

نشریه پژوهشی:

## اثر تنش خشکی و محلول پاشی اسیدسالیسیلیک بر برخی صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک پنیرباد (*Withania coagulans* Dunal.)

سبیکه قرهچولو<sup>۱</sup>، فرشته نوراللهی<sup>۱</sup>، ابراهیم گنجی مقدم<sup>۲\*</sup> و مریم تاتاری<sup>۳</sup>

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه کشاورزی، واحد شیروان، دانشگاه آزاد اسلامی، شیروان، ایران

۲. دانشیار، بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران

۳. استادیار، گروه کشاورزی، واحد شیروان، دانشگاه آزاد اسلامی، شیروان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۲/۱۹ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۵/۳۱)

### چکیده

گیاه پنیرباد یکی از گونه‌های گیاهی با ارزش اقتصادی بالا است و کاربرد آن در فضای سبز، صنایع داروسازی، تثبیت شن‌های روان در مناطق کویری می‌باشد. با هدف بررسی اثر تنش خشکی و محلول پاشی اسیدسالیسیلیک بر خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک پنیرباد در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. از آزمایش فاکتوریل در دو عامل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار استفاده شد. عامل اول محلول پاشی اسیدسالیسیلیک در چهار سطح (صفر، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌مولار) و عامل دوم تنش خشکی در چهار سطح (۱۰۰، ۸۰، ۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی) بودند. نتایج نشان داد اثر تنش خشکی و اسیدسالیسیلیک بر صفات فیزیولوژیک (میزان پرولین، درصد نشت یونی، درجه سبزیگی و میزان فلورسانس کلروفیل) و صفات مورفولوژیک (ارتفاع بوته و سطح برگ) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین محتوای پرولین برگ (۳/۹۹ میکرومول بر گرم وزن تر) در تیمار اسیدسالیسیلیک ۱/۵ میلی‌مولار و تنش خشکی ۶۰ درصد ظرفیت زراعی به دست آمد. بیشترین درصد نشت یونی در تیمار شاهد و تنش خشکی ۴۰ درصد ظرفیت زراعی به دست آمد. نتایج این تحقیق نشان داد پنیرباد متحمل به خشکی بوده و اعمال تنش تا ۶۰ درصد ظرفیت زراعی را می‌تواند تحمل نماید. با توجه به ارزش اقتصادی این گیاه کاربرد اسیدسالیسیلیک نیز می‌تواند میزان تحمل به خشکی را افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، درصد نشت یونی، فلورسانس کلروفیل، وزن خشک اندام هوایی.

## Effect of drought stress and foliar application of salicylic acid on some morphological and physiological characters of withania (*Withania coagulans* Dunal.)

Sabike Ghreholo<sup>1</sup>, Fereshte Nurollahi<sup>1</sup>, Ebrahim Ganji Moghadam<sup>2\*</sup> and Maryam Tatari<sup>3</sup>

1. M.Sc. Graduate, Department of Agriculture, Shirvan Branch, Islamic Azad University, Shirvan, Iran

2. Associate Professor, Crop and Horticultural Science Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center (AREEO), Mashhad, Iran

3. Assistant Professor, Department of Agriculture, Shirvan Branch, Islamic Azad University, Shirvan, Iran

(Received: May 09, 2019 - Accepted: Aug. 22, 2019)

### ABSTRACT

*Withania* is one of the most important medicinal species from economical point of view and its application in pharmaceutical industries and stabilization of sand in desert areas. This study was conducted to evaluate the effect of drought stress and foliar application of salicylic acid on some physiological and morphological characters of *Withania* at Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center under green house conditions. A two factorial experiment was laid out in completely randomized design with three replications. The first factor, four levels of foliar application of salicylic acid (control, 1, 1.5, 2 mM) and the second factor, four drought levels (100, 80, 60 and 40 percent of field capacity). The results showed that drought stress and salicylic acid had significant effects ( $P \leq 1$  percent) on physiological (proline content, ion leakage percent, SPAD, chlorophyll fluorescence) and morphological (shoot height and leave surface) traits. Mean comparisons showed that the highest value of proline (3.99  $\mu\text{mol g}^{-1}$  FW) was obtained in 1.5 mM salicylic acid and drought stress 60 percent field capacity. The highest value of ion leakage percent was obtained in the control treatment of salicylic acid and drought stress 40 percent of field capacity. According our results, revealed that the *withania* was tolerance drought stress and can be tolerance to 60 percent of field capacity. at all levels of drought stress. Since *withania* plant is valuable, salicylic acid can be increase the tolerance of this plant to drought.

**Keywords:** Chlorophyll fluorescence, ionic leakage percent, proline, shoot dry weight.

\* Corresponding author E-mail: eganji@hotmail.com

### مقدمه

گیاه پنیرباد با نام علمی *Withania spp* از خانواده سولاناسه می‌باشد. در جنس *Withania*، ۲۳ گونه گیاهی وجود دارد که دو گونه مهم آن شامل *Withania somnifera* Dunal و *Withania coagulans* Dunal می‌باشد که از نظر ارزش اقتصادی منحصر به فرد هستند. این گیاه به صورت بوته‌ای یا درختچه‌ای و همیشه سبز به ارتفاع ۱۳۰-۱۲۰ سانتی‌متر می‌باشد. خواص دارویی این گیاه بدلیل حضور گروهی از لاکتون‌های استروئیدی معروف به ویتانولونئیدهای موجود در برگ و ریشه آن می‌باشد. ویتافرین A موجود در گیاه پنیرباد عامل ضدتومور است و دارای خاصیت ضدباکتریایی نیز می‌باشد (Gharemani et al., 2020). گیاه پنیرباد هم از جهت دارویی (اثرهای آنتی‌اکسیدانی، ضد استرس، ضد میکروبی و ضد سرطانی) و هم از جهت گیاه پوشش‌دهنده در فضای سبز کاربرد دارد (Jain et al., 2012).

پنیرباد در ایران پراکنش بسیار محدودی داشته و یکی از گونه‌های بومی سیستان و بلوچستان می‌باشد و در منطقه ایرانشهر، سراوان، زابل و خاش یافت می‌شود (Valizadeh et al., 2015). رویشگاه آن اغلب در خاک‌هایی با بافت سبک در مراتع دیده شده است و این گیاه در سطح دنیا به طور عمده در مناطق شرقی مدیترانه تا جنوب آسیا از جمله پاکستان، شمال غرب هند، افغانستان و ایران می‌روید (Valizadeh et al., 2015). نتایج پژوهش‌های انجام شده بر روی برخی از گیاهان نشان می‌دهد که کمبود آب در مراحل رشد رویشی موجب ایجاد گیاهانی با ارتفاع کوتاه و همچنین کوچک‌شدن سطح پهنک برگ می‌شود و کاهش دسترسی به آب باعث کاهش در اندازه گیاه می‌شود (Razavizadeh et al., 2014). تحمل به خشکی در گونه‌های گیاهی مختلف یکسان نیست. در ارزیابی میزان تحمل به خشکی دو اکوتیپ زیره سبز، نتایج نشان داد که تنش خشکی موجب افزایش نشت یونی و کاهش میزان محتوای آب گردید (Karimi Afshar et al., 2015).

Salarpour & Farahbakhsh (2016) در بررسی اثر

اسیدسالیسیلیک بر برخی صفات فیزیولوژیک گیاه رازیانه

(*Foeniculum vulgare*) تحت تنش خشکی گزارش

کردند که تنش خشکی باعث کاهش نشت یونی و میزان کلروفیل شد. نتایج مشابه توسط Farahbakhsh & Pasandipor (2017) در گیاه حنا (*Lowsonia inermis*) و Tohidi Nejad et al. (2016) روی گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum*) گزارش شده است.

اسیدسالیسیلیک به عنوان یک آنتی‌اکسیدان و یک هورمون گیاهی در واکنش گیاهان در برابر تنش‌های محیطی مطرح است که به‌وسیله سلول‌های ریشه تولید می‌شود و نقش محوری در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیک مختلف مثل رشد، تکامل گیاه، جذب یون و فتوسنتز ایفا می‌کند. اسیدسالیسیلیک از طریق حفظ سلامت سیستم ریشه‌ای در برابر اثرات مضر تنش خشکی میزان رشد آن را افزایش داده و باعث جذب بیش‌تر آب و مواد غذایی شده که در نهایت منجر به افزایش رشد گیاه می‌شود. این افزایش رشد همراه با تولید برگ‌های جدید خواهد بود که در نهایت سطح برگ کل افزایش خواهد یافت (Hayat & Ahmad, 2007).

Fazeli Kakhki et al. (2014) در آزمایشی تاثیر اسیدسالیسیلیک در کاهش اثرات تنش خشکی را بر گیاه خردل (*Brassica compestris*) مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که بیشترین مقدار فتوسنتز و شاخص پایداری غشا از اعمال تیمار ۱۰۰ میلی گرم در لیتر اسیدسالیسیلیک و تنش خشکی ۷۵ درصد ظرفیت زراعی به دست آمد. در مقایسه تاثیر متقابل تنش خشکی و اسیدسالیسیلیک روی گیاه زعفران (*Crocus sativus*) نتایج نشان داد که اسیدسالیسیلیک علاوه بر القای تولید شکل‌های واکنشگر اکسیژن در بافت‌های فتوسنتزی باعث کاهش شاخص‌های تنش می‌شود و در بهبود اثرات مخرب تنش نقش موثری دارد (Aslezaem et al., 2018). کاهش کلروفیل کل در اثر تنش خشکی و جبران و افزایش کلروفیل در اثر کاربرد اسیدسالیسیلیک در شرایط تنش خشکی در گیاه توتون (*Nicotiana rustica*) گزارش شده است (Habibi et al., 2015).

این پژوهش به‌منظور بررسی میزان تحمل گیاه پنیرباد (*Withania coagulans*) به شرایط تنش خشکی انجام گرفته است. با توجه به این که این گیاه از طبیعت جمع‌آوری شده، پژوهش در این امکان

در عمق سه سانتی متری سطح خاک کاشته شد. گلدان‌ها تا مرحله چهار برگی به فاصله هر سه روز به صورت یکسان آبیاری شدند. سپس در مرحله چهار برگی (مرحله استقرار)، قوی‌ترین گیاه نگه داشته شد و دو گیاه دیگر حذف گردید. جهت اعمال تیمارهای تنش خشکی ابتدا جرم مخصوص ظاهری خاک و مقادیر رطوبت در حد ظرفیت زراعی و نقطه پژمردگی دائم محاسبه شد. سپس میزان آب قابل استفاده از تفاضل ظرفیت زراعی از نقطه پژمردگی محاسبه شد. آب قابل استفاده در حالت ظرفیت زراعی مبنای ۱۰۰ درصد فرض شد و سایر تیمارها بر مبنای آن سنجیده شدند (Amiri Deh Ahmadi *et al.*, 2012). جهت دستیابی به میزان آب مورد نیاز جهت تامین ظرفیت زراعی خاک مورد نظر در حد مطلوب ابتدا درصد رطوبت خاک برای وضعیت زراعی با رابطه ذیل محاسبه گردید.

$$\text{وزن خاک خشک شده در آون } 105 \text{ درجه به مدت } 48 \times 100 \text{ ساعت} - \text{وزن خاک مرطوب پس از خروج آب ثقلی} \\ \text{وزن خشک}$$

با توجه به وزن گلدان، وزن فیلتر، وزن خاک مورد استفاده در هر گلدان، وزن نهایی گلدان برای هر تیمار در ظرفیت زراعی ۱۰۰، ۸۰، ۶۰ و ۴۰ درصد جداگانه محاسبه گردید. برای هر سطح خشکی، غلظت‌های اسیدسالیسیلیک شامل صفر، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی مولار هم زمان هر چهار روز یکبار اعمال شد تا اثر متقابل این دو عامل مشخص گردد. در طول دوره آزمایش، تیمارهای آبیاری (تنش خشکی کم، متوسط و زیاد) مورد استفاده قرار گرفت. بدین منظور گلدان‌ها به‌طور منظم وزن شدند و مقدار آب لازم برای رسیدن به هر کدام از سطوح اضافه شد (Isvand & Sharafi, 2017). گلدان‌ها در محیط کنترل شده گلخانه نگهداری و آزمایش به مدت سه ماه تکرار شد.

کشت زراعی این گیاه را در مناطقی که دارای خشکی می‌باشد، امکان پذیر خواهد کرد.

## مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر تنش خشکی و محلول پاشی اسیدسالیسیلیک بر خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه پنیرباد آزمایشی در گلخانه مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی انجام شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل دو عامله در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه شیشه‌ای با نور طبیعی (دمای روز ۲۵-۲۲ درجه سانتی‌گراد، دمای شب ۲۲-۱۹ درجه سانتی‌گراد و میزان رطوبت ۲۰±۶۰ درصد) انجام شد. فاکتور اول شامل چهار سطح محلول پاشی اسیدسالیسیلیک (صفر، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی مولار) و فاکتور دوم شامل چهار سطح تنش خشکی (۱۰۰، ۸۰، ۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی) بودند. بذر مورد استفاده از رویشگاه‌های طبیعی پنیرباد (*Withania coagulans*) در استان سیستان و بلوچستان مورد استفاده قرار گرفت. بذرها به منظور ضد عفونی شدن، به مدت ۱۰ دقیقه در هیپوکلریت سدیم پنج درصد قرار داده شد و پس از عبور از صافی، سه مرتبه با آب مقطر شستشو و در پتری‌دیش همراه با کاغذ صافی مرطوب قرار گرفتند. بعد از یک هفته سرمادهی در دمای چهار درجه سانتی‌گراد جوانه‌زنی آغاز شد و به صورت نشا در گلدان‌های حاوی کوکوپیت، پرلایت و ماسه با نسبت ۱:۱:۱ کشت شدند. خصوصیات فیزیکی، از جمله وزن مخصوص ظاهری و ظرفیت نگهداری رطوبت بسترها قبل از کاشت، بر اساس روش‌های ارائه شده به وسیله Verdonck & Gabriels (1997) به دست آمد (جدول ۱). جهت اطمینان از سبز شدن بذور، در شرایط آزمون استاندارد جوانه‌زنی بذر قرار گرفتند و درصد جوانه‌زنی تعیین گردید. ۱۲ گلدان با حجم دو لیتر برای هر تیمار آماده شد. تعداد سه بذر در هر گلدان و

جدول ۱. خصوصیات بسترهای کشت.

Table 1. Characteristics of culture media.

Water absorption rates (%)	Bulk density (g/cm <sup>3</sup> )	CEC (meq/100 g)	pH	Culture media
712	0.15	120	5.4	Cocopeat
374	0.32	0	6.3	Perlite
182	1.68	0	6.2	Sand

## اندازه گیری صفات مورفولوژیک

## ارتفاع گیاه

ارتفاع گیاه توسط خطکش با دقت یک میلی‌متر از محل طوقه گیاه اندازه‌گیری شد.

## سطح برگ

در مرحله پایان آزمایش پس از برداشت اندام هوایی گیاه، برگ‌های گیاه در هر گلدان به صورت مجزا از ساقه جدا و توسط دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ ساخت کشور انگلستان (شرکت Delta\_T، مدل LI 3100)، برحسب سانتی‌مترمربع اندازه‌گیری شد.

## اندازه گیری صفات فیزیولوژیک

## اندازه‌گیری پرولین

در این پژوهش پرولین به روش Bates *et al.* (1973) اندازه‌گیری شد. برای سنجش پرولین توسط دستگاه اسپکتروفتومتر جذب نوری محلول در ۵۲۰ نانومتر با استفاده از تولوئن به عنوان شاهد خوانده شد.

## تعیین درصد نشت یونی

به منظور تعیین درصد نشت یونی ابتدا از هر گلدان نمونه برگ جدا و پس از شستشو با آب مقطر در فالکن حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر شده قرار داده شدند. فالکن‌ها به مدت شش ساعت روی شیکر قرار گرفت و سپس هدایت الکتریکی هر نمونه با استفاده از دستگاه EC متر اندازه‌گیری شد (EC1). برای اندازه‌گیری نشت کامل الکترولیت‌ها در اثر مرگ سلول، فالکن‌ها در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ بار به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفت و پس از ۲۴ ساعت، هدایت الکتریکی نمونه‌ها اندازه‌گیری گردید (EC2). سپس با استفاده از رابطه یک، درصد نشت یونی هر تیمار محاسبه شد (Korkmaz *et al.*, 2010).

$$(1) \quad (EC1/EC2) \times 100$$

انگلستان (شرکت Hansatechinstruments Ltd، مدل RS232) روی جوان‌ترین برگ توسعه یافته اندازه‌گیری گردید. به این منظور در هر گیاهچه دو قرائت انجام و سپس میانگین آن‌ها ثبت گردید.

## میزان فلورسانس کلروفیل

شاخص فلورسانس کلروفیل (Fv/Fm) به روش Maxwell & Johnson (2000) اندازه‌گیری شد. برای این منظور، از دستگاه فلورومتر (شرکت Opti-Science ساخت کشور آمریکا، مدل OS1-FL) در حالت روشنایی استفاده شد. مولفه‌های فلورسانس کلروفیل شامل حداقل فلورسانس کلروفیل (Fo)، حداکثر فلورسانس کلروفیل (Fm) و حداکثر عملکرد کوانتومی فتوسیستم دو (ΦPSII) = (Fv/Fm) براساس واحد دستگاه در شرایط تطابق نوری از طریق رابطه دو بدست آمد.

$$(2) \quad Fv/Fm = (Fm - Fo) / Fm$$

## وزن خشک اندام هوایی و ریشه

نمونه‌های تر اندام هوایی جمع‌آوری شده در مرحله قبل به صورت مجزا در درون پاکت‌های کاغذی و داخل آون دردمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک شدند و در انتها با ترازوی دیجیتالی با دقت یک هزارم گرم توزین شدند.

## درصد بقا

جهت تعیین درصد زنده‌مانی و بازیافت گیاهچه‌ها، پس از هشت هفته اعمال تنش خشکی، درصد بقای گیاهچه‌ها از طریق شمارش تعداد گیاهچه زنده در هر گلدان و با استفاده از رابطه سه تعیین شد (Cardona *et al.*, 1997).

$$(3) \quad = \text{درصد بقا}$$

$$100 \times (\text{تعداد گیاهچه‌های قبل از تنش} / \text{تعداد}$$

$$\text{گیاهچه‌های زنده بعد از تنش})$$

## آنالیز آماری

تجزیه واریانس داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری MSTAT-C انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از

## درجه سبزیگی برگ

میزان درجه سبزیگی گیاهچه‌های تحت تیمار در پایان آزمایش توسط دستگاه کلروفیل‌سنج ساخت کشور

دوره و عبور سریع تر گیاه از این مرحله تعداد گره و طول میانگره در گیاه کاهش یافته و به دنبال آن ارتفاع گیاه کاهش می یابد (Daneshian *et al.*, 2012). اسیدسالیسیک اثر معنی دار در افزایش ارتفاع گیاه داشته است. در شرایط تنش خشکی با افزایش غلظت اسیدسالیسیک (۱/۵ میلی مولار)، ارتفاع گیاهچه افزایش یافت (جدول ۲). احتمال داده می شود اسیدسالیسیک بتواند سبب بهبود جذب عناصر غذایی در شرایط تنش شوری و خشکی شود که این خود می تواند باعث افزایش رشد از جمله افزایش ارتفاع شود. نتایج مشابهی توسط سایر محققین از جمله Muni Ram & Singh (1995) روی گیاه نعناع (*Mentha piperata*)، Farooqi *et al.* (1999) روی گیاه سنبل هندی (*Nardostachys jatamansi*) و Mohammadi Babazeidi *et al.* (2013) روی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*) گزارش شده است.

اثر اسیدسالیسیک و تنش خشکی بر سطح برگ بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر تنش خشکی و اسیدسالیسیک بر سطح برگ در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۲). اسیدسالیسیک ۱/۵ میلی مولار میزان سطح برگ در تمامی سطوح تنش خشکی را افزایش داد. بالاترین میزان سطح برگ در اسیدسالیسیک ۱/۵ میلی مولار و آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به میزان ۲۲۷/۹۹ سانتی مترمربع بود که نسبت به عدم کاربرد اسیدسالیسیک در همین تیمار ۲۸ درصد بیشتر بود (جدول ۳).

آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال یک درصد استفاده شد. رسم نمودارها توسط نرم افزار Excel 2010 انجام شد.

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که صفات مورد مطالعه شامل میزان پرولین، درصد نشت یونی، درجه سبزینگی، فلورسانس کلروفیل، ارتفاع بوته، سطح برگ، وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه و درصد بقا تحت تاثیر تنش خشکی و اسیدسالیسیک در سطح احتمال یک درصد قرار گرفتند (جدول ۲).

### نتایج صفات اندازه گیری شده

اثر اسیدسالیسیک و تنش خشکی بر ارتفاع گیاه نتایج تجزیه واریانس داده ها (جدول ۲) حاکی از تاثیر معنی دار تنش خشکی و اثر اسیدسالیسیک بر ارتفاع گیاه در سطح احتمال یک درصد بود. با توجه به مقایسه میانگین ها (جدول ۳) بیشترین ارتفاع بوته (۱۱/۷۳ سانتی متر) در اسیدسالیسیک ۱/۵ میلی مولار و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و کمترین ارتفاع (۴/۰۶ سانتی متر) در ۴۰ درصد ظرفیت زراعی بدون اسیدسالیسیک بود. اسیدسالیسیک در تمامی سطوح تنش، ارتفاع بوته را افزایش داد و اسیدسالیسیک ۱/۵ میلی مولار نسبت به سایر غلظت ها بیشترین ارتفاع بوته را تولید کرد. صفت ارتفاع بوته به شدت به محیط رشد وابسته است. در واقع تنش خشکی باعث کاهش طول دوره رویشی می گردد که با کاهش طول این

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس اثر اسیدسالیسیک و تنش خشکی بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک پنبیرباد.

Table 2. Results of variance analysis effect of salicylic acid and drought stress on morphological and physiological characters in *W. Coagulans*.

Source of Variation	df	Mean of squares								
		Proline	Ion leakage percent	SPAD	Chlorophyll fluorescence	Height	Leave surface	Root dry weight	Shoot dry weight	Survival percent
Salicylic acid	3	6.419**	161.45**	78.2**	0.058**	8.922**	3604.05**	0.013**	0.13**	784.85**
Drought stress	3	6.075**	477.7**	876.53**	0.321**	51.39**	13579**	0.049**	0.559**	11597.52**
Salicylic acid* drought stress	9	1.049**	17.9**	6.66*	0.001**	0.482**	250.6**	0.002**	0.013**	268.1**
Error	32	0.011	5.68	2.5	0.0001	0.144	59.411	0.001	0.003	44.8
CV (%)	-	4.89	12.69	3.77	2.71	4.89	5.17	8.75	9.3	10.28

\*, \*\* and ns: Significantly difference at 1 and 5% of probability level, and non-significantly difference, respectively.

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل اسیدسالیسیلیک و تنش خشکی بر برخی صفات پنبیرباد.

Table 3. Means comparison interaction effect of salicylic acid and drought stress on some characters in *W.Coagulans*.

Drought stress	Salicylic acid	Plant height (cm)	Leave area (cm <sup>2</sup> )	Root dry weight (g)	Shoot dry weight (g)	Survival percent
Field capacity 100%	0	8.73 <sup>de</sup>	163 <sup>de</sup>	0.161 <sup>f</sup>	0.7 <sup>def</sup>	100 <sup>a</sup>
	1	10.16 <sup>b</sup>	190 <sup>b</sup>	0.236 <sup>c</sup>	0.888 <sup>b</sup>	100 <sup>a</sup>
	1.5	11.73 <sup>a</sup>	227 <sup>a</sup>	0.303 <sup>a</sup>	1.094 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
	2	9.1 <sup>cd</sup>	174 <sup>bcd</sup>	0.272 <sup>b</sup>	0.748 <sup>cde</sup>	100 <sup>a</sup>
Field capacity 80%	0	8.1 <sup>efg</sup>	139 <sup>gh</sup>	0.187 <sup>d</sup>	0.63 <sup>efg</sup>	100 <sup>a</sup>
	1	8.96 <sup>cd</sup>	171 <sup>cd</sup>	0.171 <sup>c</sup>	0.765 <sup>cd</sup>	100 <sup>a</sup>
	1.5	9.6 <sup>bc</sup>	182 <sup>bc</sup>	0.271 <sup>b</sup>	0.851 <sup>bc</sup>	100 <sup>a</sup>
	2	8.53 <sup>def</sup>	152 <sup>ef</sup>	0.186 <sup>d</sup>	0.608 <sup>efg</sup>	100 <sup>a</sup>
Field capacity 60%	0	6.23 <sup>i</sup>	124 <sup>hi</sup>	0.152 <sup>g</sup>	0.45 <sup>j</sup>	50 <sup>cde</sup>
	1	7.43 <sup>gh</sup>	134 <sup>ghi</sup>	0.137 <sup>h</sup>	0.48 <sup>ij</sup>	72 <sup>c</sup>
	1.5	7.8 <sup>fgh</sup>	147 <sup>efg</sup>	0.17 <sup>c</sup>	0.57 <sup>ghi</sup>	88 <sup>b</sup>
	2	7.03 <sup>hi</sup>	135 <sup>fghi</sup>	0.166 <sup>ef</sup>	0.54 <sup>ghi</sup>	44 <sup>de</sup>
Field capacity 40%	0	4.06 <sup>k</sup>	94 <sup>k</sup>	0.058 <sup>k</sup>	0.28 <sup>k</sup>	11 <sup>f</sup>
	1	5.16 <sup>j</sup>	119 <sup>ij</sup>	0.101 <sup>j</sup>	0.39 <sup>jk</sup>	27 <sup>e</sup>
	1.5	6.23 <sup>i</sup>	126 <sup>hi</sup>	0.122 <sup>j</sup>	0.49 <sup>hij</sup>	55 <sup>cd</sup>
	2	5.26 <sup>j</sup>	104 <sup>jk</sup>	0.101 <sup>j</sup>	0.32 <sup>k</sup>	5 <sup>f</sup>

در هر ستون میانگین های با حداقل یک حرف مشترک تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

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

خشک اندام هوایی تحت تنش خشکی کاهش یافت و در اثر محلول پاشی اسیدسالیسیلیک این صفت تا حدودی افزایش پیدا کرد به طوری که کاربرد اسیدسالیسیلیک ۱/۵ میلی مولار در کلیه سطوح تنش خشکی موجب تولید بیشترین میزان ماده خشک گیاه گردید. همچنین میزان کاهش وزن خشک اندام هوایی در شرایط تنش خشکی شدید نسبت به آبیاری کامل ۶۰ درصد محاسبه گردید. وزن خشک ریشه با افزایش تنش خشکی کاهش یافت. به طوری که وزن خشک ریشه در تیمار تنش خشکی شدید نسبت به شاهد ۶۳ درصد کمتر بود. اسیدسالیسیلیک ۱/۵ و ۲ میلی مولار به ترتیب بیشترین وزن خشک ریشه را در کلیه تیمارهای تنش خشکی ایجاد کرد (جدول ۲). با کاربرد اسیدسالیسیلیک در شرایط تنش خشکی، گیاه مواد فتوسنتزی بیشتری به ریشه اختصاص داده و موجب افزایش رشد ریشه شده است. در واقع با افزایش میزان ریشه سطح جذب ریشه بیشتر شده و در نتیجه جذب آب بیشتر شده است. براساس نتایج به دست آمده در این آزمایش می توان بیان کرد که هر چند با کاهش میزان آب مصرفی و به تبع آن بروز تنش خشکی از عملکرد ماده خشک در گیاه کاسته شد، اما با محلول پاشی اسیدسالیسیلیک در کلیه سطوح تنش خشکی می توان تا حدی از بروز اثرات سوء تنش بر عملکرد تولیدی این گیاه کاست که این مسأله را می توان به تأثیر مثبت اسیدسالیسیلیک در بهبود شرایط رشدی گیاهان در شرایط تنش در نظر گرفت.

کاهش سطح برگ در اثر تنش خشکی، به دلیل کاهش تقسیم سلولی و طولی شدن سلولها می باشد. کاهش رشد و توسعه سلولها و از بین رفتن کلروفیل موجب کاهش سطح برگ و در نتیجه کاهش فتوسنتز و اجزای رشد رویشی می گردد (Turkan et al., 2005). کاهش سطح برگ تحت شرایط تنش خشکی توسط Simon et al. (1992) گزارش شده است. در این آزمایش استفاده از اسیدسالیسیلیک باعث افزایش سطح برگ در گیاه گردید که می تواند مربوط به نقش این ماده در گسترش سیستم ریشه ای و حفظ سلامت آن و جذب بیشتر آب و مواد غذایی باشد که در نهایت منجر به تولید بیشتر برگ و سطح آن می شود. نتایج پژوهشی نشان داد که اسیدسالیسیلیک با افزایش فعالیت آنزیم رابیسکو سبب بهبود فتوسنتز و افزایش سطح برگ می گردد (Gutierrez-Coronado et al., 1998). گزارش های Alkire et al. (1993) در گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperata* L.)، Rezapor et al. (2011) در سیاهدانه (*Nigella sativa*)، Babae et al. (2010) در آویشن (*Thymus vulgaris*) با نتایج این آزمایش مطابقت دارد.

اثر اسیدسالیسیلیک و تنش خشکی بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه

تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر تنش خشکی و اسیدسالیسیلیک بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۲). میزان وزن

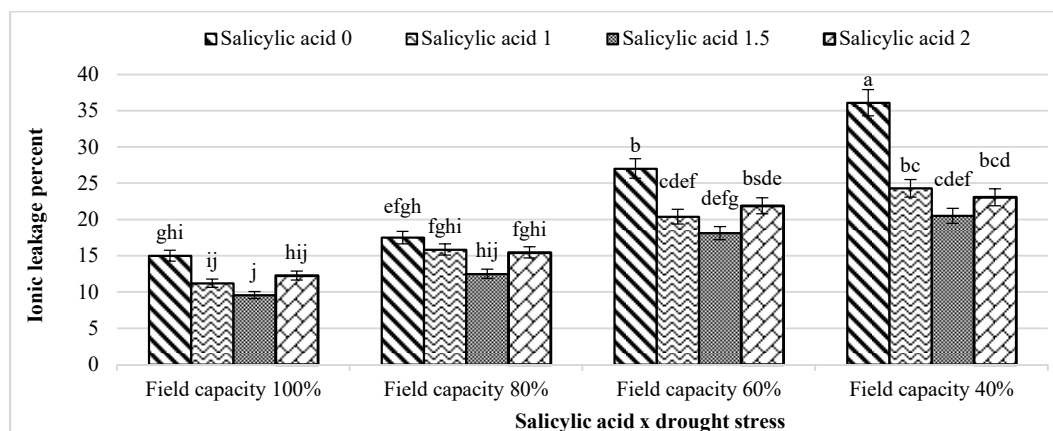
درصد در مقایسه با عدم کاربرد اسیدسالیسیلیک افزایش یافت (جدول ۳). گزارش Christos & Damalas (2019) روی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*) با نتایج این تحقیق مطابقت داشت.

اثر اسیدسالیسیلیک و تنش خشکی بر درصد نشت یونی تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنش خشکی و اسیدسالیسیلیک بر درصد نشت یونی تاثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشت (جدول ۲). بیشترین درصد نشت یونی (۳۶/۱٪) در تیمار بدون اسیدسالیسیلیک و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی بود و کمترین درصد نشت یونی (۹/۵۶٪) در آبیاری کامل و اسیدسالیسیلیک ۱/۵ میلی‌مولار حاصل گردید. با افزایش تنش خشکی، درصد نشت یونی افزایش یافت و اسیدسالیسیلیک موجب کاهش درصد نشت یونی شد به طوری که در تنش‌های شدیدتر این تاثیر نمود بیشتری داشت (شکل ۱).

با اندازه‌گیری نشت یونی برگ می‌توان آسیب وارده به غشای سلولی تحت شرایط تنش را در گیاه تخمین زد و حفظ سلامت غشای سلولی تحت شرایط تنش به عنوان یکی از مکانیسم‌های مقاومت در برابر تنش خشکی در نظر گرفته می‌شود (Yeldirim, 2008). اسیدسالیسیلیک از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی، گیاه را از صدمات به دست آمده از واکنش‌های اکسیداتیو حفظ می‌کند.

نتایج مشابه توسط Abreu & Mazzafera (2005) در گیاه علف چای (*Hypericum brasiliense*)، Daneshian et al. (2012) در گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis*)، Pirzad et al. (2006) در گیاه بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla*)، Khazaie et al. (2008) در آویشن (*Thymus vulgaris*)، Misra & Sricatstva (2000) در نعناع (*Mentha piperata*)، Baher et al. (2002) در گیاه مرزه (*Satureja hortensis*)، Al-Ahl & Abdou (2009) در گیاه بادرشو (*Dracocephalum moldavica*) و Mohtashami et al. (2015) در گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare*) با این نتایج مطابقت می‌نماید.

اثر اسیدسالیسیلیک و تنش خشکی بر درصد بقا اثر تنش خشکی و اسیدسالیسیلیک بر درصد بقا در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که گیاهان در تیمار تنش خشکی ملایم و شاهد ۱۰۰ درصد زنده بودند و با کاهش رطوبت خاک به ۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب درصد بقای گیاهان به ۵۰ و ۱۱ درصد رسید (جدول ۳). همچنین کاربرد اسیدسالیسیلیک در شرایط تنش موجب افزایش درصد بقا گردید و در غلظت بالای این هورمون درصد بقا روند نزولی داشت. بیشترین افزایش درصد بقا در اسیدسالیسیلیک ۱/۵ میلی‌مولار حاصل گردید. به طوری که با کاربرد اسیدسالیسیلیک ۱/۵ میلی‌مولار در شرایط رطوبتی ۶۰ درصد ظرفیت زراعی، درصد بقا ۳۸



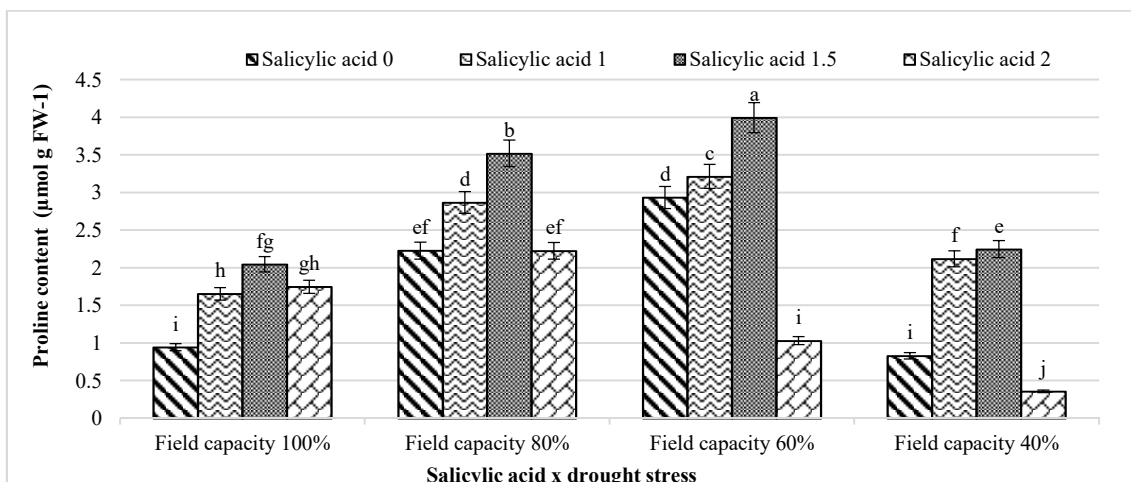
شکل ۱. مقایسه میانگین اثر متقابل اسیدسالیسیلیک و تنش خشکی بر درصد نشت یونی پنبیراد. Figure 1. Mean comparison interaction effect of salicylic acid and drought stress on Ionic leakage percent in *W. coagulans*.

محلول پاشی اسیدسالیسیک اثر معنی داری در افزایش پرولین داشته است. در شرایط تنش خشکی با افزایش غلظت اسیدسالیسیک (۱/۵ میلی مولار)، میزان پرولین گیاه افزایش یافت. کاربرد اسیدسالیسیک ۱/۵ و ۱ میلی مولار در تمامی سطوح تنش خشکی موجب افزایش درمیزان پرولین شد و اسیدسالیسیک ۲ میلی مولار تاثیر منفی بر میزان پرولین داشت (شکل ۲). به نظر می رسد که در تنش خشکی شدید کاهش میزان پرولین تحت تاثیر میزان سنتز و مصرف پرولین در گیاه قرار گرفته باشد. به عبارت دیگر در شرایط تنش رطوبتی شدید به دلیل محدودیت بیشتر در جذب آب و مواد غذایی، غلظت عناصر از جمله نیتروژن در برگها به شدت کاهش می یابد و از این طریق سنتز پرولین به دلیل نبود پیش نیازهای سنتز آن در برگ کاهش می یابد. از طرفی در شرایط تنش خشکی شدید به دلیل تشدید گونه های اکسیژن فعال و ناپایداری بیشتر در غشای سلول میزان پرولین بیشتری در گیاه در حفظ بقای سلول مصرف می گردد که می تواند از دلایل کاهش غلظت پرولین در تیمار تنش خشکی شدید باشد (Nonami et al., 1997). با توجه به نتایج پژوهش، محلول پاشی اسیدسالیسیک موجب افزایش محتوای پرولین برگ گردید. که می تواند مربوط به نقش و کارکرد اسیدسالیسیک در گیاه باشد. پرولین یکی از ترکیبات آلی تنظیم کننده فشار اسمزی است که در سلول های در حال تنش اکثر گیاهان یافت می شود. کاربرد اسیدسالیسیک در گیاهان باعث تولید گونه های اکسیژن فعال شده که به دنبال آن موجب القای گیاهان به سنتز تنظیم کننده های اسمزی از جمله پرولین شده و باعث مقاومت گیاهان در برابر تنش می گردد (Shakirova et al., 2003). نتایج این تحقیق با گزارشات Nourzad et al. (2015) در گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum*) و Jafarzadeh et al. (2014) در گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis*) در یک راستا قرار دارد که بیان کردند، کاربرد اسیدسالیسیک در تنش خشکی موجب افزایش محتوای پرولین برگ گیاه گردید و این می تواند مربوط به نقش و کارکرد اسیدسالیسیک در گیاه باشد.

همچنین میزان پلی آمین های پوترسین (Putrescine) و اسپرمیدین (Spermidine) را در گیاه افزایش می دهد که می تواند به یک پارچگی و حفظ غشا تحت شرایط تنش خشکی کمک کند. کاهش خسارت غشا در اثر کاربرد اسیدسالیسیک که به عنوان راه اصلی برای افزایش مقاومت به خشکی در گیاهان شناخته شده است، ممکن است با تولید آنتی اکسیدان در ارتباط باشد و تولید آنتی اکسیدان پاسخی از گیاه برای کاهش خسارت اکسید شدن است. به عبارت دیگر اسیدسالیسیک سبب افزایش پایداری غشا در برابر تنش های اکسیداتیو می گردد (Nemeth et al., 2002). در آزمایش حاضر نیز کاربرد اسیدسالیسیک میزان پرولین برگ را در برگ های گیاه پنیرباد افزایش داد که از این طریق بر کاهش تنش اکسیداتیو و کاهش نشت الکترولیت های برگ موثر بوده است. این نتایج با یافته های Kabiri et al. (2014) در سیاهدانه (*Nigella sativa*)، Ahmadi et al. (2015) در پنیرک (*Malva sylvestris*)، Karimi Afshar et al. (2015) در زیره سبز (*Cuminum cyminum*) و Mohammadi Babazeidi et al. (2013) در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*) مطابقت دارد.

اثر اسیدسالیسیک و تنش خشکی بر میزان پرولین تجزیه واریانس داده های حاصل از آزمایش (جدول ۲) نشان داد که اثر متقابل تنش خشکی و اسیدسالیسیک تاثیر معنی دار در سطح یک درصد بر میزان پرولین داشته است. با افزایش تنش خشکی، میزان پرولین در برگ افزایش یافت و در تنش شدید میزان پرولین کاهش نشان داد. بیشترین میزان پرولین ۳/۹۹۵ میکرومول بر گرم وزن تر در خشکی ۶۰ درصد ظرفیت زراعی و اسیدسالیسیک ۱/۵ میلی مولار و کمترین میزان پرولین ۰/۳۵۷ میکرومول بر گرم وزن تر در ظرفیت زراعی ۴۰ درصد و اسیدسالیسیک ۲ میلی مولار مشاهده گردید. در واقع گیاه پنیرباد با افزایش میزان پرولین، توانایی تحمل خشکی در شرایط تنش خشکی متوسط (۶۰ درصد ظرفیت زراعی) را فراهم کرده است. همچنین





شکل ۲. مقایسه میانگین اثر متقابل اسیدسالیسیلیک و تنش خشکی بر محتوای پرولین برگ پنیرباد.

Figure 2. Mean comparison interaction effect of salicylic acid and drought stress on proline content in *W.coagulans*.

فتوسنتزی حمایت کند (Belkhadi *et al.*, 2010). بر اساس نتایج، تنش خشکی موجب کاهش درجه سبزیگی در گیاه پنیرباد گردید و اسیدسالیسیلیک موجب افزایش درجه سبزیگی برگ در شرایط تنش گردید. نتایج مشابه Sanchez-Blanco *et al.* (2004) در گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis*)، Jaleel *et al.* (2008) و Moosavifar *et al.* (2012) در گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) گزارش شده است.

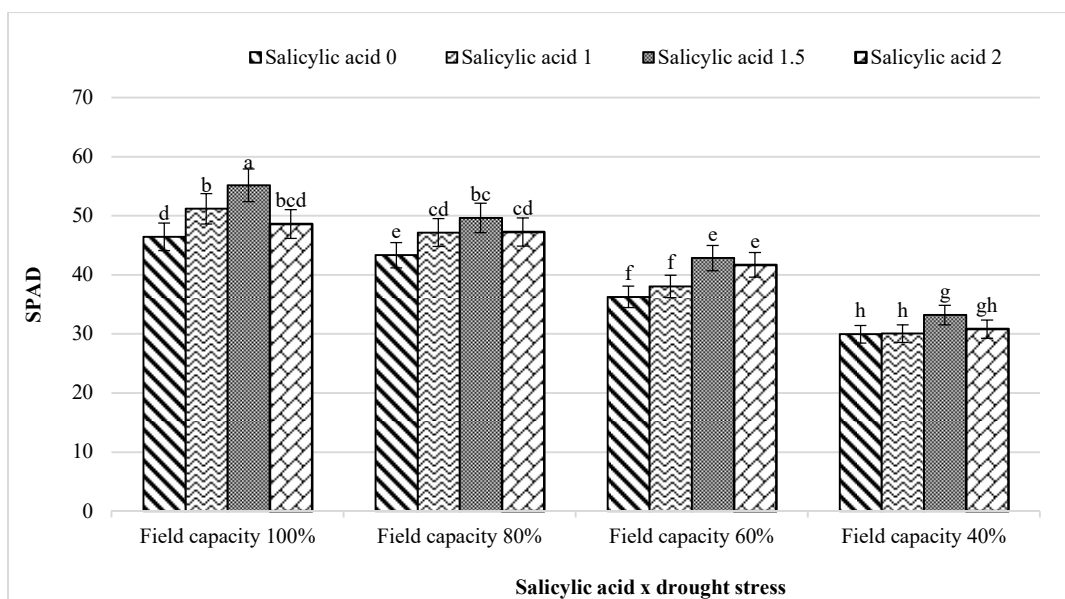
#### اثر اسیدسالیسیلیک و تنش خشکی بر میزان فلورسانس کلروفیل

اثر تنش خشکی و اسیدسالیسیلیک بر میزان کلروفیل فلورسانس در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). تنش خشکی موجب کاهش میزان فلورسانس کلروفیل گردید و محلول پاشی اسیدسالیسیلیک تاثیر معنی‌داری بر میزان فلورسانس کلروفیل در سلول‌های برگ تحت شرایط تنش داشته است. بر اساس مقایسه میانگین‌ها، بیشترین فلورسانس کلروفیل به میزان  $0.785^{(Fv/Fm)}$  در ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و اسیدسالیسیلیک  $1/5$  میلی‌مولار و کمترین، مربوط به تنش خشکی ۴۰ درصد ظرفیت زراعی به میزان  $0.221^{(Fv/Fm)}$  بود (شکل ۴). فلورسانس کلروفیل یک معیار خوب فعالیت فتوسنتز است و می‌تواند جهت بررسی خسارت به دستگاه فتوسنتزی استفاده شود

اثر اسیدسالیسیلیک و تنش خشکی بر درجه سبزیگی بر اساس نتایج تجزیه واریانس، تاثیر تنش خشکی و اسیدسالیسیلیک بر درجه سبزیگی در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در شرایط تنش خشکی، درجه سبزیگی کاهش یافت و کاربرد اسیدسالیسیلیک موجب کاهش اثر تنش خشکی گردید. بیشترین درجه سبزیگی  $(55/16)$  در ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و اسیدسالیسیلیک  $1/5$  میلی‌مولار بود (شکل ۳). کاهش میزان کلروفیل در اثر تنش خشکی مربوط به افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن در سلول می‌باشد. رادیکال‌های آزاد سبب پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه این رنگیزه می‌گردند. اسیدسالیسیلیک باعث افزایش بیوسنتز کلروفیل در گیاهان تحت تنش‌های محیطی شده و تقریباً بر بیشتر واکنش‌های متابولیسمی گیاه تاثیر گذاشته و موجب تغییراتی در آن‌ها می‌شود که این تغییرات به صورت سازش‌هایی است که تحمل و سازگاری گیاهان را در مقابل عوامل محیطی افزایش می‌دهد (Popova *et al.*, 2003). اسیدسالیسیلیک با توجه به غلظت، زمان و گیاه مورد استفاده دارای اثرات دوگانه ای می‌باشد که می‌تواند با افزایش گونه‌های فعال اکسیژن موجب تخریب پروتئین‌های کلروپلاستی و پراکسیداسیون لیپیدهای غشاهای تیلاکوئیدی شده، در نتیجه موجب کاهش تخریب رنگیزه کلروفیل، افزایش توان آنتی‌اکسیدانی سلول و سنتز پروتئین‌های جدید را از دستگاه

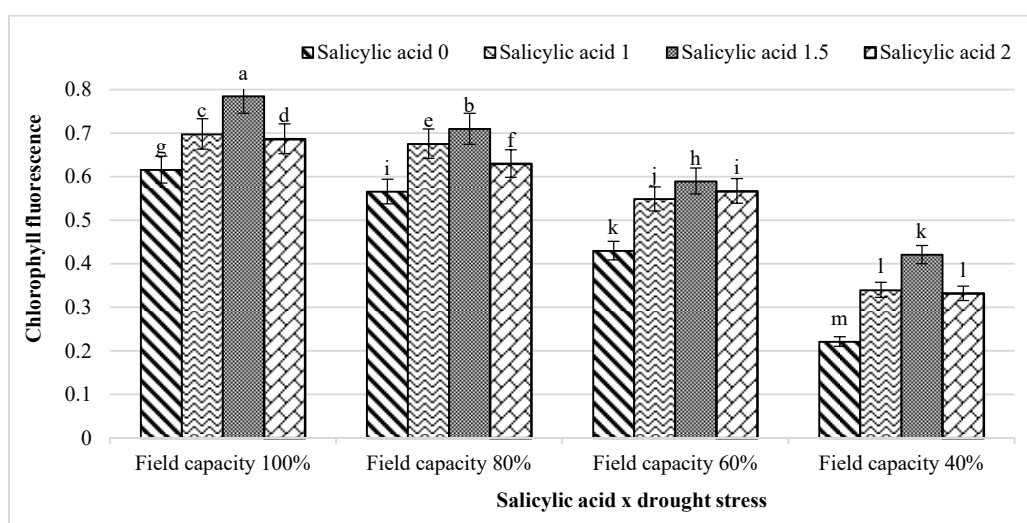
اما اسید سالیسیلیک ۱/۵ میلی مولار سبب افزایش عملکرد کوانتومی شد. تاثیر مثبت اسیدسالیسیلیک بر عملکرد فتوسیستم II در گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis*) توسط MoradiMarjane & Goldani (2011) گزارش شد. همچنین نتایج پژوهش Bagheriet al. (2013) روی ارقام کنجد (*Sesamum indicum*) و Tohidi Nejad et al. (2016) روی گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum*) با یافته‌های این تحقیق مطابقت دارد.

(MoradiMarjane & Goldani, 2011). اسیدسالیسیلیک در شرایط تنش خشکی به عنوان یک آنتی اکسیدان عمل نموده و از آسیب به رنگدانه‌ها به ویژه کلروفیل جلوگیری می‌کند به طوری که گزارش شده است اسیدسالیسیلیک از طریق جلوگیری از آسیب به کلروفیل سبب بهبود فتوسنتز در شرایط تنش خشکی شده است (Khan et al., 2003) که با یافته های فوق مطابقت دارد. اگرچه در پژوهش حاضر، با افزایش سطوح خشکی عملکرد کوانتومی کاهش یافت



شکل ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل اسیدسالیسیلیک و تنش خشکی بر درجه سبزینگی پنبیرباد.

Figure 3. Mean comparison interaction effect of salicylic acid and drought stress on SPAD in *W. coagulans*.



شکل ۴. مقایسه میانگین اثر متقابل اسیدسالیسیلیک و تنش خشکی بر میزان فلورسانس کلروفیل پنبیرباد.

Figure 4. Mean comparison interaction effect of salicylic acid and drought stress on chlorophyll fluorescence in *W. coagulans*.

## نتیجه‌گیری کلی

خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه پنیرباد شد. کاربرد اسیدسالیسیلیک با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار در تمامی سطوح تنش خشکی، بیشترین تاثیر را در بهبود خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه دارویی پنیرباد داشت. با توجه به نتایج تحقیق، بهترین تیمار، کاربرد اسیدسالیسیلیک ۱/۵ میلی‌مولار و تیمار تنش ۶۰ درصد ظرفیت زراعی تعیین شد. لذا میزان تحمل گیاه به خشکی تا ۶۰ درصد ظرفیت زراعی تعیین شد و محلول پاشی در غلظت ۱/۵ میلی‌مولار برای گیاه دارویی پنیرباد توصیه می‌گردد.

در آزمایش حاضر میزان تحمل به خشکی گیاه دارویی پنیرباد مورد بررسی قرار گرفت. به طور کلی با افزایش میزان تنش خشکی، صفات مورفولوژیک و صفات فیزیولوژیک در گیاه پنیرباد کاهش یافت. در تیمار تنش ۸۰ و ۶۰ درصد ظرفیت زراعی، گیاهان خسارات کمتری یافتند. در تیمارهای تنش خشکی شدید (۶۰ و ۴۰ درصد) درصد زنده‌مانی پنیرباد کاهش یافت. محلول پاشی اسیدسالیسیلیک در جهت افزایش مقاومت در مقابل تنش خشکی، موجب بهبود

## REFERENCES

1. Abreu, I.N. & Mazzafera, P. (2005). Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy. *Plant Physiology and Biochemistry*, 43(3), 241-248.
2. Ahmadi Azar, F., Hasanloo, T., Imani, A. & Feiziasl, V. (2015). Water stress and mineral zeolite application on growth and some physiological characteristics of mallow (*Malva sylvestris*). *Journal of Plant Researches (Iranian Journal of Biology)*, 28(3), 459-474. (In Farsi).
3. Alkire, B.H., Simon, J.E. (1993). Water management for midwestern peppermint (*Mentha piperita* L.) growing in highly organic soil, Indiana, USA. *Acta Horticulture*, 344(63), 544-556.
4. Al - Ahl, H.A.H.S. & Abdou, M.A.A. (2009). Impact of water stress and phosphorus fertilizer on fresh herb and essential oil content of dragonhead. *International Agrophysics*, 23, 403 - 407.
5. Amiri Deh Ahmadi, S. R., Rezvani Moghaddam, P. & Ehyae, H. R. (2012). The Effects of Drought Stress on morphological traits and yield of three medicinal plants (*Coriandrum sativum*, *Foeniculum vulgare* and *Anethum graveolens*) in Greenhouse Conditions. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 10(1), 116-124. (In Farsi).
6. Babaee, K., Amini Dehaghi, M., Modares Sanavi, S.A.M. & Jabbari, R. (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. (In Farsi).
7. Bagheri, E., Masood sinki, J., Baradaran firozabadi, M. & Abedini sfahlani. (2013). Effect of foliar application of salicylic acid on chlorophyll fluorescence and pigment amount of sesame (*Sesamum indicum* L.) varieties under irrigated conditions. *Journal of Research on Crop Ecophysiology (Agricultural Science)*, 7(3), 327-340. (In Farsi).
8. Baher, Z., Mirza, M. Ghorbanli, M. & Rezaii, M.B. (2002). The influence of water stress on plant height, herbal and essential oil yield and composition in *satireja hortensis* L. *Flavour and Fragrance Journal*, 17(4), 275-277.
9. Bates, L. S., Waldran, R. P. & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205-207.
10. Belkhadi, A., Hediji, H., Abbas, Z., Nouairi, I., Barhoumi, Z., Zarrouk, M., Chaibi, W., & Djebali, W. (2010). Effects of exogenous salicylic acid pretreatment on cadmium toxicity and leaf lipid content in *Linum usitatissimum* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(5), 1004-1011.
11. Cardona, C.A., Duncan, R.R. & Lindstrom, O. (1997). Low temperature tolerance assessment in *paspalum*. *Crop Science*, 37, 1283-1291.
12. Christos, A. & Damalas, C.A. (2019). Improving drought tolerance in sweet basil (*Ocimum basilicum*) with salicylic acid. *Scientia Horticulturae*, 246, 360-365.
13. Daneshian, J., Rahmani, N. & Alimohammadi, M. (2012). Effects of application nitrogen and fertilizer manure on physiological characteristics of calendula (*Calendula officinalis* L.) under water deficit stress. *New Findings in Agriculture*, 6(3), 231-240. (In Farsi).
14. Farooqi, A.H.A., Fatima, S., Ansari, S.R. & Sharma, S. (1999). Effect of water stress on growth and essential oil metabolism in *cymbopogon martini* (*Plamerosa*) cultivars. *Journal of Essential Oil Research*, 11, 491-496.
15. Fazeli Kakhki, S.F., Ghiasabadi, M. & Goldani, M. (2014). Effect of salicylic acid on drought stress through improving some morphological, physiological and yield components traits of mustard plant (*Brassica campestris* var. parkland). *Journal of Environmental Stresses in Crop Sciences*, 7(1), 65-77. (In Farsi).

16. Ghahremani, A., Ganji moghaddam, E., Tatari, M. & Khosroyar, S. (2020). Effect of type and concentration of growth regulators on the proliferation and marcotting of *Withania coagulans* medical plant. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 51(2), 287-294. (In Farsi).
17. Gutierrez-Coronado, M., Trejo, C.L. & Larque-Saavedra, A. (1998). Effects of salicylic acid on the growth of roots and shoots in soybean. *Plant Physiology Biochemistry*, 36, 563-565.
18. Hayat, S. & Ahmad, A. (2007). Salicylic acid: A Plant Hormone. *Springer*, p. 410.
19. Isvand, H.R. & Sharafi, A. (2017). Effects of seed osmoprimage at different temperatures on emergence, seedling growth and essential oil content of Khuzestan satreja under drought stress. *Journal of Seed Science and Technology of Iran*, 2, 23-25. (In Farsi).
20. Jafarzadeh, L., Omidi, H. & Bostani, A. (2014). The study of drought stress and bio fertilizer of nitrogen on some biochemical traits of marigold medicinal plant (*Calendula officinalis* L.). *Journal of Plant Researches (Iranian Journal of Biology)*, 27(2), 180-193. (In Farsi).
21. Jaleel, C.A., Manivannan, P., Lakshmanan, G.M.A., Gomathinayagam, M. & Panneerselvam, R. (2008). Alterations in morphological parameters and photosynthetic pigment responses of *Catharanthus roseus* under soil water deficits. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 61(2), 298-303.
22. Jain, R., Kachhwaha, S., & Kothari, S.L. (2012). Phytochemistry, pharmacology and biotechnology of (*Withania somnifera*) and (*Withania coagulans*): A review. *Journal of Medicinal Plants Research*. 6, 5388-5399.
23. Kabiri, R., Farahbakhs, H. & Nasibi, F. (2014). Effect of drought stress on physiological and biochemical characteristics of *Nigella sativa* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 30(4), 600 -609. (In Farsi).
24. Karimi Afshar, A., Baghizade, A. & Mohamadinezhad, Gh. (2015). Physiological assessment of drought tolerance of two ecotypes of cumin (*Cuminum cyminum* L.) under greenhouse conditions. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture Soilless Culture Research Center*, 6(3), 175-185. (In Farsi).
25. Khazaie, H.R., Nadjafi, F., & Bannayan, M. (2008). Effect of irrigation frequency and planting density on herbage biomass and oil production of thyme (*thmus-vulgaris*) and hyssop (*Hyssopus officinalis*). *Industrial Crop and Products*, 27(3), 315 - 321.
26. Khan, W., Balakrishnan, P. & Smith, D.L. (2003). Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. *Journal of Plant Physiology*, 160(5), 485-492.
27. Korkmaz, A., Korkmaz, Y. & Demirkiran, A.R. (2010). Enhancing chilling stress tolerance of pepper seedling by exogenous application of 5- aminolevulinic acid. *Environmental and Experimental Botany*, 67, 495-501.
28. Maxwell, K. & Johnson, G.N. (2000). Chlorophyll fluorescence-A practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51, 659-668.
29. Misra, A., Sricastatva, N.K. (2000). Influence of water stress on Japanese mint. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 7, 51-58.
30. Mohammadi Babazeidi, H., Falaknaz, M., Heidari, P., Hemati M. S. & Farokhian, Sh. (2013). The effect of *Azospirillum* spp bacteria, salicylic acid and drought stress on morphological and physiological characteristics of basil (*Ocimum basilicum* L.). *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*, 3(12), 31-36. (In Farsi).
31. Mohtashami, F., Pouryousef, M., Andalibi, B. & Shekari, F. (2015). Effects of seed priming and foliar application of salicylic acid on yield and essence of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) under drought stress condition. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 31(5), 841 -852. (In Farsi).
32. Moosavifar, B.E., Behdani, M.A., Jami Alahmadi, M. & Hosaini Bojd, M.S. (2012). Changes of chlorophyll index (SPAD), relative water content, electrolyte leakage and seed yield in spring safflower genotypes under irrigation termination. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 9(3), 525-534. (In Farsi).
33. Moradi Marjane, E., & Goldani, M. (2011). Evaluation of different salicylic acid levels on some growth characteristics of pot marigold (*Calendula officinalis* L.) under limited irrigation. *Environmental Stresses in Crop Sciences journal*, 4(1), 33-45. (In Farsi).
34. Muni Ram, D. & Singh, S. (1995). Irrigation and nitrogen requirements of bergamot mint on a sandy loam soil under sub-tropical conditions. *Agricultural Water Management*, 27, 45-54.
35. Nemeth, M., Janda, T., Hovarth, E., Paldi, E. & Szali, G. (2002). Exogenous salicylic acid increases polyamine content but may decrease drought tolerance in maize. *Plant Science*, 162(4), 569-574.
36. Nourzad, S., Ahmadian, A. & Moghaddam, M. (2015). Proline, total chlorophyll, carbohydrate amount and nutrients uptake in coriander (*Coriandrum Sativum* L.) under drought stress and fertilizers application. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 13(1), 131-139. (In Farsi).

37. Nonami, H., Wu, Y. & Matthewse, M.A. (1997). Decreased growth-induced water potential a primary cause of growth inhibition at low water potentials. *Plant Physiology*, 114, 501-509.
38. Pirzad, A., Alyai, H., Shakiba, M. R., Zehtab-salmasi, S. & Mohammadi, A. (2006). Eessential oil content and composition of German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) at different irrigation regims. *Journal of Agronomy*, 5(3), 451-455.
39. Popova, L., Ananieva, V., Hristova, V., Christov, K., Geovgieva, K., Alexieva, V. & Stoinova, Z. (2003). Salicylic acid and methyl jasmonateinduced protection on photosynthesis to paraquat oxidative stress. *Bulgarian Journal of Plant Physiology* (Special issue), 133-152.
40. Razavizadeh, R., Shafeghat, M. & Najafi, SH. (2014). Effect of water deficit on morphological and physiological parameters of *Carum copticum*. *Iranian Journal of Plant Biology*, 6(22), 25-38. (In Farsi).
41. Rezapour, A.R., Heidari, M., Galavi, M. & Ramrodi, M. (2011). Effect of water stress and different amounts of sulfur fertilizer on grian yield, grain yield components and osmotic adjustment in *Nigella sativa* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 3, 384-396. (In Farsi).
42. Sabet Teimouri, M., Kafı, M., Avarseji, Z. & Orooji, K. (2009). Investigation of drought stress levels on leaf chlorophyll content in saffron. *3th International Symposium on Saffron Biology and Technology, Kozani, Greece*, 20-23 May, pp. 333.
43. Salarpour, F. & Farahbakhsh, H. (2016). Effects of salicylic acid on some physiological traits, yield and yield components of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) under drought stress. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 32(2), 216-230. (In Farsi).
44. Sanchez-Blanco, J., Fernandez, T., Morales, A., Morte, A. & Alarcon, J. J. (2004). Variation in water stress, gas exchange, and growth in *Rosmarinus officinalis* plants infected with *Glamus deserticola* under drought conditions. *Journal of Plant Physiology*, 161(6), 675-682.
45. Shakirova, F.M., Shakhbutdinova, A.R., Bezrukova, M.V., Fatkhutdionova, R.A. & Fatkhutdionova, D.R. (2003). Changes in the hormonal status of wheat seedling induced by salicylic acid and salinity. *Plant Science*, 164, 317-322.
46. Simon, J.E., Bubenheim, R.D., Joly, R.J. & Chrles, D.J. (1992). Water stress induced alternations in essential oil content and composition of sweet basil. *Journal of Essential Oil Research*, 4, 71-75.
47. Tohidi Nejad, Z., Farahbakhsh, H. & Maghsoudi Moud, A.A. (2016). Evaluation of salicylic acid effects on some physiological traits of fenugreek under drought stress. *Journal of Plant Process and Function Iranin Society of Plant Physiology*, 5(16), 85-96. (In Farsi).
48. Turkan, I., Bor, M., Ozdemir, F. & Koca, H. (2005). Differential responses of lipid peroxidation and antioxidant in the leaves of drought- sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyetylen glycol mediated water stress. *Plant Science*, 168, 223-231.
49. Valizadeh, M., Bagheri, A., Valizadeh, J., Mirjalili, M.H. & Moshtaghi, N. (2015). Phytochemical investigation of *Withania coagulans* (Stocks) Dunal in natural habits of Sistan and Baluchestan province of Iran. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 31(3), 406 -417. (In Farsi).
50. Verdonck, O. & Gabriels, R. (1992). Reference method for the determination of physical properties of plant substrates. *Acta Horticulturae*, 302, 169-179.
51. Yildirim, E., Turan, M. & Guvenc, I. (2008). Applications on growth, chlorophyll and mineral content of cucumber grown under salt stress. *Journal of Plant Nutrition*, 31(3), 593-612.