و ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای (FC) خاک و محلول پاشی سالیسیلیک اسید در سه سطح صفر، نیم و یک میلی‌مولار در سه تکرار صورت گرفت. هر تکرار شامل سه گلدان بوده که در هر گلدان یک بوته کشت شد و در مجموع طرح شامل ۱۰۸ گیاه کاکوتی کوهی بود. بذرها کاکوتی کوهی جمع‌آوری شده از خراسان در ۲۰ اردیبهشت‌ماه در سینی **نشاء** و در بستری از کوکوپیت، پیت ماس و پرلیت به نسبت ۱:۱:۲ کاشته شد. نشاها بعد از سه ماه به گلدان‌هایی با قطر دهانه ۲۵ و طول ۳۰ سانتی‌متر که بطور مساوی با ۸ کیلوگرم از بستر کاشت شامل: خاک مزرعه، خاک‌برگ و ماسه به نسبت ۱:۱:۲ پر شده بودند، منتقل شدند. گیاهان پس از کاشت در گلدان و برای استقرار مناسب به مدت چهار ماه

دمای نمونه‌ها به دمای اتاق مجدداً هدایت الکتریکی ثانویه نمونه‌ها (EC_2) اندازه‌گیری و میزان نشت یونی (EL) با استفاده از رابطه ۵ محاسبه گردید (Sairam et al., 2001).

$$EL = [EC_1 / EC_2] \times 100 \quad (5)$$

فنل کل

برای استخراج عصاره برگ، جهت اندازه‌گیری فنل کل مقدار ۰/۱ گرم از برگ‌ها با استفاده از نیتروژن مایع در هاون چینی پودر شد و به میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری منتقل شد و یک میلی‌لیتر از محلول استخراج شامل ۸۵ درصد متانول و ۱۵ درصد استیک اسید اضافه شد. نمونه‌ها در rpm ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره به میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری منتقل شد (Bakhshi & Arakawa, 2006). ۷۵۰ میکرولیتر از محلول ۱۰ درصد فولین (۵ میلی‌لیتر فولین با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد) به عصاره اضافه شد و پس از ۵ دقیقه ۷۵۰ میکرولیتر کرنات سدیم ۷/۵ درصد (۷/۵ گرم کرنات سدیم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب حل شد) به عصاره اضافه شد. محلول به‌دست‌آمده به مدت یک ساعت در تاریکی در دمای اتاق نگه داری شد و بعد از آن میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Lambda EZ 201 در طول موج ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. میزان فنل کل از روی میزان جذب نمونه و مقایسه آن با منحنی استاندارد بر حسب میلی‌گرم اسید گالیگ در گرم وزن تر برگ بیان گردید (Singleton, 1965).

پروتئین

برای استخراج عصاره برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین ابتدا ۰/۱ گرم از برگ‌های پودر شده با ازت مایع در هاون به میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری منتقل شد و سپس یک میلی‌لیتر از بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (PH=۷/۸) به میکروتیوب اضافه شد. نمونه‌ها به مدت یک دقیقه ورتکس شدند. سپس با دستگاه سانتریفیوژ در rpm ۱۵۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و بعد از آن قسمت روشناور

$$Chl a = [(11/23 \times A_{663}) - (2/0.4 \times A_{645})] \quad (1)$$

$$Chl b = [(20/13 \times A_{645}) - (4/19 \times A_{663})] \quad (2)$$

$$Carotenoides = \quad (3)$$

$$[(1000 (A_{470}) - 1/90 (A_{663}) - 63/14 (A_{645})) \times 214]$$

محتوای رطوبت نسبی (RWC)

برای اندازه‌گیری محتوای رطوبت نسبی (RWC) آب از برگ‌های توسعه یافته ۷ تکه به مساحت ۰/۴ سانتی متر مربع تهیه و به‌سرعت وزن تازه (W_F) آنها تعیین گردید. سپس تکه‌های برگ در فالكون‌های ۵۰ میلی‌لیتری داخل آب مقطر در دمای اتاق و نور کم به مدت ۳ ساعت شناور شدند. پس از این مدت تکه‌های برگ از آب مقطر خارج و سطح آنها به آرامی توسط دستمال کاغذی خشک و به‌سرعت وزن تورژانس (W_T) آنها تعیین گردید. سپس تکه‌های برگ به مدت ۲۴ ساعت در داخل آون و در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و در نهایت وزن خشک (W_D) آنها مشخص گردید و با استفاده از رابطه ۴ محتوای نسبی آب برگ (Relative water content (RWC)) محاسبه گردید (Turner et al., 1980).

$$RWC = [(W_F - W_D) / (W_T - W_D)] \times 100 \quad (4)$$

نشت یونی (EL)

جهت اندازه‌گیری پایداری غشای سلولی ۵ تکه برگ به مساحت ۰/۴ سانتی‌متر مربع از هر تیمار در سطح تنش مورد نظر نمونه‌برداری شد و سپس تکه‌های برگ به داخل فالكون‌های ۵۰ میلی‌لیتری منتقل شدند و مقدار ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر دو بار تقطیر شده به فالكون‌ها اضافه گردید. نمونه‌ها بلافاصله پس از نمونه‌برداری برای اندازه‌گیری نشت یونی به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه فالكون‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد روی شیکر قرار داده شدند و بعد از ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی اولیه نمونه‌ها (EC_1) با استفاده از دستگاه هدایت سنج الکتریکی اندازه‌گیری شد. سپس فالكون‌های حاوی نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار یک اتمسفر اتوکلاو شدند و بعد از سرد شدن فالكون‌های حاوی نمونه‌ها، و رسیدن

نرم افزار SAS نسخه ۹/۳ و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد و رسم نمودارها و جدول‌ها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

با توجه به نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس در بررسی اثر متقابل تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید بر صفات وزن خشک بوته، برگ و ساقه و سطح برگ، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئیدها و عملکرد اسانس ($P \leq 0.01$) و فنل کل ($P \leq 0.05$) معنی‌دار شد. اثر ساده تنش کم‌آبی بر صفات ارتفاع بوته و نسبت وزن خشک برگ به وزن خشک ساقه معنی‌دار شد ولی بر روی صفات پروتئین برگ، محتوای رطوبت نسبی و نشت یونی معنی‌دار نشد. در حالی که اثر ساده محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید روی صفات ارتفاع بوته و نسبت وزن خشک برگ به وزن خشک ساقه، پروتئین برگ، محتوای رطوبت نسبی و نشت یونی معنی‌دار نشد (جدول‌های ۱ و ۲).

عصاره با سمپلر به داخل میکروتیوب‌های تازه منتقل گردید و از آن برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین نمونه‌ها استفاده شد. برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین نمونه‌ها پس از تهیه عصاره، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره در پلیت ریخته شد و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محلول برادفورد به پلیت اضافه گردید و پس از ۲۰ دقیقه میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Lambda EZ 201 در طول موج ۵۹۵ قرائت شد و با قرار دادن در منحنی استاندارد میزان پروتئین بر حسب میلی گرم در وزن تر محاسبه شد (Bradford, 1976). همچنین برای اندازه‌گیری عملکرد اسانس، نمونه‌های برگ در سایه خشک شد برای استخراج اسانس، برگ‌ها از ساقه جدا شد و مقدار ۱۰ گرم از هر نمونه برای اسانس‌گیری با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم وزن شد. نمونه‌ها به داخل بالن منتقل شد و مقدار ۱۵۰ سی‌سی آب مقطر به هر نمونه اضافه شد و عمل اسانس‌گیری با دستگاه کلونجر و به مدت سه ساعت انجام شد (Omidbaigi, 2005). آنالیز داده‌های آماری با استفاده از

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس اثر تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید بر صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی کاکوتی کوهی

Table 1. Results of variance analysis effect of water deficit stress and SA foliar application on some morphological and physiological traits of *Ziziphora clinopodioides* Lam.

Source of variation	df	Mean squares							
		Plant dry weight	Leaf dry weight	Stem dry weight	Leaf:stem	Plant height	Leaf area	RWC	EL
Block	2	0.236 ^{ns}	0.5573 ^{ns}	0.122 ^{ns}	0.149 [*]	41.401 [*]	2629452 ^{ns}	0.71 ^{ns}	0.15 ^{ns}
Water deficit stress (D)	3	152.027 ^{**}	26.29 ^{**}	13.3 ^{**}	0.231 ^{**}	69.914 ^{**}	10285372834 ^{**}	0.46 ^{ns}	0.18 ^{ns}
SA spraying (S)	2	5.53 [*]	0.78 ^{ns}	0.036 ^{ns}	0.0385 ^{ns}	15.69 ^{ns}	317853128 ^{**}	0.61 ^{ns}	0.51 ^{ns}
D×S	6	26.89 ^{**}	4.874 ^{**}	3.21 ^{**}	0.0104 ^{ns}	15.21 ^{ns}	2280953061 ^{**}	0.3 ^{ns}	0.51 ^{ns}
Error	22	1.52	0.277	0.189	0.026	8.069	494030301	36.59	6.89
CV (%)		13.6	12.2	10.9	15.2	9.2	3.4	9.6	15.8

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

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس اثر تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید بر برخی صفات بیوشیمیایی کاکوتی کوهی

Table 2. Results of variance analysis effect of water deficit stress and SA foliar application on some biochemical traits of *Ziziphora clinopodioides* Lam.

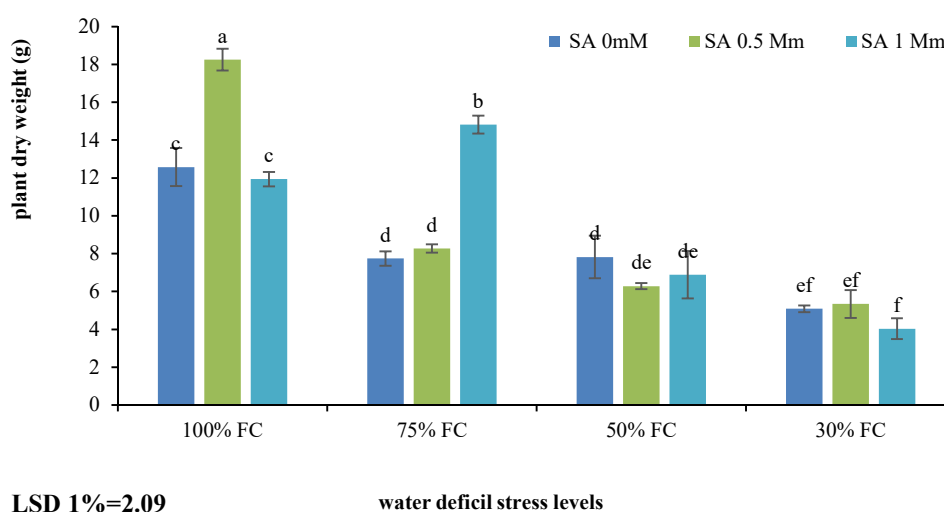
Source of variation	df	Mean squares						
		Chlorophyll a	Chlorophyll b	Total chlorophyll	Carotenoid	Phenol	Leaf protein	Essential oil yield
Block	2	1.062 ^{ns}	0.608 ^{ns}	0.000699 ^{ns}	0.352 ^{ns}	0.544 [*]	11.328 ^{ns}	0.000033 ^{ns}
Water deficit stress (D)	3	25.249 ^{**}	3.854 ^{**}	0.9599 ^{**}	2.578 ^{**}	2.528 ^{**}	174.617 ^{ns}	0.0042 ^{**}
SA spraying (S)	2	14.332 ^{**}	14.445 ^{**}	0.5319 ^{**}	4.023 ^{**}	0.3354 ^{ns}	9.941 ^{ns}	0.0004 ^{**}
D×S	6	18.671 ^{**}	11.041 ^{**}	1.1687 ^{**}	3.325 ^{**}	0.3579 [*]	23.429 ^{ns}	0.0007 ^{**}
Error	22	0.901	0.278	0.033	0.384	0.128	81.11	0.00002
CV (%)		5	7.8	4.4	9.2	8.1	9.7	14.6

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

وزن خشک بوته

نتایج نشان داد که در اثر تنش کم‌آبی وزن خشک بوته کاهش یافت. بیشترین وزن خشک بوته (۱۸/۲۵ گرم) در تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و با محلول پاشی نیم میلی‌مولار سالیسیلیک اسید حاصل شد و کمترین مقدار وزن خشک بوته (۴/۰۳ گرم) در تنش ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و با محلول پاشی یک میلی‌مولار به‌دست آمد (شکل ۱). در تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای، کاربرد سالیسیلیک اسید یک میلی‌مولار باعث افزایش وزن خشک بوته نگردید اما کاهش غلظت سالیسیلیک اسید به نیم میلی‌مولار باعث افزایش ۳۴ درصدی وزن خشک بوته شد. همچنین در تنش ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای کاربرد سالیسیلیک اسید یک میلی‌مولار باعث افزایش وزن خشک بوته نسبت به شاهد و محلول پاشی نیم میلی‌مولار شد. در تنش ۵۰ و ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای بین کاربرد هر دو غلظت سالیسیلیک اسید و بدون کاربرد سالیسیلیک اسید تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بخش عمده عناصر غذایی مورد نیاز گیاهان از خاک تأمین می‌شود و وجود رطوبت کافی در خاک جذب عناصر غذایی توسط ریشه را تسهیل می‌کند، بنابراین بین جذب مواد غذایی از خاک و میزان رطوبت خاک، رابطه وجود دارد (Kafi *et al.*, 2009).

(2009). به طور کلی کاهش میزان رطوبت خاک منجر به کاهش جذب عناصر و در نتیجه کاهش رشد برگ‌ها شده و در نتیجه وزن خشک گیاه کاهش پیدا می‌کند. سالیسیلیک اسید یک ترکیب فنلی است که در ریشه گیاهان به میزان کم تولید می‌شود (Raskin, 1992). استفاده از سالیسیلیک اسید باعث گسترش سیستم ریشه‌ای و جذب بیشتر آب و مواد غذایی شده که در نهایت منجر به تولید بیشتر برگ و افزایش سطح برگ می‌شود. نقش سالیسیلیک اسید در فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز نیز به اثبات رسیده است (Shankar *et al.*, 2001). این مسأله نشان‌دهنده تأثیر سالیسیلیک اسید در فرایند جذب نیتروژن می‌باشد. شاید این شبه هورمون با تأثیر بر فعالیت دیگر هورمون‌ها (IAA, CI-IAA) موجب افزایش فعالیت نیترات ردوکتاز در گیاهانی می‌شود که قادر به تثبیت نیتروژن نیستند و نیتروژن مورد نیاز خود را از خاک به شکل نیترات یا آمونیم جذب می‌کنند (Shankar *et al.*, 2001; Ahmad *et al.*, 2001). از آنجایی که سالیسیلیک اسید در جذب یون‌ها نقش دارد (Borsani *et al.*, 2001) به همین دلیل محلول پاشی با غلظت نیم میلی‌مولار در ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و یک میلی‌مولار در تنش ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای سبب افزایش وزن خشک در گیاهان محلول پاشی شده در مقایسه با گیاهان بدون محلول پاشی شده، گردید.



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبی و سالیسیلیک اسید بر وزن خشک بوته کاکوتی کوهی
Figure 1. Mean comparison interaction effect of water deficit stress and SA foliar application on plant dry weight of *Ziziphora clinopodioides* Lam.

وزن خشک برگ

فتوسنتزی حمایت کند (Popova et al., 2003). با افزایش شدت تنش کم‌آبی، وزن خشک برگ نسبت به شاهد کاهش نشان داد. یکی از علل اصلی کاهش وزن خشک گیاه در طول تنش، به تولید گونه‌های فعال اکسیژن مربوط می‌شود. علاوه بر این کاهش وزن خشک می‌تواند تحت تأثیر تخصیص بیشتر بیوماس تولیدی گیاه به سمت ریشه‌ها (Albouchi et al., 2003) و یا در اثر کاهش میزان کلروفیل یا بازدهی پایین فتوسنتز باشد (Viera et al., 1991)، به عبارت دیگر کمبود آب در گیاهان می‌تواند سبب اختلالات فیزیولوژیک مثل کاهش فتوسنتز و تنفس شود. یکی دیگر از علل کاهش وزن خشک، کاهش سطح برگ گیاه می‌باشد و این امر سبب کاهش تولید مواد فتوسنتزی می‌گردد و با کاهش تولید مواد فتوسنتزی وزن خشک برگ و در نهایت وزن خشک گیاه کاهش می‌یابد (Babae et al., 2010).

وزن خشک ساقه

نتایج نشان داد که وزن خشک ساقه نیز در اثر تنش کم‌آبی کاهش یافت. بیشترین وزن خشک ساقه در تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و با محلول پاشی نیم میلی‌مولار سالیسیلیک اسید (۶/۶ گرم) مشاهده شد (جدول ۳). در تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای، کاربرد سالیسیلیک اسید نیم میلی‌مولار باعث افزایش ۲۸ درصدی وزن خشک ساقه نسبت به شرایط بدون محلول پاشی شد.

نتایج حاصل از این پژوهش نشان‌دهنده کاهش وزن خشک برگ در اثر تنش کم‌آبی بود. بیشترین وزن خشک برگ در تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای با محلول پاشی نیم میلی‌مولار به میزان ۸/۰۱ گرم به دست آمد و کمترین میزان وزن خشک برگ در تیمار ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای با محلول پاشی یک میلی‌مولار سالیسیلیک اسید مشاهده شد (جدول ۳). در تنش ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای کاربرد هر دو غلظت سالیسیلیک اسید نه تنها وزن برگ را افزایش نداد بلکه باعث کاهش معنی‌دار وزن خشک برگ شد. در تنش ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای هم کاربرد هر دو غلظت سالیسیلیک اسید با گیاهان بدون محلول پاشی تفاوت معنی‌داری نداشت. سالیسیلیک اسید در جذب یون‌ها نقش دارد (Borsani et al., 2001). بنابراین محلول پاشی با غلظت نیم میلی‌مولار در شاهد و یک میلی‌مولار در ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای سبب افزایش وزن خشک گردید. کاربرد سالیسیلیک اسید با توجه به غلظت، زمان و گیاه مورد استفاده دارای اثرات دوگانه‌ای می‌باشد که می‌تواند باعث افزایش گونه‌های فعال اکسیژن و تخریب پروتئین‌های کلروپلاستی و پراکسیداسیون لیپیدهای غشاهای تیلاکوئیدی شده، در نتیجه سبب کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی گردد یا در غلظت‌های مناسب با کاهش تخریب رنگیزه کلروفیل (Belkhadi et al., 2010) افزایش توان آنتی اکسیدانی سلول و سنتز پروتئین‌های جدید از دستگاه

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبی و محلول پاشی سالیسیلیک اسید بر صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی کاکوتی کوهی

Table 3. Mean comparison interaction effect of water deficit stress and SA foliar application on morphological and biochemical traits of *Ziziphora clinopodioides* Lam.

Treatment	Leaf dry weight (g)	Stem dry weight (g)	Chlorophyll a (mg/g F.W)	Chlorophyll b (mg/g F.W)	Total chlorophyll (mg/g F.W)	Carotenoid (mg/g F.W)
100% FC + 0mM SA	5.56±0.232 ^c	5.147±0.167 ^c	18.779±0.080 ^{cd}	6.009±0.417 ^d	4.192±0.039 ^{cd}	6.56±0.32 ^{cd}
100% FC + 0.5mM SA	7.94±0.035 ^a	6.640±0.070 ^a	19.689±0.713 ^c	6.277±0.524 ^d	4.069±0.071 ^{cde}	6.53±0.71 ^{cd}
100% FC + 1mM SA	4.97±0.095 ^{cd}	4.577±0.043 ^{cd}	23.817±0.373 ^a	8.081±0.246 ^{bc}	5.162±0.171 ^a	8.33±0.14 ^a
75% FC + 0mM SA	4.01±0.018 ^{ef}	3.800±0.431 ^c	21.610±0.433 ^b	10.809±0.053 ^a	4.350±0.056 ^c	8.47±0.88 ^a
75% FC + 0.5mM SA	4.61±0.388 ^{de}	3.603±0.256 ^{cf}	16.122±0.981 ^c	4.935±0.271 ^c	3.683±0.115 ^{de}	5.64±0.33 ^{cd}
75% FC + 1mM SA	6.80±0.108 ^b	5.893±0.052 ^b	21.661±0.178 ^b	7.220±0.102 ^c	4.930±0.141 ^{ab}	7.78±0.67 ^{ab}
50% FC + 0mM SA	4.55±0.180 ^{de}	4.007±0.388 ^{de}	16.355±0.533 ^c	4.841±0.420 ^c	3.772±0.091 ^{ef}	5.70±0.24 ^{cd}
50% FC + 0.5mM SA	3.45±0.125 ^f	2.847±0.157 ^{gh}	17.356±0.741 ^{de}	5.410±0.113 ^{de}	3.817±0.117 ^{ef}	5.95±0.48 ^{cd}
50% FC + 1mM SA	3.42±0.664 ^f	3.430±0.235 ^{gh}	18.873±0.542 ^{cd}	8.247±0.295 ^b	3.976±0.091 ^{def}	7.15±0.66 ^{bc}
30% FC + 0mM SA	2.34±0.151 ^g	2.770±0.025 ^{gh}	16.157±0.246 ^c	4.909±0.220 ^c	3.442±0.083 ^{gh}	5.38±0.17 ^c
30% FC + 0.5mM SA	2.45±0.178 ^g	2.963±0.343 ^{gh}	19.841±0.769 ^c	6.233±0.549 ^d	4.713±0.028 ^b	7.20±0.48 ^{bc}
30% FC + 1mM SA	1.85±0.239 ^g	2.237±0.307 ^h	16.177±0.233 ^c	8.052±0.041 ^{bc}	3.337±0.115 ^h	6.41±0.51 ^{cd}

در هر ستون میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دار ندارند.

In each column means followed by at least a common letter, are not significantly different at 5% probability level.

ظرفیت مزرعه‌ای و تنش ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. گزارش شده است که با کاهش مقدار رطوبت خاک ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد و طول شاخه‌های جانبی، عملکرد ماده تر و خشک در گلدان و عملکرد اسانس گیاه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) کاهش یافت (Hassani, 2006). تنش کم‌آبی در آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) باعث کاهش ارتفاع بوته، تعداد ساقه جانبی و وزن خشک و وزن تر اندام رویشی شد (Babae et al., 2010). در گیاهان دارویی اسفرزه، بومادران، مریم‌گلی، همیشه بهار و بابونه با تشدید تنش کم‌آبی، وزن اندام‌های هوایی و ارتفاع بوته در همه گیاهان مورد مطالعه کاهش یافت (Lebaschy & Sharifi Ashoorabadi, 2004).

سطح برگ

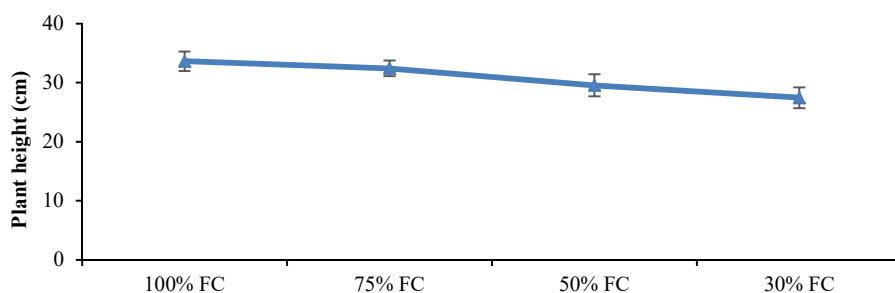
با افزایش شدت تنش کم‌آبی سطح برگ گیاه کاکوتی کاهش یافت. بیشترین میزان سطح برگ در تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و محلول پاشی نیم میلی‌مولار سالیسیلیک اسید بود و کمترین مقدار هم در تنش ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای با محلول پاشی یک میلی‌مولار سالیسیلیک اسید مشاهده شد (شکل ۴). محلول پاشی با سالیسیلیک اسید اثرات متفاوتی را روی سطح برگ گیاه داشت، به طوری که در تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای غلظت نیم میلی‌مولار سالیسیلیک اسید باعث افزایش سطح برگ شد، ولی افزایش غلظت به یک میلی‌مولار بطور معنی‌داری سطح برگ را کاهش داد.

در تنش ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای، غلظت یک میلی‌مولار سالیسیلیک اسید وزن خشک ساقه را به طور معنی‌داری نسبت به شرایط بدون محلول پاشی و محلول پاشی نیم میلی‌مولار افزایش داد. در تنش ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای کاربرد سطح نیم میلی‌مولار سالیسیلیک اسید باعث کاهش وزن خشک ساقه شد ولی با غلظت یک میلی‌مولار تفاوت معنی‌داری نداشت. در تنش ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای کاربرد هر دو غلظت سالیسیلیک اسید تغییر معنی‌داری در وزن خشک ایجاد نکرد. گزارش شده است که در گیاه دارویی گل راعی (*Hypericum polyanthemum*) در اثر تنش کم‌آبی وزن خشک ریشه، ساقه، برگ و سرشاخه کاهش یافت (Rasam et al., 2014).

ارتفاع بوته و نسبت وزن برگ به ساقه

تأثیر تنش کم‌آبی بر ارتفاع بوته معنی‌دار بود ولی محلول پاشی سالیسیلیک اسید تأثیری روی ارتفاع بوته نداشت. در اثر تنش کم‌آبی ارتفاع بوته کاهش یافت، ولی بین دو سطح تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و همچنین بین تنش ۵۰ درصد و ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۲).

نسبت وزن برگ به ساقه در اثر تنش کم‌آبی ۳۰ درصد کاهش یافت و کاربرد سالیسیلیک اسید تأثیری در نسبت وزن برگ به ساقه نداشت (شکل ۳). تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و تنش ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای تفاوت معنی‌داری با هم داشتند، ولی بین تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای، ۷۵ درصد

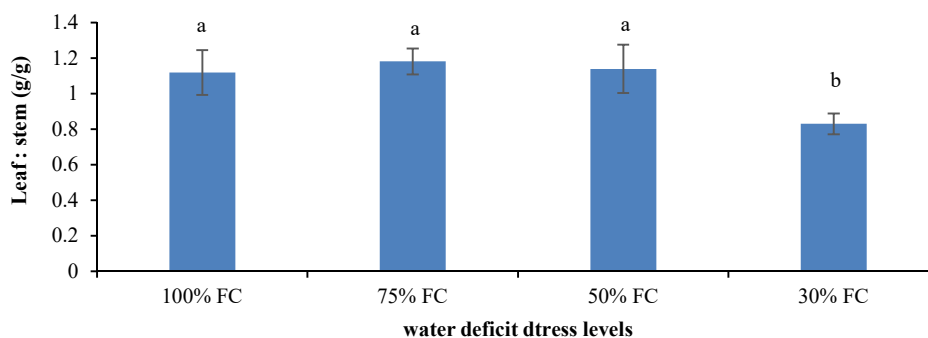


LSD 1% = 2.77

water deficit stress levels

شکل ۲. مقایسه میانگین اثر تنش کم‌آبی بر ارتفاع بوته کاکوتی کوهی

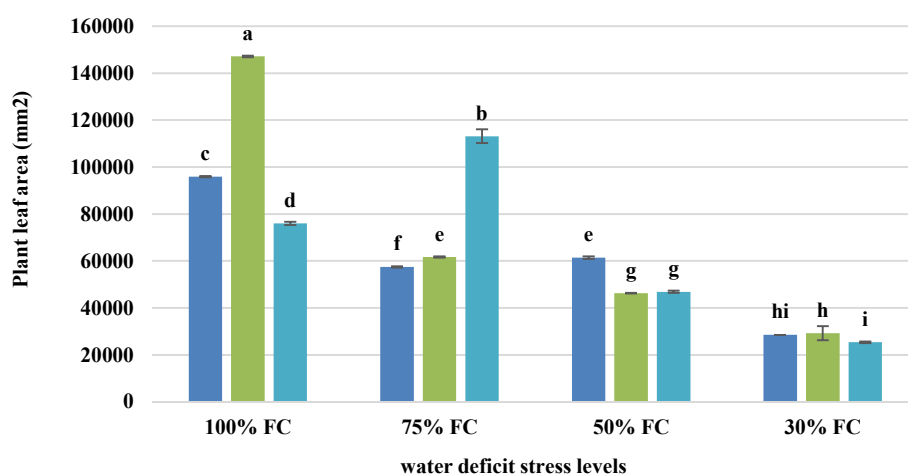
Figure 2. Mean comparison effect of water deficit stress on plant height of *Ziziphora clinopodioides* Lam.



LSD 1% = 0.158

شکل ۳. مقایسه میانگین اثر تنش کم آبی بر نسبت وزن خشک برگ به وزن خشک ساقه کاکوتی کوهی

Figure 3. Mean comparison effect of water deficit stress on leaf and stem dry weight ratio of *Ziziphora clinopodioides* Lam.



LSD 1% = 3763

■ SA 0mM ■ SA 0.5 mM ■ SA 1 mM

شکل ۴. مقایسه میانگین اثر متقابل تحت تنش کم آبی و محلول پاشی سالیسیلیک اسید بر سطح برگ کاکوتی کوهی
Figure 4. Mean comparison interaction effect of water deficit stress and SA foliar application on leaf area of *Ziziphora clinopodioides* Lam.

برگ گیاهان ریزش پیدا کرد. کاهش سطح برگ‌ها و تعداد برگ‌ها بیشتر به عنوان یک مکانیسم سازگاری برای کاهش اتلاف آب از برگ‌ها در شرایط تنش کم آبی در نظر گرفته می‌شود. بنابراین با کاهش سطح برگ، سطح تعرق گیاه نیز کاهش می‌یابد و این اولین مکانیسم گیاه برای مقابله با خشکی به حساب می‌آید. با کاهش سطح برگ، سطح جذب نور خورشید و به دنبال آن سطح فتوسنتزی گیاه کاهش یافته و در نهایت منجر به کاهش تولید ماده خشک و عملکرد گیاه می‌گردد (Shao *et al.*, 2008). نتایج تحقیقی نشان داد که سالیسیلیک اسید با افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو سبب بهبود فتوسنتز و افزایش سطح برگ

درحالی‌که در تنش ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای کاربرد هر دو غلظت سالیسیلیک اسید باعث افزایش معنی‌دار سطح برگ نسبت به شرایط بدون کاربرد سالیسیلیک اسید شد، ولی تأثیر غلظت یک میلی‌مولار در افزایش سطح برگ به طور قابل توجهی بیشتر از نیم میلی‌مولار بود. در تنش ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای کاربرد هر دو سطح سالیسیلیک اسید سبب کاهش معنی‌دار سطح برگ نسبت به شرایط بدون کاربرد سالیسیلیک اسید شد. در تنش ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای کاربرد سطح نیم میلی‌مولار باعث افزایش سطح برگ نسبت به سطح یک میلی‌مولار شد. در تنش ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای در اثر تنش کم آبی

کلروفیل b

بیشترین مقدار کلروفیل b در تنش ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و بدون کاربرد سالیسیلیک اسید بود. در تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای برخلاف سطح یک میلی‌مولار سالیسیلیک اسید که باعث افزایش کلروفیل b شد سطح نیم میلی‌مولار تغییری در میزان کلروفیل b ایجاد نکرد. در تنش ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای کاربرد هر دو سطح سالیسیلیک اسید نسبت به شرایط بدون کاربرد سالیسیلیک اسید باعث کاهش کلروفیل b شد و میزان کلروفیل b در سطح نیم میلی‌مولار کاهش بیشتری نسبت به سطح یک میلی‌مولار نشان داد. سطح نیم میلی‌مولار سالیسیلیک اسید در تنش ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای میزان کلروفیل b را افزایش داد هر چند که میزان افزایش کلروفیل b در سطح یک میلی‌مولار بیشتر از غلظت نیم میلی‌مولار سالیسیلیک اسید بود. کاهش میزان کلروفیل a و b در اثر تنش کم‌آبی، به‌علت افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن می‌باشد، که این رادیکال‌های آزاد باعث پراکسیداسیون (Wise & Naylor, 1989) و در نتیجه تجزیه این رنگیزه‌ها می‌گردند (Schutz & Fangmeir, 2001). گزارش شده است که در گیاه دارویی زوفا تنش کم‌آبی سبب کاهش غلظت کلروفیل a، b و کل شد (Rasam, et al., 2014).

کلروفیل کل

نتایج حاصل از پژوهش نشان‌دهنده کاهش کلروفیل کل در اثر تنش کم‌آبی می‌باشد. سنتز کلروفیل و پرولین از پیش ماده گلوتامات است و در شرایط تنش کم‌آبی میزان پرولین برگ افزایش پیدا می‌کند و شاید یکی از دلایل کاهش میزان کلروفیل، افزایش سنتز پرولین باشد (Rabiei, 2003). بیشترین مقدار کلروفیل کل در غلظت یک میلی‌مولار سالیسیلیک اسید در تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و تنش ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای بود. در تنش ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای کاربرد غلظت یک میلی‌مولار سالیسیلیک اسید مقدار کلروفیل کل را افزایش داد. تیمار گیاهان با سالیسیلیک اسید باعث افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی شد که احتمالاً به دلیل تأثیر سالیسیلیک اسید بر کاهش میزان تولید رادیکال‌های آزاد می‌باشد که در نتیجه از تخریب

می‌گردد (Gutierrez-Coronado et al., 1998). تنش کم‌آبی در ریحان نیز سبب کاهش مقدار سطح برگ، وزن خشک اندام هوایی و عملکرد ریحان (*Ocimum basilicum*) شد (Hassani et al., 2004).

رنگیزه‌های فتوسنتزی

کلروفیل a

بیشترین مقدار کلروفیل a در تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و محلول پاشی یک میلی‌مولار سالیسیلیک اسید مشاهده شد. در تنش ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای کاربرد سالیسیلیک اسید یک میلی‌مولار تغییری در مقدار کلروفیل a ایجاد نکرد در حالی که سطح نیم میلی‌مولار باعث کاهش ۲۵ درصدی کلروفیل a شد. در تنش ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای کاربرد غلظت یک میلی‌مولار سالیسیلیک اسید باعث افزایش میزان کلروفیل a نسبت به شرایط بدون کاربرد سالیسیلیک اسید شد ولی بین دو غلظت یک میلی‌مولار و نیم میلی‌مولار سالیسیلیک اسید تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. درحالی‌که در تنش ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای کاربرد غلظت نیم میلی‌مولار سالیسیلیک اسید باعث افزایش میزان کلروفیل a شد، ولی غلظت یک میلی‌مولار با تیمار بدون محلول پاشی تفاوت معنی‌داری نداشت. کلروفیل‌ها مهم‌ترین رنگدانه‌های جذب کننده نور در غشاهای تیلاکوئیدی می‌باشند. میزان کلروفیل در گیاهان یکی از فاکتورهای مهم در حفظ ظرفیت فتوسنتزی است (Jiang & Huang, 2001). بین میزان کلروفیل و عملکرد همبستگی مثبتی وجود دارد (Si-o-semarneh, 2003). تنش‌های محیطی از جمله خشکی، شوری، نوری، حرارتی و فلزات سنگین، باعث تخریب کلروفیل می‌شوند. در شرایط تنش فعالیت فتوسیستم II، آنزیم روبیسکو و سنتز ATP کاهش یافته و تشکیل گونه‌های اکسیژن آزاد در کلروپلاست‌ها افزایش می‌یابد (Lawlor & Cornic, 2002) که این افزایش گونه‌های آزاد اکسیژن می‌تواند باعث تخریب سامانه‌های فتوسنتزی، تخریب غشای سلولی و کلروپلاستی (Smirnoff, 1993) و کاهش مقدار رنگدانه‌های کلروفیل a و b (Iturbe-ormatxe et al., 1998) و در نتیجه کاهش توانایی فتوسنتز شود (Ort, 2001).

تحت تأثیر سالیسیلیک اسید نسبت به شاهد افزایش یافت (Naderi *et al.*, 2015). در گیاه دارویی بابونه (*Matricaria chamomilla* L.) در اثر تنش کم‌آبی میزان کلروفیل کاهش و کاروتنوئیدهای برگ افزایش یافت (Arazmjo *et al.*, 2010). به‌نظر می‌رسد که کاربرد سالیسیلیک اسید باعث افزایش توان آنتی‌اکسیدانی گیاه از جمله کاروتنوئیدها و کاهش تخریب کلروفیل شده است (Costa *et al.*, 2005).

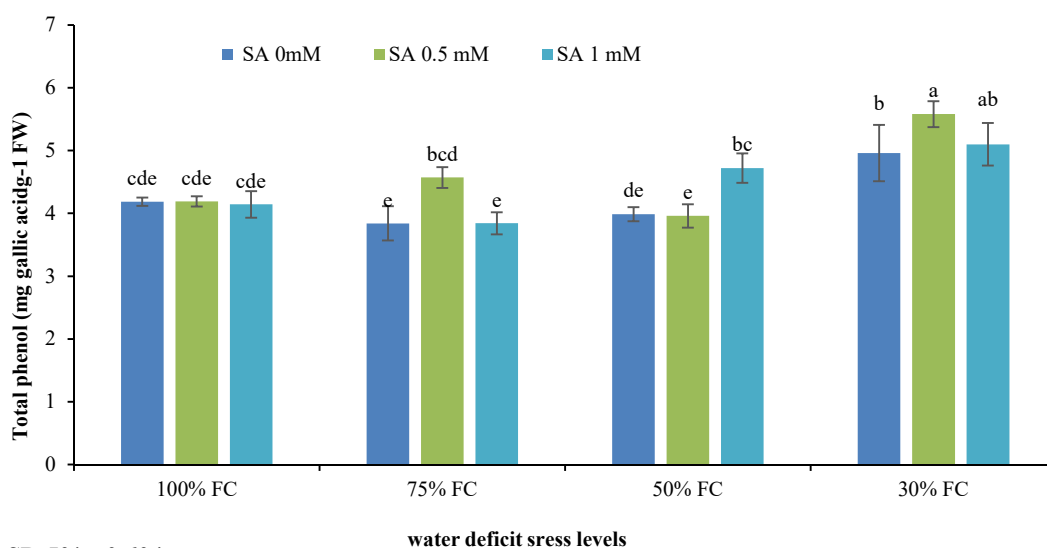
فنل کل

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که بیشترین میزان ترکیبات فنلی در تنش ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای با کاربرد غلظت نیم میلی‌مولار سالیسیلیک اسید و به میزان ۱۱ درصد بود (شکل ۵). عکس‌العمل گیاهان در افزایش مقدار فنل در اثر محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید متفاوت بود به‌طوری‌که در تنش ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای کاربرد نیم میلی‌مولار سالیسیلیک اسید باعث افزایش معنی‌دار فنل کل شد درحالی‌که در تنش ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای کاربرد نیم میلی‌مولار سالیسیلیک اسید باعث افزایش فنل شد و در تنش ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای کاربرد هر دو سطح سالیسیلیک اسید باعث افزایش فنل شد. ترکیبات فنلی نقش‌های فیزیولوژیکی و اکولوژیکی مهمی در مقاومت در برابر انواع مختلف استرس‌ها ایفا می‌کنند (Ayaz *et al.*, 2000) و بیوسنتز آن‌ها در گیاهان در واکنش به محرک‌های زیستی و غیرزیستی مانند اشعه UV - B، خشکسالی، سرما، فلزات سنگین و حمله پاتوژن‌ها یا کمبود مواد مغذی، ایجاد می‌شود (Popova *et al.*, 1997; Grace & Smirnov, 2005). یکی از راه‌های افزایش بیوسنتز ترکیبات فنلی در گیاهان قرار گرفتن گیاه تحت تنش‌های زیستی و غیرزیستی است. در واقع در اثر تنش‌های زیستی و غیرزیستی تولید و تجمع ترکیبات فنلی در بافت‌های گیاهی اتفاق می‌افتد (Dixon & Paiva, 1995). ترکیبات فنلی زمانی که فتوسنتز و متابولیسم هوازی در اثر تنش مختل شود تولید شده و از گیاهان در مقابل گونه‌های فعال اکسیژن محافظت می‌کنند (Sreenivasulu *et al.*, 2000).

کلروفیل جلوگیری می‌شود (Popova *et al.*, 1997). در تنش ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای کاربرد هر دو غلظت سالیسیلیک اسید تغییری در مقدار کلروفیل کل ایجاد نکرد. در تنش ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای نیز کاربرد غلظت نیم میلی‌مولار سالیسیلیک اسید مقدار کلروفیل کل را افزایش داد. سالیسیلیک اسید در گیاهانی که در معرض تنش‌های محیطی قرار دارند با انتقال مجموعه‌ای از پیام‌های متوالی منجر به بیان ژن‌ها و محافظت از گیاهان در برابر تنش‌های محیطی می‌گردد (Dat *et al.*, 1998). سالیسیلیک اسید باعث افزایش معنی‌دار سطح برگ و وزن خشک اندام‌های هوایی و مقدار کلروفیل کل در مقایسه با عدم مصرف آن در شرایط تنش کم‌آبی می‌گردد (Arvin *et al.*, 2011). در آزمایشی مشاهده شد که سالیسیلیک اسید در غلظت‌های پایین‌تر در کاهش اثرات تنش کم‌آبی نقش موثر دارد، ولی غلظت‌های بالای آن سبب بروز تنش در گیاه می‌گردد (Keshavarz *et al.*, 2012). گزارش شده است که در گیاه دارویی همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) تیمار گیاهان با سالیسیلیک اسید در شرایط تنش کم‌آبی سبب افزایش محتوای کلروفیل شد (Moradi & Goldani, 2011).

کاروتنوئید

مقدار کاروتنوئید هم تحت تأثیر تنش و محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید قرار گرفت به طوری که بیشترین میزان کاروتنوئید در تنش ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و بدون محلول‌پاشی و محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید یک میلی‌مولار و ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای با محلول‌پاشی یک میلی‌مولار سالیسیلیک اسید مشاهده شد. به غیر از تنش ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای، کاربرد سالیسیلیک اسید یک میلی‌مولار سبب افزایش کاروتنوئید نسبت به شرایط بدون محلول‌پاشی شد. غلظت نیم میلی‌مولار سالیسیلیک اسید نیز فقط در تنش ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای باعث افزایش کاروتنوئید شد. کاهش مقدار کاروتنوئیدها در شرایط تنش احتمالاً به علت تجزیه بتاکاروتن و تشکیل زآزانتین در چرخه زانتوفیل می‌باشد (Sultana *et al.*, 1999). گزارش شده است که در گیاه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) میزان رنگیزه‌های کلروفیلی و کاروتنوئید



LSD 5% = 0.604

water deficit stress levels

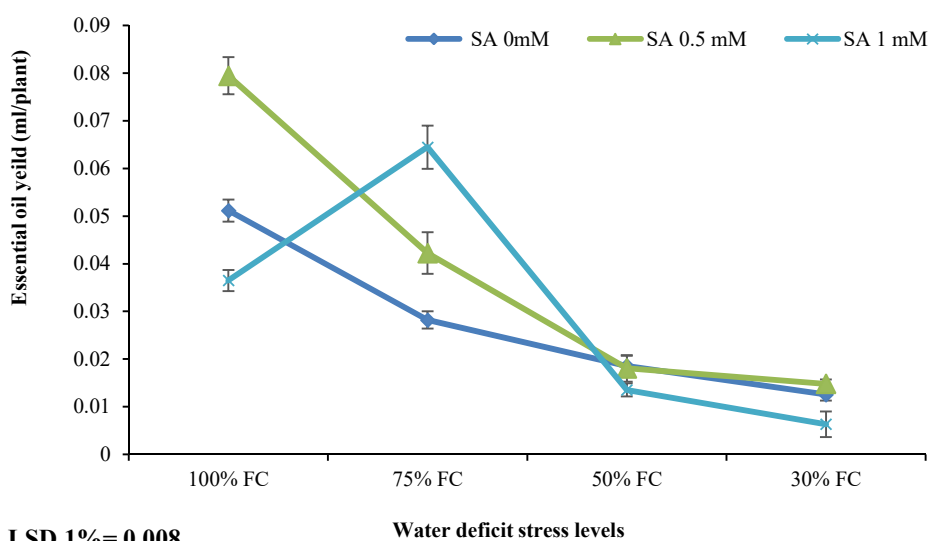
شکل ۵. مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبی و محلول پاشی سالیسیلیک اسید بر میزان فنل کل کاکوتی کوهی
Figure 5. Mean comparison interaction effect of water deficit stress and SA foliar application on total phenol of *Ziziphora clinopodioides* Lam.

عملکرد اسانس شد (شکل ۶). بیشترین عملکرد اسانس در تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرع‌ای و کاربرد سالیسیلیک اسید نیم میلی‌مولار مشاهده شد. در تنش ۷۵ درصد ظرفیت مزرع‌ای کاربرد هر دو غلظت سالیسیلیک اسید باعث افزایش عملکرد اسانس شد ولی غلظت یک میلی‌مولار سالیسیلیک اسید افزایش بیشتری در عملکرد اسانس نشان داد. در تنش ۵۰ درصد ظرفیت مزرع‌ای کاربرد هر دو غلظت سالیسیلیک اسید نسبت به شرایط بدون محلول پاشی تغییر معنی‌داری را در عملکرد اسانس ایجاد نکرد. در تیمار ۳۰ درصد ظرفیت مزرع‌ای نیز محلول پاشی با هر دو سطح سالیسیلیک اسید افزایش معنی‌داری در عملکرد اسانس ایجاد نکرد. در گیاهان سنتر اسانس تحت تأثیر عواملی چون مرحله رشدی گیاه، فتوسنتز، شرایط اقلیمی، روابط تغذیه‌ای، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و نیز تنش‌های محیطی چون خشکی، شوری و دما تغییر می‌کند (Werker et al., 1993). نتایج بسیاری از تحقیقات نشان‌دهنده افزایش چند برابری متابولیت‌های ثانویه تحت تنش‌های محیطی می‌باشد، اما برخی تحقیقات نیز نشان‌دهنده کاهش میزان متابولیت‌های ثانویه تحت شرایط تنش‌های محیطی است (Ramakrishna & Ravishankar, 2011).

سالیسیلیک اسید با افزایش فعالیت آنزیم Phenylalanine ammonia lyase (PAL) باعث افزایش تولید و تجمع ترکیبات فنلی می‌شود. سالیسیلیک اسید خود از ترکیبات فنلی در گیاهان است و نقش محوری در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی گیاهان ایفا می‌کند (Pierre et al., 2008). افزایش میزان ترکیبات فنلی تحت تأثیر سالیسیلیک اسید در گیاه مریم گلی (*Salvia miltiorrhiza*) نیز مشاهده شد (Dong et al., 2010). افزایش ترکیبات فنلی در اثر تنش کم‌آبی در گیاه دارویی زنیان (*Trachyspermum ammi*) (Azhar et al., 2011)، در گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea purpurea*) (Gray et al., 2003)، گل راعی (*Hypericum brasiliense*) (De Abreu et al., 2005) و درمنه (*Artemisia annua* L.) (Priyanka & Malik, 2017) نیز گزارش شده است.

عملکرد اسانس

نتایج حاصل از این پژوهش نشان‌دهنده کاهش عملکرد اسانس در اثر تنش کم‌آبی می‌باشد در حالی که کاربرد سالیسیلیک اسید نیم میلی‌مولار در ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرع‌ای باعث افزایش ۲۸ درصدی



شکل ۶. مقایسه میانگین اثر متقابل تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید بر عملکرد اسانس کاکوتی کوهی
Figure 6. Mean comparison interaction effect of water deficit stress and SA foliar application on essential oil yield of *Ziziphora clinopodioides* Lam.

Zehtab-) و انیسون (*annua*) (Chalchat *et al.*, 1994) و مرزه خوزستانی (*Satureja khuzistanica*) (Jamzad, 2001) و مرزه رشینگری (*S. Rechingeri*) (Jamzad, 2001) در اثر تنش کم‌آبی کاهش یافت (Nooshkam *et al.*, 2016). استفاده از سالیسیلیک اسید سبب بهبود رشد، عملکرد و مقدار اسانس در ریحان و مرزنجوش شد. سالیسیلیک اسید با افزایش عملکرد پیکره رویشی و درصد اسانس ریحان و مرزنجوش منجر به افزایش عملکرد اسانس دو گونه گردید (Fatima & Gharib, 2007). در گیاه دارویی آویشن دناپی (*Thymus daenensis*) محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید در شرایط تنش کم‌آبی باعث افزایش درصد و عملکرد اسانس شد (Ghasemi Pirbalouti *et al.*, 2014). استفاده از قارچ میکوریز قارچ‌ریشه در شرایط تنش کم‌آبی در بهبود عملکرد زیست توده و درصد روغن دانه گیاه دارویی گلاموس (*Glomus intraradices*) معنی‌دار گزارش شد (Rahimi *et al.*, 2018).

نتیجه‌گیری کلی

در این تحقیق اثر تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید روی صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفت. صفات مورد

رطوبت یکی از عوامل محیطی مؤثر در رشد و نمو و میزان مواد مؤثره گیاهان دارویی می‌باشد، به‌طوری‌که حتی یک تنش ملایم خشکی در گیاه می‌تواند با تأثیر بر روی فرایندهای کلیدی، رشد و نمو و عملکرد این محصولات را به طور قابل ملاحظه‌ای تحت تأثیر قرار دهد (Pirzad *et al.*, 2008) در شرایط محیطی گرم و خشک تشکیل و تجمع اسانس در گیاهان افزایش می‌یابد تا گیاه را در مقابل تنش آبی و آسیب‌های نور زیاد حفاظت کند (Horwath *et al.*, 2009) و از طرف دیگر در این شرایط با کاهش محتوای کلروفیل و سطح برگ، فتوسنتز نیز کاهش می‌یابد که ممکن است منجر به کاهش درصد اسانس شود و این یک توازن بین رشد و مکانیسم دفاعی است (Bettaieb *et al.*, 2009; Endalibi *et al.*, 2011). گزارش شده است که در ریحان با کاهش رطوبت خاک، عملکرد اسانس کاهش یافته ولی درصد اسانس افزایش یافت (Omidbaigi *et al.*, 2003). همچنین با افزایش فاصله آبیاری و کاربرد سیلیکات پتاسیم هر دو باعث افزایش میزان اسانس و فنل کل ریحان شد (Mohamadnia *et al.*, 2018). در گیاه دارویی درمنه محتوای آرتیمیزین در اثر تنش ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای کم‌آبی کاهش یافت (Priyanka & Malik, 2017). عملکرد اسانس در درمنه (*Artemisia*)

شد. میزان فنل کل هم در اثر تنش کم‌آبی افزایش یافت و به غیر از تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای، محلول پاشی سالیسیلیک اسید باعث افزایش فنل کل شد. عملکرد اسانس هم در اثر تنش کم‌آبی کاهش پیدا کرد اما در سطوح ۱۰۰ و ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای افزایش عملکرد اسانس در اثر محلول پاشی سالیسیلیک اسید مشاهده شد. با توجه به افزایش عملکرد اسانس و وزن خشک بوته و برگ در ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و محلول پاشی نیم میلی‌مولار سالیسیلیک اسید پیشنهاد می‌شود که برای داشتن بیشترین عملکرد اسانس آبیاری گیاه در حد ظرفیت مزرعه‌ای و محلول پاشی نیم میلی‌مولار سالیسیلیک اسید صورت بگیرد. با توجه به کاهش ۸ درصدی عملکرد اسانس و ۱۸ درصدی وزن خشک بوته و ۱۴ درصدی وزن خشک برگ در ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای، در مناطقی که با کمبود آب مواجه هستند کاربرد یک میلی‌مولار سالیسیلیک اسید می‌تواند با صرفه جویی در مصرف آب عملکرد اقتصادی مناسبی را به همراه داشته باشد.

مطالعه در این پژوهش مثل وزن خشک بوته، ساقه، برگ، سطح برگ، ارتفاع بوته، نسبت وزن برگ به ساقه در اثر تنش کم‌آبی کاهش یافت. ولی کاربرد سالیسیلیک اسید نیم میلی‌مولار در ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و یک میلی‌مولار در ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای صفات مورفولوژیکی مثل وزن خشک بوته، ساقه، برگ و سطح برگ را افزایش داد، به طوری که بیشترین وزن خشک بوته، ساقه و برگ در ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و با محلول پاشی نیم میلی‌مولار سالیسیلیک اسید مشاهده شد. در تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای غلظت نیم میلی‌مولار سالیسیلیک اسید باعث افزایش سطح برگ شد در حالی که در ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای کاربرد سالیسیلیک اسید یک میلی‌مولار سطح برگ را افزایش داد. در مورد رنگی‌های فتوسنتزی نیز در اثر تنش کم‌آبی میزان این رنگی‌ها کاهش پیدا کرد ولی با کاربرد سالیسیلیک اسید، افزایش رنگی‌ها در تمامی سطوح تنش به غیر از تنش ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای مشاهده

REFERENCES

- Ahmad, A., Hayat, S., Fariduddin, Q. & Ahmad, I. (2001). Photosynthetic efficiency of plants of *Brassica juncea* treated with chlorosubstituted auxins. *Photosynthetica*, 39, 565-568.
- Albouchi, A., Béjaoui, Z. & El Aouni, MH. (2003). Influence d'un stress hydrique modéré ou severe sur la croissance de jeunes plants de *Casuarina Glauca* Sieb. *Science et Changements Planetaires, Sechersesse*, 3, 137-142.
- Amani, R. (2017). Blue waters of my land's Nov/19 /2017. <http://wcm.moe.gov.ir>.
- Arazmjo, A., Heidari, M., Ghanbari, A., Siahsar, B. & Ahmadian, A. (2010). Effects of three types of fertilizers on essential oil, photosynthetic pigments. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 3(1), 23-33. (in Farsi)
- Arvin, M. J., Beidshki A., Kramt, B. & Maghsodi, K. (2011). The study salicylic acid (SA) role in contrast with drought stress by affecting on morphological and physiological parameters in garlic plant. In: *Proceeding of 7th Iranian Horticultural Science Congress*, 4-7 September Isfahan Industrial University, Iran. (in Farsi).
- Ayaz, F. A., Kadioglu, A. & Turgut, R. (2000). Water stress effects on the content of low molecular weight carbohydrates and phenolic acids in *Ctenanthe setosa* (Rosc.) Eichler. *Canadian Journal of Plant Science*, 80, 373-378.
- Azhar, N., Hussain, B., Ashraf, Y.M. & Abbasi, K.Y. (2011). Water stress mediated changes in growth, physiology and secondary metabolites of desi ajwain (*Trachyspermum ammi*). *Pakistan Journal of Botany*, 43, 15-19.
- Azimi, R., Heshmati, G. A. & Kia Kianian, M. (2018). Effects of drought stress and mycorrhiza on viability and vegetative growth characteristics of *Ziziphora clinopodioides* Lam. *Journal of Rangeland Science*, 8(3), 253-263.
- Babae, K., Amini Dehaghi, 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), 240-251. (in Farsi).
- Bakhshi, D. & Arakawa, O. (2006). Induction of phenolic compounds biosynthesis with light irradiation in the tesh of red and yellow apples. *Journal of Applied Horticulture*, 8(2), 101-104.
- Bartels, D. & Sunkar, R. (2005). Drought and salt tolerance in plants. *Critical Review in Plant Science*, 24, 23-58.

12. Belkhadi, A., Hediji, H., Abbes, Z., Nouairi, I., Barhoumi, Z., Zarrouk, M., Chaibi, W. & Djebali, W. (2010). Effects of exogenous salicylic acid pretreatment on cadmium toxicity and leaf lipid content in *Linum usitatissimum* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(5), 1004-1011.
13. Borsani, O., Valpuesta, V. & Botella, A. M. (2001). Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in Arabidopsis seedlings. *Plant Physiology*, 126, 1024-1030.
14. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
15. Chalchat, J. C., Garry, R. P. & Lamy, J. (1994). Influence of harvest time on yield and composition of *Artemisia annua* oil produced in France. *Journal of Essential Oil Research*, 6(3), 261-268.
16. Chachoyan, A.A. & Oganessian, G.B. (1991). Antitumor activity of some spices of the family Lamiaceae. *Rastitelnye Resursy*, 32(4), 59-64.
17. Chatterjee, S. K. (2002). Cultivation of medicinal and aromatic plants in India, a commercial approach. *Acta Horticulturae* 576, 191-202.
18. Costa, M., Civell, P. M., Chaves, A. R. & Martinez, G. A. (2005). Effects of ethephon and 6-benzylaminopurine on chlorophyll degrading enzymes and a peroxidase-linked chlorophyll bleaching during post-harvest senescence of modulated protein phosphatase. *Plant Science*, 264, 1448-1452.
19. Dat, J. F., Foyer, C. H. & Scott, I. M. (1998). Changes in salicylic acid and antioxidants during induced thermotolerance in mustard seedlings. *Plant Physiology*, 118, 1455-1461.
20. De Abreu, I.N. & Mazzafera, P. (2005). Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy. *Plant Physiology Biochemistry*, 43, 241-248.
21. Dong, J., Wan, G. & Liang, Z. (2010). Accumulation of salicylic acid-induced phenolic compounds and raised activities of secondary metabolic and antioxidative enzyme in *Salvia miltiorrhiza* cell culture. *Biotechnology*, 148(2-3), 99-104.
22. Dixon, R.A. & Paiva, N.L. (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell*, 7, 1085-1097.
23. Faraji-mehmani, A., Esmailpour, B., Sefikon, F. & Khorramdel, S. (2016). Effects of foliar spraying with salicylic acid and putrescine on growth characteristics and yield of summer savory (*Satureja hortensis* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research*, 14(1), 73-85. (in Farsi).
24. Fatma, A. E. & Gharib, L. (2007). Effect of salicylic acid on the growth, metabolic activities and oil content of basil and majoram. *International Journal of Agriculture and Biology*, 4, 485-492.
25. Ghasemi Pirbalouti, A., Rahmani Samani, M., Hashemi, M. & Zeinali, H. (2014). Salicylic acid affects growth, essential oil and chemical compositions of thyme (*Thymus daenensis* Celak.) under reduced irrigation. *Plant Growth Regulation*, 72, 289-301.
26. Gorgini Shabankareh, H., Saedi, F., Sabouri, F. & Asgharipour, M. R. (2015). Effect of drought stress on growth indices, relative water content and essential oil percentage in pepper mint (*Mentha piperita* L.). In proceeding of 1st National Conference on Herbs and Herbal Medicine. May 28, Iran. (in Farsi)
27. Grace, S. & Smirnoff, N. (2005). *Antioxidants and reactive oxygen species in plants. Phenolics as antioxidants*, Blackwell, Oxford, pp. 141-168.
28. Gray, D. E., Pallardy, S. G., Garrett, H. E., & Rottinghaus, G. E. (2003). Acute drought stress and plant age effects on alkalamide and phenolic acid content in purple coneflower roots. *Planta Medica*, 69(01), 50-55.
29. Gutierrez-Coronado, M., Trejo, C.L. & Larque-Saavedra, A. (1998). Effects of salicylic acid on the growth of roots and shoots in soybean. *Plant Physiology Biochemistry*, 36, 563-565.
30. Hassani, A., Omidbaigi, R. & Heidari Sharif Abad, H. (2004). Study of some drought resistance indices in basil (*Ocimum basilicum*). *Journal of Agricultural Science Natural Resources*, 10, 65-74. (in Farsi).
31. Hassani, A. (2006). Effect of water deficit stress on growth, yield and essential oil content of *Dracocephalum moldavica* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 22(3), 256-261. (in Farsi)
32. Hayat, S. & Ahmad, A. (2007). *Salicylic acid - A Plant hormone*. Springer 410 pp.
33. Horwath, B., Renee, J. G., Michael Keith, D. & Monique, S. J. (2008). Chemical characterization of wild populations of *Thymus* from different climatic regions in southeast Spain. *Biochemical Systematic and Ecology*, 36, 117-133.
34. Hussein, M.M., Balbaa, L.K. & Gaballah, M.S. (2007). Salicylic acid and salinity effects on growth of maize plants. *Research Journal of Agricultural Biological Science*, 3, 321-328.
35. Iturbe-ormatxe, I., Escuredo, P.R., Arrese-Igor, C. & Becana, M. (1998). Oxidative damage in pea plant exposed to water deficit or paraquat. *Journal of Plant Physiology*, 116, 173-181.
36. Rahimi, A., Jahanbin, S., Salehi, A., & Farajee, H. (2018). The effect of mycorrhiza on yield, oil content and water use efficiency of medicinal plant of borage (*Borago officinalis* L.) under water

- stress. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 49(2), 407-415. (in Farsi)
37. Jamzad, Z. (2009). *Thymus* and *Saureja* species of Iran. Publishing of Research Institute of Forests and Rangelands, 171 pp. (in Farsi)
 38. Jiang, Y. & Huang, N. (2001). Drough and heat stress injury to two cool-season turf grasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidase. *Crop Science*, 41, 436-442.
 39. Kafi, M., Borzuyi, A., Salehi, M., Kmandi, A., Masumi, A. & Nabati, J. (2009). *Physiology of environmental stresses in plants*. Mashhad University Press. (in Farsi)
 40. Keshavarz, H., Modarres Sanavi, S. A. M., Zarin Kamr, F., Dolatabadian, A., Panahi, M. & Sadaj Asilan, K. (2012). Evolution effect salicylic acid foliar on same traits biochemical two *Brasica napus* L. under cool stress. *Iranian Journal of Agricultural Science*, 42, 723-734. (in Farsi)
 41. Koochaki, A., Nassiri-Mahallati, M. & Azizi, G. (2005). The effects of water stress and defoliation on some of quantitative traits of *Zataria multiflora*, *Ziziphora clinopodioides*, *Thymus vulgaris* and *Teucrium polium*. *Iranian Crop Research*, 2(1), 89-106. (in Farsi)
 42. Lawlor, D. W. & Cornic, G. (2002). Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant Cell Environment*, 25, 275-294.
 43. Lebaschy, M.H. & Sharifi Ashoorabadi, A. (2004). Growth indices of some medicinal plant under different water stresses. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plant Research*, 20(3), 249-261. (in Farsi)
 44. Lichtenthaler, H. K., & Buschmann, C. (2001). Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 1(1), F4-3.
 45. Mizanzadeh, H. & Imam, Y. (2010). Investigation of indices of leaf area, height, photosynthetic rate, stomatal conductance of four species of wheat under the drought tension. *Ecophysiology of Agricultural Plants*, 2(2), 111-121. (in Farsi)
 46. Mohamadnia, R., Nejad, A. R., & Bahraminejad, S. (2018). *Ocimum basilicum* L. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 49(1), 37-45. (in Farsi)
 47. Moradi Marjaneh, E. & Goldani, M. (2011). Evaluation of different levels of salicylic acid on some indices of numerical index of (*Calendula officinalis* L.) under water deficit condition. *Journal of Environmental Stress in Applied Sciences*, 4(1), 33-45. (in Farsi)
 48. Mozaffarian, V. (2015). *Medicinal and aromatic plants of Iran*. Farhange Moaser Press. 1444 p. (in Farsi)
 49. Naderi, S., Khajeh, H. & Ahmadi, H. (2015) The effect of salicylic acid on some physiological traits of (*Coriandrum sativum* L.). *Journal of Eco-physiology of Agricultural Plants*, 7(4), 287-305. (in Farsi).
 50. Nooshkam, A., Majnoun hoseini, N., Hadian, J., Jahansooz, M. R., Khavazi, K., Salehnia, A. & Hedayatpour, S. (2016). The effect of irrigation intervals on quantitative and qualitative yields of two savory species (*Satureja khuzestanica* and *S. rechingeri*). *Journal of Plant Productions (Agronomy, Breeding and Horticulture)*, 39, 11-20. (in Farsi)
 51. Omidbaigi, R., Hassani, A. & Sefidkon, F. (2003). Essential oil content and composition of sweet basil (*Ocimum basilicum*) at different irrigation regimes. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 6, 104-108.
 52. Omidbaigi, R. (2005). *Production and processing of medicinal plants*. Second Volume, Astan Quds Razavi Press. 242-244. (in Farsi)
 53. Ort, D. R. (2001). When there is too much light. *Plant Physiology*, 125, 29-32.
 54. Pierre, C. S., Petersona, J., Rossa, A., Ohma, J., Verhoerena, M., Larsona, M. & Hoefera, B. (2008). White wheat grain quality changes with genotype, nitrogen fertilization, and water stress. *Agronomy Science*, 100, 414-420.
 55. Priyanka, S. & Malik, Z. A. (2017). Water deficit-induced oxidative stress affects artemisinin content and expression of proline metabolic genes in *Artemisia annua* L. *FEBS Open Bio*, 7, 367-381.
 56. Pirzad, A., Aliari, H., Shakiba, M., Salmasi, S. & Mohammadi, S. A. (2008). Effects of irrigation and plant density on water use efficiency on essential oil production in German chamomile. *Journal of Agricultural Science*, 18(2), 49-58. (in Farsi)
 57. Popova, L., Ananieva, V., Hristova, V., Christov, K., Geovgieva, K., Alexieva, V. & Stoinova, Z. (2003). Salicylic acid and methyl jasmonate induced protection on photosynthesis to paraquat oxidative stress. *Bulgarian Journal of Plant Physiology (Special issue)*. 133-152.
 58. Ramakrishna, A., & Ravishankar, G. A. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling and Behavior*, 6, 1720-1731.
 59. Rabiei, V. (2003). *Physiological and morphological reactions of some grape varieties to drought stress*. Ph.D. Thesis in Horticulture. University of Tehran, 125 p. (in Farsi).
 60. Rasam, G. H., Dadkhah, A. & Khoshnod-yazdy, A. (2014). Assessing the impact of water shortages on morphological and physiological characteristics of medicinal plants hyssop. *Journal of Agriculture*, 10, 1-12.
 61. Raskin, K. (1992). Role of salicylic acid in plants. Annual review plant physiology. *Plant Molecular Biology*, 43, 439-463.

62. Sairam, R. K., Chandrasekhar, V. & Srivastava, G. C. (2001). Comparison of hexaploid and tetraploid wheat cultivars in their responses to water stress. *Biologia Plantarum*, 44(1), 89-94.
63. Sajjadi, S. E., Gasemi dehcordi, N. & Baluchi, M. (2003). Study on the essential oils of *Ziziphira clinopodes* Lam. *Research and Development*, 16(1), 97-100. (in Farsi)
64. Schutz, M. & Fangmeir, E. (2001). Growth and yield responses of spring wheat (*triticum aestivum* L. cv. Minaret) to elevated CO₂ and water limitation. *Environmental Pollution*, 114, 187-194.
65. Shankar, N. K., Khan, S. R. & Srivastava, H. S. (2001). The response of nitrate reductase activity and nitrate assimilation in mize roots to growth regulators at acidic pH. *Bio Plant*, 44, 599-601.
66. Shao, H. B., Chu, L. Y., Jaleel, C. A. & Zhao, C. X. (2008). Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. *Current Research in Biologies*, 331(3), 215-225.
67. Singleton, V. L. & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphor molybdic-phospho tungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
68. Si-o-semar deh, A. (2003). *Physiological of growth and yield of wheat cultivar related to drought resistance ATP synthesis*. Ph.D. Thesis, University of Tehran, Iran. (in Farsi)
69. Smirnov, N. (1993). The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytology*, 125, 27-58.
70. Sreenivasulu, N., Grimm, B., Wobus, U. & Weschke, W. (2000). Differential response of antioxidant compounds to salinity stress in salttolerant and salt sensitive seedlings of foxtail millet (*Setaria italica*). *Physiology Plant*, 109, 435-442.
71. Sultana, N., Ikeda, T. & Itoh, R., (1999). Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. *Environmental and Experimental Botany*, 42(3), 211-220.
72. Tian, S., Shi, Y., Zhou, X., Ge, L. & Upur, H. (2011). Total polyphenolic (flavonoids) content and antioxidant capacity of different *Ziziphora clinopodioides* Lam. extracts. *Pharmacognosy Magazine*, 7(25), 65-68.
73. Turner, N. C. (1981). Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. *Plant and Soil*, 58(1-3), 339-366.
74. Viera, H. J., Bergamaschi, H., Angelocci, L. R. & Libardi, P.L. (1991). Performance of two bean cultivars under two water availability regimes. II. Stomata resistance to vapour diffusion, transpiration flux density and water potential in the plant (in Portugal). *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 9, 1035-1040.
75. Wise, R. R. & Naylor, A.W. (1989). Chillingenhanced peoxidative photo-oxidation the destruction of lipids during chilling injury to photosynthesis and ultrasructure. *Plant Physiology*, 83, 278-282.
76. Werker, E., Putievsky, E., Ravid, U., Dudai, N. & Katzir, I. (1993). Glandular hairs and essential oil in developing leaves of *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). *Annals of Botany*, 71, 43-50.
77. Zehtab-Salmasi, S., Javanshir, A., Omidbaigi, R., Alyari, H. & Ghassemi-Golezani, K. (2001). Effects of water supply and sowing date on performance and essential oil production of anise (*Pimpinella anisum* L.). *Acta Agronomica Hungaricae*, 49(1), 75-81.