اثر محلول‌پاشی پرولین برکاهش اثرات ناشی از تنش کم‌آبی در بابونه آلمانی

فصلنامه بوم‌شناسی گیاهان زراعی
جلد ۱۴، شماره ۱، صفحات ۴۳-۳۳
(بهار ۱۳۹۷)

حکیمه درویزه✉، محسن زواره

گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران ✉ hdarvizhe@yahoo.com **(مسؤول مکاتبات)**

چکیده راه‌کارهای مختلفی برای کاهش آسیب‌های ایجاد شده طی تنش کم‌آبی و بهبود تحمل گیاه به آن وجود دارد. در این پژوهش تأثیر محلول‌پاشی پرولین بر کاهش اثرات تنش کم‌آبی و بهبود شاخص‌های کمی و کیفی بابونه آلمانی بررسی شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشگاه گیلان انجام و تیمارهای آزمایش شامل پرولین با غلظت‌های ۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و کم‌آبی در چهار سطح ۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد تخلیه از حد ظرفیت زراعی در مرحله ساقه‌روی بود. در اثر کم‌آبی غلظت پرولین و کاتالاز افزایش، ولی صفات مورفولوژیک کاهش یافت. کاربرد پرولین در شرایط کم‌آبی بر همه ویژگی‌های اندازه‌گیری شده تأثیر معنی‌دار داشت. براساس نتایج این آزمایش محلول‌پاشی گیاه با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پرولین موجب بهبود رشد و تعدیل وضعیت گیاه در برابر کم‌آبی شد و از این رو استفاده از غلظت فوق برای دستیابی به عملکرد مطلوب در بابونه در شرایط کم‌آبی توصیه می‌شود.

شناسه مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ پژوهش: ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۲/۱۴

تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۳/۱۹

واژه‌های کلیدی

- **آنزیم آنتی اکسیدانی**
- **پتانسیل آب**
- **تنش خشکی**
- **تنظیم اسمزی**
- **تنظیم کننده رشد گیاهی**

این مقاله با دسترسی آزاد تحت شرایط و قوانین The Creative Commons of BY - NC - ND انتشار یافته است.

DOI: 10.22034/AEJ. 2018. 541280

مقدمه بابونه گیاه دارویی مهم و قدیمی است که به‌طور گسترده مورد استفاده قرار گرفته است. بابونه آلمانی[1]، از جمله گیاهانی است که تا حدودی قادر به تحمل خشکی می‌باشد ولی در مرحله رویش بذر و همچنین در مرحله ساقه‌دهی در صورت فراهم نبودن آب کافی عملکرد گیاه کاهش پیدا می‌کند.[۲۷]

خشکی و تنش ناشی از آن، عامل زیان‌بخش مهم و یکی از اساسی‌ترین چالش‌ها برای متخصصان کشاورزی است که فشاری دایمی بر تولید کشاورزی وارد کرده و می‌تواند گاهی قحطی و مرگ و میر را هم به‌دنبال داشته باشد. تنش خشکی، تنشی چند بعدی است که به‌عنوان مهم‌ترین عامل بازدارنده عملکرد گیاهان زراعی، بر همه فرایندهای رشد گیاه تأثیر گذاشته و کاهش فتوسنتز و انباشت ماده‌ی خشک را باعث می‌گردد.[۸] خسارت ناشی از تنش خشکی به‌واسطه تأثیر زیان‌آور آبگیری پروتوپلاسم[2] و افزایش غلظت مایع پروتوپلاسمی و در نتیجه باعث چروکیدگی و پلاسمولیز[3] سلول‌ها شده که در صورت ادامه این روند باعث ایجاد تغییرات ساختاری و متابولیک شدید در گیاه می‌شود.[۳۱]

برای کاهش خسارت ناشی از تنش خشکی راه‌کارهای مختلفی وجود دارد که کاربرد خارجی پرولین، روش کارآمدی است که میزان تأثیر آن بر گیاهان، به گونه گیاهی، مرحله رشد گیاه، زمان استفاده و میزان غلظت پرولین مورد استفاده بستگی دارد.[۵] پرولین[4] در تنظیم فشار اسمزی سلول در تنش‌هایی مانند دمای پایین، کمبود مواد غذایی، قرارگرفتن در معرض فلزات سنگین و اسیدیته بالا نقش مهمی برعهده دارد.[۳۰] معمولاً میزان پرولین آزاد در گیاهانی که در حد مطلوب آبیاری می‌شوند بسیار کم و چیزی حدود ۰/۶-۰/۲ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک می‌باشد، اما مقدار این ماده پس از کاهش آب بافت‌ها تا حدود ۵۰-۴۰ میلی‌گرم بر هر گرم ماده خشک افزایش می‌یابد.[۱] محلول‌پاشی پرولین به‌صورت برون‌زاد، میزان پرولین گیاه را افزایش داده و در نتیجه به حفظ گیاه و افزایش مقاومت آن در مقابل تنش کمک کرده و میزان کاهش عملکرد محصول را تقلیل می‌دهد.[۵،۱۹]

میرشکاری (۲۰۱۱) در آزمایشی دریافت که ظهور جوانه گل بابونه در کرت‌های برخوردار از آبیاری براساس ۱۸۰ و ۶۰ میلی‌متر تبخیر از تشت تبخیر به‌ترتیب بعد از ۷۰ و ۷۸ روز تکمیل می‌شود و تاخیر در آبیاری از ۶۰ به ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشت تبخیر عملکرد گل خشک را کاهش می‌دهد.[۲۷] *سلطانی گرد و فرامرزی (۲۰۱۱)* در بررسی اثر مقادیر مختلف گلایسین بتایین[5] بر ویژگی‌های مختلف بابونه در شرایط تنش کم‌آبی دریافتند که افزایش تنش کم‌آبی باعث کاهش ارتفاع بوته، تعداد شاخه گل‌دهنده، تعداد گل در بوته و عملکرد گل خشک و محتوی رطوبت نسبی می‌شود.[۳۴] *گوود و زاپلاچینسکی (۱۹۹۴)* دریافتند که تجمع اسیدهای آمینه از جمله پرولین در بافت سبز گیاه کلزا تحت تنش خشکی تا حدودی شرایط لازم برای ادامه جذب آب از محیط ریشه را برای گیاه فراهم می‌آورد اما وابستگی گیاهان به ترکیبات فوق، هزینه‌بر بوده و گیاه هزینه فوق را از طریق کاهش میزان عملکرد جبران می‌کند.[۱۵]

کاریما (۲۰۰۵) در آزمایشی دریافتند که محلول‌پاشی اسیدهای آمینه در بابونه آلمانی باعث افزایش قابل‌توجهی در ارتفاع بوته، تعداد ساقه‌های فرعی، وزن تر و خشک گیاه می‌شود.[۲۱] مشخص شد که در شرایط تنش خشکی کاربرد خارجی

[1] *Matricaria chamomilla*
[2] protoplasm
[3] plasmolysis
[4] proline
[5] glycine betaine

پرولین به‌طور قابل توجهی درصد و عملکرد اسانس را در گیاهان ریحان و بابونه، افزایش می‌دهد.[۱۴] همچنین محلول‌پاشی پرولین تا حدود زیادی، تأثیر منفی تنش شوری، بر درصد جوانه‌زنی، رشد و محتوای کلروفیل گندم را کاهش داد.[۳۵] *خلیل و ال-نومنی (۲۰۱۲)* در مطالعه دیگری که روی رشد، عملکرد و برخی از فعالیت‌های متابولیک در شاهدانه تحت فواصل مختلف آبیاری و محلول‌پاشی پرولین در افزایش تحمل به خشکی انجام دادند، دریافتند که محلول‌پاشی پرولین باعث بهبود مقاومت گیاهان تحت سطوح مختلف کم‌آبی می‌شود.[۲۴] آزمایشی که *کایا و همکاران (۲۰۰۷)* روی خربزه در شرایط تنش شوری انجام دادند نشان داد که کاربرد خارجی پرولین تا حدود بسیار زیادی اثر تنش شوری را کاهش و باعث افزایش عملکرد میوه، وزن خشک بوته، مقدار کلروفیل، تعداد روزنه و محتوای آب نسبی نسبت به شرایط تنش و عدم مصرف پرولین می‌شود.[۲۲] *هوکو و همکاران (۲۰۰۷)* در آزمایشی که روی تنباکو دریافتند که استفاده از پرولین خارجی به‌علت افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، نقش مهمی در کاهش اثرات تنش ایفا می‌کند.[۱۹]

هدف از انجام این پژوهش تعیین اثر کاربرد خارجی پرولین در مقادیر مختلف بر جلوگیری از تنش خشکی وارده به بابونه آلمانی و امکان بهبود ویژگی‌های کمی و کیفی آن بود.

مواد و روش‌ها این آزمایش به‌صورت گلدانی در بهار و تابستان سال ۱۳۹۲ در دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. چهار سطح رژیم آبیاری شامل ۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد تخلیه رطوبت زراعی و محلولپاشی با پرولین در سه سطح ۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تیمارهای آزمایش بودند.

بذرهای تهیه شده از شرکت پاکان بذر اصفهان با قوه نامیه حدود ۹۵٪، در سینی کشت حاوی خاک گلدان با مخلوطی به نسبت ۲:۱:۱ از خاک رس، کمپوست و ماسه و بافت لومی رسی با چگالی ظاهری ۱/۴۹ گرم بر سانتی‌متر مکعب و رسانایی الکتریکی ۱/۲۲ دسی زیمنس بر متر و ظرفیت زراعی و نقطه پژمردگی به‌ترتیب ۲۳ و ۱۰٪ وزنی کشت و سپس در اوایل اردیبهشت سال ۱۳۹۲ به گلدان‌های با ارتفاع و قطر متوسط ۳۰ سانتی‌متر منتقل شدند. بوته‌های اضافی در هر گلدان تنک شدند به گونه‌ای که در گلدان دو بوته باقی گذاشته شد.

برای محلول‌پاشی پرولین، پرولین با خلوص ۹۵٪ به‌صورت پودر متعلق به شرکت مرک آلمان در آب حل شده و در دو مرحله ۳۰ روز پس از کشت بذر در مرحله دو تا سه برگی و قبل از انتقال به گلدان اصلی و پس از اعمال تنش کم‌آبی در مرحله آغاز ساقه‌روی، در عصر و در هوای ملایم و صاف با استفاده از سم‌پاش دستی روی گیاهان پاشیده شد؛ به‌طوری‌که برگ‌های گیاه کاملاً خیس شده و به‌منظور بهبود جذب برگی پرولین از تریتون ایکس-۱۰۰[1] با غلظت ۰/۰۱٪ نیز استفاده شد. همچنین تیمار کم‌آبی از مرحله آغاز ساقه‌روی تا پایان مرحله بلوغ کامل گیاه ادامه پیدا یافت. برای تعیین وضعیت رطوبتی خاک از تی‌دی‌آر[2] استفاده شد. نمونه‌برداری نیز در مراحل گلدهی کامل انجام شد.

سنجش صفات مورفولوژیک با برداشت کاپیتول زمانی انجام گرفت که گل‌های زبانه‌ای به‌طورکامل باز شده و به صورت افقی قرار گرفته بودند. هنگام برداشت، گل‌ها به همراه ۵ سانتی‌متر از دمگل در

[1] Triton X-100
[2] Time Domain Reflectometry (Spectrom, USA)

ساعت ۱۲ ظهر برداشت شدند؛ زیرا زمان برداشت نقش عمده‌ای در افزایش کمیت و کیفیت مواد مؤثره دارد. بلافاصله پس از برداشت، کاپیتول‌ها شمارش شده و وزن تر آن با ترازوی حساس با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم سنجیده شد و سپس به مدت ۷۲ ساعت در شرایط سایه و در دمای اتاق (دمای تقریبی ۲۵ درجه سلسیوس) خشک و توزین شدند. در پایان فصل گل‌دهی نیز صفات مانند طول بوته و قطر ساقه ۲ سانتی‌متر بالاتر از منطقه طوقه به‌ترتیب با خط‌کش و کولیس اندازه‌گیری شد.

برای سنجش پرولین از روش *بتیس و همکاران (۱۹۷۳)* استفاده شد.[۷] برای تعیین پرولین، حدود ۰/۵ گرم از نمونه برگی در ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳٪ به‌وسیله هاون له شده و عصاره حاصل صاف گردید. به ۲ میلی‌لیتر از عصاره صاف شده حدود ۲ میلی‌لیتر اسید استیک و ۲ میلی‌لیتر نین هیدرین[۱] شامل ۰/۰۵ گرم نین هیدرین، ۱/۲، میلی‌لیتر اسید استیک و ۰/۸ میلی‌لیتر ارتوفسفریک اسید[۲] ۶ مولار اضافه شد. محلول حاصل به‌مدت ۱ ساعت در حمام آبی با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. پس از آن برای پایان یافتن واکنش، لوله‌های آزمایش داخل یک بستر یخی قرار گرفته و ۴ میلی‌لیتر تولوئن به هر لوله اضافه شد. غلظت پرولین نمونه‌ها با استفاده از اسکپتروفتومتر[۳] در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانش و در نهایت با توجه به منحنی استاندارد حاصل از غلظت‌های مختلف پرولین، میزان پرولین نمونه‌ها برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز به روش *چینس و ماهلی (۱۹۵۵)* با اندکی تغییرات استفاده شد.[۹] بیست میکرولیتر عصاره آنزیمی برای اندازه‌گیری فعالیت ویژهٔ آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت گیاه در یک هاون سرد شده، با ۱ میلی‌لیتر بافر استخراج مخلوط و به طور کامل یکنواخت شد. بافر استخراج از پلی‌وینیل‌پیرولیدون[۴] ۱٪، تریتون ایکس ۱۰۰ ۰/۵٪ و بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار با اسیدیته خنثی تشکیل شده بود. عصارهٔ حاصل با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای چهار درجه‌ی سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. بخش شفاف واقع در بالای عصاره برای سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به کار گرفته شد. با ۹۸۰ میکرولیتر از بافر فسفات حاوی پراکسید هیدروژن ۲ میلی مولار مخلوط و تغییرات جذب آن‌ها در طول موج ۲۴۰ نانومتر از راه اندازه‌گیری تجزیه پراکسید هیدروژن توسط اسپکتروفتومتر به‌صورت تغییرات جذب بر زمان ثبت شد. فعالیت آنزیمی با استفاده از قانون بیرلامبرت[۵] و در نهایت بر حسب میکرومول بر گرم بافت تازه در دقیقه بیان شد.

داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرا افزار SAS ver. 9.2 تجزیه واریانس شده و و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی[۶]، ضریب همبستگی با نرم‌افزار SPSS ver. 16 انجام شد.

نتایج و بحث

ارتفاع بوته

اثر تنش کم‌آبی و محلوپاشی بر ارتفاع بوته معنی‌دار ولی اثرات متقابل آنها غیرمعنی‌دار بود (جدول ۱). افزایش سطوح کم‌آبی باعث کاهش معنی‌دار ارتفاع گردید. اما محلولپاشی پرولین با کاهش اثرات منفی تنش خشکی تا حدودی، افزایش ارتفاع را به دنبال داشت (جدول ۲). *کپوقمو و همکاران (۱۹۹۰)* بیان کرد که در پیش بینی

[1] Ninhydrin
[2] ortho-phosphoric acid
[3] UV-Visible (cary-50), Germany
[4] Poly Vinel Poly Pirolydone
[5] Beer-Lambert law
[6] Tukey test

جدول ۱) تجزیه واریانس تأثیر تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی با پرولین بر صفات بابونه آلمانی

Table 1) Variance analysis of water stress and exogenous proline application effect on German chamomile traits

Source of variations	df	means of square							
		no. of flower	flower fresh weight	flower dry weight	flowering branches	plant height	stem diameter	proline content	Catalase enzyme
Water stress	3	0.01256 ns	0.01316 ns	0.01129 ns	0.09581**	0.0734**	0.1525**	0.2510**	18.60**
Proline	2	0.0776**	0.01228**	0.1024**	0.1245**	0.0343**	0.0330**	4.180**	201**
Water stress × Proline	6	0.0365**	0.0794**	0.0406**	0.0091**	0.0006 ns	0.0081 ns	0.010 ns	4.10**
Error	24	0.0098	0.0080	0.0065	0.0022	0.0011	0.00438	0.015	0.440

ns و ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ insignificant, and ** significant at the 0.01 probability level=ns

تحمل به خشکی، ارتفاع بوته به عنوان فاکتوری مهم مطرح است.[۲۶] آزمایش‌های مختلف نشان می‌دهند مهم‌ترین علت کاهش ارتفاع بوته تحت شرایط کم‌آبی به علت کاهش تقسیمات سلولی، اختلال در فتوسنتز، کاهش تولید مواد فتوسنتزی جهت ارائه به بخش‌های در حال رشد، مسدود شدن آوندهای چوبی و آبکش و در نهایت عدم دستیابی گیاه به پتانسیل ژنتیکی از نظر ارتفاع می‌باشد.[۲۰،۲۲] که با نتایج *میرشکاری (۲۰۱۱)* و *سلطانی گردفرامرزی و همکاران (۲۰۱۱)* همخوانی دارد.[۲۴،۲۷] اثر محلول‌پاشی پرولین به کار رفته در مطالعه حاضر بر افزایش رشد را می‌توان به افزایش توان آنتی‌اکسیداتیو گیاه با القای فعالیت سایر آنتی‌اکسیدان نسبت داد. افزایش معنی‌دار و متوالی رشد و صفات مورفولوژیک در مراحل مختلف نمو گیاه پروانش با کاربرد آمینو اسیدها توسط *طلعت و همکاران (۲۰۰۵)* نیز گزارش شده است.[۳۶]

قطر ساقه

اثر تنش کم‌آبی و محلوپاشی بر قطر بوته معنی‌دار ولی اثرات متقابل آنها معنی‌دار نبود (جدول ۱). تنش کم‌آبی باعث کاهش قطر ساقه و محلول‌پاشی با پرولین باعث افزایش قطر ساقه شد (جدول ۲). عواملی مانند اختلال در عمل روزنه‌ها، تخریب غشاهای سلولی به‌ویژه در بافت فتوسنتزی و اختلال در عمل آنزیم‌های فتوسنتزی در شرایط تنش کم‌آبی، سبب کاهش تولید و انتقال فراورده‌های فتوسنتزی به بخش‌های در حال رشد شده و در نتیجه کاهش تولید ماده خشک، قطر و ارتفاع گیاهان را به‌دنبال خواهد داشت. محلول‌پاشی پرولین به‌عنوان یک سازوکار دفاعی باعث کاهش پتانسیل اسمزی سلول شده که افزایش جذب آب توسط سلول را به‌دنبال داشته و تا حدود زیادی اثرات مضر تنش کم‌آبی بر قطر بوته را کاهش می‌دهد.[۳] به‌طور کلی فراهم بودن اسیدهای آمینه و نیتروژن در مراحل آغازین رشد تحت تنش کم‌آبی، طویل شدن بخش‌های هوایی و افزایش قطر بوته را موجب می‌گردد. نتایج مشابهی نشان داد که اثر محلولپاشی گیاهان با پرولین باعث افزایش چشمگیر صفات مورفولوژیک در کرفس وحشی شد.[۳۴]

پرولین

اثر کم‌آبی و محلول‌پاشی با پرولین بر مقدار پرولین معنی‌دار ولی اثرات متقابل آنها غیرمعنی‌دار بود (جدول ۱). با افزایش سطوح کم‌آبی میزان پرولین افزایش پیدا کرد.. محلول‌پاشی پرولین نیز میزان پرولین گیاه را افزایش داد (جدول ۲). در شرایط تنش میزان پرولین افزایش نشان داد که با نتایج *عبدالعزیز و همکاران (۲۰۰۶)* همخوانی دارد.[۲] نتایج نشان می‌دهد که افزایش پرولین در شرایط تنش خشکی، نیازمند مصرف انرژی می‌باشد که در صورت ادامه روند تولید پرولین، میزان عملکرد گیاه کاهش پیدا می‌کند.[۱۶] *حبیبی و همکاران (۲۰۱۰)* اظهار داشتند که

جدول ۲) اثر تنش خشکی و محلول‌پاشی پرولین بر برخی صفات بابونه آلمانی

Table 2) The effect of drought stress and exogenous proline application on some traits of German chamomile

Treatments	plant height (cm)	stem diameter (cm)	Proline content(mol/gFW)
Control (no spraying)	38.3 c	0.55 b	0.62 c
Proline spraying (50 mg/L)	42.9 b	0.59 b	0.99 b
Prolines praying (100 mg/L)	48.7 a	0.72 a	1.85 a
Control	52.4 a	0.93 a	0.97 c
25% depletion of available soil water	46.4 b	0.56 b	1.09 bc
50% depletion of available soil water	42.2 c	0.57 b	1.17 b
75% depletion of available soil water	32.2 d	0.42 b	1.37 a

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده نداشتن اختلاف آماری در سطح احتمال ۵٪ است.

The same letters in each column represents no significant difference at 5%level of probability.

جدول ۳) اثر محلول‌پاشی پرولین بر برخی صفات بابونه تحت تنش کم‌آبی

Table 3) The Effect of exogenous proline application on some traits of German chamomile under water stress

Water deficit	proline application rate (mg/L)	Flower number	flower fresh weight(gr)	flower dry weight(gr)	flowering branches	Catalase (µmol min^{-1} mg^{-1} protein)
Control	**0**	101 b	23.0 ab	5.43 ab	23.0 ab	0.105 hi
	50	100 b	23.6 ab	5.54 ab	24.3 ab	1.735 ef
	100	118 a	28.0 a	6.93 a	27.6 a	5.262 d
25% depletion of available soil water	**0**	81 c	20.2 bc	5.14 ab	20.6 c	0.150 hi
	50	85 c	20.9 bc	5.32 ab	21.3 ab	2.250 e
	100	94 bc	22.2 b	5.42 ab	21.3 ab	7.975 bc
50% depletion of available soil water	**0**	67 d	15.7 cd	4.10 c	15.3 d	0.260 h
	50	72 d	15.7 cd	4.15 c	15.6 d	3.737 de
	100	76 cd	19.1 c	4.84 c	19.6 cd	8.825 b
75% depletion of available soil water	**0**	48 f	7.6 f	2.30 d	10.0 ef	0.967 g
	50	58 e	13.2 e	3.85 cd	11.6 e	4.750 d
	100	68 d	14.1 e	4.08 cd	14.6 de	11.62 a

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده نداشتن اختلاف آماری در سطح احتمال ۵٪ است.

The same letters in each column represents no significant difference at 5%level of probability.

جدول ۴) ضرایب همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده بابونه آلمانی

Table 4) Correlation coefficients among measured traits German chamomile

Traits	Flower no.	flower fresh weight	flower dry weight	flowering branches	plant height	stem diameter	Proline content
Flower fresh weight	0.916**						
Flower dry weight	0.891**	0.989**					
Flowering branches	0.226	-0.111	-0.116				
Plant height	0.241	-0.092	-0.088	0.980**			
Stem diameter	0.285	-0.070	-0.068	0.966**	0./950**		
Proline content	-0.470	0.078	-0.547	-0.487	-0.780**	-0.580*	
Catalase content	-0.875**	-0.128	-0.254	-0.125	-0.358	-0.680*	0.780**

* و ** به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵٪

*= significant at 0.05 and ** significant at the 0.01 probability levels

افزایش پرولین در طی تنش خشکی ممکن است به‌خاطر تجزیه‌ی پروتئین‌ها باشد.[۱۶] *فاروق و همکاران (۲۰۰۹)* نیز گزارش نمودند که در شرایط تنش کم آبی و در نتیجه تجمع مواد محلول مانند پرولین، پتانسیل اسمزی سلول‌ها کاهش می‌یابد که این حالت آب را به داخل سلول جذب و به حفظ حالت تورگر کمک می‌کند.[۱۳]

محلول‌پاشی پرولین در شرایط تنش کم‌آبی از طریق تنظیم اسمزی و با حذف و خنثی کردن‌رادیکال‌های‌آزاد اکسیژن[۱۰]، جلوگیری از تخریب آنزیم و پروتئین‌ها، حفظ پایداری و ثبات غشای سلولی[۲۵] و افزایش تحمل گیاه برابر تنش‌ها[۱۳]، به گیاه کمک می‌کند تا به‌صورت کارآمدتری بتواند دوره رشد، فتوسنتز و تسهیم آسمیلات[1] را تا پر شدن دانه‌ها به پایان برساند و همچنین محلول‌پاشی پرولین، باعث بهبود تولید و ذخیره انرژی از طریق تأثیر بر متابولیسم نیتروژن در گیاهان می‌شود.[۱۸] *وو و همکاران (۲۰۱۱)* گزارش کردند که کاربرد مواد اسمولیت[2] به همراه تنش، باعث افزایش میزان پرولین در گوجه فرنگی می‌شود.[۳۹] *کایا و همکاران (۲۰۰۷)* نیز گزارش نمودند که با کاربرد پرولین در خربزه، میزان پرولین درون‌زاد گیاه به طور معنی‌داری افزایش یافت.[۲۲]

تعداد گل

اثر محلول‌پاشی و اثر متقابل تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی بر تعداد گل معنی‌دار بود (جدول ۱). بالاترین مقدار تعداد گل در اثر متقابل پرولین ۱۰۰ میلی‌گرم و تنش شاهد مشاهده شد (جدول ۳). همبستگی بالای بین تعداد گل با وزن تر گل و وزن خشک گل و میزان کاتالاز وجود داشت که حاکی از تاثیر مشابه عوامل آزمایشی بر این صفات است (جدول ۴). کاهش تعداد گل در شرایط تنش کم آبی، به‌علت کاهش میزان فتوسنتز (بسته شدن روزنه) در شرایط تنش کم‌آبی، اختلال در سازوکار فتوسنتز بوده که در ادامه باعث اختلال در متابولیسم سلول‌ها شده و میزان عملکرد و اجزای عملکرد را کاهش می‌دهد.[۱۱،۶] اما در این آزمایش استفاده از پرولین تا حدود زیادی اثرات نامطلوب تنش خشکی را کاهش داده است. همچنین کاربرد پرولین برون‌زاد در شرایط تنش، بر زمان و تشکیل فرایند گلدهی تأثیر گذاشته و تحریک گلدهی[۲۹]، افزایش تعداد گل و همچنین طول دوره گلدهی را به‌دنبال خواهد داشت.[۳۳]

وزن تر و خشک گل

اثر محلول‌پاشی و اثر متقابل تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی بر تعداد گل معنی‌دار بود (جدول ۱). بالاترین مقدار وزن تر و خشک گل در اثر متقابل پرولین ۱۰۰ میلی‌گرم و تنش شاهد به دست آمد (جدول ۳). همبستگی بالای بین وزن تر گل با وزن خشک گل وجود داشت (جدول ۴). تنش خشکی به‌طور قابل‌توجهی با تغییر در محتوای کلروفیل، خسارت به دستگاه فتوسنتزی، تخریب ساختار فتوسیستمII، مهار فعالیت فتوشیمیایی و آنزیم‌های چرخه کالوین، افزایش میزان فلورسانس کلروفیل[۱۲]، مهار سنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی و کاهش هدایت روزنه‌ای[۱۷]، کاهش تثبیت کربن، محدودیت جذب آب و عناصر غذایی[۵] تغییر میزان آسیمیلاسیون دی‌اکسید کربن، تعرق[۱۲] وکاهش سطح برگ و تسریع فرایند پیری برگ‌ها[۳۸] شده و با محدودیت میزان تولید و صادرات مواد فتوسنتزی در گیاهان، وزن تر و خشک اندام‌های گیاه را نسبت به شاهد کاهش می‌دهد.[۶] اما کاربرد اسیدهای آمینه به صورت محلول‌پاشی، نقش مهمی در ستز پروتئین‌ها، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پرولین و کاهش اثرات سوء

[1] Asmilates
[2] osmolyte

تنش بر عهده داشته[۳۹] و تا حدود زیادی باعث بهبود معنی‌داری در ویژگی‌های مورفولوژیک گیاهان تحت شرایط تنش می‌شود.[۲۱] *علی و همکاران (۲۰۰۷)* نشان دادند که محلول‌پاشی پرولین تحت تنش شوری، باعث افزایش درصد جوانه‌زنی، وزن خشک، رشد و محتوای کلروفیل دو رقم گندم شد.[۳]

تعداد ساقه گل دهنده

اثر کم‌آبی، پرولین و اثر متقابل آنها بر تعداد ساقه گل‌دهنده معنی‌دار بود (جدول ۱). اثرات متقابل تنش و محلول‌پاشی نشان داد که همزمان با افزایش سطوح تنش، تعداد ساقه گل‌دهنده کاهش پیدا می‌کند اما محلولپاشی اثرات مثبتی بر صفت فوق می‌گذارد (جدول ۳). همبستگی بالای بین تعداد ساقه گل‌دهنده با ارتفاع بوته و قطر بوته وجود دارد. که حاکی از تأثیر مشابه عوامل آزمایشی بر این صفات است (جدول ۴). افزایش تعداد شاخه‌های فرعی، به‌علت مصرف آب موجود در خاک، صفتی نامطلوب برای گیاهانی که در شرایط تنش رشد می‌کنند محسوب شده که اتلاف آب در دسترس گیاه، را به‌دنبال خواهد داشت. کاهش تعداد شاخه‌های فرعی[۲۴] در چنین شرایطی می‌تواند به‌عنوان مکانیسم سازگاری در نظر گرفته شود که گیاه به‌واسطه این فرایند، رشد رویشی خود را سریع‌تر به پایان می‌رساند و وارد فاز زایشی شده [۴] و آب را برای مراحل بحرانی‌تر نظیر گلدهی حفظ می‌کند.

محلول‌پاشی پرولین خود به‌عنوان یک عامل دفاعی، با تحریک و افزایش تولید پروتئین و ایجاد باندهای ایزوزایم[۱] جدید[۳۲]، سنتز پروتئین کیناز[۲]، افزایش توان دفاعی گیاه، تا حدود زیادی اثرات تنش کم‌آبی را کاهش داد و به‌دنبال آن تعداد شاخه‌های فرعی گل‌دهنده نیز افزایش پیدا کرده است که می‌تواند افزایش عملکرد گل را به‌دنبال داشته باشد. *کاریما و همکاران (۲۰۰۵)* در محلول‌پاشی اسیدهای آمینه به خصوص پرولین در بابونه، باعث افزایش قابل‌توجهی در ارتفاع بوته، تعداد ساقه‌های فرعی، وزن تر و خشک گیاه می‌شود.[۲۱]

میزان کاتالاز

اثر کم‌آبی، پرولین و اثر متقابل آنها بر فعالیت کاتالاز معنی‌دار بود (جدول ۱). در اثر متقابل کم‌آبی و پرولین، همزمان با افزایش تنش مقدار کاتالاز افزایش یافت و اثر مثبت تنش بر مقدار کاتالاز بارز بود (جدول ۳). همبستگی بالای بین کاتالاز با پرولین وجود داشت (جدول ۴). *میتلر (۲۰۰۲)* گزارش کرد که سنتز آنزیم کاتالاز، پاسخ سازگار یافته در برابر تنش اکسیداتیو می‌باشد.[۲۸] افزایش پرولین درون‌زاد در شرایط تنش کم‌آبی، علاوه بر حفاظت از آنزیم‌ها، ساختمان سه بعدی پروتئین‌ها و غشاء، انرژی لازم برای رشد را در شرایط کم‌آبی تأمین کرده و به تحمل گیاهان در چنین شرایطی کمک می‌کند.[۱۹] *هوکو و همکاران (۲۰۰۷)* بیان کردند که محلولپاشی گیاه تنباکو با پرولین، به‌علت افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، نقش مهمی در کاهش اثرات تنش ایفا می‌کنند.[۱۹]

نتیجه‌گیری کلی اعمال تنش کم‌آبی موجب کاهش تمامی صفات اندازه‌گیری بابونه آلمانی نظیر ارتفاع، قطر بوته، تعداد گل، تعداد ساقه گل‌دهنده، وزن خشک و تر گل به جز پرولین و کاتالاز شد. اما محلولپاشی پرولین به‌عنوان یک عامل دفاعی در شرایط تنش کم‌آبی بر تمامی صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیکی مورد مطالعه اثر مثبت نشان داد. بنابراین در شرایط تنش برای کاهش اثرات سوء کم آبی در بابونه می‌توان از پرولین به‌عنوان ماده ضد تنش استفاده کرد.

[1] isozame
[2] protein kinase

References

1. Abbaszadeh B, Sharifi Ashourabadi E, Lebaschi MH, Naderi Hajibagher M, Moghadami F (2008) The effect of drought stress on proline contents, soluble sugars, chlorophyll and relative water contents of balm (*Melissa officinalis* L.). Journal of Medicinal and Aromatic Plants 23(4): 504-513.[in Persian with English abstract]
2. Abd El-Aziz NG, Mazher Azz AM, EL-Habba E (2006) Effect of foliar spraying ascorbic acid on growth and chemical constituents of Khaya Senegalensis growth under salt condition. American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Sciences 1(3):207-214.
3. Ali Q, Ashraf M, Athar HR (2007) Exogenously applied proline at different growth stages enhances growth of two maize cultivars grown under water deficit conditions. Pakistan Journal of Botany 39(4): 1133-1144.
4. Arshi A, Zainul Abdin M, Iqbal M (2005) Effect of $CaCl_2$ on growth performance, photosynthetic efficiency and nitrogen assimilation of *Cichorium intybus* L. grown under NaCl stress. Acta Physiology Plant 28(1): 137 -147.
5. Ashraf M, Foolad MR (2007) Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress tolerance. Environmental and Experimental Botany 59(1): 206-216.
6. Baghalian, K, Abdoshah, SH, Khalighi-Sigaroodi F, Paknejad F (2011) Physiological and phytochemical response to drought stress of German chamomile (*Matricari arecutita* L.). Plant Physiology and Biochemistry 49(20): 201-207.
7. Bates LS, Waldran RP, Teare ID (1973) Rapid determination of free proline for water studies. Plant and Soil 39(1): 205-207.
8. Blum A (1996) Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. Plant Growth Regulation 20(2):135- 148.
9. Chance B, Maehly AC (1955) Assay of catalases and peroxidases. Methods in Enzymology 11(1):764-755.
10. Chen C, Dickman MB (2005) Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen Colletotrichum trifolii. Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS) 102(9): 3459-3464.
11. Daneshian J, Majidi E, Hashemi-Dezfouli A, Nour-Mohamadi G (1999) Effect of drought stress on quantitative and qualitative characteristics of two soybean (*Glycine max* L.) cultivars. Iranian Journal of Crop Sciences 1(3): 35-46. [in Persian whit English abstract]
12. Dulai S, Molnar I, Pronay J, Csernak A, Tarnai R, Molnar-Lang M (2006) Effects of drought on photosynthetic parameters and heat stability of PSII in wheat and in Aegilops species originating from dry habitats. Acta Biologica Szegediensis 50(1-2):11-17.
13. Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D, Basra SMA (2009) Plant drought stress effects ,mechanisms and management. Agronomy for Sustainable Development 29(1):185-21.
14. Gamal EL-Din KM, Abd EL-Wahed MSA (2005) Effect of some amino acids on growth and essential oil content of chamomile plant. International Journal of Agriculture and Biology 7(2): 376-380.
15. Good A, Zaplachiniski S (1994) The effects of drought on free amino acid accumulation and protein synthesis in *Brassica napus*. Physiologia Plantarum 90(1): 9-14.
16. Habibi D, Ardakani MR, Mahmoudi A, Asgharzadeh A (2010) Effects of super absorbent polymer and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield and oxidative damage of maize under drought stress. International Conference on Chemistry and Chemical Engineering. US & Canada 253-257.
17. Hasanuzzaman M, Nahar K, Gill SS, Fujita M (2013) Drought stress responses in plants, oxidative stress, and antioxidant defense (eds). Climate Change and Plant Abiotic Stress Tolerance.Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Germany 209-249.
18. Hashem A, Abd_Allah EF, Alqarawi AA, Egamberdieva D (2015) Bioremediation of adverse impact of cadmium toxicity on *Cassia italica* Mill. by arbuscular mycorrhizal fungi. Saudi Journal of Biological Sciences 23(1): 39-47.
19. Hoque MA, Okuma E, Banu MNA, Nakamura Y, Shimoishi Y, Murata N (2007) Exogenous proline mitigates the detrimental effects of salt stress more than exogenous betaine by increasing antioxidant enzyme activities. Journal Plant Physiology 164(5):553-561.
20. Hsiao TC (1973) Plant responses to water stress. Annual Review of Plant Physiology 24(1): 519-570.

21. Karima M, Gamal EL-DIN, Abdel-wahed MSA (2005) Effect of some amino acids on growth and essential oil content of chamomile plant. International of Journal of Agriculture and Biology 7(3):376-380.
22. Kaya C, Levent Tuna A, Ashraf M, Altunlu H (2007) Improved salt tolerance of melon (*Cucumis melo* L.) by the addition of proline and potassium nitrate. Environmental and Experimental Botany 60(3): 397–403.
23. Khalil SE, Abd El-Aziz NG, Abou-Leila BH (2010) Effect of water stress and ascorbic acid on some morphological and biochemical composition of *Ocimum basilicum* plant. Journal of American Science 6(12): 33-44.
24. Khalil Soha E, El-Noemani AA (2012) Effect of irrigation intervals and exogenous proline application in improving tolerance of garden cress plant (*Lepidium sativum* L.) to water stress. Journal of Applied Sciences Research 8(1):157-167.
25. Kocheva K, Georgive G (2003) Evaluation of the reaction of two contrasting barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars in response to osmotic stress with PEG6000. Bulgarian Journal of Plant Physiology 1(1):290-294.
26. Kpoghomou BK, Spara VT, Beyl CA (1990) Screening for tolerance soybean germination and its relationship to seeding responses. Journal of Agronomy and Crop Science 164(2): 153-159.
27. Mirshekari B (2011) Effect of irrigation time and nitrogen fertilizer on growth period and chamazulene content of German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) in cold and semi-arid region. Journal of Medicinal and Aromatic Plants 27(1):173-187. [in Persian with English abstract]
28. Mittler R (2002) Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. Annual Review of Plant Science 7(1): 405-415.
29. Neeraja G, Reddy IP, Gautham B (2005) Effect of growth promoters on growth and yield of tomato cv. Marutham. The Journal of Research Angrau 33(1):68-70.
30. Okuma E, Murakami Y, Shimoishi Y, Tada M, Murata Y (2004) Effects of exogenous application of proline and betaine on the growth of tobacco cultured cells under saline conditions. Soil Science and Plant Nutrition 50(2):1301-1305.
31. Pirzad A, Alyari H, Shakiba MR, Zehtab-Salmasi S, Mohammadi A (2006) Essential oil content and composition of German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) at different irrigation regimes. Journal of Agronomy 5(2): 451-455.
32. Raskin I (1992) Role of salicylic acid in plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 43(2):439-463.
33. Saxena S, Kaushik N, Sharma R (2008) Effect of abscisic acid and proline on in vitro flowering in *Vigna aconitifolia*. Biologia Plantarum 52: 181-190.
34. Sheokand S, Kumari A, Sawhney V (2008) Effect of nitric oxide and putrescine on ant oxidative responses under NaCl stress in chick pea plants. Physiology and Molecular Biology of Plants 14(4): 355-362.
35. Soltani Gerdfaramarzi MK, Omidi H, Habibi H, Lebaschy MH, Zarezadeh A (2011)The effects of glycine betaine and drought stress on yield, yield components and essential oil in German chamomile genotypes in Yazd region. Journal of Medicinal and Aromatic Plants 27(1): 279-289. [in Persian with English abstract]
36. Talaat I, Bekheta M, Mahgoub MH (2005) Physiological response of periwinkle plants (*Catharanthus roseus* L.) to tryptophan and putrescine. International Journal of Agriculture and Biology 7: 210-213.
37. Talat A, Nawaz K, Hussian K, Hayat Bhatti K (2013) Foliar application of proline for salt tolerance of two wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. World Applied Sciences Journal 22(4):547-554.
38. Wahid A, Rasul E (2005) Photosynthesis in Leaf, Stem, Flower and Fruit, in: Pessarakli M. (Ed.), Handbook of Photosynthesis, 2nd ed. CRC Press: Florida, 479–497.
39. Wu X, Zhu W, Zhang H, Ding H, Zhang HJ (2011) Exogenous nitric oxide protects against salt-induced oxidative stress in the leaves from two genotypes of tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.). Acta Physiologiae Plantarum 33:1199-1209.

Effects of proline foliar application on alleviation of water deficit in German chamomile

Agroecology Journal

Vol. 14, No. 1 (33-43)
(sping 2018)

Hakimeh Darvizheh✉, Mohsen Zavareh

Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Guilan, Rasht, Iran
✉ hdarvizhe@yahoo.com **(corresponding author)**

Received: 05 March 2018 **Accepted:** 09 June 2018

Abstract Water deficit stress is one of the most important abiotic stresses that seriously leads to plant production decrement. Several strategies have been proposed to alleviate of cellular damage caused by water deficit stress and also to improve plant tolerance against water deficit. The study was conducted as factorial experiment based on completely randomized design with three replications in Guilan University. Treatments included proline spraying in two concentrations of 50 and 100 mg/L, and irrigation after 0, 25, 50 and 75% depletion of FC level in stem elongation stage. Water deficit resulted in increase of proline content and catalase but decrease of morphological traits. Proline application had significant impact on all traits under water stress conditions. The foliar application of 100 mg/L proline resulted to improvement of growth and alleviate of water stress damages. On the whole, application of 100 mg/L proline would be recommendable to reach the maximum yield of German chamomile in various water deficit circumstances.

Keywords

- antioxidative enzyme
- water potential
- drought stress
- osmotic adjustment
- plant growth regulator

This open-access article is distributed under the terms of the Creative Commons-BY-NC-ND which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

DOI: 10.22034/AEJ. 2018. 541280