

اثر تنش خشکی و الیستور کیتوزان بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، پرولین، قندهای محلول و میزان پراکسیداسیون لیپیدی غشا در گیاه آویشن دنايي (*Thymus deanensis* Celak.) در شرایط آب‌وهوایی شهر کرد

زهرة امامی بیستگانی^{۱*}، سید عطاءالله سیادت^۲، عبدالمهدی بخشنده^۲، عبدالله قاسمی پیربلوطی^۳

۱. دانش‌آموخته دکتری زراعت دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان.

۲. استادان گروه زراعت دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان.

۳. استاد گروه گیاهان دارویی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد.

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۳/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۸/۲۴

چکیده

تنش خشکی باعث تحریک گونه‌های اکسیژن فعال در کلروپلاست گیاهی می‌شود و گونه‌های اکسیژن فعال نیز سبب پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و تخریب غشای سلول می‌شوند. آویشن دنايي (*Thymus deanensis*) یکی از گیاهان دارویی و معطر است که ارزش دارویی فراوانی دارد. در این پژوهش، کیتوزان با هدف اهمیت کنترل استرس اکسیداتیو در تحمل به کمبود آب، به کار گرفته شد و تغییرات رنگیزه‌های فتوسنتزی، پرولین، قندهای محلول، محتوای مالون دی آلدئید (پراکسیداسیون لیپیدی غشا) و تراوایی غشای سلولی روی گیاه بررسی شد. طی یک مطالعه گلدانی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد شهرکرد در سال ۹۳ اجرا شد. تیمارها شامل کیتوزان در ۳ سطح (صفر، ۰/۲، ۰/۴ گرم بر لیتر)، اسید استیک و سطوح تنش خشکی در سه سطح S₁ (شاهد تأمین نیاز ۱۰۰ درصد آبی)، S₂ (تأمین نیاز ۵۰ درصد آبی)، S₃ (تأمین نیاز ۲۵ درصد آبی) انجام گردید. نتایج نشان داد، اثر برهمکنش تنش خشکی و کیتوزان بر پرولین و پراکسیداسیون لیپیدی غشا اثر معنی‌داری داشت. زمانی که تنش خشکی شدت یافت، از میزان کلروفیل a کاسته شد. همچنین، کاهش کاروتنوئید در شرایط تنش ملایم مشاهده گردید. کیتوزان با غلظت ۰/۴ گرم بر لیتر، میزان پرولین را زیاد نمود، اما میزان مالون دی آلدئید و تراوایی غشای سلول را کاهش داد. بنا بر نتایج به دست آمده، کیتوزان توانست با مکانیسم‌های مختلفی توانایی گیاه آویشن دنايي را در پاسخ به تنش خشکی افزایش داده و اثر محافظتی را در برابر اکسیداسیون لیپیدها که ناشی از خشکی می‌باشد داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: اکسیداتیو، تنش آب، کلروفیل، گیاه دارویی، مالون دی آلدئید.

مقدمه

آب به‌ویژه در بخش کشاورزی، تحقیق در زمینه استفاده صحیح از آب در این بخش امری ضروری است. تنش خشکی به‌عنوان یکی از عوامل محدودکننده تولید گیاهان زراعی شناخته شده است (Passioura, 2007). تنش خشکی عموماً باعث تخریب و شکسته شدن کلروپلاست‌ها و کاهش میزان کلروفیل شده و مقدار فعالیت آنزیم‌ها را در چرخه کالوین در طی فرآیند فتوسنتز کاهش می‌دهد و در نهایت رشد سبزینه-ای و عملکرد محصول کاهش می‌یابد (Monakhova and

آویشن دنايي (*Thymus daenensis*) گیاهی دارویی از خانواده نعناعیان می‌باشد که به‌صورت خودرو بیشتر در بخش‌های غربی و مرکزی ایران به‌ویژه رشته‌کوه‌های زاگرس می‌روید و دارای تنوع وسیعی از نظر ترکیبات اسانس می‌باشد (Ghasemi Pirbalouti et al., 2014). تحقیقات محدودی در زمینه‌ی به‌زراعی بر روی این گیاه انجام شده است (Bahreynejad et al., 2013). از سوی دیگر با توجه به خشک و نیمه‌خشک بودن آب‌وهوای اغلب نقاط ایران و کمبود

تنش خشکی بر فرآیندهای فیزیولوژیکی و متابولیسمی گیاه از گام‌های نخست به شمار می‌آید. از این رو، تحقیق حاضر با هدف ارزیابی برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه آویشن دناپی نسبت به تنش خشکی و سطوح الیسیستور کیتوزان صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۱۳۹۳ به منظور بررسی اثر سطوح مختلف تنش خشکی و کیتوزان بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، پرولین، قندهای محلول، میزان پراکسیداسیون لیپیدی غشا و تراوایی غشای سلول در گیاه آویشن دناپی (*Thymus deanensis* Celak.) در شرایط آب‌وهوایی شهرکرد با اقلیم سرد و نیمه خشک اجرا گردید. خاک گلدان دارای بافت سیلتی-رسی، شوری ۰/۴۳ دسی‌زیمنس بر متر و pH ۷/۶۲ بود. اکوتیپ بذر گیاه آویشن از منطقه اصفهان تهیه گردید. آزمایش با سه سطح S₁ (شاهد تأمین نیاز صد درصد آبی) S₂ (تأمین نیاز ۵۰ درصد آبی) S₃ (تأمین نیاز ۲۵ درصد آبی) و کیتوزان در ۳ سطح (صفر، ۰/۲، ۰/۴ گرم بر لیتر) و اسید استیک به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی در منطقه رحمتیه شهرکرد دارای عرض جغرافیایی ۲۰ دقیقه و ۳۲ درجه و طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۱ دقیقه و ارتفاع ۲۰۶۱ متر از سطح دریا، اجرا شد. نخست بذره‌های موردنظر برای تهیه نشای موردنیاز در اوایل بهار در گلخانه با دمای روزانه حداقل ۱۰ و حداکثر ۱۵ درجه سانتی‌گراد کشت و به‌طور روزانه آبیاری شدند و سپس تعداد ۳ عدد نشا به گلدان‌هایی به ابعاد ۱۰×۳۵ سانتی‌متر مربع بیرون گلخانه منتقل شدند. جهت استقرار کامل بوته‌ها در گلدان به مدت ۳ هفته بدون اعمال تنش رطوبتی آبیاری شدند. جهت استقرار کامل نشاها، اعمال تیمارهای آبیاری پس از استقرار کامل گیاه آغاز و تا زمان رسیدگی محصول ادامه یافت (Bahreynejad et al., 2012). تیمارهای کیتوزان در ۳ سطح (۰، ۰/۲، ۰/۴ گرم بر لیتر) که همگی در اسید استیک ۵ درصد حل و در آب مقطر رقیق شدند، در دوره قبل از گلدهی، ۵۰ درصد گلدهی و گلدهی کامل اعمال شد.

(Chernyadev, 2002). در این شرایط همچنین ساختارهای سلولی به‌ویژه غشاها به میزان زیادی توسط گونه‌های فعال اکسیژن تحت تأثیر قرار می‌گیرند. گونه‌های فعال اکسیژن ناشی از تنش‌های زیستی و غیر زیستی باعث تحریک فعالیت‌های هیدرولیتیک به‌ویژه فرایندهای تجزیه‌کننده چربی‌های غشا می‌گردند و بدین ترتیب مالون دی‌آلدئید در شرایط تنش خشکی افزایش یافته که نشانه‌ی پراکسیداسیون لیپیدی غشاست (Jiangn and Zhang, 2001). بدین جهت یکی از راهکارهای مقابله با تنش خشکی، افزایش تولید ترکیبات محلول سازگار^۱ می‌باشد. در این فرایند که به آن تنظیم اسمزی^۲ نیز گفته می‌شود، ترکیباتی مانند قندها به‌ویژه قندهای الکلی، الیگوساکاریدها، گلیسرول، آمینواسیدها، سایر متابولیت‌های دارای وزن مولکولی پائین درون سلول انباشته می‌شوند. این ترکیبات در مقادیر بالا برای سلول‌ها غیر سمی بوده و به‌عنوان تنظیم‌کننده اسمزی بین سیتوپلاسم و واکوئل عمل کرده و به جلوگیری از اتلاف آب از سلول کمک می‌کنند (Liang et al., 2013).

استفاده از الیسیستورها نیز یکی از راه‌های مؤثر برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه و همچنین افزایش تحمل به خشکی است. الیسیستورها ترکیباتی با منشأ زیستی یا غیرزیستی هستند که از طریق القای سیستم دفاعی باعث بیوسنتز و انباشت متابولیت‌های ثانویه می‌شوند (Zhao et al., 2005). از الیسیستورهای زیستی می‌توان کیتوزان را نام برد، که از ترکیبات اصلی دیواره سلولی بسیاری از گونه‌های قارچی، میگو، خرچنگ و برخی جلبک‌ها می‌باشد و برای بهبود بخشیدن بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی تأیید شده است، همچنین به‌عنوان کود در کنترل آزادسازی مواد آگروکیمیکال، جهت افزایش تولید گیاه، تحریک ایمنی گیاه، محافظت گیاه در مقابل میکروارگانیزم-ها، تحریک جوانه‌زنی و رشد گیاه در شرایط تنش خشکی عمل می‌کند (Yin et al., 2011).

با توجه به اهمیت گیاه آویشن دناپی و همچنین موقعیت جغرافیایی بیشتر مناطق ایران به‌عنوان مناطق خشک و نیمه‌خشک، مطالعه اثر تنش خشکی و نیز استفاده از الیسیستورها در گیاه آویشن دناپی بسیار با ارزش است. برای افزایش متابولیت ثانویه و تحمل به خشکی گیاه آویشن دناپی، شناخت سازوکار مقابله با تنش خشکی و نیز تشخیص اثر

2. Osmotic adjustment

1. Compatible solute

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش خشکی بر کلروفیل a در سطح یک درصد معنی دار بوده است (جدول ۱). با افزایش تنش خشکی از میزان کلروفیل a مقداری کاسته شد. به نظر می رسد با افزایش تنش و فعالیت انواع گونه های اکسیژن واکنش گر، فعالیت آنزیم کلروفیلاز و حساس بودن کلروفیل a نسبت به کلروفیل b، شدت کاهش کلروفیل a بیشتر بوده است. کاهش کلروفیل در شرایط تنش خشکی به علت افزایش تولید رادیکال های اکسیژن است که باعث پراکسیداسیون این رنگیزه ها و سرانجام تجزیه شیمیایی ژن ها نیز از طریق اثر بر فعالیت بیان ژن های سنتز آنزیمی، فاکتورهای کنترلی و عوامل رونویسی می شود (Senatous et al., 2001). نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که تنش خشکی در سطح پنج درصد بر محتوای کارتنوئید معنی دار بوده است، به گونه ای که بیشترین مقدار کارتنوئید در شرایط بدون تنش مشاهده گردید. نتایج لاولور و کورنیک (Lawlor and Cornic, 2002) مشخص نمود که کارتنوئیدها به عنوان رنگیزه کمکی مؤثرند و نقش های مهم دیگری چون محافظت از غشاهای تیلاکوئیدی و جلوگیری از فتواکسیداسیون کلروفیل ها را نیز بر عهده دارند.

محتوای پرولین برگ

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر سطوح مختلف تنش خشکی، الیسیتور کیتوزان و اثر برهمکنش آن ها در سطح یک درصد بر محتوای پرولین برگ گیاه آویشن دنبای معنی دار بود (جدول ۱). در واقع مقدار پرولین تحت شرایط تنش کم آبی شدید و متوسط افزایش می یابد، به این ترتیب که بیشترین میزان پرولین (۳/۸۵) میکرو مول بر گرم از تنش خشکی شدید و کیتوزان ۰/۴ گرم بر لیتر به دست آمد. با کاهش پتانسیل آب، میزان سنتز پرولین از گلوتامیک اسید افزایش می یابد. در اثر تنش کم آبی و شوری، رونویسی mRNA آنزیم های Δ -پرولین-۵ کروبوکسیلات سنتتاز (P5Cs) - پرولین-۵ کروبوکسیلات ردوکتاز (P5CR) القا می شود (Liang et al., 2013). قابل ذکر است که تجمع پرولین در زمان تنش به علت تغییر در سرعت اکسیداسیون پرولین به گلوتامات یا عدم دخالت آن در سنتز پروتئین و یا مجموعه این عوامل می باشد (Nasirkhan et al., 2007). به نظر می رسد که تجمع پرولین در تنش های اسمزی نه تنها فعالیت های شیمیایی را متوقف نمی کند، بلکه به عنوان یک محافظ اسمزی ایفای نقش می کند، این نتایج با نتایج قربانی

در این آزمایش رنگیزه های فتوسنتزی، محتوای پرولین، محتوای قند محلول برگ، میزان پراکسیداسیون لیپیدی غشا و تراوایی غشای سلول به شرح زیر اندازه گیری و محاسبه شد. **سنجش کلروفیل** میزان کلروفیل a، b و کارتنوئید با روش آرنون (Arnon, 1967) با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر اندازه گیری شد.

اندازه گیری پرولین مقدار پرولین بر اساس روش بیتس (Bates et al., 1973) در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه گیری شد.

اندازه گیری قندهای محلول کربوهیدرات های محلول با استفاده از معرف آنترون با دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۶۲۵ نانومتر بر اساس روش (Fsles, 1951) اندازه گیری شد.

مالون دی آلدئید (پراکسیداسیون لیپیدی غشا) اندازه گیری این شاخص بر اساس روش رابرت و همکاران (Robbert et al., 1980) با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر قرائت شد.

تراوایی غشای سلولی با استفاده از دستگاه EC متر به روش لاتس (Lutts et al., 1998) محاسبه گردید.

تجزیه های آماری و مقایسه میانگین ها به روش آزمون حداقل تفاوت معنی دار با استفاده از نرم افزار SAS و MSTATC در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

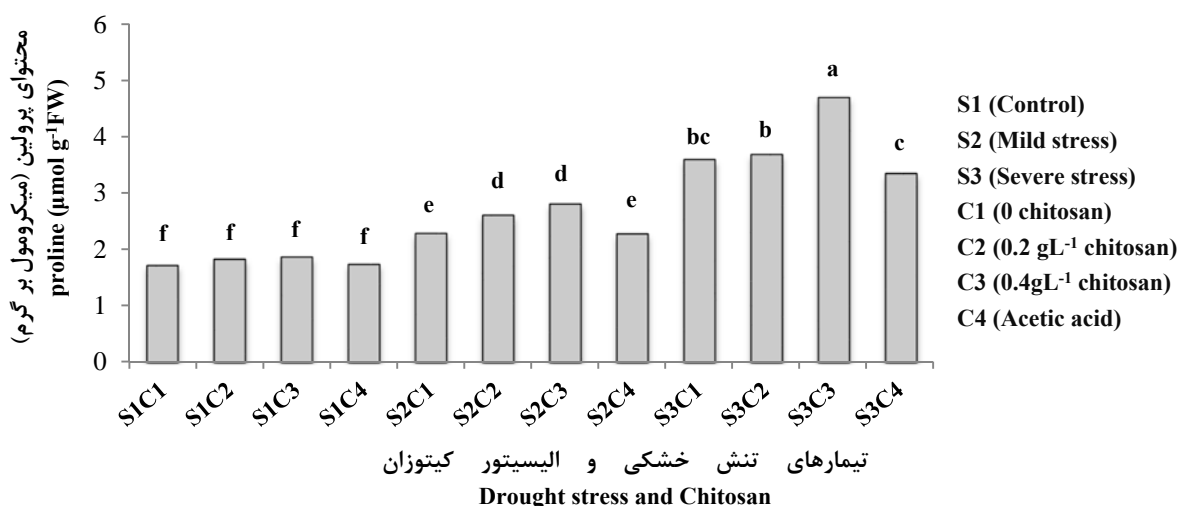
نتایج آزمایش نشان داد اثر سطوح تنش خشکی بر صفاتی شامل محتوای کلروفیل a، کارتنوئید، قندهای محلول، پرولین، پراکسیداسیون لیپیدی غشا (مالون دی آلدئید) و تراوایی غشای سلول معنی دار بود، اثر کیتوزان نیز بر محتوای پرولین، پراکسیداسیون لیپیدی غشا (مالون دی آلدئید) و تراوایی غشای سلول در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود، همچنین اثر برهمکنش تنش خشکی و کیتوزان بر صفات پرولین و پراکسیداسیون لیپیدی غشا در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود.

رنگیزه های فتوسنتزی

(Naderi et al., 2014) گزارش نمودند که کیتوزان می‌تواند به‌عنوان تنظیم‌کننده کلیدی پاسخ‌های گیاه به تنش‌های محیطی باشد. نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش نیز مقدار پرولین افزایش یافته در اثر تنش، در حضور کیتوزان نیز افزایش یافت. کیتوزان تقریباً بر بیشتر واکنش‌های متابولیسمی گیاه تأثیر دارد و موجب تغییراتی در آن‌ها می‌شود. این تغییرات به‌صورت سازگارهایی است که مقدار تحمل و سازگاری گیاهان را در مقابل عوامل محیطی افزایش می‌دهد (Yang et al., 2009).

و همکاران (Ghorbanli et al., 2010) در گیاه سیاه‌دانه مطابقت دارد.

در تیمار مصرف کیتوزان با غلظت ۰/۴ گرم بر لیتر و در شرایط بدون مصرف کیتوزان (شاهد) به ترتیب بیشترین و کمترین میزان پرولین مشاهده گردید. شکل (۱) نشان می‌دهد که غلظت ۰/۴ گرم بر لیتر کیتوزان، با اثر تداخلی خود توانسته اثر تنش (S₃) را کاهش دهد و بدین ترتیب مقدار پرولین را زیاد نمود. به نظر می‌رسد کیتوزان با افزایش میزان پرولین که به‌نوعی در گیاه تنظیم اسمزی ایجاد می‌کند، اثرات منفی تنش خشکی را می‌تواند کمتر نماید. نادری و همکاران



شکل ۱. اثر تنش خشکی و الیستور کیتوزان بر محتوای پرولین بر اساس آزمون LSD (P<5%) می‌باشد.

Fig. 1. The effect of drought stress and elicitor of chitosan on proline content LSD test (P<5%).

لیپیدی غشا گیاه آویشن دناپی در سطح یک درصد معنی‌دار شد. بالاترین میزان ترکیب مالون دی آلدئید مربوط به شرایط تنش شدید بود در مطالعه اثر تنش خشکی بر گیاهچه‌های سبب تولید فزاینده مالون دی آلدئید همراه با کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و اسکوربات پراکسیداز در برگ ناشی از تنش خشکی مشاهده شد (Yang et al., 2009). اثر برهم‌کنش تنش خشکی و کیتوزان نشان داد که با حضور کیتوزان ۰/۴ گرم بر لیتر محتوای مالون دی آلدئید کاهش یافت که در شرایط تنش شدید این تفاوت معنی‌دار گزارش شد (شکل ۲).

محتوای قندهای محلول برگ

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد اثر بر هم‌کنش تنش خشکی و کیتوزان، بر قندهای محلول برگ معنی‌دار نبوده است، اما با افزایش تنش خشکی، مقدار قند محلول در اندام هوایی به‌طور معنی‌داری نسبت به گیاه شاهد افزایش یافت. انباشت قندهای محلول در واکنش به تنش خشکی، در مطالعات فراوانی ثابت گردیده است (Karimi et al., 2012).

پراکسیداسیون لیپیدی غشا

نتایج جدول تجزیه واریانس (۱) نشان داد، اثر تنش خشکی، الیستور کیتوزان و اثر برهم‌کنش آن‌ها بر پراکسیداسیون

بر لیتر به دست آمد. به نظر می‌رسد فعالیت آنتی‌اکسیدانی کیتوزان که توسط مکانیسم‌های مختلفی صورت می‌گیرد. از جمله باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت می‌شود و همچنین می‌تواند رادیکال‌های آزاد OH^- و O_2^- را از بین ببرد و از DNA محافظت کند (Yang et al., 2009). در گیاهانی که در معرض تنش‌های محیطی قرار گرفته‌اند، نفوذپذیری غشاهای سلولی به دلیل صدمات ناشی از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن به ویژه یون‌های پراکسید افزایش می‌یابد که این امر منجر به کاهش تمامیت غشاها می‌گردد. به همین دلیل توان غشای سلولی برای کنترل ورود و خروج مواد نیز کاهش می‌یابد. در بررسی تنش خشکی و کیتوزان گیاهچه‌های سیب مشاهده شد که تنش خشکی تراوایی غشای سلولی را افزایش داد، در حالی که کیتوزان تا حدودی توانست تنش ناشی از خشکی را با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی جبران نماید (Yang et al., 2009).

کیتوزان بر بیشتر واکنش‌های متابولیسمی گیاه تأثیر دارد و موجب تغییراتی در آن‌ها می‌شود. این تغییرات به صورت سازگارهایی است که مقدار تحمل و سازگاری گیاهان را در مقابل عوامل محیطی افزایش می‌دهد. بنابراین می‌توان با پیدا کردن مواد مداخله‌گر مناسب همچون کیتوزان، با تنش‌های محیطی، اثر این عامل تنش را تا حدودی کاهش داد. به نظر می‌رسد الیسیتور کیتوزان با به‌کارگیری مکانیسم‌هایی که مسئول حفاظت از گیاه در مقابل تنش اکسیداتیو هستند و می‌تواند خشکی را کنترل کند.

تراوایی غشای سلولی

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که اثر تنش خشکی، کیتوزان در سطح یک درصد بر تراوایی غشای سلول معنی‌دار بود، ولی اثر برهمکنش آن‌ها بر این صفت معنی‌دار نبود. با افزایش تنش خشکی تراوایی غشا نیز افزایش یافته است. کمترین تراوایی غشا از تیمار کیتوزان با غلظت ۰/۴ گرم

جدول ۱. تجزیه واریانس رنگیزه‌های فتوسنتزی، پرولین، کربوهیدرات محلول برگ، پراکسیداسیون لیپیدی غشا (مالون دی آلدئید) و تراوایی غشای سلول.

Table 1. Analysis of variance for photosynthetic pigments, Proline, soluble sugars, lipid peroxidation (MDA) and cell membrane.

منابع تغییرات Source of variance	درجه آزادی df	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کارنوئوئید Carotenoid	پرولین Proline	قند محلول Soluble sugars	پراکسیداسیون لیپیدی غشا Lipid peroxidation	تراوایی غشای سلول Cell membrane permeability
تنش خشکی Drought stress	2	0.102**	16.74 ns	37.16*	13.15**	0.03**	14.47**	903.59**
کیتوزان Chitosan	3	0.004 ns	2.53 ns	0.70 ^{ns}	0.77**	0.001*	427.13**	39.52**
کیتوزان × تنش خشکی Drought stress × Chitosan	6	0.0004 ns	0.865 ns	0.4952 ns	0.22**	0.0006 ^{ns}	4.82**	1.50 ^{ns}
خطا Error	24	0.1161	0.424	0.337	0.02	0.0003	10.42	1.54
ضریب تغییرات (درصد) C.V. (%)		2.82	12.44	11.16	5.60	2.56	17.72	3.51

*، ** و ns به ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد، ۱ درصد و بدون اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

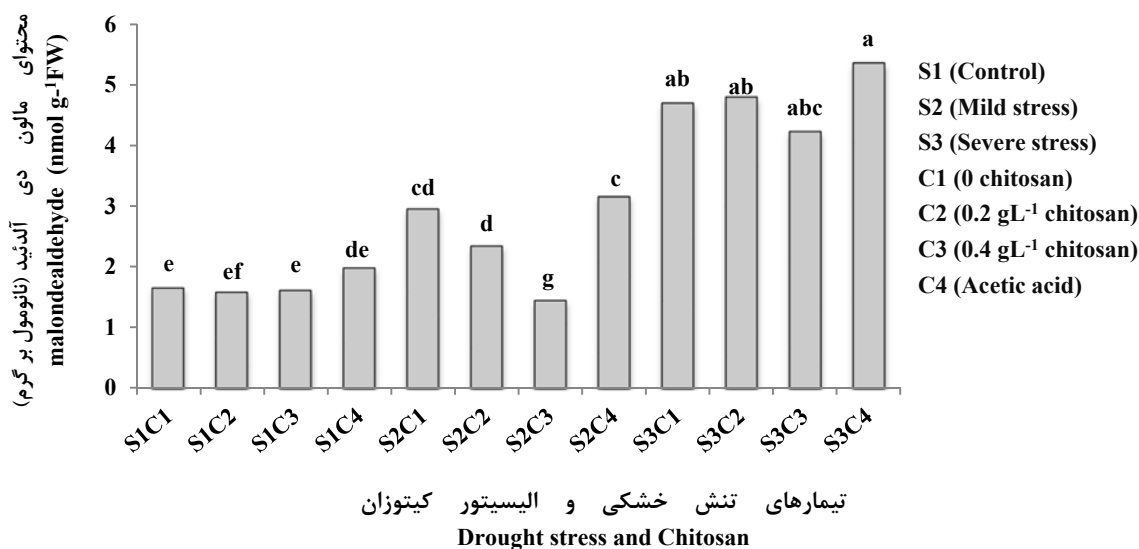
*, **: significantly different at $\alpha=0.05$ and $\alpha=0.01$ probability levels, respectively; ns: non-significant.

جدول ۲. مقایسه میانگین صفات رنگیزه‌های فتوسنتزی، کربوهیدرات محلول برگ و تراوایی غشای سلول.

Table 2. Means comparison photosynthetic pigments, soluble sugars and cell membrane permeability

Treatments	تیمارهای آزمایش	کلروفیل a	کلروفیل b	کارتنوئید	قند محلول Soluble sugars (%)	تراوایی غشای سلول Cell membrane permeability (%)
		Chlorophyll a (mg g ⁻¹)	Chlorophyll b (mg g ⁻¹)	Carotenoid (mg g ⁻¹)		
Control (S1)	شاهد	3.91a	3.38b	7.23a	0.63b	26.04c
Mild drought (S2)	تنش متوسط	3.78b	3.38b	4.23b	0.65b	36.8b
Severe drought (S3)	تنش شدید	3.73b	3.88 b	4.13b	0.73a	43.2a
Control	شاهد	3.81a	3.5a	5.20 a	0.65bc	36.27b
0.2 g L ⁻¹	۰/۲ گرم بر لیتر	3.81a	3.6a	5.41 a	0.68ab	34.55c
0.4 g L ⁻¹	۰/۴ گرم بر لیتر	3.84a	3.7a	5.41 a	0.69a	32.88d
Acetic acid	اسید استیک	3.78a	3.4a	5.23 a	0.64bcd	37.72a

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، تفاوت معنی‌داری با استفاده از آزمون LSD ندارند ($P < 0.05$). Means in each column followed by similar letters are not significantly different at 0.05 probability level, using LSD (Least Significant Difference) test.



شکل ۲. اثر تنش خشکی و الیسیتور کیتوزان بر محتوای مالون دی آلدئید بر اساس آزمون LSD ($P < 5\%$) می‌باشد.
Fig. 2. The effect of drought stress and elicitor of chitosan on lipid peroxidation (MDA) content LSD test ($P < 5\%$).

نتیجه‌گیری
تنش خشکی باعث ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاه آویشن شد، که محلول‌پاشی کیتوزان توانست خسارت ناشی از تنش خشکی را با افزایش تنظیم‌کننده‌های اسمزی مانند پرولین و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی غشا را جبران نماید و تراوایی غشای سلول را کاهش دهد. در واقع کیتوزان با نقش حفاظتی خود می‌تواند باعث پایداری بیشتر غشاها گردد.

نتیجه‌گیری
تنش خشکی باعث ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاه آویشن شد، که محلول‌پاشی کیتوزان توانست خسارت ناشی از تنش

منابع

- Arnon, A.N., 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*. 23, 112-121.
- Bahreynejad, B., Razmjoo, J., Mirza, M., 2013. Influence of water stress on morpho-physiological and phytochemical traits in (*Thymus daenensis*). *International Journal of Plant Production*. 7, 152-166.
- Bahreynejad, B., Razmjoo, J., Mirza, M., Ehsanzadeh, P., Mousavi, F., Zahedi, M., 2012. Influence of water stress on physiological, growth, water use efficiency, essential oil content and phytochemical traits in species of thyme. PhD dissertation, Faculty of Agriculture, Esfahan University of technology. Iran. [In Persian with English Summary].
- Bates, L.S., Waldern, R.P., Tear, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil science*. 39, 205-207.
- Fsles, F.W., 1951. The assimilation and degradation of carbohydrates of yeast cells. *Journal of Biological Chemistry*. 193, 113-116.
- Ghasemi Pirbalouti A., Samani, M., Hashemi, M., Zeinali, H., 2014. Salicylic acid affects growth, essential oil and chemical compositions of thyme (*Thymus daenensis* Celak.) under reduced irrigation. *Plant Growth Regulation*. 72, 289-301.
- Ghorbanli, M., Bakhshi Khaniki, G.R., Salimi Elizei S., Hedayati, M., 2010. Effect of water deficit and its interaction with ascorbate on proline, soluble sugars, catalase and glutathione peroxidase amounts in (*Nigella sativa* L.). *Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 26, 465-476. [In Persian with English Summary].
- Jiang, M., Zhang, J., 2001. Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings. *Plant and Cell Physiology*. 42, 1265-1273.
- Karimi, S., Abbaspour, H., Sinaki, J. M., Makarian, H., 2012. Effects of Water Deficit and Chitosan Spraying on Osmotic Adjustment and Soluble Protein of Cultivars Castor Bean (*Ricinus communis* L.). *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*. 8, 160-169.
- Lawlor, D.W., Cornic, G., 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell and Environment*. 25, 275 - 294.
- Liang, X., Zhang, L., Natarajan, S.K., Becker, D F., 2013. Proline Mechanisms of Stress Survival. *Antioxidants and Redox Signaling*. 19, 998-1011.
- Lutts, S., Kinet, J.M., Bouharmont, J., 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany*. 78, 389-398.
- Monakhova, O.F., Chernyadev, I.I., 2002. Protective role of kartolin-4 in wheat plants exposed to soil drought. *American Society for Microbiology Journals*. 38, 373-380.
- Naderi, S., Fakheri, B.A., Seraji, M., 2014. The effect of chitosan on some physiological and biochemical characteristics of Ajowan (*Carum copticum* L.). *Crop Sciences Research in the Dry Areas*1, 187-201.
- Nasir khan, M., Siddiqui, M. H., Mohhamad, F., Masroor, M., Khan, A., Naeem, M., 2007. Salinity induced changes in growth, enzyme activities, Photosynthesis. Proline accumulation and yield in linseed genotype. *World. Journal of Agricultural Science*. 3,685-695.
- Passioura, J.B., 2007. The drought environment: physical, biological and agricultural perspectives. *Journal of Experimental Botany*. 58, 113-117.
- Robbert, R., Stewart, C., Derek, J., Bewley, D., 1980. Lipid Peroxidation Associated with Accelerated Aging of Soybean Axes. *Plant Physiology*. 65, 245-248.
- Senatos, C., Azervedo, H., Calderia, G., 2001. Isitue and invitro senescence induced by KCL Stress: Nutritional imbalance lipid peroxidation and antioxidant metabolism. *Environmental and experimental botany*. 52,351-360.
- Yang, F., Hu, J., Li, J., Wu, X., Qian, Y., 2009. Chitosan enhances leaf membrane stability and antioxidant enzyme activities in apple seedlings under drought stress. *Plant Growth Regulation*. 58, 131-136.

- Yin, H., Xavier, F., Chrestensen, L.P., Grevsen, K., 2011. Chitosan Oligosaccharides promote the Content of polyphenols in Greek Oregano (*Oreganum vulgare* ssp.hirtum). Journal of Agriculture and Food Chemistry. 60, 136-143.
- Zhao, J., Davis, L.C., Verpoorte. R., 2005. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. Biotechnology Advances. 23, 283-333.