

## Changes in total phenol content, photosynthetic pigments and gas exchange of dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) in response to different concentrations of abscisic acid and three moisture regimes

Vahideh Khaleghnezhad<sup>1\*</sup>, Alireza Yousefi<sup>2</sup>, Afshin Tavakoli<sup>2</sup>, Bahman Farajmand<sup>3</sup>

1,2. Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, University of Zanjan, Iran.

3. Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Zanjan, Iran.

(Received: October 2, 2020 - Accepted: January 21, 2021)

### ABSTRACT

Drought is the major cause of yield reduction in the arid and semi-arid regions. Abscisic acid (ABA) plays a crucial role in the responses of plants to environmental stresses such as drought. This experiment was carried out as split plot based on complete random block design at research farm of University of Zanjan, during 2016 growth season to evaluate the effect of drought and ABA on total phenol content and some physiological traits of dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.). Three moisture regimes (well-watered, moderate drought with delay irrigation up to -0.8MPa and severe drought with delay irrigation up to -1.5MPa) were the main plots and five ABA concentrations (0, 5, 10, 20 and 40  $\mu$ M) were subplots. The effect of moisture regimes, ABA and their interaction were significant for the studied traits. Without ABA application, drought stress reduced the plant total chlorophyll content, photosynthesis, stomatal conductance, mesophilic conductivity and transpiration. ABA application reduced the studied gas exchange traits. Overall, ABA decreased physiological parameters and seed yield by intensifying the drought stress effect. According to the results, without ABA application, moderate and severe drought conditions increased the total phenol content compared to the irrigation condition and application of ABA increased the total phenol content under moderate and severe drought conditions. Since the most active substance in dragonhead is phenolic compounds, it seems that the plant total phenol content can be increased by applying drought condition and ABA application.

**Keywords:** Carotenoid, chlorophyll, mesophyll conductance, photosynthesis, seed yield.

### تغییر محتوای فنول کل، رنگدانه‌های فتوستتزی و تبادلات گازی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) در پاسخ به غلظت‌های مختلف هورمون آبسزیک اسید در سه رژیم رطوبتی

وحیده خالق نژاد<sup>۱\*</sup>، علیرضا یوسفی<sup>۲</sup>، افشین توکلی<sup>۲</sup>، بهمن فرجمند<sup>۳</sup>

۱ و ۲. دکتری، دانشیار و استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

۳. استادیار، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۷/۱۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۲)

### چکیده

خشکی یکی از مهم‌ترین دلایل کاهش عملکرد در نواحی خشک و نیمه‌خشک می‌باشد. آبسزیک اسید (ABA) یکی از هورمون‌های گیاهی است که نقش مهمی در پاسخ گیاهان در برابر تنش‌های محیطی مانند خشکی ایفا می‌کند. جهت ارزیابی اثر تنش خشکی و کاربرد ABA بر محتوای کل فنول و برخی صفات فیزیولوژیکی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.)، آزمایشی به صورت کرت‌های خردشده و بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در بهار سال ۱۳۹۵ در مزرعه پژوهشی دانشگاه زنجان اجرا شد. در این آزمایش، آبیاری در سه سطح (آبیاری مطلوب، تنش خشکی ملایم با پتانسیل آبی ۰/۸- مگاپاسکال و تنش خشکی شدید با پتانسیل آبی ۱/۵- مگاپاسکال) در کرت‌های اصلی و هورمون ABA در پنج سطح (صفر، پنج، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میکرومولار) در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. اثر سطوح آبیاری، هورمون ABA و نیز اثر متقابل این دو بر صفات مورد مطالعه معنی‌دار بود. در شرایط عدم کاربرد ABA، تنش خشکی موجب کاهش محتوای کلروفیل و نیز کاهش سرعت فتوستتزی، هدایت روزنه‌ای، هدایت مزوفیلی و تعرق گیاه شد. کاربرد ABA، صفات مرتبط با تبادلات گازی را کاهش داد. به‌طور کلی ABA با تشدید اثر تنش خشکی، موجب کاهش پارامترهای فیزیولوژیکی و کاهش عملکرد دانه شد. بر اساس نتایج و در شرایط عدم کاربرد ABA، تنش خشکی محتوای فنول کل گیاه را افزایش داد و کاربرد این هورمون در شرایط تنش خشکی ملایم و شدید، موجب افزایش محتوای فنول کل شد. بیشترین ترکیبات موثر بادرشبو، ترکیبات فنولی هستند و به نظر می‌رسد که اعمال تنش خشکی و کاربرد ABA می‌تواند محتوای فنول کل گیاه را افزایش دهد.

**واژه‌های کلیدی:** عملکرد دانه، فتوستتزی، کاروتنوئید، کلروفیل، هدایت مزوفیلی.

## مقدمه

خشکی یکی از مهم‌ترین موانع تولیدات گیاهی در جهان است (Van et al., 2017). باید توجه داشت که تنش خشکی، کشاورزی و امنیت غذایی را به‌خصوص در مناطقی که برای تأمین آب مورد نیاز در کشاورزی متکی به بارندگی هستند، تحت تأثیر قرار می‌دهد (Jha & Srivastava, 2018). ایران کشوری است که در منطقه خشک و نیمه‌خشک واقع شده است؛ بنابراین محصولات کشاورزی به‌طور قطع حداقل در بخشی از دوره رشدی خود با تنش‌های خشکی ملایم و یا شدید مواجه خواهند شد. به‌منظور حفظ عملکرد و متابولیسم مناسب، گیاهان مکانیسم‌های فیزیولوژیک را برای حفظ فشار تورژانس بافت‌ها و گشودگی روزنه‌ها برای حصول حداکثر کارایی فتوسنتزی اتخاذ می‌کنند (Viger et al., 2016).

عموماً زمانی که تنش خشکی افزایش می‌یابد، هدایت روزنه‌ای و فتوسنتز خالص کم می‌شود (Singh & Reddy, 2011). کاهش هدایت روزنه‌ای باعث کاهش غلظت دی‌اکسیدکربن درون برگ می‌شود و نهایتاً غلظت دی‌اکسیدکربن در محل کربوکسیلاسیون ریبولوز-۱، ۵- بیس فسفات (RuBP) کربوکسیلاز/اکسیژناز (رابیسکو) کاهش می‌یابد و سرعت فتوسنتز را نیز کم می‌کند (Carmo-Silva et al., 2017). هم‌چنین بسته شدن روزنه‌ها، با محدود کردن تعرق گیاه، کارایی مصرف آب (WUE) را نیز بهبود می‌بخشد و به‌صورت غیرمستقیم تولیدات گیاهی را در شرایط تنش خشکی تحت تأثیر قرار می‌دهد (Shi et al., 2019). بنابراین بررسی پارامترهای تبادلات گازی مانند هدایت روزنه‌ای، سرعت تعرق و فتوسنتز، غلظت دی‌اکسیدکربن درون سلولی و کارایی مصرف آب گیاه، می‌تواند تحمل به خشکی گیاه را ارزیابی کند (Erice et al., 2011). به‌علاوه اندازه‌گیری پارامترهای فیزیولوژیک مانند غلظت کلروفیل، یکی از راه‌های مطالعه اثر تنش خشکی بر رشد و تولید گیاه است (Morgun et al., 2019). تنش خشکی می‌تواند مسیرهای بیوشیمیایی در سلول‌های گیاهی را نیز تحت تأثیر قرار دهد

(Idhan et al., 2018). بالاترین میزان کلروفیل و کاروتنوئید در گیاهان متحمل به تنش خشکی دیده می‌شود (Mathobo et al., 2017). هورمون آبسزیک اسید یا ABA نقش مهمی در تنظیم پاسخ سازگاری گیاهان به بسیاری از تنش‌های محیطی مانند خشکی (Lv et al., 2017)، شوری (Amjad et al., 2014) و دمای پایین (Vishwakarma et al., 2017) ایفا می‌کند. این هورمون در ریشه‌ها تولید می‌شود و سپس به برگ‌ها انتقال می‌یابد. آبسزیک اسید خارجی به‌راحتی توسط گیاه جذب می‌شود و اغلب به‌صورت محرک اثرات تنش آب عمل می‌کند؛ از این رو، به‌عنوان هورمون تنش در نظر گرفته می‌شود (Cai et al., 2017). آبسزیک اسید اثر سریعی بر بسته شدن روزنه‌ها دارد و باعث کاهش هدایت روزنه‌ای می‌شود (Hosy et al., 2003). درواقع آبسزیک اسید به دو شکل فتوسنتز را در برگ‌ها تحت تأثیر قرار می‌دهد؛ یک، از طریق بستن روزنه‌ها و کاهش در فراهمی دی‌اکسیدکربن، دو: از طریق تأثیر بر دستگاه فتوسنتزی. در پاسخ اول، هنگامی که روزنه‌ها بسته می‌شوند، فتوسنتز از طریق کاهش دسترسی سلول به دی‌اکسیدکربن کاهش می‌یابد، تا زمانی که پاسخ دوم یا اثرات غیر روزنه‌ای آبسزیک اسید بروز کند و موجب کاهش سرعت فتوسنتز شود. این اثرات ثانویه اغلب به دلیل نقشی که آبسزیک اسید در تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) دارد (Li et al., 2010)، به‌صورت کاهش تولید کلروفیل و افزایش تخریب کلروفیل (Pospíšilová et al., 2009) و نیز آسیب به غشای سلولی (Duan et al., 2007) بروز می‌کند.

ترکیبات فنولی شامل فلاونوئیدها، آنتوسیانین، لیگنین و غیره، مهم‌ترین دسته از متابولیت‌های ثانویه هستند که نقش‌های متفاوتی در مقاومت به تنش‌های زنده و غیرزنده دارند (Chen & Lin, 2007). این ترکیبات در تمام اندام‌های گیاهی حضور دارند، اما توزیع آن‌ها در بافت و سلول‌های گیاه یکنواخت نیست (Brglez Mojzer et al., 2016). ترکیبات فنولی،

نقش‌های زیستی متفاوتی را در گیاه ایفا می‌کنند؛ به‌عنوان مثال، حضور پلی‌فنول‌ها برای رشد مطلوب، توسعه و تولیدمثل گیاه ضروری است. همچنین فنول‌ها به‌عنوان سیستم‌های دفاعی از گیاهان در برابر حملات پاتوژن‌ها محافظت می‌کنند (Dai & Mumper, 2010; Asensi *et al.*, 2011).

محتوای ترکیبات ثانویه گیاه، تحت تأثیر عوامل مختلف محیطی، مورفولوژیک، آنتاگونیستی و ژنتیکی قرار می‌گیرد که در این بین، اثر عوامل محیطی بسیار مهم‌تر است (Verma & Shukla, 2015). مطالعات نشان داده است که تنش خشکی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی می‌تواند اثرات مثبتی بر بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان داشته باشد. افزایش بیوسنتز این ترکیبات می‌تواند منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و نیز مواد مؤثره داروها را افزایش دهد (Rebey *et al.*, 2012) و افزایش سطح متابولیت‌های ثانویه در گیاه می‌تواند موجب افزایش تحمل گیاه در شرایط تنش خشکی شود (Verma & Shukla, 2015). در مطالعات پیشین، محققان افزایش سطح متابولیت‌های ثانویه گیاهان مختلف را در شرایط تنش خشکی گزارش کرده‌اند که می‌توان به افزایش سطح ترکیبات فنولی در انگور (Król *et al.*, 2015)، افزایش محتوای فنول و فلاونوئید در بومادران (*Achillea* sp.) (Gharibi *et al.*, 2016) و گل داوودی (*Chrysanthemum* sp.) (Hodaei *et al.*, 2018) فنولی در زنیان (*Trachyspermum ammi* L.) (Azhar *et al.*, 2011) اشاره کرد.

### مواد و روش‌ها

شواهد زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد، آبسزیک اسید در بیان ژن‌های دخیل در بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه گیاه (Barickman *et al.*, 2014) و نیز در تغییر محتوای آن‌ها (Wang *et al.*, 2015) نقش مهمی ایفا می‌کند. گزارش‌های زیادی حاکی از افزایش سنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان تیمار شده با آبسزیک اسید است (Wang *et al.*, 2011). افزایش محتوای برخی از ترکیبات فنولی مانند آنتوسیانین‌ها بر اثر کاربرد خارجی آبسزیک اسید، در مطالعات پیشین توسط محققان گزارش شده است (Gu *et al.*, 2008).

برای انجام این مطالعه، آزمایشی به‌صورت کرت‌های خردشده و در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۵ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان با موقعیت جغرافیایی عرض ۳۶ درجه و ۷۰ دقیقه شمالی و طول ۴۸ درجه و ۳۵ دقیقه شرقی و ارتفاع ۱۶۳۴ متری از سطح دریا، به اجرا درآمد. میانگین دما و بارش ۳۰ ساله در این منطقه به‌ترتیب ۱۱ درجه سانتی‌گراد و ۲۹۳ میلی‌متر گزارش شده است.

در این آزمایش، آبیاری در سه سطح (آبیاری مطلوب،

کشت مهیا گشت. بذور بادرشبو (درصد خلوص ۹۵ درصد، قوه نامیه ۹۰ درصد و وزن هزار دانه ۱/۵ گرم) با فاصله بین ردیف ۳۰ سانتی‌متر و روی ردیف ۱۰ سانتی‌متر کشت شدند و تراکم نهایی ۳۰ بوته در مترمربع به‌دست آمد.

تنش ملایم و تنش شدید) در کرت‌های اصلی و هورمون آبسزیک اسید در پنج سطح (صفر، پنج، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میکرومولار) در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. برخی ویژگی‌های مرتبط با خاک مزرعه محل انجام آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است. زمین محل اجرای آزمایش قبل از کاشت شخم زده شد و برای

جدول ۱- برخی ویژگی‌های مرتبط با خاک محل اجرای آزمایش.

Table 1- Some soil properties of the experimental field.

(mg/kg) K	(mg/kg) P	N (%)	Organic matter content (%)	Electrical conductivity (dS/m)	pH	Soil texture
156	8.4	0.2	1.75	1.2	7.32	Sandy loam

کشت) شد، محلول‌پاشی برگی آبسزیک اسید صورت گرفت. جهت اطمینان از جذب کافی، محلول‌پاشی با آبسزیک اسید سه مرتبه و به فاصله سه روز یک‌بار و برای جلوگیری از آسیب هورمون توسط نور شدید در ساعات پایانی روز صورت گرفت. نمونه‌برداری از گیاه، مصادف با رسیدن خاک به پتانسیل‌های آبی مورد نظر بود و پس از رسیدن به این پتانسیل‌ها و اتمام نمونه‌برداری از گیاه، مجدداً اقدام به آبیاری کرت‌ها شد. منحنی رطوبتی مزرعه در شکل ۱ آورده شده است.

#### صفات مورد مطالعه

#### اندازه‌گیری محتوای فنول کل

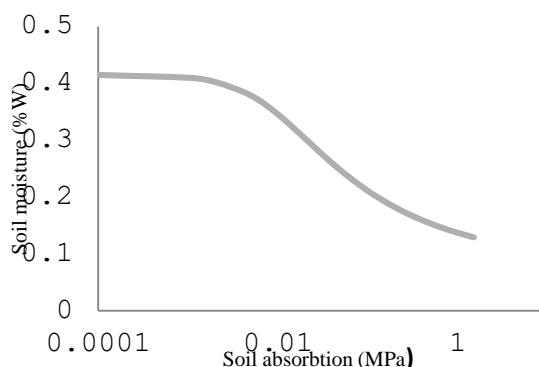
برای تعیین محتوای فنول کل در اواسط مرحله گلدهی، از روش فولین-سیوکالتئو<sup>۱</sup> استفاده شد (Meda et al., 2005). برای این کار، ۰/۵ گرم نمونه برگ در پنج میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد ساییده و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس به محلول حاصل از سانتریفیوژ، ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین-سیوکالتئو و ۱/۱۶ میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافه شد. بعد از پنج الی هشت دقیقه استراحت، ۳۰۰ میکرو لیتر کربنات سدیم (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)، افزوده شد و پس از آن به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و حمام بخار ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در نهایت، مقدار جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (PerkinElmer-

در این آزمایش، سه سطح رطوبتی مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت: آبیاری مطلوب از زمان کشت بذر تا رسیدگی محصول، تنش ملایم تا رسیدن به پتانسیل آبی ۰/۸- مگاپاسکال و تنش شدید تا رسیدن به پتانسیل آبی ۱/۵- مگاپاسکال. بلافاصله بعد از کشت، آبیاری کرت‌ها به‌طور تقریبی هر پنج روز یک‌بار انجام شد. اعمال تنش خشکی با مشاهده جوانه گل (۶۰ روز پس از کشت) بر روی گیاه آغاز شد. برای تعیین درصدی از رطوبت خاک که در آن پتانسیل‌های آبی مورد نظر (۰/۸- و ۱/۵- مگاپاسکال) حاصل می‌شود، از منحنی رطوبتی خاک محل اجرای آزمایش استفاده شد (شکل ۱). برای این منظور، بعد از قطع آبیاری هر دو روز یک‌بار، نمونه‌برداری از عمق ۳۰ سانتی‌متری خاک و به‌صورت تصادفی صورت گرفت. ابتدا نمونه خاک وزن شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد در آون قرار گرفت. وزن خاک خشک اندازه‌گیری و در نهایت درصد رطوبت خاک محاسبه شد. سپس منحنی رطوبتی که ارتباط بین درصد رطوبت وزنی و مکش خاک را نشان می‌داد، ترسیم شد. برای اعمال تنش‌های آبی مورد نظر، ابتدا آبیاری کرت‌های مربوط به تنش شدید و سپس آبیاری کرت‌های مربوط به تنش ملایم به‌طور کامل قطع شد تا پتانسیل‌های آبی مورد نظر به‌دست آید. زمان رسیدن به پتانسیل آبی ۱/۵- مگاپاسکال، ۱۴ و ۰/۸- مگاپاسکال، هشت روز بود. زمانی که گیاه وارد مرحله گل‌دهی (۷۵ روز پس از

<sup>1</sup> Folin-Ciocalteu

برای اندازه‌گیری محتوای فنول کل گیاه مورد استفاده قرار گرفت.

به‌عنوان شاهد و گالیک اسید هم به‌عنوان استاندارد (lambda 25-USA) اندازه‌گیری شد. متانول ۸۰ درصد



شکل ۱- منحنی رطوبتی مزرعه محل اجرای آزمایش.  
Figure 1- Moisture curve of the experimental field

گازی از جمله فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، غلظت دی‌اکسیدکربن زیر روزنه‌ای و تعرق، از دستگاه تحلیل‌گر گاز مادون‌قرمز (IRGA, model: Lci, ADC Co. U.K) - استفاده شد. اندازه‌گیری تبادلات گازی گیاه در مرحله گلدهی (۷۵ روز پس از کشت) و در ساعت ۱۰-۱۲ صبح و در شدت نور ۱۴۰۰-۱۲۰۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه انجام شد. برای اندازه‌گیری این صفت، قسمت میانی بالاترین برگ بوته از هر تیمار در درون محفظه شیشه‌ای انبرک دستگاه قرار گرفت.

#### عملکرد دانه

جهت تعیین عملکرد دانه یک مترمربع از هر کرت پس از رسیدگی گیاهان برداشت و عملکرد دانه تعیین شد.

#### تجزیه داده‌ها

تجزیه واریانس و سایر محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS (9.2) انجام شد و مقایسه میانگین صفات با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت. رسم منحنی‌ها هم توسط نرم‌افزار Sigmaplot (12) انجام شد.

#### نتایج و بحث

##### محتوای فنول کل

در این مطالعه، اثر سطوح آبیاری و هورمون آبسازیک اسید و نیز اثر متقابل آن‌ها بر محتوای فنول کل گیاه معنی‌دار بود (جدول ۲). در شرایط عدم کاربرد

##### اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کاروتنوئید

برای تعیین میزان کلروفیل و کاروتنوئید برگ، ۰/۵ گرم از نمونه‌های برگی انتخاب شد و بعد از قطعه قطعه کردن، به مدت ۱۰ ثانیه در هاون چینی ساییده و کاملاً له شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به لوله‌آزمایش حاوی نمونه‌های برگی له شده اضافه شد و در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت. عصاره جدا شده فوقانی حاصل از سانتریفیوژ، جداسازی شد و میزان جذب محلول از طریق دستگاه اسپکتروفتومتر (PerkinElmer- lambda 25-USA) در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر قرائت شد (Arnon, 1949). سپس از طریق روابط زیر محتوای کلروفیل a، b و کاروتنوئید محاسبه شد.

$$a \text{ کلروفیل} = (19/3 * A663 - 0/86 * A645) / 100W$$

$$\text{رابطه (۱)}$$

$$b \text{ کلروفیل} = (19/3 * A645 - 3/6 * A663) / 100W$$

$$\text{رابطه (۲)}$$

$$a \text{ کلروفیل} = (A470) - 3/27(\text{mg chl. a}) / 100$$

$$\text{رابطه (۳)}$$

که در این روابط، V: حجم محلول صاف‌شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)، W: وزن تر نمونه برحسب گرم و A: جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر بود.

##### تبادلات گازی

برای اندازه‌گیری برخی پارامترهای مربوط به تبادلات

تنظیم‌کنندگان قادرند با تغییر الگوی بیان ژن‌های دخیل در مسیرهای بیوسنتزی ترکیبات، ب مقدار ترکیبات ثانویه گیاه را بصورت مستقیم و غیرمستقیم افزایش دهند (Ma et al., 2013). آبسزیک اسید به‌عنوان هورمون تنش، در شبکه پیچیده‌ای از پاسخ‌های گیاه به تنش‌های مختلف عمل می‌کند (Zhang et al., 2006). طبق مطالعات برخی از محققان، آبسزیک اسید می‌تواند با بهبود بیان ژن‌های آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) و نیز تیروزین آمینوترانسفراز (TAT) یعنی آنزیم‌های کلیدی مسیر بیوسنتزی ترکیبات فنولی، محتوای فنول کل گیاه را افزایش دهد (Shen et al., 2016).

در مطالعه‌ای روی نعنای چمنی (*Prunella vulgaris* L.)، تنش خشکی باعث افزایش ۱۴ درصدی محتوای برخی ترکیبات فنولی نسبت به شرایط آبیاری مطلوب شد (Chen et al., 2011). در گیاه بادرنجبویه نیز محتوای فنول کل در شرایط تنش خشکی افزایش یافت (Radácsi et al., 2016). علاوه بر این، تنش خشکی ملایم باعث افزایش محتوای فنول کل و فلاونوئید در گیاه بومادران شد (Gharibi et al., 2016). مطالعات نشان داده است که آبسزیک اسید می‌تواند تجمع ترکیبات فنولی را در تحقیقات مربوط به کشت سلول و بافت و نیز در شرایط مزرعه‌ای افزایش دهد (Murcia et al., 2017). کاربرد آبسزیک اسید در مرحله گلدهی، موجب افزایش محتوای فنول و فلاونوئید در گیاه چای جاوه (*Orthosiphon stamineus*) شد (Ibrahim & Jaafar, 2013).

#### رنگدانه‌های فتوسنتزی

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر رژیم‌های مختلف رطوبتی، هورمون آبسزیک اسید و نیز اثر متقابل این دو بر محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a، b، کلروفیل کل و نیز کاروتنوئید معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) بود (جدول ۲).

آبسزیک اسید، بالاترین محتوای فنول کل (۷/۳۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط تنش خشکی ملایم به‌دست آمد (شکل ۲) که به‌ترتیب ۱۳/۸۴ و ۶/۸۷ درصد بیشتر از شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی شدید بود. کاربرد هورمون آبسزیک اسید در شرایط تنش خشکی ملایم و خشکی شدید، پاسخ مثبتی در محتوای فنول کل گیاه ایجاد کرد و با افزایش غلظت آبسزیک اسید، محتوای فنول کل نیز افزایش یافت (شکل ۲). اما در شرایط آبیاری مطلوب، تفاوت معنی‌داری بین تیمار شاهد (عدم کاربرد آبسزیک اسید) و سایر غلظت‌های آبسزیک اسید وجود نداشت (شکل ۲). در این مطالعه، بالاترین محتوای فنول کل گیاه (۸/۸۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط تنش خشکی ملایم و در غلظت ۲۰ میکرومولار آبسزیک اسید به‌دست آمد (شکل ۲).

از آن‌جا که ترکیبات فنولی در گیاهان بیشتر نقش دفاعی دارند، بنابراین وقتی گیاهان در معرض برخی تنش‌های غیرزنده مانند خشکی قرار می‌گیرند، ترکیبات فنولی مختلف در گیاه افزایش می‌یابد و سیستم آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی در آن‌ها تقویت می‌شود (Martinez et al., 2016). مطالعات نشان داده است که در شرایط خشکی، تولید گونه‌های فعال اکسیژن در گیاه افزایش پیدا می‌کند (Sharma et al., 2012). گونه‌های فعال اکسیژن می‌توانند تولید آنتی‌اکسیدان‌ها و متابولیت‌های ثانویه گیاه مانند ترکیبات فنولی را افزایش دهند؛ این ترکیبات نقش بسیار مهمی در مهار گونه‌های فعال اکسیژن ایفا می‌کنند (Ksouri et al., 2007). به‌نظر می‌رسد که پایین بودن محتوای فنول کل گیاه در شرایط آبیاری مطلوب در مقایسه با شرایط تنش خشکی ملایم و شدید هم به همین امر مربوط باشد.

در این بررسی، کاربرد آبسزیک اسید در شرایط تنش خشکی ملایم و شدید، باعث افزایش محتوای فنول کل گیاه شد (شکل ۲). استفاده از تنظیم‌کنندگان رشد، یک رویکرد علمی است که می‌تواند سیستم دفاعی گیاه را فعال کند و بر مسیرهای بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه گیاه تأثیر گذارد. این

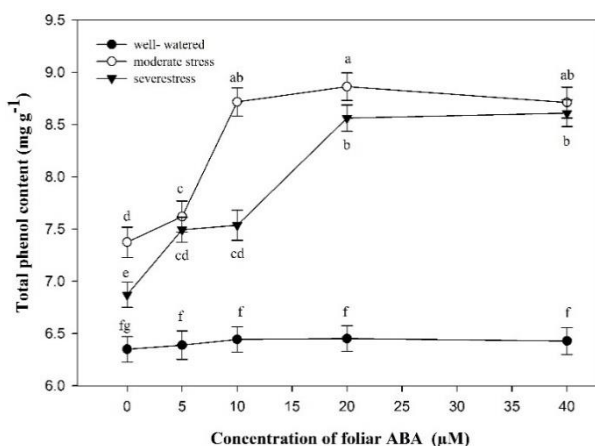
جدول ۲- میانگین مربعات محتوای فنول کل، رنگدانه‌های فتوسنتزی، پارامترهای مربوط به تبادلات گازی و عملکرد دانه بادرشبو در پاسخ به آبسازیک اسید در رژیم‌های مختلف رطوبتی.

Table 2. Mean squares of total phenol content, photosynthetic pigments, gas exchange parameters and seed yield of dragonhead in response to abscisic acid under different moisture regimes.

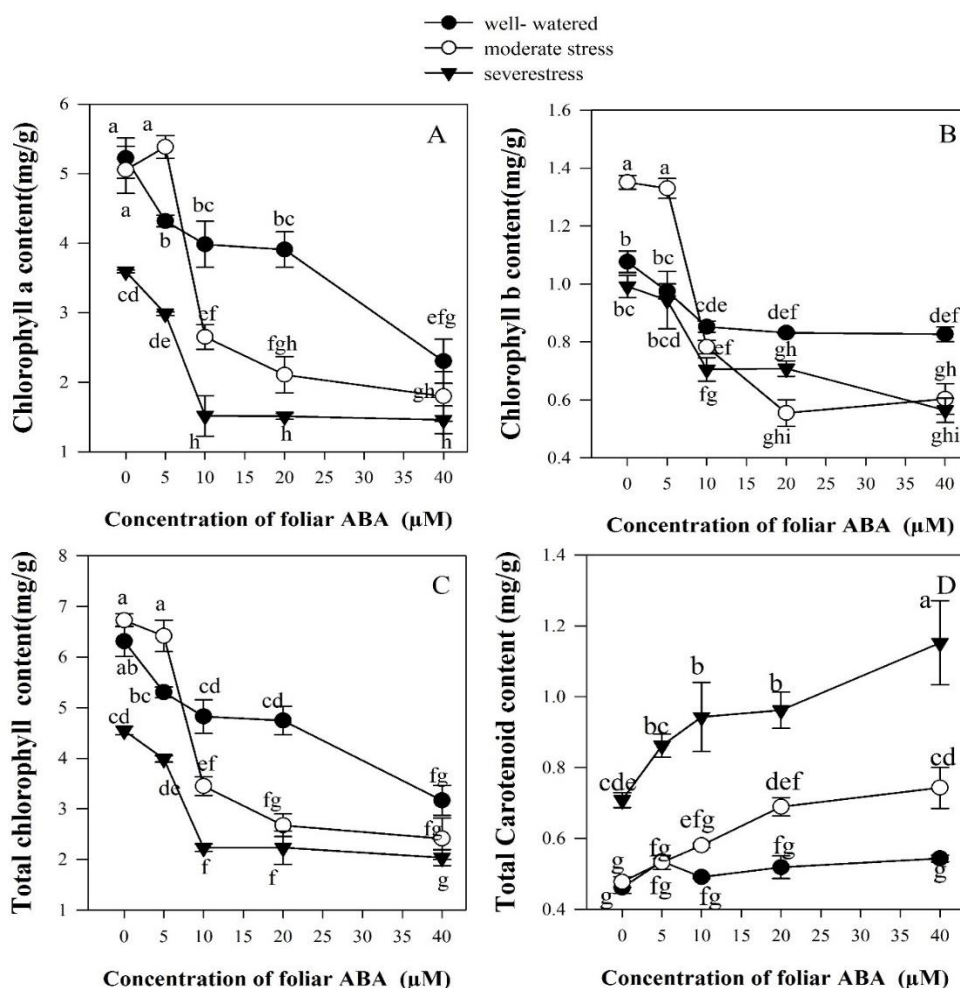
S.O.V	DF	Mean Square											Seed yield
		Total phenol content	Chlorophyll a content	Chlorophyll b content	Total chlorophyll content	Carotenoid content	Net photosynthesis rate	Stomatal conductance	Stomatal CO <sub>2</sub> concentration	Transpiration rate	Mesophyll conduction	Photosynthetic water use efficiency	
Replication	2	1.33 <sup>ns</sup>	1.48 <sup>ns</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	2.87 <sup>ns</sup>	0.03 <sup>ns</sup>	0.77 <sup>ns</sup>	0.0001 <sup>ns</sup>	61.16 <sup>ns</sup>	0.11 <sup>ns</sup>	0.0002 <sup>ns</sup>	44.27 <sup>ns</sup>	<b>47.2<sup>ns</sup></b>
Moisture levels	2	0.08 <sup>**</sup>	11.76 <sup>**</sup>	0.09 <sup>**</sup>	11.14 <sup>**</sup>	0.71 <sup>**</sup>	25.54 <sup>**</sup>	0.0064 <sup>**</sup>	22273.87 <sup>**</sup>	5.95 <sup>**</sup>	0.002 <sup>**</sup>	7152.6 <sup>**</sup>	<b>6762.15<sup>**</sup></b>
Main error	4	0.007	0.19	0.01	0.13	0.01	0.42	0.0002	293.67	0.18	0.0001	7.44	<b>2.35</b>
ABA levels	4	0.02 <sup>**</sup>	4.96 <sup>**</sup>	0.26 <sup>**</sup>	6.08 <sup>**</sup>	0.06 <sup>**</sup>	11.38 <sup>**</sup>	0.0046 <sup>**</sup>	6206.77 <sup>**</sup>	2.83 <sup>**</sup>	0.0005 <sup>*</sup>	2294.88 <sup>**</sup>	<b>517.71<sup>**</sup></b>
Moisture levels* ABA levels	8	0.05 <sup>**</sup>	5.01 <sup>**</sup>	0.17 <sup>**</sup>	5.99 <sup>**</sup>	0.03 <sup>**</sup>	23.37 <sup>**</sup>	0.003 <sup>**</sup>	2683.22 <sup>**</sup>	3.19 <sup>**</sup>	0.0009 <sup>**</sup>	1089.72 <sup>**</sup>	<b>52.59<sup>**</sup></b>
Total error	24	0.001	0.17	0.07	0.3	0.03	0.38	0.0003	122.49	0.24	0.0001	16.5	<b>1.82</b>
CV(%)		21.66	12.8	9.65	13.22	13.63	14.77	15.86	15.39	28.87	47.02	14.45	<b>19.42</b>

ns, \* و \*\*: به ترتیب عدم وجود تفاوت معنی‌دار، تفاوت معنی‌دار سطح احتمال پنج و یک درصد

ns, \* and \*\*: non- significant and significant at  $\alpha=0.05$  &  $\alpha=0.01$ , respectively.



شکل ۲- مقایسه میانگین محتوای فنول کل بادرشو در پاسخ به آبسبزیک اسید در رژیم‌های مختلف رطوبتی.  
Figure 2. Mean comparisons of total phenol content of dragonhead in response to abscisic acid under different moisture regimes



شکل ۳- مقایسه میانگین محتوای کلروفیل a (A)، b (B)، کلروفیل کل (C) و کاروتنوئید (D) بادرشو در پاسخ به آبسبزیک اسید در رژیم‌های مختلف رطوبتی.

Figure 3. Mean comparisons of dragonhead chlorophyll a (A), b (B), total chlorophyll (C) and carotenoid (D) contents in response to abscisic acid under different moisture regimes.



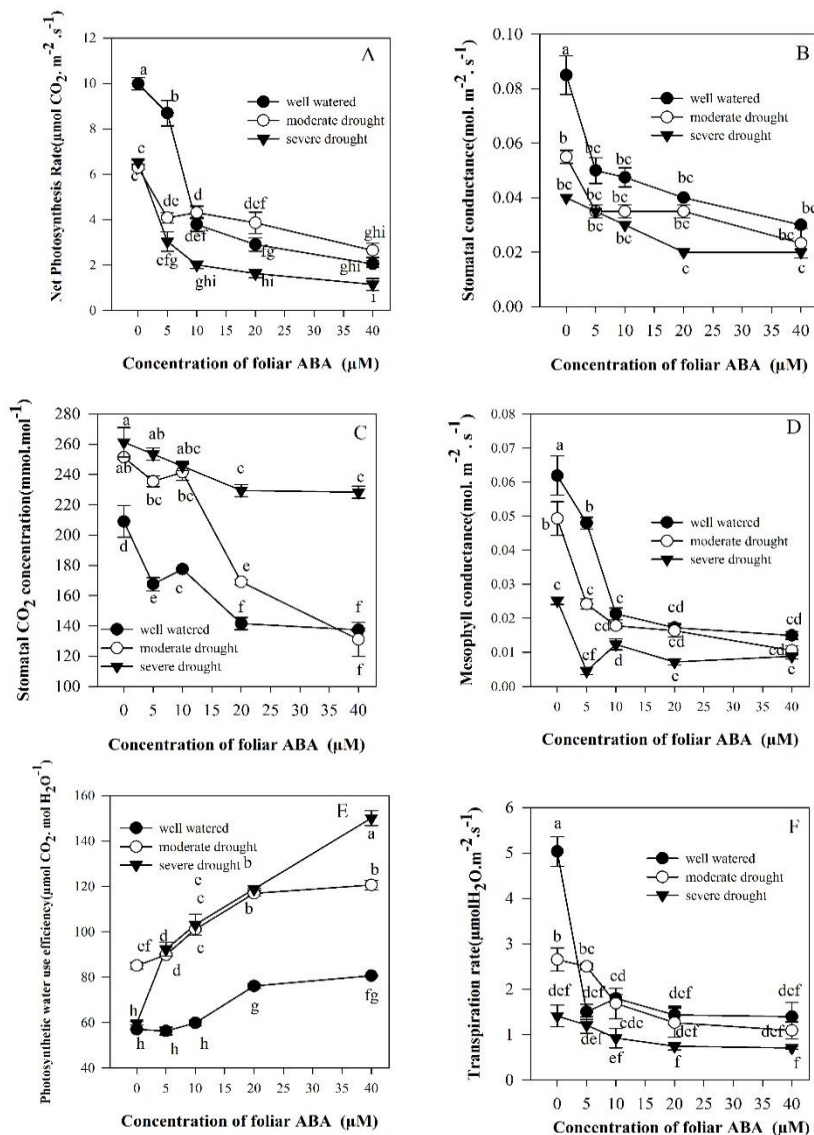
آبسیزیک اسید در شرایط تنش شدید به دست آمد (شکل ۳C). کاهش محتوی کلروفیل تحت تأثیر کاربرد آبسیزیک اسید می‌تواند ناشی از تأثیر آبسیزیک اسید بر تخریب کلروفیل باشد (Frommhold, 1989) و از طرفی ABA می‌تواند فرآیندهای مربوط به پیری را در گیاه تسریع کند (Fan *et al.*, 1997).

در شرایط عدم کاربرد آبسیزیک اسید، بالاترین محتوای کاروتنوئید (۰/۷۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط تنش خشکی شدید به دست آمد (شکل ۳D) که به ترتیب ۳۴/۶۹ و ۴۴/۹۲ درصد نسبت به شرایط تنش ملایم و آبیاری مطلوب بیشتر بود. کاروتنوئیدها نقش اساسی در کمک به گیاهان برای ایجاد مقاومت در برابر شرایط کم‌آبی را دارند (Jaleel *et al.*, 2009). هنگامی که گیاه با شرایط تنش خشکی مواجه می‌شود، تعادل بین دو مرحله زنجیره انتقال الکترونی و نیز اسیمیلاسیون دی‌اکسیدکربن به هم می‌خورد؛ در نتیجه انرژی مازاد باعث ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (Li *et al.*, 2010). گیاه برای مقابله با این گونه‌های فعال، دارای دو سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی است (Cruz & Maria, 2008). کاروتنوئیدها یکی از اجزای غیر آنزیمی دستگاه آنتی‌اکسیدانی گیاه هستند که می‌توانند کلروفیل‌ها و سایر اجزای دستگاه فتوسنتزی را در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن حفظ کنند (Cazzonelli, 2011). با کاربرد آبسیزیک اسید در شرایط تنش خشکی ملایم و شدید، روندی صعودی در محتوای کاروتنوئید مشاهده شد؛ هرچند گیاهان رشد یافته در شرایط آبیاری مطلوب، پاسخ چندانی به کاربرد آبسیزیک اسید نشان ندادند (شکل ۳D). بالاترین محتوای کاروتنوئید (۱/۱۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط تنش خشکی شدید و از تیمار ۴۰ میکرومولار آبسیزیک اسید به دست آمد (شکل ۳D). کاروتنوئیدها آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی گیاه هستند و قادرند که گیاهان را در برابر آسیب‌های اکسیداتیو حفظ کنند (Havaux & Niyogi, 1999). در شرایطی که غلظت آبسیزیک اسید افزایش می‌یابد، آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از القای شرایط تنش

در شرایط عدم کاربرد هورمون آبسیزیک اسید، بالاترین محتوای کلروفیل a، در شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی ملایم به دست آمد و در شرایط تنش خشکی شدید، محتوای کلروفیل a، به صورت قابل‌ملاحظه‌ای کم بود (شکل ۳A). بالاترین محتوای کلروفیل b (۱/۳۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط عدم کاربرد آبسیزیک اسید در گیاهان رشد یافته در شرایط تنش خشکی ملایم به دست آمد (شکل ۳B) و محتوای کلروفیل کل در گیاهانی که در شرایط تنش خشکی شدید رشد کرده بودند، در پایین‌ترین مقدار خود (۴/۵۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود (شکل ۳C). کلروفیل یکی از اجزای اصلی کلروپلاست در فرآیند فتوسنتز است و محتوای نسبی کلروفیل، همبستگی مثبتی با سرعت فتوسنتز دارد (Guo & Li, 1996). رشد گیاه وابسته به فتوسنتز است و فتوسنتز به همه تنش‌های زنده و غیرزنده حساس است. پرتوهای فعال فتوسنتزی در گیاه، توسط کلروفیل و سایر رنگدانه‌های جانبی مجموعه کلروفیل- پروتئین جذب می‌شوند و سپس به مرکز واکنش فتوسیستم‌های I و II یعنی جایی که تبدیل کوانتومی فرآیندهای فتوسنتزی رخ می‌دهد انتقال می‌یابد (Horton *et al.*, 1996). کاهش محتوای کلروفیل در شرایط تنش خشکی، توسط سایر محققان نیز گزارش شده است (Reddy *et al.*, 2008; Hussein *et al.*, 2004). به نظر می‌رسد که افزایش فعالیت آنزیم کلروفیل‌لاز و تجزیه مولکول‌های کلروفیل، مهم‌ترین عامل کاهش محتوای کلروفیل در شرایط تنش خشکی باشد (Reddy *et al.*, 2004). با کاربرد هورمون آبسیزیک اسید در هر سه رژیم رطوبتی، پاسخی منفی در محتوای کلروفیل a، b و کل مشاهده شد و محتوای آن‌ها با افزایش غلظت آبسیزیک اسید کاهش یافت (شکل ۳A-C). محتوای کلروفیل a، b و کل در غلظت‌های صفر تا ۱۰ میکرومولار آبسیزیک اسید، به صورت کاملاً مشخصی کاهش پیدا کرد و بعد از آن تا غلظت ۴۰ میکرومولار یا کاهش یافت و یا به صورت ثابت باقی ماند (شکل A- ۳C). کمترین محتوای کلروفیل کل (۲/۰۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) از تیمار ۴۰ میکرومولار هورمون

محتوی این ترکیبات نیز در گیاه افزایش می‌یابد.

توسط آبسزیک اسید نیز بیشتر می‌شود. بنابراین



شکل ۴- مقایسه میانگین سرعت فتوسنتز خالص (A)، هدایت روزنه‌ای (B)، غلظت CO<sub>2</sub> زیر روزنه‌ای (C)، هدایت مزوفیلی (D)، کارایی مصرف آب فتوسنتزی (E) و سرعت تعرق (F) بادرشبو در پاسخ به آبسزیک اسید در رژیم‌های مختلف رطوبتی. نتایج، میانگین سه عدد است و میانگین‌های دارای حروف مشابه، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

Figure 4. Mean comparisons of net photosynthesis rate (A), stomatal conductance (B), stomatal CO<sub>2</sub> concentration (C), mesophyll conductance (D), photosynthetic water use efficiency (E) and transpiration rate (F) of dragonhead in response to abscisic acid under different moisture regimes.

ثانیه) در شرایط آبیاری مطلوب به‌دست آمد (شکل ۴A) و در همین شرایط (عدم کاربرد هورمون آبسزیک اسید)، هدایت روزنه‌ای نیز در شرایط آبیاری مطلوب در بالاترین میزان (۰/۰۸۵ میکرومول بر مول بر ثانیه) بود (شکل ۴B) که ۲۷/۴۵ و ۴۱/۱۸ درصد نسبت به شرایط تنش ملایم و شدید بیشتر بود. غلظت CO<sub>2</sub> زیر روزنه‌ای در شرایط آبیاری مطلوب در

### تبادلات گازی

اثر سطوح آبیاری، هورمون آبسزیک اسید و نیز اثر متقابل این دو بر تمام پارامترهای مربوط به تبادلات گازی معنی‌دار (P < 0.01) بود (جدول ۲). در شرایط عدم کاربرد هورمون آبسزیک اسید، بالاترین میزان سرعت فتوسنتز (۹/۹۸ میکرومول CO<sub>2</sub> بر مترمربع بر

هدایت روزنه‌ای و مزوفیلی در شرایط آبیاری مطلوب در حداکثر مقدار خود قرار داشتند و تنش خشکی ملایم و شدید، موجب کاهش آن‌ها شد (شکل‌های B و ۴C). هم‌چنین محتوای کلروفیل کل گیاه به‌عنوان جزئی از هدایت مزوفیلی بر اثر تنش خشکی شدید کاهش یافت (شکل ۳C).

با کاربرد آبسیزیک اسید، سرعت فتوسنتز خالص به‌صورت مشخصی در هر سه وضعیت رطوبتی کاهش یافت (شکل ۴A). بیشترین و کمترین میزان سرعت فتوسنتز خالص در هر سه وضعیت رطوبتی، به‌ترتیب از تیمارهای شاهد و غلظت ۴۰ میکرومولار آبسیزیک اسید به‌دست آمد (شکل ۴A) و هدایت روزنه‌ای گیاه هم در اثر کاربرد آبسیزیک اسید خارجی کاهش پیدا کرد. شکل ۴B نشان می‌دهد که بالاترین مقدار هدایت روزنه‌ای گیاه در هر یک از وضعیت‌های رطوبتی در تیمار شاهد به‌دست آمد و همراه با افزایش غلظت آبسیزیک اسید، هدایت روزنه‌ای هم کاهش پیدا یافت (شکل ۴B). هم‌چنین مطابق نتایج، الگوی مشابهی در رابطه با اثر کاربرد آبسیزیک اسید بر غلظت CO<sub>2</sub> زیر روزنه‌ای در هر سه وضعیت رطوبتی مشاهده شد و با افزایش غلظت آبسیزیک اسید، غلظت CO<sub>2</sub> زیر روزنه‌ای به‌صورت مشخصی کاهش یافت (شکل ۴C).

در این بررسی، هدایت مزوفیلی به‌صورت کاملاً هماهنگ با سرعت فتوسنتز خالص در پاسخ به آبسیزیک اسید کاهش پیدا یافت (شکل ۴D). به‌نظر می‌رسد که آبسیزیک اسید با کاهش محتوای کلروفیل کل گیاه، موجب کاهش هدایت مزوفیلی شده باشد. بیشترین و کمترین میزان هدایت مزوفیلی از تیمار شاهد و غلظت ۴۰ میکرومولار آبسیزیک اسید به‌دست آمد و این نتیجه در هر سه وضعیت رطوبتی مشابه بود (شکل ۴D). هم‌چنین افزایش غلظت آبسیزیک اسید، موجب افزایش کارایی مصرف آب فتوسنتزی شد (شکل ۴E). کمترین و بیشترین میزان کارایی مصرف آب فتوسنتزی گیاه در هر سه وضعیت رطوبتی به‌ترتیب از تیمارهای شاهد و غلظت ۴۰ میکرومولار آبسیزیک اسید به‌دست آمد. در این بررسی، سرعت تعرق با کاربرد آبسیزیک اسید کاهش پیدا کرد (شکل

پایین‌ترین میزان (۲۰۹ میکرومول بر مول) قرار داشت (شکل ۴C). بدون کاربرد آبسیزیک اسید، گیاهانی که در شرایط تنش خشکی شدید رشد کرده بودند، پایین‌ترین میزان هدایت مزوفیلی (۰/۰۳ میکرومول بر مول بر ثانیه) را نشان دادند (شکل ۴D). مصرف آب فتوسنتزی، الگوی متفاوتی را در شرایط عدم کاربرد هورمون آبسیزیک اسید از خود نشان داد. بالاترین میزان کارایی مصرف آب فتوسنتزی (۸۵/۰۷ میکرومول CO<sub>2</sub> بر مول H<sub>2</sub>O) در شرایط تنش خشکی ملایم به‌دست آمد (شکل ۴E) و بالاترین سرعت تعرق گیاه (۵/۰۳ میکرومول CO<sub>2</sub> بر مترمربع بر ثانیه) نیز در شرایط شاهد، در شرایط آبیاری مطلوب مشاهده شد (شکل ۴F) که ۴۷/۳۲ و ۷۲/۱۷ درصد بیشتر از شرایط تنش خشکی ملایم و شدید بود.

اولین پاسخ همه گیاهان در هنگام وقوع کم‌آبی، بستن روزنه‌ها برای جلوگیری از هدر روی آب از طریق تعرق می‌باشد. در نتیجه، این امر موجب کاهش سرعت فتوسنتز و نیز غلظت CO<sub>2</sub> درون‌سلولی می‌شود (Reddy *et al.*, 2004). با کاهش دسترسی به CO<sub>2</sub> در کلروپلاست، میزان فتوسنتز و ظرفیت فتوسنتزی در شرایط خشکی کاهش می‌یابد (Lawlor, 1995). نتایج کار محققان ثابت کرده است که کاهش فتوسنتز بر اثر تنش خشکی، در ابتدا به دلایل محدودیت روزنه‌ای ناشی از افت هدایت روزنه‌ای است که بر اثر بسته شدن روزنه‌های گیاه در شرایط خشکی ایجاد می‌شود، اما به دنبال تشدید شرایط خشکی، عوامل دیگری که تحت عنوان محدودیت‌های غیرروزنه‌ای در نظر گرفته می‌شوند، کاهش سرعت فتوسنتز گیاه را در پی دارند (Earl, 2002; Shepherd, 2002). عوامل غیر روزنه‌ای مؤثر بر سرعت فتوسنتز تحت عنوان هدایت مزوفیلی مورد مطالعه قرار می‌گیرد. در واقع، مجموعه فرآیندهای درونی برگ که در تثبیت دی‌اکسیدکربن نقش دارند مانند محتوای کلروفیل برگ، فعالیت آنزیم رابیسکو و سایر آنزیم‌های فتوسنتزی و پروسه‌های بیوشیمیایی غشای کلروپلاست، به‌عنوان هدایت مزوفیلی در نظر گرفته می‌شوند (Flexas *et al.*, 2008). در این آزمایش،

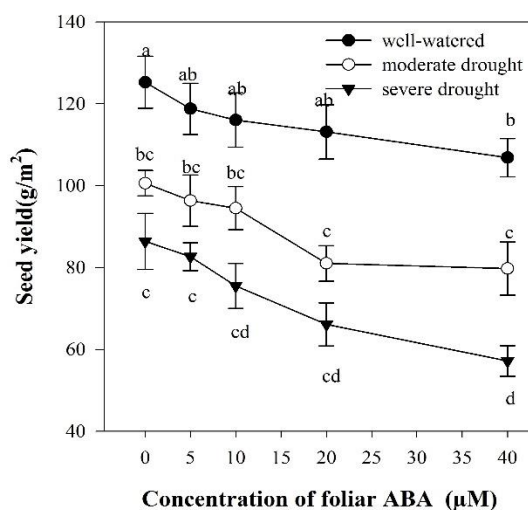
که به ترتیب ۱۹/۷ و ۳۱/۰۲ درصد بالاتر از عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی ملایم و شدید بود. تنش خشکی، رشد و عملکرد گیاهان را در تمام مراحل رشدی تحت تأثیر قرار می‌دهد. اثر خشکی بر عملکرد دانه، حاصل تأثیر آن بر مراحل رویشی و زایشی گیاه است. در این بین، مرحله زایشی و گل‌دهی گیاه از بیشترین حساسیت به خشکی برخوردار است. بنابراین شدت و مدت زمان تنش خشکی در این مرحله از نمو گیاه، بیشترین تأثیر را در عملکرد دانه خواهد داشت (Barnabás *et al.*, 2008). به نظر می‌رسد که دلیل اصلی کاهش عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی، کاهش قدرت منبع به دلیل کاهش سرعت فتوسنتز و تسریع پیری برگ‌ها باشد (Ritchie *et al.*, 1990). از طرفی خشکی می‌تواند از طریق محدود کردن تأمین اسیمیلات‌ها برای دانه‌های در حال تشکیل، موجب تولید دانه‌های کوچک‌تر شود و عملکرد پایین‌تری را ایجاد کند (Frederick *et al.*, 1991).

همان‌طور که در شکل ۵ نشان داده شده است کاربرد آبسازیک اسید به صورت کاملاً مشخصی باعث کاهش عملکرد دانه گیاه در هر سه وضعیت رطوبتی شد و با افزایش غلظت آبسازیک اسید، روندی کاهشی در عملکرد دانه گیاه مشاهده شد (شکل ۵). در تمام رژیم‌های رطوبتی مورد مطالعه، بیشترین و کمترین عملکرد دانه به ترتیب از تیمار شاهد و تیمار ۴۰ میکرومولار آبسازیک اسید به دست آمد (شکل ۵). مطالعات مربوط به بررسی کاربرد آبسازیک اسید بر گیاه نشان داده است که تقسیم سلولی و فرآیندهای مربوط به رشد و توسعه گیاه در شرایط مطلوب آبی، پاسخ‌هایی مشابه با شرایط تنش خشکی در بردارد. بنابراین آبسازیک اسید با القای شرایط تنش موجب، کاهش دانه‌بندی و توسعه دانه‌ها و در نهایت کاهش عملکرد دانه می‌شود (Mambelli & Setter, 1998; Myers *et al.*, 1990). کاهش عملکرد دانه ذرت تحت تیمار آبسازیک اسید گزارش شده است (Trivedi *et al.*, 2018).

۴F). پاسخ سرعت تعرق گیاه به کاربرد آبسازیک اسید، مشابه الگوی اثر آبسازیک اسید بر هدایت روزنه‌ای (شکل ۴B) و کاملاً منطبق با آن بود. بیشترین و کمترین میزان سرعت تعرق در هر سه وضعیت رطوبتی به ترتیب از تیمارهای شاهد و غلظت ۴۰ میکرومولار آبسازیک اسید به دست آمد (شکل ۴F) و د رواقع با افزایش غلظت آبسازیک اسید و کاهش هدایت روزنه‌ای گیاه، سرعت تعرق نیز کاهش یافت.

همان‌طور که گزارش شد، آبسازیک اسید باعث کاهش پارامترهای مربوط به تبادلات گازی شد (شکل A- ۴F). کاهش فتوسنتز بر اثر کاربرد آبسازیک اسید می‌تواند مربوط به محدودیت روزنه‌ای باشد که توسط آبسازیک اسید ایجاد می‌شود. آبسازیک اسید با کاهش نفوذ روزنه‌ای، هم هدایت روزنه‌ای و هم هدایت مزوفیلی را کاهش می‌دهد (Silva *et al.*, 2017). سلول‌های نگهبان روزنه در اپیدرم برگ گیاه، قادر به ایجاد تعادل بین ورود CO<sub>2</sub> فتوسنتزی و خروج آب از طریق فرآیند تعرق هستند. این سلول‌ها می‌توانند به سرعت به محرک‌های محیطی و همچنین هورمون‌های گیاهی پاسخ دهند. آبسازیک اسید می‌تواند آنیون‌ها و پتاسیم را از طریق کانال‌های یونی غشای پلاسمایی سلول‌های نگهبان رها کند و باعث کاهش فشار تورژسانس این سلول‌ها و بسته شدن روزنه‌های گیاه شود (Nambara & Marion-Poll, 2005). این بررسی، نتایجی منطبق با این موضوع داشت. کاهش هدایت روزنه‌ای، تعرق، هدایت مزوفیلی و در نهایت کاهش سرعت فتوسنتز گیاه، نتایجی بود که در اثر استفاده از آبسازیک اسید به دست آمد.

در این مطالعه، اثر سطوح مختلف رطوبتی، کاربرد هورمون آبسازیک اسید و اثر متقابل این دو بر عملکرد دانه بادرشبو معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) بود (جدول ۲). در شرایط بدون کاربرد آبسازیک اسید، بیشترین میزان عملکرد بذر (۱۲۵/۳ گرم بر مترمربع) از گیاهان رشد یافته در شرایط آبیاری مطلوب به دست آمد (شکل ۵)



شکل ۵- مقایسه میانگین عملکرد دانه بادرشبو در پاسخ به آبسیزیک اسید در رژیم‌های مختلف رطوبتی. نتایج میانگین سه عدد است و میانگین‌های دارای حروف مشابه، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

Figure 5. Mean comparisons of dragonhead seed yield in response to abscisic acid under different moisture regimes.

#### نتیجه‌گیری کلی

روزنه‌ای و مزوفیلی و نیز سرعت فتوسنتز خالص گیاه نسبت به شرایط عدم کاربرد آن شد. با افزایش غلظت آبسیزیک اسید، تبادلات گازی گیاه با یک روند نزولی کاهش یافت. از آن‌جا که بادرشبو، گیاهی معطر و آروماتیک است، محتوای فنول کل گیاه اندازه‌گیری شد. در شرایط بدون کاربرد آبسیزیک اسید، اعمال تنش‌های خشکی ملایم و شدید، باعث افزایش محتوای فنول کل گیاه در مقایسه با شرایط آبیاری مطلوب شد. در شرایط آبیاری مطلوب، گیاه پاسخ مثبتی به کاربرد آبسیزیک اسید نشان نداد، اما در شرایط تنش خشکی ملایم و شدید، با افزایش غلظت آبسیزیک اسید، روندی افزایشی در محتوای فنول کل گیاه مشاهده شد. بالاترین میزان فنول کل گیاه در این آزمایش در غلظت ۲۰ میکرومولار آبسیزیک اسید و در شرایط تنش خشکی ملایم به‌دست آمد؛ بنابراین به‌نظر می‌رسد که با مدیریت آبیاری و اعمال تنش ملایم در کشت بادرشبو و نیز کاربرد آبسیزیک اسید بتوان میزان ماده مؤثره این گیاه را افزایش داد. با توجه به این‌که بادرشبو گیاه دارویی مهم به‌خصوص در نواحی غرب و شمال غربی کشور است و نیز بذر آن ارزش اقتصادی بالایی دارد، عملکرد دانه بادرشبو نیز مورد بررسی قرار گرفت. تنش خشکی شدید و ملایم در شرایط بدون کاربرد آبسیزیک اسید، باعث کاهش

سرعت فتوسنتز در شرایط تنش خشکی تحت تأثیر عوامل روزنه‌ای و غیرروزنه‌ای قرار می‌گیرد. در این مطالعه نشان داده شد که سرعت فتوسنتز گیاه و برخی پارامترهای مربوط به تبادلات گازی از جمله هدایت روزنه‌ای و مزوفیلی، در شرایط بدون کاربرد آبسیزیک اسید کاهش یافت. بسته شدن روزنه‌های گیاه و به تبع آن کاهش هدایت روزنه‌ای، از اولین پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاه به تنش خشکی است که مستقیماً باعث کاهش فتوسنتز می‌شود. از طرفی، محتوای کلروفیل گیاه به‌عنوان رنگدانه اصلی فتوسنتزی اندازه‌گیری شد. محتوای کلروفیل گیاه به‌عنوان یکی از اجزای مؤثر در هدایت مزوفیلی در نظر گرفته می‌شود. در این مطالعه، بدون کاربرد هورمون آبسیزیک اسید، تنش خشکی باعث کاهش محتوای کلروفیل کل شد. بنابراین مجموعه‌ای از عوامل روزنه‌ای و غیرروزنه‌ای باعث کاهش سرعت فتوسنتز در شرایط تنش خشکی شد. هم‌چنین در گیاهان تیمار شده با آبسیزیک اسید، روندی مشابه با تنش خشکی مشاهده شد و آبسیزیک اسید با کاهش هدایت روزنه‌ای و مزوفیلی، سرعت فتوسنتز گیاه را کاهش داد. حتی در شرایط آبیاری مطلوب، آبسیزیک اسید با القای شرایط خشکی، باعث کاهش هدایت

معنی‌دار عملکرد دانه شد. همچنین عملکرد دانه در هر سه شرایط رطوبتی با کاربرد آبسیزیک اسید به‌صورت نزولی کاهش یافت. این کاهش در عملکرد دانه بر اثر تنش خشکی و کاربرد آبسیزیک اسید، کاملاً منطبق با کاهش سرعت فتوسنتز گیاه است که در اثر تنش خشکی و آبسیزیک اسید رخ داد.

## REFERENCES

1. Amjad, M., Akhtar, J., Anwar-ul-Haq, M., Yang, A., Akhtar, S. S. & Jacobsen, S. E. (2014). Integrating role of ethylene and ABA in tomato plants adaptation to salt stress. *Scientia Horticulturae*, 172, 109-116.
2. Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24, 1-15.
3. Asensi, M., Ortega, A., Mena, S., Feddi, F. & Estrela, J. M. (2011). Natural polyphenols in cancer therapy. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 48, 197-216.
4. Azhar, N., Hussain, B., Ashraf, M. Y. & Abbasi, K. Y. (2011). Water stress mediated changes in growth, physiology and secondary metabolites of desi ajwain (*Trachyspermum ammi* L.). *Pakistan Journal of Botany*, 43, 15-19.
5. Barickman, T. C., Kopsell, D. A. & Sams, C. E. (2014). Abscisic acid increases carotenoid and chlorophyll concentrations in leaves and fruit of two tomato genotypes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 139, 261-266.
6. Barnabás, B., Jäger, K. & Fehér, A. (2008). The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. *Plant, Cell & Environment*, 31, 11-38.
7. Brglez Mojzer, E., Knez Hrnčič, M., Škerget, M., Knez, Ž. & Bren, U. (2016). Polyphenols: extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. *Molecules*, 21, 901-909.
8. Cai, S., Chen, G., Wang, Y., Huang, Y., Marchant, D. B., Wang, Y. & Franks, P. J. (2017). Evolutionary conservation of ABA signaling for stomatal closure. *Plant Physiology*, 174, 732-747.
9. Carmo-Silva, E., Andralojc, P. J., Scales, J. C., Driever, S. M., Mead, A., Lawson, T. & Parry, M. A. (2017). Phenotyping of field-grown wheat in the UK highlights contribution of light response of photosynthesis and flag leaf longevity to grain yield. *Journal of Experimental Botany*, 68, 3473-3486.
10. Cazzonelli, C. I. (2011). Carotenoids in nature: insights from plants and beyond. *Functional Plant Biology*, 38, 833-847.
11. Chen, Y. T. & Lin, K.W. (2007). Effects of heating temperature on the total phenolic compound, antioxidative ability and the stability of dioscorin of various yam cultivars. *Food Chemistry*, 101, 955-963.
12. Chen, Y., Guo, Q., Liu, L., Liao, L. & Zhu, Z. (2011). Influence of fertilization and drought stress on the growth and production of secondary metabolites in *Prunella vulgaris* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5, 1749-1755.
13. Cruz, d. C. & Maria, H. (2008). Drought stress and reactive oxygen species: production, scavenging and signaling. *Plant Signaling & Behavior*, 3, 156-165.
14. Dai, J. & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15, 7313-7352.
15. Dastmalchi, K., Dorman, H. D., Laakso, I. & Hiltunen, R. (2007). Chemical composition and antioxidative activity of Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extracts. *LWT-Food Science and Technology*, 40, 1655-1663.
16. Dmitruk, M. & Weryszko-Chmielewska, E. (2010). Morphological differentiation and distribution of non-glandular and glandular trichomes on *Dracocephalum moldavicum* L. shoots. *Acta Agrobotanica*, 63, 11-22.
17. Duan, B., Yang, Y., Lu, Y., Korpelainen, H., Berninger, F. & Li, C. (2007). Interactions between water deficit, ABA, and provenances in *Picea asperata*. *Journal of Experimental Botany*, 58, 3025-3036.
18. Earl, H. J. (2002). Stomatal and non-stomatal restrictions to carbon assimilation in soybean (*Glycine max*) lines differing in water use efficiency. *Environmental and Experimental Botany*, 48, 237-246.
19. Erice, G., Louahli, S., Irigoyen, J. J., Sánchez-Díaz, M., Alami, I. T. & Avicé, J.C. (2011). Water use efficiency, transpiration and net CO<sub>2</sub> exchange of four alfalfa genotypes submitted to progressive drought and subsequent recovery. *Environmental and Experimental Botany*, 72, 123-130.
20. Fan, L., Zheng, S. & Wang, X. (1997). Antisense suppression of phospholipase D alpha retards abscisic acid- and ethylene-promoted senescence of postharvest Arabidopsis leaves. *The Plant Cell*, 9, 2183-2196.
21. Flexas, J., Ribas-Carbó, M., Diaz-Espejo, A., GalmES, J. & Medrano, H. (2008). Mesophyll conductance to CO<sub>2</sub>: current knowledge and future prospects. *Plant, Cell & Environment*, 31, 602-621.

22. Frederick, J., Woolley, J., Hesketh, J. & Peters, D. (1991). Seed yield and agronomic traits of old and modern soybean cultivars under irrigation and soil water-deficit. *Field Crops Research*, 27, 71-82.
23. Frommhold, I. (1989). Chlorophyll degradation: Effects of different concentrations of abscisic acid in barley leaf segments. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 184, 329-331.
24. Gharibi, S., Tabatabaei, B. E. S., Saeidi, G. & Goli, S. A. H. (2016). Effect of drought stress on total phenolic, lipid peroxidation, and antioxidant activity of *Achillea* species. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 178, 796-809.
25. Gu, S., Kaigas, K., Kaigas, M., Du, G., Jacobs, S. & Wample, R. (2008). Efficacy of ABA application to enhance wine color of Cabernet Sauvignon in a warmer growing region. *American Journal of Enology and Viticulture*, 19, 23-30.
26. Guo, P. & Li, M. (1996). Studies on photosynthetic characteristics in rice hybrid progenies and their parents I. chlorophyll content, chlorophyll-protein complex and chlorophyll fluorescence kinetics. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 4, 60-65.
27. Havaux, M. & Niyogi, K. K. (1999). The violaxanthin cycle protects plants from photooxidative damage by more than one mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96, 8762-8767.
28. Hodaei, M., Rahimmalek, M., Arzani, A. & Talebi, M. (2018). The effect of water stress on phytochemical accumulation, bioactive compounds and expression of key genes involved in flavonoid biosynthesis in *Chrysanthemum morifolium* L. *Industrial Crops and Products*, 120, 295-304.
29. Horton, P., Ruban, A. & Walters, R. (1996). Regulation of light harvesting in green plants. *Annual Review of Plant Biology*, 47, 655-684.
30. Hosy, E., Vavasseur, A., Mouline, K., Dreyer, I., Gaymard, F., Porée, F. & Véry, A. A. (2003). The Arabidopsis outward K<sup>+</sup> channel GORK is involved in regulation of stomatal movements and plant transpiration. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100, 5549-5554.
31. Hussein, M., Kassab, O. & Ellil, A. (2008). Evaluating water stress influence on growth and photosynthetic pigments of two sugar beet varieties. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 4, 936-941.
32. Ibrahim, M. H. & Jaafar, H. Z. (2013). Abscisic acid induced changes in production of primary and secondary metabolites, photosynthetic capacity, antioxidant capability, antioxidant enzymes and lipoxygenase inhibitory activity of *Orthosiphon stamineus* Benth. *Molecules*, 18, 7957-7976.
33. Idhan, A., Nadir, M. & Kadir, M. (2018). *Paddy Chlorophyll Concentrations in Drought Stress Condition and Endophytic Fungi Application*. Paper presented at the IOP Conference Series: Earth and Environmental Science.
34. Jaleel, C. A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, H. J., Somasundaram, R. & Panneerselvam, R. (2009). Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11, 100-105.
35. Jha, S. & Srivastava, R. (2018). Impact of drought on vegetation carbon storage in arid and semi-arid regions. *Remote Sensing Applications: Society and Environment*, 11, 22-29.
36. Król, A., Amarowicz, R. & Weidner, S. (2015). The effects of cold stress on the phenolic compounds and antioxidant capacity of grapevine (*Vitis vinifera* L.) leaves. *Journal of Plant Physiology*, 189, 97-104.
37. Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C. & Abdelly, C. (2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45, 244-249.
38. Lawlor, D. (1995). The effects of water deficit on photosynthesis. *Environment and Plant Metabolism*, 25, 129-160.
39. Li, Z., Zhao, X., Sandhu, A. K. & Gu, L. (2010). Effects of exogenous abscisic acid on yield, antioxidant capacities, and phytochemical contents of greenhouse grown lettuces. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 6503-6509.
40. Lv, A., Fan, N., Xie, J., Yuan, S., An, Y. & Zhou, P. (2017). Expression of CdDHN4, a novel YSK2-type Dehydrin gene from Bermudagrass, responses to drought stress through the ABA-dependent signal pathway. *Frontiers in Plant Science*, 8, 748-755.
41. Ma, P., Liu, J., Zhang, C. & Liang, Z. (2013). Regulation of water-soluble phenolic acid biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 170, 1253-1262.
42. Mambelli, S. & Setter, T. L. (1998). Inhibition of maize endosperm cell division and endoreduplication by exogenously applied abscisic acid. *Physiologia Plantarum*, 104, 266-272.
43. Martinez, V., Mestre, T. C., Rubio, F., Girones-Vilaplana, A., Moreno, D. A., Mittler, R. & Rivero, R. M. (2016). Accumulation of flavonols over hydroxycinnamic acids favors oxidative damage protection under abiotic stress. *Frontiers in Plant Science*, 7, 838-844.

44. Mathobo, R., Marais, D. & Steyn, J. M. (2017). The effect of drought stress on yield, leaf gaseous exchange and chlorophyll fluorescence of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Agricultural Water Management*, 180, 118-125.
45. Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J. & Nacoulma, O. G. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91, 571-577.
46. Morgun, V., Stasik, O., Kiriziy, D. & Sokolovska-Sergiienko, O. (2019). Effect of drought on photosynthetic apparatus, activity of antioxidant enzymes, and productivity of modern winter wheat varieties. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 10, 32-46.
47. Murcia, G., Fontana, A., Pontin, M., Baraldi, R., Bertazza, G. & Piccoli, P. N. (2017). ABA and GA3 regulate the synthesis of primary and secondary metabolites related to alleviation from biotic and abiotic stresses in grapevine. *Phytochemistry*, 135, 34-52.
48. Myers, P. N., Setter, T. L., Madison, J. T. & Thompson, J. F. (1990). Abscisic acid inhibition of endosperm cell division in cultured maize kernels. *Plant Physiology*, 94, 1330-1336.
49. Nambara, E. & Marion-Poll, A. (2005). Abscisic acid biosynthesis and catabolism. *Annual Review of Plant Biology*, 56, 165-185.
50. Pospíšilová, J., Synková, H., Haisel, D. & Baťková, P. (2009). Effect of abscisic acid on photosynthetic parameters during ex vitro transfer of micropropagated tobacco plantlets. *Biologia Plantarum*, 53, 11-20.
51. Radácsi, P., Szabo, K., Szabo, D., Trócsányi, E. & Nemeth-Zambori, E. (2016). Effect of water deficit on yield and quality of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). *Zemdirbyste-Agriculture*, 103, 85-94.
52. Rebey, I. B., Jabri-Karoui, I., Hamrouni-Sellami, I., Bourgou, S., Limam, F. & Marzouk, B. (2012). Effect of drought on the biochemical composition and antioxidant activities of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds. *Industrial Crops and Products*, 36, 238-245.
53. Rechinger, K. H. (1999). *Flora iranica, Vol. 175. Papilionaceae IV, Astragalus II* (Vol. 150). Graz, Austria: Akademische Druck Verlagsantalt.
54. Reddy, A. R., Chaitanya, K. V. & Vivekanandan, M. (2004). Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology*, 161, 1189-1202.
55. Ritchie, S. W., Nguyen, H. T. & Holaday, A. S. (1990). Leaf water content and gas-exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science*, 30, 105-111.
56. Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S. & Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*, 20, 12-21.
57. Shen, L., Ren, J., Jin, W., Wang, R., Ni, C., Tong, M. & Yang, D. (2016). Role of NO signal in ABA-induced phenolic acids accumulation in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots. *Shengwu Gongcheng Xuebao/Chinese Journal of Biotechnology*, 32, 222-230.
58. Shepherd, A., McGinn, S. & Wyseure, G. (2002). Simulation of the effect of water shortage on the yields of winter wheat in North-East England. *Ecological Modelling*, 147, 41-52.
59. Shi, L., Wang, Z. & Kim, W. S. (2019). Effect of drought stress on shoot growth and physiological response in the cut rose 'charming black' at different developmental stages. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 60, 1-8.
60. Silva, E. N., Silveira, J. A. G., Ribeiro, R. V., Oliveira, J. Ê. & Cardoso, R. A. (2017). Photosynthetic and Antioxidant Responses of *Jatropha curcas* Plants to Heat Stress: On the Relative Sensitivity of Shoots and Roots. *Journal of Plant Growth Regulation*, 37, 255-265.
61. Singh, K., Kumar, S., Rani, A., Gulati, A. & Ahuja, P. S. (2009). Phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and cinnamate 4-hydroxylase (C4H) and catechins (flavan-3-ols) accumulation in tea. *Functional & Integrative Genomics*, 9, 125-129.
62. Singh, S. K. & Reddy, K. R. (2011). Regulation of photosynthesis, fluorescence, stomatal conductance and water-use efficiency of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) under drought. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 105, 40-50.
63. Trivedi, K., Anand, K. V., Vaghela, P. & Ghosh, A. (2018). Differential growth, yield and biochemical responses of maize to the exogenous application of *Kappaphycus alvarezii* seaweed extract, at grain-filling stage under normal and drought conditions. *Algal Research*, 35, 236-244.
64. Van der Weijde, T., Huxley, L. M., Hawkins, S., Sembiring, E. H., Farrar, K., Dolstra, O. & Trindade, L. M. (2017). Impact of drought stress on growth and quality of miscanthus for biofuel production. *GCB Bioenergy*, 9, 770-782.
65. Verma, N. & Shukla, S. (2015). Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2, 105-113.



66. Viger, M., Smith, H. K., Cohen, D., Dewoody, J., Trewin, H., Steenackers, M. & Taylor, G. (2016). Adaptive mechanisms and genomic plasticity for drought tolerance identified in European black poplar (*Populus nigra* L.). *Tree Physiology*, 36, 909-928.
67. Vishwakarma, K., Upadhyay, N., Kumar, N., Yadav, G., Singh, J., Mishra, R. K. & Pandey, M. (2017). Abscisic acid signaling and abiotic stress tolerance in plants: a review on current knowledge and future prospects. *Frontiers in plant science*, 8, 161-172.
68. Wang, W. H., Yi, X. Q., Han, A. D., Liu, T. W., Chen, J., Wu, F. H. & Zheng, H. L. (2011). Calcium-sensing receptor regulates stomatal closure through hydrogen peroxide and nitric oxide in response to extracellular calcium in Arabidopsis. *Journal of Experimental Botany*, 63, 177-190.
69. Wang, X. M., Yang, B., Ren, C. G., Wang, H. W., Wang, J. Y. & Dai, C. C. (2015). Involvement of abscisic acid and salicylic acid in signal cascade regulating bacterial endophyte-induced volatile oil biosynthesis in plantlets of *Atractylodes lancea*. *Physiologia Plantarum*, 153, 30-42.
70. Zhang, J., Jia, W., Yang, J. & Ismail, A. M. (2006). Role of ABA in integrating plant responses to drought and salt stresses. *Field Crops Research*, 97, 111-119.