تأثیر پرولین و ۲۴-اپی براسینولید بر شاخص‌های رشد و صفات بیوشیمیایی مرزه تابستانه (*Satureja hortensis* L.)

زهرا محمدی خلیفه لوئی، احمد رضا عباسی‌فر*، علی خدیوی و مرتضی اکرمیان

ایران، اراک، دانشگاه اراک، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه علوم باغبانی

تاریخ دریافت: ۹۷/۲/۸ تاریخ پذیرش: ۹۷/۷/۱۱

چکیده

پرولین یک اسمولیت سازگار رایج است و با تنظیم اسمزی و محافظت از غشاها، پروتئین‌ها و آنزیم‌ها از اثرات مخرب تنش‌های اسمزی در گیاهان جلوگیری می‌کند. براسینواستروئیدها گروه جدیدی از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی هستند و باعث تحریک رشد گیاهان می‌شوند. در این مطالعه، اثرات محلول‌پاشی پرولین و ۲۴-اپی براسینولید بر شاخص‌های رشد و صفات بیوشیمیایی مرزه تابستانه (*Satureja hortensis* L.) در شرایط گلخانه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. تیمارهای محلول‌پاشی شامل شاهد (عدم محلول‌پاشی)، پرولین (۲۰ میلی‌مولار) و ۲۴-اپی براسینولید (یک میکرومولار) بود که در مراحل رشد رویشی و زایشی اعمال گردید. مطابق نتایج، محلول‌پاشی پرولین موجب افزایش معنی‌دار محتوی پرولین به میزان ۳۹۴/۴ درصد، شاخص کلروفیل به میزان ۴/۸ درصد، فنل کل به میزان ۹/۸ درصد، فلاونوئید به میزان ۱۸ درصد، عملکرد اسانس به میزان ۱۵/۸ درصد، وزن تر اندام هوایی به میزان ۸ درصد، وزن خشک اندام هوایی به میزان ۷/۸ درصد، وزن تر برگ و گل به میزان ۶/۸ درصد، وزن خشک برگ و گل به میزان ۸ درصد و قطر ساقه گیاه به میزان ۷/۴ درصد نسبت به شاهد شد. همچنین محلول‌پاشی ۲۴-اپی براسینولید باعث افزایش معنی‌دار ترکیبات فنلی به میزان ۳۲/۱۵ درصد و طول میانگره به میزان ۸/۳ درصد نسبت به شاهد گردید.

واژه‌های کلیدی: ۲۴-اپی براسینولید، پرولین، درصد اسانس، مرزه تابستانه

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۸۱۶۱۱۳۷۳ ، پست الکترونیکی: abbasifar1965@yahoo.com

مقدمه

جنس مرزه (Satureja) متعلق به تیره Lamiaceae، زیر تیره Nepetoideae و قبیله Mentheae بوده و شامل ۲۳۵ گونه در سراسر جهان می‌باشد (۴ و ۲۵). گیاهان این جنس عمدتاً یک ساله یا چند ساله علفی و معطر می‌باشند. گونه-های این جنس به‌طور گسترده در شرق دریای مدیترانه، کناره دریای سیاه، نواحی جنوبی اروپا، سیبری و نقاط مرکزی و جنوب غربی آسیا مانند ایران، ترکمنستان، ترکیه، قفقاز و عراق بیشتر رویش دارند (۵۹ و ۶۸). بیش از ۳۰ گونه آن در شرق مدیترانه رشد می‌کند که در میان آنها مرزه تابستانه (*Satureja hortensis*) و مرزه زمستانه (*S. montata*) عمدتاً مورد کشت قرار می‌گیرند (۳۱ و ۷۱). جنس مرزه در کشور ایران دارای ۱۴ گونه می‌باشد که نه گونه از آن انحصاری است (۳۰). در طب سنتی از مرزه به‌عنوان داروی گیاهی ضد اسهال، ضد نفخ، ضد دل درد، ضد تشنج، ضد انگل، هاضم، محرک و مقوی معده، خواب‌آور، خلط‌آور و مسکن استفاده می‌شود (۵، ۴۵، ۵۸). محققان ترکیبات فنلی، تیمول و کارواکرول را جزء ترکیبات اصلی مرزه تابستانه معرفی کرده‌اند (۶).

اولین بار براسینواستروئیدها از دانه گرده گیاه کلزا توسط گراو و همکاران (۱۹۷۹) استخراج و به‌عنوان ششمین گروه از مواد تنظیم کننده رشد گیاهی در نظر گرفته شد (۱۹، ۴۰، ۶۳). غلظت براسینواستروئیدها در بافت‌های مختلف گیاهی، متفاوت است و تقریباً در تمام قسمت‌های گیاه

یافت می‌شوند. بیشترین مقدار این ترکیبات در بافت‌های جوان رویشی و اندام‌های زایشی (دانه گرده و بذرهای نارس) مشاهده شده است (۲۶ و ۶۹). این هورمون‌ها علاوه بر اینکه محرک رشد هستند، نقش مهمی در سایر فرآیندهای نموی از قبیل جوانه‌زنی بذر، ریشه‌زایی، گلدهی، زوال، ریزش و رسیدگی ایفا می‌کنند (۵۳). همچنین براسینواستروئیدها، به‌عنوان گروه مهمی از هورمون‌های استروئیدی، می‌توانند به افزایش تحمل گیاهان به‌ویژه با تقویت سیستم آنتی اکسیدانی و هومئوستازی یونی کمک شایانی نمایند (۴۲). این ترکیبات با تنظیم سیستم آنتی اکسیدانی گیاه، پتانسیلی قوی را در تعدیل بسیاری از تنش‌ها دارند. به‌دلیل اینکه فعالیت بیولوژیکی ۲۴-اپی براسینولید زیاد و استحصال آن نیز نسبتاً ساده است، یک ترکیب مشابه براسینولید بوده و قابلیت استفاده به‌عنوان یک براسینولید مصنوعی را دارد (۶۶).

استفاده از ۲۴-اپی براسینولید وزن تر و خشک گیاه چغندر قند را افزایش داده است (۵۴). محققان نشان دادند که استفاده از ۲۴-اپی براسینولید در گیاه شمعدانی عطری باعث افزایش سرعت فتوسنتز برگ‌ها و در نهایت افزایش تجمع زیست توده اندام هوایی و افزایش رشد می‌شود. افزایش سرعت فتوسنتز مربوط به افزایش شاخص کلروفیل برگ‌ها، نتیجه استفاده از این هورمون گزارش شده است (۶۱). استفاده از براسینولید موجب افزایش سطح برگ گیاه خیار، گوجه فرنگی، ماش و لوبیا چشم بلبلی شده است (۱۶، ۳۴، ۵۶، ۷۰). سنگاپتا و همکاران (۲۰۱۱) اعلام نمودند محلول‌پاشی براسینولید موجب افزایش ارتفاع بوته ماش گردید که به افزایش بیوسنتز اکسین و جیبرلین توسط براسینولید نسبت داده شده است (۵۶). گزارش شده است که میزان اسانس گیاه رزماری در نتیجه کاربرد براسینولید به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است (۶۲).

از پاسخ‌های بیوشمیایی گیاه در شرایط تنش، می‌توان به تجمع متابولیت‌هایی اشاره کرد که قابلیت انحلال داشته ولی متابولیسم طبیعی گیاه را مختل نمی‌کنند. این مواد به اسمولیت‌ها معروف هستند و شامل قندهای محلول، قند-های الکلی، بتائین‌ها، اسیدهای آمینه مانند پرولین و اسید-های آلی می‌باشند (۶۰ و ۶۷). پرولین به مقدار زیادی در گیاهان عالی وجود دارد که در پاسخ به تنش‌های محیطی به‌صورت طبیعی و در مقادیر بالا تجمع پیدا می‌کند. علاوه بر نقش آن به‌عنوان اسمولیت، پرولین در پایدار سازی ساختارهای ریز سلولی مانند غشاها و پروتئین‌ها و تخریب رادیکال‌های آزاد در شرایط تنش نقش دارد. در گیاهان، پیش‌ساز بیوسنتز پرولین، گلوتامیک اسید است. دو آنزیم پیرولین-۵-کربوکسیلات سنتتاز و پیرولین-۵-کربوکسیلات ردوکتاز نقش مهمی در بیوسنتز پرولین دارند (۱۷، ۲۸، ۶۴). مقدار پرولین آزاد در گیاهانی که در حد مطلوب آبیاری می‌شوند، بسیار کم و در حدود ۰/۶-۰/۲ میلی‌گرم در گرم ماده خشک گیاه است، اما مقدار این ماده پس از کاهش آب بافت‌ها تا ۵۰-۴۰ میلی‌گرم در هر گرم ماده خشک، افزایش می‌یابد (۳۶). تجمع پرولین در طی تنش، نقش محافظتی چندگانه داشته و افزایش تجمع آن در گیاهان، منجر به محافظت از غشاهای سلولی شده و از آسیب به آنزیم‌ها در تنش‌های مختلف جلوگیری می‌کند (۱۷، ۳۳، ۴۸، ۴۹). همچنین پرولین به‌عنوان ماده‌ای محلول، سبب تنظیم فشار اسمزی، کاهش هدر رفت آب از سلول، حفظ آماس سلولی، پایداری شکل طبیعی پروتئین‌ها و حفاظت غشاء می‌شود (۲۲). در شرایط معمول، پرولین پنج درصد از کل اسیدهای آمینه گیاه را تشکیل می‌دهد، اما در شرایط تنش این مقدار تا ۸۰ درصد هم می‌رسد (۱۸).

محلول‌پاشی پنج میلی‌مولار پرولین در گل رز سبب افزایش محتوای پرولین و افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز شد و عمر پس از برداشت را تا سه روز افزایش داد (۴۳). در انگور، محلول‌پاشی پرولین به طور قابل توجهی محتوی پرولین را بالا برد. همچنین استفاده از پرولین، سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز شد (۵۲).

هدف از انجام این پژوهش، بررسی تأثیر محلول‌پاشی پرولین و ۲۴-اپی براسینولید بر شاخص‌های رشد و صفات بیوشیمیایی گیاه مرزه تابستانه در شرایط گلخانه‌ای بود.

مواد و روشها

این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه اراک و به‌صورت اسپلیت پلات (کرت‌های خرد شده) در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بر روی گیاه مرزه تابستانه، در طی زمستان سال ۱۳۹۵ و بهار سال ۱۳۹۶ اجرا گردید. در این آزمایش، محلول‌های آبی ۲۴-اپی براسینولید و پرولین به‌ترتیب با غلظت یک میکرومولار و ۲۰ میلی‌مولار تهیه شد. همچنین از توین ۲۰ به‌عنوان یک سورفاکتانت (ماده فعال سطحی) برای افزایش جذب سطحی ۲۴-اپی براسینولید و پرولین استفاده گردید و گیاهان شاهد محلول‌پاشی نشدند. محلول‌پاشی در صبح‌ها و با استفاده از آب فشان دستی صورت گرفت.

تیمار محلول‌پاشی: محلول‌پاشی مجموعاً در سه مرحله صورت گرفت. مرحله اول در زمان رشد رویشی و زمانیکه ارتفاع گیاهان به ۱۵-۱۰ سانتی‌متر رسید، انجام شد. مرحله دوم محلول‌پاشی در ابتدای ورود گیاهان به فاز زایشی و با مشاهده اولین غنچه‌های گل (شروع غنچه‌دهی) و مرحله سوم محلول‌پاشی در زمانی بود که ۴۰-۳۰ درصد گیاهان غنچه دادند. برداشت گیاهان در مرحله گلدهی کامل و قبل از تشکیل بذر صورت گرفت.

شاخص‌های رشد و بیوشیمیایی: شاخص‌های رشد مورد بررسی شامل وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر و خشک برگ و گل، طول میانگره، طول برگ، تعداد شاخه‌های جانبی و قطر ساقه بودند که این صفات به روش‌های رایج اندازه گیری شدند. صفات بیوشیمیایی به شرح زیر مورد ارزیابی قرار گرفتند:

پرولین: جهت اندازه‌گیری پرولین ابتدا ۰/۱ گرم برگ تازه به همراه ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک سه درصد در یک هاون چینی کوچک به‌مدت یک دقیقه سائیده شد. محلول هموژنیزه شده توسط کاغذ صافی واتمن شماره دو صاف گردید. دو میلی‌لیتر از محلول صاف شده با دو میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال در یک لوله آزمایش مخلوط شد. نمونه‌ها به‌مدت یک ساعت در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد در حمام آب گرم قرار گرفتند و پس از سرد شدن به آنها چهار میلی‌لیتر تولوئن اضافه گردید. جذب محلول روئی نمونه‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (۲۳).

فعالیت آنتی اکسیدانی: به منظور بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها از روش رادیکال آزاد DPPH استفاده شد. بدین منظور، محلول DPPH به غلظت چهار میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول خالص تهیه گردید و پس از آن ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره‌های رقیق شده به ۲/۹ میلی‌لیتر از محلول DPPH اضافه و مخلوط ورتکس شد و سپس در شرایط بدون نور به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگه‌داری گردید و جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. درصد مهار رادیکال آزاد DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (۴۱).

$$\text{درصد مهار رادیکال‌های آزاد} = \frac{AC-AS}{AC} \times 100$$

در این فرمول AC جذب شاهد و AS بیانگر جذب نوری غلظت‌های مختلف عصاره گیاه می‌باشد. برای رسم منحنی استاندارد از اسید آسکوربیک استفاده شد.

شاخص کلروفیل: مقدار نسبی سبزینگی یا کلروفیل برگ به‌صورت غیرمستقیم و بدون ایجاد تخریب در برگ‌ها، با استفاده از دستگاه کلروفیل سنج (SPAD) تعیین گردید. برای این منظور، به‌طور تصادفی میزان کلروفیل شش برگ از هر گیاه را اندازه‌گیری کرده و در نهایت با گرفتن میانگین، شاخص کلروفیل هر گیاه محاسبه شد (۳۷).

فنل کل: جهت اندازه‌گیری میزان فنل کل از روش فولین سیوکالتیو استفاده شد (۵۷). به‌منظور اندازه‌گیری فنل کل به ۴۰۰ میکرولیتر از عصاره رقیق شده، دو میلی‌لیتر معرف فولین‌سیوکالتو (۱:۱۰) و ۱۶۰۰ میکرولیتر سدیم کربنات اضافه شد. جذب مخلوط، نیم ساعت بعد در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد و از گالیک اسید جهت ترسیم منحنی استاندارد استفاده گردید.

فلاونوئید: از روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید برای تعیین مقدار فلاونوئید استفاده شد (۴۴). دو میلی‌لیتر عصاره رقیق شده متانولی با دو میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید دو درصد داخل لوله آزمایش ترکیب شدند. بعد از نگه‌داری نمونه‌ها در دمای اتاق به‌مدت ۱۵ دقیقه، جذب نمونه‌ها در ۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از کوئرستین استفاده شد.

استخراج اسانس: ۱۰ گرم پودر اندام هوایی نمونه را به‌طور دقیق توزین کرده و اسانس آن به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر به‌مدت سه ساعت استخراج شد (۸).

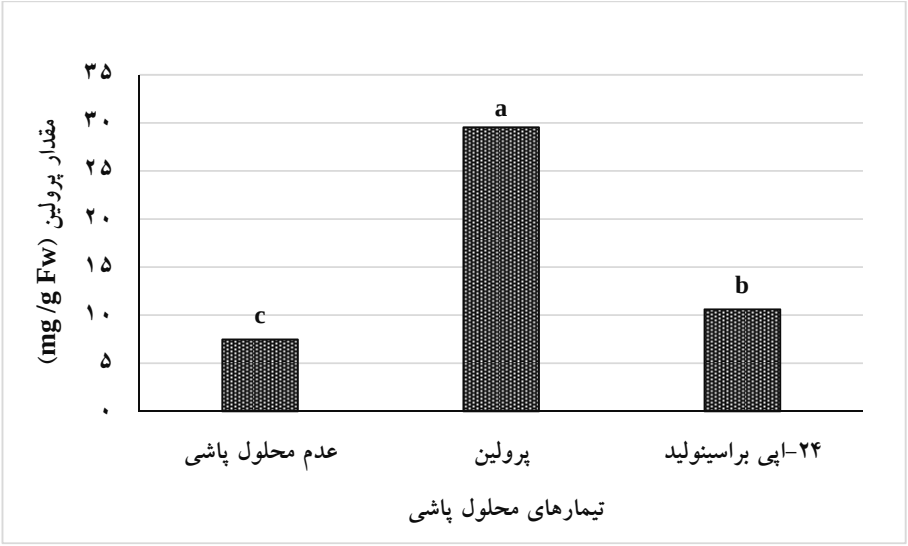
آنالیز آماری: محاسبات آماری حاصل با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و برای رسم نمودار از نرم افزار Excel استفاده گردید.

نتایج

الف: پارامترهای بیوشیمیایی

مقدار پرولین: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثر محلول‌پاشی بر مقدار پرولین در سطح یک درصد معنی‌دار شد. نتایج مقایسه میانگین اثر محلول‌پاشی بر میزان پرولین (شکل ۱) نیز نشان می‌دهد که در تیمار محلول‌پاشی پرولین، مقدار پرولین گیاه با ۲۹/۵۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر در مقایسه با تیمار عدم محلول‌پاشی با ۳۹۴/۴ درصد و در مقایسه با تیمار محلول‌پاشی با ۲۴-اپی براسینولید با ۲۷۴/۴ درصد برتری معنی‌دار داشته است.

فعالیت آنتی اکسیدانی: با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر محلول‌پاشی بر فعالیت آنتی اکسیدانی در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱).



شکل ۱- تاثیر تیمارهای محلول‌پاشی بر مقدار پرولین

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی پرولین و ۲۴- اپی براسینولید بر صفات بیوشیمیایی مرزه تابستانه.

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		مقدار پرولین	فعالیت آنتی اکسیدان	شاخص کلروفیل	فنل کل	فلاونوئید	محتوی اسانس	عملکرد اسانس
تیمار	۲	۲۹۹۰/۴۸**	۵۱۶۸/۳۰**	۱۱۴۰/۱۶*	۳۱/۶۶**	۱۱/۴۷**	۰/۱۴**	۰/۰۰۸**
خطای آزمایشی	۲۸	۲/۵۹	۴۲/۲۷	۱۲/۲۴	۱/۰۶	۰/۸۵	۰/۰۳	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات (درصد)	-	۱۰/۱۳	۶/۰۰	۹/۷۱	۶/۰۱	۱۷/۶۹	۱۰/۹۸	۱۴/۶۷

**: معنی‌دار در سطح یک درصد *: معنی‌دار در سطح پنج درصد و ns: عدم تاثیر معنی‌دار

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی پرولین و ۲۴- اپی براسینولید بر شاخص‌های رشد مرزه تابستانه.

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		وزن تر اندام هوایی بونه	وزن خشک اندام هوایی بونه	وزن تر برگ و گل	وزن خشک برگ و گل	قطر ساقه	طول میانگره	طول برگ	تعداد شاخه‌های جانبی
تیمار	۲	۶۷/۵۹**	۸/۲۷**	۱۶/۴۶**	۲/۳۴**	۲/۶۷**	۱۰۹/۴۸**	۳۳/۲۷ns	۴/۰۰ns
خطای آزمایشی	۲۸	۱/۹۶	۰/۶۲	۰/۵۹	۰/۲۳	۰/۶۱	۰/۷۶	۱۴/۸۶	۵/۶۸
ضریب تغییرات (درصد)	-	۳/۴۳	۶/۴۰	۳/۱۸	۷/۶۹	۱۴/۹۶	۳/۶۸	۹/۴۳	۸/۹۷

**: معنی‌دار در سطح یک درصد *: معنی‌دار در سطح پنج درصد و ns: عدم تاثیر معنی‌دار

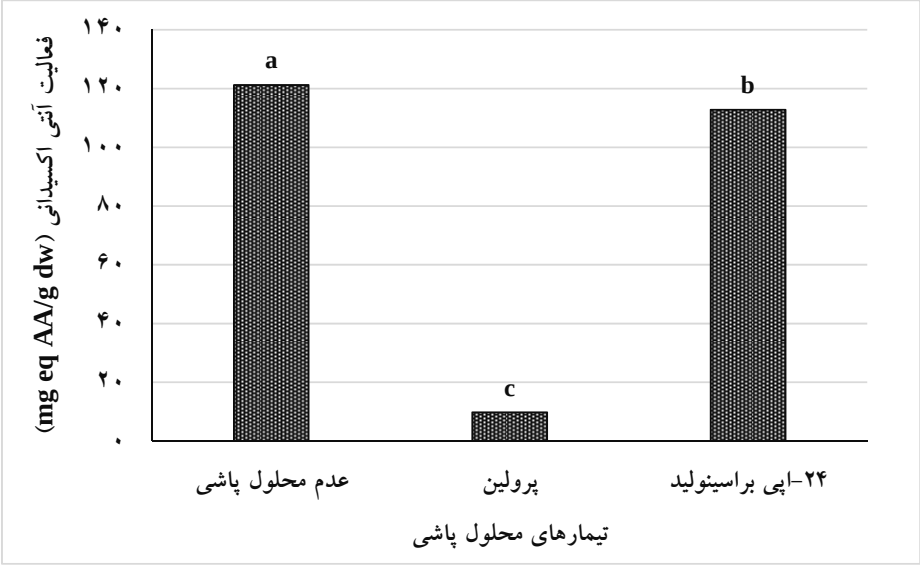
نتایج مقایسه میانگین اثر محلول‌پاشی بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی (شکل ۲) نشان داد که در تیمار عدم محلول-پاشی، فعالیت آنتی اکسیدانی با ۱۲۱/۲۰ میلی‌گرم معادل آسکوربیک اسید بر گرم وزن خشک نسبت به تیمار محلول‌پاشی پرولین با ۳۳/۵ درصد و در مقایسه با تیمار محلول‌پاشی با ۲۴-اپی براسینولید با ۷/۴ درصد برتری معنی‌دار داشته است.

شاخص کلروفیل: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول۱) نشان داد که تاثیر محلول‌پاشی بر شاخص کلروفیل در سطح پنج درصد معنی‌دار گردید. نتایج مقایسه میانگین اثر محلول‌پاشی بر شاخص کلروفیل (شکل ۳) نشان داد که محلول‌پاشی پرولین با ۳۶/۶۲ فقط نسبت به تیمار عدم محلول‌پاشی با ۴/۸ درصد برتری معنی‌دار داشته است.

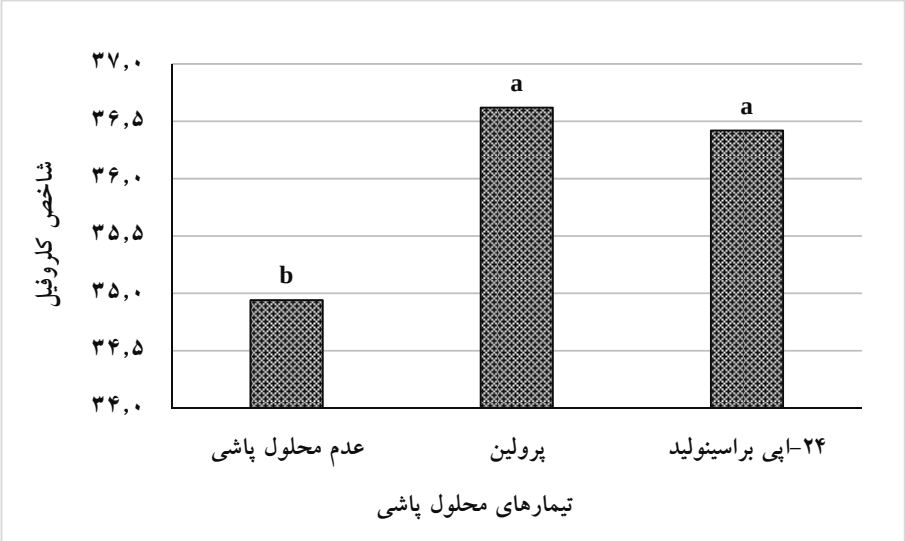
فنل کل: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر محلول‌پاشی بر مقدار فنل کل در سطح یک درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر محلول‌پاشی بر مقدار فنل کل (شکل ۴) مشخص نمود که تیمار محلول-پاشی ۲۴- اپی براسینولید بالاترین میزان فنل کل را با مقدار ۱۸/۲۹ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم وزن خشک ایجاد کرده و نسبت به تیمار عدم محلول‌پاشی با ۱۵/۳۲ درصد و نسبت به تیمار محلول‌پاشی پرولین با پنج درصد برتری معنی‌دار نشان داده است.

فلاونوئید: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که تاثیر محلول‌پاشی بر میزان فلاونوئید در سطح یک درصد معنی‌دار بوده است. مطابق با مقایسه میانگین اثر محلول‌پاشی بر میزان فلاونوئید (شکل ۵)، تیمار محلول-پاشی پرولین بالاترین میزان فلاونوئید را با ۶/۰۱ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک داشته است که نسبت تیمار عدم محلول‌پاشی با ۱۸ درصد و نسبت به تیمار محلول‌پاشی با ۲۴-اپی براسینولید، با ۳۲ درصد برتری معنی‌دار داشته است.

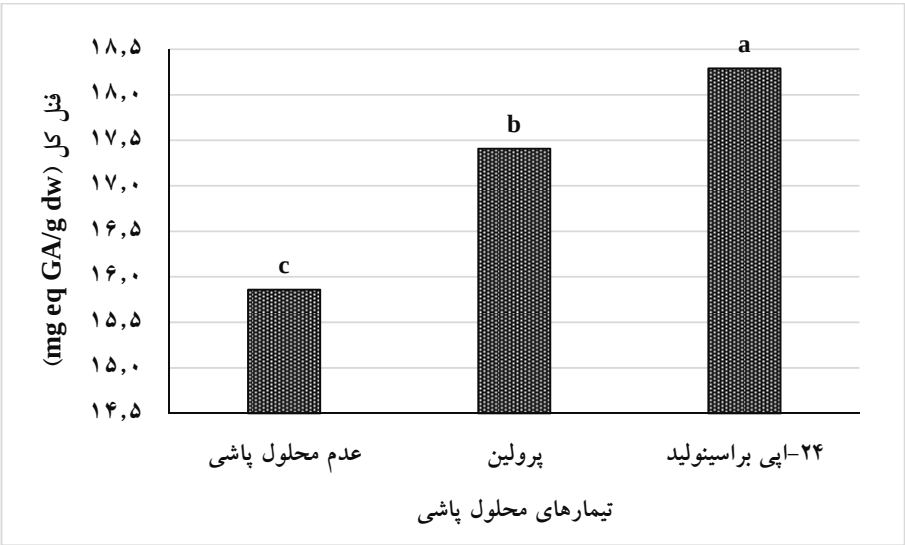
درصد و عملکرد اسانس: تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان داد که تاثیر محلول‌پاشی بر درصد و عملکرد اسانس در سطح یک درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین اثر محلول‌پاشی بر درصد اسانس (شکل ۶) نیز نشان داد که در تیمار محلول‌پاشی با پرولین، محتوی اسانس با ۱/۶۶ درصد در مقایسه با تیمار محلول-پاشی ۲۴-اپی براسینولید با ۱۰/۷ درصد برتری معنی‌دار داشته است.



شکل ۲- تاثیر تیمارهای محلول‌پاشی بر فعالیت آنتی اکسیدانی



شکل ۳- تاثیر تیمارهای محلول‌پاشی بر شاخص کلروفیل



شکل ۴- تاثیر تیمارهای محلول‌پاشی بر مقدار فنل کل

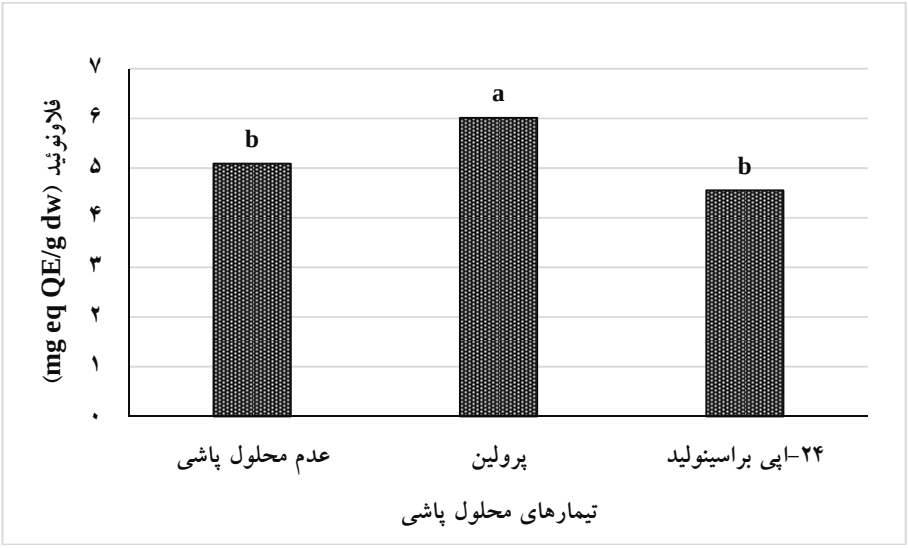
همچنین در تیمار محلول‌پاشی با پرولین، عملکرد اسانس با ۰/۲۲ سی‌سی در مقایسه با تیمار محلول‌پاشی با ۲۴-اپی براسینولید با ۲۲ درصد و در مقایسه با تیمار عدم محلول-پاشی با ۱۵/۸ درصد برتری معنی‌دار داشته است (شکل ۷).

ب: شاخص‌های رشد

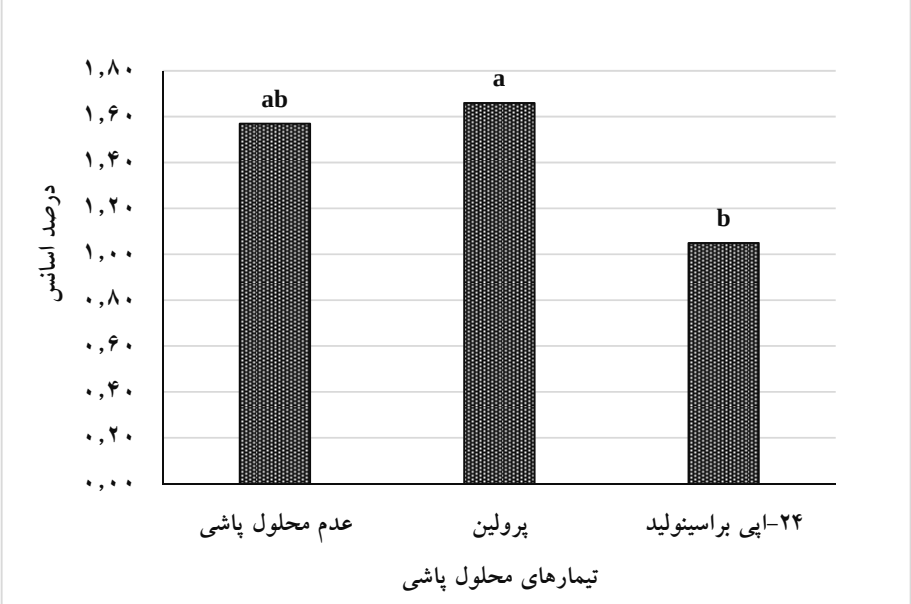
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که تیمارهای محلول‌پاشی با پرولین و ۲۴-اپی براسینولید نسبت به تیمار عدم محلول‌پاشی تأثیر معنی‌داری را بر صفات طول برگ و تعداد شاخه‌های جانبی نداشته است، در حالیکه بر روی بقیه صفات نظیر وزن تر و خشک اندام هوایی بوته، وزن تر و خشک برگ و گل، طول میانگره و قطر ساقه تاثیر معنی‌داری به شرح زیر داشته‌اند:

وزن تر و خشک اندام هوایی بوته: تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان می‌دهد که تاثیر محلول‌پاشی بر وزن خشک و تر اندام هوایی در سطح یک درصد معنی‌دار بوده است. نتایج مقایسه میانگین اثر محلول‌پاشی بر وزن تر و خشک اندام هوایی بوته مشخص کرد که

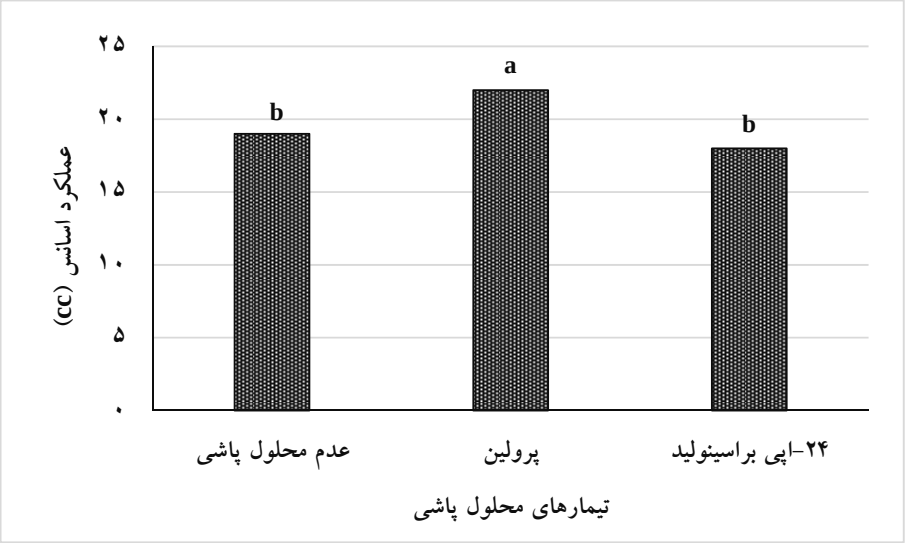
وزن تر اندام هوایی در تیمار محلول‌پاشی پرولین با ۴۲/۹۰ گرم نسبت به محلول‌پاشی۲۴-اپی براسینولید با ۷/۷ درصد و نسبت به عدم محلول‌پاشی با ۸ درصد برتری معنی‌دار داشته است (شکل ۸). همچنین وزن خشک اندام هوایی در تیمار محلول‌پاشی پرولین با ۱۳ گرم نسبت به محلول-پاشی۲۴-اپی براسینولید با ۱۰ درصد و نسبت به عدم محلول‌پاشی با ۷/۸ درصد برتری معنی‌دار داشته است (شکل ۸).



شکل ۵- تاثیر تیمارهای محلول‌پاشی بر مقدار فلاونوئید



شکل ۶- تاثیر تیمارهای محلول‌پاشی بر درصد اسانس



شکل ۷- تاثیر تیمارهای محلول‌پاشی بر عملکرد اسانس

شکل ۸- تاثیر تیمارهای محلول‌پاشی بر وزن تر و خشک اندام هوایی

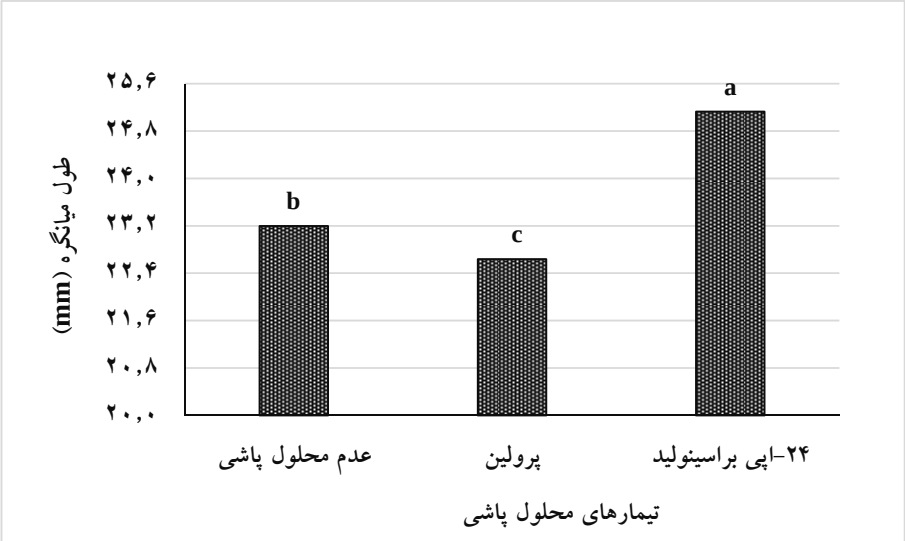
قطر ساقه: تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که اثر محلول‌پاشی بر قطر ساقه در سطح یک درصد معنی‌دار شده است. نتایج مقایسه میانگین اثر محلول‌پاشی بر قطر ساقه (شکل ۱۱) نیز نشان داد که بالاترین مقدار قطر ساقه با ۵/۴۹ میلیمتر مربوط به محلول‌پاشی با پرولین بوده است که نسبت به تیمار محلول‌پاشی۲۴-اپی براسینولید با ۶/۲ درصد و نسبت به عدم محلول‌پاشی با ۷/۴ درصد برتری معنی‌دار داشته است.

بحث و نتیجه گیری

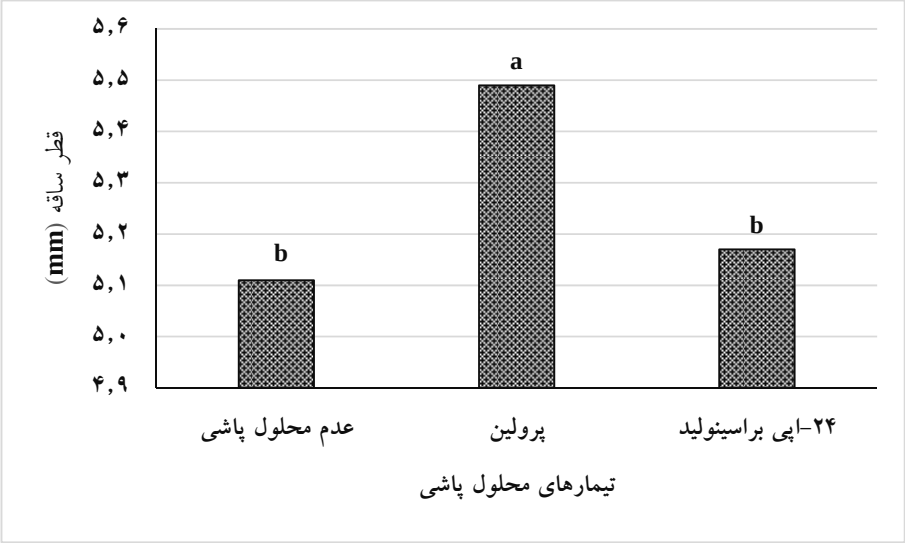
کاربرد بیرونی پرولین در شرایط تنش خشکی باعث افزایش غلظت درون سلولی آن شده و می‌تواند نقش مهمی در افزایش مقاومت گیاهان به تنش داشته باشد (۱۷). بنابراین، برای افزایش مقاومت گیاه به تنش، پرولین می‌تواند به‌صورت برون‌زا مورد استفاده قرار گیرد (۱۷). نتایج پژوهش‌های محققین مختلف در زمینه محلول‌پاشی در گیاهان انگور (۱۰ و ۵۲)، گل رز (۴۳) و یونجه (۳۵) نشان

داد که مقدار پرولین در اثر محلول‌پاشی افزایش داشته است. در این پژوهش نیز محلول‌پاشی با پرولین باعث افزایش قابل توجه (چند صد درصدی) این اسیدآمینه مهم گیاهی شد (شکل ۱) که با نتایج محققین فوق مطابقت دارد. بنابراین، می‌توان استنباط نمود که از طریق محلول-پاشی با پرولین و تجمع قابل توجه آن در گیاه، می‌توان از آن برای مقابله با تنش‌های محیطی به ویژه تنش خشکی استفاده نمود. علی و همکاران (۲۰۰۷) اعلام نمودند محلول‌پاشی پرولین باعث افزایش بیوسنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی و حفاظت از رنگدانه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش می‌شود. علاوه بر این، محلول‌پاشی پرولین در گیاهان باعث افزایش هدایت روزنه‌ای شده و میزان دی‌اکسیدکربن را در فضای روزنه افزایش می‌دهد که به‌دنبال آن میزان فتوسنتز گیاه افزایش یافته و افزایش عملکرد را به‌دنبال خواهد داشت (۱۵).

شکل ۹- تاثیر تیمارهای محلول‌پاشی بر وزن تر و خشک برگ وگل



شکل ۱۰- تاثیر تیمارهای محلول‌پاشی بر طول میانگره



شکل ۱۱- تاثیر تیمارهای محلول‌پاشی بر قطر ساقه

همچنین محققین دیگر اعلام نمودند استفاده از ۲۴- اپی براسینولید سبب افزایش کلروفیل در گل رازقی (۱۴)، باعث بهبود فتوسنتز و افزایش میزان کلروفیل در گیاه شعمدانی (۶۱) و افزایش کلروفیل در جلبک تک سلولی شده است (۲۰). علاوه بر این، محمد زمانی و همکاران (۱۳۹۳) نشان دادند که محلول‌پاشی ۱۰ میلی‌مولار پرولین در انگور تحت شرایط تنش خشکی، باعث افزایش میزان کلروفیل گردیده است (۱۰). نتایج حاصل از این پژوهش نیز نشان داد که استفاده از پرولین و ۲۴-اپی براسینولید هر دو باعث افزایش کلروفیل گردید و نسبت به تیمار عدم محلول‌پاشی (شاهد)، برتری معنی‌دار نشان داده‌اند (شکل ۳) که به نتایج محققین فوق مطابقت دارد.

ترکیبات فنلی جزء ترکیبات اصلی اندام‌های مختلف گیاهان خانواده نعناع و از جمله مرزه تابستانه معرفی شده‌اند (۲، ۶، ۹). وجود این ترکیبات، نوعی پاسخ دفاعی در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی هستند و بسیاری از آنها به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کرده و می‌توانند به‌طور مؤثری رادیکال‌های گروه هیدروکسیل و پروکسیل را حذف کرده و از اکسید شدن چربی‌ها جلوگیری نمایند (۲۴ و ۳۸). نتایج بررسی‌های محققین نشان داده است که تحت تاثیر شرایط تنش خشکی، ترکیب‌های فنلی در گیاه زیتون (۴۷)، آویشن (۳)، فلفل (۲۹) مرزنجوش شیرین (۵۱)، مرزنجوش (۵۰) و اکالیپتوس (۵۵) افزایش یافته است. اگرچه به‌طور مستقیم نتایج تحقیقاتی در زمینه تاثیر محلول‌پاشی ۲۴- اپی براسینولید بر میزان ترکیبات فنلی گیاه مرزه تابستانه بدست نیامد، ولی در برخی از منابع بر تأثیر کاربرد بیرونی براسینواستروئیدها بر افزایش تولید ترکیبات آنتی اکسیدانی و بهبود شرایط گیاه در مقابله با تنش‌های محیطی، تاکید شده است (۲۴ و ۴۶). همچنین، محققین در پژوهشی نشان دادند که براسینولید در غلظت ۶ میکرومولار، بیشترین تاثیر را در افزایش میزان فنل در میوه‌های گوجه فرنگی داشته است (۷). علاوه بر این، احمدی و همکاران (۱۳۸۴) استفاده از ۲۴- اپی براسینولید در گیاه کلزا باعث کاهش معنی‌دار مقدار پراکسیداسیون لیپیدها تحت شرایط تنش کم آبی گردید که نشان دهنده کاهش مقدار خسارت اکسیداتیو در این گروه بوده است (۱). افزایش ترکیبات فنلی ناشی از کاربرد ۲۴-اپی براسینولید بیانگر نقش آن در افزایش تولید ترکیب‌های آنتی اکسیدانی و به‌ویژه ترکیبات فنلی است. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش بیانگر آن است که استفاده از تیمار محلول‌پاشی ۲۴- اپی براسینولید موجب افزایش‌معنی‌دار فنل کل در گیاه مرزه تابستانه شده است (شکل ۴). از طرف دیگر،

بررسی‌های پژوهشگران نشان داده است که فلاونوئیدها با کاهش سیالیت غشاها، آنها را نسبت به عوامل اکسیداتیو مقاوم کرده و از انتشار رادیکال‌های آزاد از خلال آنها جلوگیری می‌کنند (۳۲). بررسی‌های انجام شده در این پژوهش مشخص نمود که تیمار محلول‌پاشی پرولین موجب افزایش‌معنی‌دار میزان فلاونوئید در این گیاه شده است (شکل ۵).

کریما و همکاران (۲۰۰۵) طی تحقیقی در خصوص تأثیر برخی از اسید آمینه‌ها بر رشد و درصد اسانس گیاه بابونه اعلام نمودند که محلول‌پاشی پرولین در شرایط تنش خشکی به‌طور قابل توجهی درصد و عملکرد اسانس را در گیاهان بابونه افزایش داده است (۳۹). در این آزمایش نیز بکار بردن پرولین موجب افزایش درصد اسانس (شکل ۶) و افزایش معنی‌دار عملکرد اسانس (شکل ۷) نسبت به شاهد شده است.

داود و همکاران (۲۰۱۴) اعلام نمودند که افزایش وزن تر گیاه در اثر کاربرد خارجی پرولین ممکن است به علت نقش فعال آن در تنظیم فشار اسمزی باشد که به نوبه‌ی خود جذب آب را افزایش داده و رشد گیاه را بهبود می-بخشد (۲۷). کریما و عبدالواحد (۲۰۰۵) در آزمایشی دریافتند که محلول‌پاشی اسیدهای آمینه‌ها از جمله پرولین باعث افزایش قابل توجه ارتفاع بوته، تعداد شاخه‌های فرعی، وزن تر و خشک گیاه بابونه می‌شود (۳۹). حیات و همکاران (۲۰۱۲) گزارش دادند که استفاده از پرولین در محیط کشت تحت شرایط تنش شوری، موجب افزایش وزن خشک در یونجه شده است (۳۵). بررسی‌های محققین در گیاهان زیتون، لوبیا، جو و برنج تحت تنش شوری نیز نشان داد که محلول‌پاشی پرولین، پارامترهای رشدی این گیاهان را افزایش داده است (۱۱، ۱۲، ۱۳، ۶۵). نتایج حاصل از این آزمایش نیز بیانگر آن است که محلول-پاشی پرولین موجب افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد نسبت به شاهد گردید (شکل‌های ۸، ۹ و ۱۱).

بررسی کلی نتایج حاصل از این آزمایش نشان می‌دهد که محلول‌پاشی پرولین موجب افزایش معنی‌دار پرولین به میزان ۳۹۴/۴ درصد، شاخص کلروفیل به میزان ۴/۸ درصد، فنل کل به میزان ۹/۸ درصد، فلاونوئید به میزان ۱۸ درصد، افزایش عملکرد اسانس به میزان ۱۵/۸ درصد، افزایش وزن تر اندام هوایی به میزان ۸ درصد، افزایش وزن خشک اندام هوایی به میزان ۷/۸ درصد، وزن تر برگ و گل به میزان ۶/۸ درصد، وزن خشک برگ و گل به میزان ۸ درصد، قطر ساقه به میزان ۷/۴ درصد نسبت به شاهد (عدم محلول-پاشی) شده است. همچنین محلول‌پاشی پرولین فقط موجب افزایش درصد اسانس به میزان ۵/۷ درصد، تعداد شاخه جانبی به میزان ۲ درصد شده است. با توجه به اثرات بسیار مهم این اسید آمینه در گیاهان به ویژه در ایجاد مقاومت در زمان تنش خشکی و با در نظر داشتن اینکه ایران کشوری است نسبتاً خشک و با بارندگی کم که در سال‌های اخیر هم این مشکل روند فزآینده‌ای داشته است، بنابراین استفاده از این اسید آمینه جهت مقابله با تنش خشکی و افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد و صفات بیوشیمیایی توصیه می‌شود.

منابع

۱. احمدی موسوی، ع. منوچهری کلانتری، خ. و ترکزاده، م. ۱۳۸۴. اثر نوعی براسینواستروئید (24-epibrassinolide) بر مقدار تجمع مالون دآلدئید، پرولین، قند و رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) تحت تنش کم آبی. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران). ۱۸ (۴): ۳۰۶-۲۹۵.

۲. امید بیگی، ر. ۱۳۹۲. تولید و فرآوری گیاهان دارویی (جلد چهارم). با بازنگری کامل، انتشارات آستان قدس رضوی. ۴۲۳ صفحه.

۳. بابایی، ک. امینی دهقانی، م. مدرس سانوی، م.و. جباری، ر. ۱۳۸۸. اثر تنش کم آبی بر روی مورفولوژی، محتوای پرولین و

درصد تیمول آویشن (*Thymus vulgaris* L.). مجله گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۶ (۲): ۲۵۱-۲۳۹.

۴. جم زاد، ز. ۱۳۸۷. گونه‌های آویشن و مرزه در ایران. موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع. ۷۸-۱۳۲.

۵. سفید کن، ف. عسکری، ف. صادق¬زاده، ل. و اولیا، پ. ۱۳۸۷. اثرات ضد میکروبی اسانس (*satureja mutica*)، (*s.edmondi*) و (*S.bachtiarica*) علیه (*Salmonella paratifi*). مجله زیست شناسی ایران. ۲۲ (۲): ۲۵۸-۲۴۹.

۶. سفیدکن، ف. صادق‌زاده، ل. تیموری، م. عسگری، ف. و احمدی، ش. ۱۳۸۶. بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس دو گونه مرزه در دو مرحله برداشت. فصلنامهٔ علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۳ (۲): ۱۷۴-۱۸۲.

۷. سلیمانی اقدم، م. و اصغری، م. ۱۳۹۳. کاهش سرمازدگی پس از برداشت میوه گوجه فرنگی با تیمار براسینواستروئید. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران). ۲۷ (۳): ۴۳۹-۴۲۸.

۸. طهامی، س. رضوانی مقدم، پ. و جهان، م. ۱۳۸۸. مقایسه اثر کودهای آلی و شیمیایی بر عملکرد و درصد اسانس ریحان (*Ocimum basilicum* L.). اکولوژی کشاورزی. ۲: ۸۲-۷۰.

۹. لاری یزدی، ح. ۱۳۸۴. بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس برگ و گل دو گونه مریم گلی جمع آوری شده از بروجرد. فصلنامه گیاهان دارویی. ۱۶ (۲): ۱۷-۱۳.

۱۰. محمدزمانی م. ربیعی، و. نجاتیان، م. و طاهری، م.۱۳۹۳. تأثیر کاربرد خارجی پرولین و گلایسین بتائین بر تغییرات بیوشیمیایی در انگور در وضعیت تنش خشکی. دانشگاه تهران، به زراعی کشاورزی. ۱۶ (۲): ۲۵۸-۲۴۷.

11. Abdelhamid, M.T. Rady, M.M. Osman, A.S. and Abdalla. M.A. 2013. Exogenous application of proline alleviates salt-induced oxidative stress in *Phaseolus vulgaris* plants. J. Hortic. Sci. Biotech. 88: 439-446.

12. Agami, R.A. 2014. Applications of ascorbic acid or proline increase resistance to salt stress in barley seedlings. Biol. Plantarum. 58: 341-347.

13. Ahmed, C.B. Rouina, B.B. and Sensoy, S. 2010. Exogenous proline effects on photosynthetic performance and anti-oxidant defense system of young olive tree. J. Agr. Food Chem. 58: 4216-4222.

14. Akram, A. Aslan Khan, M. Yonis, A. and Ashfagh, M. 2014. Exogenous application of 24-epibrassinolid on morphological, biochemical attributes and essential oil contents of (*Jasminum sambac* L.). Pakistan Journal of Agricultural Sciences. 51: 881-886

15. Ali, Q. Ashraf, M. and Athar H.R. 2007. Exognously applied proline at different growth stges enhances growth of two maize cultivars grown under water deficit conditions. Pakistan Journal of Botany. 39: 1133-1144.

16. Asha, A. and Lingakuma, K. 2015. Effect of 24-epibrassinollide on the morphological and biochemical constitutions (*Vigna unguiculata* L.) seedlings. Indian Journal of Scientific Research and Technology. 3(1): 35-39.

17. Ashraf, M. and Foolad, M.R. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany. 59: 206–216.

18. Aspinall, D. and Paleg, L.G. 1981. Proline accumulation: Physiological aspects. In: The physiology and biochemistry of drought resistance in plants, academic Press, Paleg, L. G. and Aspinall, D. (Eds.). Sydney. pp: 205-241.

19. Bajgaz, A. and Tretyn, A. 2003. The chemical characteristic and distribution of brassinosteroids in plants. Phytochemistry. 62: 1027-1040.

20. Bajguz, A. and Czerpak, R. 1998. Physiological and biochemical role of brassinosteroids and their structure activity relationship in the green alga (*Chlorella vulgaris*) Beijerinck (Chlorophyceae). Plant Growth Regulation. 171:131-139

21. Bajguz, A. and Hayat, S. 2009. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. Plant Physiology and. Biochemistry. 47: 1-8.

22. Barker, D.J. Sullivan, C.Y. and Moser, L.E. 1993. Water deficit effects on osmotic potential, cell wall elasticity and proline in five forage grasses. Agronomy, 85: 270-275.

23. Bates, L.S. Waldren, R.P. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil. 39: 205-208.

24. Boscaiu, M. Sanchez, M. Bautista, I. Donat, P. Lidon, A. Llinares, J. Llul, C. Mayoral, O. and Vicente, O. 2010. Phenolic compounds as stress

markers in plants from gypsum habitats. Bull. UASVM Hort. 67: 44-49.

25. Cantino, P.D. Harley, R.M. and Wagstaff, S.J. 1992. Genera of Labiatae: Status and Classification. In: Harley RM and Reynolds T (Eds.). Advances in Labiatae Science. Royal Botanical Gardens, Kew. 872: 511-522.
26. Clous, S.D. and Sasse, M. 1998. Brassinosteroids: Essential Regulators of Plant Growth and Development. Annual reviews. 49: 427-451.
27. Dawood, M.G. Taie, H.A.A. Nassar, R.M.A. Abdelhamid, M.T. and Schmidhalter, U. 2014. The changes induced in the physiological, biochemical and anatomical characteristics of *Vicia faba* by the exogenous application of proline under seawater stress. South African Journal of Botany. 93: 54-63.
28. Delauney, A.J. and Verma, D.P.S. 1993. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. The Plant Journal. 215-223.
29. Estrada, B. Pomar, F. Do, A. AzJ. Merino, F. and Bernal, M.A. 1999. Pungency level in fruits of the Padron pepper with different water supply. Scientia Horticulturae. 81: 385-396.
30. Hadian, J. Asgarilajayer, H. Motesharezadeh, B. and Ghorbanpoor, M. 2015. Evaluation of changes in performance and composition of essential oil of savory (*Satureja hortensis* L.) in response to different treatments of copper and zinc. Iran Plant Biology. 7(24): 53-66.
31. Hadian, J. Tabatabaei, S.M.F. Naghavi, M.R. Jamzad, Z. and Ramak-Masoumi, R. 2008. Genetic diversity of Iranian accessions of (*Satureja hortensis* L.) based on horticultural traits and RAPD markers. Scientia Horticulture. 115: 196-202.
32. Harborne, J.B. and Williams, C.A. 2000. Advances in flavonoid research since. Phytochem. 55: 481-504.
33. Hasegawa, P.M. Bressan, R.A. Zhu, J.K. and Bohnert, H.J. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. Annual Review of Plant Biology. 51: 4: 63-99.
34. Hayat, S. Alyemeni, M.N. and Hasan, S.A. 2012a. Foliar spray of brassinosteroid enhances yield and quality of (*Solanum lycopersicum)* under cadmium stress. Saudi Journal of Biological Sciences. 19: 325-335.
35. Hayat, S. Hayat, Q. Alyemeni, M.N. Wani, A.S. Pichtel, J. and Ahmad, A. 2012b. Role of proline under changing environments: a review. Plant Signal. Behav. 7: 1456-1466.
36. Heuer, B. 2003. Influence of exogenous application of proline and glycinebetaine on growth of salt-stressed tomato plants. Plant Science. 165: 693-699.
37. Hill, J. Verheggen, F. Roelvink, P. Fernssen, H. Vankammen, A. and Zabel, K. 1985. Bleomcin resistance: A new dominant selectable marker for plant cell transformation. Plant Molecular Biology. 7: 171-176.
38. Hirt, H. and Shinozaki, K. 2004. Plant responses to abiotic stress. Springer Verlag, Netherlands. 302pp.
39. Karima, M. Gamal EL-DIN, K.M. Abdel-wahed, M.S.A. 2005. Effect of some amino acids on growth and essential oil content of chamomile plant. International of Journal of Agriculture and Biology. 15 (3): 376-380.
40. Khripach, V.A. Zhabinskii, V.N. and Groot, A.E. 1998. Brassinosteroids: A New Class of Plant Hormones. Acadamic press. United States of America. 460pp.
41. Kontogiorgis, C.A. and Hadjipavlou-Litina, D.J. 2005. Synthesis and antiinflammatory activity of coumarin derivatives. Medicinal Chemistry. 48: 6400-6408.
42. Krishna, P. 2003. Brassinosteroid-mediated stress responses. Plant Growth Regulation. 22: 353-364.
43. Kumar, N. Pal, M. Singh, A. Sairam, R.K. and Srivasatava, G.C. 2010. Exogenous proline alleviates oxidative stress abd increase vase life in rose (*Rosa hybrida* L. Grand Gala). Scientia Horticulturae. 127: 79-85.
44. Lamaison, J.L. and Carnat, A. 1990. Content of principal flavonoids of the flowers and leaves of *Crataegus monogyna* Jacq. and *Crataegus laevigata* (Poiret) DC. (Rosaceae). Pharm Acta Helv. 65:315–320.
45. Leake, G. Gaspar, F. and Santos, R. 2003. The effect of water on the solubility of essential oils in dense CO_2. Journal of Essential oil Research. 15(3): 172-177.
46. Mittler, R. 2006. Abiotic stress, the field environment and stress combination.Trends in Plant Science. 11: 15–19
47. Morello, J.R. Romero, M.P. Ramo, T. Motilva, M.J. 2005. Evaluation of L-phenylalanine ammonia-lyase activity and phenolic profile in olive drupe (*Olea europaea* L.) from fruit

setting period to harvesting time. Plant Science. 168: 65-72.

48. Okuma, E. Soeda, K. Fukuda, M. Tada, M. and Murata, Y. 2002. Negative correlation between the ratio K^+ to Na^+ and proline accumulation in tobacco suspension cells. Soil Science and Plant Nutrition. 48: 3-7.

49. Okuma, E. Soeda, K. Tada, M. and Murata, Y. 2000. Exogenous proline mitigates the inhibition of growth of (*Nicotiana tabacum*) cultured cells under saline conditions. Soil Science and Plant Nutrition. 46: 257-263.

50. Omer, E.A. 1998. Response of wild Egyptian oregano to nitrogen fertilization in sandy soil. Egyptian Journal of Horticulture. 25(3): 295-307.

51. Omer, E.A. Ouda, H.E. and Ahmad, S.S. 1994. Cultivation of sweet marjoram, (*Majorana hortenses*) in newly reclaimed lands of Egyptian Journal Herbs Spices Medicinal Plants. 2(2): 9-16.

52. Ozden, M. Demirel, U. and Kahraman, A. 2009. Effects of proline on antioxidant system in leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.) exposed to oxidative stress by H_2O_2. Scientia Horticulturae. 119: 163-168.

53. Qayyum, B. Shahbaz, M. and Akram, N.A. 2007. Interactive effect of foliar application of 24-epibrassinolide and root zone salinity on morpho-physiological attributes of wheat (*Triticum aestivum* L.). International Journal of Agriculture and Biology. 9(4): 584-589.

54. Schilling, G. Schiller, C. and Otto, S. 1991. Influence of brassinosteroid on organ retention and enzyme activities of sugarbeet plants. In: Cutler HG, Yokota T and Adam G (Eds.), Brassinosteroids. Chemistry, bioactivity and applications. American Chemica Society, Washington DC, USA. pp. 208-219.

55. Schwambach, J. Ruedell, C.M. Almeida, M.R. Penchel, R.M. Araujo, E.F. and Neto, A.G. 2008. Adventitious rooting of (*Eucalyptus glubus* ×*maidennii*) mini-cutting derived from mini-stumps grown in sand bed and intermittent flooding trays: a comparative study. New Forests. 36(3): 261-271.

56. Sengupta, K. Banik, N.C. Bhui, S. and Mitra, S. 2011. Effect of brassinolide on growth and yield of summer green gram crop. Journal of Crop and Weed. 7(2): 152-154.

57. Singleton, V.L. and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture. 16: 144–153.

58. Skocibusic, M. Bezic, N. and Dunkic, V. 2006. Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils from *Satureja subspicata* Vis. growing in Croatia. Food Chemistry. 96: 20-28.

59. Sonboli, A. Fakhari, A. Kanani, M. and Yousefzadi, M. 2004. Antimicrobia Activity, Essential Oil Composition and Micromorphology of Trichomes of (*Satureja laxiflora*). C. Koch from Iran. Verlag der Zeitschrift fur Naturforschung, Tubingen. 59: 777-781.

60. Subbarao, G.V. Nam, N.H. Chauhan, Y.S. and Johansen, C. 2000. Osmotic adjustment, water relations and carbohydrate remobilization in pigeonpea under water deficits. J. Plant Physiol. 157: 651-659.

61. Swamy, K.N. and Rao, S.S.R. 2009. Effect of 24-epibrassinolide on growth, photosynthesis, and essential oil content of (*Pelargonium graveolens* L.) Herit. Russian Journal of Plant Physiology. 56(5): 616-620.

62. Tarraf, S. and Ibrahim, M.E. 1999. Physiological response of rosemary, (*Rosmarinus officinalis* L.) plant to brassinosteroid and uniconazole. Egyptian Journal of Horticulture. 26(3): 405-419.

63. Turkan, I. 2004. Effects of 24-epibrassinolide on seed germination, seedling growth, lipid peroxidation, prolin content and antioxidative system of rice (*Oriza sativa* L.) under salinity stress. Plant growth Regulation. 42: 203-211.

64. Ünyayar, S. Keleş, Y. and ünal, E. 2004. Proline and ABA levels in two sunflower genotypes subjected to water stress. Plant physiology. 30: 34-47.

65. Wutipraditkul, N. Wongwean, P. and Buaboocha, T. 2015. Alleviation of salt-induced oxidative stress in rice seedlings by proline and /or glycine betaine. Biol. Plantarum. 59: 1-7.

66. Xia, X.J. Huang, L.F. Zhou, Y.H. Mao, W.H. Shi, K. Wu, J.X. Asami, T. Chen, Z. and Yu, J.Q. 2009. Brassinosteroids promote photosynthesis and growth by enhancing activation of Rubisco and expression of photosynthetic genes in (*Cucumis sativus*). Planta. 230: 1185-1196.

67. Yamchi, A. Rastegari jazi, F. Ghobadi, S. Mosavi, A. and Karkhanehie, A.A. 2004. Abundant expression of *p5cs* gene with the aim

of increasing resistance to osmotic stresses in in transgenic tobacco plants. Science and Technology of Agriculture and Natural Resources. 4: 31-39.

68. Yazdanpanah, S. Baghizadeh, A. and Abbassi, F. 2011. The interaction between drought stress and salicylic and ascorbic acids on some biochemical characteristics of (*Satureja hortensis*). African Journal of Agricultural Research. 6(4): 798-807.

69. Yokota, T. and Takahashi, N. 1986. Conjugatio n of brassinosteroids. In "Conjugated Plant Hormones. Structure, Methabolism and Function. Proceeding s of the Internationa l Symposium" (Schreiber K Schtitte HRS and Sembdner G Eds.), VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin. pp. 288-296.

70. Yu, J.Q. Huang, L.F. Hu, W.H. Zhou, Y.H. Mao, W.H. Ye, S.F. and Nogues, S. 2004. A role for brassinosteroids in the regulation of photosynthesis in *Cucumis sativus*. Journal of Experimental Botany. 55: 1135-1143.

71. Zarezade A, Tabaeiaghdaei R, Mirhosseini A, Arabzadeh M and Mirjani L. 2016. Variation in yield and yield components and adaptability of Satureja species in Yazd province. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 31(6): 931-944.

The effect of proline and 24-epibrassinolide on growth indices and biochemical characteristics of the summer savory *(Satureja hortensis* L.)

Mohammadi Khalifelouiy Z., Abbasifar A.R., Khadivi A. and Akramian M.

Dept. of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Arak University, Arak, I.R. of Iran

Abstract

Proline is a common compatible osmolyte and, by osmotic regulation and protecting membranes, proteins and enzymes, protects plants towards destructive effects of osmotic stresses. Brassinosteroids are a new group of plant growth regulators and stimulate their growth. The effects of foliar spraying of proline and 24-epibrassinolide on growth indices and biochemical characteristics of summer savory (Satureja hortensis L.) were investigated in this study in greenhouse conditions. Foliar treatments including control (no spraying), proline (20 mM) and 24-epibrassinolide (1 μM) were performed in both vegetative and reproductive stages. According to the results, foliar proline led to increasing plant prolin content to 394.4%, chlorophyll index to 4.8%, total phenol to 9.8%, flavonoids to 18%, yield of essential oil to 15.8%, fresh weight of aerial parts to 8%, dry weight of aerial parts to 7.8%, fresh weight of leaf and flower to 6.8%, dry weight of leaf and flower to 8% and stem diameter to 7.4% compared to the control. In addition, 24-epibrassinolide spraying caused a significant increase in phenolic compounds (32.15%) and internode length (8.3%) of the plant in coparision to control.

Key words: 24-epibrassinolide, Proline, Content Essential oil, Summer savory