اثر جیبرلیک اسید بر سرعت واکنش هیل، رنگیزه‌های فتوسنتزی و ترکیبات فنلی در گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) در شرایط تنش خشکی

حسین عباسپور و حلیمه رضایی*

دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، گروه زیست‌شناسی

تاریخ دریافت: ۹۱/۶/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۱/۱۳

چکیده

تنش خشکی باعث تحریک تولید گونه‌های اکسیژن فعال در کلروپلاست‌های گیاهی می‌شود و گونه‌های اکسیژن فعال نیز سبب پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و تخریب غشای سلولی می‌شوند. گیاه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) یکی از گیاهان دارویی معطر است که در طب به‌عنوان التیام‌دهنده زخم و جراحت استفاده می‌شود. در این پژوهش جیبرلین با هدف کنترل استرس اکسیداتیو در تحمل به کمبود آب، بکار گرفته شد و تغییرات محتوای رنگیزه‌های برگ و ترکیبات فنلی کل بر روی گیاه بررسی شد. بدین منظور، آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب کاملاً تصادفی در ۴ تکرار اجرا گردید، که در آن عامل آبیاری در سه سطح شامل: FC (بدون تنش)، $^{2}/_{3}$FC (تنش ملایم) و $^{1}/_{3}$FC (تنش شدید) و جیبرلیک اسید در دو سطح (mM ۱۰ و ۰) در نظر گرفته شد. نتایج آزمایش نشان داد که با افزایش شدت تنش میزان کلروفیل a، b و (b+a) کاهش یافت، در حالی که مقدار فلاونوئید، آنتوسیانین و ترکیبات فنلی افزایش یافت. همچنین در اثر دهیدراتاسیون، افزایش β-کاروتن و گزانتوفیل تنها در تنش ملایم دیده شد. جیبرلیک اسید میزان کلروفیل‌ها، سرعت واکنش هیل و ترکیبات فنلی را به طور معنی‌داری افزایش داد، اما در میزان فلاونوئید و آنتوسیانین تغییر چشمگیری مشاهده نشد. بنابر نتایج بدست آمده در این پژوهش، جیبرلیک اسید خارجی توانست با مکانیسم‌های مختلفی توانایی گیاه بادرشبو را در پاسخ به تنش خشکی افزایش داده و سبب افزایش میزان فتوسنتز در گیاه شود.

واژه‌های کلیدی: بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.)، تنش خشکی، جیبرلیک اسید، فلاونوئید، سرعت واکنش هیل

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱-۳۶۰۱۲۳۸۹ پست الکترونیکی: H_Rezaee201048@yahoo.com

مقدمه

بیشتر اعضای خانواده لامیاسه (*Labiateae*) به خاطر اسانس شناخته می شوند. گونه بادرشبو متعلق به تیره لامیاسه، زیر تیره پیوسته گلبرگ، و راسته دولپه‌ای‌هاست (۴). گیاهی علفی، یکساله، و برگ متقابل است. دارای گلهای درشت، آبی مایل به بنفش یا سفید است. در شمال غرب ایران بیشتر رشد می کند (۲۸). به عنوان گیاه آرامش بخش و اشتها آور مطرح است و بیشتر در طب به عنوان التیام دهنده زخم و جراحت مورد استفاده قرار می گیرد. اسانس بادرشبو خاصیت ضد باکتریایی دارد و از آن برای مداوای دل درد و نفخ شکم استفاده می شود (۴). همچنین با استخراج عصاره این گیاه و تأثیر آن بر موش ثابت کردند که سبب کاهش تپش قلب و تعداد نبض می شود. بیشتر مطالعات قبلی برای آنالیز و کشف ترکیبات فیتوشیمیایی *D. moldavica* متمرکز بوده است (۲۸). ترکیبات متفاوتی علاوه بر هیدروکسی سینامیک اسید، فلاونوئیدها، کافئیک، فرولیک اسید، لوتئولین و اپی ژنین در مجموع اسانس آن گزارش کرده اند (۳۲).

رشد و فتوسنتز گیاهان، تحت شرایط محیطی مختلف از

جمله تنش خشکی قرار می گیرد. توانایی زنده مانی گیاه و ادامه رشد، نمو و فتوسنتز در تنش های محیطی به پتانسیل ژنتیکی گیاه وابسته است که به صورت پاسخ های فیزیولوژیکی و مولکولی خود را نشان می دهد. برخی مواد تنظیم کننده رشد خارج از گیاه می توانند گیاه را از طریق فتوسنتز بیشتر در مرحله دانه رستی برای تحمل تنش تواناتر سازند. تنش آب می تواند به طور مستقیم از طریق تأثیر در فرایندهای مختلف بیوشیمیایی در فتوسنتز و به طور غیر مستقیم از طریق کاهش جذب CO_2 ناشی از بستن روزنه ها، بر فتوسنتز اثر بگذرد (۳۱).

امروزه فرضیه ای درباره ارتباط بین سطح جیبرلین و مقابله با تنش ها غیر زیستی در گیاهان وجود دارد. مطالعه روی گیاهان جو طبیعی و پاکوتاه نشان می دهد که جیبرلین در این گیاهان سبب افزایش مقاومت به شرایط تنش کم آبی در آنها می شود. احتمالاً جیبرلین یک نقش کلیدی ویژه در مقابله با تنش‌ها دارد (۶). به خوبی مشخص شده است که جیبرلین توانایی تحریک رشد و نمو گیاه را در شرایط تنش های زیستی و غیر زیستی دارد (۲۱). ولی سئوالی که پیش می آید این است که آیا جیبرلین در نتیجه افزایش میزان فتوسنتز، اندازه گیاه را افزایش می دهد؟ یا اینکه افزایش کارایی مصرف فراورده های فتوسنتزی را درپی دارد؟ گزارشهای متناقضی در مورد بکارگیری جیبرلین ها در فرایندهای فتوسنتزی وجود دارد، بعضی از آنها بیانگر افزایش (۲۵)، بعضی دیگر گویای عدم تأثیر آن (۱۲) و گروهی نیز نشان دهنده کاهش این فرایند توسط ماده مذکور می باشند (۱۵). جیبرلین علاوه بر تحریک رشد در گندم، موجب افزایش توان فتوسنتز (۸)، افزایش رشد طولی برگ (۲۳) و بردباری در برابر تنش خشکی (۱۸) می شود.

با توجه به کاهش نزولات جوی، قرار گرفتن گیاهان در معرض تنش کم آبی امری اجتناب پذیر است. بادرشبو قادر به تحمل کم آبی و خشکی های طولانی مدت نیست. در هر دوره آبیاری باید این گیاه حدود ۳۰ تا ۴۰ میلی متر آب دریافت کند (۲). این مطالعه با هدف بررسی رفتار گیاه دارویی و معطر بادرشبو تحت این شرایط انجام شده است. همچنین نقش جیبرلیک اسید خارجی در حفاظت آنتی اکسیدانی بررسی شده است.

مواد و روشها

این تحقیق در منطقه پاکدشت در ۲۰ کیلومتری جنوب شرق تهران با عرض جغرافیایی $^{/}۳۵-^{0}۲۸$، طول جغرافیایی $^{/}۵۰-^{0}۴۱$ و ارتفاع از سطح دریا ۱۲۰۰ متر، در اواخر فصل تابستان (تاریخ کشت ۱۴ شهریور ماه) در شرایط گلخانه ای اجرا گردید. خاک مناسب کشت شنی- لومی بود که با استفاده از آزمایش خاک در آزمایشگاه مشخص گردید (جدول ۱). ۴۸ عدد گلدان با قطر دهانه ۱۸ سانتی متر، با ارتفاع ۱۵ سانتی متر و وزن خالی ۱۰۰ گرم انتخاب شد. کف گلدان تا ارتفاع ۴ سانتی متری شن درشت برای زهکشی مناسب ریخته شد و به میزان ۴ کیلوگرم از خاک مورد نظر پر گردید. به دلیل کمبود مواد آلی خاک به میزان ۲۰ گرم کود دامی پوسیده به گلدان ها به صورت سرک اضافه شد. تاریخ کاشت بذر ۱۵ شهریورماه، با متوسط دمای ۲۱ درجه سانتی گراد و میزان روشنایی ۱۳ ساعت در روز بود. در هر گلدان ۱۰ عدد بذر در عمق ۱ سانتی متری کاشته شد. طرح آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب کاملاً تصادفی در ۴ تکرار اجرا گردید که در آن عامل آبیاری در ۳ سطح شامل: FC (بدون تنش)، $^{2}/_{3}$FC (تنش ملایم) و $^{1}/_{3}$ FC (تنش شدید) و عامل جیبرلیک اسید در دو سطح (۰ و ۱۰ میلی مولار) در نظر گرفته شد. اعمال تنش خشکی از هفته پنجم هنگامی که گیاهان به مرحله ۴ تا ۵ برگی رسیدند و بر اساس ظرفیت زراعی (FC) (۰/۸۵۷ گرم آب) (ظرفیت زراعی توسط آزمایشگاه خاک شناسی تعیین شد)، $^{2}/_{3}$ ظرفیت زراعی (۰/۵۷۱ گرم آب) و $^{1}/_{3}$ ظرفیت زراعی (۰/۲۸۶ گرم آب) انجام شد. پس از گذشت ۳ روز از اعمال تنش کم آبی، جیبرلین (غلظت

های ۰ و ۱۰ میلی مولار) براساس نقشه طرح به صورت اسپری در سطح زیرین و بالایی برگ گیاه به گلدانهای مورد نظر مطابق با طرح آزمایش داده شد. پس از گذشت ۸ هفته، نمونه برداری ها برای اندازه گیری صفات انجام شد.

جدول ۱- نتایج آزمایش خاک مورد استفاده در گلدانها

FC%	PH در عصاره اشباع	EC در عصاره اشباع Ds/M	P avail. mg/kg	K avail. mg/kg	Na avail. mg/kg	OC %	Clay %	Silt %	Sand %
۲۹/۷۷	۸/۱	۱/۴	۴۴	۲۸۹/۹	۱۱۲	۰/۲۷	۹	۷۸	۱۳

سنجش کلروفیل a، b و محتوای کلروفیل کل: برای اندازه گیری میزان کلروفیل از روش Krik و Allen استفاده شد. ۰/۲ گرم بافت تازه برگ را از اندام هوایی جدا کرده، با ۱۵میلی لیتر استون ۸۰٪ هموژن نموده و پس از سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه جداسازی گردید و طول موج جذبی آن توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج‌های ۶۶۳ ، ۶۴۶ و ۴۸۰ نانومتر اندازه گیری شد. سپس با قرار دادن میزان جذب در فرمول ذیل، غلظت کلروفیل های a, b و (a+b) برحسب میلی گرم بر میلی لیتر محلول بدست آمد (۱۵).

$$Chl\ a+b= 8.05A_{663}- 2.03A_{645}$$

$$Chla = 12.25\ A_{663}-2.79A_{646}$$

$$Chlb =21.21A_{646}-5.1A_{663}$$

سنجش کاروتنوئیدها: برای سنجش گزانتوفیل و β-کاروتن در دکانتور هم حجم عصاره استنی، اتر نفت اضافه گردید. بعد از حذف فاز استنی (قسمت پایین) هم حجم فاز اتر نفت (قسمت بالایی) متانول اضافه گردید و پس از هموژن کردن به آن آب نمک۳٪ اضافه و بعد دو فاز بالایی(اتر نفت) و پایینی(متانول) جدا شد. به اتر نفت، پتاس متانولی اضافه کرده و پس از هموژن کردن فاز بالایی را که شامل کاروتن است، جدا می کنیم. به فاز متانولی، دی اتیل اتر با کمی آب نمک اضافه شد، و به فاز رویی پتاس متانولی اضافه می کنیم. سپس فاز بالایی را که شامل گزانتوفیل است جدا وبا دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۴۴۵ نانومتر جذب اندازه گیری شد و با کمک فرمول زیر محاسبه شد (در هر مورد حجم ها یاداشت شد) (۱۹).

$$C = \frac{V \times A \times F \times 10}{2500}$$

C = میزان رنگیزه برحسب میلی گرم بر گرم بافت تر

A = میزان جذب V = حجم عصاره

F= ۱ در نظر گرفته می شود.

سرعت واکنش هیل: سرعت واکنش هیل بر اساس روش Trebest اندازه گیری گردید. ۱ گرم از بافت تر اندام هوایی را جدا کرده و با ۳ میلی لیتر بافر فسفات (pH۷) هموژن کرده و با دور ۵۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. رسوبات را جدا و به آن ۲ میلی لیتر بافر تریس کلرید اضافه می کنید. پس از هوموژن کردن ۰/۵ میلی لیتر از بافر را با ۰/۳ میلی لیتر دی کلروفنول ایندوفنول و ۰/۳ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شد. آنگاه تغییرات جذب را در فواصل زمانی ۱ دقیقه در طول موج ۶۰۰ نانومتر با کمک اسپکتروفوتومتر اندازه گیری کرده و میانگین تغییرات جذب به عنوان سرعت واکنش هیل بیان گردید (۳۶).

سنجش فلاونویید و آنتوسیانین: فلاونوئید و آنتوسیانین بر اساس روش Nogues و Baker اندازه گیری گردید. ۱ گرم بافت تر برگ را در ۱۰ میلی لیتر متانول اسیدی (شامل الکل متیلیک و هیدروکلریک اسید خالص به نسبت حجمی ۹۹ به ۱) همگن و سانتریفوژ شد. جذب عصاره رویی در ۳۰۰ و ۵۳۰ نانومتر به ترتیب برای فلاونوئید ها و

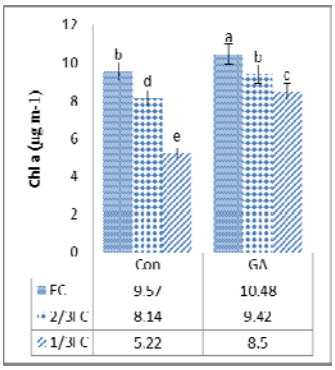
آنتوسیانین ها با کمک اسپکتروفوتومتر تعیین شد و نتایج به صورت جذب در گرم وزن تر مورد مقایسه قرار گرفت (۳۰).

سنجش ترکیبات فنول کل: برای سنجش مقدار ترکیبات فنول کل از روش Matta و Giai استفاده شد. ۰/۱ گرم نمونه تر در ۱۰ میلی لیتر اتانول ۸۰٪ جوشانده شد. سپس نمونه ها سانتریفیوژ شده و به آن فولن رقیق شده با آب (۱:۳) و کربنات سدیم اشباع اضافه گردید و دوباره سانتریفیوژ شد. در نهایت اندازه گیری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۴۰ نانومتر تعیین شد. رسم منحنی استاندارد با استفاده از کاتکول انجام گردید. محاسبه میزان ترکیبات فنلی بر حسب میلی گرم در گرم وزن تر انجام شد (۲۶).

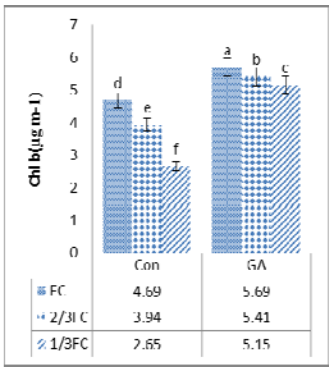
تجزیه و تحلیل آماری: دادهای حاصل از آزمایش از طریق SAS مورد تجزیه واریانس و مقایسه میانگین قرار گرفت و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن در سطح ۵٪ انجام شد. رسم شکل ها و معادله های مربوطه از طریق نرم افزار Excel انجام گردید.

نتایج

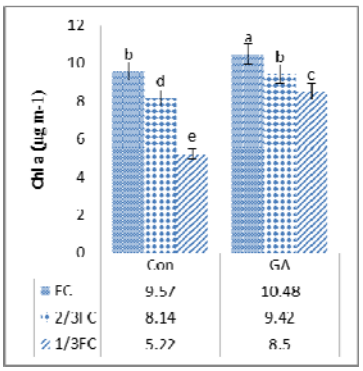
محتوای کلروفیل a، b و (a+b) در مقایسه با شاهد در تیمار خشکی و جیبرلین کاهش معنی دار در سطح ۵ درصد یافت (جدول ۲). بیشترین محتوای کلروفیل a، b و a+b در تیمار (بدون تنش و GA=10mM) با میانگین کلروفیل a (۱۰/۴۷µg/mL) (شکل ۱) و کلروفیل b(۵/۶۹µg/mL) (شکل ۲) و کلروفیل a+b (۱/۳۴ µg/mL) (شکل ۳) و کمترین محتوای کلروفیلa ، b و a+b در تیمار (1/3 FC و GA=0mM) با میانگین های کلروفیل a (۶/۶۸µg/mL) و کلروفیل b (۳/۹µg/mL) و کلروفیلa+b (۰/۸۵ µg/mL)(جدول۳) مشاهده شد. در شرایط یکسان تنش خشکی، کاهش محتوای کلروفیل a، b و (a+b) در تمام تیمارهایی که تحت اسپری GA قرار داشتند در مقایسه با گیاهانی که تنها تحت خشکی بودند، کمتر بود.



شکل۱- تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی در حضور جیبرلین (GA) و عدم حضور آن بر محتوای کلروفیل a در گیاه بادرشبو. نتایج به صورت میانگین Mean±SE بر اساس آزمون دانکن ($p\leq0.05$) نشان داده شده است. حروف مشترک معرف عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

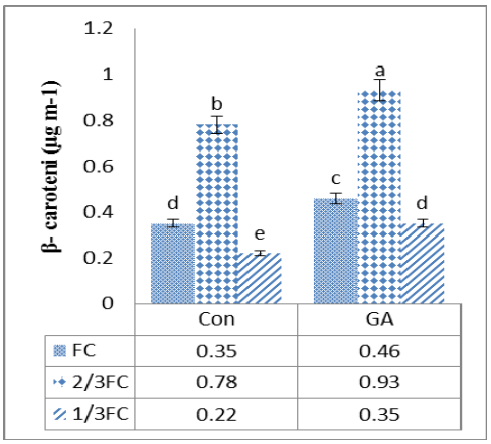


شکل۲- تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی در حضور جیبرلین (GA) و عدم حضور آن بر محتوای کلروفیل b در گیاه بادرشبو. نتایج به صورت میانگین Mean±SE بر اساس آزمون دانکن ($p\leq0.05$) نشان داده شده است. حروف مشترک معرف عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

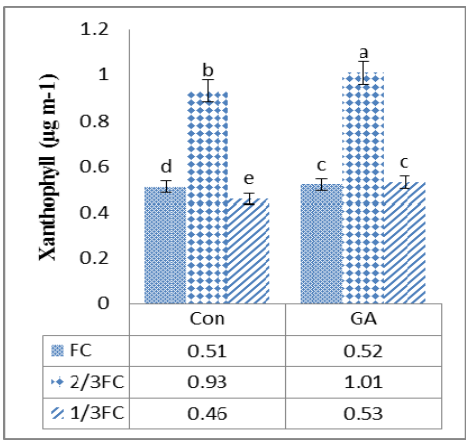


شکل۳- تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی در حضور جیبرلین (GA) و عدم حضور آن بر محتوای کلروفیل b+a در گیاه بادرشبو. نتایج به صورت میانگین Mean±SE بر اساس آزمون دانکن ($p\leq0.05$) نشان داده شده است. حروف مشترک معرف عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

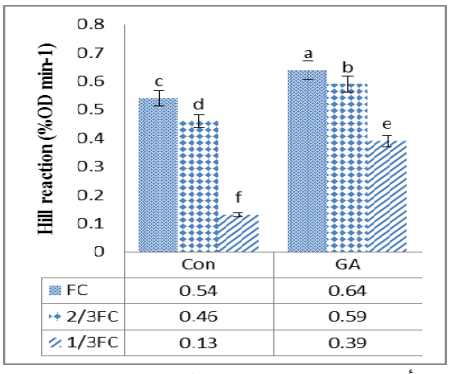
محتوای کاروتنوئیدها که شامل β-کاروتن و گزانتوفیل نیز می باشد، نسبت به شاهد با افزایش شدت تنش تا سقف $^{2}/_{3}$FC افزایش یافت. افزایش میزان تنش به میزان $^{1}/_{3}$ FC سبب کاهش محتوای این دو رنگیزه شد. طبق جدول ۲، بیشترین محتوای β-کاروتن درتیمار ($^{2}/_{3}$ FC) با میانگین (µg/mL) ۰/۸۶ و گزانتوفیل به میزان (µg/mL)۰/۹۷، کمترین محتوای β-کاروتن در تیمار ($^{1}/_{3}$FC) با میانگین (µg/mL) ۰/۳ و گزانتوفیل با میانگین (µg/mL) ۰/۴۹ مشاهده شد. در شرایط یکسان تنش خشکی، افزایش محتوای β-کاروتن و گزانتوفیل در تمامی تیمارهایی که تحت اسپری GA قرار داشتند در مقایسه با گیاهانی که تحت تنش خشکی بودند، کمتر بود (شکل های ۴ و ۵).



شکل۴- تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی در حضور جیبرلین (GA) و عدم حضور آن بر محتوای β-کاروتن در گیاه بادرشبو. نتایج به صورت میانگین Mean±SE بر اساس آزمون دانکن ($p\leq0.05$) نشان داده شده است. حروف مشترک معرف عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.



شکل۵- تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی در حضور جیبرلین (GA) و عدم حضور آن بر محتوای گزانتوفیل در گیاه بادرشبو. نتایج به صورت میانگین Mean±SE بر اساس آزمون دانکن ($p\leq0.05$) نشان داده شده است. حروف مشترک معرف عدم تفاوت در سطح ۵ درصد است.

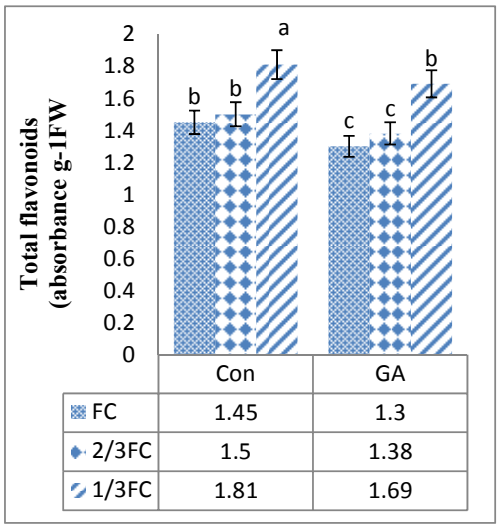


شکل۶- تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی در حضور جیبرلین (GA) و عدم حضور آن بر سرعت واکنش هیل در گیاه بادرشبو. نتایج به صورت میانگین Mean±SE بر اساس آزمون دانکن ($p\leq0.05$) نشان داده شده است. حروف مشترک معرف عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

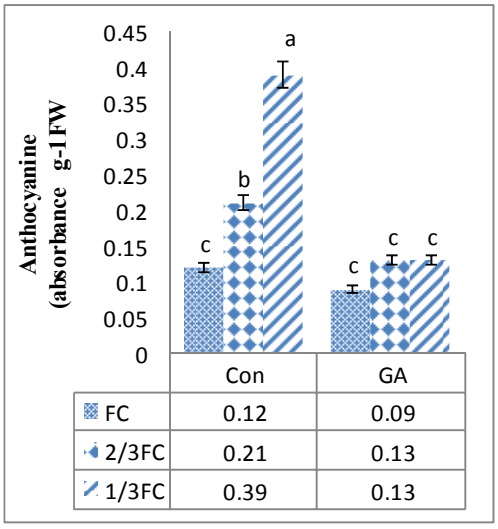
نتایج تحقیق نشان داد که از نظر سرعت واکنش هیل بین سطوح تنش خشکی تفاوت معنی داری در سطح ۱ درصد وجود دارد (جدول ۲). در این شرایط متوسط سرعت واکنش هیل در وضعیت تنش آبی شدید ($^{1}/_{3}$ FC) % ۰/۲۶OD/min، تنش آبی متوسط ($^{2}/_{3}$ FC) % OD/min ۰/۵۲ و در آبیاری مطلوب (FC) % OD/min ۰/۵۹ بود (جدول ۳). اثر ساده جیبرلین بر سرعت واکنش هیل در سطح ۱ درصد معنی دار شد. به طوری که استفاده از جیبرلین در شرایط تنش شدید به میزان % OD/min ۰/۳۹ رسید (شکل ۶).

نتایج نشان داد که از نظر میزان آنتوسیانین و فلاونوئید بین سطوح مختلف تنش خشکی و اثر متقابل خشکی و جیبرلین تفاوت معنی دار در سطح یک درصد وجود دارد (جدول ۲)، در این شرایط متوسط میزان فلاونوئید در وضعیت تنش آبی شدید ($^{1}/_{3}$FC) به میزان (Absorbance $g^{-1}FW$) ۱/۸۱ $min^{-1}g^{-1}FW$ و آنتوسیانین (Absorbance

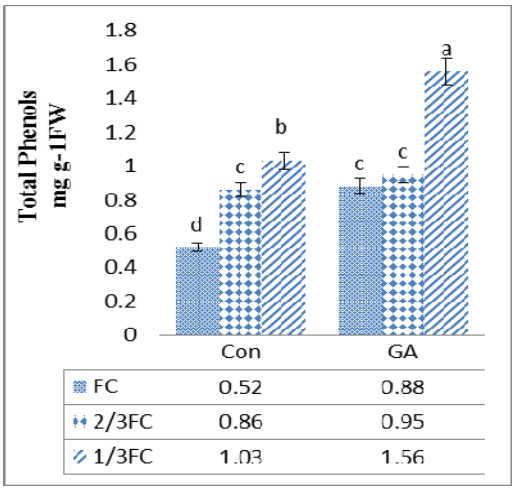
۰/۳۹، و در شرایط مطلوب آبیاری و استفاده از جیبرلین فلاونوئید به میزان (Absorbance $min^{-1}g^{-1}FW$) ۱/۳۰ (شکل ۷) و آنتوسیانین (Absorbance $g^{-1}FW$) ۰/۰۹ رسید (شکل۸). همچنین کاربرد جیبرلین تأثیر چندانی در میزان فلاونوئید و آنتوسیانین نداشته است (جدول ۲).



شکل۷- تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی در حضور جیبرلین (GA) و عدم حضور آن بر میزان فلاونوئید در گیاه بادرشبو. نتایج به صورت میانگین Mean±SE بر اساس آزمون دانکن ($p\leq0.05$) نشان داده شده است. حروف مشترک معرف عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.



شکل۸- تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی در حضور جیبرلین (GA) و عدم حضور آن بر میزان آنتوسیانین در گیاه بادرشبو. نتایج به صورت میانگین Mean±SE بر اساس آزمون دانکن ($p\leq0.05$) نشان داده شده است. حروف مشترک معرف عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.



شکل۹- تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی در حضور جیبرلین (GA) و عدم حضور آن بر مقدار ترکیبات فنلی در گیاه بادرشبو. نتایج به صورت میانگین Mean±SE بر اساس آزمون دانکن ($p\leq0.05$) نشان داده شده است. حروف مشترک معرف عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

میزان ترکیبات فنلی در شرایط تنش شوری و استفاده از جیبرلین نشان داد که تفاوت معنی داری در سطح یک درصد است (جدول ۲). اثر متقابل تنش خشکی با جیبرلین بر صفت مورد بحث نشان داد که بیشترین مقدار ترکیبات فنلی در تنش شدید به همراه جیبرلین ($mg\ g^{-1}\ Fw$) ۱/۵۶ و کمترین آن مقدار در شرایط بدون تنش ($mg/g^{-1}\ Fw$) ۰/۵۲ رسیده است (شکل ۹).

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تنش شدید خشکی به طور معنی داری میزان رنگدانه های کلروفیل a, b و a+b را کاهش داد (شکل های ۱، ۲ و۳). هورمون آبسزیک اسید در گیاهان بر اثر تنش خشکی تولید شده و باعث بازدارندگی انتقال الکترون، کاهش فعالیت روبیسکو و

افزایش سرعت تنفس می شود (۵). کاهش کلروفیل به عنوان عامل محدود کننده غیر روزنه ای فتوسنتز محسوب می شود، که با یافته هایی در گوجه فرنگی (۲۹)، ذرت، *Vicia faba* و توتون (۲۰) مطابقت دارد. همچنین دریافتند که در شرایط تنش خشکی، کاهش رنگدانه های فتوسنتزی و کاهش سرعت واکنش هیل به علت تجزیه کلروپلاست، کاهش سنتز کلروفیل و کاهش تعداد پلاستیدها می باشد (۱۵). افزایش رادیکالهای آزاد که در زمان تنش خشکی در گیاه ایجاد می شود، به عنوان عامل مؤثر در کاهش فتوسنتز مطرح است (۳۱). تیمار با جیبرلین توانسته است میزان کلروفیل a ,b و (b+a) را افزایش دهد. نتایج حاصل از این تحقیق با تحقیقاتی در بادمجان (۳۳)، و در گندم (۳۴) مطابقت دارد. از دهه گذشته از هورمونهای گیاهی مانند جیبرلیک اسید و سالیسیلیک اسید به عنوان آنتی اکسیدان در مقابله با تنش های غیر زیستی استفاده می شود (۱۷). گونه های اکسیژن فعال مانند اکسیژن یکتایی، سوپر اکسید و رادیکال های هیدروکسیل، سوخت و ساز طبیعی گیاه را از طریق آسیب به پروتیین ها، لیپیدها، نوکلئوتید ها و آنزیم های فتوسنتزی مختل می کنند. دفاع آنزیمی و آنتی اکسیدانی مهمترین عوامل دفاعی گیاه هستند (۱۳). گزارش شده است جیبرلیک اسید نقش مهمی در بیوسنتز، عملکرد و اثرات فیزیولوژیکی سالیسیلیک اسید خواهد داشت. سالیسیلیک اسید به عنوان یک هورمون مهم در پاسخ به تنش های اکسیداتیو مطرح است (۱۱).

کاروتنوئیدها قادرند انرژی زیاد طول موج‌های کوتاه را گرفته و اکسیژن یکتایی را به سه تایی تبدیل کند و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولید شده نقش آنتی اکسیدانی خود را ایفا نمایند (۷). در این آزمایش میزان گزانتوفیل و β –کاروتن در شرایط تنش ملایم (FC_3^2) افزایش شدید یافته تا اثرات تنش را خنثی کند، ولی با افزایش شدت تنش (FC_3^1)، گزانتوفیل و β–کاروتن دیگر قادر به خنثی کردن اثرات رادیکالهای آزاد نبوده و کاهش می یابد (شکل‌های ۴ و ۵). تخریب کاروتن در خشکی شدید را می توان به اکسیژن یکتایی تولید شده در تیلاکوئیدها ربط داد (۱۷). علاوه بر آن، کاروتنوئید ها با استفاده از چرخه گزانتوفیل و با واکنش‌های اپوکسیداسیون و دپوکسیداسیون، مصرف اکسیژن را کاهش داده و از کلروفیل در مقابل فتواکسیداسیون محافظت می کنند (۳۳). استفاده از جیبرلین نیز سبب کاهش میزان گزانتوفیل و β–کاروتن در شرایط تنش شد (شکل‌های ۴ و ۵). جیبرلین می تواند با تأثیر بر ژن های کد کننده مسیر بیوسنتز ژرانیل پیروفسفات سنتز کاروتنوئید ها را تحت تأثیر قرار دهد (۳۴). کاروتنوئیدها از خاموش کننده های مهم حالت یکتایی کلروفیل و اکسیژن یکتایی محسوب می شوند. حضور و افزایش تدریجی آنها با افزایش ظرفیت دفاع آنتی اکسیدانی برگ، باعث کاهش رادیکالهای آزاد تولید شده در برگ شده و از این طریق آسیب به مراکز واکنشی و غشاها کاهش می یابد. از طرفی کاروتنوئیدها ازجمله سیستمهای دفاعی هستند که بتدریج و با بلوغ برگ، جایگزین سیستم دفاعی آنتوسیانینی برگ جوان می شوند (۱).

ترکیبات آنتی اکسیدانی دیگر (فلاونوئید، آنتوسیانین و ترکیبات فنولی کل) در شرایط تنش خشکی افزایش معنی دار یافت. در سیب زمینی (۳۷) همانند گیاه بادرشبو با افزایش تنش خشکی، میزان تولید فلاونوئید افزایش یافت (شکل ۷). انباشتگی آنتوسیانین طی دهیدراتاسیون در برگ گیاه *Craterostigma* نیز گزارش شده است (۱۶). نتایج نشان دهنده افزایش مسیر اصلی تولید فلاونوئید است که منجر به تولید آنتوسیانینمی شود (۳۷). طبق نتایج بدست آمده، استفاده از جیبرلین سبب کاهش ترکیبات فلاونوئید و آنتوسیانین شد (شکل‌های ۷ و ۸). احتمالاً جیبرلین پیش سازهای آنزیمی غیر فعال موجود در کلروپلاست برگها را جهت بهبود سیستم آنتی اکسیدانی فعال می کند که با نتایج گیاه رزماری مطابقت دارد (۲۴).

ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها و آنتوسیانین های گیاهان غالباً اثر ضد میکروبی دارند (۳۵). بسیاری از خواص ضد میکروبی عصاره های گیاهی به علت وجود موادی مانند تانن ها، ترکیبات فنلی و نظایر آن می باشد که در قسمت-های مختلف ریشه، برگ، جوانه ها، نهال و پوست گیاهان وجود دارد (۹). ترکیبات فنلی در بسیاری از گیاهان وجود دارد که در این تحقیق نیز به بررسی میزان آن در گیاه بادرشبو پرداخته شد. اثرات ضد میکروبی آن بستگی به محل و تعداد گروه‌های هیدروکسیل روی حلقه فنلی دارد و ادعا شده که ارتباط مستقیم بین گروه‌های هیدروکسیل و سمیت آنها روی میکروارگانیسم‌ها وجود دارد (۳۵). فنل های اکسید شده نیز اثر شدیدتری اعمال می کنند. همچنان که مکانیسم احتمالی این ترکیبات مهار آنزیمی از طریق واکنش با گروه‌های سولفیدریل یا واکنش های غیر اختصاصی با پروتئین های میکروبی است (۱۴). با پیشرفت تنش خشکی میزان ترکیبات فنلی کل افزایش یافت (شکل۹). قبلاً نیز طبق آزمایش‌های انجام شده در درخت زیتون، با افزایش آبیاری فعالیت آنزیم آلانین آمونیالیاز (PAL) و میزان فنل کل میوه زیتون کاهش یافته بود، که همین محقق فعالیت PAL را شدیداً تحت تأثیر شرایط محیطی می داند که نقش مهمی در کنترل فنولیک های کل دارد (۲۷). یکی از عملکردهای مهم و شناخته شده فنول ها، شرکت آنها در مکانیسم های دفاعی است. با توجه به شکل ۹ جیبرلین ترکیبات فنلی کل را افزایش داد. این مسئله ممکن است مربوط به تداخل فرضی بین هر دو گروه (جیبرلین و ترکیبات فنلی کل) باشد (۲۷).

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تنش خشکی و جیبرلین بر صفات مورد آزمون نتایج به صورت میانگین Mean±SE بر اساس آزمون دانکن ($p\leq0.05$) نشان داده شده است. حروف مشترک معرف عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات								
		کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل a+b	β-کاروتن	گزانتوفیل	واکنش هیل	فلاونوئید	آنتوسیانین	ترکیبات فنلی
تکرار	۵	۱۳/۴ ns	۵/۱ ns	۰/۲ ns	۰/۳ **	۰/۲۳ **	۰/۱۳ **	۰/۲۱ **	۰/۰۵ **	۰/۴۶ **
خشکی	۲	۲۰/۳**	۳/۴**	۰/۱۸**	۰/۷۲**	۰/۵۷**	۰/۲۴**	۰/۴۳*	۰/۰۴۵**	۰/۷۳**
جیبرلین	۱	۱۹/۹**	۱۶/۴**	۰/۳۱**	۰/۱**	۰/۰۱ ns	۰/۱۶**	۰/۱۹ ns	۰/۰۱۹ ns	۰/۶۶**
خشکی×جیبرلین	۲	۳/۲**	۱/۲**	۰/۰۳**	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۲*	۰/۰۱۵**	۰/۰۰۹**	۰/۰۳۱**	۰/۰۹۶*
خطا	۱۸	۰/۱۵	۰/۱۰۳	۰/۰۰۸	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۲۱	۰/۰۰۵
ضریب تغییرات		۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	۰/۰۳۷	۰/۱۹۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۴۲	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰

ns غیر معنی دار بودن ،*معنی دار بودن در سطح ۵ درصد ، **معنی دار بودن در سطح ۱ درصد

جدول ۳ - مقایسه میانگین تأثیر سطوح تنش خشکی و استفاده از جیبرلین بر صفات مورد آزمون نتایج به صورت میانگین Mean±SE بر اساس آزمون دانکن ($p\leq0.05$) نشان داده شده است. حروف مشترک معرف عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

تیمار	میانگین مربعات								
	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل a+b	β-کاروتن	گزانتوفیل	واکنش هیل	فلاونوئید	آنتوسیانین	ترکیبات فنلی
آبیاری									
FC	۱۰/۰۲ a	۵/۱۹ a	۱/۱۶ a	۰/۴۰ b	۰/۵۲ b	۰/۵۹ a	۱/۳۲ b	۰/۱۱ c	۰/۷۰۱ c
2/3FC	۸/۷۹ b	۴/۶۷ b	۰/۹۹ b	۰/۸۶ a	۰/۹۷ a	۰/۵۲ b	۱/۳۷ b	۰/۱۷ b	۰/۹۰ b
1/3FC	۶/۸۶ c	۳/۸۹ c	۰/۸۵ c	۰/۲۹ c	۰/۴۹ c	۰/۲۶ c	۱/۷۵ c	۰/۲۶ a	۱/۲۹ a
جیبرلین									
0mM	۱۰/۰۲ b	۵/۱۹ b	۱/۱۶ b	۰/۴۰ b	۰/۵۲ a	۰/۵۹ b	۱/۳۲ a	۰/۱۱ a	۰/۷۰۱ b
10mM	۱۰/۴۷ a	۵/۶۹ a	۱/۳۴ a	۰/۴۵ a	۰/۵۲ a	۰/۶۴ a	۱/۳ a	۰/۰۹ a	۰/۸۸ a

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ می باشد.

نتیجه‌گیری: در مطالعه حاضر اطلاعاتی درباره تأثیر جیبرلیک اسید بر میزان تحمل به خشکی در گیاه دارویی بادرشبو ارائه شد. میزان تجمع کاروتنوئید ها، فلاونوئید، آنتوسیانین و ترکیبات فنلی در برگها می تواند به عنوان راه‌حل‌های مقابله با تنش خشکی مطرح باشد. از طرف دیگر جیبرلین می تواند با کاهش میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی و افزایش میزان فتوسنتز به عنوان یک ترکیب ضد تنشی مطرح شود. تحقیق بیشتر در این زمینه می تواند به افزایش شناخت اثرات ضد تنشی جیبرلین خارجی و نقش هورمونهای گیاهی در افزایش خواص دارویی گیاهانی که تحت تأثیر تنش قرار دارد، بینجامد.

منابع

۱- چاپارزاده ن.، رحیم پور شفایی ل. دولتی م. برزگر ا. ۱۳۹۲. تغییرات رنگدانهای وابسته به سن در برگهای *Rosa hybrida*، مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)، جلد ۲۶ ، شماره ۳، صفحه ۲۸۳-۲۸۱.

۲- دوازده امامی س.، سفیدکن ف. جهانسوز م ر. مظاهری د. ۱۳۸۷. مقایسه عملکرد بیولوژیکی، عملکرد کمی وکیفی اسانس و مراحل فنولوژیکی در کشت پاییزه، بهاره و تابستانه بادرشبویه (*Dracocephalum moldavica* L.). گیاهان دارویی و معطر ایران،جلد ۲۴ ، شمارهٔ ۳ صفحهٔ ۲۷۰-۲۶۳

۳- زرگری ع. ۱۳۷۶. گیاهان دارویی، انتشارات دانشگاه تهران، جلد ۴، فصل ۱، صفحه ۸۳-۸۲.

۴- مظفریان و ا. ۱۳۷۵. فرهنگ نام های گیاهان ایرانی، انتشارات فرهنگ معاصر، صفحه ۱۹۲.

۵- منصوری ح.، اسرار ز. ۱۳۹۲. اثر ABA روی رنگدانه ها و دلتا -9تتراهیدروکانابینول گیاه شاهدانه ***(Cannabis sativa)* در مرحله گلدهی**، مجله زیست شناسی ایران جلد ۲۶ ، شماره ۱، صفحه ۸۹-۸۲.

۶- ناصری ز.، عباسی ف. ۱۳۹۱. بررسی اثر تیمارهای مختلف هورمون جیبرلین بر ویژگی های جوانه زنی بذور جو خوراکی (*Hordeum vulgar* L) تحت تنش خشکی. دومین همایش ملی علوم و تکنولوژی بذر، دانشگاه ازاد اسلامی واحد مشهد.

7- Amanullah M M., Sekar S. Vincent S. 2010. Plant growth substances in crop production. Asian J. Plant Sci. 9, 215–222.

8- Ashraf M., Harris P J C. 2013. Photosynthesis under stressful environments: An overview. Photosynthetica, 51 (2): 163-190.

9- Avijgan M., Saadat M. Nilforoosh-Zadeh M A. Hafizi M. 2006. Anti-fungal effect of *Echinophora platyloba* extract on some common dermatophytes. Journal Med Plants, 5(18): 10-16.

10- Brooking I R., Cohen D. 2002 Gibberellin-induced flowering in small tubers of Zantedeschia “Black Magic”. Sci. Hort. 95: 63-73.

11- Clarke S M., Mur L A J. Wood J E. Scott I M. 2004. Salicylic acid dependent signaling promotes basal hermotolerance but is not essential for acquired thermotolerance in *Arabidopsis thaliana*. Plant Journal, 38, 432–447.

12- El-Dengawy E F A., 2005. Promotion of seed germination and subsequent seedling growth of loquat (Eriobotrya japonica Lindl) by moist-chilling and GA3 applications. Scientia Horticulturae.105: 331-342.

13- Ghasemzadeh A., Hawa Z E. 2013. Interactive Effect of Salicylic Acid on Some Physiological Features and Antioxidant Enzymes Activity in Ginger (*Zingiber officinale Roscoe*). Journal molecules, 18, 5965-5979.

14- Hanane A., Mostefa Gh. 2014. Effect of salinity stress, Streptomyces sp. SF5 and Salsola vermiculata on germination of *Triticum durum* L. Sky Journal of Agricultural Research Vol. 3(1), pp. 007 – 016.

15- Heba I., M. Samia A A. 2014. Influence of Garlic Extract On Enzymatic and Non Enzymatic Antioxidants in Soybean Plants (Glycine Max) Grown under Drought Stress. Life Science Journal;11(3s), 46-58.

16- Hoekstra F A., Golovina E A. Buitink J. 2000. Mechanisms of plant desiccation tolerance .Trends in Plant Sci. 6(9): 431-438.

17- Iqbal N., Nazar R. Khan M I R. Masood A. Khan N A. 2011. Role of gibberellins in regulation of source-sink relations under optimal and limiting environmental conditions. Curr Sci. 100 (7): 998-1007.

18- Jeller H., Gualtierres A P. Sonia C J. 2001. Effect of water and salt stress and gibberellins action in Senna spectabilis seeds. Ciencia Florestal, 11: 93-104.

19- Jensen A., 1978. Chlorophylls and carotenoids. In Handbook of Phycological Methods: Physiological and Biochemical Methods (Hellebust J A., Craigie J. editors S.), Cambridge University Press, Cambridge, pp.59-70.

20- Kaya I., Kirnak H. Tas C. Higgs D. 2010. The influence of water deficit on vegetative growth, physiology fruit yield and quality in eggplants' Bulg. J. Plant Physiol., 27(3): 34-46.

21- Kim S K., Sohn E Y. Joo G J. Lee I J. 2009. Influence of jasmonic acid on endogenous gibberellin and abscisic acid in salt-stressed chard plant. J. Environmental Biology, 30(3): 333-338.

22- Krik J T O., Allen R L. 1956. Dependence of chloroplast pigment synthesis on protein synthesis: effect of actidione. Biochemical Biophysical Research Communications, 21: 525-530.

23- Leite V M., Rosolem C A. Rodrigues J D. 2003. Gibberelline and cytokenin effects on soybean growth. Scientia Agricola. 60(3):537-541.

24- Mahshad H., Masoud M A B. Babak D. Pezhman M. 2014. Effects of foliar spraying acetyl-coA on dry weight of leaves, chlorophyll a, and antioxidant enzymes of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). Iranian Journal of Plant Physiology, Vol (4), No (2).

25- Matsomoto K T., 2006. Gibberellic acid and benzyl adenine promote early flowering and vegetative growth of Milfonopsis orchid hybrids. HortScieance. 41(1): 131-135.

26- Matta A G., Giai I. 1969. Accumulation of phenol in tomato plant in effected by different forms of Fusarium oxysporum. Phytphatol. 50: 512-513.

27- 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.

28- Najafi, M. Ghasemian, E. Fathiazad, F. Garjani, A. R. (2009) Effects of total extract of (*Dracocephalum moldavica* L.) on Hschemia/Reperfusion induced arrhythmias and infarct size in the isolated Rat Heart. Journal Hranian 11(4): 229-235.

29- Niakan M., Ahmadi A. 2014. Effects of foliar spraying kinetin on growth parameters and photosynthesis of tomato under different levels of drought stress. Iranian Journal of Plant Physiology, Vol (4), No (2).

30- Nogues S., Baker N R. 2000. Effects of drought on photosynthesis in Mediterranean plants growth under enhanced UV-B radiation. Journal of Experimental Botany, 51: 1309-1317 .

31- Rezaei H., Ghorbanli M. Pivandi M. Pazoki A R. 2013. Effect of Drought Interactions with Ascorbate on Some Biochemical Parameters and Antioxidant Enzymes Activities in *Dracocephalum moldavica* L. Middle-East Journal of Scientific Research 13 (4): 522-531.

32- Rezaei H., NiKi E. 2013. Quantitative and gualitative comparison of *Dracocephalom moldavica* L. essance under drought stress and its interaction with gibberellin and ascorbate. Journal of novel applied Sciences. 2-2S/974-977.

33- Sardoei A S., Shahadadi F. Shahdadneghad M. Imani A F. 2014. The Effect of Benzyladenine and Gibberellic Acid on Reducing Sugars of *Spathiphyllum wallisii* Plant. International Journal of Farming and Allied Sciences. 3-3/328-332/ 31.

34- Shaddad M A K., Abd El- Samad H M. Mostafa D. 2013. Role of gibberellic acid (GA3) in improving salt stress tolerance of two wheat cultivars. International Journal of Plant Physiology and Biochemistry. Vol. 5(4), pp. 50-57.

35- Sharafati-Chaleshtori R., Sharafati-Chaleshtori F. Sharafati-Chaleshtori A. Ashrafi K. 2010. Antimicrobial effects and evaluation of total phenols, flavonoids and flavonols contents of

ethanolic extracts of *Scrophularia striata*. Journal Medical Sci. 32-37.

36- Trebst A., 1872. Measurement of the Hill reaction and photoreduction. Methods Enzymol. 24: 146-165.

37- Watkinson J I., Hendrieks L. Sioson A A. Vasquez-Robinet C. Verlyn S. Heath L S. Schuler M. Bohnert H J. Bonierbale M. Grene R. 2006. Accessions of *Solanum toberosum* spp. Andigena show differences in photosynthetic recovery after drought stress as reflected in gene expression profiles. Plant Science, 1-14.

Effects of gibberellic acid on Hill reaction, photosynthetic Pigment and phenolic compounds in Moldavian dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) in different drought stress levels

Abbaspour H. and Rezaei H.

Biology Dept., Faculty of Science, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, I.R. of Iran

Abstract

Drought stress stimulates reactive oxygen species production in plant chloroplast and reactive oxygen species cause peroxidation of lipid membrane and destruction of cell membrane. Moldavian dragonhead *Dracocephalum moldavica* L. is one of the aromatic and medicinal plants which use as healing of wound. In this research gibberlin use in order to control oxidative stress to tolerate water shortage and fluctuation in leaf pigments and total phenol were investigated. Therefore, an experiment was conducted in factorial design based on completely randomized design with four replications. Irrigation factor were in three level Fc (without stress), 2/3FC (moderate stress) and 1/3FC (severe stress) and gibberellic acid were in two level including and 100 mM. The results of experiment showed that by increasing of stress severity chlorophyll a, b and a+b content decreased. However, flavonoid, anthocynin and phenol content increased. Because of dehydration effect, β-carotene and xanthophyll content increased only in moderate stess. Gibberellic acid increased cholorophyll content, Hill reaction rate and phenol content . But There was no considerable change in Flavonoid and anthocyanin amount. According to result, exogenous gibberellic acid increased drought response of Moldavian dragonhead with various mechanism and trigger to increase phtosythesis rate in plant.

Key words: Moldavian dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.), drought stress, Gibberlic acid and Flavonoid.