

The effect of biological treatments of putrescine and salicylic acid on enhancing rosemary resistance to salinity through activation of secondary metabolites

Asad Safari¹, Davood Samsampour^{2*}  and Mojgan Solemanizadeh³

1- MSc, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran

2*- Corresponding Author, Prof., Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran, E-mail: samsampoor@hormozgan.ac.ir

3- Assistant Prof., Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran

Received: 06.07.2025

Revised: 28.08.2025

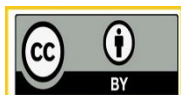
Accepted: 14.09.2025

Abstract

Background and Objective: Soil salinity is one of the most important abiotic stresses that restricts plant growth and yield by disturbing ionic balance, reducing water absorption, and increasing the production of reactive oxygen species (ROS). Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), as a medicinal and aromatic plant, has a high capacity for producing secondary metabolites such as phenols, flavonoids, and essential oils, which play an essential role in plant defense against stresses. Recent studies have shown that the application of growth-regulating compounds such as putrescine (a natural polyamine) and salicylic acid (a key phytohormone) can enhance plant resistance to unfavorable conditions by stimulating defense pathways and increasing the production of antioxidant compounds. Therefore, the aim of this research was to evaluate the effect of biological treatments with putrescine and salicylic acid on rosemary tolerance to salinity through the induction of secondary metabolites and the improvement of defense mechanisms.

Methodology: In this study, the effects of putrescine (at concentrations of 0, 0.5, 1, and 2 mM) and salicylic acid (at concentrations of 0, 0.5, 0.7, and 1 mM) under salinity stress (0, 75, 125, and 150 mM NaCl) were evaluated on the physiological traits, biochemical parameters, and metabolite variations of rosemary. The experiment was conducted as a factorial in a completely randomized design with three replications.

Results: The results showed that with increasing salinity concentration, proline content in the plant increased significantly. Under salinity stresses of 75, 125, and 150 mM, treatments with putrescine at 2 mM and salicylic acid at 1 mM increased proline content by 0.138, 0.166, and 0.218 mg g⁻¹ fresh weight, respectively, corresponding to increases of 78.98%, 82.53%, and 59.91% compared to the control. In addition, salinity increment caused a significant increase in carbohydrate content, and putrescine treatment at 0.5 mM under non-stress conditions enhanced carbohydrate accumulation. Under 75 and 125 mM salinity, the highest carbohydrate content was observed in the salicylic acid treatment at 1 mM, reaching 3.13 and 3.38 mg g⁻¹ fresh weight, which corresponded to increases of 138.93% and 77.89% compared to the control. Under 150 mM salinity, the combined treatment of putrescine (0.5 mM) and salicylic acid (0.7



Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (<https://ijfrpr.areeo.ac.ir/>) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

mM) resulted in the highest proline content (3.3 mg g^{-1}). Under non-stress conditions, putrescine at 0.5 mM increased peroxidase activity by 86.53%. At 75 mM salinity, putrescine at 1 mM enhanced peroxidase activity by 23.47%, whereas at 150 mM salinity, the combined treatment of putrescine (0.5 mM) and salicylic acid (0.7 mM) increased peroxidase activity by 116.1%. Furthermore, the analysis of defense-related compounds showed that the combined treatment of putrescine (2 mM) and salicylic acid (1 mM) resulted in the highest rosmarinic acid content under 150 mM salinity. This treatment also significantly increased terpenoid compounds such as α -pinene, 1,8-cineole, borneol, and camphor. The increase in 1,8-cineole under this treatment indicates its positive effect on the synthesis of volatile compounds with antioxidant and antimicrobial properties.

Conclusion: The findings of this study demonstrated that biological treatments with putrescine and salicylic acid play a significant role in enhancing the salinity tolerance of rosemary plants. These compounds improved the plant's physiological balance under salt stress by increasing the production of secondary metabolites such as phenols and flavonoids, reducing oxidative damage, and activating antioxidant-related defense pathways. Therefore, the application of these treatments can be recommended as an eco-friendly, low-cost, and effective strategy to improve the tolerance of medicinal and aromatic plants to environmental stresses, especially salinity, within sustainable agriculture programs and the production of high-value medicinal crops.

Keywords: Proline, secondary metabolites, caffeic acid, terpenoids, stress tolerance.

تأثیر تیمارهای زیستی پوترسین و سالیسیلیک اسید بر افزایش مقاومت رزماری در برابر شوری از طریق فعال سازی متابولیت های ثانویه

اسد صفری^۱، داود صمصام پور^{۲*}  و مژگان سلیمانی زاده^۳

۱- کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

۲- نویسنده مسئول، استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

پست الکترونیک: samsampoor@hormozgan.ac.ir

۳- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۲۳

تاریخ اصلاح نهایی: ۱۴۰۴/۰۶/۰۶

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۱۵

چکیده

سابقه و هدف: شوری خاک یکی از مهم ترین تنش های غیرزیستی است که رشد و عملکرد گیاهان را با اختلال در تعادل یونی، کاهش جذب آب و افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) محدود می سازد. رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) به عنوان گیاهی دارویی و معطر، دارای ظرفیت بالایی در تولید متابولیت های ثانویه مانند فنول ها، فلاونوئیدها و اسانس هاست که نقش مؤثری در دفاع گیاه در برابر تنش ها ایفا می کنند. مطالعات اخیر نشان می دهند که استفاده از ترکیبات تنظیم کننده رشد مانند پوترسین (یک پلی آمین طبیعی) و سالیسیلیک اسید (یک فیتوهورمون کلیدی) می تواند با تحریک مسیرهای دفاعی و افزایش تولید ترکیبات آنتی اکسیدانی، مقاومت گیاهان را در برابر شرایط نامساعد بهبود بخشد. از این رو، هدف از این پژوهش بررسی تأثیر تیمارهای زیستی پوترسین و سالیسیلیک اسید بر تحمل به شوری در گیاه رزماری از طریق القای متابولیت های ثانویه و بهبود سازوکارهای دفاعی بود. مواد و روش ها: در این تحقیق، تأثیر تیمارهای پوترسین (در غلظت های ۰، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی مولار) و سالیسیلیک اسید (در غلظت های ۰، ۰/۵، ۰/۷ و ۱ میلی مولار) تحت تنش شوری (در غلظت های ۰، ۷۵، ۱۲۵ و ۱۵۰ میلی مولار NaCl) بر صفات فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و تغییرات متابولیت های گیاه رزماری در قالب طرح فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار ارزیابی شد.

نتایج و یافته ها: نتایج نشان داد که با افزایش غلظت شوری، میزان پرولین در گیاه به طور قابل توجهی افزایش یافت. در تنش شوری ۷۵، ۱۲۵ و ۱۵۰ میلی مولار، تیمارهای پوترسین با غلظت ۲ میلی مولار و سالیسیلیک اسید با غلظت ۱ میلی مولار به ترتیب باعث افزایش ۰/۱۶۶، ۰/۱۳۸، ۰/۲۱۸ و ۰/۱۶۶ میلی گرم در گرم وزن تر در میزان پرولین شدند که در مقایسه با شاهد به ترتیب ۷۸/۹۸، ۸۲/۵۳ و ۵۹/۹۱ درصد افزایش نشان دادند. همچنین، افزایش غلظت شوری باعث افزایش میزان کربوهیدرات در گیاه شد و تیمار پوترسین با غلظت ۰/۵ میلی مولار در شرایط عدم تنش شوری موجب افزایش کربوهیدرات ها گردید. در تنش شوری ۷۵ و ۱۲۵ میلی مولار، بیشترین میزان کربوهیدرات در تیمار سالیسیلیک اسید با غلظت ۱ میلی مولار مشاهده شد که به ترتیب ۳/۱۳ و ۳/۳۸ میلی گرم در گرم وزن تر بود. این تیمارها باعث افزایش ۱۳۸/۹۳ و ۷۷/۸۹ درصدی کربوهیدرات در مقایسه با شاهد در این شرایط شدند. در تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار، تیمار ترکیبی پوترسین با غلظت ۰/۵ میلی مولار و سالیسیلیک اسید با غلظت ۰/۷ میلی مولار بیشترین افزایش را در میزان پرولین به میزان ۳/۳ میلی گرم در گرم وزن داد. در شرایط عدم تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار، تیمار پوترسین با غلظت ۰/۵ میلی مولار به میزان ۸۶/۵۳ درصد باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز شد. در تنش شوری ۷۵ میلی مولار، تیمار پوترسین با غلظت ۱ میلی مولار باعث افزایش ۲۳/۴۷ درصدی فعالیت آنزیم پراکسیداز گردید، در حالی که در سطح شوری ۱۵۰ میلی مولار، کاربرد ترکیبی پوترسین (۰/۵ میلی مولار) و سالیسیلیک اسید (۰/۷ میلی مولار) موجب افزایش ۱/۱۱۶ درصدی

فعالیت این آنزیم شد. در نهایت، بررسی ترکیبات دفاعی گیاه نشان داد که تیمار ترکیبی پوترسین با غلظت ۲ میلی مولار و سالیسیلیک اسید با غلظت ۱ میلی مولار بیشترین مقدار رزمارینیک اسید را در تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار داشت. این تیمار همچنین موجب افزایش چشمگیر ترکیبات ترپنوئیدی مانند آلفا-پینن، ۱،۸-سینئول، بورنئول و کامفور گردید. البته افزایش ۱،۸-سینئول در این تیمار نشان دهنده تأثیر مثبت آن بر سنتز ترکیبات فرار با خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی است.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان می دهند که تیمارهای زیستی با استفاده از پوترسین و سالیسیلیک اسید نقش مؤثری در افزایش مقاومت گیاه رزماری به تنش شوری دارند. این ترکیبات با افزایش تولید متابولیت های ثانویه مانند فنول ها و فلاونوئیدها، کاهش آسیب اکسیداتیو و فعال سازی مسیرهای دفاعی وابسته به آنتی اکسیدان ها، توانستند تعادل فیزیولوژیکی گیاه را در شرایط شور حفظ کرده و رشد آن را بهبود ببخشند. بنابراین، استفاده از این تیمارها می تواند به عنوان یک راهکار زیست سازگار، کم هزینه و مؤثر برای ارتقاء تحمل گیاهان دارویی و معطر به تنش های محیطی، به ویژه شوری، در برنامه های کشاورزی پایدار و تولید گیاهان با ارزش دارویی بالا توصیه شود.

واژه های کلیدی: برولین، متابولیت های ثانویه، کافئیک اسید، ترپنوئیدها، تحمل به تنش

مقدمه

شوری یکی از مهم ترین تنش های محیطی است که تأثیرات منفی زیادی بر رشد، توسعه و تولید محصولات گیاهی دارد (Ahmed et al., 2024). با توجه به افزایش جهانی مشکل شوری خاک، درک سازوکارهای مقاومت گیاهان به شوری اهمیت زیادی پیدا کرده است تا بتوان تولید محصولات کشاورزی را در مناطق آسیب دیده از شوری افزایش داد (Schubert & Qadir, 2024). گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) که یک درختچه معطر از خانواده لامپاسه است، به دلیل خواص دارویی، خوراکی و زینتی خود شناخته شده است. این گیاه معطر و دارویی به دلیل دارا بودن خواص آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و ضد میکروبی شناخته می شود و کاربرد گسترده ای در صنایع غذایی و آرایشی دارد (Li Shankar et al., 2024; Pomi et al., 2023). این گیاه از دیرباز به عنوان یک منبع ارزشمند ترکیبات فعال زیستی مورد توجه پژوهشگران و صنایع مختلف قرار گرفته است. با این حال، مانند بسیاری دیگر از گیاهان، رزماری در برابر تنش شوری حساس است و این حساسیت می تواند منجر به کاهش رشد، کاهش کیفیت متابولیت های ثانویه و حتی مرگ گیاه در شرایط شوری شدید شود (Al-Fraihat et al., 2023). بنابراین، بهبود مقاومت رزماری به شوری یکی از موضوعات مهم تحقیقاتی

است که برای استفاده پایدار این گیاه در مصارف دارویی و صنعتی اهمیت دارد.

شوری به عنوان یک تنش غیرزیستی، با افزایش غلظت یون های سدیم (Na^+) و کلراید (Cl^-) در خاک، بر گیاهان تأثیر منفی می گذارد و باعث بروز چندین مشکل فیزیولوژیکی می شود (Majeed & Muhammad, 2019). یکی از اثرهای اصلی شوری، افزایش جذب این یون ها توسط ریشه ها است که می تواند باعث اختلال در جذب آب و مواد مغذی شود. تجمع بیش از حد یون های سمی در بافت های گیاه می تواند به آسیب به غشای سلولی، اختلال در فعالیت آنزیم ها و سیستم های متابولیک گیاه منجر شود (Ehtaiwesh, 2022). همچنین، شوری باعث تولید مقادیر زیادی از رادیکال های آزاد می شود که به طور مستقیم به سیستم های سلولی آسیب می زنند و موجب تنش اکسیداتیو می شوند. این آسیب ها از طریق ایجاد تغییرات در فرایندهای مختلف سلولی و بیوشیمیایی، به ویژه در فرآیندهای تنظیم اسمزی، متابولیسم انرژی و تولید متابولیت های ثانویه، بر گیاه اثر می گذارند (Ahmad et al., 2019). در پاسخ به این تنش ها، گیاهان از سازوکارهای مختلفی برای مقابله با اثرهای منفی شوری استفاده می کنند که یکی از مهم ترین این سازوکارها، تولید متابولیت های ثانویه است (Isah, 2019). متابولیت های ثانویه ترکیبات شیمیایی هستند که علاوه بر

شده است. این ترکیب می‌تواند از طریق تحریک تولید ترکیبات فنولی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به گیاه کمک کند تا اثرهای منفی شوری را کاهش دهد (Ali et al., 2024; Boorboori & Li, 2025). استفاده ترکیبی از پوترسین و اسید سالیسیلیک نتایج امیدوارکننده‌ای در افزایش تحمل گیاهان به تنش‌ها از طریق فعال‌سازی مسیرهای مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نشان داده است. با این حال، اثرهای خاص این دو تیمار بر پاسخ رزماری به تنش شوری و ظرفیت آن‌ها در افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه هنوز به‌طور کامل مورد بررسی قرار نگرفته است. بنابراین، هدف این مطالعه بررسی اثرهای ترکیبی پوترسین و اسید سالیسیلیک بر گیاهان رزماری تحت سطوح مختلف شوری است. تمرکز این تحقیق بر ارزیابی تغییرات در پارامترهای فیزیولوژیکی مانند محتوای پرولین و کربوهیدرات، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، و تجمع متابولیت‌های ثانویه کلیدی مانند رزمارینیک اسید، کافئیک اسید و ترپن‌ها خواهد بود. درک تعاملات بین پوترسین و اسید سالیسیلیک در رزماری تحت تنش شوری می‌تواند بینش‌های مفیدی برای راهبردهای بهبود رشد و کیفیت این گیاه ارائه دهد. علاوه بر این، با افزایش مقاومت رزماری به شوری، این تیمارها می‌توانند به‌عنوان روشی برای کشت پایدارتر در مناطق دچار شوری خاک استفاده شوند. بنابراین، این مطالعه می‌تواند به توسعه رویکردهای نوین برای بهبود مقاومت گیاهان در برابر شرایط نامساعد محیطی و بهینه‌سازی خواص دارویی و کشاورزی آن‌ها کمک کند.

مواد و روش‌ها

محل و زمان آزمایش

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه داراب عرض جغرافیایی ۲۸ درجه و ۴۵ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۴۴ درجه شرقی در سال ۱۴۰۱-۱۴۰۲ انجام شد.

نقش‌های اولیه‌ای مانند رشد گیاه، در مقابله با تنش‌های محیطی، از جمله شوری، نقش مهمی دارند. این ترکیبات معمولاً شامل فنول‌ها، آلکالوئیدها، ترپن‌ها و فلاونوئیدها می‌شوند. متابولیت‌های ثانویه می‌توانند به گیاه کمک کنند تا با تنش اکسیداتیو ناشی از تنش‌های محیطی مقابله کرده و اثرهای منفی آن را کاهش دهند (Salam et al., 2023). به‌طور خاص، ترکیباتی مانند پرولین، کربوهیدرات‌ها، رزمارینیک اسید، کافئیک اسید و ترپن‌ها از جمله مهم‌ترین متابولیت‌های ثانویه در گیاهان در پاسخ به تنش شوری شناخته می‌شوند (Mahajan & Pal, 2023). پرولین به‌عنوان یک اسمولیت مهم، در بسیاری از گیاهان تحت تنش شوری تجمع می‌یابد. این ترکیب باعث تنظیم اسمزی، حفظ ساختار پروتئین‌ها و حفاظت از غشاهای سلولی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو می‌شود (Arif et al., 2023). کربوهیدرات‌ها نیز در پاسخ به تنش شوری به‌عنوان منابع انرژی و اسمولیت‌های سازگار عمل کرده و می‌توانند در تنظیم فشار اسمزی سلول‌ها و جلوگیری از خشکی و پژمردگی گیاه نقش داشته باشند (Nahar et al., 2016). ترکیبات فنولی مانند رزمارینیک اسید و کافئیک اسید در گیاهان تحت تنش شوری افزایش می‌یابند. این ترکیبات با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود به مقابله با رادیکال‌های آزاد و تنش اکسیداتیو کمک می‌کنند و در نهایت به کاهش آسیب‌های سلولی ناشی از تنش شوری می‌انجامند (Mohammed et al., 2023). ترپن‌ها مانند آلفا-پینن و ۸،۱-سینئول نیز به‌عنوان ترکیبات فرار با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی شناخته شده‌اند که به‌طور مستقیم به تقویت دفاع گیاه در برابر شرایط نامساعد کمک می‌کنند (Jiménez, 2019).

پوترسین یک پلی‌آمین است که می‌تواند در فرایندهای فیزیولوژیکی مختلف گیاه نقش داشته باشد و به‌ویژه در شرایط تنش‌های محیطی مانند شوری، تجمع اسمولیت‌ها، تثبیت غشای سلولی و افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه را تحریک کند (Zhong et al., Mohammadi et al., 2024). اسید سالیسیلیک نیز به‌عنوان یک هورمون گیاهی در تنظیم پاسخ‌های گیاه به تنش‌ها از جمله شوری شناخته

مواد گیاهی و شرایط کشت

گیاهان سه ماهه رزماری با کیفیت و یکنواخت از شرکت زرگیاه شیراز تهیه شدند. گیاهان در گلدان‌هایی با قطر ۲۵ سانتی‌متر حاوی خاک با ترکیب ۶۰ درصد شن، ۲۸ درصد سیلت و ۱۲ درصد رس کاشته شدند. شرایط محیطی گلخانه به‌صورت دمای ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۶۵ درصد تنظیم شد.

اعمال تیمارهای زیستی و شوری

یک ماه قبل از اعمال تنش شوری، تیمارهای پوترسین با غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار و سالیسیلیک اسید با غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۰/۷ و ۱ میلی‌مولار هر ۱۰ روز یکبار اعمال شدند. یک هفته پس از اتمام تیمارهای زیستی، تنش شوری با استفاده از محلول کلرید سدیم در غلظت‌های ۰، ۷۵، ۱۲۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار هر چهار روز یکبار اعمال گردید. آبیاری به‌گونه‌ای انجام شد که نمک از پای بوته خارج شود و از تجمع آن در گلدان جلوگیری گردد. پس از دو ماه از اعمال تنش شوری، صفات فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و متابولیت‌های گیاه ارزیابی شد.

پرولین

پرولین در نمونه‌های برگ برداشت شده با روش باتیس و همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد. نیم گرم بافت برگ همراه با ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد با دو میلی‌لیتر استیک اسید و نیز ۲ میلی‌لیتر ناین‌هیدرین ترکیب و در آب گرم ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. سپس به‌منظور خنک شدن نمونه‌ها، به داخل آب و یخ منتقل شدند. در این مرحله ۴ میلی‌لیتر تولوئن به هر یک از لوله‌های آزمایش افزوده و پس از تکان شدید آن‌ها، و میزان جذب نور در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر ثبت گردید (Bates et al., 1973).

آنتوسیانین

بافت برگ را به قطعات کوچک تقسیم کرده و در یک

فالكون قرار داده شد. برای استخراج آنتوسیانین‌ها، حدود ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به فالكون اضافه شد. سپس فالكون‌ها در یخچال به‌مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد و به‌طور منظم هم زده شد. پس از استخراج، محلول فیلتر شد تا ذرات باقیمانده از مایع جدا شوند. برای تثبیت رنگ آنتوسیانین‌ها، به محلول استخراجی ۱ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۱ مولار اضافه شد. محلول فیلتر شده و اسیدی شده در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار داده شد. دستگاه با همان حلال ۸۰ درصد کالیبره شد. سپس جذب محلول در طول موج ۵۳۰ نانومتر خوانش گردید (Silva et al., 2017).

کربوهیدرات

نیم گرم از بافت تازه برگ با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد و ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد همگن و سانتریفیوژ شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره الکلی با سه میلی‌لیتر آترون مخلوط و به‌مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری با ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. میزان جذب با اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر خوانش گردید (Yemm & Willis, 1954).

روش عصاره‌گیری آنزیم

نیم گرم از نمونه برگ تازه را در ۵ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7.5) که حاوی پلی‌وینیل‌پیرولیدین (PVP) ۱ درصد و EDTA ۱ میلی‌مولار بود، سائیده شد. سپس عصاره‌ها به‌مدت ۲۰ دقیقه در ۵۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شدند. از محلول شفاف رویی برای سنجش آنزیم‌ها استفاده شد.

فعالیت آنزیم کاتالاز

برای اندازه‌گیری میزان غلظت کمی آنزیم کاتالاز از روش (Chance & Maehly, 1955) استفاده شد. براساس این روش ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج را با یک

5 - HP، فشار گاز سر ستون ۶/۹۸ Psi، دمای ۳۲۰ درجه سانتی گراد استفاده شد. قطر داخلی ۰/۵ میکرومتر، طول ۳۰ متر و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر بوده و گاز استفاده شده هلیوم با سرعت ۳۵ ثانیه بر سانتی متر و انرژی یونیزاسیون برابر ۷۰ الکترون ولت بود و برنامه حرارتی ۶۰-۲۴۰ درجه سلسیوس با سرعت ۳°C/min و دمای محفظه تزریق ۲۲۰°C بود. با استفاده از زمان بازداری ترکیبات شاخص (Tr) طیف جرمی و مقایسه این پارامترها با ترکیب‌های استاندارد و با اطلاعات موجود در کتابخانه نسبت به شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس اقدام شد (جمله سست و ضعیف است). درصد کمی این ترکیب‌ها نیز با محاسبه سطوح زیرمنحنی در کروماتوگرام‌ها محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل اطلاعات به دست آمده، بوسیله نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۴ انجام شد. میانگین‌های صفات ارزیابی شده با آزمون LSD در سطح آماری پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

پرولین

براساس نتایج واریانس داده‌ها اثر متقابل تیمارها و تنش شوری بر میزان پرولین گیاه رزماری در سطح احتمال یک درصد معنی دار می‌باشد (جدول ۱). نتایج نشان داد که با افزایش غلظت شوری میزان پرولین در گیاه رزماری افزایش یافت. در شرایط عدم تنش شوری تیمارهای پوترسین با غلظت ۲ میلی مولار و سالیسیلیک اسید با غلظت ۰/۷ میلی مولار اثر مثبتی را در میزان پرولین نشان دادند (شکل ۱). در تنش شوری ۷۵، ۱۲۵ و ۱۵۰ میلی مولار، تیمار پوترسین با غلظت ۲ میلی مولار و سالیسیلیک اسید با غلظت ۱ میلی مولار به ترتیب به میزان ۰/۱۳۸، ۰/۱۶۶ و ۰/۲۱۸ میلی گرم در گرم وزن تر سبب افزایش پرولین در گیاه شدند. این تیمارها منجر به افزایش پرولین در گیاه به ترتیب به میزان ۷۸/۹۸، ۸۲/۵۳ و ۵۹/۹۱ درصد در مقایسه با شاهد شدند.

میلی لیتر از محلول اندازه گیری کاتالاز که شامل ۵۰ میلی مول بافر فسفات پتاسیم (pH=7) و ۱۵ میلی مولار پراکسید هیدروژن مخلوط کرده و بعد جذب آن در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت یک دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز

برای اندازه گیری آنزیم پراکسیداز از روش (Chance & Maehly, 1955) با اندکی تغییر استفاده شد. اندازه گیری براساس میزان اکسید شدن گایاکول توسط این آنزیم انجام شد. در این روش، ۳۳ میکرو لیتر از عصاره استخراج شده با یک میلی لیتر محلول پراکسید حاوی ۱۳ میلی مولار گایاکول، ۵ میلی مولار پراکسید هیدروژن و ۵۰ میلی مولار بافر فسفات پتاسیم مخلوط گردید و سپس میزان جذب آن در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت یک دقیقه با فواصل ۱۰ ثانیه اندازه گیری شد.

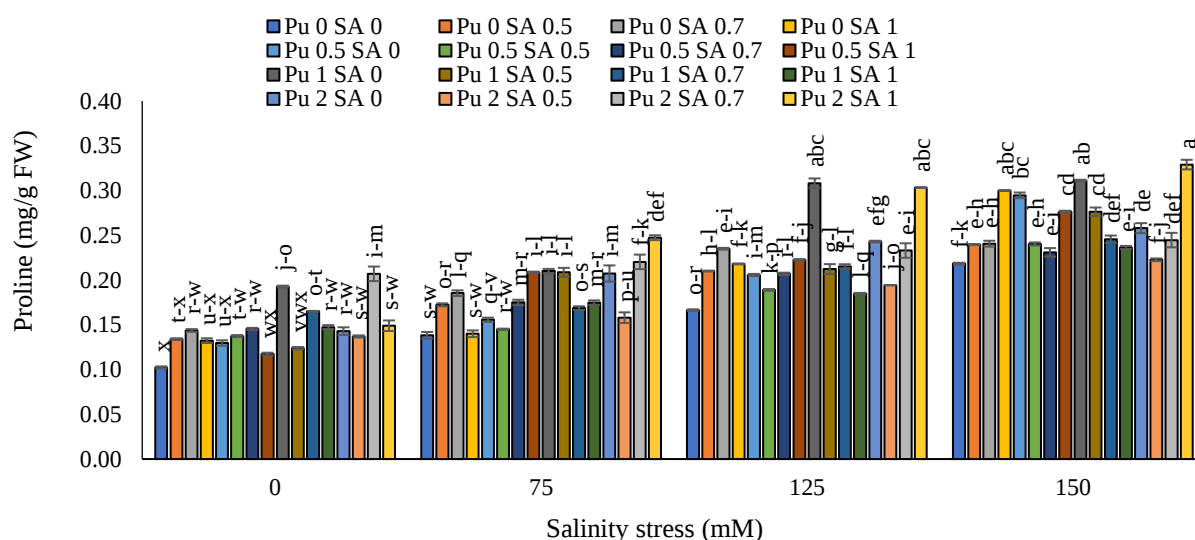
ارزیابی متابولیت‌ها

برای تهیه عصاره متانولی از روش خیس کردن (Maceration) استفاده شد. برگ گیاه در سایه و دمای اتاق (۲۸ درجه سلسیوس) خشک شد. سپس توسط آسیاب به صورت پودر درآمده و از الک به اندازه ۶۰ مش عبور داده شد. ۲۰۰ گرم پودر در یک لیتر اتانول به مدت ۲۴ ساعت در شیکر با دور ۱۵۰ دور در دقیقه در دمای ۴۲ درجه سلسیوس قرار داده شد و بعد، از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۱ عبور داده شد و سپس برای حذف حداقل ۹۰ درصد حلال در دستگاه روتاری با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه و دمای ۵۰ درجه سلسیوس، تحت خلأ قرار گرفت. تغلیظ نمونه در آون با دمای ۴۵ درجه سلسیوس انجام گرفت و سپس تا زمان انجام آزمایش در دمای ۴ درجه سلسیوس یخچال نگهداری شد.

برای شناسایی ترکیبات موجود در عصاره از دستگاه GC/MS یا دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی Hewlett Packard مدل Agilent 6890 با ستون

ناشی از شوری و بهبود تحمل گیاه است. در تحقیقی روی کاسنی (*Cichorium intybus*) تیمار سالیسیلیک اسید منجر به افزایش پرولین در تنش شوری ۱۰۰ میلی مولار شد ([Sadia et al., 2023](#)). در مطالعه‌ای روی گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) تیمار با سالیسیلیک اسید منجر به افزایش میزان پرولین در گیاه تحت تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار شد ([Hosseini et al., 2010](#)). سالیسیلیک اسید با غلظت ۰/۵ میلی مولار سبب کاهش تنش شوری ۱۰۰ میلی مولار و افزایش پرولین در گیاه عدس شد ([Misra & Saxena, 2009](#)).

(شکل ۱). پرولین یکی از ترکیبات اسمزی است که در گیاهان در پاسخ به تنش‌های محیطی مانند شوری تجمع می‌یابد و به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل کرده و به تثبیت ساختارهای سلولی کمک می‌کند ([Zulfiqar & Ashraf, 2023](#)). همچنین، پوترسین و سالیسیلیک اسید می‌توانند از طریق بهبود فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و تنظیم مسیرهای متابولیک، سنتز پرولین را در گیاهان تقویت کرده و به آن‌ها در مقابله با آسیب‌های ناشی از شوری کمک کنند ([Farzaneh et al., 2020](#); [Turkyilmaz et al., 2015](#)). این تغییرات به‌ویژه در تیمارهای ترکیبی با غلظت‌های بالاتر مشاهده شد، که نشان‌دهنده تأثیر هم‌افزایی آن‌ها در کاهش آسیب‌های



شکل ۱- اثرهای متقابل تیمار پوترسین با غلظت‌های (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی مولار)، سالیسیلیک اسید با غلظت‌های (۰، ۰/۵، ۰/۷ و ۱ میلی مولار) و شوری با غلظت‌های (۰، ۷۵، ۱۲۵ و ۱۵۰ میلی مولار) بر میزان پرولین گیاه رزماری. میانگین حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند. نوار خطا: خطای استاندارد. Pu: پوترسین و SA: سالیسیلیک اسید.

Figure 1. Interaction effects of putrescine treatment at concentrations of (0, 0.5, 1, and 2 mM), salicylic acid at concentrations of (0, 0.5, 0.7, and 1 mM) and salinity at concentrations of (0, 75, 125, and 150 mM) on proline content of rosemary. Means with the same letters are not significantly different at the 5% probability level.

Error bars: Standard errors. Pu: Putrescine and SA: Salicylic acid.

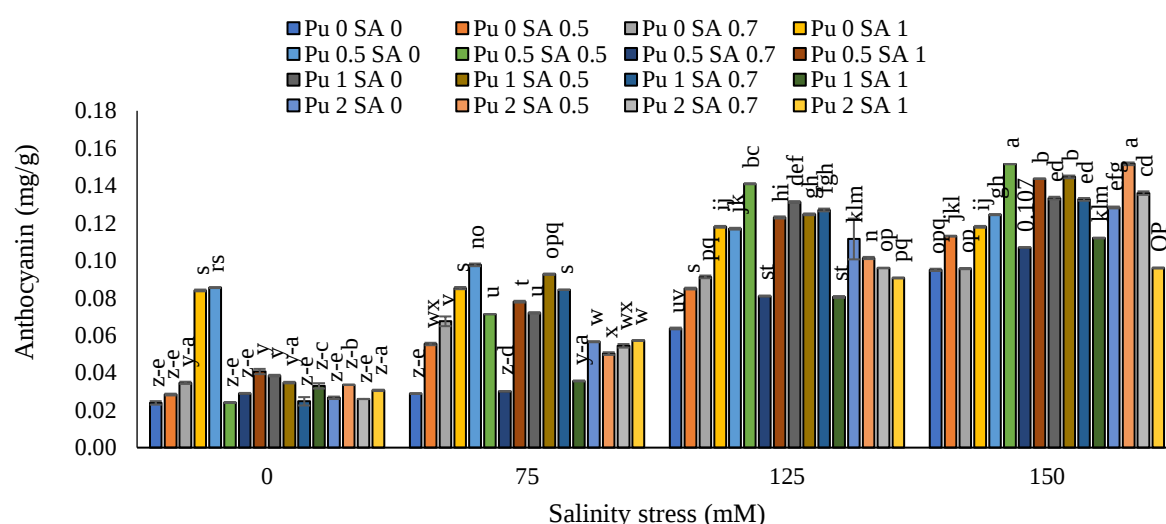
جدول ۱- اثر تیمارهای پوترسین و سالیسیلیک اسید بر تغییرات بیوشیمیایی گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) تحت تنش

شوری

Table 1. Effect of putrescine and salicylic acid treatments on biochemical changes in rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) under salt stress

Sources of changes	d.f	Mean squares				
		Proline	Anthocyanin	Carbohydrates	Catalase	Peroxidase
Putrescine (a)	3	0.00274**	0.00000653ns	0.548**	691.63**	0.00589**
Salicylic acid (b)	3	0.00646ns	0.00379**	0.0483ns	486.40**	0.00442**
Salinity (c)	3	0.0161**	0.0172**	1.77**	1909.58**	0.00858**
a×b	9	0.0055ns	0.00127ns	0.220ns	521.92**	0.0043**
a×c	9	0.00223**	0.00121**	0.0465**	0.224**	0.00310**
b×c	9	0.00948**	0.00241**	0.310**	1211.12**	0.00408**
a×b×c	63	0.00879**	0.0047**	1.32**	821.97**	0.0181**
Error.	128	0.000394	0.0000105	0.0717	0.91	0.0000099
CV (%)	-	9.62	3.93	10.41	1.73	1.62

ns, * and ** indicate non-significance and significance at the 5 and 1 percent levels, respectively.



شکل ۲- اثرهای متقابل تیمار پوترسین با غلظت‌های (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار)، سالیسیلیک اسید با غلظت‌های (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار) و شوری با غلظت‌های (۰، ۷۵، ۱۲۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار) بر الف) محتوای فلاونوئید ب) آنتوسیانین گیاه رزماری. میانگین حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند. نوار: خطای استاندارد. Pu: پوترسین و SA: سالیسیلیک اسید.

Figure 2. Interaction effects of putrescine treatment with concentrations of (0, 0.5, 1 and 2 mM), salicylic acid with concentrations of (0, 0.5, 0.7 and 1 mM) and salinity with concentrations of (0, 75, 125 and 150 mM) on a) flavonoid content b) anthocyanin of rosemary plant. Means with the same letters are not significantly different at the 5% probability level. Error bars: Standard errors. Pu: Putrescine and SA: Salicylic acid

آنتوسیانین

یک درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱). نتایج این مطالعه

نشان داد که تیمارهای مختلف پوترسین و سالیسیلیک اسید تأثیر قابل توجهی بر میزان آنتوسیانین در گیاه تحت تنش

طبق نتایج واریانس داده‌ها اثر متقابل تیمارها و تنش

شوری بر میزان آنتوسیانین گیاه رزماری در سطح احتمال

میلی گرم در گرم وزن تر) مشاهده شد (شکل ۲). این تیمار سبب افزایش پرولین به ترتیب به میزان ۱۳۸/۹۳ و ۷۷/۸۹ درصد در تنش شوری ۷۵ و ۱۲۵ میلی مولار نسبت به شاهد شد (شکل ۳). بیشترین و کمترین میزان پرولین در تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار مربوط به تیمار پوترسین با غلظت ۰/۵ میلی مولار همراه با سالیسیلیک اسید با غلظت ۰/۷ میلی مولار و شاهد به ترتیب به میزان ۳/۸۶ و ۲/۶۶ میلی گرم در گرم مشاهده شد (شکل ۲). تیمار پوترسین با غلظت ۰/۵ میلی مولار همراه با سالیسیلیک اسید با غلظت ۰/۷ میلی مولار سبب افزایش کربوهیدرات به میزان ۴۵/۱۱ درصد در تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار نسبت به شاهد شد (شکل ۳). مطالعه‌ای روی گشنیز (*Coriandrum sativum*) تحت تنش شوری ۱۰۰ میلی مولار تیمار با پوترسین انجام که سبب افزایش کربوهیدرات محلول شد ([Hussein & Abdelkadr, 2024](#)). در مطالعه‌ای روی گیاه اسطوخودوس تیمار پوترسین سبب افزایش کربوهیدرات در تنش شوری ۱۲۰ میلی مولار شد ([Sattarzadeh et al., 2023](#)).

کاتالاز و پراکسیداز

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل تیمارها و تنش شوری بر میزان کاتالاز و پراکسیداز گیاه رزماری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). براساس داده‌ها فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار، تیمار سالیسیلیک اسید موجب افزایش این آنزیم نسبت به شاهد شد (جمله‌بندی ناقص و نامفهوم است). تیمار پوترسین با غلظت ۱ میلی مولار همراه با سالیسیلیک اسید با غلظت ۰/۷ میلی مولار سبب افزایش کاتالاز به میزان ۱۴۹/۶۸ درصد در مقایسه با شاهد در شرایط عدم تنش شوری شد (شکل ۴ الف). در تنش شوری با غلظت ۷۵، ۱۲۵ و ۱۵۰ میلی مولار تیمار پوترسین با غلظت ۲ میلی مولار و سالیسیلیک اسید با غلظت ۱ میلی مولار فعالیت آنزیم کاتالاز به میزان ۷۵/۲۲، ۷۷/۰۳ و ۹۸/۰۵ واحد بر میلی گرم نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۴ الف). این تیمارها سبب افزایش معنی‌دار فعالیت

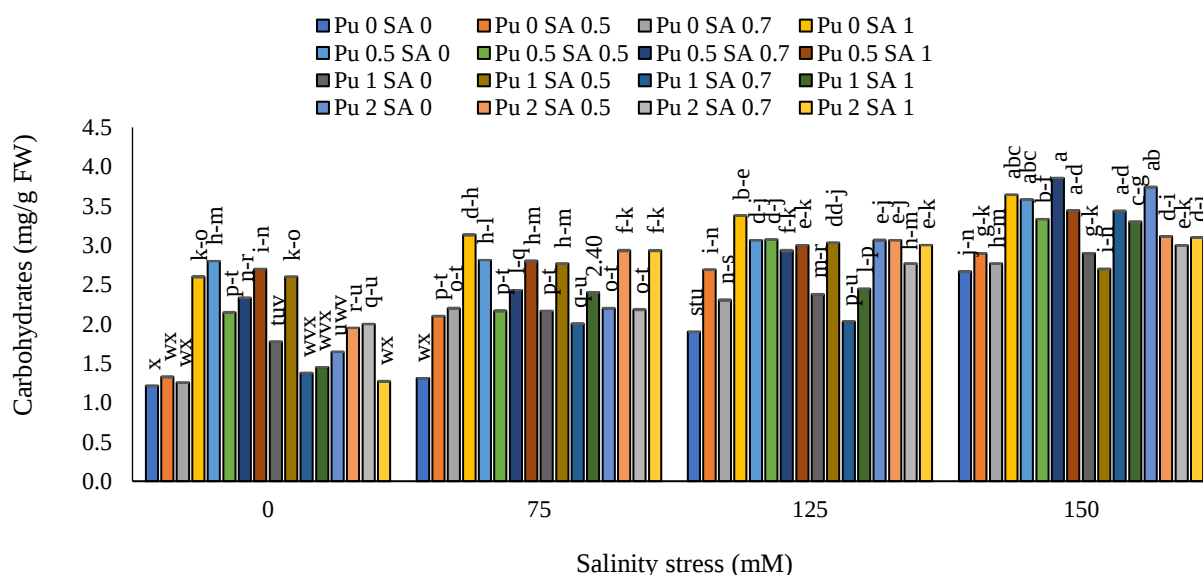
شوری داشتند. تیمار پوترسین با غلظت ۰/۵ میلی مولار بیشترین میزان آنتوسیانین (۰/۰۸۶ و ۰/۰۹۸ میلی گرم در گرم) را در شرایط عدم تنش شوری و تنش شوری ۷۵ میلی مولار نشان داد (شکل ۲). با افزایش تنش شوری (۱۲۵ و ۱۵۰ میلی مولار) تیمار پوترسین با غلظت ۰/۵ میلی مولار و سالیسیلیک اسید با غلظت ۰/۵ میلی مولار اثر مثبتی را بر میزان آنتوسیانین در گیاه نشان داد (شکل ۲). در تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار ترکیب تیماری پوترسین با غلظت ۰/۵ میلی مولار و سالیسیلیک اسید با غلظت ۰/۵ میلی مولار و پوترسین با غلظت ۲ میلی مولار همراه با سالیسیلیک اسید با غلظت ۰/۵ میلی مولار سبب افزایش آنتوسیانین به ترتیب به میزان ۰/۱۵۲ و ۰/۱۵۳ میلی گرم در گرم شدند (شکل ۲). تفاوت آماری بین این تیمارها مشاهده نشد. این تیمارها سبب افزایش معنی‌دار آنتوسیانین در گیاه به ترتیب به میزان ۶۰ و ۶۱/۰۵ درصد در مقایسه با شاهد شدند (شکل ۲). در مطالعه‌ای روی گل گاوزبان در شرایط شوری ۱۵۰ میلی مولار تیمار سالیسیلیک اسید به‌طور معنی‌داری میزان آنتوسیانین را افزایش داد ([Bulgari et al., 2017](#)). در گیاه مرزنجوش تیمار سالیسیلیک اسید ۰/۷ میلی مولار سبب افزایش آنتوسیانین در شوری ۲۰۰ میلی مولار شد ([Garroosi et al., 2023](#)). سالیسیلیک اسید ۵۰ میلی گرم در لیتر با افزایش آنتوسیانین سبب کاهش تنش شوری در گیاه آفتابگردان شد ([Golkar et al., 2019](#)).

کربوهیدرات

نتایج جدول ۱ تجزیه واریانس نشان می‌دهد اثر متقابل تیمارها و تنش شوری بر میزان پرولین گیاه رزماری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. براساس نتایج مقایسه میانگین با افزایش غلظت شوری میزان کربوهیدرات در گیاه رزماری افزایش یافت. تیمار پوترسین با غلظت ۰/۵ میلی مولار سبب افزایش میزان کربوهیدرات در عدم تنش شوری شد (شکل ۳). در تنش شوری ۷۵ و ۱۲۵ میلی مولار بیشترین میزان کربوهیدرات در تیمار سالیسیلیک اسید با غلظت ۱ میلی مولار به ترتیب به میزان ۳/۱۳ و ۳/۳۸

در افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تنش شوری است (شکل ۴ الف).

آنزیم کاتالاز به ترتیب به میزان ۱۱۷/۲۱، ۶۲/۹۵ و ۷۳/۴۴ درصد در تنش شوری ۷۵، ۱۲۵ و ۱۵۰ میلی مولار نسبت به شاهد شدند. این نتایج نشان دهنده تأثیر مثبت هر دو ترکیب



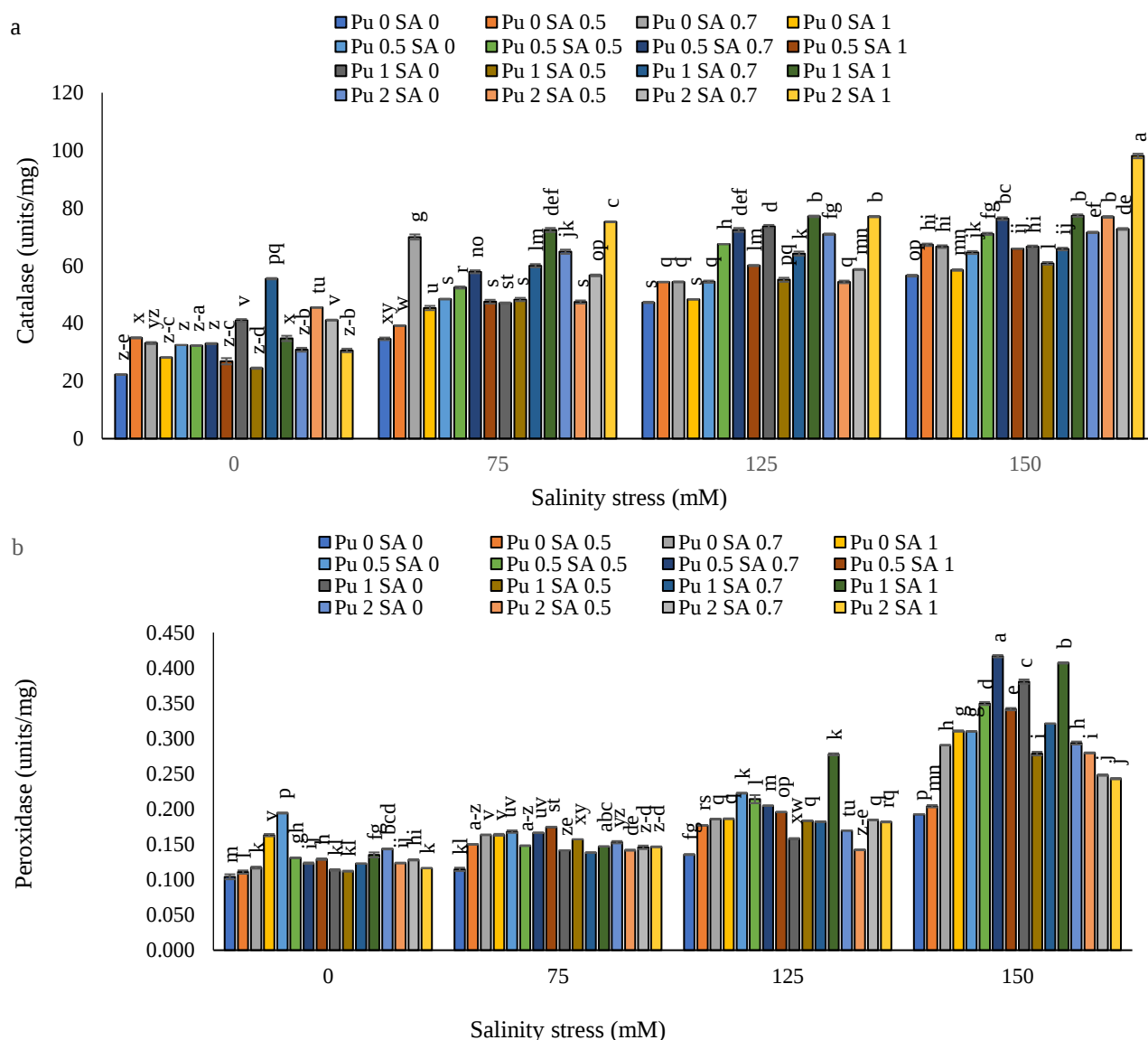
شکل ۳- اثرهای متقابل تیمار پوترسین با غلظت‌های (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی مولار)، سالیسیلیک اسید با غلظت‌های (۰، ۰/۵، ۰/۷ و ۱ میلی مولار) و شوری با غلظت‌های (۰، ۷۵، ۱۲۵ و ۱۵۰ میلی مولار) بر میزان کربوهیدرات محلول گیاه رزماری. میانگین حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند. نوار خطا: خطای استاندارد. Pu: پوترسین و SA: سالیسیلیک اسید.

Figure 3. Interaction effects of putrescine treatment at concentrations of (0, 0.5, 1, and 2 mM), salicylic acid at concentrations of (0, 0.5, 0.7, and 1 mM) and salinity at concentrations of (0, 75, 125, and 150 mM) on the soluble carbohydrate content of rosemary. Means with the same letters are not significantly different at the 5% probability level. Error bars: Standard errors. Pu: Putrescine and SA: Salicylic acid.

به میزان ۰/۲۷۸ واحد بر میلی گرم وزن تر شد (شکل ۴ ب). در تنش شوری ۱۵۰ میلی مولار، تیمار پوترسین با غلظت ۰/۵ میلی مولار همراه با سالیسیلیک اسید با غلظت ۰/۷ میلی مولار تأثیر مثبتی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز داشت، به طوری که این تیمار به میزان ۱۱۶/۰۶ درصد سبب افزایش فعالیت این آنزیم در مقایسه با شاهد شد (شکل ۴ ب). این نتایج نشان دهنده تأثیر مثبت پوترسین در افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تنش شوری است، در حالی که سالیسیلیک اسید با توجه به غلظت، اثرهای متفاوتی داشته است (شکل ۳ ب). در تحقیقی روی آفتابگردان تحت شرایط تنش شوری، تیمار با سالیسیلیک اسید به طور قابل توجهی

بر طبق نتایج مقایسه میانگین بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار پوترسین با غلظت ۰/۵ میلی مولار و شاهد به ترتیب به میزان ۰/۱۹۴ و ۰/۱۰۴ واحد بر میلی گرم در شرایط عدم تنش شوری بود. این تیمار سبب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز به میزان ۸۶/۵۳ درصد در عدم تنش شوری نسبت به شاهد شد (شکل ۳ ب). تیمار پوترسین با غلظت ۱ میلی مولار منجر به افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز به میزان ۲۳/۴۷ درصد در تنش شوری ۷۵ میلی مولار در مقایسه با شاهد شد (شکل ۴ ب). تیمار پوترسین با غلظت ۱ میلی مولار و سالیسیلیک اسید با غلظت ۱ میلی مولار سبب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز

آنزیم کاتالاز را افزایش داد (Noreen et al., 2009). تیمار شده با سالیسیلیک اسید مشاهده شد (Mutlu et al., 2009). افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در گندم تحت تنش شوری



شکل ۴- اثرهای متقابل تیمار پوترسین با غلظت‌های (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار)، سالیسیلیک اسید با غلظت‌های (۰، ۰/۵، ۰/۷ و ۱ میلی‌مولار) و شوری با غلظت‌های (۰، ۷۵، ۱۲۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار) بر فعالیت آنزیم الف (کاتالاز ب) پراکسیداز گیاه رزماری. میانگین حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند. نوار خطا: خطای استاندارد. Pu: پوترسین و SA: سالیسیلیک اسید.

Figure 4. Interaction effects of putrescine treatment with concentrations of (0, 0.5, 1 and 2 mM), salicylic acid with concentrations of (0, 0.5, 0.7 and 1 mM) and salinity with concentrations of (0, 75, 125 and 150 mM) on the enzyme activity of a) catalase b) peroxidase of rosemary plant. Means with the same letters are not significantly different at the 5% probability level. Error bars: Standard errors. Pu: Putrescine and SA: Salicylic acid

تغییرات متابولیتی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که اثر متقابل پوترسین، سالیسیلیک اسید و شوری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد. نتایج نشان داد که تیمارهای زیستی تأثیر قابل توجهی برافزایش ترکیبات دفاعی گیاه تحت تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار داشتند. رزمارینیک اسید در پوترسین با غلظت ۲ میلی‌مولار و سالیسیلیک اسید با غلظت ۱ میلی‌مولار در تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار ($\text{Pu}_2\text{Sa}_1\text{N}_{150}$) بیشترین مقدار را داشت. افزایش رزمارینیک اسید در این تیمار ممکن است به دلیل تحریک مسیر فنیل پروپانوئید توسط پوترسین و سالیسیلیک اسید باشد، که منجر به افزایش سنتز ترکیبات فنلی و تقویت سازوکارهای دفاعی گیاه در برابر تنش شوری می‌شود. در مقابل، کافئیک اسید در تیمار پوترسین با غلظت ۱ میلی‌مولار و سالیسیلیک اسید با غلظت ۱ میلی‌مولار ($\text{Pu}_1\text{Sa}_1\text{N}_{150}$) به بیشترین مقدار (۰/۶۹۱) رسید که نشان‌دهنده تحریک مسیر بیوسنتزی آن در این شرایط است.

ترکیبات ترپنوئیدی مانند آلفا-پینن، ۸،۱-سینئول، بورنتول و کامفور در پوترسین با غلظت ۲ میلی‌مولار و سالیسیلیک اسید با غلظت ۱ میلی‌مولار در تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار ($\text{Pu}_2\text{Sa}_1\text{N}_{150}$) افزایش چشمگیری داشتند، که نشان دهنده نقش این تیمار در فعال‌سازی مسیرهای دفاعی گیاه در برابر تنش شوری است. افزایش ۸، ۱-سینئول در پوترسین با غلظت ۲ میلی‌مولار و سالیسیلیک اسید با غلظت ۱ میلی‌مولار در تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار ($\text{Pu}_2\text{Sa}_1\text{N}_{150}$) نشان دهنده تأثیر مثبت این تیمار بر سنتز ترکیبات فرار با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی است. در مجموع، تیمار پوترسین با غلظت ۲ میلی‌مولار و سالیسیلیک اسید با غلظت ۱ میلی‌مولار در تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار ($\text{Pu}_2\text{Sa}_1\text{N}_{150}$) بیشترین تأثیر را در بهبود پاسخ گیاه به تنش شوری از طریق افزایش متابولیت‌های ترپنوئیدی داشت و می‌تواند به عنوان روشی مؤثر برای بهبود تحمل گیاهان به شرایط نامساعد توصیه شود (جدول ۳).

جدول ۲- اثر متقابل پوترسین و سالیسیلیک اسید بر تغییرات متابولیتی گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) تحت تنش سطوح شوری صفر و ۱۵۰ میلی‌مولار

Table 2. The interaction effect of putrescine and salicylic acid on metabolic changes in rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) under salinity stress levels of 0 and 150 mM

Sources of changes	d.f	Mean squares					
		Rosmarinic acid	Caffeic acid	α -pinene	1,8- Cineole	Borneol	Camphor
Putrescine (a)	3	0.00022**	0.010**	0.0567**	1.034**	0.045**	0.0348**
Salicylic acid (b)	2	0.00011**	0.0321**	1.87**	1.234**	0.11**	1.11**
Salinity (c)	1	0.0271**	0.061**	1.34**	0.0059**	0.023**	1.34**
a×b	6	0.00321**	0.034**	0.58**	0.00678**	0.023**	0.0897**
a×c	3	0.0151**	0.127**	0.0456**	0.00345**	0.012**	0.0034**
b×c	2	0.0003**	0.278**	0.0011**	0.00567**	0.038**	0.045**
a×b×c	6	0.0421**	0.451**	0.067**	1.87**	0.046**	0.067**
Error.	24	0.000345	0.00012	0.0567	0.00341	0.054**	0.0124
CV (%)	-	1.22	1.87	0.856	0.734	1.11	1.67

ns, * and ** indicate non-significance and significance at the 5 and 1 percent levels, respectively.

جدول ۳- برهمکنش پوترسین و سالیسیلیک اسید بر تغییرات متابولیتی گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) تحت تنش سطوح شوری صفر و ۱۵۰ میلی مولار

Table 3. Interaction of putrescine and salicylic acid on metabolic changes in rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) under salinity stress levels of 0 and 150 mM

Treatment combinations	Camphor	Borneol	Cineole 1,8-	α -pinene	Caffeic acid	Rosmarinic acid
Pu ₀ Sa ₀ N ₀	0.229 ^f	1.10 ^c	1.40 ^g	0.342 ^j	0.167 ^h	3.0 ^g
Pu ₀ Sa _{0.5} N ₀	0.212 ^g	1.21 ^b	2.12 ^{cd}	0.881 ^b	0.365 ^{de}	3.0 ^g
Pu ₀ Sa ₁ N ₀	0.210 ^g	1.26 ^b	2.22 ^c	0.880 ^{bc}	0.300 ^e	3.3 ^{fg}
Pu _{0.5} Sa ₀ N ₀	0.321 ^{bc}	1.26 ^b	2.24 ^c	0.845 ^b	0.286 ^e	3.8 ^f
Pu _{0.5} Sa _{0.5} N ₀	0.300 ^c	1.28 ^b	2.40 ^c	0.745 ^c	0.275 ^e	3.5 ^f
Pu _{0.5} Sa ₁ N ₀	0.334 ^b	1.01 ^c	1.90 ^d	0.761 ^c	0.453 ^c	5.5 ^c
Pu ₁ Sa ₀ N ₀	0.328 ^{bc}	1.10 ^c	2.23 ^c	0.654 ^d	0.345 ^{de}	5.0 ^{cd}
Pu ₁ Sa _{0.5} N ₀	0.244 ^e	1.22 ^b	2.56 ^b	0.632 ^d	0.267 ^e	4.8 ^d
Pu ₁ Sa ₁ N ₀	0.234 ^e	1.21 ^b	2.57 ^b	0.600 ^{ef}	0.254 ^e	4.4 ^d
Pu ₂ Sa ₀ N ₀	0.232 ^e	1.24 ^b	2.78 ^b	0.564 ^f	0.181 ^g	4.0 ^e
Pu ₂ Sa _{0.5} N ₀	0.274 ^d	0.978 ^d	2.12 ^{cd}	0.645 ^d	0.490 ^c	6.0 ^{bc}
Pu ₂ Sa ₁ N ₀	0.263 ^{de}	0.976 ^d	1.90 ^d	0.612 ^e	0.398 ^d	5.5 ^c
Pu ₀ Sa ₀ N ₁₅₀	0.212 ^g	0.954 ^{de}	1.45 ^g	0.546 ^f	0.367 ^d	5.2 ^c
Pu ₀ Sa _{0.5} N ₁₅₀	0.278 ^d	0.845 ^e	2.32 ^c	0.512 ^{fg}	0.256 ^e	4.8 ^d
Pu ₀ Sa ₁ N ₁₅₀	0.273 ^d	0.812 ^f	2.78 ^b	0.453 ^{gh}	0.212 ^f	6.3 ^b
Pu _{0.5} Sa ₀ N ₁₅₀	0.270 ^d	0.821 ^f	2.00 ^d	0.504 ^{fg}	0.543 ^b	6.5 ^b
Pu _{0.5} Sa _{0.5} N ₁₅₀	0.274 ^d	0.812 ^f	1.76 ^{ef}	0.477 ^g	0.521 ^b	6.0 ^{bc}
Pu _{0.5} Sa ₁ N ₁₅₀	0.363 ^b	0.674 ^h	1.83 ^e	0.432 ^h	0.459 ^c	5.6 ^c
Pu ₁ Sa ₀ N ₁₅₀	0.340 ^b	0.683 ^h	1.84 ^e	0.412 ^{hi}	0.543 ^b	5.3 ^c
Pu ₁ Sa _{0.5} N ₁₅₀	0.336 ^b	0.573 ⁱ	1.85 ^e	0.401 ⁱ	0.554 ^b	4.8 ^d
Pu ₁ Sa ₁ N ₁₅₀	0.391 ^a	0.563 ⁱ	1.67 ^{ef}	0.543 ^f	0.691 ^a	4.2 ^e
Pu ₂ Sa ₀ N ₁₅₀	0.251 ^{de}	0.741 ^g	2.67 ^b	0.841 ^b	0.541 ^b	6.0 ^{bc}
Pu ₂ Sa _{0.5} N ₁₅₀	0.343 ^b	0.843 ^e	2.88 ^b	0.871 ^b	0.538 ^b	6.5 ^b
Pu ₂ Sa ₁ N ₁₅₀	0.323 ^{bc}	1.45 ^a	2.96 ^a	0.910 ^a	0.476 ^c	6.9 ^a

ns, * and ** indicate non-significance and significance at the 5 and 1 percent levels, respectively.

نتیجه گیری

گواهی بر اثرهای مثبت این تیمارها در تقویت تحمل به شوری در گیاه رزماری است. این نتایج بر لزوم استفاده از این تیمارها به عنوان راهکاری مؤثر برای بهبود رشد و عملکرد گیاهان در شرایط تنش شوری تأکید دارند و می تواند در برنامه های به نژادی و مدیریت کشاورزی برای ارتقاء پایداری تولید گیاهان در شرایط محیطی نامساعد مورد استفاده قرار گیرد.

نتایج این مطالعه نشان داد که تیمارهای زیستی شامل پوترسین و سالیسیلیک اسید قادرند با فعال سازی مسیرهای دفاعی گیاه، مقاومت رزماری را به تنش شوری به طور چشمگیری افزایش دهند. افزایش قابل توجه مقادیر پرولین، کربوهیدرات ها و فعالیت آنزیم های دفاعی مانند پراکسیداز و بهبود ترکیبات دفاعی مانند رزمارینیک اسید و ترپنوئیدها،

References

-Ahmad, R., Hussain, S., Anjum, M.A., Khalid, M.F., Saqib, M., Zakir, I., Hassan, A., Fahad, S. and Ahmad, S., 2019. Oxidative stress and antioxidant defense mechanisms in plants under salt stress. Plant abiotic stress tolerance: Agronomic, molecular and biotechnological approaches, pp.191-205.

https://doi.org/10.1007/978-3-030-06118-0_8
-Ahmed, M., Tóth, Z. and Decsi, K., 2024. The impact of salinity on crop yields and the confrontational behavior of transcriptional regulators, nanoparticles, and antioxidant defensive mechanisms under stressful conditions: A review. International Journal of Molecular Sciences, 25(5): 2654.
<https://doi.org/10.3390/ijms25052654>

- Al-Fraihat, A.H., Al-Dalain, S.Y., Zatimeh, A.A. and Haddad, M.A., 2023. Enhancing rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) growth and volatile oil constituents grown under soil salinity stress by some amino acids. *Horticulturae*, 9(2): 252. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9020252>
- Ali, A., Kant, K., Kaur, N., Gupta, S., Jindal, P., Gill, S.S. and Naeem, M., 2024. Salicylic acid: Homeostasis, signalling and phytohormone crosstalk in plants under environmental challenges. *South African Journal of Botany*, 169: 314-335. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.04.012>
- Arif, Y., Singh, P., Siddiqui, H., Bajguz, A. and Hayat, S., 2020. Salinity induced physiological and biochemical changes in plants: An omic approach towards salt stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*, 156: 64-77. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.08.042>
- Bates, L.S., Waldren, R.P.A. and Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39: 205-207. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00018060>
- Boorboori, M.R. and Li, J., 2025. The effect of salinity stress on tomato defense mechanisms and exogenous application of salicylic acid, abscisic acid, and melatonin to reduce salinity stress. *Soil Science and Plant Nutrition*, 71(1): 93-110. <https://doi.org/10.1080/00380768.2024.2405834>
- Bulgari, R., Morgutti, S., Cocetta, G., Negrini, N., Farris, S., Calcante, A., Spinardi, A., Ferrari, E., Mignani, I., Oberti, R. and Ferrante, A., 2017. Evaluation of borage extracts as potential biostimulant using a phenomic, agronomic, physiological, and biochemical approach. *Frontiers in Plant Science*, 8: 935.
- Chance, B. and Maehly, A. C., 1955. Assay of catalases and peroxidases, 2: 764-775. <https://doi.org/10.1002/9780470110171.ch14>
- Ehtaiwesh, A.F., 2022. The effect of salinity on nutrient availability and uptake in crop plants. *Scientific Journal of Applied Sciences of Sabratha University*, 9(9): 55-73. <https://doi.org/10.47891/sabujas.v0i0.55-73>
- Farzane, A., Nemati, H., Shoor, M. and Ansari, H., 2020. Antioxidant enzyme and plant productivity changes in field-grown tomato under drought stress conditions using exogenous putrescine. *Journal of Plant Physiology and Breeding*, 10(1): 29-40.
- Garooosi, M.K., Sanjarian, F. and Chaichi, M., 2023. The role of γ -aminobutyric acid and salicylic acid in heat stress tolerance under salinity conditions in *Origanum vulgare* L. *Plos one*, 18(7), p.e0288169.
- Golkar, P., Taghizadeh, M. and Yousefian, Z., 2019. The effects of chitosan and salicylic acid on elicitation of secondary metabolites and antioxidant activity of safflower under in vitro salinity stress. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 137(3): 575-585. <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01592-9>
- Hosseini, T., Shekari, F. and Ghorbanli, M., 2010. Effect of salt stress on ion content, proline and antioxidative enzymes of two safflower cultivars (*Carthamus tinctorius* L.). *J. Food Agric. Environ*, 8(2): 1080-1086.
- Hussein, O.S. and Abdelkadr, A., 2024. Metabolomics Profiling of Chilled (*Coriandrum sativum* L.) Primed by Silicate, Humic acid and Gamma Radiation. *Arab Journal of Nuclear Sciences and Applications*, 57(2): 85-99. <https://doi.org/10.21608/ajnsa.2024.250145.1793>
- Isah, T., 2019. Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. *Biological research*, 52(39): 1-25. <https://doi.org/10.1186/s40659-019-0246-3>
- Jiménez, A.D.C., 2019. Biological, Chemical, and Physical Investigation of Natural Terpenes (Doctoral dissertation, Texas Southern University).
- Li Pomi, F., Papa, V., Borgia, F., Vaccaro, M., Allegra, A., Cicero, N. and Gangemi, S., 2023. *Rosmarinus officinalis* and skin: antioxidant activity and possible therapeutical role in cutaneous diseases. *Antioxidants*, 12(3): 680. <https://doi.org/10.3390/antiox12030680>
- Mahajan, M. and Pal, P.K., 2023. Drought and salinity stress in medicinal and aromatic plants: Physiological response, adaptive mechanism, management/amelioration strategies, and an opportunity for production of bioactive compounds. *Advances in Agronomy*, 182: 221-273. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2023.06.005>
- Majeed, A. and Muhammad, Z., 2019. Salinity: a major agricultural problem—causes, impacts on crop productivity and management strategies. *Plant abiotic stress tolerance: Agronomic, molecular and biotechnological approaches*, pp.83-99. https://doi.org/10.1007/978-3-030-06118-0_3
- Mohammadi, M., Nezamdoost, D., Khosravi Far, F., Zulfiqar, F., Eghlima, G. and Aghamir, F., 2024. Exogenous putrescine application imparts salt stress-induced oxidative stress tolerance via regulating antioxidant activity, potassium uptake, and abscisic acid to gibberellin ratio in *Zinnia* flowers. *BMC Plant Biology*, 24(1): 865. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05560-0>
- Mohammed, H.A., Emwas, A.H. and Khan, R.A., 2023. Salt-tolerant plants, halophytes, as renewable natural resources for cancer prevention and treatment: roles of phenolics and flavonoids in immunomodulation and suppression of oxidative stress towards cancer management. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(6): 5171.

- <https://doi.org/10.3390/ijms24065171>
- Misra, N. and Saxena, P., 2009. Effect of salicylic acid on proline metabolism in lentil grown under salinity stress. *Plant Science*, 177(3): 181-189. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2009.05.007>
- Mutlu, S.A.L.I.H., Atici, Ö. and Nalbantoglu, B., 2009. Effects of salicylic acid and salinity on apoplastic antioxidant enzymes in two wheat cultivars differing in salt tolerance. *Biologia Plantarum*, 53: 334-338. <https://doi.org/10.1007/s10535-009-0061-8>
- Nahar, K., Hasanuzzaman, M. and Fujita, M., 2016. Roles of osmolytes in plant adaptation to drought and salinity. *Osmolytes and plants acclimation to changing environment: Emerging omics technologies*, pp.37-68. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2616-1_4
- Noreen, S., Ashraf, M., Hussain, M. and Jamil, A., 2009. Exogenous application of salicylic acid enhances antioxidative capacity in salt stressed sunflower (*Helianthus annuus* L.) *Pakistan Journal of Botany*, 41(1): 473-479.
- Sadia, H., Shahbaz, M., Kiran, A. and Saleem, M.F., 2023. Interactive effect of salicylic acid and ascorbic acid on gaseous exchange and mineral nutrients of chicory (*Cichorium intybus* L.) under saline conditions. *Pak J Bot*, 55(6): 1999-2012. [https://doi.org/10.30848/PJB2023-6\(22\)](https://doi.org/10.30848/PJB2023-6(22))
- Salam, U., Ullah, S., Tang, Z.H., Elateeq, A.A., Khan, Y., Khan, J., Khan, A. and Ali, S., 2023. Plant metabolomics: an overview of the role of primary and secondary metabolites against different environmental stress factors. *Life*, 13(3): 706. <https://doi.org/10.3390/life13030706>
- Sattarzadeh, E., Yarnia, M., Khalilvand Behrooznia, E., Mirshekari, B. and Rashidi, V., 2023. Investigation of the possibility of reducing the effects of low irrigation of lavender (*Lavandula officinalis* L.) using biofertilizers and phosphorus through changes in some morphological and biochemical characteristics. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 16(4): 1153-1171.
- Schubert, S. and Qadir, M., 2024. *Soil Salinity and Salt Resistance of Crop Plants*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-031-73250-8>
- Shankar, A., Ali, A., Abdullah, H.M., Balaji, J., Kaur, J., Saeed, F., Wasiq, M., Imran, A., Jibraeel, H., Raheem, M.S. and Aslam, A., 2024. Nutritional Composition, Phytochemical Profile, Therapeutic Potentials, and Food Applications of Rosemary: A Comprehensive Review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 135: 1-12.
- Silva, S., Costa, E. M., Calhau, C., Morais, R. M. and Pintado, M.E., 2017. Anthocyanin extraction from plant tissues: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(14): 3072-3083. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1087963>
- Turkylmaz Unal, B., Mentis, O. and Akyol, E., 2015. Effects of exogenous salicylic acid on antioxidant activity and proline accumulation in apple (*Malus domestica* L.). *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 56: 606-611. <https://doi.org/10.1007/s13580-015-0049-6>
- Yemm, E.W. and Willis, A., 1954. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochemical journal*, 57(3): 508-514. <https://doi.org/10.1042/bj0570508>
- Zhong, M., Yue, L., Liu, W., Qin, H., Lei, B., Huang, R., Yang, X. and Kang, Y., 2023. Genome-wide identification and characterization of the polyamine uptake transporter (Put) gene family in tomatoes and the role of Put2 in response to salt stress. *Antioxidants*, 12(2): 1-24. <https://doi.org/10.3390/antiox12020228>
- Zulfiqar, F. and Ashraf, M., 2023. Proline alleviates abiotic stress induced oxidative stress in plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(8): 4629-4651. <https://doi.org/10.1007/s00344-022-10839-3>