

نشریه پژوهشی:

## تأثیر پذیری سرخارگل (*Echinacea purpurea* L. Moench) از ایسیتورهای اسیدسالیسیلیک و متیل جاسمونات با پایش صفات مورفوفیزیولوژیک

محمود محبی<sup>۱</sup>، سید نجم الدین مرتضوی<sup>۲\*</sup>، عزیزاله خیری<sup>۳</sup> و جلال صبا<sup>۴</sup>

۱. مریبی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی زنجان، زنجان، ایران

۲ و ۳. دانشیار و استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

۴. استاد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۶/۲۰ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۲۸)

### چکیده

پژوهشی به صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان در طی سال‌های زراعی ۱۳۹۷-۱۳۹۸ و ۱۳۹۷-۱۳۹۸ اجرا شد. تیمارهای اسیدسالیسیلیک در چهار سطح (صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مول در لیتر) و متیل جاسمونات در چهار سطح (صفر (شاهد)، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومول در لیتر) در سال‌های اول و دوم در دو مرحله (با فاصله ۲۰ روز) بر روی بوتهای سرخارگل (چهار بوته در هر کرت) محلول پاشی شدند. نتایج نشان داد اثر اسیدسالیسیلیک و متیل جاسمونات بر ماندگاری گل، سطح برگ، وزن تر و خشک ریشه، کلروفیل‌های a و b و کاتالاز و پراکسیداز معنی‌دار شد. همچنین بیشترین ماندگاری گل در تیمار ۱۰۰ میلی‌مول اسیدسالیسیلیک و ۲۰۰ میکرومول متیل جاسمونات و بالاترین وزن تر و خشک ریشه و سطح برگ در تیمار ۱۰۰ میلی‌مول در لیتر اسیدسالیسیلیک و ۱۰۰ میکرومول در لیتر متیل جاسمونات حاصل شد. بیشترین محتوای نسبی آب گلبرگ و کاتالاز در سال اول در تیمار ۱۰۰ میلی‌مول در لیتر اسیدسالیسیلیک و ۱۰۰ میکرومول در لیتر متیل جاسمونات حاصل شد. میزان پراکسیداز نیز در تیمارهای ۱۰۰ میلی‌مول در لیتر اسیدسالیسیلیک و ۲۰۰ میکرومول در لیتر متیل جاسمونات (سال اول) و ۱۰۰ میلی‌مول در لیتر اسیدسالیسیلیک و ۱۰۰ میکرومول در لیتر متیل جاسمونات (سال دوم) بالا بود. بیشترین میزان کلروفیل a در هر دو سال آزمایش و کلروفیل b در سال اول در تیمار ۱۰ میلی‌مول در لیتر اسیدسالیسیلیک و ۵۰ میکرومول در لیتر متیل جاسمونات بود. همچنین بالاترین میزان کلروفیل کل در تیمار ۵۰ میلی‌مول در لیتر اسیدسالیسیلیک و ۲۰۰ میکرومول در لیتر متیل جاسمونات (سال اول) و ۱۰۰ میلی‌مول در لیتر اسیدسالیسیلیک و ۵۰ میکرومول در لیتر متیل جاسمونات (سال دوم) به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: ایسیتور، آنزیم، فیتوهورمون، سرخارگل

## Impressibility of Purple Coneflower (*Echinacea purpurea* L. Moench) from Salicylic acid and Methyl Jasmonate Elicitors by Monitoring of Morphophysiological Traits

Mahmood Mohebby<sup>1</sup>, Seyed Najmmaddin Mortazavi<sup>2\*</sup>, Azizollah Kheiry<sup>3</sup> and Jalal Saba<sup>4</sup>

1. Instructor, Research and Education Center of Zanjan, Zanjan, Iran

2, 3. Associate Professor and Assistant Professor, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

4. Professor, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

(Received: Sep. 10, 2020 - Accepted: May 18, 2021)

### ABSTRACT

A factorial experiment was conducted based on randomized complete block design with three replications in Zanjan University (during 1396-97 and 1397-98). Salicylic-acid (control, 50, 100 and 150 mM) and methyl-jasmonate (control, 50, 100 and 200  $\mu$ M) treatments were sprayed on *Echinacea* plants (four plants per plot) in the first and second years (two stages, 20 days interval). The results showed that salicylic-acid and methyl-jasmonate have a significant effect on vase-life of flower, leaf-area, fresh and dry weight of roots, chlorophylls a and b and catalase and peroxidase. Also, the highest vase-life of flower was obtained in treatment of 100 mM salicylic-acid and 200  $\mu$ M methyl-jasmonate and the highest fresh and dry weight of roots and leaf-area were obtained in treatment of 100 mM salicylic-acid and 100  $\mu$ M methyl-jasmonate. The highest relative water-content of petal and catalase were obtained in treatment of 100 mM salicylic-acid and 100  $\mu$ M of methyl-jasmonate (first year) and in treatment of 100 mM of salicylic-acid and 50  $\mu$ M of methyl-jasmonate (second year). The amount of peroxidase was also high in treatments of 100 mM salicylic-acid and 200  $\mu$ M methyl-jasmonate (first year) and 100 mM salicylic-acid and 100  $\mu$ M methyl-jasmonate (second year). The highest amount of chlorophyll a in both years and chlorophyll b in the first year were in 100 mM salicylic-acid and 50  $\mu$ M methyl-jasmonate treatment. Also, the highest amount of total-chlorophyll was obtained in 50 mM salicylic-acid and 200  $\mu$ mol methyl-jasmonate (first year) and 100 mmol salicylic-acid and 50  $\mu$ M methyl-jasmonate treatment (second year).

**Keywords:** Elicitor, enzyme, phytohormone, purple coneflower.

\* Corresponding author E-mail: mortazavi46@yahoo.com

در مکانیسم‌های دفاعی گیاهان به ترتیب به واسطه مسیرهای فنیل پروپانوئید<sup>۳</sup> و اکتادکانوئید<sup>۴</sup> دخالت دارند (Scott et al., 2010). اسیدسالیسیلیک هورمونی است طبیعی با فرمول شیمیایی  $C_7H_6O_3$  که در گیاهان به عنوان تنظیم کننده بالقوه گیاهی عمل می‌نماید و نقش‌های مهمی در تنظیم تعدادی از فرآیندهای مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی ایفا می‌کند.

محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک باعث افزایش غلظت‌های درون‌زای آن می‌شود که ممکن است دارای اثرات مستقیم و غیرمستقیمی بر محافظت اسمزی باشد که بدین ترتیب تنش اکسیداتیوی در مکانیسم فتوسترنزی کاهش می‌یابد و در نهایت باعث افزایش رشد، عملکرد و کیفیت آن می‌گردد. گزارش شده است وزن تر و خشک شاخه و ریشه و سطح برگ با کاربرد اسیدسالیسیلیک در مراحل رویشی و گلدهی بهبود می‌یابد (Zaidi, 2015) که می‌تواند به اثر مثبت آن بر هورمون‌های گیاهی درون‌زا به ویژه اکسین‌ها، جیبریلین‌ها و سیتوکینین‌ها نسبت داده شود (Mady, 2014). همچنین، طول عمر گل‌های بریده را از طریق افزایش در جذب محلول، مواد جامد محلول و وزن تازه، پایداری غشاء و پیری به تأخیر افتاده حاصل از اثرات مهارکنندگی آن بر تولید اتیلن و کاهش تجمع گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن<sup>۵</sup>، افزایش می‌دهد (Asgari & Ladan Moghadam, 2015).

اسیدسالیسیلیک تأثیر خود را بر فتوسترنز از طریق عوامل روزنها، تجمع رنگدانه‌های فتوسترنزی، فعالیت آنزیم رویسکو، رنگیزه و ساختار کلروپلاست و آنزیم‌های دخیل در مراحل فتوسترنز اعمال می‌کند (Rivas-San Vicente & Plasencia, 2011) و هنگامی که در غلظت‌های مناسبی به کار برده می‌شود باعث تنش اکسیدانیو زودگذری در گیاهان می‌گردد، که به عنوان فرآیند مقاوم سازی با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان یا با سنتز مواد ثبات دهنده مانند پلی‌آمین‌ها عمل نموده و به عنوان یک بخش پیامرسان کلیدی در فعال‌سازی پاسخ‌های اختصاصی دفاعی گیاه شناخته

## مقدمه

سلسله گیاهان زینتی بسیار گسترده بوده و هم اکنون بالغ بر ۳۰۰۰۰۰ گونه گیاه زینتی وجود دارد که از میان آنها بیش از ۱۰۰۰۰ گونه به عنوان گیاهان دارویی نیز شناخته شده‌اند (Prathapa Reddy et al., 2015). در میان گیاهان آوندی و گلدار، خانواده آفتابگردان<sup>۱</sup> پیشرفت‌هه بوده و یکی از بزرگترین خانواده‌ها با ۱۱۰۰ جنس و ۲۵۰۰۰ گونه می‌باشد. برخی از جنس‌های این خانواده مانند سرخارگل علاوه بر زینتی بودن، دارای خواص دارویی نیز می‌باشند و از منابع داروهای گیاهی به شمار می‌روند (Sharma, 2014). جنس سرخارگل<sup>۲</sup> یک گیاه چندساله علفی و زینتی- دارویی مهمی است که بومی شمال آمریکا بوده و به طور وسیعی جهت استقرار در فضاهای سبز، ایجاد باغچه‌های چندساله و گاهی اوقات به عنوان Wartidiningsih گل‌بریده به کاربرده می‌شود (Geneve, 1994a). در میان گونه‌های سرخارگل، *Echinacea purpurea* L. Moench یکی از عمده‌ترین گونه‌های تجاری می‌باشد که در حال حاضر به ایران معرفی شده است و در برخی از مناطق ایران کشت شده و علاوه بر کاربرد در فضای سبز به صورت تپه‌گل و حاشیه‌کاری، مواد موثره آن در برخی از داروها نیز به کاربرده می‌شود (Fariman & Noori, 2011). به همین جهت در طی دهه‌های گذشته، عمومی‌ترین محور در این زمینه از علوم گیاهی، بهره‌برداری از پتانسیل تجاری گیاهان زینتی از طریق بهبود کیفیت و عملکرد گل‌ها با استفاده از مواد شیمیایی تنظیم کننده رشد گیاهی برای ایجاد تغییر در الگوهای رشد و گلدهی برخی از محصولات باغی با اهمیت زینتی می‌باشد که می‌توانند اثر عمیقی بر واکنش‌های مورفوفیزیولوژیک و فیتوشیمیایی آنها داشته باشند (Parveen, 2017).

اسیدسالیسیلیک و متیل‌جامسونات از هورمون‌های گیاهی مورد استفاده در بیشتر پژوهش‌ها می‌باشند، زیرا به طور زیستی ترکیبات فعل مهمنی را تحریک می‌کنند (Singh & Dwivedi, 2018) و به طور فعل

3. Phenylpropanoid

4. Octadecanoid

5. ROS: Reactive Oxygen Species

1. Asteraceae

2. *Echinacea* sp.

دخیل بوده و قادر به تحریک فعالیت اسیدسالیسیلیک می‌باشد. در پژوهشی Yingbin *et al.* (2016) گزارش کردند که اسیدسالیسیلیک اثرات مختلفی بر پیری تحریک شده با متیل جاسمونات داشته است که بستگی به غلظت‌های به کار رفته دارد و از دست دادن تدریجی محتوای کلروفیل و کارآئی فتوشیمیایی در برگ‌های تیمار شده با اسیدسالیسیلیک و متیل جاسمونات نسبت به برگ‌های تیمار شده با متیل جاسمونات با شدت کمتری بوده و غلظت‌های کمتر اسیدسالیسیلیک باعث محافظت در برابر پیری ایجاد شده توسط متیل جاسمونات می‌شود. از این رو، هدف از این پژوهش برای دستیابی به بهترین اثرات اسیدسالیسیلیک و متیل جاسمونات بر خصوصیات موافلولوژیک و فیزیولوژیک سرخارگل در شرایط مزرعه‌ای بود.

## مواد و روش‌ها

آزمایش طی دو سال زراعی ۱۳۹۶-۹۷ و ۱۳۹۷-۹۸ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان (عرض جغرافیایی  $۴۱^{\circ} ۳۶^{\prime}$ ، طول جغرافیایی  $۲۷^{\circ} ۴۸^{\prime}$  شمالی و ارتفاع ۱۶۲۰ متر از سطح دریا) انجام شد. اطلاعات آب و هوایی سال‌های آزمایش در جدول ۱ ذکر شده است.

## طرح آزمایشی و عملیات زراعی

در نخستین سال آزمایش (۱۳۹۶)، ابتدا پس از آماده سازی زمین مورد نظر (انجام شخم و تسطیح)، نشاء‌های سرخارگل گونه پورپورآ پس از تهیه در ۲۰ اردیبهشت ماه کشت شدند. طرح آزمایشی به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. هر واحد آزمایشی شامل چهار ردیف ۲/۴ متری به فاصله ۶۰ سانتیمتر از یکدیگر و فاصله بوته‌ها ببروی ردیف‌ها، ۵۰ سانتیمتر در نظر گرفته شد. در این پژوهش، تعداد تیمارها شامل ۱۶ تیمار با سه تکرار و تعداد کل کرت‌های آزمایشی ۴۸ واحد (چهار بوته در هر کرت) بود و تعداد کل بوته‌های قابل نمونه‌برداری (به غیر از بوته‌های حاشیه‌ای) نیز ۳۴۸ بوته بود.

می‌شود (Németh *et al.*, 2002). همچنین، باعث فعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اسیدان می‌گردد که این آنزیم‌ها نقش بسیار مهمی در غیر فعال نمودن رادیکال‌های آزاد اسیژن در سلول‌های گیاهی دارند که میزان فعالیت آنها در گیاهان بسته به گونه گیاهی و شدت تنش تغییر می‌یابد، در صورتی که سمیت‌زدایی از اسیژن واکنش‌گر انجام نگیرد آسیب جدی به کلروفیل‌ها، پروتئین‌ها، لیپیدهای غشائی و اسیدهای هسته‌ای وارد خواهد شد (Alscher *et al.*, 2002).

متیل جاسمونات با فرمول شیمیایی  $C_{13}H_{20}O_3$  به صورت مایع بی‌رنگی است که به عنوان یکی از هورمون‌های گیاهی در تنظیم بیان ژن‌ها، تنظیم مسیر متابولیت‌ها، ایجاد پاسخ‌های دفاعی و تولیدمثل مؤثر بوده و می‌تواند بسیاری از فرآیندهای موافلولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی را در گیاهان تحت تاثیر قرار دهد (Saisavoey *et al.*, 2014). متیل جاسمونات تحت شرایط نرمال باعث کاهش رشد در گیاهان می‌شود که با تغییر در ویژگی‌های سلول‌های محافظه موجب بسته شدن روزندها و در نهایت کاهش فتوسنتر می‌گردد (Chavoushi *et al.*, 2019). در این رابطه Sewedan *et al.* (2018) در پژوهشی گزارش کردند که افزایش در غلظت‌های متیل جاسمونات تا ۱۰۰ پی‌پی‌ام منجر به کاهش معنی‌داری در صفاتی مانند ارتفاع گیاه، سطح برگ در گیاه و وزن خشک در برگ‌های گیاه گلایول در مقایسه با غلظت آن در ۷۵ پی‌پی‌ام می‌شود. همچنین، متیل جاسمونات با اثر بر افزایش آنزیم‌های آنتی‌اسیدان، در کاهش رادیکال‌های آزاد نقش دارد به طوری که با بالا نگهداشتن سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اسیدان مانند کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز مانع از رادیکال‌های آزاد حاصل از تنش بر غشاء می‌گردد (Wang, 1999).

غلظت‌های کم اسیدسالیسیلیک و متیل جاسمونات وقni به صورت تکی و یا همراه با هم به کار برد می‌شوند، می‌توانند ژن‌های مسئول اسیدسالیسیلیک و متیل جاسمونات را بیان نمایند (Shetty *et al.*, 2011). Cao *et al.* (2010) نشان دادند که متیل جاسمونات در فعل سازی مسیر فنیل‌بروپانوئید

## جدول ۱. اطلاعات هواشناسی ایستگاه زنجان در سالهای زراعی ۱۳۹۶-۱۳۹۷ و ۱۳۹۷-۱۳۹۸.

Table 1. Meteorological information of Zanjan station in cultivation years of 2017-2018 and 2018-2019.

Month	Cultivation Year (2017-2018)											
	September	October	November	December	January	February	March	April	May	June	July	August
Average Temperature (°C)	15.7	12.7	3.8	5.5	2.3	7.5	14.4	10.6	21.2	25.5	26.3	23.9
Average Rainfall (mm)	0	11.7	20	17.5	70.3	26.8	39.8	22.1	0	1.3	4.8	0
Relative Humidity (%)	45	54	58	66	66	61	58	51	37	42	38	37

Month	Cultivation Year (2018-2019)											
	September	October	November	December	January	February	March	April	May	June	July	August
Average Temperature (°C)	16.1	8	5.3	1.1	2	3.8	11.8	13.3	19.3	26.3	26.3	21.8
Average Rainfall (mm)	8.8	26.5	67.2	26.3	45.5	28.2	14.2	62	23.2	0	0.7	1.8
Relative Humidity (%)	55	68	72	69	69	62	47	61	54	36	41	42

## جدول ۲. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیابی خاک در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان.

Table 2. Physical and chemical properties of soil in the research field of Zanjan University.

Soil Texture			Silty-Clay	Total N (%)	K (ppm)	P (ppm)	CaCO <sub>3</sub> (%)	Organic Matter (%)	EC (mmohs cm <sup>-1</sup> )	pH
Clay (%)	Silt (%)	Sand (%)		0.07	286	9.60	7.20	0.94	1.49	7.4
37	38	25								

با نخ علامت‌گذاری شده و با درج تاریخ از زمان علامت‌گذاری تا زمان پیری گل‌ها و میانگین‌گیری از تعداد روزهای گلدنه تا پژمردگی، ماندگاری گل برروی بوته‌ها با توجه به نوع تیمارهای به کار رفته بر حسب روز به دست آمد.

سطح برگ<sup>۱</sup>

پس از اتمام نمونه‌برداری‌ها از چهار بوته اصلی، برای تعیین سطح برگ از روش تخریبی استفاده شد. به همین منظور در هر کرت از تکرارها، چهار بوته که برای اندازه‌گیری صفت ارتفاع شاخه گل دهنده از سطح زمین کف بر شده بودند، مورد استفاده قرار گرفتند و همه برگ‌های بوته‌ها به طور جداگانه با قیچی جدا شده و پس از توزین با ترازو به وسیله دستگاه اسکنر (مدل Genius Vivid Pro)، اسکن شدند. سپس جهت اندازه‌گیری دقیق مساحت برگ، فایل‌های برگ‌های اسکن شده توسط نرم‌افزار J. Image بررسی شده و مساحت کلی آنها محاسبه شد. در نهایت پس از میانگین‌گیری، میانگین مساحت برگ‌های بوته‌ها بر حسب مترمربع در هر کرت به دست آمد.

در سال اول آزمایش پس از استقرار کامل گیاهان، غلط‌های مختلف تیمارهای اسیدسالیسیلیک و متیل جاسمونات به صورت جداگانه با فاصله ۲۴ ساعت و طی دو مرحله (با فاصله ۲۰ روز) بر روی بوته‌ها محلول‌پاشی شدند. تیمارها شامل اسیدسالیسیلیک در چهار سطح صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مول و متیل جاسمونات در چهار سطح صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومول بودند. تیمارها در سال دوم نیز مانند سال اول برروی بوته‌های باقیمانده (چهار بوته در هر کرت) محلول‌پاشی شدند.

## صفات مورد ارزیابی

از هر کرت، چهار بوته در سال اول و چهار بوته در سال دوم (جمعاً هشت بوته از هر کرت) انتخاب شده و نمونه‌برداری‌ها از بوته‌های سرخارگل به تدریج پس از گذشت دو هفته از دومین تکرار محلول‌پاشی مربوط به هر سال انجام شدند.

ماندگاری گل<sup>۱</sup> بر روی بوته‌ها ابتدا تعداد چهار غنچه گل بر روی هر بوته در هر کرت

به فالکون های ۱۵ میلی لیتری منتقل گردیدند. پس از سانتریفیوژ کردن نمونه ها با دور ۳۰۰۰ (در دقیقه) به مدت ۱۵ دقیقه، از محلول رویی آنها مقدار یک میلی لیتر برداشته شده و جذب نمونه های کلروفیل های a و b به ترتیب در طول موج های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکترو فوتومتر خوانده شدند. از استون ۸۰ درصد به عنوان شاهد (بلانک) و تنظیم کننده دستگاه اسپکترو فوتومتر استفاده شد. همچنین با استفاده از رابطه های زیر میزان هریک از غلطت های کلروفیل ها بر حسب میلی گرم در گرم وزن تر به دست آمد:

$$\text{Chl a} = 12.25 A_{663} - 2.79 A_{645}$$

(میلی گرم کلروفیل a در گرم وزن تر)

$$\text{Chl b} = 21.21 A_{645} - 5.1 A_{663}$$

(میلی گرم کلروفیل b در گرم وزن تر)

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

(میلی گرم کلروفیل کل در گرم وزن تر)

A: میزان جذب محلول در طول موج ها.

### آنژیم کاتالاز

فعالیت آنژیم کاتالاز طبق روش Bergmeyer (1970) اندازه گیری شد. میزان فعالیت این آنژیم در طول موج ۲۴۰ نانومتر و با بافر قرائت حاوی ۳ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم (pH=۷/۴ mM و ۵۰ mM) و ۴/۵۱ میکرولیتر پراکسیدهیدروژن (۰/۳۰٪) و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره استخراجی در طی ۶۰ ثانیه اندازه گیری شد. سپس تفاوت مقدار جذب محلول واکنش بین زمان شروع و پایان واکنش ( $\Delta A_{240}$ ) به دست آمده و فعالیت آنژیم کاتالاز بر حسب میلی مول پراکسیدهیدروژن در دقیقه در میلی گرم پروتئین از رابطه زیر به دست آمد. قابل ذکر است که دستگاه برای هر نمونه مربوط به آنژیم کاتالاز ۳ عدد با فاصله زمانی ۰۰ ۰۰ ثانیه قرائت می کند.

$$U = \frac{\Delta A_{240} \times L \times V_t \times df}{\epsilon \times I \times V_s} \quad (\text{فعالیت آنژیم})$$

U: واحد آنژیمی، Vs: حجم عصاره آنژیمی (برابر با ۱۰۰ میکرولیتر)،  $\epsilon$ : ضریب خاموشی ( $\text{cm}^{-1} \text{mM}^{-1}$  ۳۹/۴)، L: مسافت طی شده توسط نور از مخلوط واکنشی، t: مدت زمان انجام واکنش (برابر با ۱ دقیقه)، Vt: حجم محلول واکنش (برابر با ۳۱۰۵ میکرولیتر)، df:

وزن تر و وزن خشک ریشه برای اندازه گیری وزن تر و خشک ریشه، ریشه ها در اواخر رشد گیاه به طور کامل از خاک خارج شده و وزن تر آنها پس از شستشو و خشک نمودن، توزین و یادداشت شده و میانگین وزنی ریشه های تر به دست آمد. سپس این ریشه ها در داخل پاکت های کاغذی قرار گرفته و به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی گراد (دارای سیستم تهویه) قرار داده شدند و وزن خشک آنها پس از توزین یادداشت برداری شد و میانگین وزنی ریشه های خشک به دست آمد.

### محتوای نسبی آب<sup>۱</sup> گلبرگ

برای اندازه گیری محتوای نسبی آب گلبرگ از روش Kaya et al. (2003) استفاده شد. به همین جهت از برگ های تازه چیده شده به صورت تصادفی انتخاب شده و حدود یک گرم با استفاده از ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شد و سپس با استفاده از قیچی به قطعات یک سانتی متری برش داده شده و در پتربی دیش های حاوی آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار گرفتند تا به حالت اشبع برسند. پس از این مدت، وزن آماسیده آنها با استفاده از ترازوی توزین شد. سپس نمونه ها در درون پاکت های کاغذی قرار گرفته و در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند و وزن خشک آنها پس از توزین یادداشت گردید. در نهایت محتوای نسبی آب از فرمول زیر به دست آمد:

$$\%RWC = [(W_F - W_D) / (W_T - W_D)] \times 100$$

W<sub>F</sub>: وزن تر برگ، W<sub>T</sub>: وزن آماس برگ، W<sub>D</sub>: وزن خشک برگ.

### اندازه گیری کلروفیل ها (a, b و کل)

برای اندازه گیری غلظت کلروفیل ها از روش & Kirk (1965) استفاده شد. به همین منظور، پس از انتخاب تصادفی تعدادی از برگ ها، مقدار ۰/۲ گرم از آنها با ترازوی حساس ۰/۰۱ گرم توزین گردیده و در هاون چینی توسط ازت مایع پودر شدند و به همراه استون ۸۰ درصد به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانده شده و

1. RWC: Relative Water Content

نشان داد که عامل سال در بیشتر صفات معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) بود. از این‌رو، مقایسه میانگین کلیه صفات با داده‌های دو سال آزمایش انجام شد (جدول ۴). طبق نتایج جدول ۴ مشاهده می‌شود که میزان محتوای نسبی آب گلبرگ ( $70/59$  درصد) در سال ۱۳۹۶ کمی بیشتر از سال ۱۳۹۷ بود، اما اثر سال معنی‌دار نبود. در کل می‌توان نتیجه گرفت این تفاوت اندک به علت اثر متقابل سال با اسیدسالیسیلیک و متیل جاسمونات ( $p < 0.05$ ) و اثر متقابل سال با اسیدسالیسیلیک با متیل جاسمونات بر میزان محتوای نسبی آب گلبرگ ( $4/51$  pH=) بوده است. طبق نتایج، بیشتر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک در سال دوم نسبت به سال اول برتری داشته‌اند که این امر می‌تواند به دلیل اثر سال و همچنین تفاوت شرایط محیطی و اقلیمی دو سال آزمایش نیز باشد (جدول ۴).

### ماندگاری گل

طبق نتایج جدول ۳، اثر تیمارهای اسیدسالیسیلیک و متیل جاسمونات و همچنین اثر متقابل اسیدسالیسیلیک با متیل جاسمونات در ماندگاری گل معنی‌دار شده‌اند ( $p < 0.01$ ). با توجه به شکل ۱ مشاهده می‌شود که بیشترین ماندگاری گل (۲۴ روز) در تیمار  $100 \text{ میلیمول اسیدسالیسیلیک}$  و  $200 \text{ میکرومول متیل جاسمونات}$  حاصل شده است.

بهبود مدت زمان گلدهی می‌تواند به صورت نقش تنظیم‌کنندگی داخلی اسیدسالیسیلیک در رشد تعییر شود که نقش مهمی در افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ایفا کرده و باعث تقسیم سلولی و بزرگ شدن سلول‌ها می‌گردد. همچنین کاربرد اسیدسالیسیلیک سطح برگ گیاهان تیمار شده را افزایش می‌دهد که در نهایت کیفیت و کمیت گل را معنکس می‌کند (Hayat & Ahmad, 2007). نتایج قابل ملاحظه‌ای در باره بهبود شاخص پایداری غشا با محلول پاشی برگی در غلظت‌های مختلف اسیدسالیسیلیک در گل‌زربرا (*Danaee et al., 2011*) و گل‌گلایبول (*Gerbera jamesonii*) و گل‌گلایبول (*Ezhilmanthi et al., 2007*) گزارش شده‌اند که منجر به افزایش عمر گل‌ها می‌گردند، به همین دلیل اسیدسالیسیلیک به عنوان یک تیمار موثر

ضریب رقیق کننده ( $V_s/V_t$ )،  $\Delta A_{240}$  : هیدروژن در معادله مشخص می‌شود ( $= 2$ )، تفاوت مقدار جذب محلول واکنش بین زمان شروع و پایان واکنش

### آنزیم پراکسیداز

فعالیت آنزیم پراکسیداز طبق روش Herzog & Fahimi (1973) اندازه‌گیری شد. میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در طول موج  $470 \text{ نانومتر}$  و با بافر رقائتی حاوی  $3 \text{ میلی‌لیتر}$  بافر فسفات پتاسیم ( $50 \text{ mM}$ ) و  $7/3$   $3/5 \text{ میکرولیتر}$  پراکسیدهیدروژن ( $4/51$  pH=)،  $3/5 \text{ میکرولیتر}$  گایاکول و  $100 \text{ میکرولیتر}$  عصاره استخراجی در طی  $120 \text{ ثانیه}$  اندازه‌گیری شد، به همین جهت  $6 \text{ فاصله} 20 \text{ ثانیه}$  ای در طی  $120 \text{ ثانیه}$  برای مقدار جذب و قرائت تعیین شده و فاز تأخیری  $60 \text{ ثانیه}$  ای نیز در نظر گرفته شد. فعالیت ویژه این آنزیم که توسط پراکسیدهیدروژن تجزیه می‌شود، با استفاده از رابطه زیر و برحسب میلی‌مول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد:

$$\text{فعالیت آنزیم } U = \frac{\Delta A_{470} \times L \times V_t \times df}{\epsilon \times I \times t \times V_s} \quad U: \text{ واحد آنزیمی، } \Delta A_{470}: \text{ اختلاف مقدار جذب محلول واکنش در اول و آخر واکنش، } L: \text{ حجم محلول واکنش، } df: \text{ عامل رقیق کننده } (V_s/V_t), t: \text{ طول زمان واکنش (برابر با ۲ دقیقه)، } \epsilon: \text{ ضریب خاموشی } (26/6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}), V_s: \text{ حجم نمونه، } \Delta A: \text{ مسافت طی شده توسط نور از محلول واکنش } (= 1), I: \text{ ضریب پراکسیدهیدروژن در معادله } (= 4).$$

### آنالیز داده‌ها

آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای SAS نسخه ۹/۱ و MSTAT-C و رسم نمودارها به وسیله Excel انجام گرفت. همچنین برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

### نتایج و بحث

تجزیء واریانس آزمایش فاکتوریل- اسپلیت در زمان در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام گرفت که نتایج آن در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج

وزن خشکریشه (۷۹/۹۸ گرم) نیز مربوط به تیمار ۱۰۰ میلیمول اسیدسالیسیلیک و ۲۰۰ میکرولیتر متیل جاسمونات بود (شکل‌های ۲ و ۳).

گزارش شده است اثرات افزایشی و مثبت اسیدسالیسیلیک بر رشد می‌تواند به تعییرات در وضعیت هورمونی و یا به بهبود فتوستنتز و افزایش در جذب دی‌اکسیدکربن و میزان تبادلات گازی نسبت داده شود (Karlidge *et al.*, 2009; Koppad *et al.*, 2017). همچنین، اسیدسالیسیلیک عملکرد گیاهان را با تشکیل آنزیم‌های فتوستنتزی و از طریق سنتز کلروفیل و تسریع فتوستنتز بهبود می‌بخشد (Hayat *et al.*, 2007). اسیدسالیسیلیک یک تنظیم‌کننده مهم فتوستنتزی می‌باشد، چون فعالیت دو آنزیم کلیدی مانند ربیولوز<sup>۱</sup>، ۵-بی‌فسفات کربوکسیلاز/ اکسیژناز<sup>۲</sup> و کربونیک آنهیدراز<sup>۳</sup> را در سنتز کربوهیدرات‌ها افزایش می‌دهد (Rivas & Plasencia, 2011)، به همین جهت افزایش در عملکرد گیاهی عمدتاً به علت اثر مثبت اسیدسالیسیلیک بر طول ریشه و تراکم آن است (Larqué-Saavedra & Martin-Méx, 2007). Pacheco *et al.* (2013) با تحقیق برروی گل همیشه بهار خاطر نشان کردند که اسیدسالیسیلیک اثرات تحریکی بر فرآیندهای گوناگون مرتبط با رشد و نمو گیاهان دارد. کاربرد متیل جاسمونات در گیاهان تحت شرایط عادی رشد، باعث کاهش رشد در آنها می‌شود. این عقب ماندگی در رشد را می‌توان به نقش متیل جاسمونات در تغییر مشخصات سلول‌های محافظه که منجر به بسته شدن روزندها و کاهش فتوستنتز می‌شوند، نسبت داد (Chavoushi, 2019).

محلول‌پاشی با متیل جاسمونات می‌تواند بیان ژن‌های مرتبط با فتوستنتز را افزایش دهد، به عنوان مثال افزایش زیربخش کوچکی از آنزیم روپیسکو و نیز ترجمه آنها منجر به افزایش در آنزیم روپیسکو و محتوای کلروفیل می‌گردد (Janoudi & Flore, 2003).

### سطح برگ

طبق نتایج جدول ۳، تیمارهای اسیدسالیسیلیک و اثر

برای افزایش طول عمر گل‌های شاخه بریده از قبیل گل‌گلاییول (Hatamzadeh *et al.*, 2012) و رز (Geraillou & Ghasemnezhad, 2011) پیشنهاد شده است. Kazemi *et al.*, 2011) اسیدسالیسیلیک و متیل جاسمونات هورمون‌های گیاهی هستند که در واکنش با اتیلن از بیوسنتز آن جلوگیری کرده و پیری را به تأخیر می‌اندازند. غلظت‌های کم اسیدسالیسیلیک و متیل جاسمونات وقتی به صورت تکی و یا همراه با هم به کار برده شوند، می‌توانند ژن‌های مستحول اسیدسالیسیلیک و متیل جاسمونات را بیان نمایند (Shetty *et al.*, 2011). Yingbin *et al.* (2016) گزارش کردند که کاربرد اسیدسالیسیلیک اثرات گوناگونی بر پیری تحریک شده برگ توسط متیل جاسمونات با توجه به غلظت‌های مورد استفاده در آن دارد و از دست دادن تدریجی محتوای کلروفیل و راندمان فتوشیمیایی<sup>۱</sup> در برگ‌های تیمار شده با کاربرد توازن اسیدسالیسیلیک و متیل جاسمونات نسبت به آنهای که تنها با متیل جاسمونات تیمار شده بودند، نسبتاً کمتر می‌باشد که در نتیجه غلظت‌های کم اسیدسالیسیلیک باعث محافظت از پیری ناشی از متیل جاسمونات می‌شود. Christelle *et al.* (2001) در آزمایشی نشان دادند مدت زمان ماندگاری گل‌ها برروی بوته‌ها (تعداد روزها از باز شدن اولین گلچه تا پژمرده شدن آنها) به طور معنی‌داری با کاربرد اسیدسالیسیلیک و متیل جاسمونات یا ترکیب آنها در هر دو فصل در مقایسه با تیمار شاهد بهبود می‌یابد.

### وزن تر و خشک ریشه

طبق نتایج جدول ۳، اثر اسیدسالیسیلیک ( $p<0.01$ ) و اثر متقابل اسیدسالیسیلیک با متیل جاسمونات ( $p<0.05$ ) بر وزن تر و خشک ریشه معنی‌دار شده‌اند، در حالیکه اثر متیل جاسمونات معنی‌دار نشده است. همچنین، بیشترین مقدار وزن تر ریشه ( $239/8$  گرم) مربوط به تیمارهای ۱۰۰ میلیمول اسیدسالیسیلیک و ۱۰۰ میکرومول متیل جاسمونات و بیشترین مقدار

2. Rubisco

3. Carbonic Anhydrase

1. Photochemical

سطح و وزن خشک برگ‌های گیاه گلایول در مقایسه با شاهد شدند که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

### محتوای نسبی آب گلبرگ

با توجه به نتایج جدول ۳، اثر اسیدسالیسیلیک ( $p < 0.05$ ) و متیل جاسمونات ( $p < 0.01$ ) بر محتوای نسبی آب معنی‌دار شده است، در حالیکه اثر متقابل آنها معنی‌دار نمی‌باشد. همچنین، نتایج جدول ۵ نشان می‌دهد که در سال اول بیشترین محتوای نسبی آب ( $75/0.05$  درصد) در تیمار ۱۰۰ میلی‌مول اسیدسالیسیلیک و ۱۰۰ میکرومول متیل جاسمونات به دست آمده است، در حالیکه بیشتر تیمارها با این تیمار تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. همچنین بیشترین محتوای نسبی آب ( $75/77$  درصد) در سال دوم در تیمار ۱۰۰ میلی‌مول اسیدسالیسیلیک و ۵۰ میکرومول متیل جاسمونات حاصل شده است، در حالیکه این تیمار با برخی از تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان نداد. محتوای نسبی آب شاخص مهمی بوده و به عنوان واحد اندازه‌گیری وضعیت آب گیاه مورد ملاحظه قرار گرفته است که منعکس کننده فعالیت متابولیکی در بافت‌ها بوده و به عنوان شاخص معنی‌داری برای تحمل به خشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد Li et al. (Barahuyi Nikju, 2017). مطابق گزارش Szepesi et al. (2014)، تیمار اسیدسالیسیلیک قادر به افزایش و حفظ محتوای نسبی آب بالا در گیاهان تحت تنفس در مقایسه با گیاهان بدون اسیدسالیسیلیک می‌باشد. Youssef et al. (2017) نشان دادند که کلیه غلظت‌های اسیدسالیسیلیک، محتوای نسبی آب و شاخص پایداری غشاء را در مقایسه با گیاهان شاخص در طی دو فصل افزایش می‌دهند. نتایج به دست آمده در مطابقت با نتایج گزارش شده توسط Salimi et al. (2007) می‌باشد که دریافتند کاربرد خارجی اسیدسالیسیلیک محتوای نسبی آب را در برگ‌های گوجه فرنگی افزایش می‌دهد که ممکن است به آن اسیدسالیسیلیکی نسبت داده شود که می‌تواند مقاومت انتشار برگی و تعرق کمتر در گیاهان را افزایش دهد. علاوه بر این، بهبود در محتوای آب برگ با کاربرد اسیدسالیسیلیک منجر به تجمع اسماولیت‌های مختلفی همچون قند، الكل قند و

متقابل اسیدسالیسیلیک با متیل جاسمونات ( $p < 0.01$ ) و متیل جاسمونات ( $p < 0.05$ ) تأثیر معنی‌داری بر سطح برگ داشته‌اند. همچنین، بیشترین مقدار سطح برگ (۷۵ مترمربع) در تیمار ۱۰۰ میلی‌مول اسیدسالیسیلیک و ۱۰۰ میکرولیتر متیل جاسمونات حاصل شده است (شکل ۴).

اسیدسالیسیلیک با تأثیر مستقیم و یا غیرمستقیم بر افزایش تعداد سلول‌ها و یا افزایش اندازه آنها منجر به Rivas-San Vicente & Plasencia (2011; Khan et al., 2003; Gharib, 2006 کاربرد اسیدسالیسیلیک سطح برگ گیاهان تیمار شده را افزایش می‌دهد که کیفیت و کمیت گل را نیز منعکس می‌کند (Zeb & Ahmad, 2007). در پژوهشی، Hayat et al. (2017) بیان کردند عکس‌العمل بین اسیدسالیسیلیک و رقم نشان می‌دهد که سطح برگ در همه کولتیوارها با تمامی غلظت‌های اسیدسالیسیلیک افزایش می‌یابد، با این وجود بیشترین تعداد برگ برای گل آهار با کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدسالیسیلیک به ثبت رسیده است. از آنجا که مربوط به عکس‌العمل بین اسیدسالیسیلیک و کولتیوار می‌باشد، غلظت‌های مختلف اسیدسالیسیلیک به طور معنی‌داری در همه کولتیوارهای منتخب گل آهار باعث در افزایش ارتفاع شدند.

Walia et al. (2007) گزارش کردند که متیل جاسمونات در غلظت کم، دارای اثر تحریک‌کننده‌ی برگ را افزایش می‌دهد. در پژوهشی، محلول‌پاشی برگی گیاه بابونه آلمانی با متیل جاسمونات منجر به افزایش سطح برگ شد (Salimi et al., 2011). Sewedan et al. (2018) در تحقیقی بیان کردند که افزایش غلظت‌های متیل جاسمونات در ۱۰۰ پی‌پی‌ام منجر به کاهش معنی‌داری در میانگین مقادیر سطح برگ و وزن خشک برگ‌های گیاه گلایول در دو فصل رشد در مقایسه با غلظت آن در ۷۵ پی‌پی‌ام شد. به طور کلی داده‌ها در باره سطح برگ در هر گیاه و وزن خشک برگ‌ها در طی دو فصل نشان دادند که کاربرد برگی اسیدسالیسیلیک و متیل جاسمونات و عکس‌العمل بین آنها منجر به افزایش معنی‌داری در

اسیدسالیسیلیک و ۱۰۰ میکرومول متیل جاسمونات و بیشترین میزان کلروفیل کل در سال اول (۵/۳۲) میلی گرم در گرم وزن تر) در غلظت های ۵۰ میلی مول اسیدسالیسیلیک و ۲۰۰ میکرومول متیل جاسمونات و بیشترین میزان آن در سال دوم (۵/۳۱) میلی گرم در گرم وزن تر) در غلظت های ۱۰۰ میلی مول اسیدسالیسیلیک و ۵۰ میکرومول متیل جاسمونات به دست آمده است.

کاهش محتوای کلروفیل یکی از مهمترین و مؤثرین عوامل در ظرفیت فتوسنتری گیاهان می باشد (Zaidi, Abd El-Baky et al., 2008). گزارش کرد که بهبود در کارآیی فتوسنتر تا حدی با مقدار رنگدانه های فتوسنتری همراه می باشد که ممکن است به دلیل نقش محافظت اسمزی اسیدسالیسیلیک بر کلروپلاست (غشاها تیلاکوئید) باشد، بدین معنی که استفاده خارجی از اسیدسالیسیلیک باعث افزایش غلظت های درون زای آن شده و ممکن است دارای اثرات مستقیم و غیرمستقیم بر محافظت اسمزی باشد که بدین ترتیب تنفس اکسیداتیوی در مکانیسم فتوسنتری کاهش یافته و در نهایت باعث افزایش رشد، عملکرد و کیفیت آن می گردد. Elsadek (2018) در پژوهشی بیان کرد که محتوای کلروفیل برگ های گل کوکب به طور قابل توجهی با کاربرد اسیدسالیسیلیک افزایش می یابد که احتمالاً این هورمون، تخریب کلروفیل ها را به تأخیر انداخته و یا بیوسنتر آنها را افزایش داده و یا غشای تیلاکوئید را تشییت می کند.

پرولین می گردد که مسئول تنظیم اسمزی هستند (Szepesi et al., 2005; Umebese et al., 2009; Khalvandi et al., Bidabadi et al., 2012) (2018) کاربرد متیل جاسمونات (۷۵ میکرومول) بر روی گیاه نعناع فلفلی گزارش کردند که میزان محتوای نسبی آب افزایش یافته و مقدار نشت یونی کاهش می یابد.

### محتوای کلروفیل (کلروفیل های a و b و کل)

با توجه به جدول ۳ مشاهده می شود که اثر اسیدسالیسیلیک بر کلروفیل های a و b و اثر متیل جاسمونات بر کلروفیل b معنی دار شده اند ( $p < 0.01$ )، همچنین، اثر متیل جاسمونات بر کلروفیل کل ( $p < 0.05$ ) و اثر متقابل اسیدسالیسیلیک با متیل جاسمونات بر کلروفیل های a و b و کل ( $p < 0.01$ ) معنی دار شده اند. با توجه به جدول ۵ مشاهده می شود که بیشترین میزان کلروفیل a در سال اول (۸۱/۹) میلی گرم در گرم وزن تر) در غلظت های ۱۰۰ میلی مول اسیدسالیسیلیک و ۵۰ میکرومول متیل جاسمونات و بیشترین میزان آن در سال دوم (۸۱/۲) میلی گرم در گرم وزن تر) در غلظت های ۱۰۰ میلی مول اسیدسالیسیلیک و ۵۰ میکرومول متیل جاسمونات، بیشترین میزان کلروفیل b در سال اول (۲۰/۴) میلی گرم در گرم وزن تر) در غلظت های ۱۰۰ میلی مول اسیدسالیسیلیک و ۵۰ میکرومول متیل جاسمونات و بیشترین میزان آن در سال دوم (۲/۲۸) میلی گرم در گرم وزن تر) در غلظت های ۱۰۰ میلی مول

جدول ۳. تجزیه واریانس صفات مورفوفیزیولوژیکی سرخار گل

Table 3. Variance analysis of morphophysiological traits of purple cone flower (*Echinacea purpurea*)

S.O.V	df	Mean squares									
		Vase Life of Flower	Leaf Area	Fresh Weight of Root	Dry Weight of Root	Relative Water Content of Petal	Chl. a	Chl. b	Total Chl.	Catalase Enzyme	Peroxidase Enzyme
R	2	2.4	0.032	896.24	280.56	20.24	0.187	0.001	0.004	0.049	0.110
SA	3	62.58 **	0.186 **	11451.82 **	1714.90 **	20.06 *	0.294 **	0.858 **	0.056	0.342 **	0.535 **
meJA	3	27.36 **	0.054 *	859.59	229.2	43.50 **	0.099	0.088 **	0.277 *	0.249 **	0.229
SA × meJA	9	15.88 **	0.095 **	2413.18 *	347.98 *	10.83	1.20 **	0.056 **	0.568 **	0.060 **	0.753 **
Error1	30	6.82	0.012	541.82	81.67	5.80	0.056	0.009	0.058	0.017	0.185
Year	1	461.02 **	0.772 **	49160.28 **	7146.47 **	17.27	3.93 **	0.143 **	1.90 **	2.257 **	2.724 **
R × Y	2	6.28 *	0.055 *	1212.30	466.90	8.07	0.027 **	0.005 **	0.098	0.019	0.118
SA × Y	3	1.18	0.01	2589.51 *	393.69 *	35.97 **	0.460 **	0.182 **	0.333 *	0.219 **	0.431
meJA × Y	3	0.68	0.020	1599.32	208.55	43.88 **	1.10 **	0.056 **	0.481 **	0.168 **	0.433
SA × meJA × Y	9	1.37	0.024	1153.50	159.88	16.73 *	1.69 **	0.029 **	0.345 **	0.133 **	0.852 **
Error2	30	1.38	0.016	917.35	119.25	6.62	0.056	0.008	0.081	0.011	0.208
CV (%)	-	6.06	22.74	15.68	17.51	3.67	3.39	4.92	6.22	20.85	24.75

\* و \*\*: به ترتیب، معنی دار سطح احتمال ۰.۰۵ و ۰.۰۱ درصد.

SA: Salicylic Acid; meJA: Methyl Jasmonate; Y: Year

## جدول ۴. مقایسه میانگین صفات مورفو-فیزیولوژیکی سرخارگل در دو سال آزمایش (۱۳۹۶ و ۱۳۹۷)

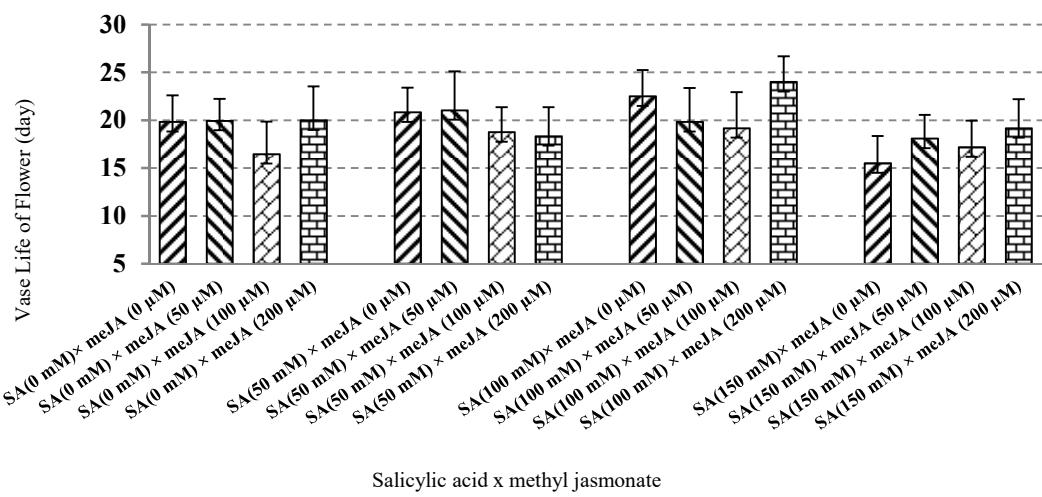
Table 4. Mean comparison of morphophysiological traits of purple cone flower (*Echinacea purpurea*) in two years (2017 and 2018)

Year	Vase Life of Flower (day)	Leaf Area (m <sup>2</sup> )	Fresh Weight of Root (gr)	Dry Weight of Root (gr)	Relative Water Content of Petal (%)	Chl. a (mg g <sup>-1</sup> FW)	Chl. b (mg g <sup>-1</sup> FW)	Total Chl. (mg g <sup>-1</sup> FW)	CAT Enzyme (mM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> min <sup>-1</sup> mg <sup>-1</sup> Pro)	POD Enzyme (mM min <sup>-1</sup> mg <sup>-1</sup> Pro)
2017	17.22 b	0.51 b	170.48 b	53.74 b	70.59 a	6.85 b	1.73 b	4.42 b	0.36 b	1.37 b
2018	21.6 a	0.81 a	215.74 a	71.00 a	69.74 a	7.25 a	1.80 a	4.76 a	0.67 a	1.70 a

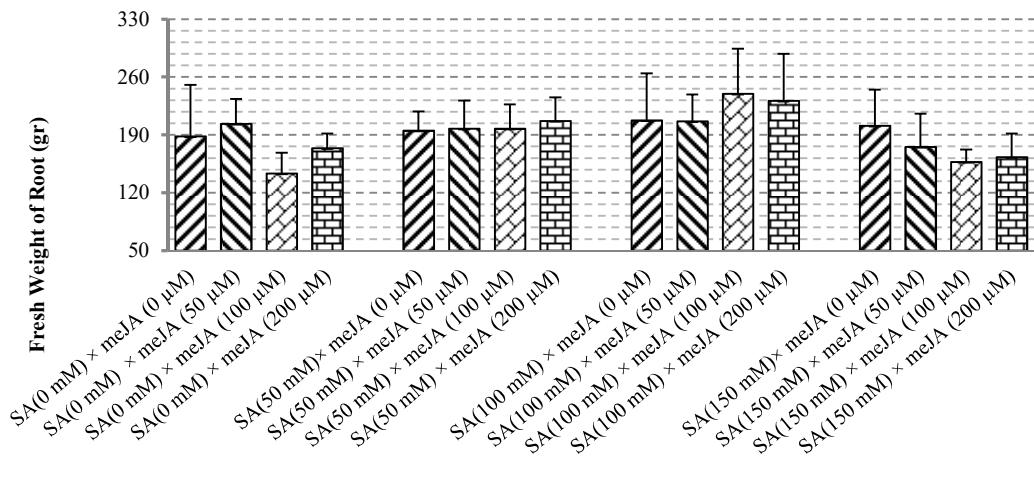
میانگین‌های دارای حروف مشابه، در سطح احتمال ۰/۰۵ اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

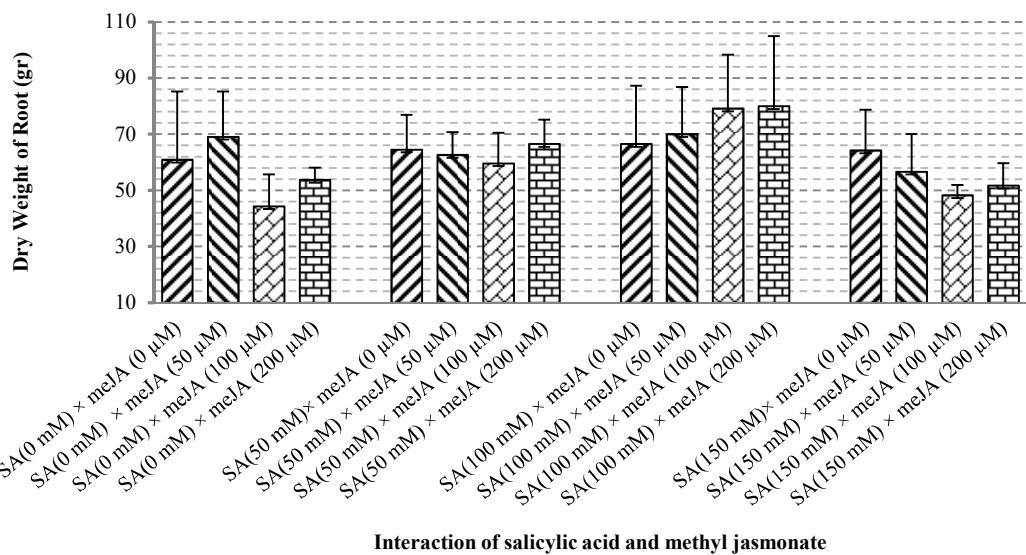
Means with same letters are not significantly different from each other ( $P < 0.05$ ).

CAT: Catalase Enzyme, POD: Peroxidase Enzyme.



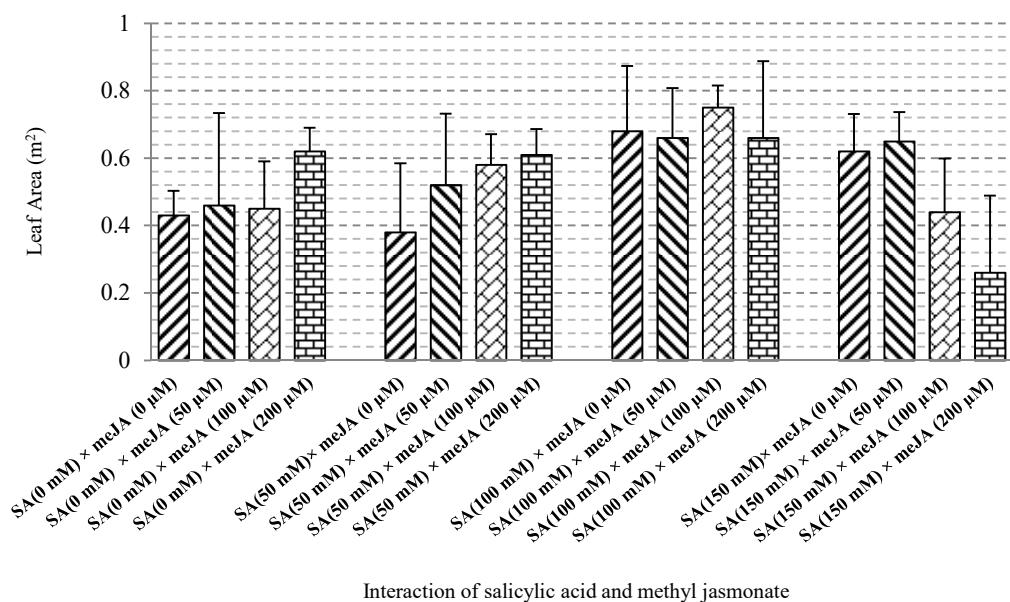
شکل ۱. مقایسه میانگین اثر متقابل اسیدسالیسیلیک و متیل جاسمونات در سال‌های اول و دوم آزمایش بر ماندگاری گل سرخارگل.

Figure 1. Mean comparison interaction effect of salicylic acid and methyl jasmonate in the first and second years on flower vase life of purple coneflower (*Echinacea purpurea*).شکل ۲. اثر متقابل اسیدسالیسیلیک و متیل جاسمونات در سال‌های اول و دوم آزمایش بر وزن تر ریشه سرخارگل  
Figure 2. Interaction of salicylic acid and methyl jasmonate in the first and second years on root fresh weight of purple coneflower (*Echinacea purpurea*)



شکل ۳. اثر متقابل اسیدسالیسیلیک و متیل جاسمونات در سال‌های اول و دوم آزمایش بر وزن خشک ریشه سرخارگل

Figure 3. Interaction of salicylic acid and methyl jasmonate in the first and second years on root dry weight of purple coneflower (*Echinacea purpurea*)



شکل ۴. اثر متقابل اسیدسالیسیلیک و متیل جاسمونات در سال‌های اول و دوم آزمایش بر سطح برگ سرخارگل

Figure 4. Interaction of salicylic acid and methyl jasmonate in the first and second years on leaf area of purple coneflower (*Echinacea purpurea*)

است. اسیدسالیسیلیک در غلظت‌های بالا سبب سنتز اتیلن شده و در غلظت‌های مناسب از ساخت آن جلوگیری می‌کند و از این رو بر تولید و ماندگاری مولکول‌های کلروفیل مؤثر است. مکانیسم اثرگذاری اتیلن بر کلروفیل‌ها از راه افزایش در فعالیت آنزیم کلروفیلان است که در شرایط طبیعی با تسریع در

نشان داده شده است که تغییرپذیری کلروفیل‌ها تحت تأثیر اسیدسالیسیلیک به اثر این ترکیب بر فعالیت آنزیم ۱-آمینوسیکلوبروپان-۱-کربوکسیلیک اسید سنتاز یا اکسیداز<sup>۱</sup> در فرآیند تولید اتیلن مرتبه

1. ACC: 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase/oxidase

تدریجی محتوای کلروفیل و کارآیی فیتوشیمیایی در برگ‌های تیمار شده با اسیدسالیسیلیک و متیل جاسمونات نسبت به برگ‌های تیمار شده با متیل جاسمونات با شدت کمتری بوده و غلظت‌های متیل جاسمونات باشد کمتری بوده و غلظت‌های اسیدسالیسیلیک باعث محافظت در برابر پیری ایجاد شده توسط متیل جاسمونات می‌شود. Sewedan et al. (2018) بیان کردند که محتوای کلروفیل کل در برگ‌های تازه گلایول به طور معنی‌داری به علت تیمارهای اسیدسالیسیلیک و متیل جاسمونات و اثرات متقابل آنها در طی دو فصل در مقایسه با گیاهان تیمار نشده، افزایش می‌یابد. این نتایج ممکن است به تنظیم آب گیاه که عناصر غذایی به ویژه نیتروژن و فسفر را حمل نموده و افزایشی در محتوای کلروفیل منعکس می‌کنند، نسبت داده شود.

**اثر الیسیتورهای اسیدسالیسیلیک و متیل جاسمونات بر فعالیت آنتی‌اسیدانی آنزیم‌ها**  
 گیاهان دارای سیستم‌های دفاعی آنتی‌اسیدانی متشکل از اجزای آنزیمی و غیر آنزیمی هستند که به طور معمول تعادل گونه‌های فعال اکسیژن را در درون سلول‌ها حفظ کرده و از مجموعه‌های گوناگونی از آنزیم‌ها مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز و همچنین آنتی‌اسیدان‌هایی با وزن مولکولی کم استفاده می‌کنند تا انواع مختلفی از گونه‌های فعال اکسیژن را پاکسازی نمایند ( Mittler, 2002; Ali et al., 2006; Ali et al., 2007 اثرات اسیدسالیسیلیک و متیل جاسمونات بر کل ظرفیت سیستم آنتی‌اسیدانی و آنزیم‌های مختلف آنتی‌اسیدان، به عنوان بخش‌هایی از کل این سیستم، نشان می‌دهد که اثر هریک از این مواد فیتوشیمیایی بر بخش‌های مختلف سیستم آنتی‌اسیدانی در شکل‌های متفاوتی ظاهر می‌شود ( Asghari & Hasanloo, 2015).

#### آنژیم کاتالاز

نتایج جدول ۳ نشان می‌دهد که اثرات اسیدسالیسیلیک و متیل جاسمونات و اثر متقابل اسیدسالیسیلیک با متیل جاسمونات بر آنزیم کاتالاز

تخرب کلروفیل‌ها سبب ظهور بافت‌های رنگی از راه آشکارسازی کاروتینوئیدها و دیگر رنگدانه‌های غیرسپزینه‌ای می‌شود (Li et al., 1992 Wahed (2006) در پژوهشی دریافت که کاربرد اسیدسالیسیلیک کلروفیل‌های a و b را در گیاه آپارتمانی سینگونیوم<sup>۱</sup> افزایش می‌دهد.

همچنین مشخص شده است متیل جاسمونات نیز با افزایش در فعالیت آنزیم ۱- آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلیک/اسید سنتاز یا اکسیداز و بیوسنتر اتیلن بر میزان رنگدانه‌های درونی مؤثر است به طوری که ژن mRNA AtC<sub>1</sub>H<sub>1</sub> به عنوان القاء‌کننده پیری و تخریب کلروفیل (با سنتز آنزیم کلروفیلاز) در گیاهان باعث افزایش در فعالیت آنزیم کلروفیلاز و تخریب کلروفیل Khavandi et al. (See et al., 2011) می‌گردد (2018) گزارش کردند در نعناع فلفلی مقدار کلروفیل a به طور متفاوتی با کاربرد متیل جاسمونات واکنش نشان می‌دهد، به طوری که با کاربرد سطوح پائین متیل جاسمونات (۷۵ میکرومول)، میزان آن به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد، اما در سطوح بالاتر، اثر آن بر میزان کلروفیل a نسبت به شاهد کاهش می‌یابد. همچنین کاهش در میزان کلروفیل با افزایش غلظت متیل جاسمونات به علت بالارفتن سطح هورمون اسید‌آبسیزیک برگ و در نهایت کاهش آنزیم روبیسکو و کلروفیل است که موجب اختلال در عملکرد فتوسنتر می‌شود (Saffari et al., 2012). در پژوهش حاضر، کاهش در کلروفیل با تیمار متیل جاسمونات در تطابق با نتایج Jung (2004) و He et al. (2002) می‌باشد که گزارش کردند از دست رفتن کلروفیل تحریک شده با متیل جاسمونات می‌تواند به پیری برگ ایجاد شده با این ماده نسبت داده شود که در نتیجه انرژی مورد نیاز پدیده‌های سازنده<sup>۲</sup> مانند فتوسنتر کاهش می‌یابد.

در پژوهشی Yingbin et al. (2016) گزارش کردند که اسیدسالیسیلیک اثرات مختلفی بر پیری تحریک شده توسط متیل جاسمونات داشته است که بستگی به غلظت‌های به کار رفته دارد و از دست دادن

1. *Syngonium podophyllum*  
 2. Anabolic

برعهده دارد (Baba Rabi *et al.*, 2018). به نظر می‌رسد کاهش آنزیم کاتالاز به علت افزایش پراکسیدهیدروژن در پراکسیزومها به عنوان پیام اولیه جهت فعال نمودن سیستم آنتیاکسیدانی کل در گیاه می‌باشد (Soares *et al.*, 2010) که باعث ایجاد حفاظت در برابر گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن تولید شده در داخل سلول‌ها می‌شود (Kim *et al.*, 2004). نشان داده شده است که آنزیم کاتالاز در بافت‌های گیاهی در تنظیم پراکسیدهیدروژن دخالت دارد، بنابراین از تجزیه سلول‌ها جلوگیری می‌نماید (Bolwell & Wojtaszek, 1997) در پژوهشی، Alaey *et al.* (2011) گزارش کردند که گل‌های رز شاخه بریده تیمار شده با اسیدسالیسیلیک، جذب آب و وزن ترنسی بالا و فعالیت زیاد آنزیم کاتالاز را نشان داده و اسیدسالیسیلیک کاهش در فعالیت آنزیم کاتالاز را در طی پیری گل‌ها به تأخیر می‌اندازد.

معنی‌دار شده‌اند ( $p < 0.01$ ). نتایج جدول ۵ بیانگر اینست که بیشترین میزان آنزیم کاتالاز در سال اول (۰/۶۲۹ میلی‌مول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) در غلظت‌های ۱۰۰ میلی‌مول اسیدسالیسیلیک و ۱۰۰ میکرومول متیل‌جامسونات و بیشترین میزان آن در سال دوم (۱/۲۴ میلی‌مول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) در غلظت‌های ۱۰۰ میلی‌مول اسیدسالیسیلیک و ۵۰ میکرومول متیل‌جامسونات به دست آمده است.

آنزیم کاتالاز حاوی یک هم تترامeric موجود در همه جا بوده که دو مولکول پراکسیدهیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل می‌کند (Ho *et al.*, 2020) و در میتوکندری‌ها، پراکسیزومها و گلی‌اکسیزومها گیاهی وجود داشته و نقش تجزیه پراکسیدهیدروژن تولید شده طی تنفس نوری در پراکسیزومها یا پراکسیدهیدروژن تولید شده طی واکنش بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب در گلی‌اکسیزومها را

جدول ۵. مقایسه میانگین اثر متقابل اسیدسالیسیلیک و متیل‌جامسونات و سال بر صفات مورفو‌فیزیولوژیکی سرخارگل در دو سال آزمایش.

Table 5. Mean comparison interaction effect of salicylic acid and methyl jasmonate and year on morphophysiological traits of purple cone flower (*Echinacea purpurea*) in two years.

Treatments	Chl. a (mg g <sup>-1</sup> FW)	Chl. b (mg g <sup>-1</sup> FW)		Total Chl. (mg g <sup>-1</sup> FW)		Catalase Enzyme (mM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> min <sup>-1</sup> mg <sup>-1</sup> Pro)		Peroxidase Enzyme (mM min <sup>-1</sup> mg <sup>-1</sup> Pro)	
		Year1	Year2	Year1	Year2	Year1	Year2	Year1	Year2
Salicylic Acid (mM)	Methyl Jasmonate (μM)								
0	0	6.67 e	6.23 de	1.59e	1.21 h	4.32 c	3.41 e	0.350 b-e	0.670 def
	50	6.86 de	6.00 e	1.68 de	1.30 h	4.58 c	3.95 d	0.351 b-e	0.291 g
	100	7.23 bcd	6.26 de	1.72 cde	1.57 g	4.55 c	4.05 cd	0.330 cde	0.345 g
	200	7.30 bcd	6.24 de	1.77 cd	1.74 ef	4.75 bc	4.38 bcd	0.257 de	0.580 ef
50	0	7.39 bc	7.38 b	1.83 cd	1.77 def	4.74 bc	4.73 b	0.344 b-e	0.284 g
	50	7.26 bcd	7.55 b	1.81 cd	1.77 def	4.37 c	4.48 bc	0.268 de	0.739 cde
	100	7.17 bcd	6.63 cd	1.83 cd	1.86 cde	4.67 bc	4.38 bcd	0.258 de	0.934 bc
	200	7.08 bcde	7.17 b	1.81 cd	1.99 bc	5.33 a	4.54 bc	0.205 e	0.651 def
100	0	7 cde	7.51 b	1.83 cd	1.91 bcd	4.51 c	4.67 b	0.196 e	0.471 fg
	50	8.19 a	7.25 b	2.04 a	1.99 bc	5.28 a	5.31 a	0.446 a-d	1.24 a
	100	7.26 bcd	8.12 a	2.01 ab	2.28 a	5.15 ab	4.64 b	0.629 a	1.06 ab
	200	7.35 bc	6.61 cd	1.88 bc	2.05 b	4.52 c	4.37 bcd	0.193 e	0.988 b
150	0	6.21 f	5.28 f	1.74 de	1.64 fg	4.34 c	4.40 bcd	0.41 a-e	0.350 g
	50	6.48 b	6.36 cde	1.83 cd	1.54 g	4.79 bc	4.38 bcd	0.400 b-e	0.720 cde
	100	7.28 bcd	6.72 c	1.70 de	1.68 fg	4.61 c	4.50 bc	0.569 ab	0.457 fg
	200	7.46 bc	7.40 bc	1.80 cd	1.36 h	4.76 bc	4.60 b	0.535 abc	0.866 bed

میانگین‌های دارای حروف مشابه، در سطح احتمال ۰/۰۵ اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

Means with same letters are not significantly different from each other ( $P < 0.05$ ).

فیزیولوژیک از جمله رشد، تشکیل سلول، رشد میوه، بیوسنتز اتیلن و همچنین پاسخ به استرس‌های گوناگون همراه می‌باشد (Matamoros *et al.*, 2003) و آنزیمی است که در گیاهان نقش‌های مهمی در افزایش ظرفیت آنتی‌اسیدانی و تحريك برخی از سیستم‌های مقاومت در برابر تنفس‌های زنده و غیرزنده ایفا می‌کند (Asghari & Hasanloo, 2015) و ممکن است در طی رشد به طور کمی و کیفی تغییر نماید (Shannon, 1969).

در پژوهشی، Cag *et al.* (2009) گزارش کردند فعالیت آنزیم پراکسیداز با کاربرد خارجی اسیدسالیسیلیک افزایش می‌یابد. Asghari & Hasanloo (2015) نشان دادند که متیل جاسمونات نه تنها محتوای کل آنتی‌اسیدانی میوه‌های توت فرنگی را افزایش می‌دهد، بلکه فعالیت آنزیم پراکسیداز را به عنوان یک آنزیم آنتی‌اسیدان و دفاعی نیز افزایش می‌دهد.

Hare & Walling (2006) در پژوهشی بیان کردند که متیل جاسمونات بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه تاثوره اثری نداشته است، در این راستا نتایج این پژوهش بیانگر این است که میزان فعالیت آنتی‌اسیدانی ثابت نبوده و قابل تغییر است و می‌تواند به این دلیل باشد که متیل جاسمونات از طریق تولید ترکیبات آنتی‌اسیدان، به طور مستقیم در از بین بردن رادیکال‌های آزاد نقش داشته و با پاکسازی این گونه‌های فعال و کاهش اثرات تنفس، از افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اسیدان نظیر پراکسیداز (Eskandari Zanjani *et al.*, 2012) جلوگیری می‌کند.

که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

شایان ذکر است که نتایج آزمایش‌های مختلف کاربرد متیل جاسمونات بر آنزیم‌های آنتی‌اسیدان، ضد و نقیض بوده و آنچه که می‌تواند این تناقض‌ها را توجیه کند، توجه به زمان مصرف و غلظت‌های این هورمون و نوع گیاه است که گاهی آثار بازدارنده (Maciejewska & Kopcewicz, 2002) و گاهی آثار تحریک‌کننده (Wong *et al.*, 2009) در پی دارد.

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد که غلظت‌های مناسب اسیدسالیسیلیک موجب حفظ

کاهش در یکپارچگی غشاء گل‌های بریده لیسیانتوس به وسیلهٔ تیمار با اسیدسالیسیلیک کاهش می‌یابد که با افزایش در فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در گل‌های تیمار شده همراه است. بنابراین منطقی است پیشنهاد شود که اسیدسالیسیلیک نقش تحریک‌کننده‌گی بر فعالیت آنتی‌اسیدانی داشته و همچنین ممکن است به عنوان کاهنده گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن عمل نماید، بنابراین باعث حفظ یکپارچگی غشاء برای مدت طولانی می‌گردد.

با اعمال تیمار متیل جاسمونات، میزان پراکسیداسیون غشا افزایش یافته و رادیکال‌های آزاد زیاد می‌شوند و افزایش در فعالیت آنزیم کاتالاز، گیاه را از اثرات مضر آنها محافظت می‌کند (Shabani & Ehsanpour, 2009). همچنین، افزایش در فعالیت آنزیم کاتالاز به علت عملکرد آنتی‌اسیدانی آن نیز می‌باشد، چون در هنگام تنفس، میزان رادیکال‌های آزاد افزایش یافته و گیاهان برای فرار از سمیت رادیکال‌های آزاد، فعالیت این آنزیم را افزایش می‌دهند. به همین جهت در شرایط ایجاد تنفس، وجود متیل جاسمونات برای افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اسیدان و محتوای بالای آنتی‌اسیدان‌های غیرآنزیمی برای تحمل گیاه به تنفس بسیار مهم است تا آن را از اثرات مضر رادیکال‌های آزاد در امان نگه دارد (Nasibi, 2010).

### آنژیم پراکسیداز

طبق نتایج جدول ۳ مشاهده می‌شود که اثر اسیدسالیسیلیک و اثر متقابل اسیدسالیسیلیک در متیل جاسمونات بر آنزیم پراکسیداز معنی دار شده‌اند ( $p < 0.01$ ). با توجه به نتایج جدول ۵ مشاهده می‌شود که بیشترین میزان آنزیم پراکسیداز در سال اول (۲/۲۴ میلی‌مول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) در غلظت‌های ۱۰۰ میلی‌مول اسیدسالیسیلیک و ۲۰۰ میکرومول متیل جاسمونات و بیشترین میزان آن در سال دوم (۲/۵۷ میلی‌مول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) در غلظت‌های ۱۰۰ میلی‌مول اسیدسالیسیلیک و ۱۰۰ میکرومول متیل جاسمونات به دست آمده است.

آنژیم پراکسیداز با فرآیندهای بیوشیمیایی و

بهبود در این صفات شده و منجر به افزایش در جنبه‌های ظاهری گیاهان از نظر زیبایی شناختی سرخارگل گردیده است. به همین جهت، با توجه به تغییرات آب و هوایی در سال‌های اخیر و حاکم بودن شرایط کم بارش در کشور و همچنین به علت وجود مشکلات متعدد در حوزه فضاهای سبز شهری، گیاه سرخارگل می‌تواند به عنوان یکی از گیاهان زینتی- دارویی مهم و دو منظوره برای توسعه کشت در فضاهای سبز با اعمال تیمارهای مناسب الیستورهای اسیدسالیسیلیک و متیل جاسمونات با توجه به ارزان بودن قیمت آنها و همچنین اثر بهینه بر بهبود پارامترهای رشدی و برخی صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک، مد نظر قرار گیرد.

محتوای نسبی آب گلبرگ‌ها و در نتیجه حفظ شادابی گل‌ها و حفظ ماندگاری بیشتر آنها با تعداد روزهای بیشتر، افزایش در سطح برگ‌ها و در نهایت پرپشت شدن فضاهای سبز کشت شده با گیاهان سرخارگل می‌گردد. همچنین با کاربرد متیل جاسمونات در غلظت مناسب می‌توان به گل‌هایی با شادابی بیشتر و با ماندگاری بالا در تعداد روزهای بیشتری دست یافت. همچنین، با توجه به نتایج حاصله بیشتر صفات مورفوفیزیولوژیک در سال دوم نسبت به سال اول برتری داشتند، لذا با توجه به چندساله بودن گیاهان سرخارگل می‌توان نتیجه گرفت این برتری به جهت اثرات تجمعی و متقابل تیمارهای اسیدسالیسیلیک و متیل جاسمونات می‌باشد که باعث

## REFERENCES

1. Abd El-Baky, H.H., Hussein, M.M. & El-Baroty, G.S. (2008). Algal extracts improve antioxidant defense abilities and salt tolerance of wheat plant irrigated with sea water. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 7, 2812-2832.
2. Abdel-Wahed, M.S.A., Amin, A.A. & El-Rashad, S.M. (2006). Physiological effect of some bioregulators on vegetative growth, yield and chemical constituents of yellow maize plants. *World Journal of Agriculture Science*, 2(2), 149-155.
3. Alaey, M., Babalar, M., Naderi, R. & Kafi, M. (2011). Effect of pre and postharvest salicylic acid treatment on physio-chemical attributes in relation to vase life of rose cut flowers. *Postharvest Biology and Technology*, 61, 91-94.
4. Ali, M.B., Hahn, E.J., Paek, K.Y. (2007). Methyl jasmonate and salicylic acid induced oxidative stress and accumulation of phenolics in *Panax ginseng* bioreactor root suspension culture. *Molecules*, 12, 607-621.
5. Ali, M.B., Yu, K.W., Hahn, E.J. & Paek, K.Y. (2006). Methyl jasmonate and salicylic acid elicitation induces ginsenosides accumulation, enzymatic and non-enzymatic antioxidant in suspension culture *Panax ginseng* roots in bioreactors. *Plant Cell Reports*, 25, 613-620.
6. Alscher, R.G., Erturk, N. & Health, L.S. (2002). Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*, 53, 1331-1341.
7. Asgari, M. & Ladan Moghdam, A.R. (2015). Comparison of different salicylic acid application ways as a preservative on postharvest life of gerbera cut flowers. *Agricultural Communications*, 3(4), 1-8.
8. Asghari, M. & Hasanloo, A.R. (2015). Interaction effects of salicylic acid and methyl jasmonate on total antioxidant content, catalase and peroxidase enzymes activity in “Sabrosa” strawberry fruit during storage. *Scientia Horticulturae*, 197, 490-495.
9. Ataei, N., Moradi, H. & Akbarpoor, V. (2013). Growth parameters and photosynthetic pigments of marigold under stress induced by jasmonic acid. *Notulae Scientia Biologicae*, 5(4), 513-517.
10. Baba Rabi, M., Zarei, H., Eskandari, A. & Badeli, S. (2018). The effect of foliar application of salicylic acid and thiamine on some physiological and biochemical traits of tuberose (*Polianthes tuberosa* L.) in soil and soilless cultivation systems. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*, 9 (4), 53-69. (In Farsi).
11. Barahuyi -Nikju, M. (2017). Effect of salicylic acid and drought stress on crop yield. *Chemistry Research Journal*, 2(2), 125-132.
12. Bergmeyer, H.U. (1970). Methoden der enzymatischen analyse. Akademie Verlag, Berlin, 1, 636-647.
13. Bidabadi, S.S., Mahmood, M., Baninasab, B. & Ghobadi, C. (2012). Influence of salicylic acid on morphological and physiological responses of banana (*Musa cuminata* cv. ‘Berangan’) shoot tips invitro water stress induced by polyethylene glycol. *Plant Omics Journal*, 5(1), 33-39.
14. Bolwell, G.P. & Wojtaszek, P. (1997). Mechanisms for the generation of reactive oxygen species in plant defence-a broad perspective. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 55, 347-366.

15. Cag, S., Cevahiroz, G., Sarsag, M. & Saglam, N. G. (2009). Effect of salicylic acid on pigment, protein content and peroxidase activity in excised sunflower cotyledons. *Pakistan Journal of Botany*, 41(5), 2297-2303.
16. Cao, S. & Zheng, Y. (2010). Effect of methyl jasmonate on cell wall modification of loquat fruit in relation to chilling injury after harvest. *Food Chemistry*, 118(3), 641-647.
17. Chavoushi, M., Manoochehri Kalantari, K. & Arvin, M.J. (2019). Effect of salinity stress and exogenously applied methyl jasmonate on growth and physiological traits of two *Carthamus tinctorius* Varieties. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 6(1), 39-49.
18. Christelle, M., Blanc, F., Claire, E.L., Besnard, O., Nicole, M. & Baccou, J.C. (2001). Salicylic acid and ethylene pathways are differentially activated in melon cotyledons by active or heat-denatured cellulase from *Trichodenna zongibrachiatup* T. *Plant Physiology*, 127, 334-348.
19. Danaee, E., Mostofi, Y. & Moradi, P. (2011). Effect of GA and BA on postharvest quality and vase life of gerbera (*Gerbera jamesonii*. cv. Good Timing) cut flowers. *Horticulture, Environment and Biotechnology*, 52(2), 140-144.
20. Elsadek, M. A. (2018). Improvement yield and quality of dahlia flowers by exogenous application of gibberellic acid and salicylic acid under sandy soil conditions. *Journal of Plant Production*, 9 (3), 289-297.
21. Eskandari Zanjani, K., Shiranirad, A. H., Moradi Aghdam, A. & Taherkhani, T. (2012). Effect of salicylic acid application in salt stress conditions on physiological and morphological characteristics of artemisia (*Artemisia annua* L.). *Ecophysiology of Crop Plants*, 4(24), 428-415.
22. Ezhilmathi, K., Singh, V.P., Arora, A. & Sairam, R.K. (2007). Effect of 5-sulfosalicylic acid on antioxidant activity in relation to vase life of *Gladiolus* cut flowers. *Journal of Plant Growth Regulator*, 51, 99-108.
23. Fariman, K.Z., Azizi, M. & Noori, S. (2011). Seed germination and dormancy breaking techniques for *Echinacea purpurea*. *Journal of Environmental Biology*, 5, 7-10.
24. Gharib, F. A. L. (2006). Effect of salicylic acid on the growth, metabolic activities and oil content of basil and marjoram. *International Journal of Agriculture and Biology*, 4, 485-492.
25. Gerailloo, S. & Ghasemnezhad, M. (2011). Effect of salicylic acid on antioxidant enzyme activity and petal senescence in 'Yellow Island' cut rose flowers. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 19, 183-193.
26. Hare, J. D. & Walling, L. L. (2006). Constitutive and jasmonate-inducible traits of *Datura wrightii*. *Journal of Chemical Ecology*, 32, 29-45.
27. Hatamzadeh, A., Hatami, M. & Ghasemnezhad, M. (2012). Efficiency of salicylic acid delay petal senescence and extended quality of cut spikes of *Gladiolus grandiflora* cv 'wing's sensation'. *African Journal of Agricultural Research*, 7, 540-545.
28. Hayat, S. & Ahmad, A. (2007). Salicylic acid: a plant hormone. *Springer*, pp, 401.
29. He, Y., Fukushige, H., Hildebrand, D.F. & Gan, S. (2002). Evidence supporting a role of jasmonic acid in arabidopsis leaf senescence. *Plant Physiology*, 128, 876-884.
30. Herzog, V. & Fahimi, H. D. (1973). Determination of the activity of peroxidase. *Analytical Biochemistry*, 55, 554-562.
31. Ho, T.T., Murthy, H.N. & Park, S.Y. (2020). Methyl jasmonate induced oxidative stress and accumulation of secondary metabolites in plant cell and organ cultures. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(716), 1-18.
32. Janoudi, A. & Flore, J.A. (2003). Effects of multiple applications of methyl jasmonate on fruit ripening, leaf gas exchange and vegetative growth in fruit trees. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 78, 793-797.
33. Jung, S. (2004). Effect of chlorophyll reduction in *Arabidopsis thaliana* by methyl jasmonate or norflurazon on antioxidant systems. *Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 42, 231-255.
34. Khan, W., Prithviraj, B. & Smith, D.L. (2003). Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. *Journal of Plant Physiology*, 160, 485-492.
35. Karlidge, H., Yildirim, E. & Turan, M. (2009). Salicylic acid ameliorates the adverse effect of salt stress on strawberry. *Scientia Agricola*, 66, 180-187.
36. Kaya, C., Higgs, D., Ince, F., Amador, B.M., Cakir, A. & Sakar, E. (2003). Ameliorative effects of potassium phosphate on salt-stressed pepper and cucumber. *Journal of Plant Nutrition*, 26, 807-820.
37. Kazemi, M., Hadavi, E. & Hekmati, J. (2011). Role of salicylic acid in decreases of membrane senescence in cut carnation flowers. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 7, 1417-1425.
38. Khalvandi, M., Amerian, M. R., Pirdashti, H., Baradaran, M. and Gholami, A. (2018). Effects of methyl jasmonate on some photosynthetic parameters of peppermint (*Mentha piperita*) in saline conditions. *Journal of Plant Process and Function*, 7(23), 233-248. (In Farsi).

39. Kim, Y.H., Kim, Y.; Cho, E., Kwak, S., Kwon, S., Bae, J. & Huh, G.H. (2004). Alterations in intracellular and extracellular activities of antioxidant enzymes during suspension culture of sweet potato. *Phytochemistry*, 65, 2471-2484.
40. Kirk, J.O.T. & Allen, R.L. (1965). Dependence of chloroplast pigment on actidione. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 21, 523-530.
41. Koppad, S., Babaleshwar, S.B., Dharmatti, P.R. & Math, K. (2017). Influence of salicylic acid on growth and bulb yield of onion (*Allium cepa* L.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(9), 1732-1737.
42. Larqué-Saavedra, A. & Martin-Méx, R. (2007). *Effects of salicylic acid on bioproduction of plants*. (pp, 15-23), Springer, Dordrecht.
43. Li, T., Hu, Y., Du, X., Tang, H. & Shen, C. (2014). Salicylic acid alleviates the adverse effects of salt stress in *Torreya grandis* cv. Merrillii seedlings by activating photosynthesis and enhancing antioxidant systems. *Public Library of Science*, San Francisco, California, 9(10), 1-10.
44. Maciejewska, B. & Kopcewicz, J. (2002). Inhibitory effect of methyl jasmonate on flowering and elongation growth in *Pharbitis nil*. *Journal of Plant Growth Regulators*, 21, 216-223.
45. Mady, M.A. (2014). Inducing cold tolerability in squash (*Cucurbita pepo* L.) plant by using salicylic acid and chelated calcium application. *International Journal of Agricultural Research*, 4, 9- 24.
46. Matamoros, M.A., Clemente, M.R., Sato, S., Asamizu, E., Tabata, S. & Ramos, J. (2003). Molecular analysis of the pathway for the synthesis of thiol tripeptides in the model legume *Lotus japonicas*. *Molecule Plant-Microbe Interaction*, 16, 1039-1046.
47. Nasibi, F. (2010). Effect of different concentrations of sodium nitroprusside (SNP) pretreatment on oxidative damages induced by drought stress in tomato plant. *Plant Biology*, 9, 36-74.
48. Németh, M., Janda, T., Horváth, E., Páldi, E. & Szalai, G. (2002). Exogenous salicylic acid increases polyamine content but may decrease drought tolerance in maize. *Plant Science*, 162, 569-574.
49. Pacheco, A.C., Cabral, C., Fermino, E.S. & Aleman, C.C. (2013). Salicylic acid-induced changes to growth, flowering and flavonoids production in marigold plants. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(42), 3158-3163.
50. Parveen, Z. (2017). *Physiological approaches to improve flower quality and corm yield in gladiolus (Gladiolus grandiflorus)*, M.Sc. Thesis, Indira Gandhi Krishi Vishwavidhyalaya, Raipur, India.
51. Prathapa Reddy, M., Kavya, B., Rama Rao, V., Shantha, T.R., Kishore Kumar, R. & Rahmathulla, V. G. (2015). Therapeutic uses of flowers leads from traditional system of medicine. *International Journal of Herbal Medicine*, 3(3), 12-20.
52. Rivas-San Vicente, M. & Plasencia, J. (2011). Salicylic acid beyond defence: Its role in plant growth and development. *Journal of Experimental Botany*, 62, 3321–3338.
53. Saffari, G., Allahdadi, A. & Arvin, S.M.J. (2012). Effect of some growth regulators on seed germination characters and seedling primary growth of canola (*Brassica napus* L.). *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, 2, 185-192. (In Farsi).
54. Saisavoey, T., Thongchul, N., Sangvanich, P. & Karnchanat, A. (2014). Effect of methyl jasmonate on isoflavanoid accumulation and antioxidant enzymes in *Pueraria mirifica* cell suspension culture. *Journal of Medicinal Plant Research*, 8(9), 401-407.
55. Salimi, F., Shekari, F., Azimi, M. R. & Zangani, A. (2011). The role of methyl jasmonate in improving salinity resistance through effect on some physiological characteristics of german chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Research on Medicinal and Aromatic Plants of Iran*, 27, 711-700.
56. Scott, M.I., Thaler, S.J. & Scott, G.F. (2010). Response of a generalist herbivore *Trichoplusia ni* to jasmonate mediated induced defense in tomato. *Journal of Chemical Ecology*, 36, 490-499.
57. See, K. S., Bhatt, A. & Keng, C. L. (2011). Effect of sucrose and methyl jasmonate on biomass and anthocyanin production in cell suspension culture of *Melastoma malabathricum* (Melastomaceae). *Review of Biological Trop*, 59 (2), 597-606.
58. Shabani, L. & Ehsanpour, A.A. (2009). Induction of antioxidant enzymes, phenolic and flavonoid compounds in in vitro culture of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) using methyl jasmonate and salicylic acid. *Iranian Journal of Plant Biology*, 21(3), 421-32. (In Farsi).
59. Shannon, L.M. (1969). Plant isoenzymes. *Annual Review of Biochemistry*, 38, 189-210.
60. Sharma, G., Alka, D. & Kumar, M. (2014). Medico-ethnobotany of plants surveyed and studied in district bijnor with special emphasis on their medicinal, religious and ornamental significance. *Indian Journal of Applied Research*, 4(6), 40-43.

61. Shetty, S.M., Chandrashekhar, A. & Venkatesh, Y.P. (2011). Eggplant polyphenol oxidase multigene family: cloning, phylogeny, expression analyses and immunolocalization in response to wounding. *Phytochemistry*, 72(18), 2275-2287.
62. Singh, A. & Dwivedi, P. (2018). Methyl-jasmonate and salicylic acid as potent elicitors for secondary metabolite production in medicinal plants. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(1), 750-757.
63. Soares, A.M.S., Souza, T.F., Jacinto, T. & Machado, O.L.T. (2010). Effect of methyl jasmonate on antioxidative enzyme activities and on the contents of ROS and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in *Ricinus communis* leaves. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 22, 151-158.
64. Szepesi, Á., Csíszár, J., Bajkán, S., Gémes, K., Horváth, F., Erdei, L., Deér, A.K., Simon, M.L. & Tari, I. (2005). Role of salicylic acid pre-treatment on the acclimation of tomato plants to salt- and osmotic stress. *Acta Biologica Szegediensis*, 49, 123-125.
65. Umebese, C.E., Olatimilehin, T.O. & Ogunsusi, T.A. (2009). Salicylic acid protects nitrate reductase activity, growth and proline in amaranth and tomato plants during water deficit. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 4(3), 224-229.
66. Walia, H., Wilson, C., Condamine, P., Liu, X., Ismail, A. & Close, T. (2007). Large-scale expression profiling and physiological characterization of jasmonic acid-mediated adaptation of barley to salinity stress. *Journal of Plant, Cell and Environment*, 4, 410-421.
67. Wang, S. Y. (1999). Methyl jasmonate reduces water stress in strawberry. *Journal of Plant Growth Regulation*, 18, 127-134.
68. Wartidiningsih, N. & Geneve, R.L. (1994a). Seed source and quality influence germination in purple coneflower [*Echinacea purpurea* (L.) Moench.]. *HortScience*, 29 (12), 1443-1444.
69. Wong, C.E., Singh, M. B. & Bhalla, P.L. (2009). Floral initiation process at the soybean shoot apical meristem may involve multiple hormonal pathways. *Plant Signal and Behavior*, 7, 648-651.
70. Yingbin, J., Jian, I., Xing, L. & Xing, D. (2016). Low concentrations of salicylic acid delay methyl jasmonate-induced leaf senescence by upregulating nitric oxide synthase activity. *Journal of Experimental Botany*, 67(17), 5233-5245.
71. Youssef, S.M.S., El-Hady, S.A., Abu El-Azm, N.A.I. & El-Shinawy, M.Z. (2017). Foliar application of salicylic acid and calcium chloride enhances growth and productivity of lettuce (*Lactuca sativa*). *Egyptian Journal of Horticulture*, 44(1), 1-16.
72. Zaidi, H.S. (2015). *Salicylic acid induced adaptive response of sunflower (Helianthus annuus L.) to drought stress*, PhD Thesis in Botany. Arid Agriculture University Rawalpindi, Pakistan.
73. Zeb, A., Ullah, F., Gul, S.L., Khan, M., Zainub, B., Khan, M.N. & Amin, N. (2017). Influence of salicylic acid on growth and flowering of zinnia cultivars. *Science International*, 29(6), 1329-1335.