مقاله پژوهشی

نشریه علمی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران | شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/IJMAPR.2021.355557.3042
جلد ۳۷، شماره ۶، صفحه ۹۵۳-۹۳۴ (۱۴۰۰) | شناسه دیجیتال (DOR): 20.1001.1.17350905.1400.37.6.4.5

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

عبدالکریم نگاری[۱]، مجید جامی‌الاحمدی[۲*] و غلامرضا زمانی[۳]

۱- دانشجوی دکترای 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

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

تاریخ دریافت: مرداد ۱۴۰۰ | تاریخ اصلاح نهایی: آبان ۱۴۰۰ | تاریخ پذیرش: آبان 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) ۱۵۰میکرومولار متیل جاسمونات + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکسترین و ۶) ۳۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکسترین بودند. بجز درصد اسانس، بقیه صفات شامل محتوای پرولین برگ، نشت 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 (به‌ترتیب ۳/۸۸ و ۳/۹۴ میکرومول بر گرم وزن تازه برگ) بدست آمد. بیشترین مقدار برای ارتفاع گیاه (۲۸/۳ سانتی‌متر)، قطرتاج 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 ملایم باعث افزایش عملکرد اسانس و تیمارهای الیسیتوری باعث کاهش عملکرد اسانس شدند.

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

مقدمه

گیاهان دارویی حاوی متابولیت‌های ثانویه یا مواد مؤثره‌ای هستند که در طول قرون متمادی، منابع ناتمام برای کشف داروهای جدید و پیشرفته بوده‌اند (Omidbagi, 1995؛

Prasanth Reddy *et al.*, 2014). جنس آویشن (*Thymus*) از خانواده نعناعیان (Lamiaceae)، دارای بیش از ۲۱۵ گونه در جهان است که ۱۸ گونه آن در ایران شناسایی شده است (Jamzad, 2009). گونه‌های متعدد آویشن از نظر نوع ترکیب‌های شیمیایی (کمّیت 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 محتلف آویشن طیف وسیعی از خواص درمانی شامل: ضد رماتیسم، ضد اسپاسم، کمک به نارسایی‌های قلبی، دیورتیک (ادرارآور) 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–ترپینن و بتا–کاریوفیلین است (Asllani & Toska, 2003). به‌دلیل 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 (Asif *et al.*, 2020؛ Wani *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 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 به‌صورت 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 درپی خواهد داشت (Taiz *et al.*, 2015). اثر تنش کمبود آب بر شاخص‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه زنیان (*Trachyspermum ammi*) نشان داده است که با افزایش شدت تنش کم‌آبی عملکرد کمّی 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. الیسیتورها 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 الیسیتورها برای استخراج حداکثر ماده مؤثره متفاوت بوده و تعیین آن به آزمایش‌های مختلف نیاز دارد (Bonfante, 2009).

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

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

اسید جاسمونیک ترکیبی مشتق از اسید چرب لینولئیک 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 ترپنوئیدها ایفای نقش می‌کند (Gomi, 2020).

سیکلودکسترین‌ها (Cyclodextrins) یک خانواده از سیکل‌های ترکیبی اولیگوساکاریدها هستند. سیکلودکسترین‌ها مولکول‌های حلقوی هستند که از اتصال ۶، ۷ یا ۸ مولکول گلوکز ساخته می‌شوند که به‌ترتیب α، β و γ سیکلودکسترین نامیده و عامل کلات‌کنندگی مولکول‌های مفید بوده و دارای ساختار قفسه‌مانند شبکه‌ای هستند (Dell-Valle, 2003).

کروناتین 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 کروناتین و ۱۰۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات به‌ترتیب ۲۷ و ۳ برابر نسبت به شاهد بعد از ۱۴ روز گزارش شده است (Gallego *et al.*, 2015). در مطالعه اثر سمّیت اکسید روی بر روی سویا (*Glycine max* L.) پیش تیمار کروناتین باعث افزایش طول ریشه، ساقه، محتوای کلروفیل، کاروتنوئید و آسکوربات شده است (Hashemi, 2016). کروناتین تحت تنش خشکی طولانی‌مدت در گیاهچه‌های ذرت به‌طور معنی‌داری فتوسنتز، تعرق و محافظت از رنگدانه‌های کلروفیل و نیز فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و گلوتاتیون ردکتاز را افزایش داده است (Wang *et al.*, 2008). در کشت سلولی درخت سرخدار (*Taxus* sp.) متیل جاسمونات و سیکلودکسترین به‌صورت هم‌افزایی، تاکسول بیوسنتزی را ۵۵ برابر نسبت به تیمار بدون الیسیتور افزایش داده است (Sabater-Jara *et al.*, 2014). در آزمایشی در منطقه سد سیستان، تیمار با اسید جاسمونیک (صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار) و سالیسلیک 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 کربوهیدات 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 الیسیتورها، شرایط مختلف رطوبتی و برهم‌کنش احتمالی آنها بر برخی صفات فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و عملکرد کمّی و کیفی آویشن باغی در شرایط گلخانه بوده است.

مواد و روش‌ها

مشخصات و تیمارهای آزمایش

این آزمایش در سال زراعی ۹۸-۱۳۹۷ به‌صورت 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 جنوب‌شرقی 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 الیسیتوری که در کرتهای فرعی قرار داشتند. سطوح تیمار الیسیتوری شامل ۱- شاهد بدون 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 متیل‌جاسمونات + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکسترین بود. درصد رطوبت نسبی گلخانه ۵±۶۵، ساعت روشنایی در اولین ماه انتقال به گلخانه ۱۰/۱۴ ساعت (روز/شب) و آخرین ماه ۱۲/۱۲ ساعت (روز/شب) بود. میزان روشنایی ورودی در ساعت ۱۳ و ۵۰ دقیقه

(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 ($\frac{1}{6}$ پرلیت، $\frac{1}{6}$ پیت موس، $\frac{1}{6}$ شن و $\frac{3}{6}$ خاک مزرعه) به مقدار معین پر شدند، به‌طوری که پس از آبیاری ۶ لیتر از گلدان اشغال شده بود.

قبل از انتقال نشاء کلیه گلدان‌ها آبیاری شدند. از بین آنها به‌صورت 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 به‌صورت 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.

میانگین وزن رطوبت گلدان در طی دوره تنش در حد ۴۰، ۶۵ و ۹۰ درصد ظرفیت رطوبتی خاک گلدان ثابت نگه داشته شد. به‌طوری که در زمان آبیاری رطوبت گلدان به هر میزان پایین‌تر 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) کروناتین (انحلال‌پذیری ۰/۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر آب)، متیل‌جاسمونات (انحلال‌پذیری ۳۴۰ میلی‌گرم در لیتر آب ۲۵ درجه سانتی‌گراد) و سیکلودکسترین (انحلال‌پذیری ۱۸/۵ گرم در لیتر آب ۲۵ درجه سانتی‌گراد) تهیه، سپس به حجم معین رسانده شد. کروناتین و سیکلودکسترین به‌راحتی در غلظت مورد استفاده حل شد، برای متیل جاسمونات 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.

کروناتین و متیل جاسمونات از شرکت سیگما (کشور آمریکا) و بتا سیکلودکسترین ساخت شرکت سیگما (کشور ژاپن) بود و از سمپلر Eppendorf (ساخت آلمان) استفاده شد.

برداشت

برای بررسی عملکرد کمّی و کیفی دو هفته بعد از آخرین محلول‌پاشی (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 نمونه‌برداری 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 برگی توزین و پس از شستشو به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق در ظروف شیشه‌ای ۷۵ میلی‌لیتری حاوی ۲۰ میلی‌متر آب‌مقطر 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).

$$EL= (EC1/EC2)\times100$$ رابطه ۱

محتوای نسبی آب برگ (RWC)

پس از نمونه‌گیری در سایه و هوای نسبتاً معتدل، برگ‌ها از ساقه جدا و به‌سرعت یک گرم از هر نمونه با ترازو (0.0001± گرم) وزن و در آب‌مقطر غوطه‌ور و به‌مدت 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).

$$RWC(\%) = [(FW-DW)/(TW-DW)] \times100$$ رابطه ۲

که در آن، FW: وزن تر برگ بلافاصله پس از جداسازی نمونه‌های برگی، TW: وزن اشباع برگ بعد از قرار گرفتن در آب‌مقطر 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 نقطه‌جوش دو ساعت و نیم بود. برای آبگیری اسانس از سولفات سدیم (شرکت Merck آلمان) استفاده شد. وزن اسانس برحسب وزن خشک واقعی برگ در درجه حرارت

استاندارد برای گیاهان اسانس‌دار (دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد) محاسبه گردید.

روش آماری تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

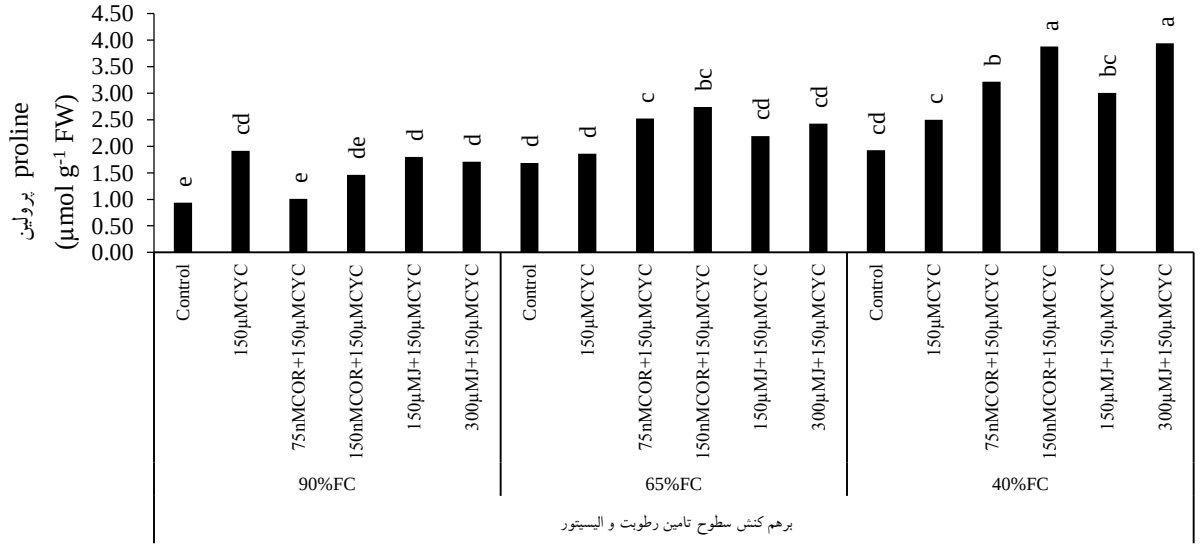
تجزیه آماری داده‌ها به‌وسیله نرم‌افزار SAS ویرایش 9.1، مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون LSD در سطح ۵٪ و رسم نمودارها با Microsoft EXCEl 2016 انجام شد.

نتایج

محتوای پرولین برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که سطوح تأمین رطوبت، الیسیتورها و برهم‌کنش الیسیتور و سطوح تأمین رطوبت اثر معنی‌داری ($P\leq0.01$) بر محتوای پرولین برگ داشته‌اند (جدول ۱).

برهم‌کنش الیسیتورها و سطوح تأمین رطوبت در شرایط گلخانه نشان داد که بیشترین مقدار محتوای پرولین برگ تحت تأثیر تیمارهای ۳۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکسترین و ۱۵۰ نانومولار کروناتین +۱۵۰ میکرومولار سیکلودکسترین در کمترین سطح تأمین رطوبت و ۴۰٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان بوده است (شکل ۱). بنابراین در پایین‌ترین سطح رطوبتی دو غلظت بالاتر الیسیتورهای کروناتین و متیل‌جا سمونات که با هم در بالاترین گروه قرار گرفته‌اند، نسبت به غلظت‌های پایین‌تر خودشان، سیکلودکسترین و شاهد در این سطح رطوبتی کارایی بالاتری در تولید محتوای پرولین برگ داشته‌اند. کمترین مقدار این شاخص مربوط به تیمار شاهد و ۷۵ نانومولار کروناتین + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکسترین 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 الیسیتور کروناتین نسبت به شاهد و تیمار سیکلودکسترین به لحاظ تولید محتوای پرولین برگ در گروه بالاتری قرار گرفتند (شکل ۱).



شکل ۱- برهم‌کنش سطوح مختلف رطوبت (درصد ظرفیت زراعی خاک گلدان (FC)) و الیسیتورها (کروناتین=COR، متیل جاسمونات= MJ و سیکلودکسترین=CYC) بر محتوای پرولین برگ آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) در شرایط گلخانه

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

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرهای سطوح تأمین رطوبت (درصد ظرفیت زراعی خاک گلدان)، الیسیتورها (کروناتین، متیل جاسمونات و سیکلودکسترین) و برهم‌کنش آنها بر صفات مورد ارزیابی آویشن باغی (***Thymus vulgaris***) در شرایط گلخانه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات									
		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	وزن اسانس تک بوته
بلوک	۲	۰/۰۳۳^{ns}	۱۲۵/۹۱۱*	۳/۱۲۷^{ns}	۱۵/۹۷^{ns}	۳۱/۰۹۸^{ns}	۳/۰۶^{ns}	۰/۷۳۶^{ns}	۰/۲۸۸^{ns}	۰/۱۰۷^{ns}	۰/۰۰۱^{ns}	۰/۰۰۰۸^{ns}
سطوح رطوبتی	۲	۱/۶۳۳** ۱	۶۶۱۸/۱۳**	۶۹۷/۴۳۰**	۱۸۵/۸۵**	۹۹/۸۴۴*	۲۵۰/۳۵** ۰	۶۴/۰۴۵**	۹/۰۶۸**	۲/۰۶۰** ۶	۰/۴۰۰**	۰/۰۰۳۸**
خطا ۱	۴	۰/۱۱۶	۱۱/۸۰۳	۱/۵۳۳	۳/۶۹۶	۱۳/۱۷۳	۲/۳۱۴	۰/۲۰۶	۰/۰۸۷	۰/۰۳۹	۰/۰۰۷	۰/۰۰۰۰۷
الیسیتور	۵	۱/۷۳۸**	۱۸۸/۷۹**	۴/۰۱۸^{ns}	۱/۲۸۳^{ns}	۴/۲۹۷^{ns}	۲۱/۹۸**	۲/۲۴۱**	۰/۵۴۳**	۰/۵۸۱**	۲/۵۲۴**	۰/۰۰۱۶**
سطوح رطوبتی× الیسیتور	۱۰	۰/۵۵۹**	۱۹/۳۹۸^{ns}	۶/۰۹۷^{ns}	۵/۹۷۱^{ns}	۲/۱۸۹^{ns}	۱۲/۵۹**	۱/۱۷۴*	۰/۳۲۲**	۰/۳۲۰*	۰/۰۰۸^{ns}	۰/۰۰۰۱**
خطا ۲	۳۰	۰/۰۵۹	۱۰/۴۱۲	۵/۷۲۰	۳/۸۳۱	۵/۴۱۹	۳/۹۸۰	۰/۴۵۴	۰/۱۰۳	۰/۱۴۲	۰/۰۰۵	۰/۰۰۰۰۳۱
ضریب تغییرات (٪)		۱۰/۸۰۵	۵/۵۶۰	۳/۲۶۶	۷/۸۰۷	۱۵/۹۹۹	۹/۰۷۰	۱۱/۵۳۰	۱۱/۰۳۰	۱۲/۸۹۳	۴/۴۱۴	۱۱/۷۷

**، * و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح ۱٪، ۵٪ و عدم معنی‌داری

نشت الکترولیت‌ها

نشت الکترولیت‌ها تحت تأثیر سطح تأمین رطوبت و الیسیتور اختلاف معنی‌داری ($P\leq0.01$) نشان داد، اما برهم‌کنش الیسیتور و سطح تأمین رطوبت بر نشت الکترولیت‌ها معنی‌دار نبود (جدول ۱). بیشترین نشت الکترولیت‌ها مربوط به سطح تأمین رطوبت در ۴۰٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان بود و نسبت به سطح تأمین رطوبت در ۶۵٪ و ۹۰٪ به‌ترتیب ۴۳/۴٪ و ۹۳/۲٪ افزایش نشان داد (جدول ۲).

در مقایسه میانگین اثرهای ساده الیسیتورها بیشترین درصد نشت 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 نشت 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 نشت الکترولیت‌ها و محتوای پرولین برگ وجود داشت (جدول ۳). بنابراین گیاهان با نشت الکترولیت‌های بیشتر، هزینه بیشتری برای 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 ($P\leq0.01$)، اما اثر اصلی الیسیتورها 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 به‌ترتیب 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 نشت 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.

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

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

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 (کمّی و کیفی) آویشن باغی (***Thymus vulgaris***) در شرایط گلخانه

	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱
۱- محتوای پرولین برگ	۱										
۲- نشت الکترولیت‌ها	۰/۶۳**	۱									
۳- محتوای نسبی آب	-۰/۶۶**	-۰/۸۸	۱								
۴- ارتفاع	-۰/۶۱**	-۰/۷۷**	۰/۷۶**	۱							
۵- قطر تاج پوشش	-۰/۴۹**	-۰/۶۱**	۰/۴۹**	۰/۶۴**	۱						
۶- وزن تر سرشاخه	-۰/۷۱**	-۰/۸۹**	۰/۸۵**	۰/۷۷**	۰/۵۹**	۱					
۷- وزن خشک سرشاخه	-۰/۶۸**	-۰/۸۳**	۰/۷۹**	۰/۷۶**	۰/۵۱**	۰/۹۱**	۱				
۸- وزن خشک برگ	-۰/۶۳**	-۰/۷۵**	۰/۷۲**	۰/۶۹**	۰/۴۲**	۰/۸۱**	۰/۹۶**	۱			
۹- وزن خشک ساقه	-۰/۶۸**	-۰/۸۵**	۰/۸۱**	۰/۷۷**	۰/۵۵**	۰/۹۵**	۰/۹۸**	۰/۹۰**	۱		
۱۰- درصد اسانس	-۰/۴۵ns	-۰/۰۰ns	۰/۰۷ns	۰/۰۳ns	۰/۱۴ns	۰/۳۷ns	۰/۰۰۶ns	۰/۰۱ns	۰/۰۰ns	۱	
۱۱- وزن اسانس	-۰/۶۷**	-۰/۴۵**	۰/۴۷**	۰/۴۲**	۰/۳۷**	۰/۴۹**	۰/۵۸**	۰/۶۲**	۰/۵۳**	۰/۷۶**	۱

**، * و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح ۱٪، ۵٪ و عدم معنی‌داری

ارتفاع

نتایج تجزیه واریانس نشان دادند که ارتفاع گیاه آویشن باغی در شرایط گلخانه تحت تأثیر سطوح مختلف تأمین رطوبت قرار گرفت ($P\leq0.01$) 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٪ به‌ترتیب 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 ($P\leq0.01$))، 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 به‌ترتیب 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، به‌طوری 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. علاوه‌براین 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 معنی‌داری ($P\leq0.01$) وزن تر و خشک سرشاخه آویشن باغی در گلخانه شد. برهم‌کنش تیمارها نیز بر وزن تر ($P\leq0.01$) و خشک ($P\leq0.05$) گیاهان معنی‌دار گردید (جدول ۱).

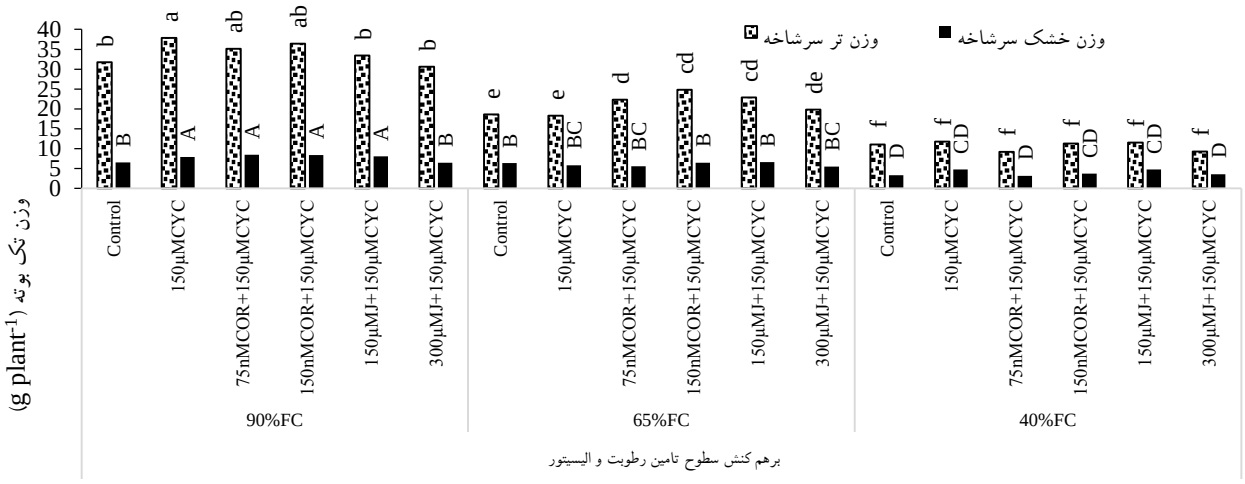
برهم‌کنش سطوح تأمین رطوبت و الیسیتور بر عملکرد تر نشان دادند که در سطح تأمین رطوبت ۹۰٪ تیمار شاهد با تیمار سیکلودکسترین در دوگروه مجزا و هردو با تیمارهای ۷۵ نانومولار کروناتین + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکسترین و ۱۵۰ نانومولار کروناتین + ۱۵۰ میکرومولار سیکلو دکسترین همپوشانی داشتند. علاوه براین، دو تیمار دیگر نیز با شاهد هم‌گروه بودند. در سطح تأمین رطوبت ۶۵٪ شاهد و تیمار سیکلودکسترین 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 تاج‌پوشش 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).

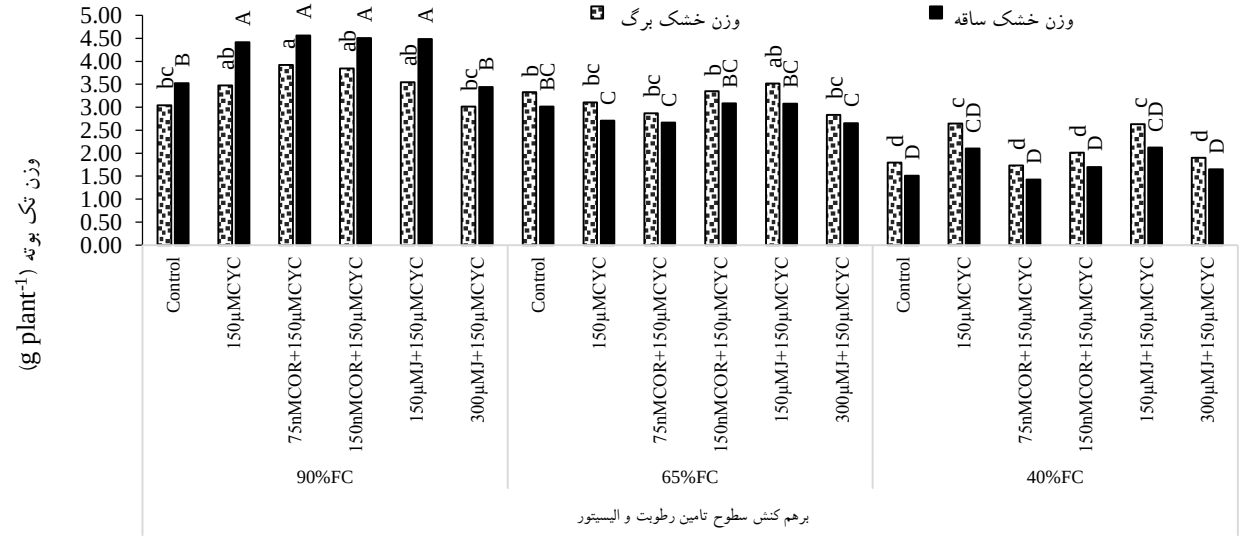
وزن خشک برگ و ساقه

اثرهای ساده سطح تأمین رطوبت و الیسیتورها بر وزن خشک برگ و ساقه معنی‌دار ($P\leq0.01$) بود. برهم‌کنش الیسیتور و سطح تأمین رطوبت نیز اثر معنی‌داری بر وزن خشک برگ ($P\leq0.01$) و ساقه ($P\leq0.05$) آویشن باغی داشت (جدول ۱).



شکل ۲- برهم‌کنش سطوح مختلف تأمین رطوبت (درصد ظرفیت زراعی خاک گلدان (FC)) و الیسیتورها (کروناتین=COR، متیل جاسمونات= MJ و سیکلودکسترین =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- برهم‌کنش سطوح مختلف رطوبت (درصد ظرفیت زراعی خاک گلدان (FC) و الیسیتورها (کروناتین=COR، متیل جاسمونات= MJ و سیکلودکسترین=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).

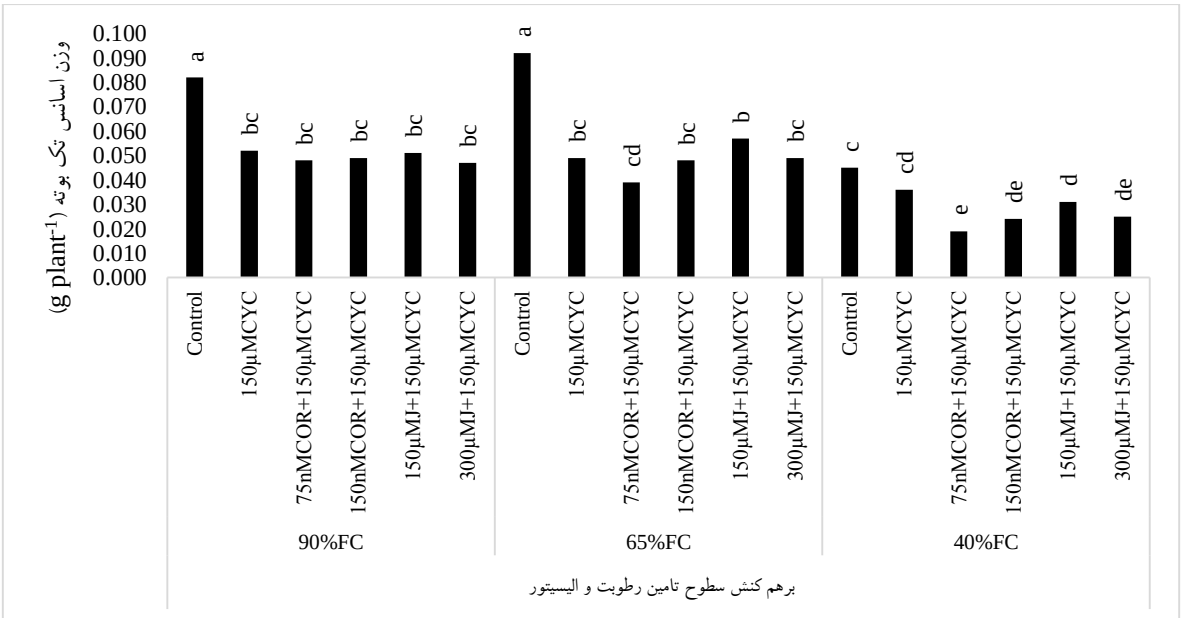
روند تولید وزن برگ و ساقه نشان می‌دهد که در شرایط رطوبتی ۹۰٪ ظرفیت زراعی خاک، وزن خشک ساقه بیشتر از برگ بوده اما در دو سطح رطوبتی دیگر بعکس وزن خشک برگ بیشتر از ساقه بوده است (شکل ۳).

رفتار تیمارها با وزن خشک برگ در تیمار تأمین رطوبت در ۹۰٪ ظرفیت زراعی باعث شده که تیمار ۷۵ نانومولار کروناتین + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکسترین با سه تیمار دیگر همپوشانی داشته و با تیمار شاهد و ۳۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکسترین معنی‌دار شود. در سطح تأمین رطوبت ۶۰٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان همپوشانی الیسیتور زیاد بود و در سطح رطوبتی ۴۰٪ ظرفیت زراعی خاک تیمارهای ۱۵۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکسترین و سیکلودکسترین 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 الیسیتور در سطح تأمین ۹۰٪ ظرفیت زراعی خاک قابل تفکیک بود و در دو گروه جداگانه قرارگرفت، به‌طوری که شاهد و تیمار ۳۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات + ۱۵۰ میکرومولار سیکلودکسترین در یک گروه و بقیه تیمارها در 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 الیسیتور بر درصد و وزن اسانس برگ تک بوته معنی‌دار ($P\leq0.01$) اما برهم‌کنش تیمارها فقط بر وزن اسانس برگ تک بوته معنی‌دار ($P\leq0.01$) 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 (به‌ترتیب 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).



شکل ۴- برهم‌کنش سطوح مختلف رطوبت (درصد ظرفیت زراعی خاک گلدان (FC)) و الیسیتورها (کروناتین=COR، متیل جاسمونات= MJ و سیکلودکسترین=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).

براساس مقایسه میانگین درصد اسانس تحت تأثیر الیسیتورها، شش تیمار به‌ترتیب 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 سیکلودکسترین مشاهده شد که ۵۴/۴۴٪ نسبت به شاهد کاهش داشت (جدول ۲).

برهم‌کنش سطوح تأمین رطوبت و الیسیتورها 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 الیسیتوری و حتی سیکلودکسترین 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 الیسیتورها 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، گلایسین‌بتائین، 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 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 دنایی (Askary, 2017)، گندم دروم (*Triticum durum*) (Mattioni *et al.*, 1997)، نخود (*Pisum satium* L.) (Sanchez *et al.*,1998) و ریحان (*Ocimum basilicum*) (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.

نشت 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 نشت 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

منفی بسیار معنی‌داری بین نشت الکترولیت‌ها و این صفات صحه‌ای بر این موضوع است (جدول ۳). افزایش ترواپی غشاء سیتوپلاسمی و نشت 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 تنشی یک راهکار خودتنظیمی در مقاومت به پسابیدگی است (Crowe & Crowe, 1992) که در سطح رطوبتی ۴۰٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان دیده شد.

براساس نتایج حاصل از این مطالعه متیل جاسمونات و کروناتین توانسته‌اند مقاومت سلول را تا حدی افزایش دهند که با میانگین نشت کمتر از نظری آماری نیز در گروه جداگانه‌ای قرار بگیرند. جاسمونیک اسید یک مولکول پیام‌رسان گیاهی در ارتباط با پاسخ‌های مقاومتی در برابر تنش‌های غیرزنده (Wang *et al.*, 2020) و زنده است. پاسخ‌های فیزیولوژیکی جاسمونات‌ها شامل فعال کردن سامانه آنتی‌اکسیدانی (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 روزنه‌ها می‌باشد (Acharya & Assmann, 2009). بنابراین متیل جاسمونات و کروناتین که به‌ترتیب از مشتقات و آنالوگ جاسمونات‌ها هستند توانسته‌اند با مهار ترکیب‌های اکسیدکننده از انتشار الکترولیت‌ها و صدمات غشاء پلاسمایی بکاهند.

محتوای نسبی آب

محتوای نسبی آب گیاه بین ۷۰٪ تا ۱۰۰٪ باعث تغییرات فتوسنتز می‌گردد اما بازدارندگی‌های آن قابل برگشت می‌باشند. 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 بوده‌اند (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 دنایی تحت سطوح مختلف تنش رطوبتی انجام شد، بیشترین و کمترین محتوای نسبی آب به‌ترتیب در سطوح جبران رطوبتی ۱۰۰٪ و ۳۳٪ ظرفیت زراعی مشاهده شد (Askary, 2017) که با این مطالعه مطابقت داشت. در این بررسی بالا نگه‌داشتن محتوای نسبی آب باعث افزایش ارتفاع، قطر تاج پوشش و به‌طور کلی صفات عملکردی ازجمله عملکرد اسانس شده است، آنگونه که همبستگی مثبت معنی‌داری بین محتوای نسبی آب و این صفات مشاهده شد (جدول ۳).

ارتفاع

کاهش رطوبت می‌تواند باعث ایجاد اختلال در بیان ژن‌های سازنده دیواره سلولی گردد و از رشد و توسعه سلول‌ها بکاهد و در نهایت باعث کاهش ارتفاع گیاه شود (Ghassemian *et al.*, 2008). در بررسی انجام شده ارتفاع گیاهان به‌شدت تحت تأثیر سطوح تأمین رطوبت قرار گرفته، به‌طوری که با کاهش هر ۲۵٪ رطوبت از سطح تأمین ۹۰٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان، حدود ۱۵٪ از ارتفاع گیاه کاسته شده و به‌تبع آن از عملکرد کمّی و کیفی گیاهان نیز کاسته شده است. مؤید این موضوع جدول همبستگی صفات بوده که همبستگی مثبت معنی‌داری را بین ارتفاع و صفات کمّی و کیفی گیاه نشان می‌دهد (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 (Anjum *et al.*, 2011؛ Siddique *et al.*, 1993) و سبب اختصاص بیشتر مواد فتوسنتری به ریشه نسبت به سرشاخه برای توسعه بیشتر و دریافت رطوبت شده است (Cabuslay *et al.*, 2002؛ Sreevalli *et al.*, 2001). در واقع گیاه برای مقابله با تنش، انرژی خود را برای مراقبت و زنده نگه داشتن سلول‌ها صرف کرده (Shanon, 1997) و به‌تبع آن

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 به‌خوبی 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 آبسیزیک 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 الیسیتورها 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 ر شد و تو سعه 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 الیسیتوری به‌ویژه در سطح ۶۰٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان تفاوت معنی‌داری با شاهد و حتی تیمار سیکلودکسترین داشت. در مورد اثر الیسیتورها 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 فیزیولوژیک در گیاه سویا (*Glycine max* L.) نیز مشاهده شده است، به‌طوری که استفاده از متیل جاسمونات در غلظت‌های ۱ و ۱۰ میکرومولار به‌ترتیب باعث افزایش ر شد و کاهش پراک سیدا سیون شده و کاربرد غلظت‌های ۱۰۰ و ۰۰ میکرومولار آن باعث کاهش رشد و افزایش پراکسیداسیون لیپدها شده است (Keramat & Daneshmand, 2012). مطالعات دیگر نیز م شخص 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 کروناتین 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 به‌دلیل مهیا بودن شرایط رشدی در این دو سطح، اختلاف کمتری بین سطوح تیماری مشاهده گردید. به‌طور کلی پایین آمدن سطح رطوبتی خاک و به‌دنبال 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 یک‌سو با کاهش رطوبت نشت الکترولیت‌ها و میزان پرولین برگ به‌طور 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، کربن‌گیری، تولید و ذخیره مواد غذایی، اکسیژن و تعریق و تعرق می‌باشد، مهمترین محل تشکیل غدد

اسانس گیاه نیز است. بنابراین عملکرد اسانس همبستگی مثبت بسیار معنی‌داری 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 معنی‌دار بین شاخص‌های وزن ساقه، ارتفاع ساقه و وزن برگ در این مطالعه صحه‌ای بر این مطلب است. در این بررسی در نگاه اول به برهم‌کنش مشخص می‌گردد که در شرایط فراهمی رطوبت به نظر می‌رسد که گیاهان برای تولید ساقه قویتر و بلندتر تحریک می‌شوند و یا اینکه به اقتضاء ساقه قویتری تولید می‌کنند. برهم‌کنش سطوح رطوبتی در ۹۰٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان و الیسیتورها نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای وزن برگ بیشتر از ساقه است که این به‌دلیل 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 معنی‌داری در بین تیمارها در سطح تأمین ۴۰٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان مشاهده شد که می‌تواند دلیلی بر کارایی بیشتر بعضی از تیمارها باشد.

اثر کاهشی 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 حد بسیار معنی‌دار 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 معنی‌داری شدند. در نهایت برهم‌کنش تیمارها نیز بر عملکرد یا وزن اسانس در بوته بسیار معنی‌دار 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 پیش‌تیمار کروناتین در ریحان (*Ocimum basilicum*) در شرایط گلدانی درصد اسانس بین تیمارهای ۰، ۵۰ و ۱۰۰ نانومولار کروناتین و شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (Zare Dehabadi, 2013). طی مطالعه محلول‌پاشی جاسمونیک اسید (۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر) بر روی دو گونه آویشن باغی و آویشن دنایی در کشت گلدانی، بیشترین درصد اسانس در تیمار شاهد گزارش شد HSJ (Alavi-Samani *et al.*, 2015) 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، نشت الکترولیت‌ها و محتوای نسبی آب و همچنین شاخص‌های عملکردی ارتفاع، قطر تاج پوشش، وزن خشک برگ و ساقه و در نهایت بر عمکرد کمّی 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

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 علاوه‌بر 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-Zarzour, 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. 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, prolin 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

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 maiz. 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 aleo 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., Borzoee, 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 Agricultureal Science and Technology, 18(6): 1635-1645.
- Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Sciencs, 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. Communcation, 24: 77-84.
- Taiz, L. Zeiger, E., Moller, I.M. and Murphy, A., 2015. Plant Physiology and Development. Sinauer Associates, S underland, 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[1], M. Jami Al-Ahmadi[2*] and G. Zamani[3]

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 µM cyclodextrin (CYC), (3) 75 nM coronatine (COR) + 150 µM CYC, (4) 150 nM COR + 150 µM CYC, (5) 150 µM methyl jasmonate (MJ) + 150 µM CYC, and (6) 300 µM MJ + 150 µM 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 form the interaction of elicitors (levels 4 and 6) and the 40% FC level of moisture supply (3.88 and 3.94 µmol g^{-1} 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 $plant^{-1}$) 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.