

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

صدیقه فابریکی اورنگ*^۱ و هانیه سادات شهاب زاده^۲

۱ و ۲. استادیار و دانشجوی کارشناسی ارشد گروه اصلاح نباتات، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

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

چکیده

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

واژه‌های کلیدی: خشکی، سالیسیلیک‌اسید، مامیران، و متیل‌جاسمونات.

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

Sedigheh Fabriki-Ourang^{1*} and Haniyeh-Sadat Shahabzadeh²

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

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

ABSTRACT

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

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

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

مقدمه

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

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

سالیسیلیک‌اسید که نقشی کلیدی در ایجاد مقاومت گیاهان به تنش آب دارد از ترکیبات تنظیم‌کننده‌ی رشد و ترکیبات فنلی در گیاهان محسوب می‌شود، که نقش بسیار مهمی در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه و در تنش‌های محیطی اثر محافظتی داشته و موجب بهبود روند رشد در گیاه می‌گردد (Fathi et al., 2015). با این حال برخی از مطالعات نشان داده‌اند که تاثیر سالیسیلیک‌اسید خارجی به عوامل گوناگونی مانند نوع گونه، مرحله‌ی نمو گیاه، روش کاربرد و غلظت سالیسیلیک‌اسید بستگی دارد (Horvath et al., 2007). جاسمونیک‌اسید و متیل‌استرها (متیل جاسمونات) که در حالت کلی به جاسمونات‌ها معروف

هستند، ترکیبات ویژه‌ای از سیکلوپنتان حلقوی و مشتقات لینولئیک‌اسید هستند و از مسیر بیوسنتزی اکتادکانوئید تولید می‌شوند که با تغییر در میزان بیان ژن‌ها، اثر تنش‌های محیطی را کم می‌کنند (Creelman et al., 1992). تاثیر متیل‌جاسمونات‌ها بر تنش‌های خشکی، سرما، شوری و در مقابله با پاتوژن‌ها و حشرات مشخص شده است (Yu et al., 2001). گزارشات دیگری نیز نقش سالیسیلیک‌اسید را جهت برطرف کردن اثرات تنش خشکی و بهبود رشد گیاه به اثبات رسانده‌اند (Senaratan et al., 2000). نتایج آزمایش تاثیر تنش خشکی بر فعالیت آنتی-اکسیدانی در گیاه دارویی قره‌داغ (*Nitraria schober*) نشان داد که سالیسیلیک‌اسید باعث مهار فعالیت کاتالاز و تحریک فعالیت آنزیم پراکسیداز گردید که این رویداد می‌تواند منجر به افزایش H_2O_2 شود که به‌عنوان ملکول سیگنالی در ایجاد مقاومت دخالت دارد و همچنین به‌عنوان پیش‌ماده‌ای برای فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌کار رود (Bayan et al., 2014). در آزمایشی دیگر آسکوربات با هدف کنترل تنش اکسیداتیو در تحمل به کمبود آب گیاه انیسون (*Pimpinella anisum* L.) به‌کار گرفته شد. با پیشرفت تنش، محتوای کلروفیل کم شد، در حالی که مقدار فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها افزایش یافت. آسکوربات، میزان کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها را افزایش داد، اما میزان فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها را کاهش داد و تاثیر چشمگیری در افزایش ترکیب‌های فنلی کل اندام‌ها در تمام سطوح داشت.

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

ماسه با نسبت ۳:۱ (ماسه : خاک) بود. ظرفیت زراعی هر گلدان بر اساس میزان آب داده شده به هر گلدان طی اعمال تنش بر اساس اختلاف وزن تر و خشک به دست آمده از خاک گلدان و نیز درصد تعیین شده (۵۰ و ۱۰۰ درصد) صورت گرفت. شرایط رشدی گلخانه با دوره نوری ۱۶:۸ (روشنایی: تاریکی) و شرایط دمایی ۲۵-۲۰ درجه سلسیوس در حد مطلوب برای رشد گیاهچه‌ها بهینه گردید. پس از رشد و استقرار گیاهان اعمال تیمارها در مرحله رویشی گیاه (گیاهان ۵۰ روزه) انجام شد. طول دوره اعمال تنش خشکی به مدت ۱۸ روز بود و هورمون‌های متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک‌اسید هم به صورت محلول-پاشی و هم به صورت مخلوط با آب آبیاری در دو سری متوالی به فاصله چهار روزه در هشت روز انتهائی دوره تنش خشکی به گیاهان تنش دیده و عدم تنش داده شد. پس از اعمال تیمارهای آزمایش، نمونه‌گیری از اندام‌های ریشه، ساقه و برگ مربوط به پنج بوته هر گلدان جداگانه انجام و از نمونه‌های مخلوط شده برای اندازه‌گیری صفات استفاده شد. صفات اندازه‌گیری شده شامل میزان آنتی‌اکسیدان‌های کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز، گایاکول‌پراکسیداز، پروتئین کل، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید، فلاونوئید و آنتوسیانین بودند. تهیه عصاره آنزیمی: نیم گرم بافت تازه از سه اندام ریشه، ساقه و برگ با استفاده از نیتروژن مایع کوبیده شده و عصاره آنزیمی تهیه و سنجش‌های آنزیمی و پروتئینی مورد استفاده قرار گرفت. سنجش محتوای پروتئین کل و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: محتوای پروتئین کل با استفاده از روش بردفورد با استفاده از آلبومین سرم گاوی (BSA) به عنوان یک استاندارد تعیین شد. میزان سوپراکسیددیسموتاز (SOD) به وسیله اندازه‌گیری توانایی آن در ممانعت از کاهش فیتوشیمیایی NBT و میزان کاتالاز (CAT) به وسیله اندازه‌گیری از بین رفتن هیدروژن پراکسید مورد سنجش قرار گرفتند.

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

سنجش کلروفیل و کاروتنوئید: میزان کلروفیل و کاروتنوئید از طریق مقدار جذب در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵، ۴۸۰ و ۵۱۰ نانومتر قرائت گردیده و از روابط

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

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

مواد و روش‌ها

جهت مطالعه اثرات سالیسیلیک‌اسید و متیل‌جاسمونات بر آنتی‌اکسیدان‌ها و صفات فیزیولوژیکی-بیوشیمیایی مامیران کبیر تحت تنش خشکی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در سال ۹۶-۱۳۹۵ در گلخانه و آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه بین-المللی امام خمینی (ره) انجام شد. سه فاکتور مورد مطالعه شامل تنش خشکی در دو سطح (۱۰۰ درصد و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی خاک)، فاکتور هورمون در سه سطح (بدون هورمون (آب مقطر)، متیل‌جاسمونات ۱۰۰ میکرومولار و اسیدسالیسیلیک ۲ میلی‌مولار) و فاکتور اندام گیاهی در سه سطح (برگ، ساقه و ریشه) بودند. بذر مامیران کبیر از موسسه جنگل‌ها و مراتع کشور تهیه و در گلدان‌ها کشت گردیدند. هر واحد آزمایشی شامل یک گلدان پلاستیکی و محتوای هر گلدان نیز شامل مخلوطی از خاک زراعی و

فعالیت آنزیم‌های CAT، GPX و APX کاهش یافت. در اندام ریشه فعالیت آنزیم GPX تحت تنش خشکی افزایش نشان داد. مقایسه میانگین اثر متقابل تنش × الیستور (شکل ۲) نشان داد که تیمار متیل‌جاسمونات باعث افزایش میزان آنزیم GPX در هر دو شرایط تنش خشکی و عدم تنش شد، همچنین متیل‌جاسمونات هنگام تنش خشکی فعالیت SOD را نسبت به شرایط عدم تنش افزایش داد. در اثر تیمار سالیسیلیک‌اسید میزان آنزیم‌های SOD و APX تحت تنش خشکی نسبت به عدم تنش کاهش یافتند؛ در حالی که در تیمار بدون هورمون، خشکی باعث افزایش میزان آنزیم SOD شده است؛ بنابراین به‌نظر می‌رسد تیمار سالیسیلیک‌اسید به‌عنوان تعدیل‌کننده اثر تنش خشکی باعث شده است که گیاه نیاز به افزایش آنزیم‌های SOD و APX برای مقابله با اثرات سوء تنش نداشته باشد (شکل ۲).

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

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

تجزیه واریانس صفات به صورت فاکتوریل (بافت+تنش+الیستور) در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی (CRD) در چهار تکرار انجام گرفت و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن بررسی شد. برای تجزیه داده‌های آماری از نرم‌افزارهای MSTATC و SPSS و برای ترسیم شکل‌ها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) اثرات اصلی تنش خشکی، اندام و نوع الیستور (سالیسیلیک‌اسید و متیل‌جاسمونات) و اثرات متقابل بین آنها از نظر تمام آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (به جز اثر اصلی خشکی و اثر متقابل تنش × الیستور برای گایاکول‌پراکسیداز) در سطوح احتمال ($P \leq 0.01, 0.05$) معنی‌دار شدند.

با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها بیشترین میزان آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و آسکوربات-پراکسیداز به ترتیب در ساقه، برگ و ریشه و بیشترین میزان پروتئین کل در ریشه و سپس در برگ مشاهده گردید. هر دو تیمار متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک‌اسید باعث کاهش میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان SOD، CAT و APX شدند، در حالی که تیمار متیل‌جاسمونات باعث افزایش فعالیت آنزیم GPX شد. همچنین تیمار سالیسیلیک‌اسید باعث افزایش ۳۴ درصدی محتوای پروتئین کل نسبت به تیمار عدم کاربرد هورمون گردید. مقایسه میانگین اثر متقابل اندام × تنش (شکل ۱) نشان داد تنش خشکی در اندام برگ میزان فعالیت آنزیم‌های CAT و SOD را نسبت به عدم تنش، افزایش و میزان آنزیم GPX را کاهش داد. در اندام ساقه در تنش خشکی فعالیت آنزیم SOD افزایش و

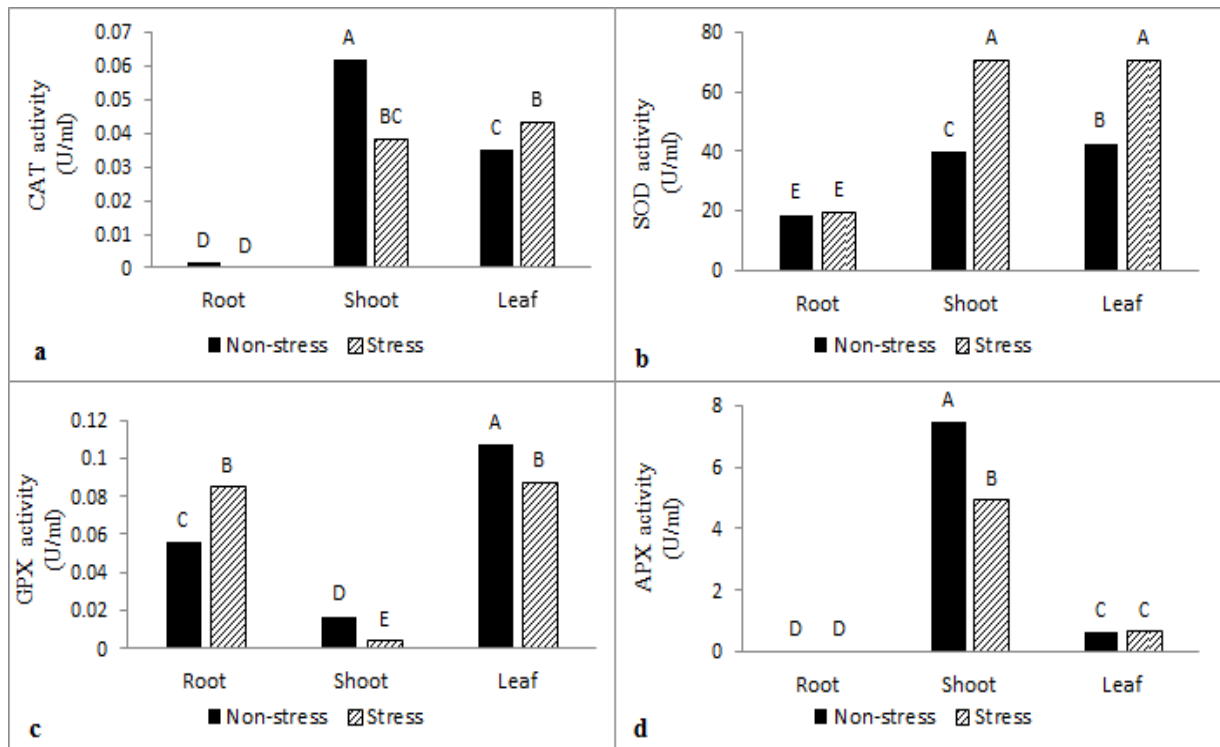
جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تنش خشکی، الیسیتور و اندام گیاهی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و صفات فیتوشیمیایی مامیران کبیر

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

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

ns, **, * و ***: به ترتیب اختلاف غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال یک و پنج درصد

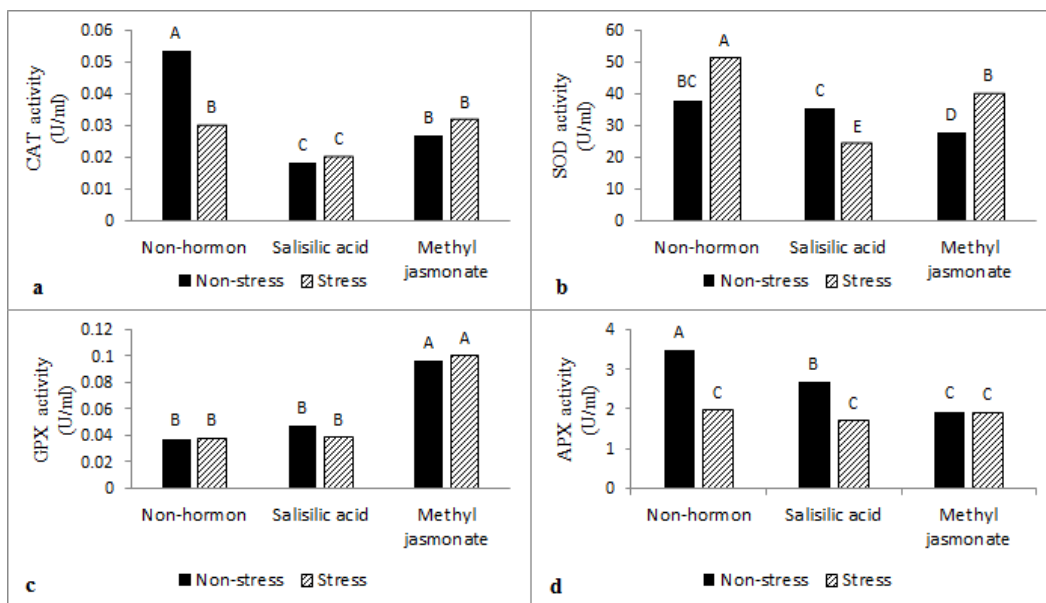
ns, * and **: non-significant and significant at P≤0.05, 0.01, respectively.



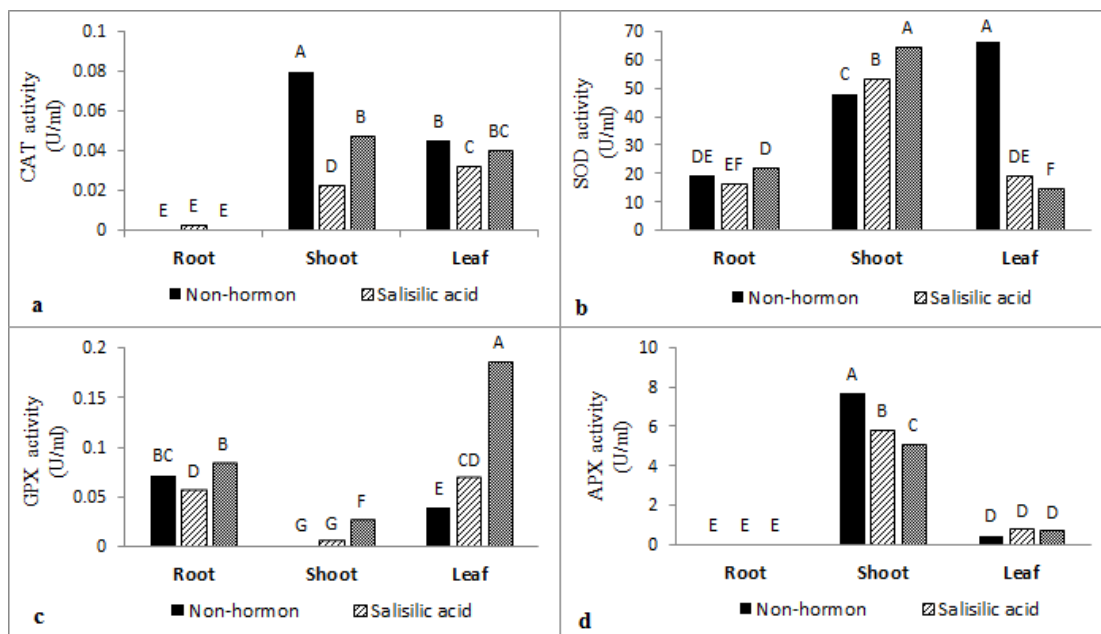
شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش × اندام در تغییرات میزان (a) کاتالاز، (b) سوپراکسید دیسموتاز، (c) گایاکول پروکسیداز، (d)

آسکوربات پراکسیداز در مامیران کبیر (حروف غیر مشابه روی هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن)

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



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش × الیستور در تغییرات میزان (a) کاتالاز، (b) سوپراکسیددیسموتاز، (c) گایاکول پروکسیداز، (d) آسکوربات پراکسیداز در مامیران کبیر (حروف غیر مشابه روی هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن) Figure 2. Mean comparison of stress × elicitor in the changes of a) Catalase, b) Superoxide dismutase, c) Guaiacol peroxidase, d) Ascorbate peroxidase in greater celandine (non-similar letters on each column indicate a significant difference based on Duncan's test)



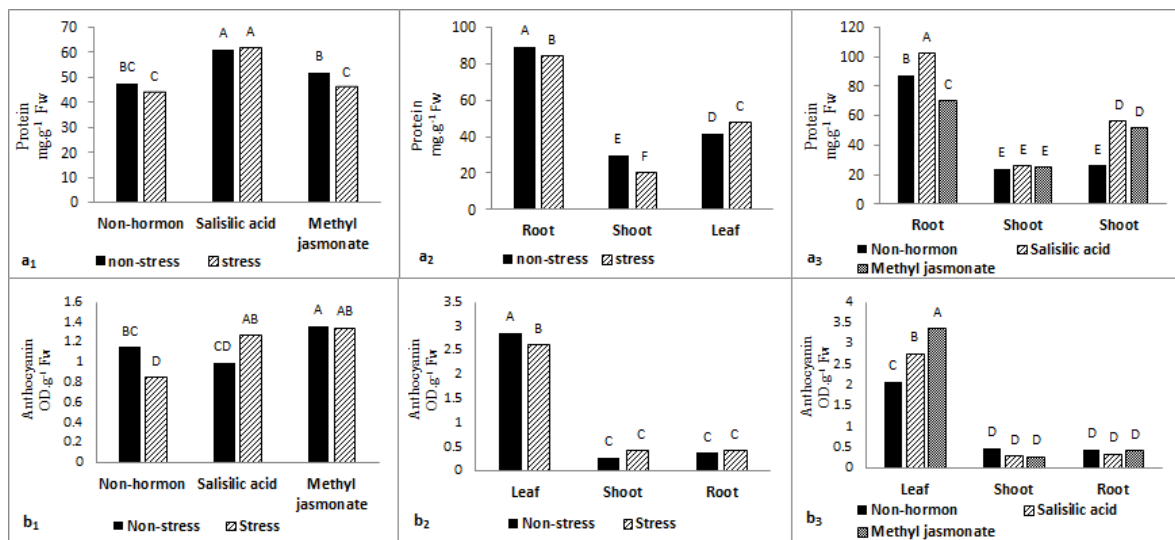
شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل الیستور × اندام در تغییرات میزان (a) کاتالاز، (b) سوپراکسیددیسموتاز، (c) گایاکول پروکسیداز، (d) آسکوربات پراکسیداز در مامیران کبیر (حروف غیر مشابه روی هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن) Figure 3. Mean comparison of organ × elicitor in changes of a) Catalase; b) Superoxide dismutase; c) Guaiacol peroxidase; d) Ascorbate peroxidase in greater celandine (non-similar letters on each column indicate a significant difference based on Duncan's test)

دوگانه و سه گانه آنها تاثیر معنی داری بر محتوای کلروفیل a، b، کلروفیل کل، کارتنوئید، فلاونوئید و

با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر ساده تنش خشکی، الیستور و اندام و همچنین اغلب اثرات

هورمون شدند. البته میزان اثر سالیسیلیک اسید در افزایش کلروفیل a، b و کلروفیل کل و کارتنوئید نسبت به متیل-جاسمونات بیشتر بود اما در مورد میزان افزایش فلاونوئید و آنتوسیانین تیمار متیل جاسمونات نقش بیشتری نسبت به سالیسیلیک اسید نشان داد.

آنتوسیانین داشتند. بر اساس مقایسه میانگین، خشکی باعث کاهش معنی دار کلروفیل b و افزایش کلروفیل a گردید، هر دو تیمار متیل جاسمونات و سالیسیلیک اسید موجب افزایش کلروفیل a، b، کلروفیل کل و میزان کارتنوئید، فلاونوئید و آنتوسیانین نسبت به تیمار عدم



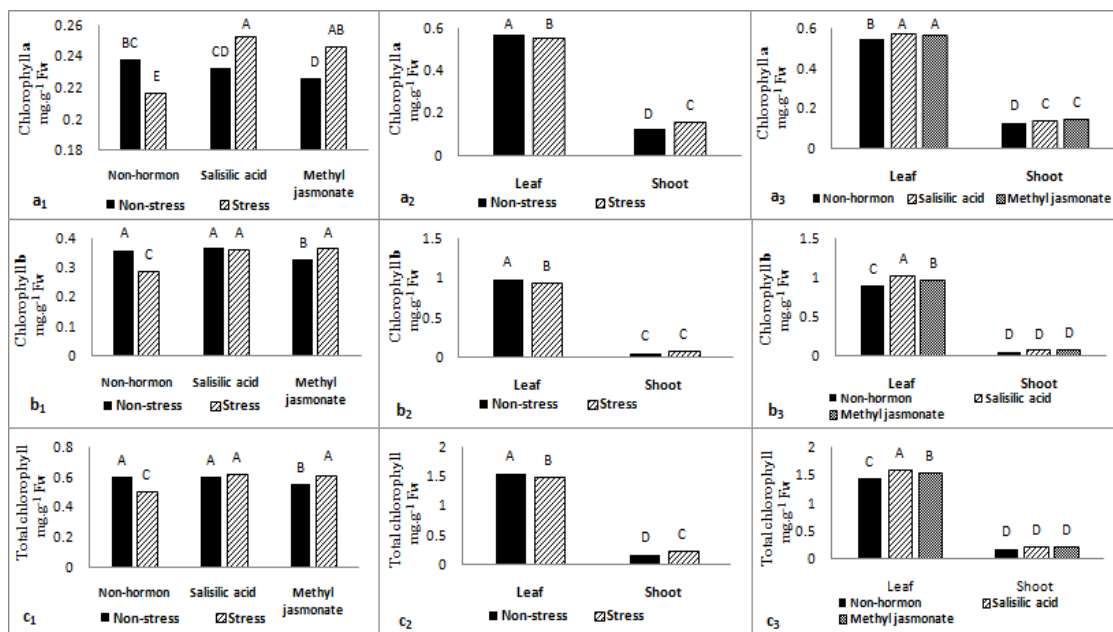
شکل ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش × الیسیاتور، تنش × اندام و الیسیاتور × اندام در تغییرات (a) پروتئین کل و (b) آنتوسیانین در مامیران کبیر (حروف غیر مشابه روی هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن)

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

نسبت به عدم تنش گردید؛ ولیکن سالیسیلیک اسید فقط باعث افزایش کلروفیل a شد. هر دو تیمار هورمونی متیل-جاسمونات و سالیسیلیک اسید باعث افزایش میزان کارتنوئید در سه اندام برگ، ساقه و ریشه شدند (شکل a3-). اما از نظر فلاونوئید هر دو تیمار هورمونی به جز افزایش در برگ باعث کاهش جزئی در ریشه و ساقه شدند (شکل b3-). همچنین سالیسیلیک اسید باعث کاهش معنی دار فلاونوئید در شرایط تنش نسبت به عدم تنش شد (شکل b1-). اما در مورد کارتنوئید هر دو تیمار متیل جاسمونات و سالیسیلیک اسید باعث افزایش و کاهش غیرمعنی داری در خشکی نسبت به عدم تنش شدند (شکل a1-). در شرایط تنش خشکی، افزایش غلظت پراکسید هیدروژن توسط فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز برای تجزیه پراکسید هیدروژن می شود، اما در شرایط بدون تنش به دلیل عدم تولید بیش از حد رادیکال-های آزاد اکسیژن، تولید پراکسید هیدروژن ناشی از یون

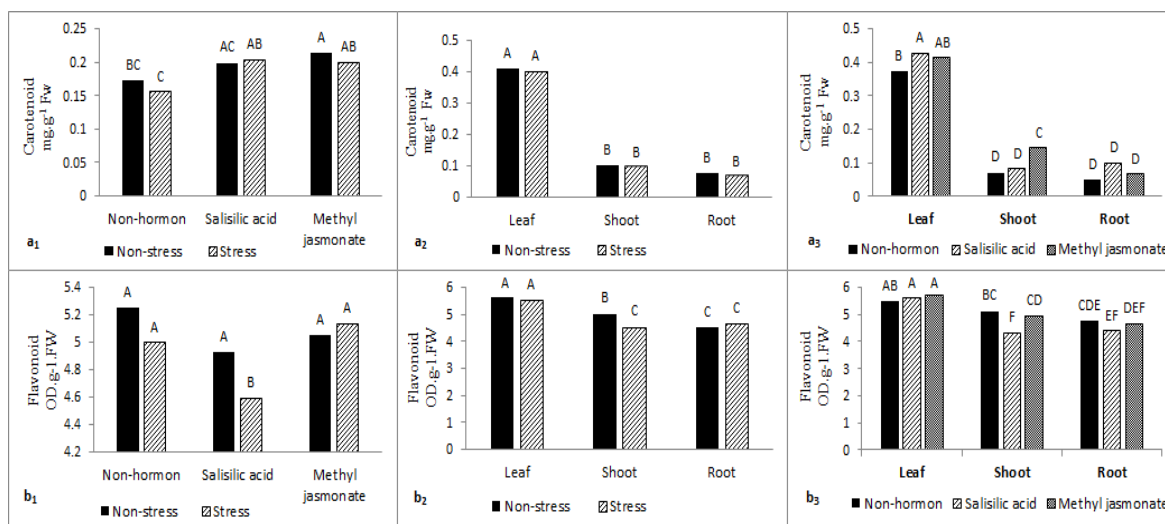
در مقایسه میانگین اثر متقابل اندام × تنش (شکل 5-a2، b2، c2) مشخص شد تنش خشکی باعث کاهش معنی دار میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل در برگ گردید، اما در ساقه (افزایش کم) و ریشه تغییر زیادی در مقدار آنها ایجاد نشد. همچنین محتوای کارتنوئید، فلاونوئید در اثر تنش خشکی در سه اندام (به جز فلاونوئید در ساقه) مورد مطالعه کاهش نشان ندادند. در مقایسه میانگین اثر متقابل اندام × الیسیاتور (شکل 5-a3، b3، c3) مشخص گردید هر دو تیمار متیل جاسمونات و سالیسیلیک اسید باعث افزایش کلروفیل a، b و کلروفیل کل در برگ شدند. تاثیر تیمار سالیسیلیک اسید در میزان افزایش کلروفیل b و کلروفیل کل بیشتر از متیل جاسمونات بود. در مقایسه میانگین اثر متقابل الیسیاتور × تنش (شکل 5-a1، b1، c1) مشاهده شد برخلاف تیمار عدم هورمون که تنش باعث کاهش کلروفیل a، b و کلروفیل کل شد، متیل جاسمونات باعث افزایش محتوای کلروفیل a، b و کلروفیل کل در تنش خشکی

سوپراکسید کاهش می یابد و در نتیجه فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش پیدا می کند (Bowler et al., 1992).



شکل ۵- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش×الیستور، تنش×اندام و الیستور×اندام در تغییرات میزان (a) کلروفیل A، (b) کلروفیل B و (c) کلروفیل کل در مامیران کبیر (حروف غیر مشابه روی هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن)

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



شکل ۶- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش×الیستور، تنش×اندام و الیستور×اندام در تغییرات محتوای کارنوئوئید (a1,a2,a3) و فلاونوئید (b1,b2,b3) در مامیران کبیر (حروف غیر مشابه روی هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن)

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

داشت، ولی افزایش فعالیت در آنزیم کاتالاز مشاهده نشد. در این مطالعه متیل جاسمونات و سالیسیلیک اسید،

در این آزمایش نیز میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در هنگام تنش خشکی نسبت به شاهد افزایش

کاهش اثرات تنش، از افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدان نظیر CAT و SOD جلوگیری می‌کند (Eskandari *et al.*, 2012). سلول‌های گیاهی برای مقابله با ROS تولیدشده تحت شرایط تنش دو راهکار اساسی را در پیش می‌گیرند، اولی کاهش ROS در کل ساختمان گیاه و دومی سازگاری فیزیولوژیکی با ROS می‌باشد. APX نقش کلیدی حفاظت سلول‌ها را با پاکسازی ROS در جلبک و گیاهان عالی بر عهده دارد. در این تحقیق، تحت تنش خشکی، تیمار سالیسیلیک‌اسید باعث کاهش فعالیت APX شد. همچنین هر دو تیمار متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک‌اسید باعث کاهش فعالیت APX نسبت به زمان عدم استفاده از هورمون شدند و بیشترین فعالیت APX به ترتیب در ساقه و برگ مشاهده شد. در پژوهشی گزارش شده میزان فعالیت آنزیم‌های CAT و APX در اندام هوایی و ریشه در تیمار با سالیسیلیک‌اسید پس از ۲۴ ساعت همراه با افزایش بود، ولی با گذشت ۴۸ ساعت فعالیت CAT و APX کاهش یافت. در همین پژوهش بر خلاف نتایج این آزمایش مقدار CAT و APX در تیمار با متیل‌جاسمونات افزایش یافته - است (Shabani & Ehsanpour, 2009). به نظر می‌رسد فاکتور زمان تاثیر مستقیم بر میزان فعالیت APX هنگام تیمار با سالیسیلیک‌اسید دارد. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان جزء پروتئین‌های پاسخ‌دهنده به تنش می‌باشند، که در نتیجه افزایش آنها پروتئین کل افزایش می‌یابد (Jung, 2004). در این تحقیق میزان پروتئین کل اندازه‌گیری شده در ریشه بیشتر از برگ و در برگ بیشتر از ساقه بود که سالیسیلیک‌اسید مقدار آن را در ریشه و برگ و متیل-جاسمونات مقدار آن را در برگ افزایش داد. افزایش میزان پروتئین در هنگام استفاده از متیل‌جاسمونات می‌تواند به-دلیل فعال شدن مسیر پروپانوییدی و در نتیجه سنتز بیشتر آنزیم‌های شرکت‌کننده در این مسیر و نیز آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی باشد (Rauf-Fard *et al.*, 2014). در توافق با نتایج این آزمایش، در گیاه آگاستا متیل‌جاسمونات با غلظت ۱ و ۰/۱ میلی مولار بعد از گذشت ۲۴ ساعت پس از اعمال تیمار محتوای پروتئین کل را نسبت به گیاه شاهد افزایش داد (Esfandiari *et al.*, 2010). در کلروپلاست‌ها، کاروتنوئیدها به‌عنوان رنگیزه کمکی عمل می‌کنند اما نقش مهم‌تر آنها نقش آنتی‌اکسیدانی آنها می‌باشد (Egert & Tevin, 2002). در این پژوهش تنش خشکی محتوای

فعالیت آنزیم کاتالاز را در ساقه و برگ کاهش دادند که این کاهش در تیمار سالیسیلیک‌اسید بیشتر بود. نتایج سایر آزمایشات نیز نشان داده است که سالیسیلیک‌اسید سبب کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در چند گونه گیاهی دیگر می‌شود (Senaratna *et al.*, 2000). همسو با کاهش آنزیم CAT در این تحقیق گزارش شده است که به‌طور معمول در شرایط تنش از میزان فعالیت کاتالاز کاسته می‌شود، در حالی که میزان فعالیت سایر آنزیم‌های دفاعی افزایش می‌یابد (Horvath *et al.*, 2000). نقش اصلی دفاعی در مقابل تنش اکسیداتیو را آنزیم SOD برعهده دارد. این آنزیم متعلق به متالوآنزیم‌ها می‌باشد که تبدیل رادیکال سوپراکسید به اکسیژن و پراکسید هیدروژن را سبب می‌شود. تنش سبب تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کلروپلاست و اندام‌های سلولی گیاه می‌گردد، که این رادیکال‌های آزاد اکسیژن به‌وسیله آنزیم SOD تبدیل به پراکسید هیدروژن می‌شود و سپس توسط APX و GR در کلروپلاست تبدیل به آب شود (Hausladen & Alscher, 1993). آنزیم GPX با اکسیداسیون ترکیبات فنلی نظیر گایاکول باعث سم‌زدایی و تجزیه آب اکسیژنه می‌شود که این آنزیم در دیواره سلولی، واکوئل و سیتوزول مشاهده می‌شود. گایاکول در واقع دهنده الکترون به پراکسید هیدروژن می‌باشد (Petrov & Breusegem, 2012). در این تحقیق بیشترین میزان فعالیت SOD و GPX به ترتیب در ساقه و برگ مشاهده شد و تنش خشکی باعث افزایش فعالیت SOD در ساقه و برگ شد ولی تاثیری بر میزان فعالیت این آنزیم در ریشه نداشت. همچنین تنش خشکی باعث افزایش فعالیت GPX در برگ و ریشه گردید ولی در ساقه کاهش یافت. در فعالیت آنزیم SOD تیمارهای سالیسیلیک‌اسید و متیل‌جاسمونات اثر مثبتی نداشتند ولی متیل‌جاسمونات باعث افزایش فعالیت GPX گردید. در توافق با این نتیجه، در آزمایشی متیل‌جاسمونات در گیاه آرابیدوپسیس باعث افزایش فعالیت GPX شده است (Jung, 2004). سالیسیلیک‌اسید سبب کاهش فعالیت آنزیم CAT و SOD نسبت شاهد در گیاه درمنه شده است، که همراستا با نتایج این آزمایش می‌باشد. این امر می‌تواند نتیجه این باشد که این ماده از طریق تولید ترکیبات آنتی-اکسیدان فنولیک، به‌طور مستقیم در از بین بردن رادیکال‌های آزاد نقش داشته و با پاکسازی این گونه‌های فعال و

نشان نداد. در تحقیقی بر روی مرزه نیز اختلاف معنی‌داری در میزان فلاونوئید تحت تنش خشکی مشاهده نشد (Fabriki-Ourang & Mehrabad-Pourbenab, 2016). همچنین در رابطه با اثر تنش خشکی بر گیاه دارویی همیشه‌بهار گزارش داده‌اند که با افزایش خشکی، طول ریشه، آنتوسیانین، کارتنوئید و کلروفیل کل، a و b افزایش یافته است (Jafarzadeh *et al.*, 2013). از طرفی دیگر برخلاف نتایج این آزمایش، تنش خشکی شدید و متوسط (۲۵ و ۶۰ درصد ظرفیت‌زرعی) در گیاه آنیسون باعث افزایش میزان فلاونوئید و آنتوسیانین شده است (Asadi *et al.*, 2009). در تحقیق حاضر متیل‌جاسمونات باعث افزایش مقدار آنتوسیانین نسبت به شاهد شد درحالی که سالیسیلیک‌اسید اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت. در این راستا تیمار ۲۰ میکرومولار سالیسیلیک‌اسید افزایش قابل توجهی بر میزان فلاونوئیدها در گیاه *Panax ginseng* داشت (Yu *et al.*, 2006).

نتیجه‌گیری کلی

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

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

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

در این آزمایش در اثر محلول‌پاشی سالیسیلیک‌اسید میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کارتنوئید به‌طور معنی‌داری افزایش نشان دادند. نتایج دیگر گزارشات اثر مثبت سالیسیلیک‌اسید بر رنگیزه‌های فتوسنتزی (Kang *et al.*, 2003) و غیرفتوسنتزی (کارتنوئید و گزانتوفیل) را تأیید می‌کنند (Kaydan *et al.*, 2007). همچنین گزارش شده است که اسپری برگی سالیسیلیک‌اسید در گیاه کلزا مقدار کارتنوئیدها را افزایش داد (Ghai *et al.*, 2002). در این تحقیق محلول‌پاشی متیل‌جاسمونات نسبت به عدم محلول‌پاشی اثر معنی‌داری را بر روی رنگیزه‌های فتوسنتزی نشان داد ولی این مقدار افزایش نسبت به تیمار سالیسیلیک‌اسید مقدار کمتری بود. احتمالاً تاثیر متیل‌جاسمونات بر مقدار رنگدانه‌ها ناشی از افزایش فعالیت ACC سنتتاز و بیوسنتز اتیلن است (See *et al.*, 2011). عامل محرک پیری و تخریب‌کننده کلروفیل (سنتز کلروفیل‌از) در گیاهان در اثر تیمار متیل‌جاسمونات القاء شده و سبب تخریب کلروفیل می‌شود و از آنجا که رنگدانه‌های کارتنوئید در بخش زیرین کلروفیل‌ها قرار گرفته‌اند، با تخریب و تجزیه کلروفیل بر اثر اتیلن القایی و متیل‌جاسمونات، رنگ کارتنوئید ظاهر می‌شود (Tsuchiya *et al.*, 1995). در این تحقیق محلول‌پاشی سالیسیلیک‌اسید و متیل‌جاسمونات به‌صورت جداگانه باعث افزایش کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کارتنوئید شدند. سالیسیلیک‌اسید از طریق افزایش توان آنتی‌اکسیدان‌های سلولی و سنتز پروتئین‌های جدید از دستگاه فتوسنتزی حمایت می‌کند (Alfonso & Martin-Mex, 2007). همچنین این ترکیبات آلی به‌دلیل داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی سبب جاروب کردن رادیکال‌های اکسیژن تولیدشده توسط تنش خشکی گردیده و در نتیجه میزان کلروفیل گیاه را افزایش می‌دهند (Ramroudi & Khamar, 2013). در این تحقیق تنش خشکی اثر معنی‌داری بر مقدار فلاونوئید و آنتوسیانین

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

REFERENCES

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

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