اکوفیزیولوژی و فیتوشیمی گیاهان دارویی و معطر
EPPMAPs

اثر متیل جاسمونات و استرادیول بر شاخص‌های فیزیولوژیکی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی گل داروئی همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.)

شهرام صداقت حور*، فاطمه رئوف حق پرور

گروه باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت، رشت، گیلان، ایران

* *(نویسنده مسئول: sedaghathoor@yahoo.com)*

شناسه مقاله

تاریخ دریافت مقاله: شهریور ۱۴۰۱

تاریخ پذیرش مقاله: آبان ۱۴۰۱

نوع مقاله: علمی- پژوهشی

موضوع: اکوفیزیولوژی و فیتوشیمی

چکیده

همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) از خانواده Asteraceae و گیاهی زینتی-دارویی زیبا با منشاء مدیترانه و غرب آسیا و اروپای مرکزی می‌باشد. به منظور بررسی اثر متیل جاسمونات و استرادیول بر شاخص‌های رویشی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی گل همیشه بهار، آزمایشی فاکتوریل بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی در بهار ۱۳۹۵، با دو فاکتور متیل جاسمونات در ٤ غلظت (۰، ۱۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار) و استرادیول در ٤ سطح (۰، ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌لیتر در گرم) در ۳ تکرار در گلخانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت انجام شد. نتایج نشان داد که اثر ساده متیل جاسمونات در غلظت‌های ۱۰ و ۵۰۰ میکرومولار به ترتیب بر صفات تعداد برگ، کلروفیل کل، کاروتنوئید گلبرگ و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیشترین اثر را داشته است. همچنین، اثر ساده استرادیول در غلظت‌های ۱۰ و ۵ میلی‌لیتر برگرم به ترتیب بر صفات تعداد برگ، وزن خشک، آنزیم پراکسیداز، فلاونویید طول موج‌های ۳۰۰ و۳۳۰ نانومتر و آنتوسیانین، دارای بیشترین اثر بوده است. همچنین نتایج این آزمایش نشان داد که بیشترین تعداد برگ، بیشترین میزان کلروفیل *a* و *b* و آنزیم پراکسیداز تحت تیمار متیل‌جاسمونات ۵۰۰ میکرومولار و استرادیول ۱۰ میلی‌لیتر در گرم به‌دست آمد.

واژگان کلیدی: همیشه بهار، متیل جاسمونات، استرادیول، آنتی‌اکسیدان، کاروتنوئید.

۱. مقدمه

گیاه همیشه بهار (*Calendulla officinalis* L.) از تیره Asteraceae، گیاهی علفی و یکساله است و یکی از گیاهان مطرح دارویی بوده و نیز از جهت زینتی جزء گیاهان نشایی مطرح در زمینه طراحی فضای سبز شهری و گل گلدانی است که در ایران فقط ۱۲

هکتار به کشت این گل اختصاص دارد. با کشت گیاهان دارویی در فضای سبز، بخشی از هزینه‌های ریالی قابل بازیافت است. نوع پرتقالی رنگ این گیاه از نظر دارویی، برتری دارد، چرا که دارای مقدار زیادی ماده مؤثره می‌باشد که در گل‌ها ساخته و ذخیره می‌شود (Omidbaigi et al., 2006). جاسمونیک اسید و متیل‌جاسمونات به‌طور گسترده در گیاهان وجود دارند و پدیده‌های مختلف مانند رسیدن میوه، تولید دانه گرده زنده و فعال، رشد ریشه، پیچ خوردگی‌ها، پاسخ به زخم و تنش‌های غیرزیستی، دفاع در برابر میکروب‌های بیماری‌زا و حشرات را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Creelman and Mullet, 1997). دو دهه پس از شناسایی اولیه جاسمونات‌ها، نخستین تأثیرهای فیزیولوژیکی آن‌ها شناسایی شد و این مواد به‌عنوان ترکیبات پیش برنده پیری، بازدارنده‌ی رشد و محرک‌هایی برای متابولیسم ثانویه در گونه‌های مختلف گیاهی شناخته شدند (Balbi and Devoto, 2008). گیاهان به صورت موضعی و عمومی، با مولکول‌های علامت‌رسان مانند جاسمونات‌ها به تنش‌ها پاسخ می‌دهند (Hendrawati et al., 2006). متیل جاسمونات (MeJA) به‌عنوان مولکول پیام‌رسان در واکنش‌های دفاعی گیاه از جمله فعالیت آنتی‌اکسیدانی، نقش بسزایی دارد (Reyes-Díaz et al., 2016).

در سال ۱۹۷۹ میلادی برای اولین بار گروه جدیدی از مواد تنظیم کننده‌ی رشد گیاهی که براسینولید نامیده شد، از گرده کلزا (*Brassica napus*) جداسازی گردید، به طوری که بعدها تعداد بیشتری از استروئیدها که به براسینولید منتسب هستند از منابع گیاهی شامل تعدادی از نهاندانگان، بازدانگان و جلبک‌ها استخراج و شناسایی شدند (Clouse, 2019). هورمون‌های جنسی پستانداران از جمله استروژن‌ها، آندروژن‌ها و پروژسترون‌ها نیز به استروئیدها که گروهی از ترکیبات دارای اسکلت استرن هستند، تعلق دارند. این هورمون‌های جنسی استروئیدی، نقش کلیدی در کنترل فرایندهای نمو و تولیدمثل بازی می‌کنند و در کنترل متابولیسم مواد معدنی و پروتئین نیز دخالت دارد. این ترکیبات در رشد کالوس، ایجاد اپی‌ناستی، افزایش مقدار قند و پروتئین‌ها، رشد زایشی و گلدهی، تعداد گل و نسبت گل ماده بر نر، گرده‌افشانی و لقاح مؤثرند (Janeczko and Skocczowski, 2005). براسینواستروئیدها باعث افزایش سازگاری گیاهان در برابر شرایط نامساعد محیطی می‌شوند. از جمله گزارش شده است که براسینواستروئیدها خسارات ناشی از تنش سرما، دمای زیاد، فلزات سنگین، شوری و کم‌آبی را نیز کاهش می‌دهند (Ozdamir et al., 2004). Erdal and Dumlupinar (۲۰۱۱) گزارش کردند که هورمون‌های جنسی پستانداران (پروژسترون، بتا–استرادیول و اندروسترون) سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاهان نخود را تقویت کرده و رشد آنها را بهبود می‌بخشند. براساس اطلاعات بدست آمده، استروژن‌ها و پروژسترون‌ها (۱ میلی‌مول) باعث تشدید رشد در برگ‌ها و ریشه‌های گیاهچه گندم زمستانی در محیط آزمایشگاهی شدند. همین استروئیدها ده برابر بیشتر، رشد گیاهچه را تا چند درصد کاهش دادند (Janeczko, 2000). استروژن‌ها گلدهی را در گیاهانی که به القای دوره نوری و «بهاره کردن» نیاز دارند، تسریع می‌کنند، از جمله *Arabidopsis thaniana* L.، در شرایط آزمایشگاهی و در گندم زمستانی *Triticum aestivum* L. این اثر مورد تایید قرار گرفت (Janeczko et al., 2003).

با توجه به ارزش گیاه همیشه بهار، اثر دو تنظیم کننده رشد یعنی متیل جاسمونات و یکی از هورمون‌های جنسی پستانداران (استرادیول)، بر عملکرد شاخص‌های رویشی و خواص‌آنتی‌اکسیدانی گل همیشه‌بهار مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر متیل جاسمونات و استرادیول بر شاخص‌های رویشی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی گل همیشه بهار آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی با دو فاکتور شامل: فاکتور اول (A) شامل متیل‌جاسمونات در ٤ سطح، (۰، ۱۰،

۱۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار) و فاکتور دوم (B) شامل استرادیول در ٤ سطح، (۰، ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌لیتر در گرم) با ١٦ تیمار، ۳ تکرار و ٤٨ پلات انجام شد. در این پژوهش هورمون‌پاشی در سه مرحله با فاصله زمانی دو هفته از همدیگر به صورت محلول‌پاشی روی برگ انجام شد. صفاتی از قبیل تعداد برگ و وزن خشک گیاه، آنتوسیانین، کاروتنوئید، کلروفیل a و b و کلروفیل کل، فعالیت آنزیم کاتالاز، سنجش آنزیم پراکسیداز، فلاونوئید گلبرگ و خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه اندازه‌گیری شد. این آزمایش در بهار ۱۳۹۵ در گلخانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت انجام شد.

تعداد برگ‌ها در هر نوبت و در فواصل متفاوت زمانی در هر نمونه شمارش شدند و اختلاف آخرین تعداد برگ و اولین تعداد محاسبه شد. وزن‌تر گیاه با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ برحسب گرم اندازه‌گیری شد. برای سنجش وزن خشک، گیاهان برداشت شده به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد در دستگاه آون قرار داده شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گلبرگ‌ها، از طریق خاصیت خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH (دی فنیل پیکریل هیدرازیل) تعیین شد. بدین صورت که ابتدا یک گرم از نمونه را با ۱۰ میلی‌لیتر از متانول ۸۵ درصد در داخل‌هاون چینی کوبیده، سپس محلول را به مدت یک ساعت در دمای معمولی اتاق قرارداده واز کاغذ صافی عبور داده و عصاره صاف شده در سانتریفوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور بر ثانیه به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت و در نهایت با استفاده از سمپلر ۰/۵ میلی‌لیتر از فاز رویی را برداشته و به آن ۲/۵ میکرولیتر محلول DPPH اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه در محوطه‌ای تاریک قرار داده شد. سپس میزان جذب نمونه به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر تعیین شد (Ramandeep and Savage, 2005).

درصد بازدارندگی DPPH به صورت زیر محاسبه گردید.

$$\text{درصد بازدارندگی} = \frac{A - A_b}{A_0} \times 100$$

A_0 = جذب (نمونه + DPPH)

A = جذب DPPH

A_b = جذب نمونه

برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل از تیمارهای مختلف نمونه‌برداری شد. ۰/۵ گرم از نمونه توزین و در هاون چینی با ۵۰ سی‌سی استون ۸۰٪ (۸۰ cc استون + ۲۰ cc آب مقطر) کوبیده شد. سپس عصاره حاصل از صافی رد شده و به حجم ۵۰ سی‌سی رسانده و در ظروف کوچک (کوت) ریخته شد. برای تعیین میزان کلروفیل از دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده گردید. کلروفیل در طول موج‌های ٦٤٣ و ٦٦٠ نانومتر خوانده شد. سپس اعداد خوانده شده (A) در فرمول زیر قرار گرفته و مقادیر کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل بدست آمد (Mazumdar and Majumder, 2003).

کلروفیل کل (mg/ml)= ۷/۱۲ ($A_{٦٦٠}$) + ١٦/٨ ($A_{٦٤٣}$)

کلروفیل a (mg/ml)= ۹/۹۳ ($A_{٦٦٠}$) – ۰/۷۷۷ ($A_{٦٤٣}$)

کلروفیل b (mg/ml)= ۱۷/٦ ($A_{٦٤٣}$) – ۲/۸۱ ($A_{٦٦٠}$)

برای اندازه‌گیری میزان کاروتنوئید از تیمارهای مختلف نمونه برداری شد. ۰/۵ گرم از نمونه توزین و در هاون چینی با ۵۰ سی‌سی استون ۸۰٪ (۸۰ cc استون + ۲۰ cc آب مقطر) کوبیده شد. سپس عصاره حاصل از صافی رد شده و به حجم ۵۰ سی‌سی رسانده و در ظروف کوچک (کوت) ریخته شد. عصاره‌ها در طول موج‌های ٦٤٥، ٦٦٣ و ٦٦٠ نانومتر قرائت شد. سپس اعداد خوانده شده (A) در فرمول زیر قرار داده و مقادیر کاروتنوئید تیمارها تعیین گردید (Mazumdar and Majumder, 2003).

مقدار کاروتنوئید = ٤/٦٩ ($A_{٦٦٠}$) – ۰/۲٦٨ ($A_{٦٤٥}$) + ۸/۰۲ ($A_{٦٦٣}$)

برای اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین ۰/۵ گرم از هر نمونه توزین و در هاون چینی با ۵۰ سی‌سی اسید اتانول-هیدروکلریک (۸۵ درصد اتانول ۹۵٪ + ۱۵٪ اسید هیدروکلریک) کوبیده شد. سپس عصاره حاصل صاف شده و به حجم ۵۰ سی‌سی رسانده و در ظروف کوچک (کوت) ریخته شد. این ظروف را مدت ۲٤ ساعت در یخچال در دما ٤ درجه سانتیگراد نگه داشته و سپس بعد از خروج، ۲ ساعت در تاریکی قرار داده شد. برای تعیین میزان آنتوسیانین عصاره ها در طول موج ۵۳۵ نانومتر با اسپکتروفتومتر خوانده شد و سپس مقادیر آنتوسیانین تیمارها از فرمول زیر بدست آمد (Mazumdar and Majumder, 2003).

$$\text{کل جذب نمونه} = \frac{e \times b \times c}{d \times a} \times 100$$

a = وزن نمونه (۰/۵ گرم)

b = حجم برداشت شده برای اندازه‌گیری (۵ سی‌سی)

c = حجم کل (۵۰ سی‌سی)

d = کسر برداشت شده برای نمونه ۰/۱

e = عدد خوانده شده در طول موج ۵۳۵ نانومتر

$$\text{درصد مقدار آنتوسیانین در نمونه} = \frac{\text{جذب کل نمونه}}{98.2}$$

برای سنجش فلانوئید گلبرگ، ۰/٤ گرم از بافت گلبرگ را در هاون چینی با ٦ میلی‌لیتر اتانول اسیدی (اتانول + اسید استیک به نسبت ۹۹ به ۱)، کوبیده و به مدت ۳۰ دقیقه در سانتریفیوژ ۳۰۰۰ دور بر ثانیه قرار گرفت، پس از صاف کردن، محلول رویی به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم، با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و میزان جذب نمونه‌ها پس از سرد شدن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های، ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر قرائت گردید (Krizek et al., 1993). برای اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) ۰/۰۱ مولار بافر فسفات (pH معادل ۷)، ۰/۵ میلی‌لیتر H_2O_2 ۰/۲ مولار و ۲ میلی‌لیتر معرف اسیدی (ترکیب دی کرومات/اسید استیک) را به یک گرم از بافت گیاهی که در ٤ میلی‌لیتر اتانول کوبیده شده بود، اضافه شد و سپس میزان جذب در طول موج ٦۱۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری قرائت شد (Dazy et al., 2008).

برای اندازه‌گیری آنزیم پراکسیداز، ابتدا نمونه‌ها در داخل ازت مایع به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. سپس یک گرم از هر نمونه با استفاده از ترازوی دیجیتال وزن شد و با ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ در داخل‌هاون کوبیده شد و به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور بر ثانیه سانتریفوژ گردید. ۰/۱ میلی‌لیتر از فاز رویی عصاره را برداشته و با ۳ میلی‌لیتر از محلول نهایی که شامل پیروگالول (۰/۰۵ مول + بافر فسفات ۰/۱) است، به اضافه ۰/۵ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ترکیب کرده و جذب آن در طول موج ٤۳۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر با ٤ تکرار هر بار ۳۰ ثانیه قرائت گردید (Addy and Goodman, 1972). برای تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایشی از نرم‌افزار آماری MSTATC استفاده شد و مقایسه میانگین داده‌ها به روش LSD انجام شد.

۳. نتایج و بحث

با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) مشخص شد که اثر ساده متیل‌جاسمونات بر صفات تعداد برگ، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، کلروفیل کل و کاروتنوئید گلبرگ معنی‌دار بوده است. همچنین اثر ساده استرادیول، بر صفات تعداد برگ، وزن خشک گیاه، آنتوسیانین، آنزیم پراکسیداز در سطح آماری ۱٪ و فلاونوئید در سطح ۵٪ معنی‌دار شد. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها

نشان می‌دهد که اثر متقابل متیل‌جاسمونات × استرادیول، بر صفات تعداد برگ، کلروفیل کل، کاروتنوئید گلبرگ، آنتوسیانین، آنزیم کاتالاز، آنزیم پراکسیداز، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و همچنین بر کلروفیل a و b معنی‌دار بوده است. مقایسه میانگین اثرات ساده کاربرد متیل‌جاسمونات (جدول ۲) نشان می‌دهد که بیشترین تعداد برگ تحت تیمار متیل‌جاسمونات ۱۰ میکرومولار با ۱۶ برگ و کمترین تعداد برگ در مقادیر با غلظت‌های بیشتر متیل‌جاسمونات بدست آمده است که از نظر آماری با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت. مقایسه میانگین اثر ساده استرادیول، بر صفت تعداد برگ (برگ نهایی منهای برگ اولیه)، نشان داد که بیشترین تعداد برگ تحت تیمار استرادیول ۵ میلی‌گرم در لیتر، (۱۳/۹۲ عدد) بدست آمد در حالی که کمترین تعداد برگ مربوط به تیمار شاهد بود (جدول ۳).

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس اثر فاکتورهای آزمایشی بر صفات اندازه‌گیری شده

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات												
		تعداد برگ	وزن تر	وزن خشک	کلروفیل *a*	کلروفیل *b*	کلروفیل کل	کاروتنوئید	آنتوسیانین	کاتالاز	پراکسیداز	فلاونوئید ۲۷۰nm	فلاونوئید ۳۰۰nm	فلاونوئید ۳۳۰nm	آنتی اکسیدان
تکرار	۲	۲/۳^{ns}	۱۰۱/۶**	۰/۹۴*	۰/۲۱^{ns}	۰/۱۶^{ns}	۰/۳۳^{ns}	۰/۰۴^{ns}	۱۱۵/۲^{ns}	۰/۰۱^{ns}	۰/۰۵^{ns}	۰/۱۷^{ns}	۰/۰۳^{ns}	۰/۰۴^{ns}	۰/۶۱^{ns}
متیل جاسمونات	۳	۵۲/۱**	۱۹/۲۵^{ns}	۰/۵۸^{ns}	۰/۷۵^{ns}	۰/۳۶^{ns}	۳/۵۶*	۰/۴۶*	۱۳۶/۱^{ns}	۰/۰۱^{ns}	۰/۱۳^{ns}	۰/۰۷^{ns}	۰/۰۹^{ns}	۰/۱۲^{ns}	۶۲/۱**
استرادیول	۳	۱۴/۱**	۴۵/۷۶^{ns}	۱/۵**	۱/۲۰^{ns}	۰/۱۶^{ns}	۱/۵^{ns}	۰/۲۳^{ns}	۹۶۱/۴**	۰/۰۱^{ns}	۰/۷۴**	۰/۶۶**	۰/۸۲^{ns}	۰/۴۰*	۰/۳۶^{ns}
متیل‌جاسمونات × استرادیول	۹	۱۹/۹**	۱۹/۶۶^{ns}	۰/۴۹^{ns}	۲/۲۶*	۰/۴۳*	۳/۸**	۰/۹۵**	۱۰۴۶/۴*	۰/۰۳*	۰/۲۴**	۰/۲۴^{ns}	۰/۱۹^{ns}	۰/۱۷^{ns}	۲۱/۲**
خطا	۳۰	۲/۸۲	۱۵/۸	۰/۲۸	۰/۹۹	۰/۱۶	۱/۰۹	۰/۱۱	۱۰۶/۹	۰/۰۱	۰/۰۶	۰/۱۲	۰/۲۹	۰/۱۳	۳/۵۵
ضریب‌تغییرات (٪)		۱۳/۰۴	۲۲/۱۷	۲۶/۸۵	۲۴/۳۲	۱۹/۶۷	۱۶/۷۶	۴۹/۳۴	۱۹/۰۱	۸/۷۴	۲۰/۲۵	۲۰/۹۶	۴۲/۳۳	۳۳/۱۷	۲۹/۲۹

**معنی دار در سطح ۰/۰۱ ، *معنی دار در سطح ۰/۰۵، ^{ns} غیرمعنی دار

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر ساده متیل جاسمونات بر صفات مورد اندازه‌گیری

تیمارها	تعداد برگ	کلروفیل کل	کارتنوئید (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	آنتی‌اکسیدان (٪ DPPH)
بدون متیل جاسمونات (شاهد)	۱۱/۸۸ b	۵/۷۸ b	۰/۹۱ a	۲/۲۷ c
متیل‌جاسمونات ۱۰ میکرومولار	۱۶ a	۶/۸۱ a	۰/۴۴ b	۶/۶۳ b
متیل‌جاسمونات ۱۰۰ میکرومولار	۱۱/۸۳ b	۵/۷۴ b	۰/۷۱ ab	۷/۱۳ ab
متیل‌جاسمونات ۵۰۰ میکرومولار	۱۱/۷۹ b	۶/۵۷ ab	۰/۶۴ ab	۸/۶۷ a

حروف مشترک نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بر اساس آزمون LSD است.

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر ساده استرادیول بر صفات مورد اندازه‌گیری

تیمارها	تعداد برگ	وزن خشک (گرم)	آنتوسیانین (میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم)	پراکسیداز (UNIT)[1]	فلاونوئید ۳۰۰nm	فلاونوئید ۳۳۰nm
بدون استرادیول (شاهد)	۱۱/۵۴ c	۱/۶۰ c	۴۶/۶۳ b	۱/۱۱ b	۱/۲۶ ab	۱/۰۲ b
استرادیول ۱ میلی‌مول	۱۲/۴۶ bc	۱/۷۱ bc	۴۹/۲۹ b	۱/۰۲ b	۱/۲۷ ab	۱/۹۶ bc
استرادیول ۵ میلی‌مول	۱۳/۹۲ a	۲/۱۴ ab	۶۶/۷۹ a	۱/۱۳ b	۰/۹۵ b	۰/۹۸ ab
استرادیول ۱۰ میلی‌مول	۱۳/۵۸ ab	۲/۳۵ a	۵۴/۸۳ b	۱/۵۷ a	۱/۵۹ a	۱/۳۵ a

حروف مشترک در ستون نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بر اساس آزمون LSD است.

[1]واحد آنزیم پراکسیداز (UNIT): میکرومول H_2O_2 مصرف شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین

بررسی مقایسه میانگین داده‌های مربوط به اثر متقابل متیل‌جاسمونات با استرادیول (جدول ٤) نشان داد که بیشترین تعداد برگ تحت تیمار متیل‌جاسمونات ۱۰ میکرومولار و استرادیول ۱۰ میلی‌گرم در لیتر با ۲۱/۵ عدد حاصل شد. درحالی که کمترین تعداد برگ تحت تیمار متیل‌جاسمونات ۵۰۰ میکرومولار و استرادیول ۱۰ میلی‌گرم در لیتر با ۹/۱۷ عدد بدست آمد. طبق این نتایج غلظت‌های زیاد متیل‌جاسمونات به همراه استرادیول موجب کاهش تعداد برگ گیاه نسبت به تیمار شاهد شد.

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر متقابل متیل جاسمونات × استرادیول روی صفات اندازه‌گیری شده

تیمارها (متیل جاسمونات× استرادیول)	تعداد برگ	کلروفیل *a*	کلروفیل *b*	کلروفیل کل	کاروتنوئید	آنتوسیانین	آنتی اکسیدان (DPPH ٪)	کاتالاز (UNIT)[1]	پراکسیداز (UNIT)[1]
		(میلی‌گرم در گرم وزن تر)							
(a_1b_1) $Mj_0 \times sr_0$	۱۰/۱۷^{ef}	۳/۶۴۳ ^{bcd}	۱/۸۳^{cde}	۵/۴۶۷ ^{cde}	۰/۱۵ ^{f}	۳۸/۵ ^{ghi}	۷/۲۶۷ ^{bc}	۰/۹۱۳۳ ^{def}	۰/۷۶۶۷ ^{ef}
(a_1b_2) $Mj_0 \times sr_1$	۱۲/۶۷^{cde}	۳/۸۱۷ ^{abcd}	۱/۸۷^{cde}	۵/۶۸۷ ^{bcde}	۰/۲۹۶۷ ^{f}	۵۳/۱۷ ^{cdefgh}	۲/۵۷۷^{de}	۰/۸۹ ^{ef}	۱/۲۳ ^{bcd}
(a_1b_3) $Mj_0 \times sr_5$	۱۲/۰۰^{cde}	۴/۶۱۳ ^{abcd}	۲/۴۳ ^{abc}	۷/۰۵۳ ^{abc}	۱/۴۱۷ ^{ab}	۵۸/۳۳ ^{bcdef}	۱/۱۳^{e}	۱/۰۴۳ ^{abcd}	۱/۰۳۳ ^{de}
(a_1b_4) $Mj_0 \times sr_{10}$	۱۲/۶۷^{cde}	۳/۲۸۳ ^{bcd}	۱/۶۳^{e}	۴/۹۱ ^{de}	۱/۷۹ ^{a}	۴۹/۸۳ ^{defghi}	۲/۱۲۳ ^{de}	۱/۱ ^{ab}	۱/۵۴۱ ^{ab}
(a_2b_1) $Mj_{10} \times sr_0$	۱۳/۵^{cd}	۲/۹۷۳ ^{d}	۲/۰۵ ^{abcde}	۶/۵۸ ^{abcd}	۰/۱۸۳۳ ^{f}	۳۷/۶۷ ^{ghi}	۶/۵۹۷ ^{bc}	۱/۱۰۷ ^{ab}	۰/۵۱۱ ^{abc}
(a_2b_2) $Mj_{10} \times sr_1$	۱۲/۱۷^{cde}	۵/۳۱ ^{a}	۲/۳۱ ^{abcd}	۷/۶۱۷ ^{a}	۰/۴۷ ^{f}	۳۲/۸۳ ^{i}	۳/۳۶۳ ^{c}	۱/۱۱۷ ^{a}	۱/۱۶۳ ^{bcde}
(a_2b_3) $Mj_{10} \times sr_5$	۱۶/۸۳^{b}	۳/۳۷ ^{bcd}	۲/۷۲ ^{de}	۵/۱۰۳ ^{de}	۰/۵۷۳۳ ^{def}	۹۷/۱۷ ^{a}	۷/۳۴ ^{bc}	۰/۸۶ ^{f}	۱/۱۱۷ ^{cde}
(a_2b_4) $Mj_{10} \times sr_{10}$	۲۱/۵ ^{a}	۵/۳۶ ^{a}	۲/۵۹ ^{ab}	۷/۹۴۳ ^{a}	۰/۵۳۶۷ ^{ef}	۶۲ ^{bcde}	۶/۲۱۳ ^{c}	۱/۰۶۷ ^{abc}	۱/۵۱۸ ^{abc}
(a_3b_1) $Mj_{100} \times sr_0$	۱۲/۰۰ ^{cde}	۴/۴۴ ^{abcd}	۲/۰۶ ^{abcde}	۶/۵۰۳ ^{abcd}	۰/۴۵۳۳ ^{ef}	۳۶/۳۳ ^{hi}	۰/۵۶۷ ^{bc}	۱/۰۲۷ ^{abcde}	۱/۱۴۲ ^{bcde}
(a_3b_2) $Mj_{100} \times sr_1$	۱۱/۶۷c^{def}	۳/۰۶۳ ^{cd}	۱/۴۹ ^{e}	۴/۴۵۷ ^{e}	۱/۱۳ ^{bcd}	۶۹ ^{bc}	۹/۵۳ ^{ab}	۱/۰۴۷ ^{abcd}	۰/۵۳۳۳ ^{f}
(a_3b_3) $Mj_{100} \times sr_5$	۱۲/۶۷ ^{cde}	۳/۷۱ ^{abcd}	۱/۹۳ ^{bcde}	۵/۶۴۳ ^{bcde}	۰/۳۸ ^{ef}	۶۶/۶۷ ^{bcd}	۴/۶۶ ^{cd}	۱/۰۵۷ ^{abcd}	۱/۳۷۸ ^{bcd}
(a_3b_4) $Mj_{100} \times sr_{10}$	۱۱/۰۰ ^{def}	۴/۳۷۳ ^{abcd}	۲/۰۰۳ ^{abcde}	۶/۳۷۳ ^{abcd}	۰/۸۸۶ ^{bcde}	۵۴/۱۷ ^{cdefg}	۷/۷۸ ^{bc}	۰/۹۸۶۷ ^{abcdef}	۱/۳۶۹ ^{bcd}
(a_4b_1) $Mj_{500} \times sr_0$	۱۰/۵ ^{ef}	۴/۱۷۳ ^{abcd}	۲/۰۳ ^{abcde}	۶/۲۱۳ ^{abcd}	۱/۲۴ ^{abc}	۷۴ ^{b}	۶/۱۱۳ ^{c}	۰/۹۶۶۳ ^{bcdef}	۱/۰۳۱ ^{de}
(a_4b_2) $Mj_{500} \times sr_1$	۱۳/۳۳ ^{cd}	۴/۸۷ ^{ab}	۲/۴۸ ^{abc}	۷/۲۹۷ ^{ab}	۰/۶۹۶۷ ^{cdef}	۴۲/۱۷ ^{fghi}	۶/۳۷۳ ^{c}	۰/۹۲۶۷ ^{cdef}	۱/۱۶ ^{bcde}
(a_4b_3) $Mj_{500} \times sr_5$	۱۴/۱۷ ^{bc}	۳/۵۸ ^{bcd}	۱/۷۹۷ ^{cde}	۵/۳۸۳ ^{cde}	۰/۴۸۳۳ ^{ef}	۴۵ ^{efghi}	۱۲/۶۴ ^{a}	۰/۹۸ ^{abcdef}	۰/۹۷۰۸ ^{de}
(a_4b_4) $Mj_{500} \times sr_{10}$	۹/۱۶۷ ^{f}	۴/۷۱۳ ^{abc}	۲/۶۶۳ ^{a}	۷/۳۷ ^{ab}	۰/۱۵۳۳ ^{f}	۵۳/۳۳ ^{cdefgh}	۹/۵۷ ^{ab}	۱/۰۳۳ ^{abcde}	۱/۸۶۳ ^{a}

حروف مشترک در ستون نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بر اساس آزمون LSD است.

[1]واحد آنزیم کاتالاز و پراکسیداز (UNIT): میکرومول H_2O_2 مصرف شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین

مقایسه میانگین اثر ساده استرادیول بر صفت وزن خشک (جدول ۳) نشان داد که بیشترین میزان وزن خشک گیاه همیشه بهار تحت تیمار۱۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین میزان مربوط به تیمار شاهد بود. وزن خشک همیشه بهار با مصرف استرادیول افزایش یافت. Farazi و همکاران (۲۰۱۵) تأثیر چهار غلظت ماده تنظیم کننده رشد گیاهی ٢٤- هموبراسینولید با غلظت‌های مختلف روی نهال‌های ۵ نوع ژنوتیپ پسته را مورد آزمایش قرار دادند و نتایج نشان داد که بیشترین وزن تر در غلظت‌های ۸ و ۱۰ و ژنوتیپ G2 و کمترین وزن در غلظت صفر و ژنوتیپ G1 پسته مشاهده گردید. در مطالعه اثرات استرون و بتااسترادیول روی رشد رویشی یونجه مشخص شد که غلظت پایین این دو استروژن (۰/۵– ۰/۰۰۵ میکروگرم بر لیتر) وزن خشک ریشه و ساقه را افزایش داد و در غلظت‌های بالای استروژن ۵۰۰–۵۰ میکروگرم برلیتر رشد یونجه کاهش پیدا کرد (Shore et al., 1998). نتایج این آزمایش تا حدود زیادی از نظر افزایش وزن خشک بر اثر مصرف استروئیدها با نتایج Shore و همکاران (۱۹۹۸) مطابقت دارد.

بررسی مقایسه میانگین اثر متقابل دو فاکتور متیل جاسمونات و استرادیول بر صفت کلروفیل *a* (جدول ٤) نشان می‌دهد که بیشترین میزان کلروفیل *a* تحت تیمار غلظت ۱۰ میکرومولار متیل جاسمونات و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر استرادیول مشاهده شد. در حالی که کمترین میزان کلروفیل *a* در تیمار غلظت ۱۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات و تیمار شاهد استرادیول حاصل گردید. بررسی مقایسه میانگین اثر متقابل فاکتورهای آزمایشی بر کلروفیل *b* (جدول ٤) نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل *b* تحت تیمار غلظت

۵۰۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر استرادیول و همچنین کمترین میزان کلروفیل *b* در تیمار متیل‌جاسمونات ۱۰۰ میکرومولار و استرادیول یک میلی‌گرم در لیتر حاصل شد که با تیمار شاهد متیل جاسمونات و استرادیول یک میلی‌گرم در لیتر، اختلاف معنی‌داری نداشت. مقایسه میانگین اثر ساده متیل‌جاسمونات بر صفت کلروفیل کل (جدول ۲) نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل تحت تیمار ۱۰ میکرومولار (٦/٨١) بوده، درحالی که کمترین میزان تحت تیمار سطح سوم متیل‌جاسمونات با غلظت ۱۰۰ میکرومولار حاصل گردید که با تیمار شاهد آن اختلاف معنی‌داری نداشت. داده‌های مربوط به اثر متقابل فاکتورهای آزمایشی بر کلروفیل کل (جدول ٤) نشان داد که بیشترین کلروفیل کل تحت تیمار متیل‌جاسمونات ۱۰ میکرومولار و استرادیول یک میلی‌گرم در لیتر حاصل گردید. در حالی که کمترین کلروفیل کل تحت تیمار ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات و استرادیول یک میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. این نتایج نشان می‌دهد که متیل‌جاسمونات بر روی کلروفیل کل در مقادیر اندک اثر مثبت و در مقادیر زیاد اثر منفی می‌گذارد.

گزارش شده است که برای تعیین کمیت واکنش‌های فیزیولوژیک در گیاهان، محتوی کلروفیل، به عنوان رایج‌ترین منبع مورد استفاده قرار می‌گیرد (Wittmann et al., 2001). کاهش محتوی کلروفیل *b* به عنوان نشانه‌ای از تخریب کلروفیل بر اثر شدت تابش زیاد می‌باشد (Jason et al., 2004). در پژوهشی متیل‌جاسمونات با غلظت‌های ۱ و ۱۰ میکرومولار موجب افزایش معنی‌دار مقدار کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کلروفیل کل سویا شده است و غلظت‌های ۱۰۰ و۵۰۰ میکرومولار موجب کاهش این پارامترها گردید (کرامت و دانشمند، ۱۳۹۱) به طوری که در نتایج ما غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات با نتایج پژوهش مذکور هم‌راستا بود. گزارش شده است که جاسمونیک‌اسید در گیاه صنوبر هیچ تأثیری بر مقدار کلروفیل و فتوسنتز گیاه نداشت (Babst et al., 2005). پژوهشی دیگر نشان داد که در گیاه آرابیدوپسیس، هفت روز پس از تیمار با متیل‌جاسمونات در غلظت ۱۰۰ میکرومولار، مقدار کلروفیل *a* و *b* کاهش یافته و میزان انتقال الکترون از فتوسیستم ۲ نیز تحت تأثیر قرار گرفته است (Jung, 2004). نتایج Jung (۲۰۰٤) با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. محتوای کلروفیل برگ یک فاکتور بسیار مهم در تعیین نرخ فتوسنتز و مقدار ماده خشک تولید شده است (Ghosh et al., 2004). مقادیر پایین نرخ فتوسنتز ممکن است به خاطر کاهش محتوی کلروفیل برگ بخصوص کلروفیل *a*، که دخالت مستقیم در تعیین میزان فعالیت فتوسنتزی دارد، باشد (Sestak, 1996).

بر اساس مقایسه میانگین اثر متقابل فاکتورهای آزمایشی (جدول ٤) بیشترین میزان کاروتنوئید موجود در گلبرگ گل همیشه بهار در ترکیب تیماری متیل‌جاسمونات شاهد (صفر) و استرادیول ۱۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. کمترین میزان کاروتنوئید در اثرات متقابل تحت تیمار شاهد (متیل جاسمونات صفر میکرومولار و استرادیول صفر میلی‌گرم در لیتر) بود که با تیمار متیل‌جاسمونات ۵۰۰ میکرومولار و استرادیول ۱۰ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری نداشت.

برای تعیین رنگ گل براساس تولید، فعل و انفعال و فروپاشی رنگدانه‌ها نظیر کاروتنوئیدهای موجود در پلاستیدها و آنتوسیانین‌های یافت شده در واکوئل‌ها شناخته شده است (Mudalige et al., 2003). به‌خصوص، گلبرگ‌های رنگ نارنجی، از همزیستی این دو رنگدانه منتج می‌شوند. نسبت مقدار این رنگدانه‌ها اجازه تغییر در رنگ نارنجی در گلبرگهای *Psorophora howardii* را می‌دهند (Huang et al., 2001).

بررسی مقایسه میانگین مربوط به اثر ساده استرادیول، بر صفت آنتوسیانین در گل همیشه‌بهار (جدول ۳) نشان داد که بیشترین مقدار آنتوسیانین تحت غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر این فاکتور حاصل شده است و کمترین مقدار تحت تیمار شاهد حاصل گردید که با استرادیول سطح دوم و چهارم اختلاف معنی‌داری نداشت. مقایسه میانگین مربوط به اثر متقابل فاکتورهای آزمایشی

(جدول ٤) نشان داد که بیشترین مقدار آنتوسیانین مربوط به متیل‌جاسمونات ۱۰ میکرومولار و استرادیول ۵ میلی‌گرم در لیتر بوده است. درحالی که کمترین مقدار آن در متیل‌جاسمونات ۱۰ میکرومولار و استرادیول یک میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد.

در بررسی اثر متیل‌جاسمونات بر مقدار آنتوسیانین، گزارش شد که تیمار با متیل‌جاسمونات تجمع آنتوسیانین در غدد سیب‌زمینی را تا حدود ٦۰ درصد افزایش داد (Reyes, 2003). همچنین نشان داده شد که کاربرد متیل‌جاسمونات با غلظت ۱۰۰ میکرومولار باعث افزایش محتوی آنتوسیانین در سلول‌های اپیدرمی برگ‌های گیاهان آرابیدوپسیس گردید (Jung, 2004). در این تحقیق نشان داده شد که سه روز بعد از تیمار متیل جاسمونات آنتوسیانین در حدود ۵ برابر افزایش یافت. گزارش شده است که کاربرد متیل‌جاسمونات با غلظت‌های ۱۰ و ۲۵ میکرومولار، باعث افزایش مقدار آنتوسیانین در آرابیدوپسیس گردید. علت این افزایش، اثر متیل‌جاسمونات بر بیان برخی ژن‌های موثر در بیوسنتز آنتوسیانین اظهار شد (Shan et al., 2009).

جدول مقایسه میانگین مربوط به اثر متقابل فاکتورهای آزمایشی بر آنزیم کاتالاز (جدول ٤) نشان داد که بیشترین میزان آنزیم در تیمار ۱۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات و استرادیول یک میلی‌گرم در لیتر و کمترین میزان در تیمار ۱۰ میکرومولار متیل جاسمونات با استرادیول ۵ میلی‌گرم در لیتر بود. گزارش شده است که در گیاه سویا، متیل‌جاسمونات در همه غلظت‌ها (۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار) موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز در سطح ۵ درصد گردیده است (Keramat and Daneshmand, 2012). متیل‌جاسمونات با تأثیر بر افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در کاهش رادیکال‌های آزاد در گیاهان نقش داشته است. در گیاهچه بادام زمینی متیل‌جاسمونات در غلظت‌های ۱۰۰ میکرومولار و ۲۵۰ میکرومولار باعث افزایش محتوای پروتئین و افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز گردیده است (Kumari et al., 2006).

بررسی مقایسه‌میانگین اثر ساده استرادیول بر آنزیم پراکسیداز (جدول ۳) نشان داد که برترین تیمار، استرادیول با غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر بود در حالی که کمترین مقدار آن در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر استرادیول حاصل گردید. مقایسه میانگین اثر متقابل فاکتورهای آزمایشی بر آنزیم پراکسیداز (جدول ٤) مشاهده شد که متیل‌جاسمونات ۵۰۰ میکرومولار و استرادیول ۱۰ میلی‌گرم در لیتر تیمار برتر و کمترین میزان آن تحت تیمار شاهد بدست آمد. طبق نتایج بدست آمده غلظت‌های بالای متیل جاسمونات و استرادیول در این صفت اثر مثبت داشت. یکی از نقش‌های مورد تأیید جاسمونات‌ها در گیاهان، مقابله با تنش‌های گوناگون است و اعتقاد بر این است که این ترکیبات با فعال‌کردن سیستم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاه را در مقابل تنش‌های محیطی مقاوم‌تر می‌کنند. هرچند، دلیل اصلی افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحت تأثیر این تنظیم‌کننده ناشناخته است، ولی ممکن است افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ناشی از جاسمونات، به دلیل تنظیم ژن‌های کنترل کننده سنتز این آنزیم‌ها یا افزایش پیش‌سازهای این آنزیم باشد (Norastehnia and Nojavan-Asghari, 2006).

در پژوهشی، نتایج اندازه‌گیری فعالیت پراکسیداز نشان داد که از روز هفتم در بازه زمانی مورد مطالعه (٤ تا ۷۲ ساعت) بجز ۱۲ ساعت پس از تیمار، تغییر معنی‌داری در نمونه‌های شاهد وجود نداشت. در حالی‌که در نمونه‌های تیمار شده با متیل‌جاسمونات از ۲٤ ساعت پس از شروع تیمار افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم پراکسیداز در مقایسه با زمان آغاز آزمایش یعنی روز هفتم داشت. نتایج نشان داد که در حضور متیل‌جاسمونات پس از ۱۲ ساعت فعالیت پراکسیداز از نمونه‌های شاهد به طور معنی‌داری بیشتراست (Raouf Fard et al., 2006).

مقایسه میانگین اثر ساده استرادیول بر فلاونوئید با طول موج ۳۰۰ نانومتر (جدول ۳) نشان داد که بیشترین مقدار تحت تیمار استرادیول ۱۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین مقدار تحت تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر حاصل شده است. همچنین مقایسه میانگین

اثر ساده استرادیول بر فلاونوئید با طول‌موج ۳۳۰ نانومتر (جدول ۳) بیشترین مقدار فلاونوئید را در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر استرادیول نشان داد درحالی که کمترین مقدار آن در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر حاصل گردید.

نتایج مطالعات انجام‌شده مشخص‌کرده است که گل‌های همیشه بهاری که در بلغارستان رشد کرده بودند، فلاونوئید بیشتری را اندوخته بودند در حالی‌که فنول‌های کلی در دو نمونه، تفاوت چشمگیری نداشتند. مطابق تحقیقات، فنول و فلاونوئید کل نیز در فرایند دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول در گیاه نقش دارد. پیش از این، گزارشی درباره این موضوع منتشر شده بود که فرایند آنتی‌اکسیدان فلاونوئید ممکن است ناشی از واکنش بین یون‌های فلزی واسطه و فلاونوئیدها برای ایجاد کمپلکس‌هایی باشد که یون‌های فلزی را از درگیر شدن در تولید ریشه‌های آزاد دور می‌کند. در ضمن فلاونوئیدها به‌عنوان کلاتورهای فلزی طبیعی، کارکرد قابل توجهی در به‌کارگیری زیستی ایجاد مسمومیت فلزی و ضد فلزی دارند (Jia et al., 1999). طبق یافته‌های برخی از محققان ترکیبات فنولی از جمله فلاونوئیدها و اسیدهای فنولی، عوامل اصلی موثر در واکنش پاکسازی ریشه‌های آزاد در سلول‌های گیاهان هستند (Milic et al., 1998).

مقایسه میانگین اثر ساده متیل‌جاسمونات بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گل همیشه بهار (جدول ۲) نشان داد که بیشترین میزان آنتی‌اکسیدان تحت تیمار متیل‌جاسمونات ۵۰۰ میکرومولار و کمترین میزان تحت تیمار شاهد بدست آمده است. با مصرف متیل‌جاسمونات ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در گل همیشه بهار افزایش یافته است.

در مقایسه میانگین اثر متقابل فاکتورهای آزمایشی بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گل همیشه‌بهار (جدول ٤) مشاهده شد که بیشترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه تحت تیمار متیل‌جاسمونات ۵۰۰ میکرومولار و استرادیول ۵ میلی‌گرم در لیتر و کمترین میزان آن تحت تیمار شاهد متیل‌جاسمونات با استرادیول ۵ میلی‌گرم در لیتر حاصل گردید.

در مطالعه‌ای روی گیاه‌سویا، غلظت‌های متیل‌جاسمونات به‌کار برده شده، موجب پاسخ‌های دوگانه در گیاهچه‌ها گردید. غلظت‌های کم متیل جاسمونات (۱ و ۱۰ میکرومولار)، موجب بهبود پارامترهای رشد گردید، اما غلظت‌های بالای این فاکتور (۱۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار) خود با ایجاد تنش اکسیداتیو موجب کاهش رشد گردید و افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی نیز برای غلبه بر این تنش کارآمد نبود و بنابراین با توجه به نتایج به نظر می‌رسد که غلظت‌های کم متیل‌جاسمونات (۱ و ۱۰ میکرومولار) با افزایش قدرت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بتواند در کاهش اثرات ناشی از تنش‌های زیستی و غیر زیستی در گیاه سویا موثر واقع شود که این مطلب نیاز به مطالعه و بررسی بیشتر دارد (Keramat and Daneshmand, 2012). نقش آنتی‌اکسیدانی براسینواستروئیدها در تنش‌ها به خوبی اثبات گردیده است (Haubrick and Assmann, 2006). از آنجا که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در گیاهان، قطب‌های مختلفی دارند، برای جداسازی آنتی‌اکسیدان‌ها از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در گیاهان، از حلال‌های متفاوتی استفاده می‌شود. آب، متانول، اتانول، استون و حلال‌ها معمولاً در فرایند استخراج استفاده می‌شوند، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره و عملکرد آن بستگی به حلال انتخاب شده دارد (Gong et al., 2012).

۴. نتیجه گیری

نتایج بدست آمده از این آزمایش نشان داد که متیل‌جاسمونات در غلظت‌های ۱۰ و ۵۰۰ میکرومولار و استرادیول در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌لیتر بر گرم بیشترین تأثیر را روی صفات اندازه‌گیری شده در این آزمایش داشته است. همچنین نتایج حاصل از اثر متقابل "متیل‌جاسمونات × استرادیول" نشان داد که بیشترین تعداد برگ، بیشترین میزان کلروفیل a، بیشترین میزان کلروفیل b و

آنزیم پراکسیداز تحت تیمار متیل‌جاسمونات ۵۰۰ میکرومولار و استرادیول ۱۰ میلی‌لیتر بر گرم و بیشترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه تحت تیمار متیل‌جاسمونات ۵۰۰ میکرومولار و استرادیول ۵ میلی‌لیتر بر گرم به دست آمد.

۵. منابع

Addy, S. K. and Goodman, R. N. 1972. Polyphenol oxidase and peroxidase activity in apple leaves inoculated with a virulent or an avirulent strain of *Erwinia amylovora*, *Indian Phytopathology*, 25: 575-579.

Babst, B. A., Ferrieri, R. A., Gray, D. W., Lerdau, M., Schlyer, D.J., Schueller, M., Thrope, M. R. and Orians, C. M. 2005. Jasmonic acid induces rapid changes in carbon transport and partitioning in Populus. *New phytologist*, 167: 63-72. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01388.x

Balbi, V., and Devoto, A. 2008. Jasmonate signaling network in *Arabidopsis thaliana*, crucial regulatory modes and new physiological scenarios, *New phytologist*, 171: 301-318. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1469-8137. 2007. 02292.x

Clouse, S.D. 2019. Brassinosteroids. *Reference Module in Biomedical Sciences*, https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.11363-7

Creelman, R.A. and Mullet, J.E. 1997. Biosynthesis and action of jasmonates in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 48: 355 – 381. DOI: https://doi.org/10.1146/annurev.arplant. 48.1. 355

Dazy, M., Jung, V., Ferard, J. and Masfaraud, J. 2008. Ecological recovery of vegetation on a coke-factory soil: Role of plant antioxidant enzymes and possible implication in site restoration, *Chemosphere*, 74: 57-63. DOI: https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.09.014

Erdal, S., and Dumlupinar, R. 2011. Mammalian sex hormones stimulate antioxidant system and enhance growth of chickpea plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33:1011–1017. DOI: https://doi.org/10.1007/s11738-010-0634-3

Farazi, E., Afshari, H. and Hokm Abadi, H. 2015. Effect of Different Concentrations of Brassinosteroid on Physiomorphological Chracteristics of Five Pistachio Genotypes (*Pistacia Vera*. L). *Nuts*, 6(2): 143-153. (In Persian)

Ghosh, P.K., Ajay, Bandyopadhyay, K.K., Manna, M.C., Mandel, K.G., Misra, A.K. and Hati, K.M. 2004. Comparative effectiveness of cattle manure, poultry manure, phosphocompost and fertilizer-NPK on three cropping systems in vertisols of semi-arid tropics. *Bioresource Technology*, 95: 85-93. DOI: https://doi.org/ 10.1016/j.biortech.2004.02.012

Gong, Y., Liu, X., He, W.H., Xu, H.G., Yuan, F. and Gao, Y.X., 2012. Investigation into the antioxidant activity and chemical composition of alcoholic extracts from defatted marigold (*Tagetes erecta* L.) residue. *Fitoterapia*, 83: 481-489. DOI: https://doi.org/10.1016/j.fitote.2011.12.013

Haubrick, L.L. and Assmann, S.M. 2006. Brassinosteroids and plant function: some clues, more puzzles. *Plant, Cell and Environment*, 29: 446-457. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01481.x

Hendrawati, O., Yao, Q., Kim, H.K., Linthorst, H.J.M., Erkelens, C., Lefeber, A.W.M., Choi, Y.H. and Verpoorte, R. 2006. Metabolic differentiation of *Arabidopsis* treated with methyl jasmonate using nuclear magnetic resonance spectroscopy, *Plant Science*, 170:1118–1124. DOI: https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2006.01.017

Huang, K.L., Miyajima, I., Okubo, H., Shen, T.M. and Huang, T.S. 2001. Flower colours and pigments in hybrid tuberose (*Polianthes*). *Scientia Horticulturae*, 88: 235-241. DOI: https://doi.org/10.1016/S0304-4238(00) 00213-2

Janeczko, A. 2000. Influence of selected steroids on plant physiological processes especially flowering induction. PhD Dissertation, Agricultural University, Krakow, Poland.

Janeczko, A., Filek, W., Biesaga-Koscielniak, J., Marcinska, I. and Janeczko, Z. 2003. The influence of animal sex hormones on the induction of flowering in *Arabidopsis thaliana*: comparison with the effect of 24-epibrassinolide. *Plant, Cell Tissue and Organ Culture*, 72: 147-151. DOI: https://doi.org/10.1023/A: 1022291718398

Janeczko, A. and Skocczowski, A. 2005. Mammalian sex hormones in plants. *Folia Histochemica ET Cytobiologica*, 43(2): 71 – 79.

Jason, J.G., Thomas, G.R. and Pharr, D.M. 2004. Photosynthesis, chlorophyll fluorescence, and carbohydrate content of illicum taxa grown under varied irradiance. *The American Society for Horticultural Science*, 129: 46-53. DOI: https://doi.org/10.21273/JASHS.129.1.0046

Jia, Z-S., Tang, M.C. and Wu J.M. 1999. The Determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64: 555-559.

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. DOI: https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2004.01.001

Keramat, B. and Daneshmand, F. 2012. Dual role of methyl jasmonate in physiological responses of soybea (*Glycine max* L.) plant**.** *Plant Process and Function*, 1(1): 25-37. http://jispp.iut.ac.ir/article-1-24-en.html. (In Persian)

Krizek, D.T., Kramer, G.F., Upadyaya, A., Mireeki, R.M. 1993. UV-B response of cucumber seedlings grown under metal halide and high pressure sodium/deluxe lamps. *Physiologia Plantarum*, 88: 350-358. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1993.tb05509.x

Kumari, G.J., Reddy, A.M., Naik, S.T., Kumar, S.G., Prasanthi. J., Sriranganayakulu, G., Reddy, P.C. and, Sudhakar, C. 2006. Jasmonic acid induced changes in protein pattern, antioxidativeanzyme activities and Peraoxidase isozyme in Peanut seedlings. *Biologia Plantarum*, 50: 219-226. DOI: https://doi.org/10.1007/s10535-006-0010-8

Mazumdar, B.C. and Majumder, K. 2003. Methods on Physicochemical analysis of fruits. Daya Publishing House. Delhi, India: 137-138.

Milic, B.L., Dilas, S.M. and Ganadanovic- Brunet J.M. 1998. Antioxidative activity of phenolic compounds on the metal-ion breakdown of lipid peroxidation system. *Food Chemistry*, 61: 443-447. DOI: https://doi.org/10.1016/s0308-8146(97)00126-x

Mudalige, R.G., Kuehnle, A.R. and Amore, T.D. 2003. Pigment distribution and epidermal cell shape in dendrobium species and hybrids. *HortScience*, 38: 573–577. DOI: https://doi.org/10.21273/HORTSCI.38.4.573

Norastehnia, A. and Nojavan-Asghari, M. 2006. Effects of methyl jasmonate on the enzymatic antioxidant defense system in maize seedlings subjected to paraquat. Asian Journal of Plant Sciences, 5: 17-23. DOI: https://doi.org/10.3923/ajps.2006.17.23

Omidbaigi, R. Sadrai Menjili, K. and Sefidkon, F. 2006. Effect of Sowing Dates in the Productivity of Fennel (*Foeniculum vulgare*) CV. Soroksari. *Medicinal and Aromatic Plants Research*, 21(4): 465-479. DOI: https://doi.org/10.22092/ijmapr.2006.115029. (In Persian)

Ozdamir. F., Bor, M., Demiral, T. and Turkan, I. 2004. Effects of 24 – epibrassinolide on seed germination, seedling growth, lipid Peroxidation, proline content and antioxidative system of rice (*Oriza sativa* L.) under salinity stress. *Plant growth Regulation*, 42: 203 – 211. DOI: https://doi.org/10.1023/b:grow.0000026509.25995.13

Ramandeep, K.T. and Savage, P.G. 2005. Antioxidant activity in different fractions of tomatoes. *Food Research International*, 38: 487-494.

Raouf Fard, F., Sharifi, M., Omidbaigi, R., Sefidkon, F., Behmanesh, M. and Ahmadi, N. 2014. Effect of methyl jasmonate on metabolic enzymes and phenolics, in *Agastache foeniculum* [Pursh] Kuntze. *Medicinal and Aromatic Plants*, 30(3): 361-369. (In Persian)

Reyes, L. and Cisneros-Zevallos, F. 2003. Wounding stress increases the phenolic content and antioxidant capacity of purple flesh potatoes. *Agriculture and Food Chemistry*, 51: 5296-5300. DOI: https://doi.org/10.1021/jf034213u

Reyes-Díaz, M., Lobos, T., Cardemil, L., Nunes-Nesi, A., Retamales, J., Jaakola, L., Alberdi, M., Ribera-Fonseca, A. 2016. Methyl jasmonate: an alternative for improving the quality and health properties of fresh fruits. *Molecules*, 21(6): 567-575. DOI: https://doi.org/10.3390/molecules21060567

Sestak, Z. 1996. Limitations for finding a linear relationship between chlorophyll content and photosynthetic activity. *Biologia Plantarum*, 8: 336-346. DOI: https://doi.org/10.1007/bf02930670

Shan, X., Zhang, Y., Peng, W., Wang, Z. and Xie, D. 2009. Molecular mechanism for jasmonate- induction of anthocyanin accumulation in *Arabidopsis*. *Experimental Botany*, 60: 3849-3860. DOI: https://doi.org/10.1093/jxb/erp223

Shore, L.S., Gurevitz, M. and Shemesh, M. 1998. Estrogen as an environmental pollutant. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 51: 361-366. DOI:https://doi.org/10.1007/bf00201753

Wittmann, C., Aschan, G. and Pfanz, H. 2001. Leaf and twig photosynthesis if young beech (*Fagus sylvatica*) and aspen (*Populus tremula*) trees grown under different light regime. *Basic and Applied Ecology*, 2: 145-154. DOI: https://doi.org/10.1078/1439-1791-00047