

ارزیابی ویژگی‌های رشدی و عملکرد اسانس بادرشبویه تحت تیمار اسید آمینه

گاما آمینوبوتیریک اسید و عصاره *Ascophyllum nodosum*^۱

Evaluation of Growth Characteristics and Essential Oil Yield of Dragonhead Treated with γ -Aminobutyric acid and *Ascophyllum nodosum* Extract as Biofertilizers

نجمه زینلی پور* و بهاره نژاد شاهرخ آبادی^۲

چکیده

به منظور بررسی اثر گاما آمینوبوتیریک اسید و عصاره جلبک آسکوفیلوم نودوزوم بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی بادرشبویه آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با نه تیمار و سه تکرار در گلخانه انجام گرفت. تیمارها شامل غلظت‌های مختلف گاما آمینوبوتیریک اسید در سه سطح (۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار) و آسکوفیلوم نودوزوم در سه سطح (۰، ۱ و ۲ درصد حجمی) بودند. نتایج نشان داد که بیشترین میزان وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی، تعداد برگ و کمترین میزان مالون‌دی‌آلدهید تحت تاثیر تیمار گاما آمینوبوتیریک اسید با غلظت ۴۰۰ میکرومولار + عصاره آسکوفیلوم نودوزوم ۱ درصد حجمی حاصل شد. همچنین پارامتر وزن بذر تحت تاثیر تیمار توأم گاما آمینوبوتیریک اسید ۲۰۰ میکرومولار + عصاره آسکوفیلوم نودوزوم ۲ درصد حجمی، بیشترین مقدار را نشان داد. برهمکنش تیمارهای گابا ۲۰۰ میکرومولار + عصاره آسکوفیلوم نودوزوم ۱ درصد حجمی بهترین نتیجه را روی صفات میزان کلروفیل، کاروتنوئید، قطر ساقه و عملکرد پیکره رویشی داشته است. بیشترین میزان عملکرد اسانس به تیمار توأم گاما آمینوبوتیریک اسید ۴۰۰ میکرومولار + عصاره آسکوفیلوم نودوزوم ۲ درصد حجمی اختصاص داشت. در نهایت محلول پاشی گاما آمینوبوتیریک اسید ۲۰۰ میکرومولار + عصاره آسکوفیلوم نودوزوم ۱ درصد حجمی جهت افزایش عملکرد بادرشبویه توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آسکوفیلوم نودوزوم، بادرشبویه، عملکرد پیکره رویشی، کود زیستی، گابا.

مقدمه

بادرشبویه یا بادرشبیه با نام علمی *Dracocephalum moldavica* L. گیاهی است علفی و یکساله از تیره نعنائیان Lamiaceae که تقریباً در هر اقلیمی قادر به رویش می‌باشد (۱۷). در ایران در بخش‌های شمال کشور و به‌ویژه در کوه‌های البرز یافت می‌شود (۲۸). تمام اندام‌های گیاه حاوی اسانسی با اثرات آرام‌بخش و اشتها آور، دارای خاصیت ضد باکتریایی و ضد قارچی می‌باشد و مقدار آن در قسمت‌های مختلف گیاه متفاوت است (۴۸).

با توجه به استقبال مردم جهان به‌خصوص در کشورهای پیشرفته به استفاده از گیاهان دارویی و مصرف روزافزون آن در صنعت داروسازی، صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی تقاضا برای این گیاهان رو به افزایش است (۱). از طرفی به کارگیری انواع کودهای آلی و شیمیایی به‌منظور حصول عملکرد بالا در محصولات دارویی لازم است (۲). در دهه‌های اخیر کاربرد بلند مدت غیر معقول نهاده‌های شیمیایی، از جمله کودها، آفت‌کش‌ها و علف‌کش‌ها، آلودگی محیطی را افزایش داده و در برخی از موارد موجب تاثیر منفی بر عملکرد و کیفیت محصولات گردیده است (۴۰). امروزه استفاده از کودهای زیستی در کشاورزی مدرن

۱- تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۷/۲۳

۲- به ترتیب استادیار و دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (Nzeinali@uk.ac.ir).

گزینه‌ای برای کاهش مصرف نهاده‌های شیمیایی و حفظ یا افزایش حاصلخیزی خاک و تغذیه گیاه است. به‌علاوه کودهای زیستی با کاهش آلودگی شیمیایی و حفظ تنوع زیستی با اجتناب از استفاده غیر ضروری از مواد مغذی، می‌توانند هزینه‌های تولید را کاهش داده و کارایی مصرف نهاده‌ها را افزایش دهند (۲).

از این رو جلبک‌های دریایی مانند آسکوفیلوم نودوزوم منابع تجدیدپذیری هستند که در محیط‌های دریایی وجود دارند. جلبک‌های دریایی دارای ویژگی‌های بیولوژیکی چون خواص ضد باکتریایی، ضد اکسیدانی، ضد ویروسی و ضدقارچی می‌باشند. در میان ترکیباتی که در جلبک‌ها یافت شده‌اند، آنتی‌اکسیدان‌ها موادی هستند که توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند (۳۲). مطالعات مختلف علمی ثابت کرده است که کارایی این کودهای جلبکی به‌طور گسترده‌ای در علوم و صنعت باغبانی مورد استقبال قرار گرفته است، به‌طوری‌که استفاده از این فرآورده‌ها، افزایش محصول، افزایش جذب مواد غذایی خاک توسط گیاه، افزایش مقاومت به آفات خاص، افزایش جوانه‌زنی بذر و مقاومت در مقابل یخ‌زدگی را در پی داشته است (۳۳).

گونه نودوزوم یکی از گونه‌های بزرگ و اصلی جلبک‌های دریایی می‌باشد که حاوی مواد مختلفی از جمله شبه هورمون‌های محرک رشد، عناصر غذایی و انواع مواد ضد تنش می‌باشد. عصاره این جلبک دارای مواد معدنی ماکرو و میکرو، آمینواسید، ویتامین‌ها، اکسین، سیتوکنین و سایر مواد ضروری برای رشد گیاهان است (۳۷).

گاما‌آمینوبوتیریک‌اسید (GABA) یک آمینو اسید چهارکربنه غیر پروتئینی است که در پروکاریوت‌ها وجود دارد. در گیاهان، چند نقش پیام‌رسانی از جمله دخالت در تنظیم pH، ذخیره‌سازی نیتروژن، رشد گیاه و دفاع در برابر تنش‌های غیرزیستی مانند خشکی، تنش اکسایشی، شوری و تنش سرمایی به گاما‌آمینوبوتیریک‌اسید (گابا) نسبت داده شده است (۴۲). گابا به عنوان مولکول سیگنالی نقش‌های مهمی در رشد و نمو گیاه، تنظیم pH، تنظیم اسمزی، جلوگیری از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن، دفاع در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده ایفا می‌کند (۳۰). گابا در اثر کاتابولیزم پلی‌آمین‌ها تولید می‌شود و تعدیل‌کننده‌ی بالقوه‌ی بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی می‌باشد و از طرفی می‌تواند به سوکسینات تبدیل شده و وارد چرخه‌ی تری‌کربوکسیلیک‌اسید شود (۳۰).

هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر کود زیستی آسکوفیلوم نودوزوم و آمینواسید گابا و برهمکنش آن‌ها بر ویژگی‌های مورفولوژیکی، بیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه سبزی دارویی بادرشبو می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش با کشت بهاره گیاه دارویی بادرشبویه در گلخانه سبزیکاری دانشگاه شهید باهنر کرمان بصورت طرح فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با نه تیمار و سه تکرار و با قرار دادن ۳۰ بوته در هر واحد آزمایشی در سال ۱۳۹۹ انجام گرفت. تیمارهای آزمایش شامل غلظت‌های مختلف گاما‌آمینوبوتیریک‌اسید (صفر، ۲۰۰ و ۴۰۰) میکرومولار و آسکوفیلوم نودوزوم (صفر، ۱ و ۲) درصد حجمی طی دو بار محلول‌پاشی در دو مرحله چهار و هشت برگی بوته‌ها و با فاصله ده روز یکبار بودند. بذرهای بادرشبویه از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری و پس از خیساندن به مدت ۸ ساعت به صورت جوی و پشته کم‌عمق در بستر کشت گلخانه (با فواصل بین بوته ۲۰ و فواصل بین ردیف‌های ۵۰ سانتی‌متر) کشت شدند. ترکیب محیط کشت بصورت مخلوط تهیه شده از ماسه بادی، خاک استریل باغچه و پیت موس با نسبت‌های ۱:۲:۱ خاکورزی و آماده‌سازی شد. گیاهچه‌های بادرشبو ابتدا با آب معمولی آبیاری و در ادامه به مدت سه هفته از محلول یک-چهارم هوگلند و پس از آن تا انتهای آزمایش و زمان برداشت پیکره‌ی رویشی از محلول یک-دوم هوگلند تغذیه و آبیاری شدند. نمونه‌گیری و اندازه‌گیری صفات مورد نظر در طی فصل رشد بعد از گذشت یک ماه از آخرین محلول‌پاشی با انتخاب تصادفی پنج بوته از هر تیمار انجام شد.

رنگدانه‌های فتوسنتزی

برای سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئید از روش لیچنتنالر (۱۹۸۷) استفاده شد. برای این منظور ۰/۱ گرم وزن تر نمونه در استون ۸۰ درصد سائیده و سپس عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در سانتیفریوژ با دور ۲۷۰۰ قرار داده شده و سپس ۳ میلی‌متر عصاره رویی را برداشته و جذب آن‌ها در طول موج ۴۷۰، ۶۶۳ و ۶۴۷ نانومتر به کمک اسپکتروفتومتر خوانده شد و غلظت کلروفیل a و کلروفیل b، با استفاده از فرمول محاسبه شد (۲۶).

Ca=12.25A663-2.79A647

Cb=21.50A647-5.10A663

سنجش مالون‌دی‌آلدهید

میزان مالون‌دی‌آلدهید به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر و جذب غیر اختصاصی ۶۰۰ نانومتر با استفاده از روش هیت و پارکر (۱۹۶۹) اندازه‌گیری شد. محتوای مالون‌دی‌آلدهید میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه شد (۱۵).

فعالیت آنزیم کاتالاز CAT

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از محاسبه کاهش جذب H_2O_2 (کاهش مقدار H_2O_2) در طول موج ۲۴۰ نانومتر انجام شد (۱۳). بر اساس این روش مخلوط واکنش (۳ میلی لیتر) شامل بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=7) آب اکسیژنه ۱۵ میلی مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. یک واحد فعالیت آنزیمی، مقدار آنزیمی است که یک میلی مول آب اکسیژنه را در مدت یک دقیقه تجزیه کند. فعالیت آنزیم به صورت واحد آنزیمی و برحسب پروتئین کل (میلی گرم) موجود در ۱۰۰ میکرولیتر عصاره (به دست آمده از روش براد فورد ۱۹۷۶) در یک دقیقه محاسبه گردید (۵).

فعالیت گایاکول پراکسیداز GPX

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با استفاده از میزان جذب گایاکول (حاصل اکسیداسیون گایاکول) در طول موج ۴۷۰ نانومتر انجام گرفت. در این روش ۳ میلی لیتر مخلوط واکنش حاوی ۲/۷۷ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=7) ۱۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۱ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول ۴ درصد و ۳۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. یک واحد آنزیمی به صورت ۰/۰۱ تغییر در جذب در مدت یک دقیقه به ازای هر میلی گرم پروتئین گزارش شد (۴۹).

وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه

برای تعیین وزن اندام هوایی و ریشه ابتدا ریشه همراه با خاک خارج گشته و بعد از شستشو و خشک کردن ریشه، از ناحیه طوقه گیاه به دو قسمت تقسیم شده به طوری که ریشه از بوته جدا شده و هر کدام به طور جداگانه با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد و در نهایت برگ و ریشه در آون ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شده و اندازه‌گیری وزن انجام گرفت.

نشت یونی

برای تعیین پایداری غشا سلولی در برگ از روش کومر و همکاران (۲۰۱۱) استفاده شد. بدین منظور ۰/۱ گرم از بافت برگ تازه گیاه بعد از شستشو درون لوله‌های آزمایش در پیچ دار قرار داده و ۱۵ میلی لیتر آب مقطر به آن‌ها اضافه کرده بعد از ۲۴ ساعت میزان EC با استفاده از EC متر خوانده شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در فریزر قرار داده و بعد از آن نمونه‌ها در دمای معمولی آزمایشگاه قرار داده شده و میزان هدایت الکتریکی اندازه‌گیری شد. درصد نشت یونی از فرمول محاسبه گردید (۲۳).

$$\%EC = (EC^1/EC^2) * 100$$

قطر ساقه و تعداد برگ

در طی فصل رشد بعد از گذشت یک ماه از محلول پاشی به طور تصادفی از هر تیمار سه بوته انتخاب و سپس قطر ساقه با استفاده از خط کش و تعداد برگ‌ها اندازه‌گیری و میانگین آن‌ها به عنوان قطر ساقه و تعداد برگ ثبت شد.

عملکرد بذری گیاه

بعد از گذشت سه ماه از آخرین محلول پاشی و در پایان فصل رشد بذری از ۵ بوته هر تیمار انجام و میانگین وزن بذرهای ۵ بوته محاسبه و ثبت شد.

عملکرد گیاه

اندازه‌گیری عملکرد با استفاده از ترازوی ۰/۰۰۱ و پس از برداشت اندام هوایی گیاه صورت گرفت.

عملکرد اسانس

برای تعیین عملکرد اسانس اندام‌های هوایی بادرشو گیاهان برداشت شده در مراحل ابتدایی گلدهی، در دمای اتاق و شرایط سایه به مدت چهار روز قرار گرفتند و بعد از خشک شدن کامل و رسیدن به وزن ثابت، ۵۰ گرم از ماده خشک را آسیاب نموده

و محتوای اسانس به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر اندازه شد (۷). عملکرد اسانس بر اساس میلی‌لیتر بر مترمربع محاسبه و مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

واکاوی آماری

به‌منظور واکاوی آماری داده‌های آزمایش از نرم افزار SAS ver 9.1 استفاده شد و مقایسات میانگین با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج

براساس نتایج تجزیه واریانس مشخص گردید که تاثیر تیمارهای آزمایش بر اکثر صفات مورد مطالعه در سطح ۵ یا ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد که این مطلب در ادامه به تفکیک هر صفت و به تفصیل آورده شده است.

کلروفیل a

براساس نتایج تجزیه واریانس اثر گابا، عصاره آسکوفیلوم و برهمکنش گابا و عصاره آسکوفیلوم در سطح ۱ درصد بر کلروفیل a معنی‌دار بودند. در رابطه با اثرات متقابل مشخص شد که بیشترین میانگین کلروفیل a (۲۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به تیمار برهمکنش غلظت‌های ۲۰۰ میکرومولار گابا و ۱ درصد حجمی عصاره آسکوفیلوم نودوزوم و تیمار برهمکنش غلظت‌های ۰ میکرومولار گابا و ۱ درصد حجمی عصاره آسکوفیلوم نودوزوم اختصاص داشت. کمترین میزان کلروفیل a (۱۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شاهد مشاهده گردید (جدول ۱).

کلروفیل b

براساس نتایج تجزیه واریانس اثر گابا، عصاره آسکوفیلوم و برهمکنش گابا و عصاره آسکوفیلوم در سطح ۵ درصد بر میزان کلروفیل b برگ معنی‌دار بودند. بیشترین میانگین کلروفیل b (۲۷/۶ و ۲۷/۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به تیمار ترکیبی ۱ درصد حجمی عصاره آسکوفیلوم نودوزوم و ۲۰۰ میکرومولار گابا و تیمار برهمکنش غلظت‌های ۰ میکرومولار گابا و ۱ درصد حجمی عصاره آسکوفیلوم نودوزوم (۲۵/۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) اختصاص داشت در حالی که کمترین میانگین کلروفیل b (۱۱/۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به تیمار شاهد بود (جدول ۱).

کاروتنوئید

براساس نتایج تجزیه واریانس، اثر گابا و برهمکنش گابا و عصاره آسکوفیلوم در سطح ۱ درصد بر میزان کاروتنوئید معنی‌دار بودند. مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین میانگین کاروتنوئید (۵/۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به تیمار ۲۰۰ و ۴۰۰ میکرومولار گابا و شاهد عصاره آسکوفیلوم و تیمار ترکیبی گابا ۴۰۰ میکرومولار و عصاره آسکوفیلوم ۲ درصد حجمی اختصاص داشت. کمترین میزان کاروتنوئید (۱/۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شاهد اندازه‌گیری شد (جدول ۱).

مالون‌دی‌آلدهید

نتایج تجزیه واریانس حاکی از آن بود که تاثیر گابا در سطح ۱ درصد و تاثیر عصاره آسکوفیلوم و برهمکنش گابا و عصاره آسکوفیلوم در سطح ۵ درصد بر میزان این صفت معنی‌دار بودند. بیشترین مقدار مالون‌دی‌آلدهید (۲/۵ میکرومول بر گرم وزن تر) به تیمار شاهد اختصاص داشت و بعد از آن تیمار برهمکنش ۰ میکرومولار گابا و ۲ درصد حجمی آسکوفیلوم نودوزوم قرار داشت. کمترین مقدار مالون‌دی‌آلدهید (۱/۱ میکرومول بر گرم وزن تر) به تیمار ترکیبی ۱ درصد حجمی عصاره آسکوفیلوم نودوزوم و ۴۰۰ میکرومولار گابا اختصاص داشت (جدول ۱).

کاتالاز

نتایج تجزیه واریانس حاکی از آن بود که تاثیر گابا در سطح ۱ درصد و تاثیر عصاره آسکوفیلوم و برهمکنش گابا و عصاره در سطح ۵ درصد بر میزان فعالیت این آنزیم معنی‌دار بودند. در رابطه با اثرات متقابل مشخص شد که بیشترین میانگین فعالیت کاتالاز (۳/۴۰ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) به تیمار ترکیبی ۱ درصد حجمی عصاره آسکوفیلوم نودوزوم و ۴۰۰ میکرومولار گابا و تیمار ترکیبی ۲ درصد حجمی عصاره آسکوفیلوم نودوزوم و ۴۰۰ میکرومولار گابا (۲/۹۰ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) اختصاص داشت. کمترین میانگین فعالیت کاتالاز (۰/۸۰ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) به تیمار شاهد اختصاص داشت (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین صفات کمی و کیفی بادرشبو تحت تاثیر آسکوفیلوم و گابا.

Table 1. Mean comparison of quantitative and qualitative traits of *Dracocephalum moldavica* L. affected by *Ascochyllum nodosum* and GABA.

گابا	عصاره جلبک	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئید	مالون‌دی‌آلدهید	کاتالاز	گایاکول پراکسیداز
GABA (μM)	<i>A. nodosum</i> foliar application (% v/v)	Chlorophyll a (mg g ⁻¹ FW)	Chlorophyll b (mg g ⁻¹ FW)	Carotenoid (mg g ⁻¹ FW)	Malon-di-aldehyde (μM/g FW)	Catalase (unit g ⁻¹ /protein)	Guaiacol peroxidase (unit g ⁻¹ /protein)
0	0	12±0.80 ^e	11.6±0.05 ^g	1.5±0.01 ^c	2.5±0.003 ^a	0.80±0.0001 ^f	8.5±0.0001 ^g
0	1	27±1.01 ^a	27.5±0.04 ^a	3.9±0.03 ^b	2.1±0.002 ^c	0.90±0.0001 ^{ef}	11±0.0002 ^f
0	2	23±0.90 ^d	16.9±0.02 ^f	4.8±0.01 ^{ab}	2.3±0.002 ^b	1.30±0.0002 ^e	12±0.0002 ^e
200	0	26±1.01 ^{ab}	21.7±0.05 ^d	5.3±0.03 ^a	1.7±0.002 ^d	2.00±0.0001 ^d	15±0.0001 ^d
200	1	27±1.01 ^a	27.6±0.05 ^a	4.2±0.03 ^{ab}	1.5±0.001 ^e	2.00±0.0002 ^d	23±0.0002 ^b
200	2	25±1.01 ^{bc}	23.3±0.04 ^c	4.5±0.01 ^{ab}	1.5±0.001 ^e	2.10±0.0002 ^{cd}	18±0.0002 ^c
400	0	25±1.01 ^{bc}	19.5±0.03 ^e	5.3±0.03 ^a	1.4±0.001 ^{ef}	2.50±0.0001 ^{bc}	18±0.0002 ^c
400	1	25±1.01 ^{bc}	25.4±0.04 ^b	4.0±0.01 ^b	1.1±0.001 ^g	3.40±0.0001 ^a	24±0.0002 ^{ab}
400	2	24±1.00 ^{cd}	20.9±0.02 ^{de}	5.2±0.02 ^a	1.3±0.001 ^f	2.90±0.0002 ^{ab}	25±0.0001 ^a

میانگین‌ها دارای دستکم یک حرف مشترک از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

In each column means followed by at least a common letter, are not statistically different at 5% probability level.

گایاکول پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس حاکی از آن بود که تاثیر گابا در سطح ۱ درصد و تاثیر عصاره و برهمکنش گابا و عصاره در سطح ۵ درصد بر میزان فعالیت این آنزیم معنی‌دار بودند. در رابطه با اثرات متقابل مشخص شد که بیشترین میانگین فعالیت پراکسیداز (۲۵ و ۲۴ واحد بر میلی گرم پروتئین) به ترتیب متعلق به تیمارهای ترکیبی ۲ درصد حجمی عصاره آسکوفیلوم نودوزوم و ۴۰۰ میکرومولار گابا و ۱ درصد حجمی عصاره آسکوفیلوم نودوزوم و ۴۰۰ میکرومولار گابا بود. کمترین میانگین فعالیت پراکسیداز (۸/۵ واحد بر میلی گرم پروتئین) به تیمار شاهد اختصاص داشت (جدول ۱).

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات کمی و کیفی بادرشبو تحت تاثیر آسکوفیلوم و گابا.

Table 2. Mean comparison of quantitative and qualitative traits of *Dracocephalum moldavica* L. affected by *Ascochyllum nodosum* and GABA.

گابا	عصاره جلبک	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی
GABA (μM)	<i>A. nodosum</i> foliar application (v/v %)	Fresh weight of roots (g)	Dry weight of roots (g)	Fresh weight of aerial (g)	Dry weight of aerial (g)
0	0	13±0.3 ^d	1.23±0.02 ^d	12±0.9 ^b	2.4±0.05 ^b
0	1	15±0.2 ^d	1.27±0.09 ^d	10±0.2 ^b	2.2±0.06 ^b
0	2	18±0.5 ^c	1.53±0.03 ^{bc}	16±0.5 ^b	4.3±0.05 ^{ab}
200	0	14±0.7 ^d	1.37±0.04 ^{cd}	15±0.5 ^b	3.8±0.01 ^{ab}
200	1	18±0.4 ^c	1.50±0.08 ^{bc}	19±0.6 ^b	4.0±0.05 ^{ab}
200	2	24±0.8 ^b	1.47±0.03 ^{bc}	20±0.6 ^{ab}	4.5±0.02 ^{ab}
400	0	26±0.7 ^b	1.63±0.03 ^b	21±0.6 ^{ab}	5.1±0.05 ^{ab}
400	1	42±0.6 ^a	2.60±0.03 ^a	32±0.1 ^a	7.2±0.08 ^a
400	2	24±0.3 ^b	1.60±0.08 ^b	20±0.5 ^{ab}	4.3±0.05 ^{ab}

میانگین‌ها دارای دستکم یک حرف مشترک از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

In each column means followed by at least a common letter, are not statistically different at 5% probability level.

وزن تر ریشه

براساس نتایج تجزیه واریانس، اثر گابا در سطح احتمال کمتر از ۱ درصد بر روی صفت وزن تر ریشه معنی‌دار بود. مقایسه میانگین نشان داد که بالاترین میانگین وزن تر ریشه (۴۲ گرم) به تیمار ترکیبی ۴۰۰ میکرومولار گابا و آسکوفیلوم نودوزوم ۱ درصد حجمی اختصاص داشت. کمترین میانگین وزن تر ریشه (۱۳، ۱۴ و ۱۵ گرم) به ترتیب در تیمارهای شاهد، تیمار ۲۰۰ میکرومولار گابا و شاهد عصاره آسکوفیلوم و در نهایت تیمار شاهد گابا و ۱ درصد حجمی عصاره آسکوفیلوم اندازه‌گیری شد (جدول ۲).

وزن خشک ریشه

براساس نتایج تجزیه واریانس، اثر گابا در سطح ۱ درصد بر وزن خشک ریشه معنی‌دار بود. تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش گابا و عصاره آسکوفیلوم در سطح ۵ درصد بر وزن ریشه معنی‌دار بودند (جدول ۲). بیشترین میزان این صفت (۲/۶۰ گرم) در برهمکنش تیمارهای آسکوفیلوم نودوزوم ۱ درصد حجمی و گابا ۴۰۰ میکرومولار و کمترین میزان آن (۱/۲۳ و ۱/۲۷ گرم) در تیمار شاهد و تیمار ۱ درصد حجمی عصاره آسکوفیلوم و ۰ میکرومولار گابا به دست آمد (جدول ۲).

وزن تر اندام هوایی

براساس نتایج تجزیه واریانس اثر گابا و برهمکنش گابا و عصاره آسکوفیلوم به ترتیب در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد بر وزن تر اندام هوایی معنی‌دار بودند. مقایسه میانگین سطح گابا نشان داد که بیشترین میانگین وزن تر اندام هوایی (۳۲ گرم) به تیمار ترکیبی ۴۰۰ میکرومولار گابا و ۱ درصد حجمی آسکوفیلوم نودوزوم اختصاص داشت و سایر تیمارها در یک گروه قرار داشتند (جدول ۲).

وزن خشک اندام هوایی

براساس نتایج تجزیه واریانس اثر گابا و برهمکنش گابا و عصاره آسکوفیلوم به ترتیب در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد بر وزن خشک اندام هوایی معنی‌دار بودند. مقایسه میانگین سطح گابا نشان داد که بیشترین میانگین وزن خشک اندام هوایی (۷/۲ گرم) به تیمار ۴۰۰ میکرومولار گابا و ۱ درصد حجمی عصاره آسکوفیلوم اختصاص داشت و سایر تیمارها در یک گروه قرار داشتند (جدول ۲).

درصد نشت یونی

براساس نتایج تجزیه واریانس اثر گابا در سطح ۱ درصد بر نشت یونی معنی‌دار بود. مقایسه میانگین سطح گابا نشان داد که بیشترین میانگین نشت یونی (۸۷ و ۸۰ درصد) به تیمارهای شاهد و ۴۰۰ میکرومولار گابا اختصاص داشت. کمترین میانگین نشت یونی (۴۷ درصد) در تیمار ۲۰۰ میکرومولار گابا اندازه‌گیری شد.

قطر ساقه

براساس نتایج تجزیه واریانس، اثرات متقابل گابا و عصاره آسکوفیلوم در سطح احتمال ۵ درصد بر روی قطر ساقه معنی‌دار بودند. مشخص شد که بالاترین میانگین قطر ساقه (۱/۳۷ سانتی‌متر) به تیمار ترکیبی ۲۰۰ میکرومولار گابا و ۲ درصد حجمی عصاره آسکوفیلوم اختصاص داشت. کمترین میانگین قطر ساقه (۰/۲۳ سانتی‌متر) در تیمار شاهد مشاهده گردید (جدول ۳).

تعداد برگ

براساس نتایج تجزیه واریانس اثر گابا و برهمکنش گابا و عصاره آسکوفیلوم در سطح ۵ درصد بر تعداد برگ معنی‌دار بودند. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بالاترین میانگین تعداد برگ (۵۷ عدد) به تیمار ترکیبی ۴۰۰ میکرومولار گابا و آسکوفیلوم نودوزوم ۱ درصد حجمی تعلق داشت و کمترین میانگین تعداد برگ (۲۵ عدد) در تیمار ۰ میکرومولار گابا و ۱ درصد حجمی عصاره آسکوفیلوم اندازه‌گیری شد (جدول ۳).

وزن بذر

براساس نتایج تجزیه واریانس اثر گابا و عصاره آسکوفیلوم به ترتیب در سطح ۱ و ۵ درصد بر وزن بذر معنی‌دار بودند و همچنین مشخص شد که برهمکنش گابا و عصاره آسکوفیلوم در سطح ۱ درصد بر وزن بذر معنی‌دار بودند. در رابطه با اثرات متقابل

مشخص شد که بالاترین میانگین وزن بذر ($5/830$ گرم) به تیمار ترکیبی 200 میکرومولار گابا و آسکوفیلوم نودوزوم 2 درصد حجمی اختصاص داشت. کمترین میانگین وزن بذر ($1/443$ گرم) در تیمار شاهد مشاهده گردید (جدول ۳).

عملکرد پیکره رویشی

براساس نتایج تجزیه واریانس اثر گابا و برهمکنش گابا و عصاره آسکوفیلوم به ترتیب در سطح احتمال 1 و 5 درصد بر عملکرد معنی‌دار بودند. بیشترین مقدار عملکرد در مجموع برداشت‌ها ($4/39$ کیلوگرم در متر مربع) در برهمکنش بین تیمارهای آسکوفیلوم نودوزوم 1 درصد حجمی و گابا 200 میکرومولار به دست آمد و کمترین میزان عملکرد ($1/62$ کیلوگرم در متر مربع) در تیمار شاهد مشاهده گردید (جدول ۳).

عملکرد اسانس

نتایج تجزیه واریانس نشان داد عملکرد اسانس در سطح احتمال 1 درصد به طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارهای آزمایش قرار گرفت. بیشترین میزان عملکرد اسانس ($1/41$ میلی‌لیتر بر متر مربع) در تیمار ترکیبی 400 میکرومولار گابا و 2 درصد حجمی آسکوفیلوم نودوزوم مشاهده شد و کمترین میزان عملکرد اسانس ($0/63$ میلی‌لیتر بر متر مربع) به تیمار 1 درصد حجمی آسکوفیلوم نودوزوم اختصاص داشت (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات کمی و کیفی بادرشبو تحت تاثیر آسکوفیلوم و گابا.

Table 3. Mean comparison of quantitative and qualitative traits of *Dracocephalum moldavica* L. affected by *Ascochyta nodosum* and GABA

گابا GABA (μM)	عصاره جلبک <i>A. nodosum</i> foliar application (% v/v)	نشت یونی Ion leakage (%)	قطر ساقه Stem diameter (cm)	تعداد برگ Leaf number	وزن بذر Seed weight (g)	عملکرد رویشی Vegetative yield (kg/m^2)	عملکرد اسانس Essential oil Yield (ml/m^2)
0	0	87 ± 1.54^a	0.23 ± 0.0001^d	37 ± 1.01^b	1.443 ± 0.04^d	1.62 ± 0.06^c	0.69 ± 0.004^f
0	1	80 ± 1.45^a	0.40 ± 0.0001^c	25 ± 1.08^c	4.050 ± 0.01^b	2.00 ± 0.05^b	0.63 ± 0.004^g
0	2	80 ± 3.20^a	0.42 ± 0.0001^c	39 ± 1.12^{ab}	3.793 ± 0.02^b	2.20 ± 0.09^b	0.74 ± 0.003^e
200	0	47 ± 1.10^c	0.55 ± 0.0001^b	39 ± 1.01^{ab}	3.993 ± 0.06^b	2.00 ± 0.10^b	0.84 ± 0.003^d
200	1	60 ± 1.90^b	0.56 ± 0.0002^b	39 ± 1.02^{ab}	4.280 ± 0.02^b	4.39 ± 0.05^a	0.72 ± 0.001^e
200	2	53 ± 1.40^{bc}	1.37 ± 0.0001^a	41 ± 1.21^{ab}	5.830 ± 0.03^a	4.14 ± 0.04^{ab}	0.98 ± 0.001^c
400	0	80 ± 3.50^a	0.58 ± 0.0001^b	41 ± 1.89^{ab}	5.007 ± 0.02^{ab}	2.05 ± 0.05^b	0.97 ± 0.003^c
400	1	53 ± 2.10^{bc}	0.47 ± 0.0001^{bc}	57 ± 1.09^a	2.303 ± 0.04^c	3.11 ± 0.04^b	1.07 ± 0.005^b
400	2	54 ± 1.80^{bc}	0.51 ± 0.0001^{bc}	40 ± 1.02^{ab}	4.320 ± 0.01^b	4.06 ± 0.10^{ab}	1.41 ± 0.001^a

میانگین‌ها دارای دستکم یک حرف مشترک از نظر آماری در سطح احتمال 5 درصد آزمون دانکن فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

In each column means followed by at least a common letter, are not statistically different at 5% probability level.

بحث

نتایج این آزمایش نشان داد که کاربرد تیمارهای گابا و عصاره آسکوفیلوم در مقایسه با شاهد باعث بهبود معنی‌دار صفات قطر ساقه، وزن تر و وزن خشک ریشه و اندام هوایی بادرشبو گردید. گزارش کرده‌اند که کاربرد گابا با غلظت 5 میلی‌گرم بر لیتر روی گیاه کنجد باعث افزایش وزن تر و خشک ریشه می‌شود (50). استفاده از گابا روی گیاه برنج باعث افزایش وزن تر و خشک ریشه می‌شود که به افزایش تعداد سلول‌ها نسبت داده می‌شود (39). در آزمایشی مشخص شده است که کاربرد گابا با غلظت 5 میلی‌گرم بر لیتر بر روی گیاه کنجد باعث افزایش درصد ماده خشک برگ گردیده است که در نتیجه افزایش سطح برگ گیاه می‌باشد (50). طی آزمایش‌هایی مشخص شد که گیاهان تیمار شده با بتا آمینوبوتیریک اسید باعث حفظ آب بیشتری در گیاهان

شاهد شده است گابا زمینه را برای سنتز اسید آسبیزیک فراهم می‌کند و این منجر به بسته شدن روزنه‌ها و افزایش آب برگ می‌شود (۱۹). در گزارشی تاثیر گابا در خیار چمبر با غلظت ۱/۵ میلی گرم بر لیتر قطر ساقه را افزایش داد (۳).

عصاره آسکوفیلوم به عنوان یک جلبک دریایی چون حاوی مواد مغذی اصلی و فرعی، اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها، هورمون‌های رشد مانند سیتوکینین، اکسین و آسبیزیک اسید می‌باشد (۴۳) در کاربرد توأم با گابا بر رشد اندام‌های هوایی و زمینی تره خراسانی مؤثر می‌باشد. در همین رابطه گزارش شده که برخی ویژگی‌های مورفولوژیک ریشه و اندام هوایی گیاه گلرنگ نیز تحت تاثیر عصاره جلبک دریایی قرار گرفته است (۳۳). در آزمایشی مشخص شده است که محلول پاشی عصاره جلبک آسکوفیلوم نودوزوم با غلظت ۲ میلی گرم در لیتر بر روی گیاه شاهی موجب افزایش وزن خشک گیاه شد (۴۴). لورنک و همکاران بیشترین وزن تر و خشک ساقه را به دنبال استفاده از جلبک دریایی در نهال‌های صنوبر یافتند (۲۷). در پژوهشی دیگر، هاگک و همکاران (۲۰۱۴) گزارش داد که عصاره جلبک بر ارتفاع گیاه، تعداد ساقه جانبی، قطر ساقه، تعداد برگ و طول ریشه نهال زیتون تاثیر می‌گذارد (۱۴).

تعداد برگ نیز از جمله صفاتی بود که مورد ارزیابی قرار گرفت و مشخص شد که دامنه تغییرات این صفت بین ۲۵ تا ۵۷ عدد بدست آمد که بالاترین میانگین از کاربرد بالاترین سطوح تیماری بدست آمد. نتایج رپورات و همکاران همچنین نشان داد که تیمار آسکوفیلوم نودوزوم باعث افزایش تعداد برگ‌ها در آرابیدوپسیس شد (۳۵). تیمار جلبک دریایی تعداد برگ‌ها در بامیه را افزایش داد (۹).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد وزن بذر و عملکرد پیکره رویشی گیاه بادرشبو تحت تاثیر تیمارهای آزمایش بهبود یافت. اعمال تیمارهای آزمایش اعم از گابا و عصاره آسکوفیلوم منجر به افزایش این صفات نسبت به شاهد گردید. افزایش عملکرد دانه به حضور تنظیم‌کننده‌های رشدی همچون اکسین، جیبرلین، کینتین و زآتین در عصاره جلبک دریایی نسبت داده می‌شود. عملکرد و اجزای عملکرد ذرت از جمله مواردی بود که تحت تاثیر عصاره جلبک دریایی قرار گرفت (۳۳). بریگلیا و همکاران (۲۰۱۹) همچنین پس از تیمار محلول پاشی با ترکیبات مختلف جلبک دریایی و عصاره گیاهی، بهبودی در حجم زیستی و سطح سبز سویا نشان داد (۶).

گابا نقش مهمی در متابولیسم نیتروژن دارد، بنابراین غلظت مناسب گابا می‌تواند فتوسنتز را افزایش دهد و در نتیجه باعث افزایش ماده خشک و عملکرد گیاه شود. گابا در غلظت ۵ میلی گرم بر لیتر عملکرد کل گیاه کنجد را افزایش داد (۵۰). تیمار گابا در گیاهان سویا عملکرد کل را افزایش داده است (۱۸). کاربرد گابا بر روی گیاه نخود سیاه منجر به افزایش عملکرد کل شده است (۱۸). کاربرد گابا ممکن است رشد را با تحریک تقسیم و طویل شدن سلولی و یا حفظ تعادل متابولیکی بافت‌های گیاهی افزایش دهد (۲۲). محققین در مطالعه خود عنوان کردند که زیست توده گیاهان در شرایط کاربرد کودهای آلی و زیستی افزایش یافت، آن‌ها دلیل این امر را افزایش راندمان مصرف آب و بهبود جذب و دسترسی به عناصر برای گیاه تحت شرایط تلقیح با کودهای آلی و زیستی ذکر کردند (۱۱).

عصاره جلبک حاوی عناصر غذایی و سیتوکینین است که باعث تقویت فعالیت‌های فیزیولوژیکی و افزایش محتوای کلروفیل در گیاه می‌شود. بهبود سرعت فتوسنتز، پتانسیل رشد گیاهان را با تقسیم بیشتر مواد جذب شده افزایش می‌دهد و در نهایت منجر به افزایش اجزای عملکرد می‌شود (۱۴).

مطالعات نشان داده است که در طی آبیگری سلول‌ها، مولکول‌های آمفی فیلک از قسمت مایع سیتوپلاسم به غشا می‌روند که حضور این مولکول‌ها در غشا موجب نشت یونی می‌شود و مجدداً در شرایط آبیگری مطلوب این مولکول‌ها از غشا خارج می‌شوند. که در این صورت نشت متوقف می‌شود. فرایند نشت یونی به دلیل فاز گذرا تغییر لیپیدهای غشا از حالت کریستالی مایع به فاز ژل می‌باشد (۴۶). گزارش شده است که کاربرد تیمارهای گابا با حفظ و نگهداری استحکام غشا، باعث کاهش نشت یونی در گیاه برنج تحت تنش سرما شدند (۲۰).

کاهش نشت الکترولیت در این مطالعه پس از اعمال تیمار عصاره جلبک دریایی مشاهده شد. این نتیجه نشان می‌دهد که عصاره جلبک دریایی از غشای سلولی محافظت می‌کند. گزارش شده است که تیمار عصاره جلبک دریایی نشت الکترولیت را در گیاهان آرابیدوپسیس در مقایسه با تصفیه آب پس از تنش انجماد کاهش می‌دهد (۳۴).

شهیرا و همکاران (۲۰۱۵) گزارش داد که عصاره جلبک باعث بهبود محتوای روغن شنبلیله شد. به نظر می‌رسد که عصاره جلبک با بهبود در دسترس بودن مواد مغذی و در نتیجه با تسریع پتانسیل فتوسنتزی و تقسیم بسترها به نفع بیوسنتز و تجمع اسانس، محتوای اسانس را تقویت می‌کند (۴۱).

صفات فیزیولوژیکی مانند رنگدانه‌های فتوسنتزی و آنزیم‌ها از جمله صفاتی هستند که بطور معنی‌داری تحت تاثیر برهمکنش تیمارها قرار گرفتند. افزایش رنگدانه‌های گیاهی و فعالیت‌های آنزیمی بخصوص آنتی‌اکسیدانی گندم تحت تاثیر عصاره جلبک قهوه‌ای *Nizamuddiniana zanardinii* دیده شد، اما میزان کاروتنوئید در ذرت متأثر از عصاره جلبک دریایی نبود (۳۳). گیاهان تیمار شده با عصاره جلبک دریایی افزایش محتوای کلروفیل را در انواع وسیعی از محصولات از جمله انگور، توت‌فرنگی و گوجه‌فرنگی نشان دادند (۱۰ و ۲۹). با این حال یک رابطه نزدیک بین سنتر کلروفیل و دوز اعمال شده عصاره جلبک دریایی وجود دارد. که در آن دوزهای کمتر اثرگذاری بیشتری در ترویج افزایش محتوای کلروفیل داشتند (۲۱).

به نظر می‌رسد گاما‌آمینوبوتیریک به عنوان منبعی از نیتروژن با دخالت در سیستم فتوسنتزی گیاه و عملکرد رشدی باعث افزایش میزان شاخص کلروفیل شده است. گزارش شده است که گابا در غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر بر روی گیاه نخود سیاه محتوای کلروفیل را افزایش داده است (۱۸).

رادیکال‌های فعال اکسیژن به‌طور مستقیم باعث تخریب پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، اسیدهای نوکلئیک و پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی می‌شوند (۳۶). گیاهان جهت مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های فعال اکسیژن دارای مکانیزم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی می‌باشند. آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی شامل ترکیبات آب‌گریز (توکوفرول‌ها و کاروتنوئیدها) و آب‌دوست (گلوتاتیون و اسید آسکوربیک) می‌باشند (۳۱). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، گلوتاتیون ردوکتاز (GR) و پراکسیداز (POX) می‌باشد. سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول در محافظت سلول‌های گیاهی در مقابل تنش اکسیداتیو ناشی از وجود رادیکال‌های فعال اکسیژن نقش مهمی بر عهده دارد. مشخص شده است که در ارقام همیشه سبز گونه‌های مختلف گیاهان نسبت به ارقامی که زودتر پیر می‌شوند و یا در ارقامی که به تنش‌های محیطی مقاوم هستند، فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها بیشتر می‌باشد (۲۴).

گزارش کردند که تیمار میوه‌های هلو با ۵ میلی‌مولار گابا برای ۱۰ دقیقه خسارات سرما را کاهش داد که همراه با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند SOD، CAT، APX و GOX بود. در این بررسی به‌نظر می‌رسد گابا با القای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان توان دفاعی گیاه را در برابر افزایش گونه‌های فعال اکسیژن افزایش داد (۴۷).

کریجی دریافت که کاربرد عصاره آسکوفیلوم نودوزوم باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند کاتالاز در گیاهان مختلف تحت تنش غیرزیستی می‌شود. در گیاهان، تعادلی بین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و رادیکال‌های آزاد اکسیژن وجود دارد که به شدت تغییر می‌کند، مانع رشد گیاه در محیط‌های پر استرس و کاهش هموستاز گیاه می‌شود (۸). در آزمایش فعلی، فعالیت کاتالاز با محلول پاشی عصاره آسکوفیلوم نودوزوم افزایش یافت که با نتایج فیکه و همکارانش که افزایش فعالیت کاتالاز را تحت شرایط استرس غیرزیستی در فسکوی بلند گزارش کردند مطابقت دارد (۱۲).

مالون‌دی‌آلدهید هنگامی تولید می‌شود که اسیدهای چرب اشباع نشده در غشا تحت پراکسیداسیون قرار می‌گیرند. افزایش پراکسیداسیون لیپیدها در برگ می‌تواند نتیجه بسته شدن روزنه‌ها و کاهش غلظت دی‌اکسید کربن باشد که به نوبه خود غلظت $NADP^+$ در دسترس برای پذیرش الکترون از فتوسیستم I و II را کاهش می‌دهد. کاهش MDA توسط تیمارهای گابا و عصاره آسکوفیلوم نشان‌دهنده حفاظت بهتر غشا از آسیب‌های اکسیداتیو است که احتمالاً نتیجه افزایش فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌باشد (۱۳). گزارش شده است که گابا باعث کاهش میزان مالون‌دی‌آلدهید و کاهش نشت یونی در میوه‌های موز ذخیره شده در انبار شد. پیشنهاد شده که گابا از تجمع مالون‌دی‌آلدهید در شرایط تنش جلوگیری می‌کند (۴۵). گابا در دانه‌های گوجه‌فرنگی تحت تنش سرما باعث کاهش مالون‌دی‌آلدهید شده است (۲۸).

کاهش مداوم تجمع مالون‌دی‌آلدهید در همه برگ‌های گوجه‌فرنگی تیمار شده با عصاره آسکوفیلوم نودوزوم تحت تنش خشکی نشان داد که این محصولات محرک زیستی می‌توانند لایه محافظتی بیشتری را فراهم کنند. مطالعات قبلی اثربخشی محرک‌های زیستی عصاره آسکوفیلوم نودوزوم را در تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و یا کاهش بروز پراکسیداسیون لیپیدی در برخی از محصولات تحت تنش خشکی در مقایسه با گیاهان شاهد نشان داده اند (۳۸).

مطالعات در گیاه فلفل نشان داد که محلول پاشی گابا باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز و گایاکول پراکسیداز گردید و سبب افزایش مقاومت گیاه در شرایط تنش اسمزی شد. سوپر اکسید دیسموتاز و گایاکول پراکسیداز همراه با دیگر آنزیم‌ها در چرخه آسکوربات گلوکاتایون و از بین بردن گونه های فعال اکسیژن باعث کاهش اثرات منفی تنش‌های اکسیداتیو می‌شوند (۲۵).

افزایش قابل توجهی در فعالیت پروتئین‌های مرتبط با دفاع، از جمله گایاکول پراکسیداز در گیاهان گوجه فرنگی پس از محلول پاشی با عصاره جلبک دریایی، در مقایسه با شاهد آب مشاهده شد. افزایش سطح فعالیت گایاکول پراکسیداز پس از تیمار با عصاره جلبک دریایی سبز *Caulerpa sertularioides* مشاهده شد (افزایش دو برابری). با این حال، فعالیت گایاکول پراکسیداز به طور چشمگیری در گیاهان تیمار شده با عصاره جلبک دریایی قهوه‌ای *Padina gymnospora* افزایش یافت، که در آن افزایش چهار برابری مشاهده شد (۱۶).

نتیجه‌گیری

براساس نتایج این پژوهش کاربرد گاما آمینوبوتیریک اسید و عصاره آسکوفیلوم نودوزوم می‌تواند منجر به بهبود صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه بادرشبو گردد که این تاثیر با برهمکنش دو فاکتور مورد ارزیابی نمود بیشتری پیدا کرد. بطور کلی مشخص گردید که با افزایش سطح تیمار گاما آمینوبوتیریک اسید تا ۲۰۰ میکرومولار صفات مورد ارزیابی از افزایش میانگین برخوردار بودند و در رابطه با عصاره آسکوفیلوم نودوزوم نیز مشخص شد که سطح ۱ درصد حجمی این عصاره نسبت به سایر سطوح از تاثیر بالاتری برخوردار بود. در نهایت می‌توان بیان کرد که به دلیل محدودیت‌های استفاده از کودهای شیمیایی برای افزایش عملکرد، استفاده از ترکیب‌های گاما آمینوبوتیریک اسید و آسکوفیلوم نودوزوم می‌تواند مکمل مناسبی با هدف کاهش مصرف کودهای شیمیایی باشد.

References

منابع

1. Abd El-Baky, H. and G. El-Baroty. 2008. Chemical and biological evaluation of the essential oil of Egyptian moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.). Int. J. Integr. Biol. 3: 202-208.
2. Amirnia, R., M. Ghiyasi., S.S. Moghaddam., A. Rahimi., C.A. Damalas and S. Heydarzadeh. 2019. Nitrogen-fixing soil bacteria plus mycorrhizal fungi improve seed yield and quality traits of Lentil (*Lens culinaris* Medik). J. Soil Sci. Plant Nutr. 4(2):1-11.
3. Ashrafuzzaman, M., M. Razi Ismail., K.M. Abdullah IbnaFazal., M.K. Uddin and A.K.M.A. Prodhon. 2010. Effect of GABA Application on the Growth and Yield of Bitter Gourd (*Momordica charantia*). Int. J. Agr. Biol. 12(1): 129-132.
4. Azipilicueta, C.E., M.P. Benavides., M.L. Tomaro and S.M. Gallego. 2007. Mechanism of CATA3 induction by cadmium in sunflower leaves. Plant Physiol. Biochem. 45: 589-595.
5. Bradford, M.M. 1976. Arapid and sensitive method for the quantities of protein utilizing the principle of protein day binding. Anal. Biochem. 72: 248-254.
6. Briglia, N., A. Petrozza., F.A. Hoeberichts., N. Verhoef., and G. Povero. 2019. Investigating the impact of biostimulants on the row crops corn and soybean using high-efficiency phenotyping and next generation sequencing. Agron. J. 9:761.
7. Clevenger, J.F. 1928. Apparatus for determination of essential oil. J. Am. Pharm. Assoc. 17:346-349.
8. Craigie, J.S. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. 2011. J. Appl. Phycol. 23: 371-393.
9. Divya, K., N.M. Roja and S.B. Padal. 2015. Influence of seaweed liquid fertilizer of *ulva lactuca* on the seed germination, growth, productivity of *Abelmoschus esculentus* (L.). Int. J. Pharmacol. Res. 5: 344-346.
10. Fan, D., D.M. Hodges., A.T. Critchley and B. Prithiviraj. 2013. A commercial extract of brown macroalga (*Ascophyllum nodosum*) affects yield and the nutritional quality of spinach in vitro. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 44: 1873-1884.
11. Fernandez-Bayo, J.D., R. Nogales and E. Romero. 2009. Assessment of three vermicomposts as organic amendments used to enhance diuron sorption in soils with low organic carbon content. Eur. J. Soil Sci. 12(3): 22-36.
12. Fike, J.H., V.G. Allen., R.E. Schmidt., X. Zhang., J.P. Fontenot., C.P. Bagley., R.L. Ivy., R.R. Evans., R.W. Coelho., D.B. Wester and I. Tasco-Forage. 2001. Influence of a seaweed extract on antioxidant activity in tall fescue and in ruminants. J. Anim. Sci. 79: 1011-1021.
13. Foyer, C.H. and G. Noctor. 2005. Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. Plant, Cell Environ. 28(8): 1056-1071.

14. Haggag, L.F., N.S. Mustafa., M.F.M. Shahin., E.A.E. Genaidy and H.A. Mahady. 2014. Impact of NPK, humic acid and algae extract on growth of "Aggizi" olive seedlings cultured in sandy soil under greenhouse condition. *Int. J. Agr. Technol.* 10(6): 1585-12.
15. Heath, R.L and L. Packer. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys.* 125: 189-198.
16. Hernández-Herrera, R.M., G. Virgen-Calleros., M. Ruiz-López., J. Zañudo-Hernández and C. Sánchez-Hernández. 2013. Extracts from green and brown seaweeds protect tomato (*Solanum lycopersicum*) against the necrotrophic fungus *Alternaria solani*. *J. Appl. Phycol.* 26: 1607-1614
17. Hidangmayum, A., P. Dwivedi., D. Katiyar and A. Hemantaranjan. 2019. Application of chitosan on plant responses with special reference to abiotic stress. *Physiol. Mol. Biol. Plants.* 25(2): 313-326.
18. Islam, M.R., A.K.M.A. Prodhana., M.O. Islam and M.K. Uddin. 2010. Effect of plant growth regulator (GABA) on morphological characters and yield of black gram (*Vigna mungo* L.). *J. Agr. Res.* 48(1): 76-77.
19. Jacob, T.C., Y.D. Bogdanov, C. Magnus, R.S. Saliba, J.T. Kittler, P.G. Haydon and S.J. Moss. 2005. Gephyrin regulates the cell surface dynamics of synaptic GABA_A receptors. *J. Neurosci.* 25(45): 10469-10478.
20. Jia, Y., D. Zou., J. Wang., H. Sha., H. Liu., M.A. Inayat and H. Zhao. 2017. Effects of γ -Aminobutyric Acid, Glutamic Acid, and Calcium Chloride on Rice (*Oryza sativa* L.) Under Cold Stress during the Early Vegetative Stage. *J. Plant Growth. Regul.* 36(1): 240-253.
21. Jothinayagi, N and C. Anbazhagan. 2009. Effect of seaweed liquid fertilizer of *Saragassum wightii* on the growth and biochemical characteristics of *Abelmoschus esculentus* (L.) Medikus. *Rec Res Sci Technol.* 1(4): 155-158.
22. Kinnersley, A.M. and F. Lin. 2000. Receptor modifiers indicate that 4-aminobutyric acid (GABA) is a potential modulator of ion transport in plants. *J. Plant Growth Regul.* 32(1): 65-76
23. Kumar, S.P. 2011. Effect of different mulches and irrigation method on root growth nutrient uptake, water-use efficiency and yield of strawberry. *Hort. Sci.* 127: 318-324.
24. Lascano, H.R., G.E. Antonicelli, C.M. Luna, M.N. Melchiorre, L.D. Gomez, R.W. Racca, V.S. Trippi and L.M. Casano. 2001. Antioxidant system response of different wheat cultivars under drought: field and in vitro studies. *Australian J. plant physiol.* 28(11): 1095-1102.
25. Li, Z., H. Zhou, Y. Peng, X. Zhang, X. Ma, L. Huang and Y. Yan. 2015. Exogenously applied spermidine with changes in antioxidant defense, endogenous polyamines and phytohormones. *J. Plant Growth. Regul.* 76: 71-82.
26. Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Method. Enzym.* 148: 350-382.
27. Lorenc, F., V. Peskova., R. Modlinger., V. Podrázský., M. Baláš and D. Kleinová. 2016. Effect of Bio-Algeen Preparation on Growth and Mycorrhizal Characteristics of Norway spruce Seedlings. *J. Forest. Sci.* 62: 285-291.
28. Mafakheri, S., R. Omidbaigi., F. Sefidkon and F. Rejali. 2012. Influence of biofertilizers on the essential oil content and constituents of (*Dracocephalum moldavica* L.) *J. Essent. Oil-Bear. Plants.* 15(1): 58-65.
29. Mohkami, A., M. Habibi-Pirkoohi, A.Gh. Shahriari and M.H. Ghodoum Parizipour. The Effect of Seaweed Extract (*Sargassum angustifolium* L.) on Growth and Physiological Indices of Tomato under Drought Stress Conditions. *Iran. J. Hort. Sci. Technol.* 21 (3): 247-258. (In Persian)
30. Nayyar, H., R. Kaur., S. Kaur and R. Singh. 2014. γ -Aminobutyric acid (GABA) imparts partial protection from heat stress injury to rice seedlings by improving leaf turgor and upregulating osmoprotectants and antioxidants. *J. Plant Growth. Regul.* 33(2): 408-419.
31. Pinheiro, H.A., F.M. DaMatta, A.R.M., Chaves, E.P.B. Fontes and M.E. Lourerio. 2004. Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought. *Plant. Sci.* 167: 1307-1314.
32. Plaza, M., A. Cifuentes and E. Ibáñez. 2008. In the search of new functional Food ingredients from algae. *Trends Food Sci. Technol.* 19: 31-39.
33. Rafei, M. 2013. The effect of humic acid, seaweed extract and some micronutrients on the growth and yield of maize cultivar (NS 540). Master Thesis, Islamic Azad University, Damghan Branch. (in Persian)
34. Rayirath, P., B. Benkel., D. Mark Hodges., P. Allan-Wojtas., S. MacKinnon., A. Critchley and T. Prithiviraj. 2009. Lipophilic components of the brown seaweed, *Ascophyllum nodosum* enhance freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Planta.* 230(1): 135-147.
35. Rayorath, P., J.M. Narayanan., A. Farid., W. Khan., R. Palanisamy., S.D. Hankins., A.T. Critchley and B. Prithiviraj. 2008. Rapid bioassays to evaluate the plant growth promoting activity of *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. using a model plant, *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *J. Appl. Phycol.* 20: 423-429.
36. Reddy, A.R., K.V. Chaitanya and M. Vivekanandan. 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *J. plant physiol.* 161 (11): 1189-1202.

37. Saeid, S and M. Mirzaei. 2014. Effect of *Ascophyllum nodosum* extract on algae extract on increasing the quality and quantity of pistachio fruit. The first national pistachio conference in Iran, Shahid Bahonar University of Kerman. (In Persian)
38. Santaniello, A., A. Scartazza., F. Gresta., E. Loreti., A. Biasone., D. Di Tommaso., A. Piaggese and P. Perata. 2017. *Ascophyllum nodosum* seaweed extract alleviates drought stress in Arabidopsis by affecting photosynthetic performance and related gene expression. Front. Plant Sci. 8: 1362.
39. Sekh, M.H.R. 2002. Effect of Cl-IAA, TNZ-303 and GABA on seed germination and seedling growth of different varieties of aman rice (Doctoral dissertation, M. Sc. Thesis, Bangladesh Agriculture University Mymensingh, Bangladesh).
40. Seleiman, M.F., K.F. Almutairi., M. Alotaibi., A. Shami., B.A. Alhammad and M.L. Battaglia. 2021. Nano fertilization as an emerging fertilization technique: why modern agriculture can benefit from its use? Plants. 10: 2.
41. Shahira, A., A. Tarraf., M. Ima., A. Talat., B. Abo-El-Khair., A. El-Sayed and A. Balba. 2015. Influence of foliar application of algae extract and amino acids mixture on fenugreek plants in sandy and clay soils. Nusantara Biosci. 7(1): 23-37.
42. Shelp, B.J., G.G. Bozzo., C.P. Trobacher., G. Chiu and V.S. Bajwa. 2012. Strategies and tools for studying the metabolism and function of γ -aminobutyrate in plants. I. Pathway structure. Botany, 90: 651-668.
43. Thambiraj, J., K. Lingakumar and S. Paulsamy. 2012. Effect of seaweed liquid fertilizer (SLF) prepared from *Sargassum wightii* and *Hypnea musciformis* on the growth and biochemical constituents of the pulse, *Cyamopsis tetragonoloba* (L.). J. Agr. Res. 1(1): 65-70.
44. Vojodi Mehrabani, L and M. Peymaei. Effect of Cu Metal and Foliar Application of *Ascophyllum nodosum* Extract on the Growth, Elemental Content and Antioxidant Enzymes Activity of *Lepidium sativum* L. Irn. J. Hort. Sci. Technol. 21(4): 439-448. (in Persian)
45. Wang, Y., Z. Luo., X. Huang., K. Yang., S.H. Gao and R. Du. 2014. Effect of exogenous gammaaminobutyric acid (GABA) treatment on chilling injury and antioxidant capacity in banana peel. Sci. Hort. 168: 132-137.
46. Welti, R., W. Li., M. Li., Y. Sang., H. Biesiada., H.E. Zhou and X. Wang. 2002. Profiling membrane lipids in plant stress responses role of phospholipase D α in freezing-induced lipid changes in Arabidopsis. J. Biol. Chem. 277(35): 31994-32002.
47. Yang, A., Sh. Cao, Zh. Yang, Y. Cai and Y. Zheng. 2011. g –Aminobutyric acid treatment reduces chilling injury and activates the defence response of peach fruit. Food Chem. 129(4): 1619-1622.
48. Yousefzadeh, S. and F. Sefidkon. 2016. Investigation of quantitative and qualitative traits of dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) in several habitats of East and West Azerbaijan provinces. Irn. J. Med. Aromat. Plants Res. 32(4): 728-741. (in Persian)
49. Zhang, Z., O. Pang, X. Duan, Z.L. Ji and Y. Jiang. 2005. Role of peroxidase in anthocyanine degradation in litchi fruit pericarp. Food Chem. 90: 47-52.
50. Zubair, H.M., M. Islam., S. Rahman., M.M. Islam., S. Islam and M.M. Rahman. 2010. Role of GABA on Growth, Yield Contributing Characters and Yield of Sesame. Int. J. Bio-resour. Stress Manage. 1(3): 184-188.

Evaluation of Growth Characteristics and Essential Oil Yield of Dragonhead Treated with γ -Aminobutyric acid and *Ascophyllum nodosum* Extract as Biofertilizers

N. Zeinalipour* and B. Nejhad Shahrokh Abadi¹

In order to investigate the effect of gamma aminobutyric acid and *Ascophyllum nodosum* extract on some physiological, morphological and biochemical properties of medicinal vegetable Dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.), a factorial experiment based on randomized complete block design with nine treatments and three replications was performed in the greenhouse. Treatments included different concentrations of gamma aminobutyric acid at three levels (0, 200 and 400) μ M and *Ascophyllum nodosum* at three levels (0, 1 and 2) % v/v. The results showed that the highest fresh and dry root and shoot weight, number of leaves and the lowest amount of malondialdehyde were obtained affected by GABA 400 μ M+Ascophyllum extract %1v/v. Also, the highest seed weight was observed in GABA 200 μ M+Ascophyllum extract %2v/v treatment. Interaction of GABA 200 μ M+Ascophyllum %1v/v extracts had the best results on chlorophyll content, carotenoids, stem diameter and vegetative yield. The highest yield of essential oil was assigned to the combined treatment of GABA 400 μ M+Ascophyllum %2v/v. finally, foliar application of GABA 200 μ M+Ascophyllum %1v/v is recommended to increase the vegetative yield of dragonhead.

Keywords: *Ascophyllum nodosum*, Biofertilizer, Dragonhead, GABA, Vegetative yield.

1. Assistance Professor and former M.Sc. Student, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.
* Corresponding author, Email: (Nzeinali@uk.ac.ir)