

## پاسخ آویشن باغی (*Thymus vulgaris L.*) به کروناتین، متیل جاسمونات و سیکلودکسترین در سطوح مختلف تأمین رطوبت در شرایط گلخانه

عبدالکریم نگاری<sup>۱</sup>، مجید جامی الاحمدی<sup>۲\*</sup> و غلامرضا زمانی<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی دکتری گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران؛ مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران

۲- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران؛ گروه پژوهشی گیاه و تنش‌های محیطی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران، پست الکترونیک: [mjamialahmadi@birjand.ac.ir](mailto:mjamialahmadi@birjand.ac.ir)

۳- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران؛ گروه پژوهشی گیاه و تنش‌های محیطی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

تاریخ پذیرش: آبان ۱۴۰۰

تاریخ اصلاح نهایی: آبان ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: مرداد ۱۴۰۰

### چکیده

گیاهان دارویی یک منبع غنی و ارزشمند از متابولیت‌های ثانویه هستند که به شدت تحت تأثیر عوامل محیطی به‌ویژه تنش خشکی قرار می‌گیرند. در این راستا، آزمایشی به‌صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار روی گیاه آویشن باغی (*Thymus vulgaris L.*) در گلخانه اجرا شد. فاکتور اصلی شامل سه سطح تأمین رطوبت (۴۰، ۶۵ و ۹۰ درصد ظرفیت زراعی خاک گلدان) و فاکتور فرعی سطوح الیسیتوری شامل (۱) شاهد: عدم کاربرد الیسیتور، (۲) ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکسترین، (۳) ۷۵ نانومولار کروناتین + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکسترین، (۴) ۱۵۰ نانومولار کروناتین + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکسترین، (۵) ۱۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکسترین و (۶) ۳۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکسترین بودند. بجز درصد اسانس، بقیه صفات شامل محتوای پرولین برگ، نشأت الکترولیت‌ها، محتوای نسبی آب، ارتفاع گیاه، قطر تاج پوشش، وزن تر و خشک سرشاخه، وزن خشک برگ و ساقه و وزن اسانس همبستگی بسیار معنی‌داری با یکدیگر داشتند. بیشترین میزان پرولین برگ از برهم‌کنش الیسیتورها (سطوح ۴ و ۶) و سطح تأمین رطوبت ۴۰٪ ظرفیت زراعی (به ترتیب ۳/۸۸ و ۳/۹۴ میکرومول بر گرم وزن تازه برگ) بدست آمد. بیشترین مقدار برای ارتفاع گیاه (۲۸/۳ سانتی‌متر)، قطر تاج پوشش (۱۷ سانتی‌متر) و محتوای نسبی آب (۷۹٪) در سطح تأمین رطوبت ۹۰٪ ظرفیت زراعی مشاهده شد. بالاترین درصد اسانس در تیمار عدم کاربرد الیسیتور (۲/۶۷٪) و بالاترین وزن اسانس در بوته (۰/۰۹۲ گرم در بوته) در تیمار عدم کاربرد الیسیتور در سطح تأمین رطوبت ۶۵٪ ظرفیت زراعی بدست آمد. تنش ملاهم باعث افزایش عملکرد اسانس و تیمارهای الیسیتوری باعث کاهش عملکرد اسانس شدند.

واژه‌های کلیدی: اسانس، تنش، گیاهان دارویی، متابولیت‌های ثانویه، هورمون‌های گیاهی.

هستند که در طول قرون متمادی، منابع ناتمام برای کشف داروهای جدید و پیشرفته بوده‌اند (Omidbagi, 1995)؛

### مقدمه

گیاهان دارویی حاوی متابولیت‌های ثانویه یا مواد مؤثره‌ای

سرزمین ماست (Kafi *et al.*, 2014). این تنش با مدیریت صحیح می‌تواند به تولید مواد فعال گیاهی بینجامد. گیاهان معطر غنی از اسانس، در مناطق خشک نسبت به مناطق مرطوب از فراوانی بیشتری برخوردارند (Atal & Kapur, 1982). هورمون‌ها در سازگاری گیاه به تنش محیطی به صورت هم‌افزایی یا باهم‌ستیزانه نقش کلیدی خود را ایفاء می‌کنند (Moradi, 2016). افزایش شدت تنش خشکی، کاهش ارتفاع بوته، تعداد ساقه جانبی، وزن تر و خشک اندام رویشی و ریشه و افزایش پرولین و درصد تیمول آویشن باغی را در پی داشته است (Babaie *et al.*, 2010). تغییرات محیطی می‌تواند سبب تغییرات متابولیکی شده که کاهش اثرهای تنش را در پی خواهد داشت (Taiz *et al.*, 2015). اثر تنش کمبود آب بر شاخص‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه زینان (*Trachyspermum ammi*) نشان داده است که با افزایش شدت تنش کم‌آبی عملکرد کمی کاهش اما عملکرد اسانس و درصد اسانس در ۷۰٪ ظرفیت زراعی (تنش متوسط) افزایش یافته است (Razavizadeh *et al.*, 2014).

تولید متابولیت‌های ثانویه اغلب کم بوده (کمتر از ۱٪ وزن خشک گیاه) و عمدتاً به مراحل تکوین و فیزیولوژیک گیاه بستگی دارد (Oksman-Caldentey & Inze, 2004). تحریک گیاهان یکی از مؤثرترین تکنیک‌های جدید مورد استفاده برای بهبود تولید متابولیت‌های ثانویه است. الیستورها ترکیب‌هایی هستند که باعث تحریک سیستم دفاعی کلیه گیاهان و تشدید ساخت متابولیت‌های ثانویه برای حفاظت سلول و تمام اندام گیاه می‌شوند (Klarzynski & Friting, 2001). غلظت و زمان انکوباسیون الیستورها برای استخراج حداکثر ماده مؤثره متفاوت بوده و تعیین آن به آزمایش‌های مختلف نیاز دارد (Bonfante, 2009).

کرونا تین (Coronatine) یک توکسین (Toxin) ساخته شده توسط پاتوژن *Pseudomonas syringae* است. این ترکیب اخیراً به دلیل قابلیت عمل در تنظیم رشد و تحریک متابولیت‌های ثانویه، بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Onrubia, 2012). کرونا تین فیتوتوکسینی است که عملکردی مشابه هورمون گیاهی فعال

از جنس آویشن (*Thymus*) (Prasanth Reddy *et al.*, 2014). دارای بیش از ۲۱۵ گونه در خانواده نعناعیان (Lamiaceae)، در ایران شناسایی شده است (Jamzad, 2009). گونه‌های متعدد آویشن از نظر نوع ترکیب‌های شیمیایی (کمیت و کیفیت مواد مؤثره) بسیار متفاوت هستند (Hornok, 1988؛ Sefidkon & Askari, 2002).

آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) گیاهی چندساله، بوته‌ای، پوششی، نیمه همیشه سبز (Prasanth Reddy *et al.*, 2014) و بومی منطقه اروپا و مدیترانه بوده و از قدرت سازگاری محیطی گسترده‌ای برخوردار است (Stahl- (Biskup & Sáez, 2002). آویشن باغی همه ساله در سطوح وسیعی در کشورهای اسپانیا، آلمان، فرانسه، پرتغال، آمریکا، چک، مجارستان و شمال آفریقا (Rey, 1995) و هم‌اکنون در بیشتر استانهای ایران کشت می‌شود.

گونه‌های مختلف آویشن طیف وسیعی از خواص درمانی شامل: ضد رماتیسم، ضد اسپاسم، کمک به نارسایی‌های قلبی، دیورتیک (ادرار آور) و خلط‌آور است و در تقویت سامانه ایمنی بدن و کمک به درمان سرماخوردگی، آنفولانزا و بیماری‌های عفونی مفید می‌باشد (Nikolic *et al.*, 2014). در اسانس آویشن باغی حدود ۴۰ ترکیب شناسایی شده است که عمده‌ترین آنها تیمول، کارواکرول، پارا-سیمن، گاما-ترینین و بتا-کاریوفیلین است (Asllani & Toska, 2003). به دلیل اینکه ترکیب‌های طبیعی (تیمول، کارواکرول، هسپریدین و تیموکینون) امکان اتصال به پروتئاز اصلی ویروس‌ها را دارند (Asif *et al.*, 2020) و از نظر ماهیت لیپوفیلی، اسانس‌ها می‌توانند به راحتی به غشاهای ویروسی نفوذ کرده و منجر به از هم پاشیدگی آن شوند (Wani *et al.*, 2020؛ Asif *et al.*, 2020)، بنابراین حدس زده می‌شود که آویشن باغی برای کاهش برخی از علائم بیماران مبتلا به بیماری ویروس کرونا ۲۰۱۹ (COVID-19) مفید باشد (Sardari *et al.*, 2021). براساس لیست سازمان غذا و داروی ایران حدود ۹۳ فرآورده طبیعی از آویشن باغی در کارخانجات تولید و به بازار عرضه می‌شود (Ministry of Health and Medical Education, 2021).

خشکی مهمترین تنش تأثیرگذار بر گیاهان زراعی در

۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار) و سالیسیلیک اسید (صفر، ۳ و ۶ میلی‌مولار) بر روی آویشن باغی باعث افزایش ارتفاع، وزن هزاردانه، تعداد شاخه جانبی، طول ریشه، عملکرد دانه و رنگیزه‌های فتوسنتزی، عملکرد بیولوژیک، وزن تر و خشک شاخساره و ریشه، محتوای پرولین، درصد اسانس، وزن اسانس و کاهش کربوهیدرات شده است (Ghaderi, 2015). در آزمایش دیگر تیمار اسید جاسمونیک (صفر، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر) باعث کاهش درصد اسانس و افزایش تیمول، کارواکرول و آنتی‌اکسیدان آویشن باغی شده است (Alavi-Samani et al., 2015).

هدف از این پژوهش، بررسی کارآیی الیستورها، شرایط مختلف رطوبتی و برهم‌کنش احتمالی آنها بر برخی صفات فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و عملکرد کمی و کیفی آویشن باغی در شرایط گلخانه بوده است.

## مواد و روش‌ها

### مشخصات و تیمارهای آزمایش

این آزمایش در سال زراعی ۹۸-۱۳۹۷ به صورت کرت خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه ایستگاه تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی واقع در پنج کیلومتری جنوب شرقی مشهد اجرا شد. تیمارهای آزمایش عبارت بودند از: سه سطح تأمین رطوبت (۴۰، ۶۵ و ۹۰ درصد ظرفیت زراعی خاک گلدان) در کرت‌های اصلی و ۶ سطح تیمار الیستوری که در کرت‌های فرعی قرار داشتند. سطوح تیمار الیستوری شامل ۱- شاهد بدون الیستور، ۲- ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکستین، ۳- ۷۵ نانومولار کرونتین + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکستین، ۴- ۱۵۰ نانومولار کرونتین + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکستین، ۵- ۱۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکستین و ۶- ۳۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکستین بود. درصد رطوبت نسبی گلخانه  $65 \pm 5$ ، ساعت روشنایی در اولین ماه انتقال به گلخانه ۱۰/۱۴ ساعت (روز/شب) بود. میزان روشنایی ورودی در ساعت ۱۳ و ۵۰ دقیقه

(JA-IIe) 7-iso-jasmonoyl-l-isoleucine (+) دارد که پاسخهای تنشی را تنظیم می‌کند (Littleton et al., 2016).

اسید جاسمونیک ترکیبی مشتق از اسید چرب لینوئیک اسید است که از مسیر اکتادکانوئید (Octadecanoid pathway) ساخته می‌شود. مهمترین نقش اسید جاسمونیک ممانعت از پیری و ریزش برگ (Rubio et al., 2009)، شرکت در پیام‌رسانی تنش اکسیداتیو گیاهان و حتی در پستانداران (Thoma et al., 2003) و تنظیم‌کننده پاسخ به تنش‌های زنده و غیرزنده است که با تولید فیتوالکسین‌ها و ترینوئیدها ایفای نقش می‌کند (Gomi, 2020).

سیکلودکستین‌ها (Cyclodextrins) یک خانواده از سیکل‌های ترکیبی اولیگوساکاریدها هستند. سیکلودکستین‌ها مولکول‌های حلقوی هستند که از اتصال ۶، ۷ یا ۸ مولکول گلوکز ساخته می‌شوند که به ترتیب  $\alpha$ ،  $\beta$  و  $\gamma$  سیکلودکستین نامیده و عامل کلات‌کنندگی مولکول‌های مفید بوده و دارای ساختار قفسه‌مانند شبکه‌ای هستند (Dell-Valle, 2003).

کرونتین معمولاً تولید متابولیت‌های ثانویه را در کشت سلولی در غلظت کمتر از متیل جاسمونات فعال می‌کند. بیشترین تولید تاکسان (Taxane) در کشت سلولی فندق (*Corylus avellana*) در غلظت یک میکرومولار کرونتین و ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات به ترتیب ۲۷ و ۳ برابر نسبت به شاهد بعد از ۱۴ روز گزارش شده است (Gallego et al., 2015). در مطالعه اثر سمیت اکسید روی بر روی سویا (*Glycine max L.*) بیش تیمار کرونتین باعث افزایش طول ریشه، ساقه، محتوای کلروفیل، کاروتنوئید و آسکوربات شده است (Hashemi, 2016). کرونتین تحت تنش خشکی طولانی‌مدت در گیاهچه‌های ذرت به‌طور معنی‌داری فتوسنتز، تعرق و محافظت از رنگدانه‌های کلروفیل و نیز فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و گلوکاتایون رداکتاز را افزایش داده است (Wang et al., 2008). در کشت سلولی درخت سرخدار (*Taxus sp.*) متیل جاسمونات و سیکلودکستین به صورت هم‌افزایی، تاکسول بیوسنتزی را ۵۵ برابر نسبت به تیمار بدون الیستور افزایش داده است (Sabater-Jara et al., 2014). در آزمایشی در منطقه سد سیستان، تیمار با اسید جاسمونیک (صفر،

میانگین وزن رطوبت گلدان در طی دوره تنش در حد ۴۰، ۶۵ و ۹۰ درصد ظرفیت رطوبتی خاک گلدان ثابت نگه داشته شد. به طوری که در زمان آبیاری رطوبت گلدان به هر میزان پایین تر از سطح مورد نظر رسیده بود، مثلاً ۵٪ کاهش داشت به همان میزان آب بیشتری (۵٪ آب بیشتر) در اختیار گیاه قرار می‌گرفت تا میانگین سطح رطوبتی ثابت بماند. برای اجرای تیمار سطوح تأمین رطوبت، هر دو روز یک‌بار گلدان‌ها توزین و آب مورد نیاز اضافه شد.

تیمار محلول‌پاشی نوبت اول همزمان با آخرین آبیاری یکسان گلدان‌ها یعنی در شروع تیمار رطوبتی برای ساخت متابولیت‌های لازم و مقابله با تنش‌ها و یک نوبت در آخر فصل دو ماه بعد از محلول‌پاشی نوبت اول اجرا شد. برای این کار، ابتدا کالیبراسیون با آب معمولی انجام شد و میزان محلول مورد نیاز حتی برای فضای شاخ و برگ بیرون از گلدان محاسبه گردید، سپس کلیه گلدان‌های یک تیمار در کنار یکدیگر قرار گرفتند و براساس فضای اشغال شده هر تیمار محلول‌پاشی (۵۰ میلی‌لیتر در مترمربع) انجام شد.

در مورد آماده‌سازی محلول‌ها، ابتدا محلول استوک (مادر) کرونا تین (انحلال‌پذیری ۰/۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر آب)، متیل‌جاسمونات (انحلال‌پذیری ۳۴۰ میلی‌گرم در لیتر آب ۲۵ درجه سانتی‌گراد) و سیکلودکستین (انحلال‌پذیری ۱۸/۵ گرم در لیتر آب ۲۵ درجه سانتی‌گراد) تهیه، سپس به حجم معین رسانده شد. کرونا تین و سیکلودکستین به راحتی در غلظت مورد استفاده حل شد، برای متیل‌جاسمونات ابتدا با ۱۰ برابر اتانل حل شد و بعد به آب ولرم ۲۵ درجه سانتی‌گراد که همزن مغناطیسی در حال گرم کردن و همزدن بود اضافه شد و بعد به حجم نهایی رسید. برای تنظیم غلظت‌های مورد نظر از سمپلر (۰/۵ تا ۱۰ میکرولیتر) استفاده شد. محلول‌پاشی با استفاده از سم‌پاش دستی انجام گردید.

کرونا تین و متیل‌جاسمونات از شرکت سیگما (کشور آمریکا) و بتا سیکلودکستین ساخت شرکت سیگما (کشور ژاپن) بود و از سمپلر Eppendorf (ساخت آلمان) استفاده شد.

(۱۳۹۸/۰۵/۲۵) در فضای بیرون گلخانه با ۲۸٪ رطوبت نسبی هوا ۱۰۲۱۰۰ لوکس و در فضای داخل گلخانه ۳۳۲۳۳ لوکس بود.

### خزانه و کشت گلدان

برای کشت ابتدا سینی‌های ۱۴۴ حفره‌ای با پیت‌موس (Nordagri) پر شدند و بعد بذرهای آویشن باغی که با همکاری شرکت کیمیاگر طوس از آلمان تهیه شده بود (۱۳۹۷/۱۲/۲۵) در سینی کشت شدند. برای هر سینی کشت ۴/۵ لیتر پیت‌موس استفاده شد. پس از سبز شدن در هر یک از حفره‌های سینی‌های کشت دو نشاء برای انتقال نگه داشته شد. گلدان‌های مورد استفاده دارای قطرهای داخلی ۲۳، ۱۷/۵ و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر با گنجایش ۸ لیتر بودند که با ترکیب خاک (۱/۶ پرلیت، ۱/۶ پیت‌موس، ۱/۶ شن و ۳/۶ خاک مزرعه) به مقدار معین پر شدند، به طوری که پس از آبیاری ۶ لیتر از گلدان اشغال شده بود.

قبل از انتقال نشاء کلیه گلدان‌ها آبیاری شدند. از بین آنها به صورت تصادفی ۳ گلدان برای تعیین ظرفیت زراعی خاک گلدان انتخاب و سطح آن برای ممانعت از تبخیر با پلاستیک پوشیده شد. پس از ۴۸ ساعت که هیچگونه خروجی آب از ته گلدان نداشتیم خاک کل گلدان توزین و ۲۴ ساعت در ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار داده شدند. سپس خاک خشک آنها توزین و شاخص‌های خاک تعیین شد. از آنجایی که به خاک گلدان‌ها پرلیت و پیت‌موس اضافه شده بود وزن حجمی خاک ۱ گرم در سانتیمتر مکعب بدست آمد و درصد ظرفیت زراعی خاک گلدان به صورت حجمی / وزنی برابر ۲۵٪ بود، یعنی در حجم ۶ لیتر خاک اشغال شده ۱/۵ لیتر آب وجود داشت.

در دهم خردادماه بوته‌های دو حفره از سینی کشت (در مجموع ۴ نشاء) به هر یک از گلدان‌ها منتقل شدند. برای هر تیمار دو گلدان در نظر گرفته شد. ۴۵ روز پس از انتقال نشاها به گلدان‌ها گیاهان مستقر گردیدند و از این تاریخ تیمارهای سطوح رطوبتی اعمال شدند.

## برداشت

برای بررسی عملکرد کمی و کیفی دو هفته بعد از آخرین محلول پاشی (۱۳۹۸/۰۷/۰۸) گیاهان برداشت و پس از توزین در آون دارای تهویه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس خشک شدند.

## ارزیابی صفات

برای اندازه‌گیری صفات محتوای نسبی آب، نشت الکترولیت و پرولین برگ از کلیه تیمارهای آزمایشی ۴۸ ساعت قبل از برداشت (۱۳۹۸/۰۷/۰۶) و قبل از آبیاری گلدان‌ها نمونه برداری از چهار جهت گیاه با استفاده از قیچی انجام شد و نمونه‌ها در فضای سرد (فلاسک حاوی یخ) قرار گرفتند.

## محتوای پرولین برگ

برای سنجش محتوای پرولین برگ بلافاصله در محیط سرد و خنک برگ‌ها جداسازی و در فریزر با دمای منفی ۲۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند. در زمان آزمایش در حمام یخ ۰/۵ گرم برگ کوبیده و آزمایش به روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) انجام و محتوای پرولین برگ محاسبه شد. دستگاه‌های مورد استفاده اسپکتروفتومتر JENWAY 6105 U.V./VIS. ساخت کشور انگلستان و بن‌ماری Memmert نوع Type:WB10 ساخت کشور آلمان و مواد شیمیایی سولفوسالیسیلیک اسید، پرولین، اسید استیک گلاسیال، اسید فسفریک و تولوئن از شرکت Merck آلمان بودند.

## نشت الکترولیت (EL)

برای تعیین میزان نشت الکترولیت، یک گرم از نمونه‌های برگ‌گی توزین و پس از شستشو به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق در ظروف شیشه‌ای ۷۵ میلی‌لیتری حاوی ۲۰ میلی‌متر آب مقطر نگهداری شدند. سپس هدایت الکتریکی محلول با استفاده از دستگاه سنجش هدایت الکتریکی تعیین شد (EC1).

پس از آن ظروف حاوی نمونه به مدت یک ساعت در بن‌ماری در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. بعد از سرد شدن، دوباره هدایت الکتریکی آن تعیین (EC2) و در نهایت با قرار دادن اعداد در رابطه ۱ میزان نشت الکترولیت غشاء برحسب درصد محاسبه شد (Shi & Sheng, 2005).

$$\text{رابطه ۱} \quad \text{EL} = (\text{EC1}/\text{EC2}) \times 100$$

## محتوای نسبی آب برگ (RWC)

پس از نمونه‌گیری در سایه و هوای نسبتاً معتدل، برگ‌ها از ساقه جدا و به سرعت یک گرم از هر نمونه با ترازو (0.0001 ± گرم) وزن و در آب مقطر غوطه‌ور و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد (در یخچال) قرار داده شدند. بعد از وزن اشباع برگ‌ها، نمونه‌ها برای مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار گرفتند و بعد وزن خشک هر نمونه اندازه‌گیری و با قرار دادن اعداد حاصل از توزین در رابطه ۲، محتوای نسبی آب برگ بدست آمد (Ritchie et al., 1990).

$$\text{رابطه ۲} \quad \text{RWC}(\%) = [(FW-DW)/(TW-DW)] \times 100$$

که در آن، FW: وزن تر برگ بلافاصله پس از جداسازی نمونه‌های برگ‌گی، TW: وزن اشباع برگ بعد از قرار گرفتن در آب مقطر و DW: وزن خشک برگ بعد از قرار گرفتن در آون است.

## درصد اسانس برگ

برای استخراج اسانس آویشن باغی از سیستم تقطیر با آب (دستگاه کلونجر ۱cc) استفاده گردید. در این روش ابتدا برگ و ساقه گیاهان را تفکیک کرده و برای اسانس‌گیری فقط از برگ گیاهان استفاده شد. زمان اسانس‌گیری پس از رسیدن به نقطه جوش دو ساعت و نیم بود. برای آبیگری اسانس از سولفات سدیم (شرکت Merck آلمان) استفاده شد. وزن اسانس برحسب وزن خشک واقعی برگ در درجه حرارت

تأثیر تیمارهای ۳۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکستین و ۱۵۰ نانومولار کرونا تین + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکستین در کمترین سطح تأمین رطوبت و ۴۰٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان بوده است (شکل ۱). بنابراین در پایین ترین سطح رطوبتی دو غلظت بالاتر الیسیستورهای کرونا تین و متیل جاسمونات که با هم در بالاترین گروه قرار گرفته اند، نسبت به غلظت های پایین تر خودشان، سیکلودکستین و شاهد در این سطح رطوبتی کارایی بالاتری در تولید محتوای پرولین برگ داشته اند. کمترین مقدار این شاخص مربوط به تیمار شاهد و ۷۵ نانومولار کرونا تین + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکستین در سطح تأمین ۹۰٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان بود (شکل ۱) که بیانگر شرایط محیطی بدون تنش برای رشد و نمو گیاهان است. در سطح تأمین رطوبت ۶۵٪ تیمارهای حاوی الیسیستور کرونا تین نسبت به شاهد و تیمار سیکلودکستین به لحاظ تولید محتوای پرولین برگ در گروه بالاتری قرار گرفتند (شکل ۱).

استاندارد برای گیاهان اسانس دار (دمای ۴۵ درجه سانتی گراد) محاسبه گردید.

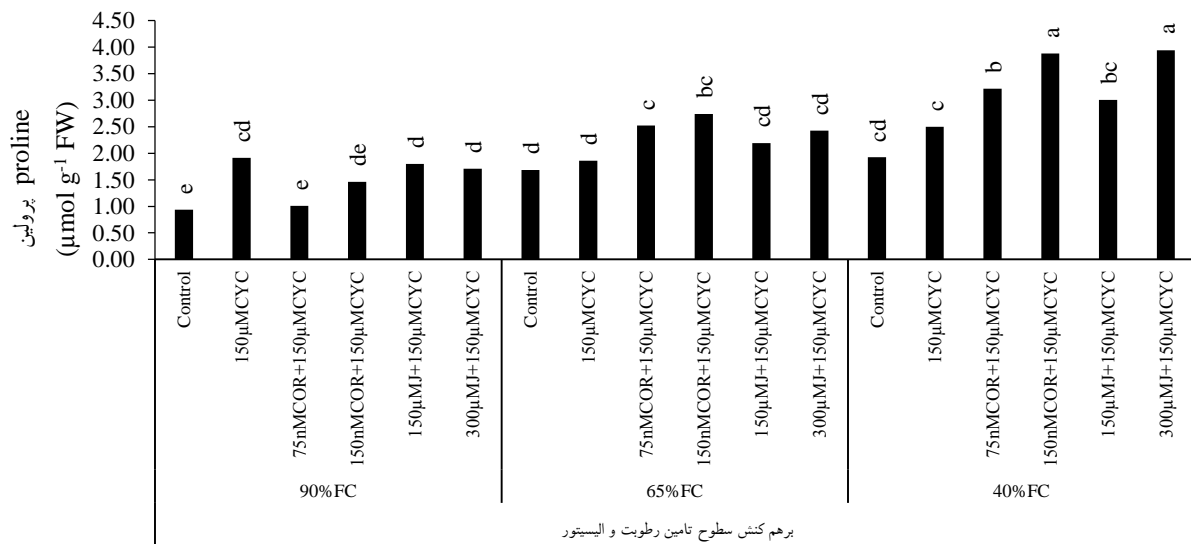
### روش آماری تجزیه و تحلیل داده ها

تجزیه آماری داده ها به وسیله نرم افزار SAS ویرایش 9.1، مقایسه میانگین ها بر اساس آزمون LSD در سطح ۵٪ و رسم نمودارها با Microsoft EXCEL 2016 انجام شد.

### نتایج

#### محتوای پرولین برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که سطوح تأمین رطوبت، الیسیستورها و برهم کنش الیسیستور و سطوح تأمین رطوبت اثر معنی داری ( $P \leq 0.01$ ) بر محتوای پرولین برگ داشته اند (جدول ۱). برهم کنش الیسیستورها و سطوح تأمین رطوبت در شرایط گلخانه نشان داد که بیشترین مقدار محتوای پرولین برگ تحت



شکل ۱- برهم کنش سطوح مختلف رطوبت (درصد ظرفیت زراعی خاک گلدان (FC)) و الیسیستورها (کرونا تین= COR، متیل جاسمونات= MJ و سیکلودکستین= CYC) بر محتوای پرولین برگ آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) در شرایط گلخانه میانگین های دارای حروف مشترک اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ با هم ندارند (بر اساس آزمون LSD).

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرهای سطوح تأمین رطوبت (درصد ظرفیت زراعی خاک گلدان)، الیسیتورها (کرونا تین، متیل جاسمونات و سیکلودکسترین)

و برهم کنش آنها بر صفات مورد ارزیابی آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) در شرایط گلخانه

میانگین مربعات											
منابع تغییرات	درجه آزادی	محتوای پرولین برگ	نشت الکترولیت‌ها	محتوای نسبی آب برگ	ارتفاع بوته	قطر تاج پوشش	وزن تر سرشاخه تک بوته	وزن خشک سرشاخه تک بوته	وزن خشک برگ تک بوته	وزن خشک ساقه تک بوته	درصد اسانس تک بوته
بلوک	۲	۰/۰۳۳ <sup>ns</sup>	۱۲۵/۹۱۱ <sup>*</sup>	۳/۱۲۷ <sup>ns</sup>	۱۵/۹۷ <sup>ns</sup>	۳۱/۰۹۸ <sup>ns</sup>	۳/۰۶ <sup>ns</sup>	۰/۷۳۶ <sup>ns</sup>	۰/۲۸۸ <sup>ns</sup>	۰/۱۰۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۰۸ <sup>ns</sup>
سطوح رطوبتی	۲	۱/۶۳۳ <sup>**</sup>	۶۶۱۸/۱۳ <sup>**</sup>	۶۹۷/۴۳ <sup>**</sup>	۱۸۵/۸۵ <sup>**</sup>	۹۹/۸۴۴ <sup>*</sup>	۲۵۰/۳۵ <sup>**</sup>	۶۴/۰۴۵ <sup>**</sup>	۹/۰۶۸ <sup>**</sup>	۲/۰۶۰ <sup>**</sup>	۰/۰۰۳۸ <sup>**</sup>
خطا ۱	۴	۰/۱۱۶	۱۱/۸۰۳	۱/۵۳۳	۳/۶۹۶	۱۳/۱۷۳	۲/۳۱۴	۰/۲۰۶	۰/۰۸۷	۰/۰۳۹	۰/۰۰۰۰۷
الیسیتور	۵	۱/۷۳۸ <sup>**</sup>	۱۸۸/۷۹ <sup>**</sup>	۴/۰۱۸ <sup>ns</sup>	۱/۲۸۳ <sup>ns</sup>	۴/۲۹۷ <sup>ns</sup>	۲۱/۹۸ <sup>**</sup>	۲/۲۴۱ <sup>**</sup>	۰/۵۴۳ <sup>**</sup>	۰/۵۸۱ <sup>**</sup>	۲/۵۲۴ <sup>**</sup>
سطوح رطوبتی × الیسیتور	۱۰	۰/۵۵۹ <sup>**</sup>	۱۹/۳۹۸ <sup>ns</sup>	۶/۰۹۷ <sup>ns</sup>	۵/۹۷۱ <sup>ns</sup>	۲/۱۸۹ <sup>ns</sup>	۱۲/۵۹ <sup>**</sup>	۱/۱۷۴ <sup>*</sup>	۰/۳۲۲ <sup>**</sup>	۰/۳۲۰ <sup>*</sup>	۰/۰۰۰۰۱ <sup>**</sup>
خطا ۲	۳۰	۰/۰۵۹	۱۰/۴۱۲	۵/۷۲۰	۳/۸۳۱	۵/۴۱۹	۳/۹۸۰	۰/۴۵۴	۰/۱۰۳	۰/۱۴۲	۰/۰۰۰۰۳۱
ضریب تغییرات (%)		۱۰/۸۰۵	۵/۵۶۰	۳/۲۶۶	۷/۸۰۷	۱۵/۹۹۹	۹/۰۷۰	۱۱/۵۳۰	۱۱/۰۳۰	۱۲/۸۹۳	۴/۴۱۴

\*\*\*, \*\*, ns: به ترتیب معنی دار در سطح ۱٪، ۵٪ و عدم معنی داری

## نشست الکترولیت‌ها

تولید اسمولیت‌هایی مانند پرولین خواهند کرد.

## محتوای نسبی آب

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که محتوای نسبی آب برگ تحت تأثیر سطوح تأمین رطوبتی قرار گرفته است ( $P \leq 0.01$ )، اما اثر اصلی الیستورها و برهم‌کنش تیمارها بر محتوای نسبی آب معنی‌دار نبود (جدول ۱). سطح تأمین رطوبت در ۶۵٪ و ۹۰٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان محتوای نسبی آب برگ را به ترتیب ۱۰/۹٪ و ۱۸/۶٪ نسبت به سطح تأمین رطوبت در ۴۰٪ افزایش داد (جدول ۲).

محتوای نسبی آب برگ از صفات مهمی است که با صفات محتوای پرولین برگ و نشست الکترولیت‌ها همبستگی منفی بسیار معنی‌داری داشت (جدول ۳)، پیداکردن یک نقطه مطلوب از محتوای نسبی آب برگ برای گیاهان به‌ویژه گیاهان معطر و اسانس‌دار می‌تواند از اولویت برخوردار باشد.

نشست الکترولیت‌ها تحت تأثیر سطح تأمین رطوبت و الیستور اختلاف معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) نشان داد، اما برهم‌کنش الیستور و سطح تأمین رطوبت بر نشست الکترولیت‌ها معنی‌دار نبود (جدول ۱). بیشترین نشست الکترولیت‌ها مربوط به سطح تأمین رطوبت در ۴۰٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان بود و نسبت به سطح تأمین رطوبت در ۶۵٪ و ۹۰٪ به ترتیب ۴۳/۴٪ و ۹۳/۲٪ افزایش نشان داد (جدول ۲).

در مقایسه میانگین اثرهای ساده الیستورها بیشترین درصد نشست با کاربرد ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکسترین به تنهایی و پس از آن تیمار شاهد بود که هر دو تیمار در یک کلاس (a) قرار گرفتند. کمترین نشست الکترولیت‌ها در گلخانه مربوط به تیمار ۷۵ نانومولار کروناتین + ۱۵۰ نانومولار سیکلودکسترین بود که نسبت به شاهد ۱۶/۶٪ کاهش داشت (جدول ۲). همبستگی مثبت بسیار معنی‌داری بین نشست الکترولیت‌ها و محتوای پرولین برگ وجود داشت (جدول ۳). بنابراین گیاهان با نشست الکترولیت‌های بیشتر، هزینه بیشتری برای

جدول ۲- اثرهای ساده سطوح تأمین رطوبت (درصد ظرفیت زراعی خاک گلدان (FC)) و الیستورها (کروناتین= COR، متیل جاسمونات= MJ و سیکلودکسترین= CYC) بر صفات مورد ارزیابی آویشن‌باغی (*Thymus vulgaris*) در شرایط گلخانه

وزن اسانس (g plant <sup>-1</sup> )	درصد اسانس برگ	قطر تاج پوشش (cm)	ارتفاع (cm)	نشست الکترولیت‌ها (%)	محتوای نسبی آب برگ (%)	محتوای پرولین برگ $\mu\text{mol g}^{-1}$ FW	سطوح تأمین رطوبت
۰/۰۵۵a	۱/۶۳b	۱۷/۰۱a	۲۸/۳۷a	۴۰/۶۷c	۷۹/۰۴۶a	۱/۴۷۲c	90% FC
۰/۰۵۶a	۱/۷۶a	۱۴/۳۱ab	۲۴/۸۷b	۵۴/۷۹b	۷۳/۹۵۲b	۲/۲۳۷b	65% FC
۰/۰۳۰b	۱/۴۷c	۱۲/۳۱b	۲۱/۹۵c	۷۸/۶۱a	۶۶/۶۵۶c	۳/۰۷۹a	40% FC
الیستور							
۰/۰۷۳a	۲/۶۷a	-	-	۶۲/۶۴a	-	۱/۵۱۵d	Control
۰/۰۴۶bc	۱/۵۰b	-	-	۶۴/۳۲a	-	۲/۰۹۰c	150μM CYC
۰/۰۳۵d	۱/۲۳e	-	-	۵۲/۲۰c	-	۲/۲۵۰bc	75nM COR+150μM CYC
۰/۰۴۰c	۱/۳۲d	-	-	۵۶/۵۵b	-	۲/۶۹۵a	150nM COR+150μM CYC
۰/۰۴۷b	۱/۴۳c	-	-	۵۶/۹۹b	-	۲/۳۳۳b	150μM MJ+150μM CYC
۰/۰۴۰c	۱/۵۶b	-	-	۵۵/۴۳b	-	۲/۶۹۳a	300μM MJ+150μM CYC

میانگین‌های دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ با هم ندارند (براساس آزمون LSD).



جدول ۳- برآورد ضریب همبستگی پیرسون (r) بین برخی صفات فیزیولوژیکی و عملکردی (کمی و کیفی) آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) در شرایط گلخانه

۱۱	۱۰	۹	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱	
										۱	۱- محتوای پرولین برگ
									۱	۰/۶۳**	۲- نشت الکترولیت‌ها
								۱	-۰/۸۸	-۰/۶۶**	۳- محتوای نسبی آب
							۱	۰/۷۶**	-۰/۷۷**	-۰/۶۱**	۴- ارتفاع
						۱	۰/۶۴**	۰/۴۹**	-۰/۶۱**	-۰/۴۹**	۵- قطر تاج پوشش
					۱	۰/۵۹**	۰/۷۷**	۰/۸۵**	۰-/۸۹**	۰-/۷۱**	۶- وزن تر سرشاخه
				۱	۰/۹۱**	۰/۵۱**	۰/۷۶**	۰/۷۹**	۰-/۸۳**	-۰/۶۸**	۷- وزن خشک سرشاخه
			۱	۰/۹۶**	۰/۸۱**	۰/۴۲**	۰/۶۹**	۰/۷۲**	-۰/۷۵**	-۰/۶۳**	۸- وزن خشک برگ
		۱	۰/۹۰**	۰/۹۸**	۰/۹۵**	۰/۵۵**	۰/۷۷**	۰/۸۱**	-۰/۸۵**	۰-/۶۸**	۹- وزن خشک ساقه
	۱	۰/۰۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۶ <sup>ns</sup>	۰/۳۷ <sup>ns</sup>	۰/۱۴ <sup>ns</sup>	۰/۰۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۷ <sup>ns</sup>	-۰/۰۰ <sup>ns</sup>	-۰/۴۵ <sup>ns</sup>	۱۰- درصد اسانس
۱	۰/۷۶**	۰/۵۲**	۰/۶۲**	۰/۵۸**	۰/۴۹**	۰/۳۷**	۰/۴۲**	۰/۴۷**	-۰/۴۵**	-۰/۶۷**	۱۱- وزن اسانس

\*\*،\* و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح ۱٪، ۵٪ و عدم معنی‌داری

## ارتفاع

معنی داری ( $P \leq 0.01$ ) وزن تر و خشک سرشاخه آویشن باغی در گلخانه شد. برهم‌کنش تیمارها نیز بر وزن تر ( $P \leq 0.01$ ) و خشک ( $P \leq 0.05$ ) گیاهان معنی‌دار گردید (جدول ۱).

برهم‌کنش سطوح تأمین رطوبت و الیسیتور بر عملکرد تر نشان دادند که در سطح تأمین رطوبت ۹۰٪ تیمار شاهد با تیمار سیکلودکستین در دو گروه مجزا و هر دو با تیمارهای ۷۵ نانومولار کرونا تین + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکستین و ۱۵۰ نانومولار کرونا تین + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکستین همپوشانی داشتند. علاوه بر این، دو تیمار دیگر نیز با شاهد هم‌گروه بودند. در سطح تأمین رطوبت ۶۵٪ شاهد و تیمار سیکلودکستین با سه تیمار الیسیتوری در گروه‌های کاملاً جداگانه قرار گرفتند، اما در سطح تأمین رطوبت ۴۰٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان، کلیه تیمارها در یک آستانه به عملکرد تر ثابتی رسیده‌اند (شکل ۲).

در شاخص وزن خشک سرشاخه پراکندگی‌ها کمتر شد و در سطح تأمین رطوبت ۹۰٪ تیمارها در دو گروه، در سطح تأمین رطوبت ۶۵٪ در یک گروه و در سطح تأمین رطوبت ۴۰٪ ظرفیت زراعی خاک در چند گروه بصورت مجزا و مشترک قرار گرفتند (شکل ۲).

عملکرد گیاه نتیجه نهایی رشد و توسعه گیاه بوده است، چنانکه عملکرد تحت تأثیر ارتفاع و قطر تاج پوشش و محتوای نسبی آب برگ قرار گرفته و همبستگی مثبت بسیار معنی‌داری داشته و با محتوای پرولین برگ و نشت الکترولیت‌ها همبستگی منفی بسیار معنی‌داری داشته است (جدول ۳).

## وزن خشک برگ و ساقه

اثرهای ساده سطح تأمین رطوبت و الیسیتورها بر وزن خشک برگ و ساقه معنی‌دار ( $P \leq 0.01$ ) بود. برهم‌کنش الیسیتور و سطح تأمین رطوبت نیز اثر معنی‌داری بر وزن خشک برگ ( $P \leq 0.01$ ) و ساقه ( $P \leq 0.05$ ) آویشن باغی داشت (جدول ۱).

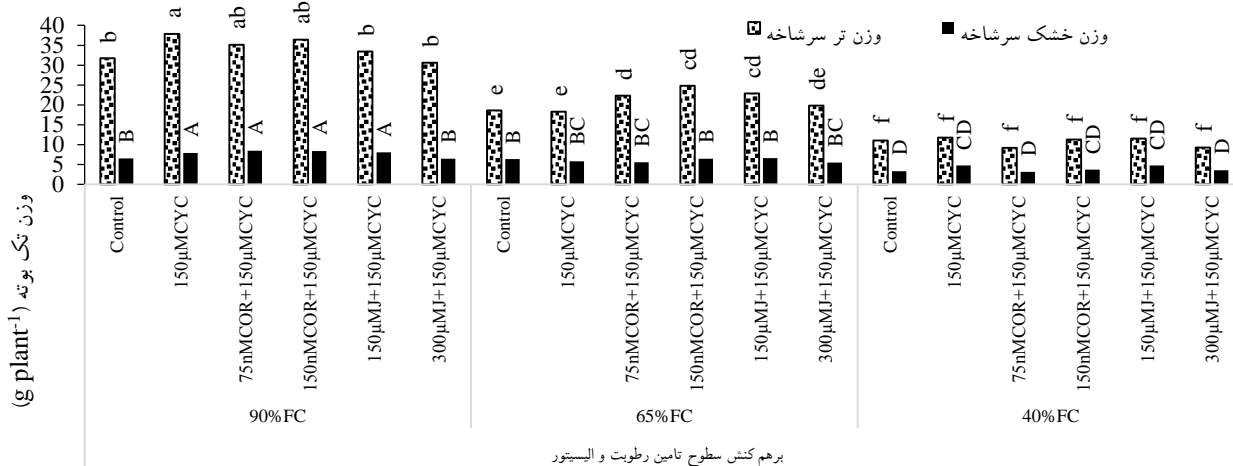
نتایج تجزیه واریانس نشان دادند که ارتفاع گیاه آویشن باغی در شرایط گلخانه تحت تأثیر سطوح مختلف تأمین رطوبت قرار گرفت ( $P \leq 0.01$ ) اما الیسیتورها و برهم‌کنش آنها اثر معنی‌داری بر ارتفاع گیاه نداشتند (جدول ۱). بیشترین ارتفاع مربوط به سطح تأمین رطوبت در ۹۰٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان بود که نسبت به سطح تأمین رطوبت ۶۵٪ و ۴۰٪ به ترتیب ۱۴/۰٪ و ۲۹/۲٪ افزایش ارتفاع داشت (جدول ۲). ارتفاع گیاه از صفات تأثیرگذار بود که همبستگی مثبت بسیار معنی‌داری با محتوای نسبی آب برگ و همبستگی منفی بسیار معنی‌داری با محتوای پرولین برگ و نشت الکترولیت‌ها داشته است (جدول ۳).

## قطر تاج پوشش

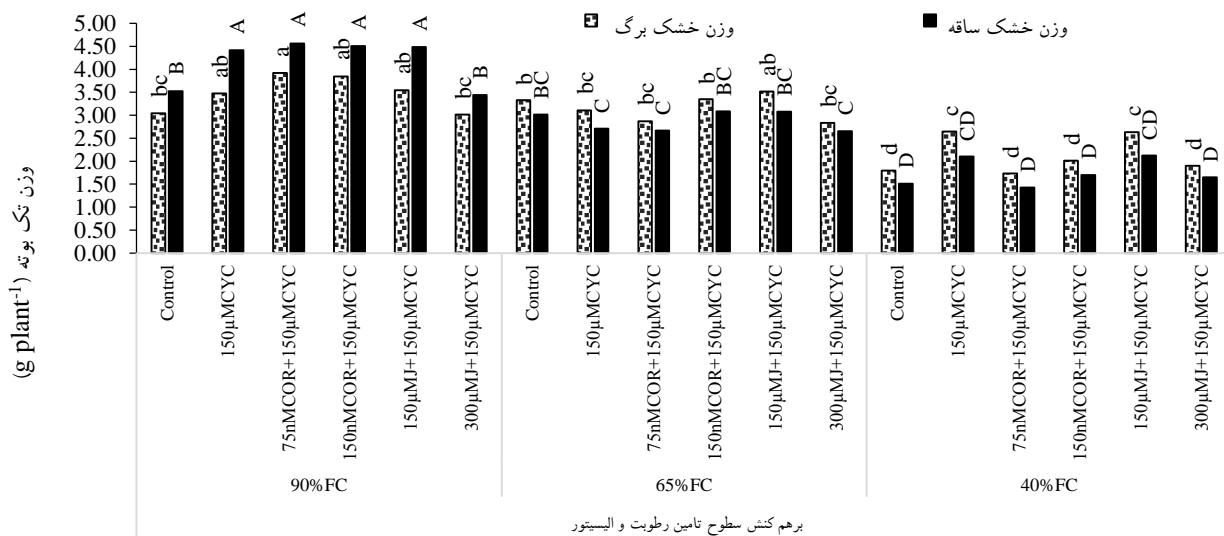
سطوح مختلف تأمین رطوبت بر قطر تاج پوشش آویشن باغی اثر معنی‌دار داشت ( $P \leq 0.01$ )، اما الیسیتورها و برهم‌کنش الیسیتور و سطوح تأمین رطوبت اثر معنی‌داری نشان ندادند (جدول ۱). بالاترین میانگین قطر تاج پوشش گیاه در سطح تأمین رطوبت ۹۰٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان بود و با کاهش سطح تأمین رطوبت از ۹۰٪ به ۶۵٪ و ۴۵٪، قطر تاج پوشش به ترتیب ۱۵/۸۱٪ و ۲۷/۵۸٪ کاهش پیدا کرد (جدول ۲). قطر تاج پوشش نیز از صفات مؤثری است که هرچه بزرگتر باشد گیاه را قادر می‌کند تا از منابع محیطی اطراف مانند نور و دی‌اکسیدکربن استفاده بیشتری بکند و دیگر صفات مانند ارتفاع گیاه را تحت تأثیر قرار دهد، به طوری که با افزایش قطر تاج پوشش در این بررسی ارتفاع گیاه نیز افزایش پیدا کرد و همبستگی مثبت بسیار معنی‌داری بین این دو شاخص دیده شد. علاوه بر این بین قطر تاج پوشش و محتوای پرولین برگ و همچنین نشت الکترولیت‌ها همبستگی منفی بسیار معنی‌داری وجود داشت.

## وزن تر و خشک سرشاخه

اثرهای اصلی سطوح تأمین رطوبت و الیسیتورها، باعث



شکل ۲- برهم کنش سطوح مختلف تأمین رطوبت (درصد ظرفیت زراعی خاک گلدان (FC)) و البستورها (کرونا تین= COR، متیل جاسمونات= MJ و سیکلودکستین= CYC) بر وزن تر و خشک سرشاخه آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) در شرایط گلخانه میانگین‌های دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ با هم ندارند (براساس آزمون LSD).



شکل ۳- برهم کنش سطوح مختلف رطوبت (درصد ظرفیت زراعی خاک گلدان (FC)) و البستورها (کرونا تین= COR، متیل جاسمونات= MJ و سیکلودکستین= CYC) بر وزن خشک ساقه و برگ آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) در شرایط گلخانه میانگین‌های دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ با هم ندارند (براساس آزمون LSD).

از برگ بوده اما در دو سطح رطوبتی دیگر بعکس وزن خشک برگ بیشتر از ساقه بوده است (شکل ۳).

روند تولید وزن برگ و ساقه نشان می‌دهد که در شرایط رطوبتی ۹۰٪ ظرفیت زراعی خاک، وزن خشک ساقه بیشتر

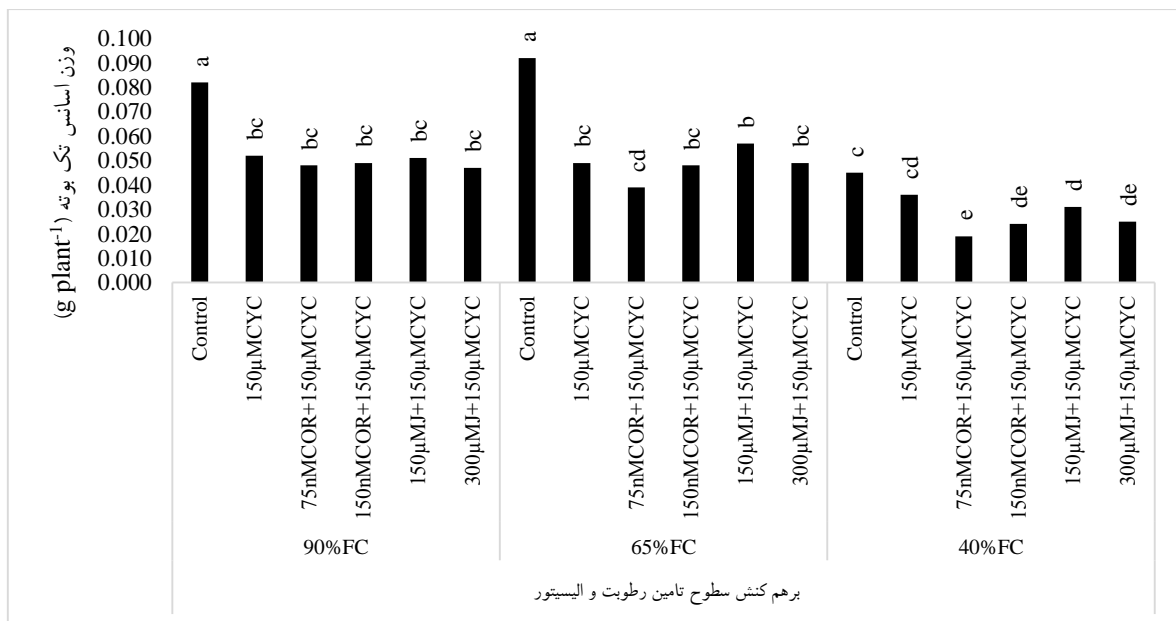
گروه دیگر قرار گرفتند. همپوشانی گروهی در سطح تأمین ۶۵٪ و ۴۰٪ زیاد بود و کلیه تیمارها از نظر گروه‌بندی به هم نزدیک بودند، به‌طور کلی روند کاهشی محسوسی در وزن خشک برگ و ساقه تحت تأثیر برهم‌کنش‌ها از سطح تأمین رطوبت ۹۰٪ به ۴۰٪ رطوبت زراعی خاک گلدان مشاهده شد (شکل ۳).

#### وزن و درصد اسانس برگ

اثرهای اصلی سطوح تأمین رطوبت و الیستور بر درصد و وزن اسانس برگ تک بوته معنی‌دار ( $P \leq 0.01$ ) اما برهم‌کنش تیمارها فقط بر وزن اسانس برگ تک بوته معنی‌دار ( $P \leq 0.01$ ) بود (جدول ۱). مقایسه میانگین‌های اثر سطوح تأمین رطوبت، درصد اسانس برگ را در سه گروه مجزا قرار داد (جدول ۲). بالاترین و پایین‌ترین درصد اسانس (به ترتیب ۱/۷۶٪ و ۱/۴۷٪) مربوط به سطح تأمین رطوبت در ۶۵٪ و ۴۰٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان بود. به‌نحوی که بیشترین درصد اسانس نسبت به کمترین آن ۱۹/۷٪ افزایش نشان داد (جدول ۲).

رفتار تیمارها با وزن خشک برگ در تیمار تأمین رطوبت در ۹۰٪ ظرفیت زراعی باعث شده که تیمار ۷۵ نانومولار کرونا تین + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکستین با سه تیمار دیگر همپوشانی داشته و با تیمار شاهد و ۳۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکستین معنی‌دار شود. در سطح تأمین رطوبت ۶۰٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان همپوشانی الیستور زیاد بود و در سطح رطوبتی ۴۰٪ ظرفیت زراعی خاک تیمارهای ۱۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکستین و سیکلودکستین به تنهایی در گروه بالاتری قرار گرفتند و با بقیه تیمارها تفاوت معنی‌داری داشتند (شکل ۳).

وزن خشک ساقه تحت تأثیر برهم‌کنش سطوح مختلف رطوبتی و الیستور در سطح تأمین ۹۰٪ ظرفیت زراعی خاک قابل تفکیک بود و در دو گروه جداگانه قرار گرفت، به‌طوری که شاهد و تیمار ۳۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکستین در یک گروه و بقیه تیمارها در



شکل ۴- برهم‌کنش سطوح مختلف رطوبت (درصد ظرفیت زراعی خاک گلدان (FC)) و الیستورها (کرونا تین= COR، متیل جاسمونات= MJ و سیکلودکستین= CYC) بر وزن اسانس برگ آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) در شرایط گلخانه میانگین‌های دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ با هم ندارند (براساس آزمون LSD).

جاسمونات و کروناتین گیاهان وادار به ساخت محتوای پرولین برگ بیشتر شده‌اند که در سطوح رطوبتی ۶۵٪ و ۴۰٪ این مطالعه قابل مشاهده است (شکل ۱). روند تغییرات محتوای پرولین برگ در این مطالعه با آزمایش‌های انجام شده بر روی آویشن باغی (Ghaderi, 2015)، آویشن باغی و آویشن دناپی (Askary, 2017)، گندم دروم (*Triticum durum*) (Mattioni et al., 1997)، نخود (*Pisum sativum*) (L. Sanchez et al., 1998) و ریحان (*Ocimum*) (Moein Alishah et al., 2006) مطابقت داشت. همبستگی منفی بسیار معنی‌داری که در این مطالعه بین محتوای پرولین برگ و شاخص‌های محتوای نسبی آب، ارتفاع، قطر تاج پوشش، وزن تر و خشک سرشاخه و وزن اسانس گیاهان مشاهده شد مبین این است که گیاهان برای ساخت پرولین در تنش‌ها انرژی مصرف کرده و این هزینه‌کرد کاهش شاخص‌های عملکردی را در پی داشته است.

#### نشست الکترولیت‌ها

تنش‌های رطوبتی همواره باعث بروز تنش اکسیداتیو (Oxidative stress) به‌عنوان تنش ثانویه می‌شوند. در سلول‌های گیاهی در طی فرایند فتوسنتز و تنفس الکترون‌ها به سمت اکسیژن انتشار یافته و در نهایت گونه‌های اکسیژن فعال (Reactive oxygen species) را تولید می‌کنند (Asada, 1999) که به مولکول‌های زنده مانند چربی‌ها، پروتئین‌ها و ترکیب‌های دیگر خسارت وارد می‌کنند (Mittler, 2002) و این عوامل باعث نشست الکترولیت‌ها یا مرگ سلول می‌شوند (Sueldo et al., 1996).

براساس نتایج حاصل شرایط رطوبتی ۴۰٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان، سلول‌های گیاهان را به شدت شکننده و ناپایدار کرده است و کنترل محتویات توسط غشاء سلولی تا حدی مختل شده است، اما با صرف هزینه زیاد برای زنده‌مانی، رشد گیاهان به کندی ادامه یافته آن گونه که این تأثیر در صفاتی مانند کاهش ارتفاع، قطر تاج پوشش، وزن تر و خشک، محتوای آب نسبی و وزن اسانس بوته مشهود بوده و همبستگی

براساس مقایسه میانگین درصد اسانس تحت تأثیر الیستورها، شش تیمار به ترتیب در ۵ گروه جای گرفتند. بالاترین درصد اسانس ۲/۶۷٪ در تیمار شاهد و کمترین آن ۱٪/۲۳ در تیمار ۷۵ نانومولار کروناتین + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکستین مشاهده شد که ۵۴/۴۴٪ نسبت به شاهد کاهش داشت (جدول ۲).

برهم‌کنش سطوح تأمین رطوبت و الیستورها بر وزن اسانس در بوته نشان داد که تیمارهای شاهد در سطح تأمین رطوبت ۶۵٪، ۹۰٪ و حتی ۴۰٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان بالاترین میزان اسانس را در بوته تولید کرده‌اند (شکل ۴). در سطح ۹۰٪ تأمین رطوبت تیمارهای الیستوری و حتی سیکلودکستین از نظر وزن اسانس برگ نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری پیدا کردند و در یک گروه قرار گرفتند (شکل ۴). در سطح تأمین رطوبت ۶۵٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان شرایط مساعد برای ساخت ترکیب‌های روغنی (درصد اسانس) فراهم شد و تیمار شاهد از بین الیستورها توانست به بالاترین حد تولید برسد. به‌نحوی که کمترین میزان اسانس تیمارها در سطح تأمین رطوبت در ۴۰٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان دیده شد که از یک‌سو بیومس کمتری را تولید کرده بودند و از سوی دیگر شدت تنش باعث کاهش درصد اسانس شده بود.

#### بحث

##### محتوای پرولین برگ

تنش خشکی باعث تجزیه پروتئین‌ها و در نتیجه افزایش آمینواسیدها و آمیدها می‌شود؛ یکی از این آمینواسیدها پرولین است (Barker et al., 1993). مهمترین اسمولیت‌هایی که نقش مهمی در تنظیم اسمزی دارند، پرولین، گلاسیسین‌بتائین، پلی‌آمین‌ها و قندها هستند (Sharma et al., 2019).

برهم‌کنش تیمارها به ما نشان می‌دهد که در کمترین سطح تأمین رطوبت از یک‌سو تولید پرولین به‌طور طبیعی افزایش پیدا کرده که در مقایسه بین شاهد در سطح رطوبتی ۴۰٪ و ۹۰٪ دیده می‌شود و از سوی دیگر با کاربرد خارجی متیل

(جدول ۲) اما شدت تنش به مرحله غیرقابل برگشت نرسید و رشد گیاهان تا آخر فصل ادامه داشت.

در بررسی که بر روی گیاه آویشن باغی و آویشن دناپی تحت سطوح مختلف تنش رطوبتی انجام شد، بیشترین و کمترین محتوای نسبی آب به ترتیب در سطوح جبران رطوبتی ۱۰۰٪ و ۳۳٪ ظرفیت زراعی مشاهده شد (Askary, 2017) که با این مطالعه مطابقت داشت. در این بررسی بالا نگه داشتن محتوای نسبی آب باعث افزایش ارتفاع، قطر تاج پوشش و به طور کلی صفات عملکردی از جمله عملکرد اسانس شده است، آنگونه که همبستگی مثبت معنی داری بین محتوای نسبی آب و این صفات مشاهده شد (جدول ۳).

#### ارتفاع

کاهش رطوبت می تواند باعث ایجاد اختلال در بیان ژن های سازنده دیواره سلولی گردد و از رشد و توسعه سلول ها بکاهد و در نهایت باعث کاهش ارتفاع گیاه شود (Ghassemian *et al.*, 2008). در بررسی انجام شده ارتفاع گیاهان به شدت تحت تأثیر سطوح تأمین رطوبت قرار گرفته، به طوری که با کاهش هر ۲۵٪ رطوبت از سطح تأمین ۹۰٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان، حدود ۱۵٪ از ارتفاع گیاه کاسته شده و به تبع آن از عملکرد کمی و کیفی گیاهان نیز کاسته شده است. مؤید این موضوع جدول همبستگی صفات بوده که همبستگی مثبت معنی داری را بین ارتفاع و صفات کمی و کیفی گیاه نشان می دهد (جدول ۳).

در بررسی بر روی آویشن باغی، زمانی که سطح رطوبتی از ۹۰٪ به ۵۰٪ ظرفیت زراعی رسید، ارتفاع بوته ۴۳/۳۲٪ کاهش نشان داد (Ghderi, 2015). در شرایط تنش، قابلیت آب کاهش یافته (Siddique *et al.*, 1993; Anjum *et al.*, 2011) و سبب اختصاص بیشتر مواد فتوسنتزی به ریشه نسبت به سرشاخه برای توسعه بیشتر و دریافت رطوبت شده است (Cabulay *et al.*, 2002; Sreevalli *et al.*, 2001). در واقع گیاه برای مقابله با تنش، انرژی خود را برای مراقبت و زنده نگه داشتن سلول ها صرف کرده (Shanon, 1997) و به تبع آن

منفی بسیار معنی داری بین نشست الکترولیت ها و این صفات صحه ای بر این موضوع است (جدول ۳). افزایش تروایی غشاء سیتوپلاسمی و نشست یون تحت تأثیر سطوح رطوبتی در گیاهان مختلف حتی در سورگوم (*Sorghum bicolor* L.) که گیاهی مقاوم است گزارش شده است (Premachandra *et al.*, 1989). محافظت از غشاءها در شرایط تنش ی یک راهکار خودتنظیمی در مقاومت به پساایدگی است (Crowe & Crowe, 1992) که در سطح رطوبتی ۴۰٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان دیده شد.

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه متیل جاسمونات و کروناتین توانسته اند مقاومت سلول را تا حدی افزایش دهند که با میانگین نشست کمتر از نظری آماری نیز در گروه جداگانه ای قرار بگیرند. جاسمونیک اسید یک مولکول پیام رسان گیاهی در ارتباط با پاسخ های مقاومتی در برابر تنش های غیرزنده (Wang *et al.*, 2020) و زنده است. پاسخ های فیزیولوژیکی جاسمونات ها شامل فعال کردن سامانه آنتی اکسیدانی (رادیکال آنیون سوپر اکسیداز، پراکسیداز، NADPH-اکسیداز) (Karpets *et al.*, 2014)، تجمع آمینواسیدها (ایزولوسین و متیونین) و قندهای محلول (Wasternack & Parthier, 1997) و تنظیم باز و بسته شدن روزنه ها می باشد (Acharya & Assmann, 2009). بنابراین متیل جاسمونات و کروناتین که به ترتیب از مشتقات و آنالوگ جاسمونات ها هستند توانسته اند با مهار ترکیب های اکسیدکننده از انتشار الکترولیت ها و صدمات غشاء پلاسمایی بکاهند.

#### محتوای نسبی آب

محتوای نسبی آب گیاه بین ۷۰٪ تا ۱۰۰٪ باعث تغییرات فتوسنتز می گردد اما بازدارندگی های آن قابل برگشت می باشند. در صورتی که محتوای نسبی آب کمتر از ۳۰٪ به کلروپلاست گیاهان صدمه زده و این صدمات غیر قابل برگشت هستند (Kafi *et al.*, 2014). بر این اساس در این مطالعه در دو سطح تأمین رطوبتی بالا گیاهان بدون مشکل و در سطح تأمین رطوبتی پایین با محدودیت مواجه بوده اند

از رشد رویشی و ارتفاع گیاه کاسته شده است.

### قطر تاج پوشش

قطر تاج پوشش گیاه از شاخص‌های تأثیرگذار در تولید بوده که در این بررسی مشابه ارتفاع گیاه به ازای هر ۲۵٪ کاهش سطح رطوبتی ۱۵٪ کاهش داشته است. در صورتی که گیاهان قطر تاج پوشش مناسبی تولید نکنند از فضایی که در اختیار آنها قرار داده شده به خوبی استفاده نکرده و کارایی گیاهان در استفاده از منابع قابل دسترس کم خواهد شد. بعضی از تغییرات فیزیولوژیکی ناشی از آب کشیدگی در گیاهان مانند تجمع اسید آبسزیک و مواد محلول، کاهش فرایندهای فتوسنتزی، هدایت روزنه‌ای، ساخت پروتئین‌ها، دیواره سلولی و حجیم شدن (توسعه) سلول و کاهش تشدیدکننده‌های رشدی رخ می‌دهد که کاهش تاج پوشش را در پی خواهد داشت (Brar et al., 1990; Tize et al., 2015).

### عملکرد تر و خشک سرشاخه

برهم‌کنش سطوح رطوبتی و الیستورها بر وزن تر بوته باعث شد که سطوح رطوبتی ۹۰٪ و ۶۵٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان، هر یک در 'گروه‌های متمایز و مشترک قرار بگیرند اما در سطح رطوبتی ۴۰٪ کلیه تیمارها در یک گروه (g) قرار گرفتند (شکل ۲). بنابراین تغییرات رشد و توسعه گیاهان تحت تأثیر تیمارهای رطوبتی تا یک آستانه خاص تأثیر می‌پذیرد و پس از آن احتمالاً رشد و نمو گیاهان تحت تأثیر واکنش‌های بیوشیمیایی یا تنظیم‌کننده‌های رشد و نمو و فرایندهای فیزیومورفولوژیکی، عملکرد گیاه را در یک حد معینی کنترل کرده تا با توجه به محدودیت‌های رشدی از تلف شدن گیاه جلوگیری کند. سطوح الیستوری به‌ویژه در سطح ۶۰٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان تفاوت معنی‌داری با شاهد و حتی تیمار سیکلودکسترین داشت. در مورد اثر الیستورها بر عملکرد تر و خشک آویشن باغی، نقش دوگانه متیل جاسمونات (در غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۰۰ میکرومولار) در سطح رطوبتی ۹۰٪ بر عملکرد خشک گیاه تا حدی

مشهود است. این تأثیر دوگانه متیل جاسمونات بر عملکردهای فیزیولوژیکی در گیاه سویا (*Glycine max L.*) نیز مشاهده شده است، به طوری که استفاده از متیل جاسمونات در غلظت‌های ۱ و ۱۰ میکرومولار به ترتیب باعث افزایش رشد و کاهش پراکسیداسیون شده و کاربرد غلظت‌های ۱۰۰ و ۰۰ میکرومولار آن باعث کاهش رشد و افزایش پراکسیداسیون لیپدها شده است (Keramat & Daneshmand, 2012). مطالعات دیگر نیز مشخص کرده‌اند که کاربرد خارجی متیل جاسمونات بر روی بابونه در غلظت ۷۵ میکرومولار بیشترین عملکرد اندام هوایی و ریشه را تولید کرده و در غلظت‌های بالاتر کاهش شاخص‌ها مشاهده شده است (Salimi & Shekari, 2012). با توجه به نتایج ذکر شده، به نظر می‌رسد استفاده از جاسمونات‌ها و مشتقات آن مانند متیل جاسمونات یا ترکیب‌های مشابه مانند کروناکین با غلظت معینی می‌تواند در بیان و یا سرکوب ژن‌ها نقش ایفاء نماید و رشد و نمو گیاه را تحت تأثیر قرار دهد.

در مورد عملکرد خشک اختلاف کمتری بین تیمارها در سطح رطوبت ۹۰٪ و ۶۵٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان دیده شد که احتمالاً به دلیل مهیا بودن شرایط رشدی در این دو سطح، اختلاف کمتری بین سطوح تیماری مشاهده گردید. به طور کلی پایین آمدن سطح رطوبتی خاک و به دنبال آن کاهش رطوبت گیاه می‌تواند به شکاف خوردن غشاءهای سلول، رسوب محتوای آن (Blackman et al., 1995) و اختلال در تنظیم اسمزی سلول (Kafi et al., 2014) بینجامد که در این بررسی از یک سو با کاهش رطوبت نشت الکترولیت‌ها و میزان پرولین برگ به طور بسیار معنی‌داری افزایش و محتوای نسبی آب نیز کاهش پیدا کرد و از سوی دیگر به دنبال این پاسخ‌ها، از ارتفاع و قطر تاج پوشش گیاه کاسته شد، در نتیجه اثرهای آن بر وزن تر و خشک بوته در سطوح مختلف رطوبتی ظاهر شد.

### عملکرد برگ و ساقه

برگ آویشن‌ها علاوه بر اینکه محل مهم واکنش‌های بیوشیمیایی فتوسنتز، کرین‌گیری، تولید و ذخیره مواد غذایی، اکسیژن و تعریق و تعرق می‌باشد، مهمترین محل تشکیل غدد

حد بسیار معنی دار شده است (جدول ۱ و ۲). همچنین در بررسی اثرهای اصلی الیسیتورها مشخص شد که تیمار شاهد دارای بیشترین درصد اسانس تولیدی بوده و در واقع الیسیتورها باعث کاهش درصد اسانس در حد بسیار معنی داری شدند. در نهایت برهم کنش تیمارها نیز بر عملکرد یا وزن اسانس در بوته بسیار معنی دار شد که بیشترین مقدار اسانس در تیمار شاهد در سطح تأمین رطوبت ۶۵٪ ظرفیت زراعی بدست آمد (شکل ۴). در بررسی انجام شده بیشترین درصد و عملکرد اسانس آویشن باغی را در سطح رطوبتی ۷۰٪ ظرفیت نگهداری خاک گزارش کرده‌اند (Letchamo & Gosselin, 1995). مطالعات دیگر بیشترین درصد اسانس آویشن باغی تحت تأثیر تنش ملایم (Alavi-Samani et al., 2015) و بیشترین درصد و عملکرد اسانس را در تیمار آبیاری ۶۷٪ ظرفیت زراعی گزارش نموده‌اند (Askary et al., 2018). بنابراین نتایج این مطالعه با مطالعات انجام شده نزدیک بود.

در بررسی اثر پیش تیمار کروناتین در ریحان (*Ocimum basilicum*) در شرایط گلدانی درصد اسانس بین تیمارهای ۰، ۵۰ و ۱۰۰ نانومولار کروناتین و شاهد اختلاف معنی داری مشاهده نشد (Zare Dehabadi, 2013). طی مطالعه محلول پاشی جاسمونیک اسید (۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر) بر روی دو گونه آویشن باغی و آویشن دناپی در کشت گلدانی، بیشترین درصد اسانس در تیمار شاهد گزارش شد (Alavi-Samani et al., 2015) HSJ که روندی مشابه این مطالعه داشت.

نتیجه نهایی اینکه فراهمی رطوبت و الیسیتورهای خارجی می‌توانند از مهمترین عوامل تأثیرگذار بر فرایندهای فیزیولوژیکی مانند محتوای پرولین برگ، نشست الکترولیت‌ها و محتوای نسبی آب و همچنین شاخص‌های عملکردی ارتفاع، قطر تاج پوشش، وزن خشک برگ و ساقه و در نهایت بر عملکرد کمی و کیفی گیاه باشند. این مطالعه به ما نشان داد که پرورش طبیعی آویشن باغی بدون استفاده از تیمارهای الیسیتوری با تأمین رطوبت در حد تنش ملایم (۶۵٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان) در شرایط گلخانه عملکرد کیفی بیشتری را حاصل خواهد کرد. تحقیقات هورمونی با توجه به

اسانس گیاه نیز است. بنابراین عملکرد اسانس همبستگی مثبت بسیار معنی داری می‌تواند با عملکرد یا وزن برگ در بوته داشته باشد که در این مطالعه جدول همبستگی گواه موضوع است (جدول ۳). ساقه گیاه نیز پل ارتباطی اندام هوایی و زیرزمینی، ذخیره‌گاه مواد غذایی و محل نگهداری برگ، گل و میوه است. بنابراین عملکرد یا وزن ساقه بیشتر گیاه، معمولاً برگ بیشتری را تولید کرده که همبستگی مثبت بسیار معنی دار بین شاخص‌های وزن ساقه، ارتفاع ساقه و وزن برگ در این مطالعه صحه‌ای بر این مطلب است. در این بررسی در نگاه اول به برهم کنش مشخص می‌گردد که در شرایط فراهمی رطوبت به نظر می‌رسد که گیاهان برای تولید ساقه قویتر و بلندتر تحریک می‌شوند و یا اینکه به اقتضای ساقه قویتری تولید می‌کنند. برهم کنش سطوح رطوبتی در ۹۰٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان و الیسیتورها نشان می‌دهد که اختلاف معنی داری بین تیمارهای وزن برگ بیشتر از ساقه است که این به دلیل حساسیت بیشتر برگ به عوامل تنش‌زا نسبت به ساقه می‌باشد. در سطح رطوبتی ۶۵٪ روند افزایش و کاهش وزن برگ و ساقه خیلی زیاد نبود و بیشتر تیمارها همپوشانی داشتند اما اختلاف معنی داری در بین تیمارها در سطح تأمین ۴۰٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان مشاهده شد که می‌تواند دلیلی بر کارایی بیشتر بعضی از تیمارها باشد.

اثر کاهش وزن خشک برگ و ساقه تحت تأثیر تنش رطوبتی در گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) (Rassam et al., 2014)، مرزه (*Satureja hortensis*) (Miranshahi & Sayyari, 2016) و جعفری (*Petroselinum crispum*) (Petropoulos et al., 2008) گزارش شده است. براساس گزارش‌های موجود، تعدیلات سطح برگ در زمان تنش خشکی راهکار گیاه در برابر عوامل تنش‌زا بوده که بتواند آب داخل گیاه و محیط ریشه را تنظیم نماید (Blum, 1996).

#### عملکرد و درصد اسانس برگ

این مطالعه نشان داد که تنش ملایم (سطح تأمین رطوبت در ۶۵٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان) باعث فعال کردن واکنش‌های بیوشیمیایی برای تولید درصد اسانس بیشتر در



- Thesis, Department of Agronomy & Plant Breeding University of Birjand, Birjand.
- Asllani, U. and Toska, V., 2003. Chemical composition of Albanian Thyme oil (*Thymus vulgaris* L.). Journal of Essential Oil Research, 15: 165-167.
  - Atal, C.K. and Kapur, B.M., 1982. Cultivation and Utilization of Medicinal Plants. Regional Research Laboratory, Council of Scientific and Industrial Research, Jammu-Tawi, 877p.
  - Babaie, K., Jabbari, R., Amini Dehaghi, M.A. and Modares Sanavi, M., 2010. Water deficit effect on morphology, proline content and thymol percentage of Thyme (*Thymus vulgaris* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 26(2): 239-251.
  - Barker, D.G., Sullivan, C.Y. and Moser, L.E., 1993. Water deficit effects on osmotic potential, cellwall elasticity, and proline in five forage grasses. Agronomy Journal, 85: 270-275.
  - Bates, L.S., Waldern, R.P. and Tear, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, 39: 207-207.
  - Blackman, S.A., Obendorf, R.L. and Lepold, A.C., 1995. Desiccation tolerance in developing soybean seeds: The role of stress proteins. Plant Physiology, 93: 630-638.
  - Blum, A., 1996. Crop response to drought and the interpretation adaptation. Plant Growth Regulation, 20: 135-148.
  - Bonfante, P., 2009. Symbiotic Fungi: Principles and Practice (Vol. 18). Springer Heidelberg Dordrecht, London New York, 373p.
  - Cabuslay, G.S., Ito, O. and Alejar, A.A., 2002. Physiological evaluation of responses of rice (*Oryza sativa* L.) to water deficit. Plant Science, 163: 815-827.
  - Crowe, J.H. and Crowe, L.M., 1992 Membrane integrity in anhydrobiotic organisms: toward a mechanism for stabilizing dry cells: 87-103. In: Somero, G.N., Osmond, C.B. and Bolis, C.L., (Eds.). Water and Life. Springer, Berlin, Heidelberg, 371p.
  - Dell-Valle, E.M., 2003. Cyclodextrins and their uses: a review. Process Biochemistry, 39(9): 1033-1046.
  - Gallego, A., Imseng, N., Bonfill, M., Cusido, R.M., Palazon, J., Eibl, R. and Moyano, E., 2015. Development of a hazel cell culture-based paclitaxel and baccatin III production process on a benchtop scale. Journal of Biotechnology, 195: 93-102.
  - Ghaderi, A.A., 2015. Effects of salicylic acid and jasmonic acid on morphological and physiological traits of medicinal plant *Thymus vulgaris* L. under drought stress. M.Sc thesis. Department of Horticulture and Landscape University of Zabol, Zabol.
  - Ghassemian, M., Lutes, J., Chang, H., Lange, I., Chen, W., Zhu, T., Wang, X. and Lange, B.M., 2008. Abscisic acid-induced modulation of metabolic and
- حساسیت بالا نیاز به آزمایش‌های بیشتر با غلظت‌های مختلف بالاتر و پایین‌تر از غلظت مورد استفاده در این بررسی دارد. برای رسیدن به نتیجه مطلوب علاوه بر آزمایش‌های مقدماتی، نیاز به اجرای آزمایش در سطح پایلوت نیز خواهد بود.
- ### سپاسگزاری
- از مسئولان محترم دانشگاه بیرجند به دلیل حمایت‌های علمی و مالی و همکاران محترم مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی به علت در اختیار گذاشتن امکانات گلخانه‌ای و آزمایشگاهی کمال تشکر و قدردانی را داریم.
- ### منابع مورد استفاده
- Acharya, B.R. and Assmann, S.M., 2009. Hormone interactions in stomatal function. Plant Molecular Biology, 69(4): 451-462.
  - Alavi-Samani, S.M., Ataei Kachouei, M. and Ghasemi Pirbalouti, M., 2015. Growth, yield, chemical composition, and antioxidant activity of essential oils from two thyme species under foliar application of jasmonic acid and water deficit conditions. Horticulture, Environment and Biotechnology, 56(4): 411-420.
  - Anjum, S., Wang, L., Xiao-yuie, X., Long-chang, W., Muhammad Saleem, F., Chen, M. and Wang, L., 2011. Brassinolide application improves the drought tolerance in maize through modulation of enzymatic antioxidants and leaf gas exchange. Journal of Agronomy and Crop Science, 197(3): 177-185.
  - Asada, K., 1999. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 50: 601-639.
  - Asif, M., Saleem, M., Saadullah, M., Yaseen, H.S. and Al-Zarhour, R., 2020. COVID-19 and therapy with essential oils having antiviral, anti-inflammatory, and immunomodulatory properties. Inflammopharmacology. 28(5): 1153-1161.
  - Askary, M., Behdani, M.A., Parsa, S., Mahmoodi, S. and Jami Al-Ahmadi, M., 2018. Water stress and manure application affect the quantity and quality of essential oil of *Thymus daenensis* and *Thymus vulgaris*. Industrial Crops and Products, 111: 336-344.
  - Askary, M., 2017. Evaluation of some morpho-physiological and phytochemical traits of *Thymus vulgaris* L. and *Thymus daenensis* L. species in drought conditions and the use of manure. Ph.D.

- morphological and biochemical characteristics of purple Basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Biological Science*, 6: 763-767.
- Moradi, P., 2016. Key plant products and common mechanisms utilized by plants in water deficit stress responses. *Botanical Sciences*, 94: 1-15.
  - Nikolic, M., Glamoclija, J., Ferreira, I., Calhelha, R., Fernandes, A., Markovic, T., Markovic, D., Giweli, A. and Sokovic, M., 2014. Chemical composition antimicrobial antioxidant and antitumor activity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut and *Thymus vulgaris* L. essential oils. *Industrial Crops and Products*, 52: 183-190.
  - Oksman-Caldentey, K.M. and Inze, D., 2004. Plant cell factories in the post-genomic era: new ways to produce designer secondary metabolites. *Trends Plant Science*, 9: 433-440.
  - Omidbagi, R., 1995. *Production and Processing of Medicinal Plants*. Fekr-e- Ruz Publications, Tehran, 283p.
  - Onrubia, M.A., 2012. *Molecular Approach to Taxol Biosynthesis*. Ph.D. Thesis Universitat Pompeu Fabra Barcelona Spain.
  - Petropoulos, S.A., Dimitra, D., Polissiou, M.G. and Passam, H.C., 2008. The effect of water deficit stress on the growth, yield and composition of essential oils of parsley. *Scientia Horticulturae*, 115: 393-397.
  - Prasanth Reddy, V., Ravi Vital, K., Varsha, P.V. and Satyam, S., 2014. Review on *Thymus vulgaris* traditional uses and pharmacological properties. *Medicinal Aromatic Plants*, 3(3): 164.
  - Premachandra, G.S., Saneoka, H. and Ogata, S., 1989. Nutriophysiological evaluation of polyethylen glycol test of cell membrane stability in maize. *Crop Science*, 29: 1287-1292.
  - Rassam, G., Dadkhah, A. and Khoshnood-Yazdi, A., 2014. Evaluation of water deficit on morphological and physiological traits of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.). *Iranian Journal of Agronomy Knowledge*, 5(10): 1-12.
  - Razavizadeh, R., Shafeghat, M. and Najafi, S., 2014. Effect of water deficit on morphological and physiological parameters of *Carum copticum*. *Iranian Journal of Plant Biology*, 22: 25-38.
  - Rey, C., 1995. Directfield sowing of thyme (*Thymus vulgaris*). *Horticultural Science Abstracts*, 65(8): 1375.
  - Ritchie, S.W., Nguyen, H.T. and Holaday, A.S., 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science*, 30: 105-111.
  - Rubio, V., Bustos, R., Luisa, M.L., Irigoyen, X., Cardona-Lopez, Rojas-Triana, M. and Paz-Ares, J., 2009. Plant hormones and nutrient signaling. *Plant Molecular Biology*, 69: 361-373.
  - Sabater-Jara, A.B., Onrubia, M., Moyano, E., Bonfill, M., Palazón, J., Pedreño, M.A. and Cusidó, R.M., 2014. redox control pathways in *Arabidopsis thaliana*. *Phytochemistry*, 69(17): 2899-2911.
  - Gomi, K., 2020. Jasmonic acid: an essential plant hormone. *International Journal of Molecular Sciences*. 21(4): 1261.
  - Hashemi, S., 2016. Evaluation the effect of coronatine pretreatment on stress zinc oxide synthesized by olive and aloe vera on soybean plant. Ph.D. Thesis, Department of Biology, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman.
  - Hornok, L., 1988. Effect of environmental factors on the production of some essential oil plants. *Developments in Food Science*, 18: 129-140.
  - Jamzad, Z., 2009. *Thymus* and *Satureja* species of Iran. Research Institute of Forests and Rangelands, 171p.
  - Kafi, M., Borzoe, A., Salehi, M., Kamandi, A., Masoumi, A. and Nabati, J., 2014. *Physiology of Environmental Stresses in Plants*. Jahad Daneshgahi Mashhad, 502p.
  - Karpets, Y.V., Kolupaev, Y.E., Lugovaya, A.A. and Oboznyi, A.I., 2014. Effect of jasmonic acid on the pro-/antioxidant system of wheat coleoptiles as related to hyperthermia tolerance. *Russian Journal of Plant Physiology*, 61(9): 339-346.
  - Keramat, B. and Daneshmand, F., 2012. Dual role of methyl jasmonate in physiological responses of soybean (*Glycine max* L.) plant. *Journal of Plant Process and Function*, 1(1): 26-38.
  - Klarzynski, O. and Friting, B., 2001. Stimulation of plant natural defenses. *Comptes Rendus Biologies Academic Science*. 324(10): 953-963.
  - Letchamo, W. and Gosselin, A., 1995. Effects of HPS supplemental lighting and soil water levels on growth, essential oil content and composition of two thyme (*Thymus vulgaris* L.) clonal selections. *Canadian Journal Plant Science*, 75: 231-238.
  - Littleson, M.M., Russell, C.J., Frye, E.C., Ling, K.B., Jamieson, C. and Watson, A.J.B., 2016. Synthetic approaches to coronafacic acid, coronamic acid, and coronatine. *Synthesis*, 48(20): 1-18.
  - Mattioni, C., Lacerenza, N.G., Troccoli, A., De-Leonardis, A.M. and Di-Fonzo, N., 1997. Water and salt stress-induced alteration in proline metabolism of *Triticum durum* seed-lings. *Physiologia Plantarum*, 101(4): 787-792.
  - Ministry of Health and Medical Education, 2021. Medical equipment department of Iran. <https://www.fda.gov.ir/fa>
  - Miranshahi, B. and Sayyari, M., 2016. Methyl jasmonate mitigates drought stress injuries and affects essential oil of summer savory. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 18(6): 1635-1645.
  - Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sciences*, 7: 405-410.
  - Moein Alishah, H., Heidari, R., Hassani, A. and Asadi-Dizaji, A., 2006. Effect of water stress on some

- Rakesh, T., 2001. Preliminary observations on the effect of irrigation frequency and on yield and alkaloid concentration in petriwinkle. *Journal of Medicine and Aromatic Plant Science*, 22: 356-358.
- Stahl-Biskup, E. and Sáez, F., 2002. *Thyme: the genus Thymus*. London: Taylor & Francis, 348p.
- Sueldo, R. J., Invernati, A., Plaza, S.G. and Barassi, C.A., 1996. Osmotic stress in wheat seedlings: effects on fatty acid composition and phospholipid turnover in coleoptiles. *Cereal Research. Communication*, 24: 77-84.
- Taiz, L. Zeiger, E., Moller, I.M. and Murphy, A., 2015. *Plant Physiology and Development*. Sinauer Associates, Sunderland, CT, 761p.
- Thoma, I., Loeffler, C., Sinha, A.K., Gupta, M., Krischke, M., Steffan, B., Roitsch, T. and Mueller, M.J., 2003. Cyclopentenone isoprostanes induced by reactive oxygen species trigger defense gene activation and phytoalexin accumulation in plants. *The Plant Journal*, 34: 363-375.
- Wang, B., Li, Z., Eneji, E.A., Tian, X., Zhai, Z., Li, J. and Duan, L., 2008. Effects of coronatine on growth gas exchange traits chlorophyll content antioxidant enzymes and lipid peroxidation in maize (*Zea mays* L.) seedling under simulated drought stress. *Plant Production Science*, 11(3): 283-290.
- Wang, J., Song, L., Gong, X., Xu, J. and Li, M., 2020. Functions of jasmonic acid in plant regulation and response to abiotic stress. *International Journal of Molecular Science*, 21(4): 1446.
- Wani, A.R., Yadav, K., Khursheed, A. and Rather, M.A., 2020. An updated and comprehensive review of the antiviral potential of essential oils and their chemical constituents with special focus on their mechanism of action against various influenza and coronaviruses. *Microbial Pathogenesis*, 152: 104620.
- Wasternack, C. and Parthier, B., 1997. Jasmonate-signalled plant gene expression. *Trends Plant Science*, 2: 302-307.
- Zare Dehabadi, S., 2013. Evaluation the effects of coronatine and sodium nitroprusside pretreatment in reduction of oxidative stress induced by arsenic as heavy metal and change in some secondary metabolites in *Ocimum basilicum* L. Ph.D. Thesis, Department of Biology, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman.
- Synergistic effect of cyclodextrins and methyl jasmonate on taxane production in *Taxus x media* cell cultures. *Plant Biotechnology Journal*, 12: 1075-1084.
- Salimi, F. and Shekari, F., 2012. The effects of methyl jasmonate and salinity on some morphological characters and flower yield of German chamomile (*Matricaria chamomilia* L.). *Iranian Journal of Plant Biology*, 4(11): 27-38.
- Sanchez, F.J., Manzanares, M., Andres, E.F., Tenorio, J.L. and Ayerbe, L., 1998. Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. *Field Crop Research*, 59(3): 225-235.
- Sardari, S., Mobaien, A., Ghassemifard, L., Kamali, K. and Khavasi, N., 2021. Therapeutic effect of thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil on patients with covid19: A randomized clinical trial. *Journal of Advances in Medical and Biomedical Research*, 29(133): 83-91.
- Sefidkon, F. and Askari, F., 2002. Essential oil composition of 5 *Thymus* species. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 12(1): 29-51.
- Shanon, M.C., 1997. Genetic of salt tolerance in high plants: 265-289. In: Jaiwal, P.K., Singh, R.P. and Gulati, A., *Strategies for Improving Salt Tolerance in High Plants*. Oxford Publishing Co. Pvt. New Delhi. 443p.
- Sharma, A., Shahzad, B., Kumar, V., Kohli, S.K., Sidhu-Gagan, P.S., Bali-Aditi, S., Handa, N., Kapoor, D., Bhardwaj, R. and Zheng, B., 2019. Phytohormones regulate accumulation of osmolytes under abiotic stress. *Biomolecules*, 9(7): 285.
- Shi, D. and Sheng, Y., 2005. Effects of various salt-alkaline mixed stress conditions on sunflower seedling and analysis of their stress factors. *Environmental and Research Botany*, 54: 8-21.
- Siddique, K.H.M., Walton, G.H. and Seymour, M., 1993. A comparison of seed yields of winter grain legumes in western australia. *Australian Journal of Express Agriculture*, 33: 915-922.
- Sreevalli, Y., Baskaran, K., Chandrashekara, R., kuikkarni, R., SuShil Hasan, S., Samresh, D., Kukre, J., Ashok., A., Sharmr Singh, K., Srikant, S. and

## Response of *Thymus vulgaris* L. to coronatine, methyl jasmonate, and cyclodextrin at different levels of moisture supply under greenhouse conditions

A.K. Negari<sup>1</sup>, M. Jami Al-Ahmadi<sup>2\*</sup> and G. Zamani<sup>3</sup>

- 1- Ph.D. student, Agronomy Department, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Iran; Researcher of Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mashhad, Iran
- 2\*- Corresponding author, Faculty member, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran; Plant and Environmental Stresses Research Group, University of Birjand, Birjand, Iran, E-mail: mjamialahmadi@birjand.ac.ir
- 3- Faculty member, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran; Plant and Environmental Stresses Research Group, University of Birjand, Birjand, Iran

Received: August 2021

Revised: November 2021

Accepted: November 2021

### Abstract

Medicinal plants are a rich and valuable source of secondary metabolites that are strongly influenced by the environmental factors, especially drought stress. In this regard, a greenhouse experiment was conducted on *Thymus vulgaris* L. as split plots in a randomized complete block design with three replications. The main plot included three levels of moisture supply (40, 65, and 90% of potting soil field capacity (FC)) and the sub-plot was the elicitors levels including (1) control: without elicitor, (2) 150  $\mu$ M cyclodextrin (CYC), (3) 75 nM coronatine (COR) + 150  $\mu$ M CYC, (4) 150 nM COR + 150  $\mu$ M CYC, (5) 150  $\mu$ M methyl jasmonate (MJ) + 150  $\mu$ M CYC, and (6) 300  $\mu$ M MJ + 150  $\mu$ M CYC. Except for the essential oil percentage, the other traits including the leaves proline content, electrolyte leakage, relative water content, plant height, canopy diameter, dry and fresh weight of shoots, dry weight of leaves and stems, and weight of essential oil had a very significant correlation with each other. The highest amount of leaves proline was obtained from the interaction of elicitors (levels 4 and 6) and the 40% FC level of moisture supply (3.88 and 3.94  $\mu$ mol g<sup>-1</sup> fresh leaf weight, respectively). The highest amount of plant height (28.3 cm), canopy diameter (17 cm), and relative water content (79%) was observed at the 90% FC level of moisture supply. The highest percentage of essential oil was obtained in the treatment of non-application of elicitor (2.67%) and the highest essential oil weight per plant (0.092 g plant<sup>-1</sup>) was observed in the treatment of non-application of elicitor at the 65% FC level of moisture supply. The mild stress increased the essential oil yield and the elicitor treatments decreased it.

**Keywords:** Essential oil, stress, medicinal plants, secondary metabolites, plant hormones.