

## Investigating of biochemical and physiological responses of *Lepidium sativum* to methyl jasmonate foliar application and water scarcity

M. Shamsaddin Saeid<sup>1\*</sup>, R. Kabiri<sup>2</sup>

1. Assistant Professor, Department of Plant Productions, Bardsir Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran
2. Kerman Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Iran

Received 3 March 2024; Accepted 7 May 2024

### Extended abstract

#### Introduction

Several environmental factors affect growth, development, and finally crop yield. Water scarcity is one of the environmental stresses that has destructive and harmful effects on the growth stages of plants, their organ structure and activity, eventually causing oxidative stress by disturbing the balance between the production of reactive oxygen species and the plant's antioxidant defense system. In this regard, the induction of drought tolerance in plants is prominent from both theoretical and practical points of view. The application of plant growth regulators for survival, production of biomass, and yield in plants could be a promising approach that allows the farming of plants in the extension of cultivation fields and the increase of species diversity in natural and agricultural ecosystems. Methyl jasmonate (MeJA) is one of the compounds that is effective in causing tolerance and resistance to water scarcity in plants. Due to the role of jasmonic acid in drought tolerance induction in plants under stress conditions and considering the importance of *Lepidium sativum* in human nutrition, the main purpose of the present study was to investigate the effects of water scarcity and the foliar application of MeJA on the enzymatic antioxidant defense system, membrane stability and osmotic regulators. The mechanisms underlying drought tolerance are crucial for enhancing plant resilience and agricultural sustainability.

#### Materials and methods

To evaluate the effect of MeJA foliar spraying on some physiological indices and antioxidant enzymes activity of *Lepidium sativum* under water scarcity conditions, an experiment was conducted in a factorial arrangement based on a complete block design with three replications in the research greenhouse of the Bardsir Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, in 2022. The experimental treatments included the exogenous application of MeJA (0 (control), 50, and 100  $\mu$ M) and irrigation level (100 and 50% of field capacity). Spraying distilled water and foliar application of MeJA concentrations on the leaves of the garden cress plant were applied based on the design plan, two times a week, and approximately 30 ml of MeJA was sprayed on each plant. Plant water depletions were determined by weighing the pots.

\* Corresponding author: Mohadeseh Shamsaddin SaiedMaleki Farahani; E-Mail: [mohadesehsaid2014@uk.ac.ir](mailto:mohadesehsaid2014@uk.ac.ir)



## Results and discussion

The results showed that water scarcity caused a significant decrease in the amount of protein and an increase in the peroxidation content of membrane lipids, accompanied by the leakage of electrolytes. Although under water scarcity, the activity of antioxidant enzymes including superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX), and ascorbate peroxidase (APX), as well as osmotic regulators consisting of proline content and soluble sugars increased by approximately 59.2, 74.3, 62.8, 62.7, 77.5, and 40.3%, respectively, as compared to the control plants, it was determined that the inhibition of ROS was beyond the tolerance of garden cress. Therefore, reducing the content of MDA (36.2%) and ion leakage (26.7%) and increasing the protein content by 23.5% through the induction of plant defense mechanisms, including amelioration of antioxidant enzyme activity and osmolytes, has been effective only by spraying the concentration of 100  $\mu\text{mol}$  MeJA in garden cress under water scarcity conditions. MeJA exogenous application markedly ameliorated the water scarcity tolerance by increasing the activities of antioxidant enzymes and compatible osmolytes.

## Conclusion

Based on the obtained results, it can be concluded that MeJA as a messenger molecule by increasing the activities of enzymatic antioxidants (SOD, CAT, GPX and APX) and increment osmotic regulators (proline and soluble sugars) in the cell led to decrease in lipids peroxidation and reduce in MDA content, which caused cell membrane stability, decline in ion leakage, and raising dry weight under water scarcity conditions. Therefore, it seems that the application of methyl jasmonate in modern agriculture can be a crucial step towards achieving agricultural sustainability in the country.

**Keywords:** Antioxidant enzymes, Electrolyte leakage, Malondialdehyde, Osmotic regulations

## بررسی پاسخ‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاه دارویی شاهی (*Lepidium sativum*) به محلول پاشی متیل جاسمونات و تنش کم‌آبی

محدثه شمس‌الدین سعید<sup>۱\*</sup>، رزیتا کبیری<sup>۲</sup>

۱. استادیار گروه تولیدات گیاهی دانشکده کشاورزی بردسیر دانشگاه شهید باهنر کرمان

۲. مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کرمان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)

| مشخصات مقاله    | چکیده                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| واژه‌های کلیدی: | به‌منظور بررسی تأثیر محلول پاشی متیل جاسمونات بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاه دارویی شاهی ( <i>Lepidium sativum</i> ) تحت شرایط تنش کم‌آبی، آزمایشی در قالب طرح فاکتوریل بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۱۴۰۱-۱۴۰۲ انجام پذیرفت. تیمارهای آزمایشی شامل کاربرد برون‌زای متیل جاسمونات (صفر (شاهد)، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) و تنش کم‌آبی (۱۰۰ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی) بودند. نتایج نشان داد که تنش کم‌آبی موجب کاهش معنی‌دار وزن خشک، مقدار پروتئین و افزایش محتوی پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و نشت یونی گردید. اگرچه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل سوپر اکسید دیسموتاز، گایاکل پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز و همچنین تنظیم‌کننده‌های اسمزی از جمله محتوی پرولین و قندهای محلول به ترتیب حدود ۵۹/۲، ۷۴/۳، ۶۲/۸، ۷۷/۵ و ۴۰/۳ درصد در گیاهان تحت شرایط تنش کم‌آبی در مقایسه با شاهد بدون تنش کم‌آبی، افزایش داشت اما مشخص نمود که مهار گونه‌های فعال اکسیژن خارج از توان گیاه شاهی بوده است؛ بنابراین کاهش محتوی مالون دی‌آلدئید (۳۶/۲٪) و نشت یونی (۲۶/۷٪) و افزایش ۲۳/۵ درصدی محتوی پروتئین از طریق القای مکانیسم‌های دفاعی گیاه از جمله افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و اسمولیت‌ها، تنها با محلول پاشی غلظت ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات در گیاه دارویی شاهی تحت شرایط تنش کم‌آبی مؤثر بوده است. بر اساس نتایج تحقیق حاضر می‌توان چنین اظهار داشت که متیل جاسمونات به‌عنوان یک مولکول پیام‌رسان با افزایش توان آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی (SOD، CAT، GPX و APX) و افزایش تنظیم‌کننده‌های اسمزی (پرولین و قندهای محلول) در سلول، منجر به کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و کاهش مقدار مالون دی‌آلدئید تولیدی گردیده که به دنبال آن پایداری غشاء سلولی، کاهش نشت یونی و افزایش وزن خشک را تحت شرایط تنش کم‌آبی به همراه داشته است؛ بنابراین به نظر می‌رسد کاربرد غلظت ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات در گیاه شاهی می‌تواند در کاهش تنش کم‌آبی مفید باشد و نهایتاً گامی به‌سوی تحقق اهداف کشاورزی پایدار در کشور باشد. |
| تاریخ دریافت:   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| ۱۴۰۲/۱۲/۱۳      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| تاریخ پذیرش:    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| ۱۴۰۳/۰۲/۱۸      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |

### مقدمه

که نیاز آبی گیاه به‌اندازه کافی تأمین نشود و همین امر منجر به کاهش عملکرد محصولات کشاورزی گردد (Farsi et al., 2020). محدودیت دسترسی آب ناشی از کم‌آبی، القای تنش اکسیداتیو را به همراه خواهد داشت. تنش اکسیداتیو از طریق محدودیت تثبیت دی‌اکسید کربن، پدیدآوری گونه‌های فعال

کاهش دسترسی به آب ناشی از خشکی یکی از تنش‌های محیطی مخرب است که گیاهان در طول حیات خود با آن مواجه می‌شوند (Javadi et al., 2017). عدم بارش کافی و توزیع زمانی غیریکنواخت بارندگی در طول فصل رشد، بخصوص در منطقه جنوب شرق ایران موجب گردیده است

گیاهان مامیران کبیر<sup>۳</sup> (Fabriki-Ourang and Norastehnia, 2018)، توتون<sup>۴</sup> (Shahabzadeh, 2018)، لوبیا چشم‌بلبلی<sup>۵</sup> (Yousefzadeh, 2017)، توت‌فرنگی<sup>۶</sup> (Sadeghipour, 2017)، مرزنجوش<sup>۷</sup> (Farsi et al., 2020)، کینوا<sup>۸</sup> (Keshtkar et al., 2021) و شاهی (Asadi Karam et al., 2016) تحت تنش‌های مختلف محیطی مشاهده گردید. همچنین گزارش شده است که کاربرد برون‌زای متیل‌جاسمونات موجب افزایش اسانس، متابولیت‌های ثانویه و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum*) (Malekpoor et al., 2015) و نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) (Vatankhah et al., 2017) تحت شرایط تنش کم‌آبی و شوری شده است. همچنین گزارش شده است که جاسمونات با القای فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ازجمله گایاکل پراکسیداز، کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز در گیاه *Agropyron cristatum* موجب افزایش تحمل به تنش کم‌آبی گردیده است (Shan et al., 2009). غلظت‌های پایین متیل‌جاسمونات موجب تحریک رشد ریشه و اندام هوایی در گیاه *Andrographis paniculata* گردید درحالی‌که غلظت‌های بالای آن اثر بازدارندگی داشت (Kalariya et al., 2023). درحالی‌که با کاربرد غلظت ۰/۱ میلی‌مولار متیل‌جاسمونات در گیاه توت‌فرنگی تحت شرایط تنش کم‌آبی، کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء مشاهده گردید (Wang et al., 2008). هنگامی‌که متیل‌جاسمونات در زمان و غلظت مناسب به کار برده شود موجب کاهش محتوی مالون دی‌آلدئید در گیاه سویا تحت شرایط تنش کم‌آبی می‌گردد (Anjum et al., 2011). یون‌گزا و همکاران (Yun-xia et al., 2010) گزارش کردند که جاسمونیک اسید با تأثیر بر پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، محتوی پروتئین و فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها نقش محافظتی خود را در برابر تنش کم‌آبی اعمال می‌کند (Yun-xia et al., 2010).

گیاه شاهی با نام علمی *Lepidium sativum* گیاهی است یک‌ساله از خانواده شب‌بو، بومی مدیترانه و به ارتفاع حدود ۲۰ تا ۳۰ سانتی‌متر است. بذر شاهی حاوی مقادیر

اکسیژن<sup>۱</sup> در اندام‌ها ازجمله کلروپلاست، منجر به اکسیداسیون پروتئین‌ها، پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، صدمه به اسیدهای نوکلئیک، مهار فعالیت‌های آنزیم‌ها و درنهایت اختلال در متابولیسم سلولی می‌گردد (Kabiri et al., 2018). نقش مکانیسم حفاظتی آنتی‌اکسیدان آنزیمی جهت پاک‌سازی ROSها و تعدیل اثرات مخرب تنش در گیاهان اهمیت ویژه‌ای دارد (Javadi et al., 2017). کربوهیدرات‌های محلول به‌عنوان یک تنظیم‌کننده اسمزی در پایداری غشاهای سلولی و ثبات فشار تورژسانس سلول‌ها عمل می‌نمایند. به‌طوری‌که تنظیم اسمزی بهتر در گیاهان با تجمع کربوهیدرات‌های محلول در پاسخ به تنش کم‌آبی همبستگی مثبت دارد (Ashrafi et al., 2022). پرولین نیز به‌عنوان یک اسمولیت سازگار با ایجاد تعادل اسمزی در حفظ ساختار سه‌بعدی پروتئین‌ها و آنزیم‌ها، حفظ تعادل آب، تنظیم pH سلولی، منبع ذخیره کربن و نیتروژن برای رشد بعد از رفع تنش، کاهش خطرات حاصل از تولید رادیکال‌های آزاد و تنظیم نسبت NADP<sup>+</sup>/NADPH نقش دارد (Ostadi et al., 2022).

ترکیباتی که به مهار گونه‌های فعال اکسیژن توسط بهبود سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیرآنزیمی و تنظیم‌کننده‌های اسمزی کمک کنند، ازنقطه‌نظر تئوری و کاربردی اهمیت فراوانی دارند. اسید جاسمونیک و متیل-استرهای آن (متیل‌جاسمونات) جز تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی جدید به‌شمار می‌آیند که به‌صورت یک مولکول سیگنالی، مکانیسم‌های دفاعی گیاهان را در مقابل شرایط تنش‌زای محیطی فعال کرده و نقش کلیدی در جوانه‌زنی، رشد و نمو، باروری و رسیدگی میوه ایفا می‌کنند (Mahabub Alam et al., 2014). از طرف دیگر، متیل‌جاسمونات<sup>۲</sup> با توجه به غلظت بکار رفته، گونه گیاهی و مرحله رشد می‌تواند اثرات متفاوتی بر رشد و نمو گیاهان داشته باشد (Farsi et al., 2020). بررسی‌ها نشان داده است غلظت‌های پائین این ترکیب در افزایش تحمل گیاه به تنش اکسیداتیو ناشی از کم‌آبی ارتباط مستقیم دارد (Farsi et al., 2020; Malekpoor et al., 2015). در بررسی تیمار متیل‌جاسمونات، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در

<sup>۵</sup> *Vigna sinensis*

<sup>۶</sup> *Fragaria ananassa*

<sup>۷</sup> *Origanum vulgare*

<sup>۸</sup> *Chenopodium quinoa willd*

<sup>۱</sup> ROS: Reactive Oxygen Species

<sup>۲</sup> MeJA

<sup>۳</sup> *Chelidonium majus*

<sup>۴</sup> *Nicotiana tabacum*

قابل توجهی موسیلاژ است. از برگ و بذر آن برای درمان دل-پیچه، آسم و سرفه، اسهال خونی، ذات‌الریه و سردرد استفاده می‌شود (Radwan et al., 2007). شاهی اثر آنتی آسکوربوت قوی دارد و برای درمان بیماری‌های ناشی از کمبود ویتامین C در بدن به صورت خام در سالاد و یا سبزی خوردن مصرف می‌شود. همچنین شاهی خاصیت مدر، اشتهاآور و تصفیه‌کننده خون دارد و مصرف دانه آن برای تقویت لثه‌ها، التیام زخم و رفع کم‌خونی توصیه می‌گردد (Gokavi et al., 2004). مصرف رایج شاهی در ایران به صورت سبزی خوراکی است. در میان سایر سبزی‌های تازه شاهی حاوی بیشترین مقدار پتاسیم، چربی و ویتامین‌های A و B2 است و از نظر پروتئین، سایر املاح و ویتامین‌ها نیز در مقام دوم و سوم قرار دارد (Radwan et al., 2007).

بررسی اثر تنش‌های محیطی بر خصوصیات فیزیولوژی گیاهان، به جهت شناخت مکانیسم‌های تحمل و بقا، ضرورت افزایش مقاومت در برابر تنش را آشکار می‌سازد و با توجه به نقش متیل جاسمونات در ایجاد تحمل به کم‌آبی در گیاهان و با عنایت به اهمیت گیاه شاهی در تغذیه انسان، تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی متیل جاسمونات بر سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان آنزیمی، پایداری غشاء و تنظیم‌کننده‌های اسمزی مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

بذرهای گیاه شاهی (*Lepidium sativum*) تهیه شده از شرکت پاکان بذر اصفهان به مدت یک دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد ضدعفونی شده و سپس دوبرتبه با آب مقطر شسته شدند. بذرهای در گلدان‌های حاوی خاک لومی-شنی، در گلخانه‌ی تحقیقاتی دانشکده کشاورزی بردسیر استان کرمان (طول جغرافیایی: ۵۶ درجه و ۳۴ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی: ۲۹ درجه و ۵۵ دقیقه شمالی) با دمای ۲۵/۲۲ درجه سانتی‌گراد شب/روز، دوره روشنایی/تاریکی ۱۴/۱۰ ساعت و رطوبت نسبی ۶۵ درصد کشت گردید. پس از گذشت چهار هفته از رشد گیاه در شرایط عدم تنش، بعد از تنک گلدان‌ها، تعداد سه عدد گیاه سالم و یکدست در هر گلدان جهت اعمال تیمارهای محلول‌پاشی متیل جاسمونات و رژیم‌های مختلف آبیاری، حفظ شدند. آزمایش به صورت فاکتوریل

در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و در سه تکرار انجام شد. تیمارهای محلول‌پاشی شامل صفر (آب مقطر)، ۵۰ و ۱۰۰ میکرو مولار متیل جاسمونات (Zahedi et al., 2019) و تنش کم‌آبی در دو سطح ۱۰۰ و ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه (FC) به مدت سه هفته متوالی به گیاهان اعمال گردیدند. برای اطمینان از جذب شدن متیل جاسمونات و به دلیل وجود اطلاعات محدود در مورد طول نیمه‌عمر آن در گیاه، محلول‌پاشی آب مقطر (به عنوان شاهد) و محلول‌پاشی متیل جاسمونات (با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرو مولار) بر روی برگ‌های گیاه شاهی طبق طرح یک هفته قبل و هم‌زمان با اعمال تنش کم‌آبی به صورت دوبرتبه در هفته و حدود ۴۰ میلی‌لیتر بر روی هر گیاه (کل سطح برگ با متیل جاسمونات پوشانده شد) تکرار شد. روش اعمال تیمارهای تنش کم‌آبیاری در گلخانه، به صورت وزنی بود. وزن هر گلدان برای هر دو تیمار (۱۰۰ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی) محاسبه گردید. جهت اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌های گیاهی به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید. در نهایت وزن خشک نمونه‌ها با ترازوی Sartorius (مدل FH300) با دقت ۰/۰۰۱ گرم، برحسب گرم به ازای هر گیاه اندازه‌گیری شد. در نهایت پارامترهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیک در آزمایشگاه پژوهشی مرکز آموزش عالی کشاورزی بردسیر انجام گرفتند.

اندازه‌گیری غلظت مالون دی‌آلدئید<sup>۱</sup> جهت سنجش محتوی پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، به روش هیس و پیکر (Heath and Packer, 1969) انجام پذیرفت. ۰/۲ گرم از بافت برگ فریز شده با ۵cc TCA سائیده و عصاره حاصل در دور ۱۰۰۰۰×g به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. مخلوط واکنش که شامل ۱cc محلول شفاف رویی حاصل از سانتریفوژ، ۴cc TCA که حاوی ۰/۵ درصد TBA، در حمام آبگرم به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده شد. نمونه‌ها پس از سرد شدن، مجدداً در دور ۱۰۰۰۰×g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردیدند. شدت جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. جذب سایر رنگیزه‌های غیراختصاصی در طول موج ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردید (Heath and Packer, 1969).

<sup>۱</sup> MDA

روش بن حامد و همکاران (Ben Hamed et al., 2007)، برای اندازه‌گیری محتوی نشت یونی (EC) و سنجش میزان آسیب به غشاهای به‌کار برده شد. جهت اطمینان از حذف یون-های احتمالی از گیاه حدود ۰/۲ گرم بافت سالم و تازه برگ از هر تیمار بعد از شستشو با آب مقطر، درون لوله‌ی آزمایش قرار گرفت و ۱۰ cc آب دیونیزه به آن اضافه گردید و لوله‌های آزمایش درون حمام آب گرم به مدت دو ساعت و دمای ۳۳ °C قرار گرفتند. با استفاده از دستگاه EC متر (مدل Metrohm، آلمان)، هدایت الکتریکی اولیه نمونه‌ها (EC1) اندازه‌گیری شد. سپس لوله‌های مذکور در دمای ۱۲۱ °C به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو گردیدند و پس از خنک شدن تا دمای ۲۵ °C، میزان هدایت الکتریکی ثانویه نمونه‌ها (EC2) سنجش شد و با کمک رابطه زیر درصد نشت یونی محاسبه گردید (Ben Hamed et al., 2007).

$$[۱] \quad \text{درصد یونی} = \frac{EC1}{EC2} \times 100$$

عصاره حاصل از ۰/۵ گرم بافت گیاهی و ۷/۵ cc محلول سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد به مدت ۵ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰×g سانتریفوژ گردید و از محلول رویی جهت اندازه‌گیری محتوی پرولین استفاده شد (Bates et al., 1973). مخلوط واکنش که شامل ۲ cc از محلول رویی حاصل از سانتریفوژ عصاره با ۲ cc معرف نین هیدرین و ۲ cc اسید استیک گلاسیال به مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد درون حمام آب‌گرم قرار گرفت. بعد از گذشت این مدت جهت قطع انجام تمامی واکنش‌ها، لوله‌های محتوی مخلوط درون حمام آب سرد قرار داده شدند. پس از اضافه نمودن ۴ cc تولوئن به مخلوط واکنش و ورتکس آن، شدت جذب فاز رنگی فوقانی که حاوی تولوئن و پرولین بود در طول موج ۵۲۰ نانومتر تعیین و محتوی پرولین در هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید (Bates et al., 1973).

برای سنجش محتوی قندهای محلول، ۵ cc معرف آنترون به ۲۰۰ µlit از عصاره هر نمونه اضافه گردید و در بن ماری به مدت ۱۷ دقیقه با دمای ۹۰ °C قرار گرفت و پس از سرد شدن، جذب نمونه‌ها در ۶۲۵ نانومتر قرائت شد و برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گزارش گردید (Roe, 1955).

برای تهیه عصاره آنزیمی جهت سنجش محتوی پروتئین و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها به روش اسپکتروفتومتری (رنگ

سنجی)، ۰/۵ گرم از برگ تازه گیاه در ۵ cc بافر فسفات پتاسیم ۵۰ mmol (pH=۷) که حاوی پلی وینیل پیرولیدین (PVP) یک درصد، EDTA یک میلی مولار و PMSF یک میلی مولار بود در محیط حاوی یخ سائیده شد. اسید آسکوربیک ۱۰ mmol به عصاره‌های مربوط به فعالیت آنزیم APX، افزوده گردید. سپس عصاره‌ها در دور ۲۰۰۰۰×g و دمای ۴ °C به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. از محلول شفاف رویی برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها استفاده شد.

برای سنجش غلظت پروتئین به روش برتفورد (Bradford, 1976)، شدت جذب مخلوط واکنش (شامل ۱۰۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی و ۵ میلی‌لیتر معرف بیوره) در طول موج ۵۹۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر ثبت شد (Bradford, 1976).

برای سنجش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) (EC 1.15.1.1)، مخلوط واکنش نمونه‌ها شامل بافر فسفات ۱ mmol، ۰/۵۰، ۱ میلی‌مولار Na-EDTA، NBT ۰/۰۷۵ میکرومولار، ۱۳ میلی‌مولار متیونین، ۷۵ میکرومولار ربیوفلاوین و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. آغاز واکنش در عصاره‌های تهیه‌شده، با روشن شدن لامپ فلورسنت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. اختلاف جذب نمونه‌ها و شاهد در طول موج ۵۶۰ نانومتر بیانگر مهار احیاء نوری NBT در حضور آنزیم SOD است (Guo et al., 2006).

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) (EC 1.11.1.6)، با محاسبه کاهش جذب H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> در طول موج ۲۴۰ نانومتر و با استفاده از روش دهیندسا و همکاران (Dhindsa et al., 1981) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، بافر فسفات پتاسیم ۵۰ mmol و پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار است. غلظت H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> موجود در مخلوط واکنش پس از گذشت ۱ دقیقه با استفاده از ضریب خاموشی (ε = ۴۰ mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>) و فرمول A = εbc محاسبه شد که نشان‌دهنده میزان فعالیت آنزیم کاتالاز است (Dhindsa et al., 1981).

سنجش فعالیت آنزیم گایاکل پراکسیداز (GPX) (EC1.11.1.7)، در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از اندازه‌گیری میزان تتراگایاکل انجام گرفت. مخلوط واکنش شامل ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، بافر فسفات ۵۰ mmol، گایاکل ۴ درصد و پراکسید هیدروژن ۱ درصد است (Zhang et al., 2005).

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) (EC 1.11.1.11)، با استفاده از تغییرات جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر و میزان آسکوربات باقی مانده پس از دو دقیقه انجام واکنش آنزیمی محاسبه شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ mmol،  $0.15H_2O_2$  میلی مولار، EDTA ۰/۱ میلی مولار، آسکوربات ۰/۵ میلی مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود (Nakano and Asada, 1981). نرم افزار آماری SAS، آزمون LSD ( $P \leq 0.05$ ) و نرم افزار Excel به ترتیب برای تجزیه واریانس، مقایسه میانگین داده ها و رسم نمودارها بکار برده شد.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان دهنده عدم معنی دار بودن محلول پاشی متیل جاسمونات و اثر متقابل متیل جاسمونات و تنش کم آبی روی وزن خشک اندام هوایی گیاه شاهی بود، در حالی که تنش کم آبی اثر معنی داری ( $P \leq 0.01$ ) بر روی صفت مذکور داشت (جدول ۱). وزن خشک اندام هوایی در سطح تنش کم آبی (FC ۵۰ درصد) حدود ۴۲/۷۵ درصد در مقایسه با شرایط عدم تنش کاهش یافت (جدول ۲)، اما در سطح تنش کم آبی فوق، محلول پاشی ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات توانست وزن خشک اندام هوایی را حدود ۱۲/۲۲ درصد در مقایسه با شاهد افزایش دهد (جدول ۲). کاهش رشد عمده ترین اثر تنش کم آبی بر گیاهان است. اندازه گیری وزن خشک شاخص مناسبی برای بررسی میزان رشد گیاهان است. به دلیل اینکه آب درون بافت در محاسبه وزن خشک تأثیری ندارد و ترکیباتی که در اثر سوخت و ساز گیاه ساخته شده اند، اندازه گیری می شود معیار درستی برای اندازه رشد است (Asghari et al., 2023). با توجه به جدول ۲ تنش کم آبی موجب کاهش وزن خشک اندام هوایی گردید. کاهش پارامترهای رشد و زی توده در گیاهان *thymus vulgaris* و *Hyssopus officinalis* (Khazaie et al., 2008)، *Cuminum cyminum* (Soorni et al., 2021) و *Prunus avium* (Javadi et al., 2017)، *Dracocephalum moldavica* (Kabiri et al., 2018) در خشکی گزارش شده است. ممانعت از فرآیند تقسیم سلولی، کاهش سطح برگ و به دنبال آن کاهش سطح گیرنده تشعشع نوری، افزایش درجه حرارت گیاه، تسریع روند پیری برگ، تأثیر بر دستگاه فتوسنتزی، کاهش کارایی دکر بوکسیلازی آنزیم روبیسکو، اختلال در زنجیره انتقال

الکترون، غیرفعال شدن فتوسیستم یک و دو، جلوگیری از سنتز ATP به دلیل مهار فعالیت کمپلکس ATP سنتتاز، تغییر هدایت روزانه ای، اختلال در جذب و انتقال یون های ضروری و عدم تعادل و کمبود آن ها، القای فعالیت آنزیم کلروفیلاز و تنش اکسیداتیو و اکسیداسیون ترکیبات فعال زیستی از جمله پروتئین ها و پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب به غشاهای تیلاکوئیدی و اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی درون گیاه از عوامل دخیل در کاهش رشد تحت تنش کم آبی در پژوهش های مختلف ذکر شده است (Anjum et al., 2011; Asghari et al., 2023; Ashrafi et al., 2022; Hassanzadeh et al., 2020). محلول پاشی می تواند یک تکنیک محافظتی برای مقابله با اثرات تخریبی تنش کم آبی شناخته شده است (Keshtkar et al., 2021). در پژوهش حاضر، محلول پاشی گیاهان با غلظت  $100 \mu\text{mol}$  متیل جاسمونات موجب بهبود وزن خشک گیاه شاهی گردید (جدول ۲). نتایج ما، مطابق با گزارش هایی است که نشان می دهد کاربرد برون زای متیل جاسمونات در غلظت های کم موجب تحریک رشد رویشی در گیاهان *Origanum majorana* (Farsi et al., 2020)، *Chenopodium quinoa* (Keshtkar et al., 2021) و *Nicotiana tabacum* (Norastehnia et al., 2017) تحت تنش کم آبی شده است. از دلایل تأثیر متیل جاسمونات بر بهبود خصوصیات رشدی گیاهان تحت شرایط تنش را می توان تأثیر مثبت آن بر القای سیستم دفاع آنتی اکسیدان، تجمع ترکیبات اسمزای سازگار و افزایش پایداری غشاهای زیستی در گیاه که موجب کاهش تنش اکسیداتیو می شود را نام برد (Anjum et al., 2011; Asadi Karam et al., 2016; Kalariya et al., 2023).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده ها نشان داد که تأثیر محلول پاشی برگی متیل جاسمونات، تنش کم آبی و اثر متقابل آن ها روی محتوی مالون دی آلدئید (به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید) و نشت یونی معنی دار ( $P \leq 0.01$ ) بود (جدول ۱). داده ها نشان داد که تنش کم آبی باعث افزایش محتوی پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء می گردد و این افزایش از لحاظ آماری معنی دار بود. بیشترین و کمترین محتوی مالون دی آلدئید به ترتیب برای تنش کم آبی ۵۰ درصد و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی ثبت گردید (جدول ۲). در شرایط عدم کنترل، هیچ یک از غلظت های متیل جاسمونات در این پژوهش تأثیر معنی داری بر روی غلظت مالون

دی‌آلدئید نداشت (جدول ۲). در شرایط تنش کم‌آبی ۵۰ درصد ظرفیت زراعی، میان سطوح متیل‌جاسمونات، تنها محلول‌پاشی برگ‌ی میکرومولار ۱۰۰ متیل‌جاسمونات در کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء مؤثر بود (جدول ۲). در این پژوهش درصد نشت یونی در گیاهان شاهد و تحت تیمار به‌منظور بررسی اثر تنش کم‌آبی بر میزان نفوذپذیری غشاء اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که تنش موجب افزایش نشت یونی به فضای خارج سلولی می‌گردد و کاربرد برون‌زای متیل‌جاسمونات، محتوی نشت را کاهش می‌دهد (جدول ۲).

در شرایط عدم تنش، تیمار گیاهان با متیل‌جاسمونات اثری بر مقدار نشت یونی در برگ گیاه شاهی نداشت. غلظت ۱۰۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات، اختلاف معنی‌داری را با گیاهان شاهد و غلظت دیگر متیل‌جاسمونات (۵۰ میکرومولار) در شرایط تنش کم‌آبی ۵۰ درصد ظرفیت زراعی نشان داد (جدول ۲). به‌طوری‌که تحت تنش کم‌آبی محلول‌پاشی گیاهان با غلظت میکرومولار ۱۰۰ متیل‌جاسمونات موجب کاهش ۲۶/۷ درصد در مقدار نشت یونی نسبت به شاهد گردید (جدول ۲).

جدول ۱. میانگین مربعات محلول‌پاشی متیل‌جاسمونات بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه شاهی تحت تنش کم‌آبی

Table 1. Mean squares of methyl jasmonate (MeJA) spraying on some physiological traits of *Lepidium sativum* plant under water scarcity

| SOV                 | منابع تغییر                | درجه آزادی | وزن خشک اندام هوایی     | مالون دی‌آلدئید | نشت یونی | محتوی پرولین    | محتوی قندهای محلول     |
|---------------------|----------------------------|------------|-------------------------|-----------------|----------|-----------------|------------------------|
|                     |                            | df         | shoot dry weight        | MDA             | EC       | Proline content | Soluble sugars content |
| Block               | بلوک                       | 2          | 0.0036                  | 0.026           | 476.3    | 25.67           | 658.44                 |
| Water scarcity (WS) | تنش کم‌آبی                 | 1          | 0.0181**                | 0.345**         | 5777.0** | 849.9**         | 5777.05**              |
| MeJA (M)            | متیل‌جاسمونات              | 2          | 0.000093 <sup>ns</sup>  | 0.018**         | 139.58** | 14.24*          | 159.42**               |
| WS × M              | تنش کم‌آبی × متیل‌جاسمونات | 2          | 0.0000798 <sup>ns</sup> | 0.015**         | 135.97** | 10.78*          | 170.18**               |
| Error               | خطا                        | 10         | 0.00004                 | 0.0011          | 16.87    | 2.4             | 17.16                  |
| CV (%)              | ضریب تغییرات               |            |                         | 9.9             | 9.2      | 14.9            | 7.9                    |

\*, \*\* و <sup>ns</sup> به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪، ۱٪ و بدون اختلاف معنی‌دار

\*\*, \* and ns denote significant differences at 0.01, 0.05% levels, and not significant, respectively

تنش‌های خشکی و شوری با تحریک تولید ROSها و القای تنش اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و تغییر نفوذپذیری آن و درنهایت خسارت به سلول را به همراه دارد (Anjum et al., 2011). بنابراین اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید تولیدشده طی پراکسیداسیون لیپیدها و محاسبه میزان EC، شاخص‌های مناسبی جهت برآورد میزان آسیب اکسیداتیو واردشده به غشاء می‌باشند (Malekpoor et al., 2015). ROSها با شروع واکنش‌های زنجیره‌وار اتواکسیداتیو اسیدهای چرب غیراشباع موجب پراکسیداسیون لیپید و تخریب غشای سلولی در شرایط تنش کم‌آبی می‌گردد (Wang et al., 2008). غشاء سلولی هدف اولیه اکثر تنش‌های محیطی از جمله کم‌آبی محسوب می‌شود و حفظ انسجام

و پایداری غشاء تحت شرایط تنش، هم‌بستگی مثبت با تحمل به خشکی دارد (Ostadi et al., 2022). مالون دی‌آلدئید تولیدی به دنبال پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع به‌عنوان معیار تنش اکسیداتیو به‌حساب می‌آید. علاوه بر اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید، سنجش نشت یونی نیز می‌تواند به‌عنوان شاخص مقدار آسیب واردشده به غشاء و میزان تنش اکسیداتیو مورد استفاده قرار گیرد (Ashrafi et al., 2022; Javadi et al., 2017; Wang et al., 2008). در این پژوهش، تنش کم‌آبی مقدار مالون دی‌آلدئید و نشت یونی را در گیاهان افزایش داد (جدول ۲). با افزایش سطح تنش، میزان پراکسیداسیون لیپیدها در گیاهان حساس نسبت به گیاهان مقاوم بیشتر است (Wang et al., 2008). گیاهان با

القای مکانیسم‌های دفاعی از جمله بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به افزایش نشت یونی و مقدار مالون دی‌آلدئید پاسخ می‌دهند (Radwan et al., 2017). بررسی‌های مشابه در کینوا (Elewa et al., 2017)، زیره سبز (Soomri et al., 2021)، پونه (Afsharmohammadian et al., 2016)، توتون (Norastehnia and Yousefzadeh, 2017)، مریم‌گلی (Ostadi et al., 2022; Radwan et al., 2017)، سیاه‌دانه (Rahmani et al., 2020) و بادرشبویه (Kabiri et al., 2018) در تنش خشکی نشان‌دهنده افزایش تنش اکسیداتیو و افزایش مقدار مالون دی‌آلدئید و کاهش شاخص پایداری غشاء در این گیاهان تحت شرایط است که با نتایج به‌دست‌آمده از تحقیق حاضر نیز هم‌راستا بود (جدول ۲). به نظر می‌رسد که در این پژوهش حذف، خاموش و یا جاروب کردن گونه‌های فعال اکسیژن خارج از توان گیاه بوده است و نشان می‌دهد که مکانیسم‌های دفاعی بکار گرفته شده در گیاه در مقابل تنش اکسیداتیو کافی نبوده است و گیاه دارویی شاهی، تحمل بالایی به کم‌آبی نداشته است (جدول ۲).

در مورد نقش متیل جاسمونات در رفع تنش اکسیداتیو گزارش‌های متعدد وجود دارد (Asadi Karam et al., 2016; Dar et al., 2015; Fabriki-Ourang and Shahabzadeh, 2018; Farsi et al., 2020; Keshtkar et al., 2021; Norastehnia and Yousefzadeh, 2017; Sadeghipour, 2017). به‌عنوان مثال متیل جاسمونات با تأثیر بر فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدان و کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و نشت یونی، گیاهان نعنای فلفلی (Vatankhah et al., 2017)، لوبیا چشم‌بلبلی (Sadeghipour, 2017)، سویا (Anjum et al., 2011)، مرزه (Miranshahi and Sayyari, 2016) و کلزا (Mahabub Alam et al., 2014) را در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از کم‌آبی محافظت نمود. کاربرد متیل جاسمونات در غلظت و زمان مناسب موجب القای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول می‌گردد (Dar et al., 2015; Huang et al., 2017). گزارش شده است که متیل جاسمونات از طریق واکنش با رادیکال‌های لیپید آلکوکسیل و لیپید پراکسیل و درنهایت با توقف زنجیره پراکسیداسیون لیپید از آسیب‌های غشایی جلوگیری می‌کند (Kalariya et al., 2023). به نظر می‌رسد نقش متیل جاسمونات در کاهش واکنش‌های اکسیداسیون لیپوپروتئینی غشاء مربوط می‌شود به کنترل واکنش‌های آنزیمی که مولکول‌های سیگنالی لیپید را تولید می‌کند

(Anjum et al., 2011; Kalariya et al., 2023). علاوه بر این مشخص شده است که متیل جاسمونات با بهبود انعطاف-پذیری دیواره سلولی به بهبود عملکرد غشاء و رشد گیاه کمک می‌کند (Dar et al., 2015). هانگ و همکاران (Huang et al., 2017) گزارش کردند که متیل جاسمونات با حفظ فعالیت ATPase در غشای سلول و تونوپلاست، موجب کنترل پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش پایداری غشاء گیاهان در شرایط تنش می‌گردد (Huang et al., 2017). بنابراین کاهش محتوی مالون دی‌آلدئید (جدول ۲) و افزایش پایداری غشاء (جدول ۲) به این دلیل است که متیل جاسمونات با القای مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدان آنزیمی (شکل ۱)، نقش حفاظتی خود را از عملکرد غشاء سلول در برابر صدمات اکسیداتیو ایفا می‌نماید.

جدول ۲. تأثیر محلول‌پاشی متیل جاسمونات بر وزن خشک اندام هوایی، مالون دی‌آلدئید و نشت یونی در گیاه شاهی تحت شرایط آبیاری کامل و تنش کم‌آبی.

Table 2. Effect of foliar application of methyl jasmonate on shoot dry weight, Malondialdehyde (MDA) and electrolyte leakage (EL) of *Lepidium sativum* under full irrigation and water deficit stress.

| تنش کم‌آبی               | متیل جاسمونات      | وزن خشک اندام هوایی shoot dry weight | مالون دی‌آلدئید MDA   | نشت یونی EL        |
|--------------------------|--------------------|--------------------------------------|-----------------------|--------------------|
| Water deficit stress F.C | MeJA $\mu\text{M}$ | mg.g <sup>-1</sup> plant             | mg.g <sup>-1</sup> DW | %                  |
| 100%                     | 0                  | 0.1674 <sup>a</sup>                  | 0.19 <sup>d</sup>     | 26.41 <sup>d</sup> |
|                          | 50                 | 0.1645 <sup>a</sup>                  | 0.21 <sup>d</sup>     | 27.11 <sup>d</sup> |
|                          | 100                | 0.1698 <sup>a</sup>                  | 0.18 <sup>d</sup>     | 26.38 <sup>d</sup> |
| 50%                      | 0                  | 0.0958 <sup>c</sup>                  | 0.58 <sup>a</sup>     | 71.33 <sup>a</sup> |
|                          | 50                 | 0.1067 <sup>bc</sup>                 | 0.46 <sup>b</sup>     | 63.75 <sup>b</sup> |
|                          | 100                | 0.1092 <sup>b</sup>                  | 0.37 <sup>c</sup>     | 52.31 <sup>c</sup> |

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون

LSD در سطح احتمال پنج درصد است

Means ( $\pm$  SE) followed by the same letter(s) are not significantly different based on LSD test at  $P \leq 0.05$  level

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۱ نشان می‌دهد که تأثیر تنش کم‌آبی در سطح احتمال ۱ درصد و تأثیر محلول‌پاشی و اثر متقابل تنش کم‌آبی و متیل جاسمونات در سطح احتمال ۵ درصد بر روی محتوی پروتئین معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تنش کم‌آبی مقدار پروتئین را حدود ۷۷/۵ درصد در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش داد (جدول ۳). در مقابل محلول‌پاشی

گیاه شاهی با متیل جاسمونات ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار، مقدار پرولین را در شرایط تنش کم‌آبی به ترتیب ۱۶/۸ و ۲۸/۷ درصد در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش داد. البته کاربرد برون‌زای متیل جاسمونات در شرایط عدم تنش، هیچ‌گونه تأثیر معنی‌داری بر محتوی پرولین نداشت (جدول ۳).

در گیاه شاهی تأثیر کاربرد برون‌زای متیل جاسمونات، تنش کم‌آبی و اثر متقابل آن‌ها بر روی محتوی قندهای محلول در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). اعمال تنش کم‌آبی از ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به ۵۰ درصد آن محتوی قندهای محلول را افزایش داد (جدول ۳). به‌طوری‌که تنش کم‌آبی، موجب افزایش حدود ۴۰/۳ درصد در محتوی قندهای محلول نسبت به گیاهان شاهد گردید (جدول ۳). از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری از نظر گیاهان شاهد و گیاهانی که با غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات تیمار شده بودند در شرایط عدم تنش مشاهده نگردید (جدول ۳). در شرایط تنش کم‌آبی، محتوی قندهای محلول در گیاهانی که با غلظت ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات محلول‌پاشی شده بودند ( $78/06 \text{ mg.g}^{-1} \text{ DW}$ )، بدون اختلاف با غلظت ۵۰ میکرومولار آن، تفاوت معنی‌داری را با گیاهان شاهد نشان داد (جدول ۳).

اسیدآمین‌ه پرولین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی، در دامنه وسیعی از گیاهان در پاسخ به تنش‌های محیطی نظیر خشکی تجمع می‌یابد (Mohsenzadeh et al., 2020). پرولین علاوه بر نقش خود به‌عنوان اسمولیت در تنظیم اسمزی، دخیل در ثبات بخشیدن به ساختارهای سلولی نظیر DNA، پروتئین‌ها و غشاهای، پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن و تداوم فرآیند فتوسنتز است (Elewa et al., 2017). علاوه بر این، مطرح‌شده که پرولین می‌تواند یکی از منابع اصلی انرژی در فرآیندهای متابولیسمی گیاه پس از رفع تنش باشد؛ بنابراین افزایش آن در زمان وقوع تنش می‌تواند نقش کلیدی در القای بیان ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش کم‌آبی، تحمل به تنش و رشد بعد از تنش ایفا نماید (Asghari et al., 2023). گزارش‌های متعددی در مورد افزایش محتوی پرولین در شرایط تنش کم‌آبی و نقش آن در افزایش فعالیت شماری از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان وجود دارد (Baghizadeh et al., 2020; Goshasbi et al., 2020; Mohsenzadeh et al., 2020) و نتایج حاصل از تحقیق حاضر نیز بیانگر همین موضوع بود (جدول ۳).

برآیند تغییر در فرآیندهای متابولیسمی گیاهان با کاربرد متیل جاسمونات، به شکل سازگاری است که افزایش تحمل گیاهان را در مقابله با تهدید خطر تنش‌های محیطی به همراه خواهد داشت (Dar et al., 2015; Kalariya et al., 2023). در گیاهان دارویی مرزنجوش (Farsi et al., 2020)، مرزه (Miranshahi and Sayyari, 2016)، نعناع فلفلی (Kalariya et al., 2017) و نائین هاوندی (Kalariya et al., 2023). گزارش شده است که کاربرد متیل جاسمونات تحت تنش اکسیداتیو ناشی از کم‌آبی، با تجمع کربوهیدرات‌های محلول و پرولین موجب حفظ آب سلول، بهبود محتوی آب برگ و تداوم رشد گیاهان می‌گردد. همبستگی مثبت بین تیمار متیل جاسمونات با افزایش فعالیت آنزیم P5CS و در نتیجه افزایش محتوی پرولین گزارش گردید (Kalariya et al., 2023). علاوه بر این انجوم و همکاران (Anjum et al., 2011) گزارش کردند که متیل جاسمونات با القای بیان ژن‌های بیوسنتز پرولین، سطح پرولین را تحت تأثیر قرار می‌دهد و با افزایش آن، اثرات مخرب تنش کم‌آبی در گیاه *Glycine max* را کاهش می‌دهد (Anjum et al., 2011). میران شاهی و سیاری (Miranshahi and Sayyari, 2016) پیشنهاد کرده‌اند که تجمع پرولین در اثر محلول‌پاشی متیل جاسمونات، نقش مهمی را در جلوگیری از هدر رفتن آب، پاک‌سازی ROSها، محافظت از غشاء و پروتئین‌ها و تداوم فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بر عهده دارد (Miranshahi and Sayyari, 2016). در پژوهش حاضر، محتوی پرولین در گیاهانی که با غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات اسپری شده بودند در مقایسه با گیاهان شاهد تحت تنش کم‌آبی افزایش یافت (جدول ۳).

ارتباط مستقیم بین تجمع ترکیبات قندی و تحمل به خشکی گزارش شده است (Ashrafi et al., 2022; Mohsenzadeh et al., 2020). همبستگی زیادی بین تغییر در محتوی کربوهیدرات‌های محلول و فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند فتوسنتز، تنفس، جذب و انتقال مواد وجود دارد و قندهای محلول به‌عنوان یک اسمولیت سازگار در جارب کردن ROSها، حفاظت از غشاهای سلولی و پروتئین‌ها و تحمل به تنش نقش مؤثری دارند (Mahabub Alam et al., 2014). در شرایط تنش کم‌آبی کربوهیدرات‌ها افزایش‌یافته و با متراکم شدن در سطح غشاء و پروتئین‌ها و اتصال سرقطبی آن‌ها با مولکول‌های آب و ایجاد یک‌لایه آب در اطراف خود، مانع آسیب به پروتئین‌ها و غشاء می‌شوند

کاربرد متیل جاسمونات، تنش کم آبی و اثر متقابل آن‌ها، در سطح احتمال ۱ درصد تأثیر معنی داری بر محتوی پروتئین داشتند (جدول ۴). در شرایط نرمال، محتوی پروتئین در کاربرد برون‌زای غلظت ۱۰۰ میکرو مولار متیل جاسمونات بدون اختلاف با گیاهان شاهد، تفاوت معنی داری را با غلظت ۵۰ میکرو مولار متیل جاسمونات نشان داد (جدول ۳)؛ اما در شرایط تنش کم آبی، هر دو غلظت متیل جاسمونات (۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) تفاوت معنی داری را با گیاهان شاهد داشتند (جدول ۳). اسپری برگی متیل جاسمونات در غلظت-های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار به ترتیب موجب افزایش ۲۰/۷ درصد و ۲۳/۵ درصد در محتوی پروتئین در مقایسه با گیاهان شاهد تحت شرایط تنش کم آبی ۵۰ درصد ظرفیت زراعی گردیدند (جدول ۳).

تنش‌های کم آبی و شوری منجر به سرکوب سنتز برخی پروتئین‌ها و القای تولید پروتئین‌های جدید می‌گردد (Javadi et al., 2017; Soorni et al., 2021). در این مطالعه تنش کم آبی کاهش محتوی پروتئین را به دنبال داشت (جدول ۳). مشابه نتایج ما، افزایش تنش اکسیداتیو ناشی از کم آبی موجب کاهش محتوی پروتئین در گیاهان دارویی *Cichorium intybus* (Hassanzadeh) و *Nigella sativa* (Ghoratepeh et al., 2020) و *Thymus vulgaris* (Goshasbi et al., 2020) و *Cuminum cyminum* (Baghizadeh et al., 2020) شده است. افزایش اکسیداسیون پروتئین‌ها تحت تنش اکسیداتیو (Radwan et al., 2017)، سرکوب سنتز پروتئین‌ها و پروتئولیز (Yun-Xia et al., 2010) و کاهش آمینواسیدهای آزاد (FAA) دخیل در فرآیند پروتئین‌سازی (Elewa et al., 2017)، جلوگیری از فعالیت آنزیم نیترات رداکتاز (Mahabub Alam et al., 2014)، کاهش سطح عناصر تغذیه‌ای از جمله نیترات، کلسیم، گوگرد و پتاسیم (Guo et al., 2006) و کاهش ظرفیت فرآیندهای مرتبط با بازسازی پروتئین‌ها (Javadi et al., 2017) از جمله عواملی است که موجب کاهش محتوی پروتئین‌ها تحت تنش کم آبی ذکر شده است. تولید ROSها با اکسیداسیون اسیدهای آمینه، به ساختار و عملکرد پروتئین‌ها آسیب جدی وارد می‌کند (Rahmani et al., 2020).

برگ‌پاشی ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات، موجب افزایش محتوی پروتئین در مقایسه با گیاهان شاهد تحت شرایط تنش کم آبی گردید (جدول ۳). متیل جاسمونات باعث

(Goshasbi et al., 2020). در گیاهان دارویی مریم‌گلی (*Cuminum cyminum*, (Radwan et al., 2017) پونه (Baghizadeh et al., 2020)، سیاه‌دانه (Afsharmohammadian et al., 2016)، و ریحان (Asghari et al., 2020) نیز گزارش شده است که محتوی قندهای محلول تحت تنش خشکی افزایش یافته است که با نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق مطابقت داشت (جدول ۳). کاربرد برون‌زای متیل جاسمونات با افزایش محتوی قندهای محلول به‌عنوان یک تنظیم‌کننده اسمزی، موجب حفظ تورژسانس سلول‌ها از طریق افزایش روند جریان آب به درون سلول می‌گردد (Huang et al., 2017). اظهار داشتند که تنظیم اسمزی از طریق کاربرد متیل جاسمونات، یک تغییر بیوشیمیایی در گیاهان است که هنگام تنش رخ می‌دهد و این سازوکار مانع آسیب به ساختار سلول‌های گیاهی و سمیت یون‌ها می‌گردد و محتوی آب را در گیاهان حفظ می‌نماید (Miranshahi and Sayyari, 2016). همانند نتایج این پژوهش (جدول ۳)، کاربرد متیل جاسمونات موجب افزایش محتوی قندهای محلول در گیاه مرزنجوش (Farsi et al., 2020)، توتون (Norastehnia and Yousefzadeh, 2017) و توت‌فرنگی (Zahedi et al., 2019) شد.

جدول ۳. تأثیر محلول‌پاشی متیل جاسمونات بر محتوی پرولین، قندهای محلول و محتوی پروتئین در گیاه شاهی تحت شرایط آبیاری کامل و تنش کم آبی.

Table 3. Effect of foliar application of methyl jasmonate on content of proline, soluble sugar and protein of *Lepidium sativum* under full irrigation and water deficit stress.

| تنش کم آبی           | محتوی متیل جاسمونات | محتوی پرولین       | محتوی قندهای محلول                                 | محتوی پروتئین       |
|----------------------|---------------------|--------------------|----------------------------------------------------|---------------------|
| Water deficit stress | MeJA $\mu\text{M}$  | Proline content    | Soluble sugar content $\text{mg.g}^{-1} \text{DW}$ | Protein content     |
| F.C                  | 0                   | 3.22 <sup>d</sup>  | 34.87 <sup>c</sup>                                 | 36.54 <sup>ab</sup> |
| 100%                 | 50                  | 3.57 <sup>d</sup>  | 33.27 <sup>c</sup>                                 | 35.55 <sup>b</sup>  |
|                      | 100                 | 3.62 <sup>d</sup>  | 35.25 <sup>c</sup>                                 | 37.96 <sup>a</sup>  |
|                      | 0                   | 14.33 <sup>c</sup> | 58.44 <sup>b</sup>                                 | 24.46 <sup>d</sup>  |
| 50%                  | 50                  | 17.22 <sup>b</sup> | 74.38 <sup>a</sup>                                 | 30.85 <sup>c</sup>  |
|                      | 100                 | 20.09 <sup>a</sup> | 78.06 <sup>a</sup>                                 | 32.01 <sup>c</sup>  |

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون

LSD در سطح احتمال پنج درصد است

Means ( $\pm$  SE) followed by the same letter(s) are not significantly different based on LSD test at  $P \leq 0.05$  level

افزایش فعالیت آنزیم نیترات رداکتاز در گیاهان تیمار شده با متیل جاسمونات نیز از دیگر دلایل افزایش محتوی پروتئین ذکر شده است (Dar et al., 2015; Kalariya et al., 2023). به نظر می‌رسد متیل جاسمونات با حفظ تعادل هورمونی در شرایط تنش و تسریع روند ترمیم و بازسازی سلول بر محتوی پروتئین‌ها نیز تأثیر دارد (Anjum et al., 2011)، بنابراین در این بررسی به نظر می‌رسد که غلظت ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات با افزایش اسمولیت‌های سازگار (جدول ۳) و آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی (شکل ۱) در حفاظت از غشاها مؤثر عمل کرده (جدول ۲) و با کاهش صدمات تنش اکسیداتیو، مانع اکسیداسیون پروتئین‌ها گردید. اثر تنش کم‌آبی بر فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT، GPX و APX در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۴).

جدول ۴. میانگین مربعات محلول‌پاشی متیل جاسمونات بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموناز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گایاکول پراکسیداز (GPX)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و محتوی پروتئین در گیاه شاهی تحت تنش کم‌آبی

Table 4. Mean squares of methyl jasmonate (MeJA) spraying on antioxidant enzymes activity of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), guaiacol peroxidase (GPX), ascorbate peroxidase (APX) and protein content of *Lepidium sativum* plant under water deficit stress.

| S.O.V                     | منابع تغییر                | df | سوپراکسید دیسموناز SOD | کاتالاز CAT         | گایاکول پراکسیداز GPX | آسکوربات پراکسیداز APX | محتوی پروتئین Protein content |
|---------------------------|----------------------------|----|------------------------|---------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------------|
| Block                     | بلوک                       | 2  | 7.684                  | 2.511               | 5.37                  | 1.0702                 | 259.7                         |
| Water deficit stress (WS) | تنش کم‌آبی                 | 1  | 113.5**                | 68.082**            | 111.5**               | 20.801**               | 258.3**                       |
| MeJA                      | متیل جاسمونات              | 2  | 1.768*                 | 0.058 <sup>ns</sup> | 3.38**                | 0.813**                | 30.59**                       |
| MeJA × WS                 | تنش کم‌آبی × متیل جاسمونات | 2  | 1.233 <sup>ns</sup>    | 0.051 <sup>ns</sup> | 2.53**                | 0.521**                | 23.401**                      |
| Error                     | خطا                        | 10 | 0.319                  | 0.182               | 0.329                 | 0.0625                 | 0.977                         |
| CV (%)                    | ضریب تغییرات               |    | 9.9                    | 13.2                | 12.1                  | 11.8                   | 3                             |

\*, \*\* و <sup>ns</sup> به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪، ۱٪ و بدون اختلاف معنی‌دار

\*\*, \* and ns denote significant differences at 0.01, 0.05% levels, and not significant, respectively

۵۹/۲ درصد، ۶۲/۳۷ درصد، ۶۲/۸ درصد و ۷۴ درصد، در مقایسه با گیاهانی تحت تنش نبودند افزایش نشان داد (شکل ۱). در شرایط تنش کم‌آبی، فعالیت آنزیم SOD در گیاهانی که با غلظت ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات محلول‌پاشی شده بودند، تفاوت معنی‌داری با گیاهان شاهد و غلظت ۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات نشان داد (شکل A-1).

اختلاف در فعالیت آنزیم CAT از لحاظ آماری بین غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات و گیاهان شاهد تحت شرایط عدم تنش و تنش کم‌آبی ۵۰ درصد ظرفیت زراعی، مشاهده نگردید (شکل B-1). طبق نتایج به‌دست‌آمده تفاوتی

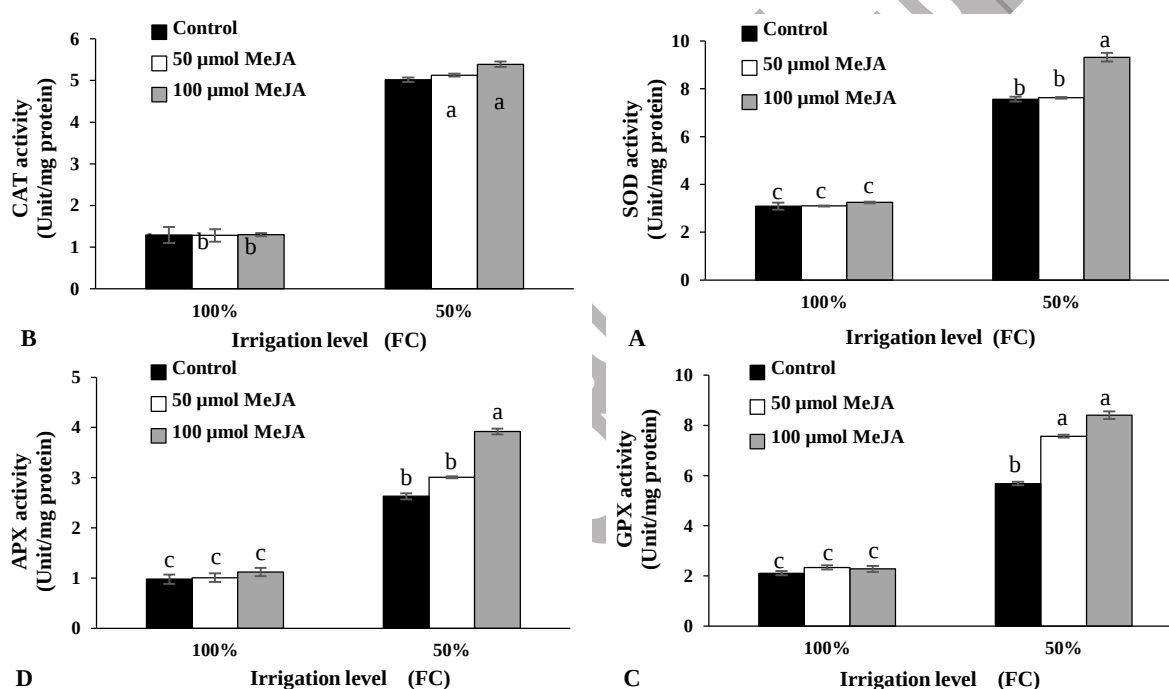
افزایش پروتئین در *Lepidium sativum* (Asadi Karam et al., 2016)، *Chelidonium majus* (Fabriki- Vigna, Ourang and Shahabzadeh, 2018)، *Origanum unguiculata* (Sadeghipour, 2017)، *majorana* (Farsi et al., 2020) و *ananassa* (Zahedi et al., 2019) تحت شرایط تنش‌های محیطی گردید. کاربرد ۲۰ میکرومولار جاسمونات در گیاه شاهی نیز با تجمع پروتئین‌ها و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان موجب حفاظت از گیاه در برابر تنش سمیت مس گردید (Asadi Karam et al., 2016). کاربرد غلظت ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات در گیاه توت‌فرنگی (Zahedi et al., 2019) موجب تعدیل شرایط تنش خشکی و حفظ محتوی پروتئین گردید. تجمع نیترات در نتیجه

واکنش فعالیت آنزیم‌های GPX و APX به محلول‌پاشی متیل جاسمونات و اثرات متقابل متیل جاسمونات و تنش کم‌آبی (۰/۰۱ EP) معنی‌دار بود (جدول ۴). اثر متیل جاسمونات (P < ۰/۰۵) بر فعالیت آنزیم CAT معنی‌دار بود (جدول ۴). فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT تحت تأثیر تنش کم‌آبی × متیل جاسمونات قرار نگرفت (جدول ۴).

در شرایط نرمال، هیچ اختلاف معنی‌داری بین گیاهان شاهد و غلظت‌های متیل جاسمونات مشاهده نگردید (شکل A-1)؛ اما تحت شرایط تنش کم‌آبی (۵۰٪FC)، فعالیت آنزیم‌های SOD، APX، GPX و CAT به ترتیب حدود

آنزیم APX در مقایسه با گیاهان شاهد در شرایط کنترل نداشت (شکل D-1). در تنش کم‌آبی (50 FC درصد)، فعالیت آنزیم APX، در غلظت ۱۰۰ میکرو مولار متیل جاسمونات اختلاف معنی‌داری را با تیمار ۵۰ میکرو مولار آن و شاهد نشان داد (شکل D-1). به‌طوری‌که غلظت ۱۰۰ میکرو مولار متیل جاسمونات به ترتیب موجب افزایش ۳۲/۹ درصد و ۲۳/۲ درصد در فعالیت این آنزیم، نسبت به شاهد و تیمار ۵۰ میکرو مولار متیل جاسمونات تحت تنش کم‌آبی فوق گردید (شکل D-1).

در فعالیت آنزیم GPX بین هر دو غلظت متیل جاسمونات و گیاهانی که با آب مقطر اسپری شدند در شرایط نرمال مشاهده نگردید (شکل C-1)، درحالی‌که در شرایط تنش کم-آبی، فعالیت این آنزیم به ترتیب حدود ۲۵ درصد و ۳۲/۵ درصد افزایش را در گیاهانی که با غلظت‌های ۵۰ میکرو مولار و ۱۰۰ میکرو مولار متیل جاسمونات تیمار شده بودند نسبت به گیاهان شاهد نشان داد (شکل C-1). داده‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که برگ‌پاشی گیاهان با غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات اثر معنی‌داری در افزایش فعالیت



شکل ۱. تأثیر محلول پاشی متیل جاسمونات بر میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (A) (SOD)، کاتالاز (B) (CAT)، گاباکول پراکسیداز (C) (GPX) و آسکوربات پراکسیداز (D) (APX) در گیاه شاهی تحت شرایط آبیاری کامل و تنش کم‌آبی. (حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد است)

Fig. 1. Effect of foliar application of methyl jasmonate on enzymes activity of superoxide dismutase (SOD) (A), catalase (CAT) (B), guaiacol peroxidase (GPX) (C) and ascorbate peroxidase (APX) (D) of *Lepidium sativum* under full irrigation and water deficit stress. (Means ( $\pm$  SE) followed by the same letter(s) are not significantly different based on LSD test at  $P \leq 0.05$  level)

در شرایط تنش، تعادل بین میزان تولید ROSها و ظرفیت پاک‌سازی آن‌ها که تحت شرایط عدم تنش برقرار است، اختلال ایجاد شده و منجر به تنش اکسیداتیو می‌گردد. برای مقابله با تنش اکسیداتیو گیاه ضروری است. ارتباط مستقیمی میان وسعت تحمل به تنش‌ها، تغییر سطح آنتی-اکسیدان‌های گیاه و وضعیت ردوکس سلول وجود دارد (Ashrafi et al., 2022). تنش کم‌آبی در این پژوهش منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های مذکور در گیاه شاهی گردید (شکل ۱) که به نظر

در شرایط تنش، تعادل بین میزان تولید ROSها و ظرفیت پاک‌سازی آن‌ها که تحت شرایط عدم تنش برقرار است، اختلال ایجاد شده و منجر به تنش اکسیداتیو می‌گردد. برای مقابله با تنش اکسیداتیو گیاه ضروری است. ارتباط مستقیمی میان وسعت تحمل به تنش‌ها، تغییر سطح آنتی-اکسیدان‌های گیاه و وضعیت ردوکس سلول وجود دارد (Ashrafi et al., 2022). خط مقدم دفاع برای پاک‌سازی

می‌کند (Sadeghipour, 2017). در گیاه توت‌فرنگی میزان فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT در تنش خشکی ۲۵ درصد ظرفیت زراعی و سطح ۱۰۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات به ترتیب حدود ۰/۵۴۳ و ۰/۳۲ میلی‌مول بر گرم وزن تر در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش نشان داد (Zahedi et al., 2019). فارسی و همکاران (Farsi et al., 2020) افزایش محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه دارویی مرزنجوش را به کاربرد برون‌زای ۱۰۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات که موجب ارتقا توان آنتی‌اکسیدانی گیاه و افزایش محتوی قندهای محلول تحت شرایط تنش کم‌آبی ۵۰ درصد ظرفیت زراعی گردید، نسبت داده‌اند (Farsi et al., 2020). نقش مثبت متیل‌جاسمونات در القای فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و تعدیل تنش اکسیداتیو ناشی سمیت مس در گیاه شاهی به اثبات رسیده است (Asadi Karam et al., 2016).

#### نتیجه‌گیری نهایی

طبق نتایج پژوهش حاضر می‌توان چنین استنباط نمود که متیل‌جاسمونات به‌عنوان یک مولکول پیام‌رسان با افزایش توان آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی (SOD، CAT، GPX و APX) و افزایش تنظیم‌کننده‌های اسمزی (پروлін و قندهای محلول) در سلول، منجر به کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و کاهش مقدار مالون دی‌آلدئید تولیدی گردیده که به دنبال آن پایداری غشاء سلولی، کاهش نشت یونی و افزایش وزن خشک را تحت شرایط تنش کم‌آبی به همراه داشته است. اثربخشی غلظت ۱۰۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات، بر بهبود رشد گیاه شاهی تحت شرایط تنش کم‌آبی، زمینه‌ساز تحقیقات کاربردی و درک بهتر مکانیسم اثر این محرک رشد روی گیاهان مختلف است.

می‌رسد القای فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی جهت تعدیل تنش اکسیداتیو ناشی از تجمع ROSها کیفیت نکرده و میزان تولید این ترکیبات مخرب از توان آنتی‌اکسیدانی گیاه فراتر رفته، بنابراین تنش اکسیداتیو و آسیب به غشاء در شرایط کم‌آبی رخ داده است. مشابه نتایج این پژوهش، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان دارویی *Lavandula angustifolia* (Mohsenzadeh et al., 2020)، *Mentha pulegium* (Afsharmohammadian et al., 2016)، *Cuminum cyminum* (Soorni et al., 2021)، *Thymus species* (Ashrafi et al., 2022) و *Dracocephalum moldavica* (Kabiri et al., 2018) تحت تنش کم‌آبی گزارش شده است.

در تیمار گیاهان با غلظت ۱۰۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات، با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله SOD، GPX، CAT و APX (شکل ۱)، شاهد کاهش محتوی MDA و نشت یونی بودیم (جدول ۲). یکی از کارکردهای اصلی متیل‌جاسمونات، افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گلیاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز و در نتیجه حفظ غلظت  $H_2O_2$  درون‌سلولی در سطح پایدار است (Huang et al., 2017). از آنجاکه این آنزیم‌ها با جاروب کردن ROS، نقش مهمی در حفاظت سلول‌ها ایفا می‌کنند آثار متیل‌جاسمونات در حفظ همبستگی غشاء و کاهش محتوای مالون دی‌آلدئید (جدول ۲) نیز قابل مشاهده است. فعالیت آنزیم SOD به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای در گیاه شاهی که با غلظت ۱۰۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات محلول‌پاشی شده بود، تحت تنش کمبود آب افزایش یافت (شکل A-۱) صادقی‌پور (Sadeghipour, 2017) پیشنهاد کرد که کاربرد برون‌زای غلظت ۵۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT و APX، گیاه *Vigna unguiculata* را در برابر تنش اکسیداتیو محافظت

#### منابع

- Afsharmohammadian, M., Ghanati, F., Ahmadiani, S., Sadrzamani, K., 2016. Effect of drought stress on the activity of antioxidant enzymes and soluble sugars content of pennyroyal (*Mentha pulegium* L.). Nova Biologica Reperta. 3, 228-237. [In Persian]. <https://doi.org/10.21859/acadpub.nbr.3.3.228>
- Anjum, S.A., Wang, L., Farooq, M., Khan, I., Xue, L., 2011. Methyl jasmonate- induced alteration in lipid peroxidation, antioxidative defense system and yield in soybean under drought. Journal of Agronomy and Crop Science. 197, 296-301. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2011.00468.x>
- Asadi Karam, E., Asrar, Z., Keramat, B., 2016. Impact of methyl jasmonate on reducing of oxidative stress in Garden cress (*Lepidium*

- sativum* L.) under copper stress. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology). 28, 684-694. [In Persian]. <https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.23832592.1395.29.2.1.5>
- Asghari, J., Mahdavia, H., Rezaei-Chiyaneh, E., Banaei-Asl, F., Amani Machiani, M., Harrison, M.T., 2023. Selenium nanoparticles improve physiological and phytochemical properties of basil (*Ocimum basilicum* L.) under drought stress conditions. Land. 12, 164. <https://doi.org/10.3390/land12010164>
- Ashrafi, M., Azimi-Moqadam, M.R., Mohsenifard, E., Shekari, F., Jafary, H., Moradi, P., Pucci, M., Abate, G., Mastinu, A., 2022. Physiological and molecular aspects of two *Thymus* species differently sensitive to drought stress. BioTech. 11, 8. <https://doi.org/10.3390/biotech11020008>
- Baghizadeh, A., Vakili Shahrabaki, M.A., Bayani A., Tohidi Z., 2020. Evaluation of interaction effect of drought stress with ascorbic acid on some physiological and morphological characteristics of Cumin (*Cuminum cyminum* L.). Iranian Journal of Plant and Biotechnology. 15, 11-22. [In Persian].
- Bates, L.S., Waldern, R.P., Tare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil. 29, 205-207. <http://doi.org/10.1007/BF00018060>
- Ben Hamed, K., Castagna, A., Salem, E., Ranieri, A., Abdelly, C., 2007. Sea fennel (*Crithmum maritimum* L.) under salinity conditions: a comparison of leaf and root antioxidant responses. Plant Growth Regulation. 53, 185-194. <http://doi.org/10.1007/s10725-007-9217-8>
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 72, 248-254. <http://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
- Dar, T.A., Uddin, M., Khan, M.M.A., Hakeem, K.R., Jaleel, H., 2015. Jasmonates counter plant stress: A review. Environmental and Experimental Botany. 115, 49-57. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.02.010>
- Dhindsa, R.S., Dhindsa, P., Torpe, A., 1981. Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decrease levels of superoxide dismutase and catalase. Journal of Experimental Botany. 32, 93-101. <https://doi.org/10.1093/jxb/32.1.93>
- Elewa, T.A.A., Sadak, M., Saad, A., 2017. Proline treatment improves physiological responses in quinoa plants under drought stress. Bioscience Research. 14, 21-33.
- Fabriki-Ourang, S. and Shahabzadeh, H., 2018. The effect of abiotic elicitors on antioxidants and phytochemical traits of celandine (*Chelidonium majus*) under drought stress. Iranian Journal of Field Crop Science. 50, 139-150. [In Persian]. <https://doi.org/10.22059/IJFCS.2018.250266.654435>
- Farsi, M., Abdollahi, F., Salehi, A., Ghasemi, S., 2020. Effect of methyl jasmonate on growth and essential oil content of marjoram (*Origanum majorana* L.) under drought stress conditions. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology). 33, 698-712. [In Persian]. <https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.23832592.1399.33.3.14.8>
- Gokavi, S.S., Malleshi, N.G., Guo, M., 2004. Chemical composition of garden cress (*Lepidium sativum*) seeds and its fractions and use of bran as a functional ingredient. Plant Foods for Human Nutrition. 59, 105-111. <https://doi.org/10.1007/s11130-004-4308-4>
- Goshasbi, F., Heidari, M., Sabbagh, K., Makarian, H., 2020. Effect of irrigation interval, bio and non-biofertilizers on yield components and some of biochemical compounds in Thyme (*Thymus vulgaris* L.). Journal of Horticultural Plants Nutrition. 3, 51-68. [In Persian]. <https://doi.org/10.22070/HPN.2020.5084.1070>
- Guo, Z., Ou, W., Lu, S., Zhong, Q., 2006. Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. Plant Physiology and Biochemistry. 44, 828-836. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2006.10.024>
- Hassanzadeh Ghorstpeh, A., Amirmia, R., Heydarzadeh, S., 2020. The effect of manure application on physiological traits of *Cichorium intybus* L. in response to drought stress. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production. 30, 133-146. [In Persian]. <https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.24764310.1395.30.3.8.3>

- Heath, R.L., Packer, L., 1969. Photo peroxidation in isolated chloroplast. I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 125, 189-198. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)
- Huang, H., Liu, B., Liu, L., Song, S., 2017. Jasmonate action in plant growth and development. *Journal of Experimental Botany*. 68, 1349-1359. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw495>
- Javadi, T., Rohollahi, D., Ghaderi, N., Nazari, F., 2017. Mitigating the adverse effects of drought stress on the morpho-physiological traits and anti-oxidative enzyme activities of *Prunus avium* through  $\beta$ -amino butyric acid drenching. *Scientia Horticulturae*. 218, 156-163. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.02.019>
- Kabiri, R., Hatami, A., Oloumi, H., Naghizadeh, M., Nasibi, F., Tahmasebi, Z., 2018. Foliar application of melatonin induces tolerance to drought stress in Moldavian balm plants (*Dracocephalum moldavica*) through regulating the antioxidant system. *Folia Horticulturae*. 30, 155-167. <https://doi.org/10.2478/fhort-2018-0016>
- Kalariya K. A., Shahi D., Lal Saran P., Meena R. P., Gajbhiye N., Sarkar R., Geetha K. A., 2023. Effect of genotypes and foliar spray of methyl jasmonate and salicylic acid on andrographolide yield in *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees. under semi-arid climate. *Bulletin of the National Research Centre*. 47, 34. <https://doi.org/10.1186/s42269-023-01009-w>
- Keshtkar, A., Aien, A., Naghavi, H., Najafi Nezhad, H., 2021. Effect of foliar application of jasmonic acid and drought stress on yield and some agronomic and physiologic traits of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) cultivars. *Environmental Stresses in Crop Sciences*. 14, 403-414. [In Persian]. <https://doi.org/10.22077/escs.2020.2402.1711>
- Khazaie, H.R., Nadjafi, F., Bannayan, M., 2008. Effect of irrigation frequency and planting density on herbage biomass and oil production of thyme (*thymus vulgaris*) and hyssop (*Hyssopus officinalis*). *Industrial Crop and Products*. 27, 315-321. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2007.11.007>
- Mahabub Alam, M.D., Kamrun, N., Hasanuzzaman, M., Masayuki, F., 2014. Exogenous jasmonic acid modulates the physiology, antioxidant defense and glyoxalase systems in imparting drought stress tolerance in different Brassica species. *Plant Biotechnology Reports*. 8, 279-293. <https://doi.org/10.1007/s11816-014-0321-8>
- Malekpoor, F., Salimi, A., Ghasemi Pirbalouti, A., 2015. Effects of Jasmonic acid on essential oil yield and chemical compositions of two Iranian landraces of basil (*Ocimum basilicum*) under reduced irrigation. *Journal of Herbal Drugs*. 6, 13-22.
- Miranshahi, B., Sayyari, M., 2016. Methyl jasmonate mitigates drought stress injuries and affects essential oil of summer savory. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 18, 1635-1645. <https://dorl.net/dor/20.1001.1.16807073.2016.18.6.11.9>
- Mohsenzadeh, S., Hoseinkhani Hezaveh, M., Zamanpour Shahmansouri, H., 2020. Some physiological characteristics of the medicinal plant *Lavandula angustifolia* in response to drought stress, compost and vermicompost. *Journal of Plant Production*. 27, 149-162. <https://doi.org/10.22069/JOPP.2020.16619.2520>
- Nakano, Y., Asada, K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*. 22, 867-880. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>
- Norastehnia, A., Yousefzadeh, G., 2017. Improving the growth of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) seedling by methyl jasmonate under drought stress. *Nova Biologica Reperta*. 3, 308-318. [In Persian]. <https://doi.org/10.21859/acadpub.nbr.3.4.308>
- Ostadi, A., Javanmard, A., Amani Machiani, M., Sadeghpour, A., Maggi, F., Nouraein, M., Morshedloo, M.R., Hano Ch., Lorenzo, J.M., 2022. Co-application of TiO<sub>2</sub> nanoparticles and Arbuscular Mycorrhizal fungi improves essential oil quantity and quality of Sage (*Salvia officinalis* L.) in drought stress conditions. *Plants*. 11, 1659. <https://doi.org/10.3390/plants11131659>
- Radwan, A., Kleinwachter, M., Selmar, D., 2017. Impact of drought stress on specialized metabolism: Biosynthesis and the expression of monoterpene synthases in sage (*Salvia officinalis*). *Phytochemistry*. 141, 20-26.

<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.05.005>

- Rahmani, V., Movahhedi Dehnavi, M., Yadavi, A., Balouchi, H.R., Hamidian, M., 2020. Physiological responses of black cumin (*Nigella sativa* L.) to calcium silicate under drought and salinity stresses with iso-osmotic potential. *Plant Process and Function*. 9, 77-90. [In Persian]. <https://dorl.net/dor/20.1001.1.23222727.1399.9.39.3.2>
- Roe, J.H., 1955. The determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 212, 335-343. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)71120-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)71120-4)
- Sadeghipour, O., 2017. Effect of methyl jasmonate on antioxidant enzymes activity and nutrients content of cowpea under salinity stress. *Crops Improvement (Journal of Agricultural Crops Production)*. 19, 653-669. [In Persian]. <https://doi.org/10.22059/jci.2017.60470>
- Shan, X., Zhang, Y., Peng, W., Wang, Z., Xie, D., 2009. Molecular mechanism for jasmonate-induction of anthocyanin accumulation in *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany*. 60(13), 3849-3860. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp223>
- Soorni, J., Roustakhiz, J., Salimi, Kh., Noori, M., 2021. Effects of drought stress on yield and yield-related traits, antioxidant enzymes and essential oil content of some Cumin (*Cuminum cyminum* L.) ecotypes. *Environmental Stresses in Crop Sciences*. 13, 1125-1134. [In Persian]. <https://doi.org/10.22077/escs.2020.2395.1624>
- Vatankhah, E., Kalantari, B., Andalibi, B., 2017. Effects of methyl jasmonate and salt stress on physiological and phytochemical characteristics of peppermint (*Mentha piperita* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 33, 449-465. [In Persian]. <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2017.107594.1848>
- Wang, S.Y., Bowman, L., Ding, D., 2008. Methyl jasmonate enhances antioxidant activity and flavonoid content in blackberries (*Rubus* sp.) and promotes anti proliferation and promotes anti proliferation of human cancer cells. *Food Chemistry*. 107, 1261-1269. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.065>
- Yun-Xia, G., Li-Jun, Z., Feng-hai, L., Zhi-bin, C., Che, W., Yun-cong, Y., Zhen-hai, H., Jie, Z., Zhen-sheng, S., 2010. Relationship between jasmonic acid accumulation and senescence in drought -stress. *African Journal of Agriculture Research*. 5, 1978-1983
- Zahedi, M., Hosseini, M., Moharrami, F., 2019. The effect of methyl jasmonate on some physiological and biochemical characteristics of strawberry (*Fragaria × ananassa* cv. Paros) under drought stress. *Plant Process and Function*. 8, 249-262. [In Persian]. <https://dorl.net/dor/20.1001.1.23222727.1398.8.33.15.5>
- Zhang, Z., Pang, X., Duan, X., Ji, Z.L., Jiang, Y., 2005. Role of peroxidase in anthocyanine degradation in litchi fruit pericarp. *Food Chemistry*. 90, 47-52. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.023>