

تأثیر محلولپاشی اسید سالیسیلیک و اسپرمین بر رشد و خصوصیات ریشه گیاه سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.) تحت تنش خشکی

حکیمه درویشه^۱، مرتضی زاهدی^{۱*} و بهلول عباسزاده^۲

^۱ گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ^۲ بخش تحقیقات گیاهان دارویی، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۸/۰۹، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۱۱/۲۸)

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی تأثیر تنش آب و محلولپاشی اسید سالیسیلیک و اسپرمین بر تولید ماده خشک و خصوصیات مورفولوژیک و بیوشیمیایی گیاه دارویی سرخارگل، به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال‌های زراعی ۱۳۹۵-۱۳۹۶ در مزرعه موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور اجرا گردید. در این آزمایش رژیم آبیاری در سه سطح (آبیاری پس از تخلیه ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد رطوبت قابل دسترس) به عنوان فاکتور اصلی و تیمار محلولپاشی (عدم محلولپاشی، محلولپاشی اسید سالیسیلیک در دو سطح ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر، اسپرمین در یک سطح ۷۰ میلی‌گرم در لیتر، اسید سالیسیلیک ۷۵+ اسپرمین و اسید سالیسیلیک ۱۵۰+ اسپرمین) به عنوان فاکتور فرعی در نظر گرفته شد. تأثیر رژیم آبیاری و محلولپاشی اسید سالیسیلیک و اسپرمین بر تولید ماده خشک و صفات مورد مطالعه معنی‌دار بود. در اثر تنش خشکی غلظت فنول و فلاونوئید، طول، حجم، سطح، قطر، وزن و چگالی ریشه و نسبت وزن ریشه به اندام هوایی افزایش ولی ارتفاع، تعداد پنجه، سطح برگ، وزن اندام هوایی، طول ویژه ریشه و غلظت پروتئین کاهش یافت. محلولپاشی گیاهان با اسید سالیسیلیک و اسپرمین موجب افزایش ارتفاع، تعداد پنجه، سطح برگ، غلظت فلاونوئید، حجم، سطح، قطر، وزن و طول ویژه ریشه، وزن اندام هوایی و پروتئین ولی باعث کاهش غلظت فنول، نسبت وزن ریشه به اندام هوایی و طول ریشه گردید. برهمکنش اثرات تنش خشکی و محلولپاشی بر فنول، فلاونوئید و طول، حجم، وزن و چگالی ریشه معنی‌دار شد. بیشترین مقدار فلاونوئید، حجم و وزن ریشه در سطح آبیاری پس از ۶۰ درصد تخلیه آب با کاربرد توام غلظت بالای اسید سالیسیلیک و اسپرمین و بیشترین مقدار فنول، طول و چگالی ریشه در تیمار بدون محلولپاشی بدست آمد. بر اساس نتایج این آزمایش محلولپاشی سرخارگل با اسید سالیسیلیک و اسپرمین موجب بهبود رشد این گیاه در هر دو شرایط تنش کم‌آبی و بدون تنش گردید و میزان تأثیر مثبت اسید سالیسیلیک در مقایسه با اسپرمین بیشتر بود.

واژه‌های کلیدی: اسید سالیسیلیک، اسپرمین، تنش آب، زیست توده، خصوصیات ریشه

مقدمه

کاسنی است که کاربرد وسیعی در صنایع دارویی، آرایشی و بهداشتی دارد. فرآورده‌های دارویی بدست آمده از ریشه و سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.) گیاهی چندساله از تیره

برگ (Basu *et al.*, 2016) و افزایش نسبت ریشه به اندام هوایی می‌باشد. کاهش سطح برگ ناشی از کاهش تقسیم سلولی و همچنین ریزش و پیری برگ در شرایط تنش خشکی، سبب کاهش سطح تعرق‌کننده، افزایش جذب آب از خاک و در نهایت بهبود مقاومت گیاه در برابر تنش فوق می‌شود (Lobato *et al.*, 2008). مطالعات نشان داده است که تنش خشکی باعث افزایش شاخص‌های رشدی ریشه در آویشن (Attila Tatrai *et al.*, 2016)، کلزا (Tourchi *et al.*, 2005)، ذرت (Saki Nejad *et al.*, 2010) و سرخارگل (Gray *et al.*, 2003) می‌شود.

در گیاهان تحت شرایط تنش خشکی، تجمع گونه‌های اکسیژن فعال، از طریق پراکسیداسیون لیپیدها و تخریب پروتئین‌ها (Jajic *et al.*, 2015)، باعث ایجاد تنش اکسیداتیو شده و می‌تواند خسارات جدی به ساختارهای سلولی گیاهان وارد کند (Sharma and Dubey, 2005). تنش خشکی با افزایش فعالیت آنزیم پروتئاز باعث تجزیه و کاهش غلظت پروتئین‌ها در برگ‌ها شده و در نتیجه میزان اسیدهای آمینه آزاد از جمله پرولین را افزایش می‌دهد (Takeda *et al.*, 1995). همچنین تولید رادیکال‌های سوپر اکسید یا هیدروکسیل در شرایط تنش، منجر به اکسایش اسیدهای آمینه شده و به دنبال آن آسیب‌های جدی به ساختار و عملکرد پروتئین‌ها وارد می‌کند (Turkan *et al.*, 2005). آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز به‌عنوان یک آنزیم آنتی‌اکسیدانی در مسیر فنیل پروپانویید L فنیل آلانین را با دی‌آمیناسیون به ترانس سینامیک اسید تبدیل کرده و باعث بیوسنتز ترکیبات مهمی مانند فلاونوئید و سایر ترکیبات فنولی می‌شود (Boudet, 2007). فنول‌های گیاهی به‌عنوان متابولیت‌های ثانویه، در شرایط مطلوب در گیاهان از طریق مسیر شیکمیک اسید و از متابولیسم فنیل پروپانویید سنتز می‌شوند (Vogt, 2010) و از طریق حذف رادیکال‌های آزاد لیپید و جلوگیری از تجزیه هیدروپروکسیدازها به رادیکال‌های آزاد (Razali *et al.*, 2008) مقاومت گیاهان نسبت به شرایط تنش را افزایش می‌دهند (Schaller and Kieber, 2002).

در سال‌های اخیر کاربرد مواد تنظیم‌کننده رشد از قبیل اسید

اندام‌های هوایی این گیاه، به دلیل دارا بودن خاصیت تقویت سیستم ایمنی بدن، به‌منظور پیشگیری و درمان سرماخوردگی، سرفه، برونشیت، عفونت‌های ریوی و بیماری‌های مزمن ناشی از نقص ایمنی استفاده می‌شود (Tsai *et al.*, 2012; Blumenthal *et al.*, 2011). با توجه به دامنه سازگاری این گیاه به شرایط محیطی مختلف (Sabra *et al.*, 2012)، امروزه کشت آن در سراسر جهان (Kreft, 2005) به‌ویژه ایران افزایش یافته است. تولیدات سرخارگل در واقع در زمهره چهار گیاه دارویی پر فروش در اروپا و ششمین گیاه پر فروش در کشور آمریکا در سال ۲۰۱۰ بوده که فقط در اروپا حدود ۱۴۰ میلیون دلار در سال ارزش افزوده داشته است (Blumenthal *et al.*, 2011).

امروزه تنش کم‌آبی به‌عنوان مهم‌ترین تنش محیطی، رشد و نمو گیاهان را تحت تأثیر قرار داده و تأثیر مهمی بر رشد ریشه و ساختار اندام‌ها و فعالیت‌های آن‌ها می‌گذارد (Waraich *et al.*, 2011). گیاهان در شرایط تنش خشکی از طریق سازوکارهای مختلف مانند بستن روزنه‌ها (Haworth *et al.*, 2016)، کاهش سطح تعرق‌کننده، ضخیم شدن لایه کوتیکول، بالا نگه‌داشتن میزان فتوسنتز، کاهش تنفس (Hajar *et al.*, 1997)، افزایش وزن و طول ریشه (Zhang *et al.*, 2017) و افزایش نسبت ریشه به اندام‌های هوایی (Michele *et al.*, 2009) در برابر خشکی و اثرات سوء آن مقاومت می‌کند. در هنگام مواجهه با تنش خشکی، جهت افزایش توانایی جذب آب از خاک گیاهان مواد فتوسنتزی بیشتری را به سیستم ریشه‌ای اختصاص داده و طول ریشه خود را برای جذب آب از قسمت‌های عمیق‌تر خاک افزایش می‌دهند (Aerts *et al.*, 1999). از آنجایی که جذب کارآمد آب توسط ریشه یک مشخصه مهم برای مقاومت به خشکی است، لذا، گیاهان با نسبت ریشه به اندام‌های هوایی بالاتر از قابلیت بیشتری برای حفظ فشار تورژسانس برخوردار هستند. بر این اساس، این نسبت به‌عنوان یک معیار مهم جهت گزینش ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی معرفی می‌شود (Sing *et al.*, 2005).

دو پاسخ مهم گیاه در مقابل تنش خشکی، کاهش سطح

شرایط تنش پلی آمین ها به دلیل دارا بودن خاصیت پلی کاتیونی می توانند با اتصال به مولکول های آنیونی بزرگ مانند فسفولیپیدها، پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک، باعث ثبات بیولوژی غشا و مهار رادیکال های آزاد شوند (Bouchereau et al., 1999). Talaat and Laila (۲۰۱۰) در آزمایشی دریافتند که محلولپاشی پلی آمین ها و ترانس سینامیک اسید در گیاه ریحان باعث افزایش قابل توجهی در ارتفاع بوته، تعداد ساقه های فرعی، وزن تر و خشک گیاه می شود. همچنین مشخص شده است که در شرایط تنش خشکی کاربرد پلی آمین ها برون زاد به طور قابل توجهی درصد و عملکرد اسانس را در گیاه ریحان افزایش می دهد. در مطالعه دیگری که بر اندامزایی و تحریک رشد ریشه در گیاه سرخارگل تحت محلولپاشی پلی آمین انجام شد دریافتند که محلولپاشی پلی آمین ها با مقادیر ۷۰ میلی گرم باعث بهبود رشد گیاهان فوق در محیط کشت می شود (Cheon Chae, 2016). همچنین محلولپاشی پلی آمین ها علاوه بر تحریک گلدهی و رشد اندام های هوایی می تواند تعداد و وزن ریشه را نیز افزایش دهد (Nahed et al., 2009; Kumar et al., 2011).

در رابطه با واکنش گیاه سرخارگل به محلولپاشی اسید سالیسیلیک و اسپرمین در شرایط مختلف رطوبت قابل دسترس در خاک و به خصوص در شرایط مزرعه اطلاعات قابل دسترسی وجود ندارد. از این رو، این تحقیق با هدف ارزیابی تأثیر تنش خشکی و محلولپاشی اسید سالیسیلیک و اسپرمین و برهمکنش این عوامل بر تولید ماده خشک و برخی ویژگی های مورفولوژیکی و فیزیولوژیک گیاه دارویی سرخارگل انجام شد.

مواد و روش ها

به منظور بررسی اثر تنش کم آبیاری و محلولپاشی اسید سالیسیلیک و اسپرمین بر شاخص های رشدی، مورفولوژیکی گیاه اکیناسه پورپورا آزمایشی به صورت کرت های خرد شده بر پایه طرح بلوک های کامل تصادفی با سه سطح رژیم آبیاری (آبیاری پس از تخلیه ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد رطوبت قابل دسترس خاک) در کرت های اصلی و محلولپاشی اسید

سالیسیلیک و اسپرمین که در پاسخ های دفاعی گیاهان و مقاومت به تنش های زیستی و غیرزیستی نقش دارند، معمول شده است (Khan et al., 2007; Safaei Jie et al., 2010; Nezhad et al., 2014; Rabia and asghari., 2013). این ترکیبات به عنوان تنظیم کننده های اسمزی بر غالب واکنش های متابولیسمی گیاهان تأثیر گذاشته (Metwally et al., 2003) و از طریق افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و همچنین افزایش میزان پلی آمین ها در گیاهان، منجر به یکپارچگی و حفظ غشاء شده و میزان صدمات ناشی از تنش اکسیداتیو را کاهش می دهند (Nemeth et al., 2002). چنانچه در مطالعه عسکری (۱۳۹۳) کاربرد اسید سالیسیلیک بر گیاه رازیانه رشد یافته در شرایط تنش کم آبی، سبب افزایش شاخص های رشد، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی، محتوای کلروفیل و همچنین موجب بهبود صفات ریشه گردید. همچنین در مطالعه Farahbakhsh و Hamsaddin Saaid (۲۰۱۱) محلولپاشی گیاهان ذرت با اسید سالیسیلیک تحت تنش خشکی سبب افزایش وزن خشک گیاه، ارتفاع بوته، تعداد برگ، سطح برگ و محتوای کلروفیل برگ شد دیانت و همکاران (۲۰۱۶) افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز)، قند، پرولین، پروتئین و محتوای اسانس گیاه در برگ گیاه به لیمو محلولپاشی شده با اسید سالیسیلیک را تحت شرایط تنش خشکی گزارش کردند که نشان دهنده تعدیل اثرات تنش خشکی در اثر محلولپاشی می باشد. همچنین Hamada و Al-hakimi (۲۰۰۱)، گزارش نمودند که افزایش پارامترهای رشدی ریشه و حفظ کارایی آن از طریق افزایش طول و حجم ریشه باعث جذب بیشتر آب توسط گیاه سویا در شرایط تنش خشکی گردید.

پلی آمین ها از جمله اسپرمین، به عنوان هیدروکربن های آلفاتیکی با وزن مولکولی کم، در طیف وسیعی از فرایندهای مورفولوژیک و فیزیولوژیکی از جمله تقسیم سلولی، فرایندهای درگیر در رشد و توسعه سلول ها (Kaur-awhney et al., 2003)، رشد رویشی و فعالیت های فتوسنتزی گیاه نقش مهمی برعهده دارند (Chattopadayay et al., 2002). در واقع در

طی دوره رشد محاسبه و زمان‌های آبیاری مشخص شدند (Allen et al., 1998). عمق مجاز تخلیه رطوبت از عمق توسعه ریشه از رابطه زیر محاسبه شد:

$$I_d = (FC - PWP) \times D \times B \times MAD$$

I_d : عمق آب مجاز برای تخلیه در تیمار مورد نظر، FC و PWP: به ترتیب رطوبت وزنی خاک در حد ظرفیت زراعی و حد پژمردگی دائم (درصد)، D: عمق فعال توسعه ریشه، B: چگالی ظاهری خاک در ناحیه توسعه ریشه و MAD: ضریب مدیریت مزرعه.

هم‌زمان با اعمال تنش خشکی، محلولپاشی اسید سالیسیلیک (۲) هیدروکسی بنزوئیک اسید، وزن مولکولی ۱۳۸/۱) و اسپریمین (وزن مولکولی ۲۰۲/۳) با سم‌پاش، دو مرتبه و به فاصله ده روز از یکدیگر در مرحله آغاز ساقه‌روی گیاه اعمال شد. برای تهیه محلول اسیدسالیسیلیک، پودر اسیدسالیسیلیک در آب دوبار تقطیر شده حل شد (Askari and Ehsanzadeh, 2015). همچنین اعمال تیمارهای تنش خشکی از زمان آغاز ساقه‌روی تا پایان مرحله رسیدگی فیزیولوژیکی گیاه ادامه یافت.

در سال ۱۳۹۶ و بعد از حدود چهار ماه از اعمال محلولپاشی و آغاز تیمار آبیاری؛ در مرحله گل‌دهی کامل، شاخص‌های رشدی و مورفولوژیک شامل ارتفاع، قطر، تعداد پنجه، سطح برگ (با استفاده از دستگاه سطح برگ سنج مدل Leaf Area Meter; Delta- T Devices- WinDIAS 2 analysis system) و صفات فیزیولوژیکی مانند فنول، فلاونوئید و پروتئین برگ اندازه‌گیری شدند. صفات طول بوته و قطر ساقه (دو سانتی‌متر بالاتر از منطقه طوقه) به ترتیب با خط‌کش و کولیس اندازه‌گیری شدند. پس از شستن ریشه‌ها، صفات مربوط به ریشه شامل طول ریشه اصلی از یقه تا نوک ریشه به‌وسیله خط کش (صفی‌خانی و همکاران، ۱۳۸۶) و حجم ریشه با قرار دادن ریشه‌ها در یک استوانه مدرج و تعیین اختلاف حجم آب قبل و بعد از قرار دادن ریشه اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک اندام هوایی و ریشه، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. قطر ریشه (۱)، سطح ریشه (۲)، طول ویژه ریشه (۳)،

سالیسیلیک (زل آلواتان، ۱۳۹۲) و اسپریمین (CheonChae, 2016) (عدم محلول‌پاشی، اسید سالیسیلیک ۷۰، اسید سالیسیلیک ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر، اسپریمین ۷۰ میلی‌گرم در لیتر، اسید سالیسیلیک ۷۵+ اسپریمین و اسید سالیسیلیک ۱۵۰+ اسپریمین) در سه تکرار، در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ در ایستگاه البرز موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور انجام شد. بافت خاک محل آزمایش لومی رسی بوده و وزن مخصوص ظاهری لایه صفر تا ۳۰ سانتی‌متر خاک حدود ۱/۴۹ گرم بر سانتی‌متر مکعب، میانگین اسیدیته خاک ۷/۳، هدایت الکتریکی آن حدود ۱/۲ دسی زیمنس بر متر و رطوبت خاک در ظرفیت زراعی مزرعه ۲۳ درصد وزنی است. هر کرت به ابعاد ۴×۳ متر و شامل پنج ردیف خط کشت بود. فاصله بین ردیف‌ها ۴۵ سانتی‌متر و فاصله بین دو بوته روی هر ردیف ۳۵ سانتی‌متر تنظیم شد. به دلیل پایین بودن درصد جوانه‌زنی بذور سرخارگل به‌واسطه خواب بذر و نیاز به رطوبت بالا در مرحله جوانه‌زنی، کاشت مستقیم بذر در مزرعه با مشکل مواجه می‌شود و بر این اساس بذرهای تهیه شده از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، به‌منظور تهیه نشاء در گلخانه ایستگاه البرز کشت شدند. پس از گذشت حدود سه ماه، نشاء در مرحله سه تا چهار برگی در تاریخ ۱۰ مهر ۱۳۹۵ به زمین اصلی منتقل شدند. بعد از زمستان‌گذرانی و رویش مجدد و استقرار کامل گیاه در فصل بهار، تیمارهای تنش خشکی اعمال گردید. قبل از اعمال تنش، ابتدا کلیه کرت‌ها به‌طور یکسان و یکنواخت آبیاری شدند، سپس اقدام به برداشت نمونه خاک از عمق توسعه ریشه گردید و به‌صورت روزانه درصد رطوبت خاک تعیین شد. برای اعمال تیمارهای تنش و جهت دقت در انجام آزمایش از روش وزنی و دستگاه (Time Domain Reflectometry) TDR ساخت آمریکا مدل Santa Barbara, X6050 هم‌زمان استفاده شد. به‌طوریکه با اندازه‌گیری منظم و روزانه رطوبت خاک در عمق توسعه ریشه با نزدیک شدن به حد آستانه هریک از تیمارها، آبیاری انجام شد. مقدار تخلیه رطوبت خاک براساس مقدار تبخیر- تعرق چمن با استفاده از رابطه فائو- پنمن- مانتیت و ضریب گیاهی،

نتایج و بحث

ارتفاع بوته، تعداد پنجه و سطح برگ: تأثیر رژیم آبیاری و محلولپاشی گیاهان با اسید سالیسیلیک و اسپرین بر ارتفاع، تعداد پنجه در بوته و سطح برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). تحت تیمارهای آبیاری ۴۰ و ۶۰ درصد تخلیه رطوبت نسبت به شاهد ارتفاع بوته به ترتیب ۲۶/۸ و ۴۸/۷ درصد، تعداد پنجه در بوته به ترتیب ۱۶/۶ و ۳۴/۱ درصد و سطح برگ به ترتیب ۲۳/۴ و ۵۵/۵ درصد کاهش یافت (جدول ۲). محلولپاشی اسید سالیسیلیک با غلظت ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم و اسپرین با غلظت ۷۰ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب موجب افزایش ۲۷/۵، ۳۹/۲ و ۱۵/۳ درصدی ارتفاع بوته، ۴۲/۴، ۵۸/۷ و ۱۵/۲ درصدی تعداد پنجه در بوته و ۱۱/۱، ۱۵/۶ و ۶/۱۷ درصدی سطح برگ گردید. بیشترین میزان افزایش در صفات فوق در تیمار محلولپاشی توام غلظت بالای اسید سالیسیلیک با اسپرین بدست آمد.

کاهش صفات مورفولوژیک مانند ارتفاع بوته در شرایط تنش خشکی، به علت اختلال در تقسیم سلولی، کاهش فشار تورگر (Farooq et al., 2009)، کاهش تعداد گره و میانگره (کافی و همکاران، ۱۳۸۸) و همچنین اختلال در فتوسنتز و کاهش تولید مواد فتوسنتزی جهت عرضه به بخش‌های در حال رشد گیاه و در نهایت عدم دستیابی گیاه به پتانسیل ژنتیکی از نظر ارتفاع (Hsiao, 1973) و مسدود شدن آوندهای چوبی و آبکش دانست که مانع انتقال مواد در داخل گیاه ریحان می‌شوند (Khalil et al., 2010). همچنین نتایج بر روی گیاه ریحان گونه *Ocimum gratissimum* نشان داد که در اثر تنش، سطح برگ به‌عنوان بخش فتوسنتز کننده گیاه به علت کاهش تقسیم سلول‌های مریستمی، کند شدن رشد، ریزش و پیری برگ‌ها، کاهش پیدا می‌کند (Osugwu et al., 2010). در واقع کاهش سطح برگ به‌عنوان یک سازش مورفولوژیکی در شرایط تنش، باعث کاهش اتلاف آب، تعرق گیاه می‌شود (Munne-Bosch and Alegre, 2004). کاربرد اسید سالیسیلیک و اسپرین با افزایش تقسیم سلولی در مریستم‌های برنج و افزایش توان فتوسنتزی گیاه از طریق

چگالی ریشه (۴) و چگالی سطح ریشه (۵) نیز با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد (Newman, 1966; Hajabbasi, 2001):

$${}^{\circ}/^{\circ} (\text{حجم ریشه} \times \pi \times \text{طول ریشه}) = 2 = \text{سطح ریشه (۱)}$$

$${}^{\circ}/^{\circ} ((\text{طول ریشه} \times \pi) / \text{وزن تر ریشه} \times 4) = \text{قطر ریشه (۲)}$$

$$\text{وزن خشک ریشه} / \text{طول ریشه} = \text{طول ویژه ریشه (۳)}$$

$$\text{حجم ریشه} / \text{وزن خشک ریشه} = \text{چگالی ریشه (۴)}$$

$$\text{طول ریشه} \times \text{قطر ریشه} \times \pi = \text{چگالی سطح ریشه (۵)}$$

برای اندازه‌گیری فنول، عصاره متانولی استخراج شده با مقدار ۱۲۵ میکرولیتر معرف فولین ۱۰ درصد مخلوط و پس از قرار گرفتن در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه، حدود ۱۰۰ میکرولیتر محلول هفت درصد بیکربنات سدیم به آن اضافه شد. مقدار جذب مخلوط پس از ۱۲۰ دقیقه نگهداری در شرایط بدون نور با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (T80+ PG Instrument UV/Vis Spectrometer) در طول موج ۷۶۵ نانومتر ثبت و براساس منحنی گالیک اسید خوانده شد (Meyers et al., 2003). برای اندازه‌گیری فلاونوئید کل از روش کالریتری آلومینیوم کلراید استفاده شد. ابتدا به ترتیب مقدار ۱۷۰۰ میکرولیتر اتانول ۳۰ درصد، ۱۵۰ میکرولیتر نیتريت سدیم ۰/۵ میلی‌مولار و ۱۵۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۰/۳ میلی‌مولار به ۱۵۰ میکرولیتر عصاره استخراج شده اضافه و بلافاصله مخلوط شد. پس از گذشت حدود پنج دقیقه، ۱۰۰ میکرولیتر محلول هیدروکسید یک میلی‌مولار به مخلوط فوق اضافه شد. بعد از ۱۰ الی ۱۵ دقیقه، میزان جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۰۶ نانومتر ثبت شد (Du et al., 2009) و براساس منحنی کاتچین خوانده شد. غلظت پروتئین نیز با استفاده از روش Bradford (۱۹۷۶) و منحنی استاندارد پروتئین، سنجش شد.

داده‌های حاصل از آزمایش بعد از نرمال شدن، با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹،۳ مورد تجزیه آماری قرار گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

جدول ۱ - نتایج تجزیه واریانس اثر عوامل آزمایشی (سطوح مختلف رژیم آبیاری و محلولپاشی اسید سالیسیلیک و اسپرمین) بر صفات مورد مطالعه گیاه سرخارگل

میانگین مربعات									
منابع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع بوته	تعداد پنجه	شاخص سطح برگ	فنول برگ	فلاونوئید برگ	پروتئین برگ	طول ریشه	حجم ریشه
تکرار	۲	۴۳۱**	۴/۹۶ ^{ns}	۱/۰۳**	۴/۷۷ ^{ns}	۶/۷۹**	۱/۵۰**	۱/۷۹۱ ^{ns}	۲۹/۸۹*
تنش	۲	۹۶۶۹**	۷۴/۰**	۱۹/۳**	۴۰۹**	۱۴/۷**	۳۴/۹**	۸۳۹/۴**	۵۴۹۶**
خطای اصلی	۴	۲۹/۸۲	۱/۸۷	۰/۵۳	۱۴/۰	۰/۴۶۶	۰/۱۷	۳/۴۷۲	۱۹/۰۱
محلولپاشی	۵	۱۴۴۸**	۵۷/۸**	۰/۳۶**	۲۴/۲**	۰/۴۸۹**	۲/۱۸**	۶۵/۳۲**	۴۲۱/۴**
تنش × محلولپاشی	۱۰	۱۱/۰۱ ^{ns}	۲/۲۶ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	۲/۳۴**	۰/۰۵۸*	۰/۲۰ ^{ns}	۱۳/۹۱**	۶۵/۲۳**
خطای آزمایش	۳۰	۳۴/۷	۲/۴۱	۰/۰۲۸	۰/۹۶۰	۰/۰۶۲	۰/۱۰	۰/۷۱۲	۹/۲۶۲
ضریب تغییرات		۵/۷۸	۱۵/۸	۶/۱۸	۶/۳۶	۳/۳۵	۴/۸۵	۴/۴۹	۶/۴۲

ns، * و ** به ترتیب غیرمعنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

ادامه جدول ۱ -

میانگین مربعات									
منابع تغییرات	درجه آزادی	سطح ریشه	قطر ریشه	طول ویژه ریشه	چگالی ریشه	چگالی سطحی ریشه	وزن خشک ریشه	وزن خشک اندام هوایی	نسبت ریشه به اندام هوایی
تکرار	۲	۸۰/۱۶ ^{ns}	۰/۰۱۸ ^{ns}	۰/۰۳۴ ^{ns}	۰/۰۶۸**	۶۰/۷۰ ^{ns}	۴۳/۶۲ ^{ns}	۱۱۰۷ ^{ns}	۰/۱۱۲ ^{ns}
تنش	۲	۲۶۶۵۱**	۰/۲۲۲**	۰/۴۴۰**	۰/۲۱۰**	۳۳۳۸۶**	۷۵۲۳**	۸۷۴۲**	۵/۵۷۷**
خطای اصلی	۴	۵۸/۵۹	۰/۰۲۴	۰/۰۲۳	۰/۰۱۵	۳۶/۷۸	۳۱/۷۹	۶۶/۳۹	۰/۰۲۴
محلولپاشی	۵	۴۶/۸۷*	۰/۴۱۸**	۰/۲۶۵**	۰/۰۰۹*	۵۵/۴۵*	۴۳۸/۹**	۳۵۵۳**	۰/۰۷۹ ^{ns}
تنش × محلولپاشی	۱۰	۵۵/۳۹ ^{ns}	۰/۰۲۱ ^{ns}	۰/۰۵۷ ^{ns}	۰/۰۲۷**	۸۴/۰۷ ^{ns}	۴۵/۹۱**	۲۳۰/۲ ^{ns}	۰/۰۳۲**
خطای آزمایش	۳۰	۱۱/۹۷	۰/۰۰۱	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴	۱۲/۴۷	۴/۵۱۸	۹۳/۸۵	۰/۰۱۱
ضریب تغییرات		۴/۶۸	۴/۲۶	۱۱/۰	۶/۵۳	۴/۶۸	۴/۴۷	۱۱/۹	۱۵/۷

ns، * و ** به ترتیب غیرمعنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

غلظت فنول و فلاونوئید: تأثیر رژیم آبیاری و محلولپاشی گیاهان با اسید سالیسیلیک و اسپرمین بر غلظت فنول و فلاونوئید در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۱). تحت تیمارهای آبیاری ۴۰ و ۶۰ درصد تخلیه رطوبت نسبت به شاهد غلظت فنول به ترتیب ۴۷/۶ و ۹۰/۴ و غلظت فلاونوئید به ترتیب ۸/۸۷ و ۲۶/۷ درصد افزایش یافت

تأثیر مثبت بر فعالیت آنزیم روبیسکو (Gutierrez-Coronado et al., 1998)، کاهش تأثیرات منفی آبسزیک اسید در فرایند بسته شدن روزنه‌ها (Rai et al., 1986) و همچنین سنتز پروتئین‌های خاصی به نام پروتئین کیناز که نقش مهمی در تنظیم تقسیم، تمایز سلول برعهده دارند موجب بهبود صفات رشدی گیاه در شرایط تنش می‌شود. که با نتایج بر روی ریحان (Kordi et al., 2013; Talaat and Laila., 2010) و مرزه (Faraji-Mehmany., 2016) مطابقت دارد.

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های ارتفاع بوته (سانتی‌متر)، تعداد پنجه، شاخص سطح برگ، غلظت فنول (میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم)، غلظت فلاونوئید (میلی‌گرم کاتچین بر گرم)، غلظت پروتئین (میلی‌گرم بر گرم)، طول ریشه (سانتی‌متر)، حجم ریشه (سانتی‌متر مکعب)، وزن خشک ریشه (گرم در بوته)، سطح ریشه (سانتی‌متر مربع در بوته)، قطر ریشه (سانتی‌متر)، طول ویژه ریشه (سانتی‌متر بر گرم)، چگالی ریشه (گرم بر سانتی‌متر مکعب)، وزن خشک اندام هوایی (گرم در بوته) و نسبت ریشه به اندام هوایی تحت تأثیر سطوح مختلف رژیم آبیاری و محلولپاشی اسید سالیسیلیک و اسپرمین.

میانگین								رتیم آبیاری (درصد تخلیه رطوبت)
ارتفاع بوته	تعداد پنجه	شاخص سطح برگ	فنول	فلاونوئید	پروتئین	طول ریشه	حجم ریشه	
۹۵ ^a	۱۱/۸ ^a	۳/۷۱ ^a	۱۰/۵ ^c	۶/۶۵ ^b	۸/۰۷ ^a	۱۸/۱ ^c	۳۰/۹ ^c	۲۰
۶۹/۵ ^b	۹/۸۳ ^b	۲/۸۴ ^b	۱۵/۵ ^b	۷/۲۴ ^b	۶/۴۷ ^b	۲۲/۷ ^b	۴۵/۴ ^b	۴۰
۴۸/۷ ^c	۷/۷۷ ^c	۱/۶۵ ^c	۲۰/۰ ^a	۸/۴۳ ^a	۵/۲۹ ^c	۳۱/۵ ^a	۶۵/۷ ^a	۶۰
۵۳/۳ ^f	۶/۵۵ ^d	۲/۴۳ ^d	۱۷/۷ ^a	۷/۲۲ ^d	۵/۹۹ ^d	۲۷/۹ ^a	۳۹/۰ ^d	تیمار محلولپاشی
۶۸ ^d	۹/۳۳ ^c	۲/۷۰ ^{bc}	۱۵/۶ ^c	۷/۳۴ ^{cd}	۶/۳۹ ^c	۲۴/۳ ^c	۴۵/۸ ^c	عدم محلولپاشی
۷۴/۲ ^c	۱۰/۴ ^{bc}	۲/۸۱ ^{ab}	۱۴/۸ ^{cd}	۷/۴۶ ^{bc}	۶/۸۳ ^b	۲۳/۲ ^d	۴۷/۹ ^c	سالیسیلیک (۷۵)
۶۱/۵ ^e	۷/۵۵ ^d	۲/۵۸ ^{cd}	۱۶/۶ ^b	۷/۲۲ ^{cd}	۶/۱۸ ^{cd}	۲۶/۵ ^b	۴۱/۹ ^d	سالیسیلیک (۱۵۰)
۸۲/۷ ^b	۱۱/۶ ^b	۲/۹۲ ^a	۱۴/۰ ^{de}	۷/۵۹ ^{ab}	۷/۱۲ ^{ab}	۲۱/۸ ^e	۵۱/۵ ^b	اسپرمین
۸۶/۶ ^a	۱۳/۳ ^a	۲/۹۵ ^a	۱۳/۳ ^e	۷/۸۲ ^a	۷/۱۴ ^a	۲۱/۰ ^f	۵۸/۱ ^a	اسپرمین + (۷۵) سالیسیلیک
								زسالیسیلیک (۱۵۰) + اسپرمین

برای هر صفت میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD اختلاف معنی داری ندارند.

ادامه جدول ۲-

میانگین								رتیم آبیاری (درصد تخلیه رطوبت)
سطح ریشه	قطر ریشه	طول ویژه ریشه	چگالی ریشه	چگالی سطحی ریشه	وزن خشک ریشه	وزن خشک اندام هوایی	نسبت ریشه به اندام هوایی	
۸۳/۲ ^c	۱/۶۱ ^b	۰/۷۵ ^a	۰/۸۵ ^b	۹۰/۱ ^c	۲۷/۰ ^c	۱۰۵ ^a	۰/۲۵ ^c	۲۰
۱۱۳ ^b	۱/۷۹ ^a	۰/۴۸ ^b	۱/۰۴ ^a	۱۲۸ ^b	۴۷/۶ ^b	۷۴/۳ ^b	۰/۶۶ ^b	۴۰
۱۵۹ ^a	۱/۸۰ ^a	۰/۴۸ ^b	۱/۰۵ ^a	۱۷۶ ^a	۶۷/۸ ^a	۶۳/۱ ^c	۱/۱۴ ^a	۶۰
۱۱۶ ^c	۱/۴۶ ^f	۰/۸۳ ^a	۰/۹۶ ^a	۱۲۹ ^{bc}	۳۹/۳ ^e	۵۵/۸ ^d	۰/۸۲ ^a	تیمار محلولپاشی
۱۱۸ ^b	۱/۶۵ ^d	۰/۶۰ ^c	۰/۹۳ ^b	۱۲۸ ^c	۴۳/۵ ^d	۷۴/۴ ^c	۰/۶۷ ^b	عدم محلولپاشی
۱۱۸ ^b	۱/۷۷ ^c	۰/۵۰ ^d	۱/۰۰ ^a	۱۳۰ ^{bc}	۴۸/۵ ^c	۸۹/۲ ^b	۰/۶۰ ^b	سالیسیلیک (۷۵)
۱۱۹ ^{bc}	۱/۵۷ ^e	۰/۶۸ ^b	۰/۹۸ ^{ab}	۱۳۲ ^{ab}	۴۲/۷ ^d	۶۲/۶ ^d	۰/۷۸ ^a	سالیسیلیک (۱۵۰)
۱۱۸ ^b	۱/۹۱ ^b	۰/۴۳ ^e	۱/۰۱ ^a	۱۳۲ ^{ab}	۵۳/۰ ^b	۹۹/۱ ^a	۰/۶۲ ^b	اسپرمین
۱۲۳ ^a	۲/۰۴ ^a	۰/۳۷ ^e	۱/۰۰ ^a	۱۳۵ ^a	۵۷/۸ ^a	۱۰۴ ^a	۰/۶۱ ^b	اسپرمین + (۷۵) سالیسیلیک
								سالیسیلیک (۱۵۰) + اسپرمین

برای هر صفت میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD اختلاف معنی داری ندارند.

تجمع ترکیبات فنولی به منظور کاهش اثرات منفی تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شود. نتایج آزمایش حاضر با نتایج حاصل شده برای گیاهان همیشه‌بهار (Pacheco et al., 2013)، مریم گلی (Dong et al., 2010)، رزماری (El-Esawi et al., 2017) و سیاهدانه (Kabiri et al., 2014) مطابقت دارد.

غلظت پروتئین برگ: براساس نتایج تنها اثر ساده رژیم آبیاری و محلولپاشی گیاهان با اسید سالیسیلیک و اسپرین بر غلظت پروتئین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). تحت تیمارهای آبیاری ۴۰ و ۶۰ درصد تخلیه رطوبت نسبت به شاهد غلظت پروتئین به ترتیب ۱۹/۸ و ۳۴/۴ درصد کاهش یافت (جدول ۲). محلولپاشی اسید سالیسیلیک با غلظت ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم و اسپرین با غلظت ۷۰ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب موجب افزایش ۶/۶۷، ۱۴ و ۳/۱۷ درصدی غلظت پروتئین گردید. بیشترین میزان افزایش در غلظت پروتئین در تیمار محلولپاشی توأم غلظت بالای اسید سالیسیلیک با اسپرین بدست آمد.

کاهش مقدار پروتئین تحت تنش متداول است. در شرایط تنش خشکی، علاوه بر کاهش سنتز پروتئین‌ها (Farooq et al., 2009)، فعال شدن ژن‌های کدکننده پروتئاز، فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین را افزایش داده و باعث افزایش تجزیه پروتئین‌ها و سنتز مواد محلول سازگار می‌شود. همچنین تولید رادیکال‌های سوپراکسید یا هیدروکسیل در شرایط تنش، منجر به اکسایش اسیدهای آمینه شده و به دنبال آن آسیب‌های جدی به ساختار و عملکرد پروتئین‌ها وارد می‌کند (Turkan et al., 2005). در حالیکه محلولپاشی اسید سالیسیلیک، با کاهش اثرات منفی تنش اکسیداتیو و افزایش مقدار پرولین، نقش مهمی در حفاظت از غشاء و اندامک‌های سلولی از جمله بخش پروتئین‌سازی سلول و ساختار آنزیم‌های سنتزکننده پروتئین‌ها برعهده داشته و از تجزیه پروتئین جلوگیری می‌کند (Costa et al., 2005). همچنین اسید سالیسیلیک با افزایش فعالیت آنزیم نترات رداکتاز و جلوگیری از غیرفعال شدن آن باعث افزایش سنتز پروتئین‌ها می‌شود (Sharma and Shanker, 2005). که این نتایج با تحقیقات

(جدول ۲). محلولپاشی اسید سالیسیلیک با غلظت ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم و اسپرین با غلظت ۷۰ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب موجب کاهش ۱۱/۸، ۱۶/۳ و ۶/۲۱ درصدی فنول گردید. محلولپاشی اسید سالیسیلیک با غلظت ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم موجب افزایش ۱/۶۶ و ۳/۳۲ درصدی غلظت فلاونوئید گردید ولی غلظت فلاونوئید در اثر محلولپاشی گیاهان با اسپرین تغییر نکرد.

تأثیر برهمکنش رژیم آبیاری و محلولپاشی بر غلظت فنول و فلاونوئید به ترتیب در سطح احتمال یک و پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱) در اثر کاهش رطوبت خاک بیشترین افزایش در غلظت فنول در سطح تنش ملایم آب در تیمار محلولپاشی توأم غلظت بالای اسید سالیسیلیک با اسپرین (۷۵ درصد) و در سطح شدید تنش در تیمار عدم محلولپاشی (۱۰۷ درصد) مشاهده شد. در حالیکه بیشترین افزایش غلظت فلاونوئید در سطح تنش ملایم آب در تیمار محلولپاشی اسپرین (۱۰/۲ درصد) و در سطح شدید تنش در تیمار محلولپاشی غلظت بالای اسید سالیسیلیک و اسپرین (۳۲/۲ درصد) مشاهده شد (جدول ۳). در کلیه سطوح رطوبتی در اثر محلولپاشی غلظت فنول کاهش ولی غلظت فلاونوئید افزایش یافت.

ترکیبات فنولی با توجه به نقش آنها در کاهش و یا مهار پراکسیداسیون لیپیدها، جاروب کردن رادیکال‌های آزاد، از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن، به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان ضروری در مقابل اثرات منفی تنش اکسیداتیو در گیاهان به شمار می‌آیند (Ksouri et al., 2007). معمولاً در شرایط تنش به علت افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیا، میزان تولید ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها در گیاهان شوید (Setayesh mehr et al., 2012)، سیاهدانه (Bourgou et al., 2010) و پامچال (Jaafar et al., 2012) افزایش پیدا می‌کند که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. در واقع کاربرد اسید سالیسیلیک و اسپرین به‌عنوان یک جزء پیام‌رسان کلیدی در شرایط تنش، با افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیا، از طریق افزایش رونویسی mRNA خاص آن منجر به بیوسنتز و

جدول ۳- اثر برهمکنش تنش خشکی و محلولپاشی بر غلظت فنول (میلی گرم گالیک اسید بر گرم)، غلظت فلاونوئید (میلی گرم کاتچین بر گرم)، طول ریشه (سانتی متر)، حجم ریشه (گرم در بوته) و چگالی ریشه (گرم بر سانتی متر مکعب).

رژیم آبیاری (درصد تخلیه رطوبت)	تیمار محلولپاشی	فنول	فلاونوئید	طول ریشه	حجم ریشه	وزن خشک چگالی ریشه
۲۰	عدم محلولپاشی	۱۱/۳۸ ^{ijk}	۶/۶۰ ^f	۲۰/۱ ⁱ	۲۴/۰ ^m	۱۶/۳ ^m
	سالیسیلیک اسید ۷۵	۱۰/۴۷ ^{ijk}	۶/۵۶ ^f	۱۹/۶ ^{ij}	۲۹/۱ ^{lm}	۲۴/۰ ^l
	سالیسیلیک اسید ۱۵۰	۱۰/۴۸ ^{jk}	۶/۶۳ ^f	۱۸/۱ ⁱ	۳۱/۱ ^{kl}	۳۱/۰ ^k
	اسپرمین	۱۱/۳۶ ^{ijk}	۶/۴۵ ^f	۱۹/۵ ^{ij}	۲۶/۶ ^{lm}	۲۱/۳ ^{lm}
	+ اسپرمین سالیسیلیک اسید ۷۵	۹/۷۸ ^k	۶/۸۰ ^f	۱۶/۳ ^k	۳۶/۳ ^{jk}	۳۲/۶ ^{jk}
	اسپرمین + سالیسیلیک اسید ۱۵۰	۹/۸۲ ^k	۶/۸۶ ^f	۱۵/۰ ^k	۳۸/۳ ^{ij}	۳۶/۶ ^j
۴۰	عدم محلولپاشی	۱۸/۲۶ ^{cde}	۶/۹۹ ^{ef}	۲۴/۳ ^l	۳۹/۵ ^{ij}	۴۵/۳ ⁱ
	سالیسیلیک اسید ۷۵	۱۶/۰۸ ^{efg}	۷/۲۰ ^{def}	۲۲/۵ ^{gh}	۴۶/۶ ^{gh}	۴۴/۶ ⁱ
	سالیسیلیک اسید ۱۵۰	۱۴/۶۹ ^{fgh}	۷/۳۱ ^{cdef}	۲۲/۵ ^{gh}	۴۷/۸ ^g	۴۵/۳ ⁱ
	اسپرمین	۱۷/۲۲ ^{def}	۷/۱۱ ^{def}	۲۳/۸ ^{fg}	۴۲/۰ ^{hi}	۴۶/۳ ^{hi}
	+ اسپرمین سالیسیلیک اسید ۷۵	۱۳/۸۷ ^{ghi}	۷/۳۴ ^{cdef}	۲۲/۰ ^h	۴۷/۱ ^{gh}	۵۰/۶ ^{gh}
	اسپرمین + سالیسیلیک اسید ۱۵۰	۱۷/۲۵ ^{def}	۷/۵۲ ^{bcdef}	۲۱/۱ ^{hi}	۴۹/۶ ^{fg}	۵۳/۶ ^{fg}
۶۰	عدم محلولپاشی	۲۳/۵۷ ^a	۸/۰۶ ^{abcde}	۳۹/۰ ^a	۵۳/۵ ^{ef}	۵۶/۳ ^{ef}
	سالیسیلیک اسید ۷۵	۲۰/۴۲ ^{bc}	۸/۲۵ ^{a-d}	۳۱/۰ ^c	۶۱/۶ ^{cd}	۶۲/۰ ^d
	سالیسیلیک اسید ۱۵۰	۱۹/۴۹ ^{bcd}	۸/۴۶ ^{abc}	۲۹/۱ ^d	۶۴/۸ ^c	۶۹/۳ ^c
	اسپرمین	۲۱/۴۱ ^{ab}	۸/۱۲ ^{abcde}	۳۶/۳ ^b	۵۷/۱ ^{de}	۶۰/۶ ^{de}
	اسپرمین + سالیسیلیک اسید ۷۵	۱۸/۴۰ ^{cde}	۸/۶۳ ^{ab}	۲۷/۱ ^e	۷۱/۰ ^b	۷۵/۶ ^b
	اسپرمین + سالیسیلیک اسید ۱۵۰	۱۷/۲۵ ^{def}	۹/۰۷ ^a	۲۶/۸ ^e	۸۶/۳ ^a	۸۳/۳ ^a

برای هر صفت میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD اختلاف معنی داری ندارند.

طول ویژه ریشه در هر دو تیمار ۳۶ درصد کاهش یافت (جدول ۲). محلولپاشی اسید سالیسیلیک با غلظت ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم و اسپرمین با غلظت ۷۰ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب موجب کاهش ۱۳، ۱۷ و ۵ درصدی طول ریشه و ۲۸، ۴۰ و ۱۸ درصدی طول ویژه ریشه گردید. بیشترین میزان کاهش در طول ریشه (۲۵ درصد) و طول ویژه ریشه (۵۵ درصد) در تیمار محلولپاشی توام غلظت بالای اسید سالیسیلیک با اسپرمین بدست آمد.

انجام شده بر روی سویا (Farhangi-Abriz and Ghassemi- Golezani, 2016) و گلرنگ (امیری و همکاران، ۱۳۹۴) مطابقت دارد.

طول و طول ویژه ریشه: تأثیر رژیم آبیاری و محلولپاشی با اسید سالیسیلیک و اسپرمین بر طول در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). تحت تیمارهای آبیاری ۴۰ و ۶۰ درصد تخلیه رطوبت نسبت به شاهد (۲۰ درصد تخلیه رطوبت) طول ریشه به ترتیب ۲۵ و ۷۴ درصد افزایش ولی

بر مرستم انتهایی ریشه می‌شود (Habba et al., 2016).

حجم، سطح و قطر ریشه: تأثیر رژیم آبیاری و محلولپاشی گیاهان با اسید سالیسیلیک و اسپرمین بر حجم، سطح و قطر ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). تحت رژیم‌های آبیاری ۴۰ و ۶۰ درصد تخلیه رطوبت نسبت به شاهد حجم ریشه به ترتیب ۴۷ و ۱۱۲، سطح ریشه ۳۶ و ۹۱ و قطر ریشه ۱۱ و ۱۲ درصد افزایش یافت (جدول ۲). محلولپاشی اسید سالیسیلیک با غلظت ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم و اسپرمین با غلظت ۷۰ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب موجب افزایش ۱۷، ۲۳ و ۷ درصدی حجم ریشه، ۲، ۲ و ۳ درصدی سطح ریشه و ۱۳، ۲۱ و ۸ درصدی قطر ریشه گردید. بیشترین میزان افزایش در حجم ریشه (۴۹ درصد)، سطح ریشه (۶ درصد) و قطر ریشه (۴۰ درصد) در تیمار محلولپاشی توأم غلظت بالای اسید سالیسیلیک با اسپرمین بدست آمد.

تأثیر برهمکنش رژیم آبیاری و محلولپاشی بر حجم ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در اثر کاهش رطوبت خاک بیشترین میزان افزایش در حجم ریشه در سطح تنش ملایم آب در تیمار عدم محلولپاشی (۶۵ درصد) و در سطح شدید تنش در تیمار محلولپاشی توأم غلظت بالای اسید سالیسیلیک با اسپرمین (۱۲۶ درصد) بدست آمد (جدول ۳). در اثر محلولپاشی اسید سالیسیلیک و اسپرمین حجم ریشه در کلیه سطوح رطوبتی افزایش یافت و بیشترین افزایش در هر سه رژیم رطوبتی در اثر محلولپاشی توأم غلظت بالای اسید سالیسیلیک با اسپرمین بدست آمد که میزان افزایش آن در سطح شدید تنش (۶۱ درصد) بالاترین بود.

در شرایط تنش خشکی، جذب آب و مواد غذایی از طریق افزایش حجم، سطح و قطر ریشه در گیاهان افزایش می‌یابد (Ganjeali et al., 2004). با افزایش طول و مساحت ریشه طبیعی است که میزان حجم ریشه نیز افزایش پیدا کند (Serraj et al., 2004). در واقع افزایش حجم ریشه به‌عنوان صفت مطلوبی در ارزیابی مقاومت به تنش خشکی به شمار می‌آید و ژنوتیپ‌های دارای حجم ریشه بالاتر، توانایی جذب آب، مواد غذایی بیشتر و به دنبال آن، تولید بیشتر اندام‌های هوایی را

تأثیر برهمکنش رژیم آبیاری و محلولپاشی بر طول ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱) در اثر کاهش رطوبت خاک بیشترین افزایش در طول ریشه در سطح تنش ملایم آب در تیمار محلولپاشی توأم غلظت بالای اسید سالیسیلیک با اسپرمین (۴۱ درصد) و در سطح شدید تنش در تیمار عدم محلولپاشی (۹۴ درصد) مشاهده شد (جدول ۳). در اثر محلولپاشی طول ریشه در کلیه سطوح رطوبتی کاهش یافت و بیشترین کاهش در هر سه رژیم رطوبتی در اثر محلولپاشی توأم اسید سالیسیلیک با اسپرمین بدست آمد که میزان کاهش آن در سطح شدید تنش (۳۱ درصد) بالاترین بود.

نتایج آزمایش فوق نشان داد تنش خشکی باعث افزایش طول ریشه گیاه سرخارگل می‌شود. گیاهان در مقابله با اثرات منفی تنش خشکی، سیستم ریشه‌ای خود را گسترش می‌دهند (Amiri et al., 2017). افزایش طول ریشه در گیاهانی که در شرایط تنش خشکی رشد می‌کنند به‌علت جذب بهتر رطوبت و عناصر غذایی از خاک، صفتی مطلوب محسوب شده و تا حدود زیادی برای ادامه حیات گیاهان حائز اهمیت است (Hosseinzadeh et al., 2011). Asseng و همکاران (۱۹۹۸) در آزمایشی در ارتباط با بررسی تأثیر تنش خشکی بر خصوصیات ریشه دریافتند که ریشه گیاهان در شرایط تنش شدید، برای تأمین آب مورد نیاز در لایه‌های عمیق‌تر خاک که دارای رطوبت بیشتری هستند گسترش پیدا می‌کند. به عبارت دیگر، گیاهان مقاوم با افزایش طول و عمق ریشه، تغییر توزیع و پراکنش سیستم ریشه در خاک، و یا تغییر اندازه آوندهای ریشه با جذب بیشتر آب با اثرات منفی تنش خشکی مقابله می‌کنند (Turner, 1986). همچنین Uga و همکاران (۲۰۱۳) دریافتند که تنظیم ژن DRO1 تحت تأثیر هورمون اکسین، باعث تحریک رشد طولی ریشه در گونه‌های مقاوم به تنش خشکی می‌شود. محلولپاشی اسید سالیسیلیک با افزایش هورمون‌های رشد مانند اکسین و سیتوکنین (Tomaszewski and Thimman., 1966) و کاربرد اسپرمین به علت کنترل تقسیم سلولی ریشه، تشکیل ریشه اولیه و ریشه‌های جانبی (Couee et al., 2004)، باعث بهبود طول ریشه از طریق تأثیر

غلظت بالای اسید سالیسیلیک با اسپرمین موجب افزایش ۵ درصدی چگالی سطحی ریشه گردید. تأثیر سایر تیمارهای محلولپاشی بر این دو صفت معنی دار نبود.

تأثیر برهمکنش رژیم آبیاری و محلولپاشی بر چگالی ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۱). در اثر کاهش رطوبت خاک بیشترین میزان افزایش در چگالی ریشه در سطح تنش ملایم (۶۸ درصد) و شدید آب (۵۴ درصد) در تیمار عدم محلولپاشی بدست آمد (جدول ۳). تأثیر محلولپاشی اسید سالیسیلیک و اسپرمین بر چگالی ریشه در سطوح مختلف رطوبت مشابه نبود. چگالی ریشه در اثر محلولپاشی گیاهان با اسید سالیسیلیک و اسپرمین تحت آبیاری ۲۰ درصد تخلیه رطوبت افزایش ولی تحت آبیاری ۴۰ درصد تخلیه رطوبت کاهش یافت. درحالی که محلولپاشی گیاهان تحت آبیاری ۶۰ درصد تخلیه رطوبت بر چگالی ریشه تأثیر معنی داری نداشت. در شرایط تنش خشکی میزان چگالی وزنی و سطحی ریشه افزایش پیدا می کند. افزایش چگالی ریشه را می توان تا حدود زیادی به انتقال مواد فتوسنتزی تولیدی گیاه به سمت ریشه ها برای جذب آب بیشتر در شرایط تنش خشکی مربوط دانست (Leport *et al.*, 2006)

وزن خشک اندام هوایی، ریشه و نسبت وزن خشک

ریشه به اندام هوایی: تأثیر رژیم آبیاری و محلولپاشی گیاهان با اسید سالیسیلیک و اسپرمین بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۱). تحت تیمارهای آبیاری ۴۰ و ۶۰ درصد تخلیه رطوبت نسبت به شاهد وزن اندام هوایی به ترتیب ۲۹ و ۴۰ درصد کاهش ولی وزن ریشه ۷۶ و ۱۵۱ درصد و نسبت وزن ریشه به اندام هوایی ۱۶۴ و ۳۵۶ درصد افزایش یافت (جدول ۲). محلولپاشی اسید سالیسیلیک با غلظت ۷۵ و ۱۵۰ میلی گرم و اسپرمین با غلظت ۷۰ میلی گرم در لیتر به ترتیب موجب افزایش ۳۳، ۶۰ و ۱۲ درصدی وزن خشک اندام هوایی و ۲، ۲۳ و ۹ درصدی وزن خشک ریشه ولی باعث کاهش ۱۸، ۲۷ و ۵ درصدی نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی گردید. بیشترین میزان افزایش در وزن خشک ریشه (۴۷ درصد) و

دارند (عبدالشاهی و همکاران، ۱۳۸۹). در این آزمایش محلولپاشی تا حدود زیادی باعث افزایش تمامی صفات مورد مطالعه گیاه به استثنای فنول، طول ریشه و نسبت ریشه به اندام هوایی گردید. کاربرد اسید سالیسیلیک و اسپرمین با افزایش تقسیم سلولی در ناحیه مرستم ریشه (Singh and Usha, 2003)، افزایش هورمون اکسین و جیبرلین و کاهش هورمون آبسزیک اسید (Hussein *et al.*, 2006) و افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و کاهش رادیکال های آزاد (Gunes *et al.*, 2007) باعث بهبود رشد و توسعه ریشه و اندام های هوایی گیاه می شود. دلیل افزایش طول، حجم و سایر صفات ریشه و به طور کلی رشد گیاه در اثر کاربرد اسید سالیسیلیک به تأثیر مثبت آن بر فتوسنتز خالص و افزایش فعالیت آنزیم های نیترات ردوکتاز و کربنیک آنهیدراز نیز ارتباط داده شده است (El-Tayeb, 2005). رضوانی پور و همکاران (۱۳۹۵) در آزمایشی دریافتند که محلولپاشی پلی آمین ها (پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین) در گیاه فریزيا باعث افزایش قابل توجهی در تعداد، قطر و وزن ریشه و همچنین موجب افزایش رشد عمومی می شود. در واقع پلی آمین ها به عنوان منبع نیتروژنی، در تقسیم و بزرگ شدن سلول ها نقش داشته و باعث تحریک رشد گیاه می شوند (Youssef *et al.*, 2004). نتایج فوق با نتایج بدست آمده برای گیاهان سیب زمینی (Mader, 1999)، نیمفوتیدس پلتاتام (*Nymphoides peltatum*) (Wang *et al.*, 2006)، صنوبر (Habba *et al.*, 2016) و گلابول (Kumar *et al.*, 2011) مطابقت دارد.

چگالی وزنی و سطحی ریشه: تأثیر رژیم آبیاری و

محلولپاشی گیاهان با اسید سالیسیلیک و اسپرمین بر چگالی ریشه و چگالی سطحی ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۱). تحت رژیم های آبیاری ۴۰ و ۶۰ درصد تخلیه رطوبت نسبت به شاهد چگالی ریشه به ترتیب ۲۲، ۲۴ و چگالی سطحی ریشه ۴۲ و ۹۵ درصد افزایش یافت (جدول ۲). محلولپاشی اسید سالیسیلیک با غلظت ۱۵۰ میلی گرم و محلولپاشی توأم اسید سالیسیلیک با اسپرمین موجب افزایش ۴ درصدی چگالی ریشه و محلولپاشی توأم

تحقیقات دو ساله خود با اعمال تیمارهای تنش خشکی در سه مرحله رشدی (گل‌دهی، تشکیل بذر و در هر دو مرحله گل‌دهی و تشکیل بذر) بر گیاه سرخارگل دریافتند که وزن ریشه در تیمارهای تنش خشکی در فصل دوم رشد نسبت به فصل اول به ترتیب ۴۰، ۴۸ و ۱۰۸ درصد افزایش یافت که بیانگر تحریک رشد ریشه در شرایط تنش می‌باشد. محلولپاشی اسید سالیسیلیک و اسپرین به‌عنوان یک سازوکار دفاعی باعث افزایش وزن خشک ریشه و اندام‌های هوایی گیاه می‌شود. به نظر می‌رسد اسید سالیسیلیک با افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو و بهبود فتوسنتز و همچنین جذب بیشتر عناصر، سبب بهبود رشد ریشه و اندام هوایی تحت تنش خشکی می‌شود (Popova et al., 2009). همچنین کاربرد پلی‌آمین‌ها، تحت شرایط تنش کم‌آبی باعث فعال‌سازی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گردید (اکبری و همکاران، ۱۳۹۶) و از این طریق ضمن جلوگیری از تخریب پروتئین‌ها و پراکسیداسیون غشاء، تحمل به کم‌آبی را در گیاه افزایش داده (Farooq et al., 2009) و بهبود وزن ریشه و اندام‌های هوایی گیاه پنبه (Abdel-Wahed, 2006) و گلابول (Abdel Aziz Nahed et al., 2009) را به همراه داشت.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج بدست آمده در شرایط تنش خشکی به‌علت تنش اکسیداتیو میزان رشد و تولید ماده خشک گیاه سرخارگل کاهش یافت. در چنین شرایطی گیاهان برای جذب بیشتر آب، مواد فتوسنتزی را به نسبت بیشتری به ریشه انتقال داده و موجب بهبود خصوصیات ریشه (طول، سطح، حجم و وزن) شده که در نتیجه آن نسبت وزن ریشه به اندام‌های هوایی نیز افزایش یافته است. در این راستا به نظر می‌رسد افزایش تولید ترکیبات فنولی به‌عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در جهت کاهش اثرات منفی تنش در گیاهان عمل نموده است. در این میان محلولپاشی اسید سالیسیلیک و اسپرین به‌عنوان یک مکانیسم دفاعی تا حدود زیادی اثرات مضر تنش کم‌آبی بر گیاه را کاهش داده و موجب بهبود اکثر شاخص‌های اندازه‌گیری شده

اندام هوایی (۸۶ درصد) در تیمار محلولپاشی توأم غلظت بالای اسید سالیسیلیک با اسپرین بدست آمد.

تأثیر برهمکنش رژیم آبیاری و محلولپاشی بر وزن خشک ریشه و نسبت وزن ریشه به اندام هوایی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). با اعمال تنش آب بیشترین میزان افزایش در وزن خشک ریشه در سطح ملایم (۱۷۷ درصد) و شدید تنش آب (۲۴۵ درصد) در تیمار بدون محلولپاشی بدست آمد (جدول ۳). در اثر محلولپاشی اسید سالیسیلیک و اسپرین وزن خشک ریشه در کلیه سطوح رطوبتی افزایش یافت (به استثنای تیمارهای کاربرد اسید سالیسیلیک و اسپرین به‌تنهایی در شرایط تنش ملایم آب که این افزایش معنی‌دار نبود). بیشترین کاهش در هر سه رژیم رطوبتی در اثر محلولپاشی توأم اسید سالیسیلیک با اسپرین بدست آمد و میزان افزایش در وزن خشک ریشه در سطح شدید تنش (۴۸ درصد) بیشتر بود.

نتایج آزمایش حاضر نشان داد که تنش خشکی نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی را در گیاهان افزایش می‌دهد. این افزایش در شرایط تنش خشکی، به تخصیص بیشتر مواد فتوسنتزی به ریشه‌ها در جهت جذب بیشتر آب از خاک نسبت داده می‌شود (Leport et al., 2006; Krishnamurthy et al., 2003). از آنجایی که نسبت بالاتر ریشه به اندام هوایی تا حدود زیادی توان گیاه را برای افزایش تحمل به خشکی بهبود می‌بخشد، لذا اغلب محققین این نسبت را به‌عنوان معیار مناسبی برای گزینش ژنوتیپ‌های مقاوم به تنش معرفی می‌کنند (Hussain et al., 2000). چنانچه در آزمایش پیرنجم الدین و همکاران (۱۳۹۲) داشتن سیستم ریشه ای مطلوب به عنوان یکی از سازوکارهای اجتناب و تحمل خشکی ژنوتیپ‌های فسکیوی بلند معرفی شد که می‌تواند در مطالعات اصلاحی گیاه به کار گرفته شود. در شرایط تنش خشکی، آبسزیک اسید با ایجاد تغییراتی در روند رشدی گیاه و از طریق بسته نگه‌داشتن روزنه‌ها، تحریک رشد ریشه و کاهش رشد اندام‌های هوایی، باعث افزایش نسبت ریشه به اندام هوایی می‌شود (Turner et al., 2001). Gray و همکاران (۲۰۰۳) در

در گیاه سرخارگل گردیده است.

منابع

- اکبری، ع.، خادمی، الف.، شرفی، ی. و طباطبایی، س. ج. (۱۳۹۶) اثر تیمار پوترسین بر میوه توت فرنگی رقم کاماروسا تحت شرایط تنش شوری ناشی از کلرید سدیم، به زراعی کشاورزی ۱۹: ۱۴۷-۱۶۱.
- امیری، الف.، سیروس مهر، ع. ر. و اسماعیل زاده بهابادی، ص. (۱۳۹۴) اثر محلولپاشی اسید سالیسیلیک و کیتوزان بر عملکرد گیاه گلرنگ در شرایط تنش خشکی، مجله پژوهشهای گیاهی ۲۸: ۷۱۵-۷۲۵.
- پیر نجم الدین، ف.، مجیدی، م. م. و کیانی، ر. (۱۳۹۲) واکنش خصوصیات سیستم ریشه‌ای و عملکرد ژنوتیپ‌های فسکیوی بلند (*Festuca arundinacea*) در شرایط تنش رطوبتی، فرآیند و کارکرد گیاهی ۲: ۴۱-۴۸.
- رضوانی‌پور، ش.، حاتم زاده، ع.، الهی‌نیا، س. ع. و اصغری، ح. ر. (۱۳۹۵) تأثیر پلی‌آمین‌های خارجی بر رشد، گل‌دهی و تولید پدازه در ارقام Golden Wave و Blue Sea فریزیا، علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای ۷: ۶۳-۷۵.
- زل آلواتان، ح. (۱۳۹۲) اثر کاربرد خاکی هیومیک اسید و محلولپاشی سالیسیلیک اسید بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیک و فیتوشیمیایی گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea purpurea* (L.) Moench). پایان نامه کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشگاه شیراز.
- صفی‌خانی، ق.، حیدری شریف آباد، ح.، سیادت، س. ع.، شریفی عاشورآبادی، الف.، سیدنژاد، س. م. و عباس‌زاده، ب. (۱۳۸۶) تأثیر تنش خشکی بر عملکرد و صفات مورفولوژیک گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.)، تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۳: ۱۸۳-۱۹۴.
- عبدالشاهی، ر.، طالعی، ع.، امیدی، م. و یزدی صمدی، ب. (۱۳۸۹) مطالعه ویژگی‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیک وابسته به تحمل به خشکی در گندم نان. مجله علوم گیاهان زراعی ایران ۲: ۲۴۷-۲۵۸.
- عسکری، الف. (۱۳۹۳) بررسی اثر رژیم رطوبتی و اسید سالیسیلیک بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیک، عملکرد، اسانس و مواد مؤثره جمعیت‌های رازیانه. رساله دکتری زراعت، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه صنعتی اصفهان.
- کافی، م.، زند، الف.، کامکار، ب.، مهدوی دامغانی، ع. م.، عباسی، ف. و شریفی، ح. ر. (۱۳۸۸) فیزیولوژی گیاهی. (ترجمه). انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. مشهد.
- Abdel Aziz Nahed, G., Taha Lobna, S. and Ibrahim Soad, M. M. (2009) Some studies on the effect of putrescine, ascorbic acid and thiamine on growth, flowering and some chemical constituents of gladiolus Plants at Nubaria. *Ozean Journal of Applied Sciences* 2: 169-179.
- AbdEl-Wahed, M. S. A. (2006) Exogenous and endogenous polyamines relation to growth, α -cellulose precipitation in fibres productivity of cotton plant. *World Journal of Agricultural Science* 2: 139-148.
- Aerts, R. and Chapin, F. S. (1999) The mineral nutrition of wild plants revisited: re-evaluation of processes and patterns. *Advances in Ecological Research* 30: 1-67.
- Allen, R. G., Pereira, L. S., Raes, D. and Smith, M. (1998) Crop evapotranspiration-guidelines for computing crop water requirements. *Irrigation and Drainage* 12: 1-15.
- Amiri, H., Ismaili, A. and Hosseinzadeh, S. R. (2017) Influence of vermicompost fertilizer and water deficit stress on morpho-physiological features of chickpea (*Cicer arietinum* L. cv. karaj). *Compost Science and Utilization* 26:1-14.
- Askari, E. and Ehsanzadeh, P. (2015) Drought stress mitigation by foliar application of salicylic acid and their interactive effects on physiological characteristics of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) genotypes. *Acta Physiologiae Plantarum* 37:2-14.
- Asseng, S., Ritchie, J. T., Smucker, A. J. M. and Robertson, M. J. (1998) Root growth and water uptake during water deficit and recovering in wheat. *Plant and Soil* 201: 265-273.
- Attila Tatrai, Z., Sanoubar, R., Pluhar, Z., Mancarella, S., Orsini, F and Gianquinto, G. (2016) Morphological and physiological plant Responses to drought stress in thymus citriodorus. *International Journal of Agronomy* 12:1-8.

- Basu, S., Ramegowda, V., Kumar, A. and Pereira, A. (2016) Plant adaptation to drought stress. *F1000Research* 5:1554-1560.
- Blumenthal, M., Lindstrom, A., Lynch, M. E. and Rea, P. (2011) Herb sales continue growth up 3.3% in 2010. *Herbal Gram* 90:64-67.
- Bouchereau, A., Aziz, A., Lahrer, F. and Martin-Tanguy, J. (1999) Polyamines and environmental challenges: recent development. *Plant Sciences* 140:103-125.
- Boudet, A. M. (2007) Evolution and current status of research in phenolic compounds. *Journal of Phytochemistry* 68: 2722-2735.
- Bourgou, S., Kchouk, M. E., Bellila, A. and Marzouk, B. (2010) Effect of salinity on phenolic composition and biological activity of *Nigella sativa*. *Journal of Acta Horticulture* 853:57-60.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of micro gram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Chattopadhyay, M. K., Tiwari, B. S., Chattopadhyay, G., Bose, A., Sengupta, D. N. and Ghosh, B. (2002) Protective role of exogenous polyamines on salinity-stressed rice (*Oryza sativa*) plants. *Physiologia Plantarum* 116:192-199.
- Cheon Chae, S. (2016) Shoot organogenesis of *Echinacea angustifolia* DC as influenced by polyamines. *Life Science Journal* 13:16-19.
- Costa, M., Civell, P. M., Chaves, A. R. and Martinez, G. A. (2005) Effects of ethephon and 6-benzylaminopurine on chlorophyll degrading enzymes and a peroxidase-linked chlorophyll bleaching during post-harvest senescence of broccoli (*Brassica oleracea* L.) at 20°C. *Postharvest Biology and Technology* 35: 191-199.
- Couee, I., Hummel, I., Sulmon, C., Gouesbet, G. and EL- Amrani, A. (2004) Involvement of polyamines in root development. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 76: 1-10.
- Dianat, M., Saharkhi, M. J. and Tavassolian, I. (2016) Salicylic acid mitigates drought stress in *Lippia citriodora* L.: Effects on biochemical traits and essential oil yield. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 8:286-293.
- Dong, J., Wand, G. and Liang, Z. (2010) Accumulation of salicylic acid-induced phenolic compounds and raised activities of secondary metabolic and antioxidative enzymes in *Salvia miltiorrhiza* cell culture. *Journal of Biotechnology* 148: 99-104.
- Du, G., Li, M., Ma, F. and Liang, D. (2009) Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and Vitamin C in *Actinidia* fruits. *Food Chemistry* 113: 557-562.
- El-Esawi, M. A., Elansary, H. O., El-Shanhorey, N. A., Abdel-Hamid, A. M., Ali, H. M and Elshikh, M. S. (2017) Salicylic acid-Regulated antioxidant mechanisms and gene expression enhance rosemary performance under saline conditions. *Frontiers in Physiology* 21: 716-720.
- El-Tayeb, M. A. (2005) Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulators* 45: 215-225.
- Farahbakhsh, H and Shamsaddin Saaid, M. (2011) Effect of seed priming with NaCl on maize germination under different saline conditions. *African Journal of Agricultural Research* 66095-6099.
- Faraji-Mehmany, A., Esmailpour, B., Sefidkon, F., Khorramdel, S. (2016) Effects of foliar spraying with salicylic acid and putrescine on growth characteristics and yield of summer savory (*Satureja hortensis* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research* 14: 73-85.
- Farhangi-Abriz, S. and Ghassemi-Golezani, K. (2016) Improving amino acid composition of soybean under salt stress by salicylic acid and jasmonic acid. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 89: 243-248.
- Farooq, M., Shahzad, M. A., Basra, H. and Rehman, M. (2008) Seed priming with Polyamines improves the germination and early seedling growth in fine rice. *Journal of New Seed* 9:145-155.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra, S. M. (2009) Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development* 29: 185-212.
- Ganjeali, A., Kafi, M. Bagheri, A. and Shahriyari, F. (2004) Allometric relationship between root and shoot characteristics of chickpeas seedling (*Cicer arietinum* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research* 18: 67-80.
- Gray D. E., Pallardy, S. G., Garrett, H. E. and Rottinghaus, G. E. (2003) Acute drought stress and plant age effects on alkalamide and phenolic acid content in purple coneflower roots. *Planta Medica* 69: 50-55.
- Gunes, A., Inal, A., Alpaslan, M., Eraslan, F., Bagcl, E. G. and Cicek, N. (2007) Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) grown under salinity. *Journal of Plant Physiology* 164: 728-736.
- Gutierrez-Corronado, M. A., Trejo-Lopez, C. and Larque-Saavedra, A. (1998) Effects of salicylic acid on the growth of roots and shoots in soybean. *Plant Physiology and Biochemistry* 38: 563-565.
- Habba, E., EL- Abdel Aziz, N. G., Sarhan, A. M. Z., Arafa, A. M. S. and Youssef, N. M. (2016) Effect of putrescine and growing media on vegetative growth and chemical constituents of populus euramericana plants. *Journal of Innovations in pharmaceuticals and Biological Sciences* 3: 61-73.

- Hajabbasi, M. A. (2001) Tillage effects on soil compactness and wheat root morphology. *Journal of Agricultural Science and Technology* 3: 67-77.
- Hajar, A. S., Khafagi, O.A. and Ibrahim, S. M. (1997) Response of grain sorghum to water deficit. *Alexandrian Journal of Agricultural Researches* 42: 37-47.
- Hamada, A. M. and Al-Hakimi, A. M. A. (2001) Salicylic acid versus salinity-drought-induced stress on wheat seedlings. *Rostlina Vyroba* 47: 444-450.
- Haworth, M., Killi, D., Materassi, A., Raschi, A. and Centritto, M. (2016) Impaired stomatal control is associated with reduced photosynthetic physiology in crop species grown at elevated [CO₂]. *Front plant Science* 7: 1568-1572.
- Hosseinzadeh, S. R., Salimi, A. and Ganjeali, A. (2011) Effects of foliar application of methanol on morphological characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *Environmental stresses in crop science* 4: 139-150.
- Hsiao, T. C. (1973) Plant responses to water stress. *Annual Review of Plant Physiology* 24: 519-570.
- Hussain, M. M., Reid, J. B., Othman, H. and Gallagher, Y. N. (2000) Growth and water use of faba beans (*Vicia faba*) in a sub-humid climate. I. Root and shoot adaptation to drought stress. *Field Crop Research* 23: 1-17.
- Hussein, M., Nadia, M., EL-Geready, H. M. and EL-Desuki, M. (2006) Role of putrescine in resistance to salinity of pea plants (*Pisum sativum* L.). *Applied Science Research* 2: 598-604.
- Jaafar, H. Z., Ibrahim, M. H. and Fakri, N. F. M. (2012) Impact of soil field water capacity on secondary metabolites, phenylalanine ammonia-lyase (PAL), malondialdehyde (MDA) and photosynthetic responses of Malaysian kacip fatimah (*Labisia pumila* Benth). *Molecules* 17: 7305-7322.
- Jajic, I., Sarna, T. and Strzalka, K. (2015) Senescence, stress, and reactive oxygen species. *Plants* 4:393-411.
- Jie, S., Xing-Zheng, F., Ting, P., Xiao-San, H., Qi-Jun, F. and Ji-Hong, L. (2010) Spermine pretreatment confers dehydration tolerance of citrus in vitro plants via modulation of antioxidative capacity and stomatal response. *Tree Physiology* 30: 914-922.
- Kabiri, R., Nasibi, F. and Farahbakhsh, H. (2014) Effect of exogenous salicylic acid on some physiological parameters and alleviation of drought stress in *nigella sativa* under hydroponic culture. *Journal of Plant Protection Science*, 50: 43-51.
- Kaur-awhney, R., Tiburcio, A., Altabella, T. and Galton, W. (2003) Polyamines in plants: An overview. *Journal of Cell and Molecular Biology* 2: 1-12.
- Kreft, S. (2005). Cichoric acid content and biomass production of *Echinacea purpurea* plants cultivated in Slovenia. *Pharmaceutical Biology* 43: 662-665.
- Khalil, S. E., Abd El- Aziz, N. G. and Abou-Leila, B. H. (2010) Effect of water stress and ascorbic acid on some morphological and biochemical composition of *Ocimum basilicum* plant. *Journal of American Science* 6: 33-44.
- Khan, A. S., Zora, S. and Abbasi, N. A. (2007) Pre-storage putrescine application suppresses ethylene biosynthesis and retards fruit softening during low temperature storage in Angelino plum. *Postharvest Biology and Technology* 46: 36-46.
- Kordi, S., Saidi, M. and Ghanbari, F. (2013) Induction of drought tolerance in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) by salicylic acid. *International Journal of Agricultural and Food Research* 2: 18-26.
- Krishnamurthy, L., Kashiwagi, J. and Upadhyaya, H. D. (2003) Genetic diversity of drought avoidance root traits in the minicore germplasm collection of chickpea. *International Chickpea and Pigeon pea Newsletters* 10: 21-24.
- Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, M., Grignon, C. and Abdely, C. (2007) Salinity effect on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritime*. *Journal of Plant Physiology and Biochemistry* 45: 244-248.
- Kumar, A., Palni, L. M. S. and Sood, A. (2011) Factors affecting in vitro formation of cormlets in *Gladiolus hybridus* Hort. and their field performance. *Acta Physiologiae Plantarum* 33: 509-515.
- Leport L., Turner N. C., French R. J., Barr M. D., Duda R. and Davies S. L. (2006) Physiological response of chickpea genotypes to terminal drought in a Mediterranean-type environment. *European Journal of Agronomy* 11: 279-291.
- Lobato, A. K. S., Oliveira Neto C. F., Santos Filho B. G., Costa R. C. L., Cruz F. J. R., Neves H. K. B. and Lopes, M. J. S. (2008) Physiological and biochemical behavior in soybean (*Glycine max* cv. Sambaiba) plants under water deficit. *Australian Journal Crop Science* 2: 25-32.
- Mader, J. C. (1999) Effects of jasmonic acid, silver nitrate and L-AOPP on the distribution of free and conjugated polyamines in roots and shoots of *Solanum tuberosum* in vitro. *Journal Plant Physiology* 154: 79-88.
- Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M. and Dietz, K. J. (2003) Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedling. *Plant Physiology* 132: 272-281.
- Meyers, K. J., Watkins, C. B., Pritts, M. P. and Hai-Liu, R. (2003) Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. *Agricultural and Food Chemistry* 51: 6887-6892.

- Michele, A., Douglas, T. and Frank, A. (2009) The effects of clipping and soil moisture on leaf and root morphology and root respiration in two temperate and two tropical grasses. *Plant Ecology* 200: 205-215.
- Munne-Bosch, S. and Alegre, L. (2004) Die and let live: leaf senescence contributes to plant survival under drought stress. *Functional Plant Biology* 31: 203-216.
- Nahed, G. A. A., Lobna, S. T. and Soad, M. M. I. (2009) Some studies on the effect of putrescine, ascorbic acid and thiamine on growth, flowering and some chemical constituents of gladiolus plants at Nubaria. *Ozean Journal of Applied Science* 2: 169-179.
- Nemeth, M., Janda, T., Hovarth, E., Paldi, E. and Szali, G. (2002) Exogenous salicylic acid increases polyamine content but may decrease drought tolerance in maize. *Plant Science* 162: 569-574.
- Newman, E. I. (1966) A method for estimating the total length of roots in a sample. *Journal of Applied Ecology* 3: 139-145.
- Osuagwu, G. G. E., Edeoga, H. O. and Osuagwu, A. N. (2010) The influence of water stress (drought) on the mineral and vitamin potential of the leaves *Ocimum gratissimum* L. *Recent Research in Science and Technology* 2: 27-33.
- Pacheco, A. C., Cabral, C., Fermino, E. S. and Aleman, C. C. (2013) Salicylic acid-induced changes to growth, flowering and flavonoids production in marigold plants. *Global Journal of Medicinal Plant Reserch*, 1:95-100.
- Popova, L. P., Maslenkova, L. T., Yordanova, R. Y., Ivanova, A. P., Krantev, A. P., Szalai, G. and Janda, T. (2009) Exogenous treatment with salicylic acid attenuates cadmium toxicity in pea seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry* 47: 224-231.
- Rabia, N., and asghari, B. (2013) Influence of exogenously applied salicylic acid and plant growth promoting rhizobacteria inoculation on the growth and physiology of sunflower (*Helianthus annuus* L.) under salt stress. *Pakistan Journal Botany* 45: 367-373.
- Rai, V. K., Sharma, S. S. and Sharma, S. (1986) Reversal of ABA-induced Stomatal closure by phenolic compounds. *Journal of Experimental Botany* 37: 129-34.
- Razali, N., Razab, R., Mat Junit, S. and Abdulaziz, A. (2008) Radical scavenging and reducing proper ties of extracts of cashew shoots (*Anacardium occidentale* L.). *Food Chemistry* 111: 38-44.
- Sabra, A., Daayf, F. and Renault, S. (2012) Differential physiological and biochemical responses of three Echinacea species to salinity stress. *Scientia Horticulturae* 135: 23-31.
- Safaei Nezhad, T., Mobasser, H. R., Dahmardeh, M. and karimian, M. (2014) Effect of foliar application of salicylic acid and drought stress on quantitative yield of mungbean (*Vigna radiata* L.). *Journal of Novel Applied Sciences* 3:512-515.
- Saki Nejad, T., Bakhshande, A., Boromand Nasab, S. and Payande, K. (2010) Effect of drought stress on corn root growth. *Report and Opinion* 2: 47-53.
- Schaller, G. and Kieber, J. (2002) Ethylene. *American Society Plant Biologists* 1-17.
- Serraj, R., Krishnamurthy, L., Kashiwagi, J., Kumar, J., Chandra, S. and Crouch, J. H. (2004) Variation in root traits of chickpea (*Cicer arietinum* L.) grown under terminal drought. *Field Crops Research* 88: 115-127.
- Setayesh Mehr, Z., khajeh, H., Esmaeilzadeh Bahabadi, S. and Sabbagh, S. Z. (2012) Changes on proline, phenolic compounds and activity of antioxidant enzymes in *Anethum graveolen* L. under salt stress. *International journal of Agronomy and Plant Production* 3: 710-715.
- Sharma, P. and Dubey, R. S. (2005) Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Growth Regulation* 46: 209-221.
- Sharma, P. and Shanker, R. (2005) Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Growth Regulation* 46: 209-221.
- Singh, B. and Ushu., K. (2003) Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. *Plant Growth Regulation* 39: 137-141.
- Sing, G., Sekhon, H. S. and Kolar, J. S. (2005) Pulses. *Agrotech Publishing Academy, Udaipur, India.*
- Takeda, T., Yokota, A. and Shigeoka, S. (1995) Resistance of photosynthesis to hydrogen peroxide in algae. *Plant Cell Physiology* 36: 1089-1095.
- Talaat, I. M. and Laila, K. (2010) Physiological response of sweet basil plants (*Ocimum basilicum* L.) to Putrescine and Trans-Cinnamic Acid. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences* 8: 438-445.
- Tomaszewski, M. and Thimman, K. V. (1966) Interaction of phenolic acids, metallic ions and chelating agents on auxin induced growth. *Plant physiology* 41: 1443 – 1454.
- Tourchi, M., Shaikh, F., Valizadeh, M., Shakiba, M. and Pasbane Eslam, B. (2005) Relationship between root morphological characters and resistance to water deficit in some canola genotypes. *Journal of Agricultural Science* 15: 15-26.
- Tsai, Y. L., Chiou, S. Y., Chan, K. C. and Sung, J. M. (2012) Caffeic acid derivatives, total phenols, antioxidant and antimutagenic activities of Echinacea purpurea flower extracts. *LWT-Food Science and Technology* 46: 169-176.

- Turkan, I., Bor, M., oyzdemir, F. and Koca, H. (2005). Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought tolerant *P. acutifolius* gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Science* 168:223–231.
- Turner, N. C. (1986) Adaptation to water deficit: A changing perspective. *Australian Journal of Plant Physiology* 13: 175-190.
- Turner, N. C., Wright, G. C. and Siddique, K. H. M. (2001) Adaptation of grain legumes (Pulses) to water-limited environments. *Advance Agronomy* 71: 123-231.
- Uga, Y., Sugimoto, K., Ogawa, S., Rane, J., Ishitani, M., Hara, N., Kitomi, Y., Inukai, Y., Ono, K. and Kanno, N. (2013) Control of root system architecture by DEEPER ROOTING 1 increases rice yield under drought conditions. *Nature Genetic* 45: 1097–1102.
- Vogt, T. (2010) Phenylpropanoid biosynthesis. *Molecular Plant* 3: 2-20.
- Waraich, E. A., Amad, R., Ashraf, M. Y., Ahmad, M. (2011) Improving agricultural water use efficiency by nutrient management. *Acta Agriculturae Scandinavica* 61: 291–304.
- Wang, X., Shi, G., Xu, Q. and Hu, J. (2006) Exogenous polyamines enhance copper tolerance of nymphoides pelta. *Journal of Plant Physiology* 10: 1016–1023.
- Youssef, A. A., Mahgoub, M. H. and Talaat, M. (2004) Physiological and biochemical aspects of matthiola incana plants under the effect of putrescine and kinetin treatments. *Egyption Journal of Basic and Applied Sciences* 19: 492-510.
- Zhang, W., Cao, Z., Xie, Zhicai., Lang, D., Zhou, L., Chu, Y., Zhao, Q., Zhang, X., and Zhao, Y. (2017) Effect of water stress on roots biomass and secondary metabolites in the medicinal plant *Stellaria dichotoma* L. var. lanceolata Bge. *Scientia Horticulturae* 224: 280-285.

Effects of Foliar Application of Salicylic Acid and Spermine on the Growth and Root Morphological Characteristics of Purple Coneflower (*Echinacea purpurea* L.) Under Drought Stress

Hakimeh Darvizheh¹, Morteza Zahedi^{1*} and Bohlol Abbaszadeh²

¹Department of Agronomy and Plant breeding, Collage of Agriculture, Isfahan University of Technology, Esfahan, ²Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran

(Received: 31/10/2017, Accepted: 17/02/2018)

Abstract

In order to study the effects of water deficit and foliar application of salicylic acid and spermine on dry matter production and biochemical and morphological traits of *Echinacea purpurea*, a split plot experiment was conducted based on randomized complete block design with three replications during 2016- 2017 growing seasons at research field of Institute of Forests and Rangelands, Iran. In this experiment, irrigation regimes of three levels (irrigation after 20, 40 and 60% depletion of soil available water) were considered in main plots and salicylic acid (SA) and spermine (SPM) spray treatments (75 mg/l SA, 150 mg/l SA, 75 mg/l SPM, 75 mg/l SA+75 mg/l SPM and 150 mg/l SA+75 mg/l SPM) were considered as sub plots. The effects of irrigation regime and spray treatments were significant on the studied traits. Water stress increased phenol, flavonoid, root length, volume, area, weight and density but decreased plant height, number of tillers, leaf area index, shoot weight, specific root length and protein. The application of salicylic acid and spermine increased plant height, number of tillers, leaf area index, flavonoid, root volume, root weight and protein but decreased phenol, shoot weight root length. The interactions between water deficit and foliar application were significant on the concentration of phenol and flavonoid in shoot and also on root length, volume, weight and density. The highest flavonoid, root volume and root weight were obtained in plants sprayed by combined applications of high rate of SA with SPM and the highest phenol, root length and root density were achieved in unsprayed plants; both under irrigation after 60% water depletion. Based on the results from this experiment, the foliar application of salicylic acid and spermine improved the growth of coneflower plants under both normal and water stress conditions and the positive effects of salicylic acid were greater as compared with spermine.

Keywords: Salicylic acid, Spermine, Water stress, Biomass production, Root parameters.

*Corresponding author, Email: mzahedi@cc.iut.ac.ir