Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Plant Production Research

Print ISSN: 2322-2050
Online ISSN: 2322-2778

Alteration of antioxidant enzymes of forest savory (*Satureja mutica* Fisch. & Mey) under the influence of drought stress, re-watering and selenium foliar application

Ehsan Karimi[1], Azim Ghasemnezhad[*2], Mansour Ghorbanpour[3]

1. Ph.D. Student, Dept. of Horticultural Science, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: e.karimi1364@gmail.com
2. Corresponding Author, Associate Prof., Dept. of Horticultural Science, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: ghasemnezhad@gau.ac.ir
3. Dept. of Medicinal Plants, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, 38156-8-8349, Iran. E-mail: m-ghorbanpour@araku.ac.ir

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 12.09.2020
Revised: 12.28.2020
Accepted: 02.02.2021

Keywords:
Drought stress,
Drought tolerant,
Enzymatic activity,
Re-irrigation,
Selenium foliar application

ABSTRACT

Background and Objectives: Climate change and rainfall patterns pose a serious threat to the world's food supply to a growing population. Water scarcity is currently limiting food security and economic prosperity in many parts of the world. One of the solutions of the increasing the water productivity is cultivation of the drought-resistant medicinal plants. Forest savory is one of the native medicinal plants of Iran, which contains valuable medicinal and chemical compounds. The aim of this study was to investigate the trend of changes in antioxidant enzymes of two forest savory chemotypes under drought stress conditions, re-watering and selenium foliar application.

Materials and Methods: In the present study forest savory chemotypes of "carvacrol/thymol/p-Cymene" (Darkesh chemotype) and "thymol/ p-Cymene/carvacrol" (Pono chemotype) with herbarium code of MPH-1347 were used. The experiment was conducted in the form of a split plot experiment based on a randomized complete blocks design. Drought were applied at 3 levels (control, moderate stress (25 days without irrigation) and severe stress (40 days without irrigation). selenium treatments was applied at 3 levels (0, 5 and 20 mg) as foliar application. Re-irrigation was performed immediately after drought stress. In order to measure enzymatic activity variation of plant 3 stages the sampling was done. Including: at the end of drought stress of each treatments, 1 day and 5 days after re-watering.

Results: Re-irrigation acts as a mechanism to restore physiological functions that have been reduced by water stress. In other words, recovery is an important component for adaptation of plants. In present study, drought stress was not significantly altered the enzymatic activity of measured antioxidant enzymes (except catalase in "Peno" chemotype) in both chemotypes. There was also no significant reaction to selenium foliar application in different levels. On the other hand, the study of changes in enzyme activity before and after re-irrigation showed that, although the enzyme activity tended to reduce after re-irrigation, but in the shortest possible time the activity of enzymes reached to pre-irrigation conditions indicates the high resistance of this plant species to drought. Also, the plant's response to drought levels and supportive treatments in the two chemotypes had almost the same trend.

Conclusion: The lack of response of important antioxidant enzymes of forest savory to drought stress and supportive treatments stated that this plant as a drought tolerant plant containing is suitable for cultivation in areas with limited water resources and irregular rainfall. Therefore, it is suggested that this plant be used for cultivation in low water conditions of Shahrood and similar areas.

Cite this article: Karimi, Ehsan, Ghasemnezhad, Azim, Ghorbanpour, Mansour. 2022. Alteration of antioxidant enzymes of forest savory (*Satureja mutica* Fisch. & Mey) under the influence of drought stress, re-watering and selenium foliar application. *Journal of Plant Production Research*,
29 (2), 19-33.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/JOPP.2021.18639.2749
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی

شاپا چاپی: ۲۳۲۲-۲۰۵۰
شاپا آنلاین: ۲۳۲۲-۲۷۷۸

تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مرزه جنگلی (*Satureja mutica* Fisch. & Mey.) تحت‌تأثیر تنش خشکی، آبیاری مجدد و محلول‌پاشی سلنیم

احسان کریمی[۱]، عظیم قاسم‌نژاد*[۲]، منصور قربانپور[۳]

۱. دانشجوی دکتری گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: e.karimi1364@gmail.com

۲. نویسنده مسئول، دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: ghasemnezhad@gau.ac.ir

۳. گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ۸۳۴۹-۸-۳۸۱۵۶، ایران. رایانامه: m-ghorbanpour@araku.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۱۹
تاریخ ویرایش: ۱۳۹۹/۱۰/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۱۴

واژه‌های کلیدی:
آبیاری مجدد،
تنش خشکی،
فعالیت آنزیمی،
متحمل به خشکی،
محلول‌پاشی سلنیم

چکیده

سابقه و هدف: تغییرات اقلیمی و تغییر الگوی بارش تهدید جدی برای تأمین منابع غذایی جمعیت در حال افزایش جهان می‌باشد، به‌طوری‌که کمبود منابع آبی در حال حاضر امنیت غذایی و رونق اقتصادی بسیاری از مناطق دنیا را با محدودیت مواجه کرده است. یکی از راهکارها با افزایش بهره‌وری آب کشت گیاهان دارویی مقاوم به خشکی است. مرزه جنگلی یکی از گیاهان دارویی بومی ایران است که حاوی ترکیبات دارویی و شیمیایی ارزشمند است. از این‌رو پژوهش با هدف بررسی روند تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی دو تیپ شیمیایی مرزه جنگلی تحت تنش خشکی و آبیاری مجدد و هم‌چنین محلول‌پاشی سلنیم انجام شد.

مواد و روش‌ها: در بررسی حاضر از تیپ‌های شیمیایی مرزه جنگلی کارواکرول/تیمول/ پاراسیمین (تیپ شیمیایی درکش) و تیمول/پاراسیمین/کارواکرول (تیپ شیمیایی پونو)، با کد هرباریومی MPH-1347 استفاده قرار شد. آزمایش در قالب آزمایش کرت‌های خرد شده بر پایه طرح بلوک کامل تصادفی انجام شد. سطوح خشکی در ۳ سطح (شاهد، تنش متوسط (۲۵ روز بدون آبیاری) و تنش شدید (۴۰ روز بدون آبیاری)، محلول‌پاشی سلنیم در ۳ سطح (۰، ۵ و ۲۰ میلی‌گرم) انجام شد. آبیاری مجدد بلافاصله پس از تنش خشکی انجام شد. به منظور اندازه‌گیری تغییرات فعالیت آنزیمی در مرزه جنگلی در انتهای تنش دوره خشکی و به ترتیب ۱ و ۵ روز پس از آبیاری مجدد، از گیاهان آزمایشی نمونه‌برداری شد.

یافته‌ها: آبیاری مجدد به عنوان سازوکاری برای ترمیم کارکردهای فیزیولوژیکی که در اثر تنش آب کاهش یافته است عمل می‌کند. به عبارتی بازیابی یک مؤلفه مهم برای سازگاری گیاهان به خشکی می‌باشد. در بررسی حاضر خشکی اثر معنی‌داری بر فعالیت اغلب آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مطالعه شده تیپ‌های شیمیایی مرزه جنگلی (به غیر از کاتالاز در تیپ شیمیایی پنو) نداشت. هم‌چنین واکنش قابل‌توجهی نسبت به سطوح محلول‌پاشی سلنیم در شرایط تنش خشکی مشاهده نشد. بررسی روند تغییرات فعالیت آنزیم‌ها قبل و بعد از آبیاری مجدد نشان داد که اگرچه آبیاری مجدد روند کاهشی غیرمعنی‌داری بر فعالیت آنزیمی داشت، با این وجود در کوتاه‌ترین زمان ممکن فعالیت آنزیم‌ها به شرایط قبل از آبیاری مجدد رسیده و پایدار شده‌اند، که بیانگر مقاومت بالای این گیاه به خشکی است. هم‌چنین واکنش گیاه به سطوح خشکی و تیمارهای حمایتی در دو تیپ شیمیایی روند تقریبا مشابه‌ای داشت.

نتیجه‌گیری: عدم واکنش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مهم گیاه مرزه جنگلی به تنش خشکی و تیمارهای حمایتی، بیان‌کننده این است که، مرزه جنگلی به عنوان یک گیاه متحمل به خشکی و به دلیل داشتن متابولیت‌های با ارزش، گونه‌ای مناسب برای کشت در مناطقی است که محدودیت منابع آبی و نزولات آسمانی دارند. بنابراین پیشنهاد می‌شود که از این گیاه برای کشت در شرایط کم آب شاهرود و مناطق مشابه استفاده شود.

استناد: کریمی، احسان، قاسم‌نژاد، عظیم، قربانپور، منصور (۱۴۰۱). تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مرزه جنگلی (*Satureja mutica* Fisch. & Mey.) تحت‌تأثیر تنش خشکی، آبیاری مجدد و محلول‌پاشی سلنیم. *نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی*، ۲۹ (۲)، ۳۳-۱۹.

DOI: 10.22069/JOPP.2021.18639.2749

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

تغییرات اقلیمی و تغییر الگوی بارش تهدید جدی برای تأمین منابع غذایی جمعیت در حال افزایش جهان است؛ به‌طوری‌که کمبود منابع آبی در حال حاضر امنیت غذایی و رونق اقتصادی بسیاری از مناطق دنیا را با محدودیت مواجه کرده است (۱). خشکی به عنوان یکی از محدودیت‌های اصلی تولید محصولات کشاورزی رشد و بهره‌وری گیاه در هر دو سیستم کشاورزی و طبیعی را محدود می‌کند (۲). اهمیت روزافزون درک عکس‌العمل گیاهان به تنش خشکی، به ویژه در زمینه تغییرات آب و هوایی مورد نیاز است (۳). تغییرات آب و هوایی ایران نشان می‌دهد طی چند سال اخیر میزان بارش به طور چشم‌گیری کاهش یافته که باعث تشدید تنش و طول دوره‌های خشکی فصلی شده است. بنابراین گیاهانی که در چنین شرایطی تولید می‌شوند نیاز است راهبردهای مناسبی برای مقابله با دوره‌های طولانی کمبود آب اتخاذ کنند (۴). گیاهان می‌توانند برای کاهش صدمات ناشی از تنش‌های غیرزیستی، یکسری تغییرات زیست- شیمیایی و فیزیولوژیکی (۵)، مانند استفاده از انواع مختلف اسمولیت‌های سازگار و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی ایجاد نمایند (۶).

گیاهان در مراحل رشدی مختلف، حساسیت‌های متفاوتی به خشکی داشته و تأثیر خشکی بر عملکرد آن‌ها متفاوت است. هم‌چنین توانایی زنده مانده گیاهان در شرایط خشکی به گونه، مرحله رشد، طول و شدت تنش بستگی دارد (۷). بنابراین درک نحوه پاسخ گیاهان به شرایط کمبود آب با هدف انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم به تنش، یک هدف مهم برای حفظ عملکرد محصول در زمان کمبود آب است (۸). بنابراین از آن‌جایی که خشکی مهم‌ترین عامل محدودکننده عملکرد محصول است، شناخت دقیق از تأثیر آن بر تنظیم رشد گیاه بسیار مهم می‌باشد (۹). از این‌رو افزایش بهره‌وری محصول در شرایط دسترسی محدود به آب از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. برای رسیدن به چنین هدفی درک چگونگی سازگاری رشد گیاه با خشکی ضروری است. یکی از راه‌های مقابله با خشکی توسعه الگوی کشت گیاهان دارویی به دلیل نیاز آبی کم‌تر می‌باشد. البته زمانی که یک گیاه وحشی وارد نظام زراعی و تولید می‌شود در زمان سازگاری با اغلب تنش‌ها مواجه می‌گردد؛ سازگاری گیاهان به خشکی اغلب با افزایش سطح گونه‌های اکسیژن فعال مانند آنیون سوپراکساید ($O_2^{\bullet-}$)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، رادیکال هیدروکسیل ($HO^{\bullet}$) و اکسیژن منفرد ($^1O_2$) است که برای سلول سمی هستند (۱۰). گونه‌های فعال اکسیژن فرآورده‌های ثانویه اجتناب‌ناپذیر سوخت‌وساز هوازی هستند که در شرایط خشکی تولید آن‌ها افزایش یافته و سبب اختلال در سامانه انتقال الکترون می‌شوند (۱۱). زمان بازیابی گیاه بسیار مهم و بحرانی است، به‌ویژه اگر گیاه با دوره خشکی جدیدی مواجه شود (۱۲)؛ چرا که توانایی بازیابی بعد از تنش خشکی، بقا و رشد گیاهان را تضمین می‌کند (۱۳). بنابراین، توانایی یک گونه گیاهی برای سازگاری مناسب با تنش خشکی، اهمیت زیادی دارد. از طرفی برخی اوقات آبیاری مجدد نمی‌تواند وضعیت گیاه را به سطح نرمال برساند از این‌رو نیاز است برای کاهش اثرات تنش، روش‌های جایگزین در نظر گرفت. سلنیم یکی از راهکارهای مناسب برای کاهش اثرات تنش در گیاهان است که از طریق افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، مقاومت گیاهان را در برابر تنش‌های غیرزیستی بهبود می‌بخشد (۱۴). سلنیم یک عنصر شبه فلز است که به دلیل نزدیکی با گوگرد خواص مشابه با این عنصر دارد (۱۵). فرم‌های تجاری سلنیم شامل سلنات سلنیم و سلنیت سلنیم می‌باشد اما به‌طورکلی سلنات برای

گیاهان قابل دسترس‌تر است و هم‌چنین در گیاه خیلی سریع‌تر از سلنیت جذب و توزیع می‌شود، چرا که سلنیت به دلیل محلولیت بیش‌تر در آب و محلول خاک برای گیاه سمی‌تر است. این ترکیب در گیاه از طریق غیرفعال‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن در افزایش تحمل گیاه به تنش‌های اکسیداتیو نقش دارد (۱۶).

مرزه جنگلی یکی از گیاهان دارویی بومی ایران می‌باشد که در مناطق شمالی از خراسان شمالی تا گیلان پراکنش دارد (۱۷). این گونه، گیاهی چندساله و بوته‌ای به ارتفاع ۳۰ تا ۵۰ سانتی‌متر با شاخه‌های گل‌دهنده پرشمار که زمان گلدهی آن اواخر تابستان و پاییز است (۱۸). این گیاه دارای ترکیبات ارزشمند تیمول و کارواکرول است (۱۹) که به دلیل وجود چنین ترکیباتی مرزه در صنایع دارویی، بهداشتی و آرایشی مورد توجه است. بررسی‌های قبلی نشان داده است گیاه مرزه توانایی بالایی در تحمل به تنش‌های محیطی دارد (۲۰ و ۲۱). اینوتای و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند فعالیت آنزیم SOD تحت تنش خشکی در گیاه مرزه تابستانه افزایش پیدا می‌کند (۲۰). موسوی (۲۰۱۶) در مرزه رشینگری نشان داد با افزایش سطوح خشکی سطح فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز نیز افزایش یافت (۲۲). هم‌چنین بررسی محلول‌پاشی سلنیم بر مرزه تابستانه نشان داد سلنیم سطح فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز را افزایش می‌دهد (۲۳). علاوه بر این، در خصوص واکنش آنزیمی گیاه مرزه به تنش خشکی و بازیابی (ریکاوری) گیاه پس از آبیاری مجدد اطلاعات کمی وجود دارد. از این‌رو در این پژوهش با توجه به ویژگی‌های بوم‌شناختی و جغرافیایی محل رویش مرزه جنگلی در ایران، به بررسی اثرات تنش خشکی و محلول‌پاشی سلنیم بر دو تیپ شیمیایی مرزه جنگلی (*Satureja mutica* Fisch. & C.A. Mey.) و هم‌چنین روند تغییرات آنزیمی تحت‌تأثیر آبیاری مجدد پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی، شرایط رشد و تیمارها: این آزمایش در شهرستان میامی استان سمنان واقع در طول جغرافیایی ۵۵ درجه و ۳۹ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۳۵ دقیقه و در ارتفاع ۱۰۲۵ متر بالاتر از سطح دریا در سال ۹۷ انجام شد. شرایط آب و هوایی منطقه در زمان کشت در جدول ۱ نشان داده شده است. در بررسی حاضر از تیپ‌های شیمیایی مرزه جنگلی کارواکرول/تیمول/پاراسیمین (تیپ شیمیایی درکش) و تیمول/پاراسیمین/کارواکرول (تیپ شیمیایی پونو)، با کد هرباریومی MPH-1347 استفاده قرار شد. بذر از گیاهان مادری دو تیپ شیمیایی مرزه جنگلی که از توده‌های جمع‌آوری شده آن در مناطق درکش در استان‌های خراسان شمالی و پنو در استان سمنان که به مدت پنج سال در منطقه شاهرود (به فاصله ۵۰ کیلومتری از شهرستان میامی) سازگار شده بودند، تهیه شد. جهت تهیه نشاء، بذر گیا، اسفند ماه در خزانه در محیط کشت حاوی ماسه بادی کشت شدند. آبیاری نشاءها به‌صورت یک روز در میان انجام شد. نشاءها ۱۰ تا ۱۵ سانتی‌متری در تاریخ ۱۵ خرداد از خزانه به کرت‌های آزمایشی انتقال داده شدند. بعد از انتقال نشاءها به کرت‌ها و به منظور استقرار مناسب به مدت چند روز به صورت غرقابی آبیاری شدند. کرت‌های آزمایشی به ابعاد ۲ × ۲ متر بود که در هر کرت سه ردیف کاشت به فاصله ۵۰ سانتی‌متر با رعایت ۲۵ سانتی‌متر از طرفین و فاصله روی ردیف نیز ۴۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. تا زمان شروع آزمایش (۱۵ شهریور) به صورت هر ۱۰ روز یکبار آبیاری انجام شد. سپس تیمار تنش خشکی به عنوان عامل اصلی در سه سطح شاهد (۱۰ روز یک‌بار آبیاری شدند)، تنش متوسط (۲۵ روز بدون آبیاری) و تنش شدید (۴۰ روز بدون آبیاری) اعمال شد. علت تعیین زمان ۱۵ شهریور برای شروع دوره تنش

خشکی، همزمانی گلدهی در مرزه جنگلی در این منطقه و یکنواختی رشد بوته‌ها است. محلول‌پاشی سلنیم در سه سطح (۰، ۵ و ۲۰ میلی‌گرم) به عنوان عامل فرعی اعمال شد. محلول‌پاشی در ابتدای شروع تنش صورت گرفت. هم‌چنین به منظور تعیین تغییرات خصوصیات فیزیولوژیکی در ۳ زمان اوج تنش (قبل از آبیاری مجدد) (BR)، بلافاصله بعد از آبیاری مجدد (۲۴ ساعت) (R1) و ۵ روز بعد از آبیاری مجدد (R5) نمونه‌برداری صورت گرفت.

جدول ۱- اطلاعات آب و هوایی منطقه کشت در سال ۱۳۹۷.

Table 1. Weather and climate information in year 2018.

شاخص Indices	فروردین March-April	اردیبهشت April-May	خرداد May-June	تیر June-July	مرداد July-August	شهریور August-September	مهر September-October	آبان October-November	آذر November-December	دی December-January
درجه حرارت Mean monthly temperature (°C)	13.6	18.7	24.5	29.9	27.8	23.8	19.6	10.1	5.0	3.2
رطوبت نسبی Mean monthly relative humidity (%)	60	43	39	32	34	39	37	61	69	65
میزان بارندگی Total Monthly Rainfall (mm)	84.9	6.6	32.3	0	0	0	1.5	39.6	6.7	1.6

استخراج عصاره جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی: ابتدا ۰/۵ گرم بافت تازه برگ با استفاده از ازت مایع در هاون چینی آسیاب شد و سپس یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار حاوی ۰/۵ مولار EDTA و PVPP ۲ درصد به آن اضافه گردید و مخلوط حاصل با استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار مدل SiGmA به‌مدت ۲۰ دقیقه با دور ۱۴ هزار rpm سانتریفیوژ شد. سپس از سوپرناتانت برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، POD، CAT و APX استفاده شد.

فعالیت آنزیم CAT: سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش لوک (۱۹۷۴) با کمی تغییر انجام شد. بدین صورت که ۲۰ میکرولیتر از سوپرناتانت با ۹۸۰ میکرولیتر از بافرفسفات حاوی پراکسید هیدروژن دو میلی‌مولار مخلوط و تغییرات تجزیه پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل UV2800 به صورت تغییرات جذب بر زمان (OD/min) در طول یک دقیقه و بر حسب میکرومول بر گرم بافت تازه انجام شد (۲۴).

فعالیت آنزیم SOD: اندازه‌گیری فعالیت آنزیم SOD با استفاده از روش جیانوپولیتیس و ریس (۱۹۷۷) صورت گرفت. مخلوط واکنش شامل ۹۳۵ میکرولیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار که حاوی EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، متیونین ۱۳ میلی مولار و نیتروبلو-تترازولیوم ۷۵ میکرومولار و ۱۵ میکرولیتر ریبوفلاوین ۰/۱۲ میلی‌مولار به همراه ۵۰ میکرولیتر سوپرناتانت بود. پس از آماده‌سازی نمونه بلانک به مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی قرار گرفت و نمونه شاهد و عصاره آنزیمی به مدت ۱۵ دقیقه در شیکر با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد که دارای ۲ عدد لامپ فلورسنت ۲۰ وات با ۱۰۰ بار در دقیقه شیک شدند. سپس مقدار جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت شد. تفاوت بین جذب هر عصاره در

مدت زمان روشنایی ۱۵ دقیقه و جذب عصاره آنزیمی در همان مدت زمان روشنایی در واقع نشان‌دهنده بازداشتن واکنش خودبخودی و تشکیل فورمازان توسط SOD است. در نهایت فعالیت آنزیمی SOD با استفاده از رابطه ذیل و بر حسب میکرومول بر گرم بافت تازه محاسبه گردید (۲۵) (رابطه ۱).

$$\text{فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (Unit/mg)} = \frac{100-\left[\frac{(\text{OD Control}-\text{OD Sample})}{\text{OD Control}}*100\right]}{50} \quad (۱)$$

فعالیت آنزیم APX: اندازه‌گیری فعالیت آنزیم APX با استفاده از روش ناکانو و آسادا (۱۹۸۱) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۲۰ میکرولیتر سوپرناتانت، ۷۷۰ میکرولیتر بافرفسفات ۵۰ میلی‌مولار، ۱۰۰ میکرولیتر EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، ۱۰۰ میکرولیتر آسکوربیک اسید ۵ میلی‌مولار و ۱۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۰/۱ میلی‌مولار بود. واکنش آنزیمی به صورت تغییرات جذب بر زمان (OD/min) در طول موج ۲۹۰ نانومتر در مدت یک دقیقه ثبت گردید. یک واحد آنزیمی معادل تجزیه یک میکرومول آسکوربات در مدت زمان یک دقیقه و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد است (ناکانو و آسادا، ۱۹۸۱) که بر حسب میکرومول بر گرم بافت تازه محاسبه می‌گردد (۲۶).

فعالیت آنزیم POD: سنجش فعالیت آنزیم POD با استفاده از روش این و همکاران (۲۰۰۷) انجام شد. ابتدا ۴۹۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۳۲۵ میلی‌مولار و ۴۹۰ میکرولیتر محلول گایاکول ۴۵ میلی‌مولار با هم مخلوط شده و سپس ۲۰ میکرولیتر از سوپرناتانت به آن اضافه شد. تغییرات جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در مدت زمان یک دقیقه و بر حسب میکرومول بر گرم بافت تازه ثبت گردید (۲۷).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: این پژوهش در قالب آزمایش کرت‌های خرد شده بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. ضرایب همبستگی با استفاده از روش پیرسون محاسبه گردید. تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS Ver 16. و Excel صورت گرفت و در نهایت میانگین‌ها با آزمون LSD مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در جدول ۲ ارائه شده است. بررسی اثرات تنش خشکی نشان داد تنها در تیپ شیمیایی پنو تنش خشکی تأثیر معنی‌داری در سطح ۵ درصد بر آنزیم کاتالاز داشت در حالی‌که دیگر آنزیم‌ها در هر دو تیپ شیمیایی درکش و پنو تحت‌تأثیر تنش خشکی قرار نگرفتند. مقایسه میانگین کاتالاز تیپ شیمیایی پنو به گونه‌ای بود که با افزایش سطوح تنش میزان فعالیت آنزیم کاهش معنی‌داری پیدا کرده است به‌طوری‌که بالاترین سطح کاتالاز در تیمار شاهد مشاهده شد (۰/۲۰۱ میکرومول بر گرم وزن تر) (جدول ۳). هم‌چنین نتایج تجزیه واریانس محلول‌پاشی سلنیم نشان داد فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیپ شیمیایی پنو تفاوت معنی‌داری داشت اما فعالیت دیگر آنزیم‌ها تحت‌تأثیر محلول‌پاشی قرار نگرفت (جدول ۲). مقایسه میانگین SOD در تیپ شیمیایی پنو نشان می‌دهد فعالیت SOD در غلظت ۲۰ میلی‌گرم سلنیم (۰/۳۳۷ میکرومول بر گرم وزن تر) تفاوت معنی‌داری با غلظت ۵ میلی‌گرم دارد اما بین غلظت ۲۰ میلی‌گرم با شاهد (۰/۳۳۸ میکرومول بر گرم وزن تر) اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۴). از طرفی بررسی اثرات آبیاری مجدد نشان داد فعالیت آنزیمی پراکسیداز در تیپ شیمیایی درکش تفاوت معنی‌داری داشت اما دیگر آنزیم‌ها در هر دو تیپ شیمیایی تحت‌تأثیر آبیاری مجدد

نبودند (جدول ۲). مقایسه میانگین پراکسیداز تیپ شیمیایی درکش نشان داد پس از آبیاری مجدد فعالیت آن به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرده است (۰/۱۲۹ میکرومول بر گرم وزن تر) اما پس از آن مجدداً فعالیت آن افزایش یافته است (۰/۱۶۵ میکرومول بر گرم وزن تر) (جدول ۵). نتایج تجزیه واریانس اثرات متقابل تنش خشکی و محلول‌پاشی سلنیم نشان داد به ترتیب در سطح ۱ و ۵ درصد اثر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در هر دو تیپ شیمیایی مرزه جنگلی داشت (جدول ۲). بررسی اثرات متقابل تنش خشکی و آبیاری مجدد نشان داد در تیپ شیمیایی درکش تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیمی آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز داشتند (۰/۰۵ درصد) در حالی‌که در تیپ شیمیایی پنو اثر متقابل محلول‌پاشی سلنیم و آبیاری مجدد تاثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیمی کاتالاز (۰/۰۵ درصد) و پراکسیداز (۰/۰۵ درصد) داشت (جدول ۲). از طرفی اثر متقابل تنش خشکی با محلول‌پاشی سلنیم و آبیاری مجدد بر فعالیت هیچ‌کدام از آنزیم‌ها تاثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۲).

جدول ۲- تجزیه واریانس آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تیپ‌های شیمیایی مرزه جنگلی تحت تنش خشکی، محلول‌پاشی سلنیم و آبیاری مجدد.

Table 2. Analysis of variance of antioxidant enzymes activity of forest savory chemotypes subjected to drought stress, selenium and rewatering.

منبع تغییرات S.O.V	درکش Darkesh				پنو Pono			
	کاتالاز CAT (µ mol/ g FW)	آسکوربات پراکسیداز APX (µ mol/ g FW)	پراکسیداز POD (µ mol/ g FW)	سوپراکسید دیسموتاز SOD (µ mol/ g FW)	کاتالاز CAT (µ mol/ g FW)	آسکوربات پراکسیداز APX (µ mol/ g FW)	پراکسیداز POD (µ mol/ g FW)	سوپراکسید دیسموتاز SOD (µ mol/ g FW)
تنش Drought	0.0034^{ns}	0.0033^{ns}	0.0016^{ns}	0.0002^{ns}	0.0074*	0.0018^{ns}	0.002^{ns}	0.002^{ns}
بلوک Block	0.0033	0.0087	0.0018	0.0002	0.0001	0.0021	0.0008	0.0011
خطای a Error	0.0015	0.0021	0.0009	0.0008	0.001	0.0023	0.0031	0.0005
محلول‌پاشی Selenium	0.0004^{ns}	0.0012^{ns}	0.0053^{ns}	0.0009^{ns}	0.0013^{ns}	0.003^{ns}	0.0093^{ns}	0.0014*
تنش*محلول‌پاشی D*S	0.0031^{ns}	0.0026^{ns}	0.0124**	0.0002^{ns}	0.0006^{ns}	0.0018^{ns}	0.0057*	0.0009^{ns}
خطای b Error	0.003	0.0029	0.004	0.0004	0.0009	0.0072	0.0029	0.0002
آبیاری مجدد Rewatering	0.0021^{ns}	0.0027^{ns}	0.0090*	0.0001^{ns}	0.0014^{ns}	0.0038^{ns}	0.0006^{ns}	0.0009^{ns}
خطای c_1 Error	0.0015	0.0023	0.0033	0.0003	0.0011	0.0015	0.004	0.0003
تنش* آبیاری مجدد D*R	0.0052^{ns}	0.0037*	0.0047^{ns}	0.0014*	0.0005^{ns}	0.003^{ns}	0.0024^{ns}	0.0012^{ns}
محلول‌پاشی* آبیاری مجدد S*R	0.0006^{ns}	0.0006^{ns}	0.0061^{ns}	0.0001^{ns}	0.0031*	0.0014^{ns}	0.0124**	0.0003^{ns}
تنش*محلول‌پاشی* آبیاری مجدد D*S*R	0.0024^{ns}	0.0009^{ns}	0.0026^{ns}	0.0004^{ns}	0.0018^{ns}	0.0002^{ns}	0.0033^{ns}	0.0006^{ns}
خطای c_2 Error	0.0029	0.0011	0.0024	0.0004	0.0008	0.0014	0.0018	0.0004

**، * و ns به ترتیب معنی‌داری در سطح خطای ۰/۰۱، ۰/۰۵ و غیرمعنی‌دار

**, * and ns significant at 0.05, 0.01 and non-significant, respectively

جدول ۳- مقایسات میانگین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تیپ‌های شیمیایی مرزه جنگلی تحت تنش خشکی.

Table 3. Mean comparison of antioxidant enzymes activity of forest savory chemotypes subjected to drought stress.

SOD (µ mol/g FW)	POD (µ mol/g FW)	APX (µ mol/g FW)	CAT (µ mol/g FW)	Drought	تیپ شیمیایی Chemotype
0.331	0.15	0.298	0.189	WW	درکش Darkesh
0.328	0.136	0.282	0.17	25	
0.333	0.149	0.302	0.169	40	
0.013	0.03	0.02	0.029	LSD value	
0.342	0.137	0.282	0.201[a**]	WW*	پنو Pono
0.326	0.145	0.292	0.178[b]	25	
0.331	0.128	0.298	0.169[b]	40	
0.012	0.027	0.023	0.016	LSD value	

*WW، ۲۵ و ۴۰ به ترتیب شاهد، ۲۵ روز بدون آبیاری (تنش متوسط) و ۴۰ روز بدون آبیاری (تنش شدید)

** حروف غیر مشابه در هر ستون به مفهوم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد به روش آزمون LSD می‌باشد

* WW, 25 and 40 well watered, moderate stress and severe stress, respectively

** Means with different letters in each column are significantly different at the 5% probability level in LSD Test

جدول ۴- مقایسات میانگین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تیپ‌های شیمیایی مرزه جنگلی تحت محلول‌پاشی سلنیم.

Table 4. Mean comparison of antioxidant enzymes activity of forest savory chemotypes subjected to selenium.

SOD (µ mol/g FW)	POD (µ mol/g FW)	APX (µ mol/g FW)	CAT (µ mol/g FW)	Selenium (mg)	تیپ شیمیایی Chemotype
0.324	0.159	0.302	0.174	0	درکش Darkesh
0.334	0.145	0.292	0.18	5	
0.333	0.131	0.289	0.173	20	
0.013	0.03	0.02	0.029	LSD value	
0.338	0.153	0.298	0.175	0	پنو Pono
0.325	0.116	0.295	0.188	5	
0.337	0.141	0.279	0.185	20	
0.012	0.027	0.023	0.016	LSD value	

** حروف غیر مشابه در هر ستون به مفهوم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد به روش آزمون LSD می‌باشد

** Means with different letters in each column are significantly different at the 5% probability level in LSD Test

جدول ۵- مقایسات میانگین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تیپ‌های شیمیایی مرزه جنگلی تحت آبیاری مجدد.

Table 5. Mean comparison of antioxidant enzymes activity of forest savory chemotypes subjected to rewatering.

SOD (µ mol/g FW)	POD (µ mol/g FW)	APX (µ mol/g FW)	CAT (µ mol/g FW)	Rewatreing	تیپ شیمیایی Chemotype
0.331	0.141	0.283	0.175	BR*	درکش Darkesh
0.331	0.129	0.3	0.167	R1	
0.33	0.165	0.3	0.185	R5	
0.013	0.03	0.02	0.029	LSD value	
0.328	0.138	0.3	0.185	BR	پنو Pono
0.333	0.132	0.277	0.175	R1	
0.339	0.141	0.295	0.188	R5	
0.012	0.027	0.023	0.016	LSD value	

* BR، R1 و R5 به ترتیب قبل از بازیابی، آبیاری مجدد (۱ روز پس از آبیاری) و ۵ روز پس از آبیاری

** حروف غیر مشابه در هر ستون به مفهوم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد به روش آزمون LSD می‌باشد

* BR, R1, R5 before rewaternig, rewaternig and 5 day after rewatering, respectively

** Means with different letters in each column are significantly different at the 5% probability level in LSD Test

تأثیر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: گیاهان در پاسخ به تنش‌های محیطی مانند خشکی سازوکار دفاعی خاصی را انجام می‌دهند که با مجموعه‌ای از تغییرات ریخت‌شناسی، فیزیولوژیکی، آنتی‌اکسیدان و مولکولی همراه است (۵). سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاهان یکی از مهم‌ترین سازوکارهای گیاهان برای مقابله با شرایط کم‌آبی است. بررسی‌ها نشان داده است فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با تحمل گیاهان به خشکی در ارتباط است (۲۸). سوپراکسید دیسموتاز اولین سد دفاعی گیاهان برای حذف رادیکال‌های آزاد است (۲۹). این آنزیم نقش اصلی در سیستم دفاع آنزیمی در حذف سوپراکساید (O_2^-) دارد (۳۰). سوپراکسید دیسموتاز رادیکال سوپراکساید تولید شده تحت تنش را در سلول به پراکسید هیدروژن و اکسیژن تجزیه می‌کند (۳۱). همان‌طور که اشاره شد محصول نهایی پراکسید هیدروژن می‌باشد. در نهایت پراکسید هیدروژن تولید شده توسط آنزیم کاتالاز و پراکسیداز (۳۲) و هم‌چنین آسکوربات پراکسیداز نیز به عنوان عامل جداکننده آنزیمی (۳۳) تبدیل به ملکول آب و اکسیژن می‌شود.

گزارش‌های مربوط به فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نشان می‌دهد گونه‌های گیاهی بر اساس شدت تنش خشکی، واکنش متفاوتی دارند (۳) یعنی ممکن است افزایش یابد (۳۱)؛ بدون تغییر باقی مانده (۳۴) یا حتی کاهش یابد (۳۵) و یا این‌که روند افزایشی-کاهشی/کاهشی-افزایشی داشته باشند (۳۶ و ۳۷). بر این اساس به‌نظر می‌رسد تفاوت پاسخ سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌تواند به گونه‌های گیاهی، شدت تنش و یا دوره رویشی گیاه وابسته باشد. مقایسه و بررسی سیستم آنتی‌اکسیدانی تیپ‌های شیمیایی مرزه جنگلی تحت تنش نیز نشان داد هر دو تیپ شیمیایی به دلیل عدم تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مقاومت به خشکی بالایی دارند با این تفاوت که نوع پاسخ دفاعی به تنش از الگوی مشابهی پیروی نمی‌کند. گیاه

مرزه بومی مناطق گرمسیری است که توانایی خوبی در تحمل به شرایط کم آبی دارد (۲۰) و از طرفی این گیاه دگرگشن است (۳۸) بنابراین، می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری کرد که پایه‌های مختلف از نظر ژنتیکی با یکدیگر متفاوت بوده، در نتیجه از نظر تحمل به تنش و تولید متابولیت‌ها با یکدیگر متفاوت هستند (۳۹).

تأثیر آبیاری مجدد بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: آبیاری مجدد به‌عنوان سازوکاری برای ترمیم کارکردهای فیزیولوژیکی که در اثر تنش آب کاهش یافته است عمل می‌کند (۴۰)؛ به عبارتی بازیابی یک مؤلفه مهم برای سازگاری گیاهان به خشکی می‌باشد (۴۱). با این حال سازوکار پاسخ گیاهان به خشکی و آبیاری مجدد تاکنون به طور کامل شناخته نشده است (۴۲). سطح پایین‌تر ROS و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پس از آبیاری مجدد نشان دهنده پتانسیل بازیابی همراه با بهبود فعالیت‌های فیزیولوژیکی در گیاه می‌باشد (۴۳). اما از طرفی بیان و جیانگ (۲۰۰۹) گزارش کردند روند بازیابی پس از آبیاری مجدد لزوماً نمی‌تواند تولید ROS را محدود کند (۴۴). به عبارتی بازیابی گیاه بعد از آبیاری مجدد می‌تواند تحت‌تأثیر شدت تنش، زمان وقوع تنش، ژنوتیپ و شرایطی محیطی باشد (۴۵ و ۴۶). سطح ROS در طول دوره تنش خشکی و بازیابی ممکن است پتانسیل تنش اکسیداتیو یا سیگنال‌دهی در گیاه باشد (۴۷). یعنی آبیاری مجدد زمانی می‌تواند کارایی و اثربخشی داشته باشد که سلول‌های برگ تحت تنش خشکی پس از آبیاری مجدد، هم‌چنان ظرفیت فعالیت‌های فیزیولوژیکی و زیست- شیمیایی خود را حفظ کنند. بررسی روند تغییرات فعالیت آنزیم‌ها تحت آبیاری مجدد نشان داد پس از آبیاری مجدد میزان فعالیت آنزیمی به غیر از آنزیم آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در هر دو تیپ شیمیایی کاهش یافت در حالی‌که فعالیت SOD بدون تغییر و آسکوربات پراکسیداز بعد از آبیاری مجدد افزایش یافت. بر اساس نتایج بدست آمده افزایش، کاهش و عدم تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در تیپ‌های شیمیایی مرزه جنگلی نشان‌دهنده آن است که متابولیسم آنتی‌اکسیدانی متفاوتی در واکنش به خشکی و بازیابی در این گیاه وجود دارد که واکنش قابل‌توجهی به آبیاری مجدد نداشته است.

تأثیر سلنیم بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: پژوهش‌های اخیر نشان داده‌اند سلنیوم (Se) نه تنها رشد و توسعه گیاه را ارتقاء می‌دهد، بلکه مقاومت و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان در محیط های تنش‌زا را نیز افزایش می‌دهند (۴۸). هر چند Se برای گیاهان عالی لازم نمی‌باشد و سمیت سلنیوم در غلظت‌های بالا برای گیاهان کاملاً محرز بوده و نوعی تنش محسوب می‌گردد ولی اثرات سودمند غلظت‌های پایین سلنیوم در حفاظت گیاهان در برابر تنش‌های غیرزیستی، گونه‌های فعال اکسیژن و فعال‌سازی سازوکارهای کاهنده تنش‌های اکسیداتیو گزارش شده است. نتایج پژوهش حاضر نشان داد واکنش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تیپ‌های شیمیایی مرزه جنگلی متفاوت بود اما تفاوت معنی‌داری بین سطوح مختلف مشاهده نگردید. پاسخ گیاهان به غلظت‌های مختلف سلنیم تحت شرایط تنش تا حدود زیادی به مقاومت گیاه بستگی دارد به گونه‌ای که اگر گیاه مقاومت بالایی به تنش خشکی داشته باشد به کارگیری سلنیم باعث آسیب به گیاه نیز خواهد شد. به‌نظر می‌رسد تیپ‌های شیمیایی مرزه جنگلی با توجه به مقاومت بالایی که نسبت به خشکی دارند عکس‌العمل مناسبی نسب به محلول‌پاشی سلنیم نداشته باشند.

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج به‌دست آمده می‌توان اشاره کرد که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه مرزه جنگلی تحت تنش خشکی و آبیاری مجدد نگرفته است به‌عبارتی پاسخ متفاوت آنزیم‌ها به تنش و زمان آبیاری مجدد به گونه گیاهی، شدت تنش و میزان رادیکال‌های آزاد تولید شده وابسته است و از طرفی با توجه به مقاومت بالای مرزه جنگلی به تنش خشکی، محلول‌پاشی سلنیم به عنوان کاهنده اثرات تنش، نقش مؤثری نداشت که نشان می‌دهد کاربرد سلنیم در گیاهان مقاوم به خشکی ضروت ندارد و یا حتی ممکن است آسیب به گیاه نیز برساند. بنابراین به‌نظر می‌رسد مرزه جنگلی توانایی تحمل به شرایط خشکی را به خوبی دارد بنابراین می‌توان این گونه را به‌عنوان یک محصول با نیاز آبی کم که دارای ویژگی‌های منحصربه‌فرد گیاه شیمیایی نیز می‌باشد وارد چرخه زراعی در کشور ایران کرد.

منابع

1. Enenkel, M., See, L., Bonifacio, R., Boken, V., Chaney, N., Vinck, P. ... and Anderson, M. 2015. Drought and food security–Improving decision-support via new technologies and innovative collaboration. Glob. Food Sec. 4: 51-55.
2. Singh, M., Kumar, J., Singh, S., Singh, V.P. and Prasad, S.M. 2015. Roles of osmoprotectants in improving salinity and drought tolerance in plants: a review. Rev. Environ. Sci. Biotechnol. 14: 3. 407-426.
3. Galle, A., Florez-Sarasa, I., Thameur, A., De Paepe, R., Flexas, J. and Ribas-Carbo, M. 2010. Effects of drought stress and subsequent rewatering on photosynthetic and respiratory pathways in *Nicotiana sylvestris* wild type and the mitochondrial complex I-deficient CMSII mutant. J. Exp. Bot. 61: 3. 765-775.
4. Niinemets, Ü. and Keenan, T. 2014. Photosynthetic responses to stress in Mediterranean evergreens: mechanisms and models. Environ. Exp. Bot. 103: 24-41.
5. Ghorbanpour, M., Hatami, M. and Khavazi, K. 2013. Role of plant growth promoting rhizobacteria on antioxidant enzyme activities and tropane alkaloid production of *Hyoscyamus niger* under water deficit stress. Turk. J. Biol. 37: 3. 350-360.
6. Ashraf, M.F.M.R. and Foolad, M.R. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environ. Exp. Bot. 59: 2. 206-216.
7. Jaleel, C.A., Manivannan, P., Lakshmanan, G.M.A., Gomathinayagam, M. and Panneerselvam, R. 2008. Alterations in morphological parameters and photosynthetic pigment responses of *Catharanthus roseus* under soil water deficits. Colloids Surf. B. 61: 2. 298-303.
8. Reddy, A.R., Chaitanya, K.V. and Vivekanandan, M. 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. J. Plant Physiol. 161: 11. 1189-1202.
9. Del Blanco, I.A., Rajaram, S., Kronstad, W.E. and Reynolds, M.P. 2000. Physiological performance of synthetic hexaploid wheat-derived populations. Crop Sci. 40: 5. 1257-1263.
10. Smirnoff, N. 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. New Phytol. 125: 27-58.
11. Asada, K. 1999. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. Annu. Rev. Plant Biol. 50: 1. 601-639.
12. Schwalm, C.R., Anderegg, W.R., Michalak, A.M., Fisher, J.B., Biondi, F., Koch, G. and Huntzinger, D.N. 2017. Global patterns of drought recovery. Nature. 548: 7666. 202-205.
13. Galmés, J., Medrano, H. and Flexas, J. 2007. Photosynthetic limitations in response to water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms. New Phytol. 175: 1: 81-93.

14.Yao, X., Chu, J. and Wang, G. 2009. Effects of selenium on wheat seedlings under drought stress. Biol Trace Elem Res. 130: 3. 283-290.
15.White, P.J., Bowen, H.C., Parmaguru, P., Fritz, M., Spracklen, W.P., Spiby, R.E., Mecham, M.C., Mead, A., Harriman, M., Trueman, L.J., Smith, B.M., Thomas, B. and Broadley, M.R. 2004. Interaction between selenium and sulphur nutrition in *Arabidopsis thaliana*. Plant Physiol. 55: 1927-1937.
16.Hasanuzzaman, M., Nahar, K. and Fujita, M. 2014. Silicon and selenium: two vital trace elements that confer abiotic stress tolerance to plants. P 377-422, In P. Ahmad, and S. Rasool (eds), Emerging technologies and management of crop stress tolerance, Academic Press. Cambridge.
17.Mozaffarian, V. 1996. A dictionary of Iranian plant names: Latin, English, Persian. Farhang Mo'aser. Press, 740p. (In Persian)
18.Jamzad, Z. 2009. *Thymus* and *Satureja* species of Iran. Research Institute of Forests and Rangelands. Press, 171p. (In Persian)
19.Karimi, E., Ghasemnezhad, A., Hadian, J. and Ghorbanpour, M. 2015. Assessment of essential oil constituents and main agro-morphological variability in *Satureja mutica* populations. Braz. J. Bot. 39: 1. 77-85.
20.Inotai, K., Radácsi, P., Czövek, P., Sárosi, S., Ladányi, M. and Németh, É. 2012. Lipid peroxidation and changes in the activity of superoxide dismutase caused by water deficit in basil (*Ocium basilicum* L.) and savory (*Satureja hortensis* L.). J. Hortic. Sci. Biotechnol. 87: 5. 499-503.
21.Shariat, A., Karimzadeh, G., Assareh, M.H. and Hadian, J. 2018. Metabolite profiling and molecular responses in a drought-tolerant savory, *Satureja rechingeri* exposed to water deficit. 3 Biotech. 8: 11. 477.
22.Mosavi, S.Z. 2016. The effect of drought stress on physiological characteristics and quantitative and qualitative changes of essential oil of *Satureja rechingeri* J. M.Sc. thesis. Faculty of Sciencem, Lorestan University. (In Persian)
23.Azizi, I., Esmaielpour, B. and Fatemi, H. 2020. Effect of foliar application of selenium on morphological and physiological indices of savory (*Satureja hortensis*) under cadmium stress. Food Sci. Nutr. 8: 12. 6539-6549.
24.Luck, H. 1974. Methods in Enzymatic Analysis II (ed.). Academic Press. New York. USA, 885p.
25.Giannopolitis, C.N. and Ries, S.K. 1977. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plantsPlant Physiol. 59: 2. 309-314.
26.Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiol. 22: 5. 867-880.
27.In, B.C., Motomura, S., Inamoto, K., Doi, M. and Mori, G. 2007. Multivariate analysis of relations between preharvest environmental factors, postharvest morphological and physiological factors, and vase life of cut 'Asami Red' roses. J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 76: 66-72.
28.Xu, Z., Zhou, G. and Shimizu, H. 2010. Plant responses to drought and rewatering. Plant Signal. Behav. 5: 6. 649-654.
29.Gill, S.S. and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiol. Biochem. 48: 12. 909-930.
30.Bowler, C., Montagu, M.V. and Inze, D. 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. Annu. Rev. Plant Biol. 43: 1. 83-116.
31.Abid, M., Ali, S., Qi, L.K., Zahoor, R., Tian, Z., Jiang, D. ... and Dai, T. 2018. Physiological and biochemical changes during drought and recovery periods at tillering and jointing stages in wheat (*Triticum aestivum* L.). Sci. Rep. 8: 1. 1-15.
32.Sofo, A., Dichio, B., Xiloyannis, C. and Masia, A. 2005a. Antioxidant defences in olive trees during drought stress: changes in activity of some antioxidant enzymes. Funct. Plant Biol. 32: 1. 45-53.

33.Willekens, H., Chamnongpol, S., Davey, M., Schraudner, M., Langebartels, C., Van Montagu, M. and Van Camp, W. 1997. Catalase is a sink for H_2O_2 and is indispensable for stress defence in C3 plants. EMBO J. 16: 16. 4806-4816.
34.Gunes, A., Pilbeam, D.J., Inal, A. and Coban, S. 2008. Influence of silicon on sunflower cultivars under drought stress, I: Growth, antioxidant mechanisms, and lipid peroxidation. Commun Soil Sci Plant Anal. 39: 13-14. 1885-1903.
35.Tan, Y., Liang, Z., Shao, H. and Du, F. 2006. Effect of water deficits on the activity of antioxidative enzymes and osmoregulation among three different genotypes of *Radix Astragali* at seeding stage. Colloids Surf. B. 49: 1. 60-65.
36.Fu, J. and Huang, B. 2001. Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. Environ. Exp. Bot. 45: 2. 105-114.
37.Ghorbanpour, M., Mohammadi, H. and Kariman, K. 2020. Nanosilicon-based recovery of barley (*Hordeum vulgare*) plants subjected to drought stress. Environ. Sci. Nano. 7: 2. 443-461.
38.Hadian, J., Ebrahimi, S.N. and Salehi, P. 2010. Variability of morphological and phytochemical characteristics among *Satureja hortensis* L. accessions of Iran. Ind Crops Prod. 32: 1. 62-69.
39.Weckwerth, W. 2007. Metabolomics: methods and protocols. Humana Press, New Jersey, USA, 312p.
40.Ramírez, F., Escalante, M., Vigliocco, A., Pérez-Chaca, M.V., Reginato, M., Molina, A. ... and Alemano, S. 2020. Biochemical and molecular approach of oxidative damage triggered by water stress and rewatering in sunflower seedlings of two inbred lines with different ability to tolerate water stress. Funct. Plant Biol. 47: 727-743.
41.Vanková, R., Dobrá, J. and Štorchová, H. 2012. Recovery from drought stress in tobacco: an active process associated with the reversal of senescence in some plant parts and the sacrifice of others. Plant Signal. Behav. 7: 1. 19-21.
42.Xu, Z., Zhou, G. and Shimizu, H. 2009. Are plant growth and photosynthesis limited by pre-drought following rewatering in grass?. J. Exp. Bot. 60: 13. 3737-3749.
43.Upadhyaya, H., Panda, S.K. and Dutta, B.K. 2008. Variation of physiological and antioxidative responses in tea cultivars subjected to elevated water stress followed by rehydration recovery. Acta Physiol. Plant. 30: 4. 457-468.
44.Bian, S. and Jiang, Y. 2009. Reactive oxygen species, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in leaves and roots of Kentucky bluegrass in response to drought stress and recovery. Sci. Hort. 120: 2. 264-270.
45.Palliotti, A., Tombesi, S., Frioni, T., Famiani, F., Silvestroni, O., Zamboni, M. and Poni, S. 2014. Morpho-structural and physiological response of container-grown Sangiovese and Montepulciano cvv.(*Vitis vinifera*) to re-watering after a pre-veraison limiting water deficit. Funct. Plant Biol. 41: 6. 634-647.
46.Pou, A., Flexas, J., Alsina, M. D. M., Bota, J., Carambula, C., De Herralde, F. ... and Rusjan, D. 2008. Adjustments of water use efficiency by stomatal regulation during drought and recovery in the drought-adapted Vitis hybrid Richter-110 (*V. berlandieri*× *V. rupestris*). Physiol. Plant. 134: 2. 313-323.
47.Foyer, C.H. and Noctor, G. 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.
48.Broadley, M., Brown, P., Cakmak, I., Ma, J. F., Rengel, Z. and Zhao, F. 2012. Beneficial elements. P 249-269, In: H. Marschner, Marschner's mineral nutrition of higher plants, Academic Press.