

## تأثیر محرک‌های زیستی بر برخی از ویژگی‌های مورفولوژیک و فیتوشیمیایی گیاه دارویی *Dracocephalum moldavica* L. تحت تنش کم‌آبیاری

ثریا مددخانی<sup>۱</sup>، عزیزاله خیری<sup>۲\*</sup>، مسعود ارغوانی<sup>۳</sup>، محسن ثانی‌خانی<sup>۳</sup> و زینب محکمی<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

۲\* - نویسنده مسئول، استادیار، علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران، پست الکترونیک: kheiry@znu.ac.ir

۳- استادیار، علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

۴- مربی، پژوهشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

تاریخ پذیرش: آذر ۱۴۰۰

تاریخ اصلاح نهایی: آبان ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۴۰۰

### چکیده

کاربرد محرک‌های زیستی در راستای تولید فرآورده‌های بیولوژیک سازگار با محیط‌زیست و در پیوند با کشاورزی نوین می‌تواند سبب افزایش رشد کمی و کیفی گیاهان و کاهش اثر تنش‌های محیطی بر آنها شود. به‌منظور بررسی اثر محرک‌های زیستی تحت تنش کم‌آبیاری بر ویژگی‌های مورفولوژیک و فیتوشیمیایی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) این آزمایش در سال زراعی ۹۸ به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان در سه تکرار اجرا شد. فاکتور اصلی آزمایش آبیاری (۱۰۰٪ و ۷۰٪ ظرفیت زراعی) و فاکتور فرعی محلول‌پاشی محرک‌های عصاره زعفران (۰/۰۱٪ و ۰/۰۵٪)، عصاره جینسینگ (۰/۵٪ و ۱٪)، آمینو اسید ال-سیستین (۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) و تیمار شاهد (عدم محلول‌پاشی) در مراحل ۴، ۸ و ۱۲ برگی بود. ویژگی‌های مورفولوژیک و فیتوشیمیایی در مرحله ۹۰٪ گلدهی گیاهان ارزیابی شدند. در این آزمایش در شرایط آبیاری کامل، بالاترین میزان کلروفیل کل (۳۵/۶۸ mg/g FW)، کاروتنوئید (۹/۱۸ mg/g FW) و محتوای نسبی آب برگ (۸۳/۲۰٪) از تحریک توسط ال-سیستین با غلظت ۵۰ میکرومولار حاصل شد. در حالی‌که تحت شرایط تنش آبی بالاترین محتوای فنل کل (۳۳/۱۷ mg GA/g DW)، فلاونوئید کل (۱/۵۳ mg QE/g DW) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (۹۵/۳۷٪) از تیمار عدم محلول‌پاشی محرک‌های زیستی حاصل شد. بالاترین درصد اسانس (۰/۳۸٪) مربوط به تیمار ۱۰۰ میکرومولار ال-سیستین در شرایط آبیاری کامل بود. اگرچه پارامترهای مورفولوژیکی بادرشبو تحت شرایط آبیاری کامل بیشترین مقدار خود را داشتند اما اعمال تنش کم‌آبیاری منجر به سنتز مقادیر بالاتری از ترکیب‌های فنولی، فلاونوئیدی و بروز خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تر گردید.

واژه‌های کلیدی: آمینواسید، اسانس، محلول‌پاشی، تنش خشکی، عصاره جینسینگ، عصاره زعفران.

## مقدمه

امروزه مطالعات زیادی روی گیاهان دارویی انجام شده است. این موضوع به دلیل تمایل بشر به استفاده از محصولات طبیعی و اجتناب از عوارض داروهای شیمیایی می‌باشد (Aziz et al., 2013). گیاه دارویی بادرشبو با نام علمی *Dracocephalum moldavica* L. از گیاهان دارویی مهم خانواده نعناعیان است. این گیاه بومی نواحی گرمسیر آسیاست (Aćimović et al., 2019). گیاهی علفی، یک‌ساله با ساقه‌های متعدد، به ارتفاع ۲۲ تا ۴۵ سانتی‌متر، ساده یا منشعب، معمولاً به فرم ایستاده یا صعودی است. طول میانگره‌ها در این گیاه بین ۴ تا ۷ سانتی‌متر متغیر است. ساقه آن توسط پرزهای کوتاه و ریز بنفش رنگ پوشیده شده است. برگ‌ها قاعده‌ای به شکل مستطیل تا بیضی با طول ۱/۷ تا ۲/۴ سانتی‌متر و حاشیه دندانه‌دار هستند (Jeong et al., 2016). گل‌ها به رنگ صورتی، سفید و آبی-بنفش در آرایش دایره‌ای و به صورت مجتمع روی گل‌آذین آرایش یافته‌اند. گل‌ها شهد نسبتاً زیادی تولید می‌کنند و جاذب زنبور عسل هستند. طول دوره گلدهی ۳۰ روز است (Dmitruk et al., 2018). تمامی پیکره گیاه حاوی اسانس است. گیاهان تازه حاوی ۰/۰۶٪ تا ۰/۷٪ اسانس هستند (Fallah et al., 2018). بیشترین میزان اسانس در طول دوره زایشی گیاه تجمع می‌یابد. اسانس این گیاه دارای خاصیت ضد میکروبی بوده و التیام‌دهنده زخم و جراحات می‌باشد (Nasrabadi, 2005). مهمترین ترکیب‌های موجود در اسانس بادرشبو ژرانیل استات، ژرانیال و ژرانیول، ۱،۸-سینئول، ۴-ترینول، کومین الکل و آلفا-ترینول هستند (Chu et al., 2011). اسانس بادرشبو، بویی معطر و مطبوع شبیه بادرنجبویه دارد و در هندوستان از تخم این گیاه به‌عنوان قابض، بادشکن و پایین‌آورنده تب استفاده می‌شود. عرق بادرشبو به‌عنوان تقویت‌کننده قلب، آرام‌بخش و اشتهاآور است (Omidbagi et al., 2003). از عصاره بادرشبو برای رفع سردرد و سرماخوردگی، ضعف عمومی بدن، مسکن دردهای عصبی و اسپاسم‌های معدی و کلیوی و برای شستشوی دهان و دندان استفاده می‌شود. همچنین از

آن می‌توان به‌عنوان ضماد در دردهای روماتیسمی استفاده کرد. این گیاه خاصیت ضد توموری نیز دارد (Hussein et al., 2006).

هنگامی که گیاه تحت تأثیر تنش خشکی قرار می‌گیرد، تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در آن رخ می‌دهد. انباشتن ABA، بستن روزنه‌ها و کاهش سطح برگ از جمله این تغییرات است. تجمع پرولین آزاد در گیاهان ممکن است بخشی از سازگاری با تنش خشکی محسوب شود. پرولین فشار اسمزی را در گیاه افزایش می‌دهد (Uzma & Asghari, 2007).

در شرایط تنش برخی از ترکیب‌های داخلی گیاه به میزان قابل توجهی افزایش پیدا می‌کنند (Atal & Kapur, 1998). گیاهان در تنش‌های محیطی از قبیل خشکی، شوری، گرما و ... با ذخیره مواد تنظیم‌کننده اسمزی با این تنش‌ها مقابله می‌کنند (Majidi Herwan, 1993; Trovato et al., 2008).

الیستورها، محرک‌های فیزیکی یا شیمیایی با منشأ زیستی و غیرزیستی هستند که می‌توانند پاسخ‌هایی در گیاه القاء کنند که باعث سنتز و تجمع متابولیت‌های ثانویه مشابه و جدید در سلول‌ها شود. الیستورها برای گیاه یک مجموعه پیام‌های شیمیایی می‌فرستند که باعث بروز پاسخ‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی و تجمع فیتوالکسین‌ها می‌شود (Zhao et al., 2005). کاربرد الیستورها به میزان محدود و غلظت‌های پایین، بیوسنتز ترکیب‌های خاصی را در سیستم سلولی زنده تحریک و بهبود بخشیده و به‌طور کلی زمان دستیابی به مقادیر بالای متابولیت‌ها را کاهش می‌دهد (Radman et al., 2003).

پایه فرمولاسیون محرک‌های زیستی در نهادهای جدید از اسیدهای آمینه و یا اسیدهای آمینه در اختلاط با مواد مغذی، پروتئین‌های هیدرولیز شده، اسید هیومیک، عصاره جلبک‌ها و گیاهان دریایی و دیگر متابولیت‌ها می‌باشد (Golzadeh et al., 2011). محرک‌های زیستی می‌توانند یکی از مهمترین عامل‌ها در کشت موفق یک گیاه دارویی باشند، چون افزون بر شاخص‌های کمی، بر شاخص‌های

برای سلامتی انسان، هدف از انجام این پژوهش بررسی تأثیر محلول‌پاشی اسیدهای آمینه و برخی محرک‌های طبیعی روی گیاه بادرشبو در شرایط آبیاری عادی و تنش خشکی در شرایط آب و هوایی زنجان بود.

## مواد و روش‌ها

مکان و زمان اجرای طرح و نحوه اعمال تیمارها

این تحقیق در فصل بهار و تابستان سال زراعی ۱۳۹۹-۱۳۹۸، در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. در این آزمایش فاکتور اصلی آبیاری در دو سطح بدون تنش (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی) و تنش ملایم (۷۰٪ ظرفیت زراعی) بود که از زمان ورود گیاه به مرحله چهار برگی به کمک دستگاه TDR اعمال شد و فاکتور فرعی محرک‌های زیستی شامل: عصاره زعفران در دو سطح (۰/۱٪ و ۰/۰۵٪)، عصاره جینسینگ در دو سطح (۱٪ و ۰/۵٪) و اسید آمینه آل-سیستین در دو غلظت (۵۰ و ۱۰۰ میکرومول) و تیمار شاهد (عدم محلول‌پاشی) در نظر گرفته شد. این محرک‌ها براساس نقشه طرح بر گیاهان به شکل یکنواخت اسپری شد. اندازه‌گیری پارامترهای مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی زمانی در مرحله گلدهی کامل گیاهان انجام گردید.

سنجش رنگیزه‌های فتوستنتزی

برای تعیین مقادیر کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل، مقدار یک گرم از بافت سبز برگ‌های بالغ جوان به همراه ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ ساییده شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شدند و پس از آن به‌طور جداگانه مقادیر کلروفیل a در طیف جذبی ۶۶۳ و کلروفیل b در ۶۴۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Unic, UV, 2100) قرائت شد. برای تنظیم دستگاه از استون ۸۰٪ استفاده شد. غلظت رنگیزه‌ها با استفاده از فرمول‌های زیر و براساس میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه محاسبه شد (Khaleghnezhad et al., 2019; Arnon,

کیفی گیاه دارویی نیز مؤثر هستند که این تأثیر ناشی از اسیدهای آمینه بکاررفته در ترکیب و ساخت (فرمولاسیون) این محرک‌های زیستی است که با افزایش نسخه‌برداری mRNA تا ۲/۵ برابر، فعال‌سازی هورمون‌های مؤثر در رشد زایشی، افزایش متابولیسم کربوهیدرات‌ها، افزایش جذب و انتقال عناصر غذایی و افزایش میزان ترکیب‌های پروتئینی در گیاهان، سبب بهبود خصوصیات کمی و کیفی در کوتاه‌ترین بازه زمانی به‌ویژه در شرایط تنش محیطی می‌شوند (Gawrońska, 2008; Thomas et al., 2009).

در مطالعه‌ای روی بابونه مشخص شد که با کاربرد کودهای زیستی آمینول فورته و فسفوترن به میزان ۱/۵ کیلوگرم در هکتار بیشترین عملکرد کاپیتول و اسانس در گیاه دارویی بابونه آلمانی حاصل گردید (Golzadeh et al., 2011). در مطالعه دیگری کاربرد محلول‌پاشی گیاه دارویی گشنیز با کود زیستی هیومی فورته (مخلوطی از چند اسید آمینه) بیشترین ارتفاع بوته (۶۱/۲۷ سانتی‌متر)، شاخص سطح برگ (۱/۲۸)، عملکرد زیست توده (۷۶۹۳/۱۵ کیلوگرم در هکتار)، عملکرد دانه (۱۱۱۰/۹۲ کیلوگرم در هکتار) و درصد اسانس (۰/۵٪) را تولید کرد (Rezakhani & Haj Seyed Hadi, 2018). Ahmadian و همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند که محلول‌پاشی مزرعه زعفران با عصاره گلبرگ زعفران به‌عنوان کود زیستی منجر به تولید کروم‌های دختری با اندازه بزرگتر می‌گردد. Azizi و همکاران (۲۰۲۰) اثر محلول‌پاشی با کودهای جلبک دریایی، اوره و ریزمغذی را بر عملکرد و اجزای عملکرد زعفران بررسی کردند. نتایج آزمایش آنان نشان داد که کاربرد عصاره جلبک دریایی به میزان ۲ لیتر/هکتار، وزن کلاله خشک، تعداد گل، وزن خشک بنه و وزن خشک برگ را به‌ترتیب ۶۵/۳، ۳۷/۰۶، ۶۱/۹۹ و ۱۶/۱۵ نسبت به شاهد افزایش داد. با توجه به بروز چالش‌های زیست-محیطی مانند کاهش منابع آبی، افت کیفیت محصولات کشاورزی و کاهش میزان حاصلخیزی خاک، تغییر در نظام‌های زراعی متداول ضروری و حرکت به سوی نظام‌های کشاورزی پایدار را توجیه می‌کند (Sharma, 2002). با توجه به اهمیت توسعه کشاورزی پایدار و کاربرد فرآورده‌های گیاهان دارویی به‌عنوان داروهای طبیعی بدون ترکیب‌های مشکل‌ساز

آماده‌سازی نمونه‌ها برای سنجش کاروتنوئید مطابق روش ذکر شده برای کلروفیل و توسط استون ۸۰٪ انجام شد.

همچنین برای سنجش کاروتنوئید کل از طول موج ۴۷۰ نانومتر استفاده گردید (Lichtenthaler, 1987).

$$\text{Chla (mg/g FW)} = (12.25 \times A663) - (2.79 \times A 647) \quad \text{رابطه ۱}$$

$$\text{Chlb (mg/g FW)} = (21.5 \times A647) - (5.1 \times A 663) \quad \text{رابطه ۲}$$

$$\text{Total Chl (mg/g FW)} = \text{chl a} + \text{chl b} \quad \text{رابطه ۳}$$

$$\text{Car (mg/g FW)} = (1000 \times A470 - 1.82 \text{ chla} - 85.02 \text{ chlb}) \quad \text{رابطه ۴}$$

روش McDonald و همکاران (۲۰۰۱) اندازه‌گیری شد. طبق این روش مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره متانولی، در لوله‌های آزمایش ریخته شد. ۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو (رقیق شده با آب مقطر به نسبت ۱ به ۱۰) و ۴۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷٪ به مخلوط ذکر شده اضافه گردید. بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای محیط، جذب نوری آن توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. در نهایت با قرار دادن مقدار جذب عصاره در رابطه خطی مربوط به منحنی استاندارد گالیک اسید (۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مقدار فنل کل موجود در عصاره محاسبه شد. داده‌ها برابر میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک گیاه (میلی‌گرم اکی‌والان گالیک اسید/گرم وزن خشک) بیان شد. همه سنجش‌ها در سه نوبت تکرار گردید.

#### سنجش فلاونوئید کل

محتوای فلاونوئیدی عصاره متانولی بادرشبو به روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد. در این روش به ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره متانولی، ۱۰۰ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلرید (۱۰٪)، ۱۰۰ میکرولیتر محلول استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید. نمونه‌ها به مدت ۴۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری گردید و بعد جذب مخلوط واکنش در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد براساس محلول کوئرستین با غلظت‌های متفاوت (۵۰، ۱۵۰، ۲۵۰

در رابطه‌های ذکر شده، A میزان جذب قرائت شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر، Chl a مقدار کلروفیل a، Chl b میزان کلروفیل b، Total Chl میزان کلروفیل کل و Car میزان کاروتنوئید است.

تهیه عصاره هیدروالکلی برای سنجش فنل کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدان

سرشاخه‌های گیاه پس از ورود به مرحله گلدهی برداشت شد و در شرایط دمای معمولی اتاق و سایه خشک گردید. سپس به کمک آسیاب برقی پودر شد. عصاره متانولی از پودر شاخساره گلدار با روش ماسراسیون سرد و با نسبت ۱:۱۰ (V/W) ماده خشک گیاهی و حلال متانول ۷۰٪ تهیه گردید. نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت درون حلال و روی شیکر با سرعت ۱۲۰ rpm در دمای اتاق خیس شد. پس از آن با کاغذ صافی واتمن No.1 صاف گردید و برای تغلیظ به دستگاه روتاری اوپوراتور با دمای ۴۵ درجه انتقال یافت. یک ساعت پس از تغلیظ عصاره به زیر هود انتقال یافته تا بقیه حلال به تدریج تبخیر گردد. از این عصاره برای استفاده در سنجش میزان فنل کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی استفاده شد (Firouzkoobi et al., 2018).

#### سنجش میزان فنل کل

مقادیر ترکیب‌های فنلی در عصاره متانولی بادرشبو به

دمای معمولی اتاق ( $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد) و سایه خشک گردید. سپس توسط آسیاب برقی پودر شد. نمونه‌ها به روش تقطیر با آب به کمک کلونجر به مدت ۳ ساعت اسانس‌گیری شدند. فرایند اسانس‌گیری برای هر تیمار در سه نوبت تکرار شد. درصد اسانس برای هر تیمار محاسبه گردید (Borna *et al.*, 2007).

#### اندازه‌گیری محتوای آب نسبی برگ (Relative RWC: Water Content)

نمونه‌برداری با استفاده از قیچی از برگ رفرنس (آخرین برگ توسعه یافته) تمامی تیمارهای آزمایشی انجام و نمونه‌ها بلافاصله درون یخ قرار گرفته و در آزمایشگاه وزن تر آنها با ترازوی دیجیتال با دقت  $0.0001$  گرم اندازه‌گیری شد (برگ‌ها نباید دچار شکستگی و پارگی باشند). سپس تمامی نمونه‌ها در آب مقطر قرار داده شده و به مدت ۲۴ ساعت در یخچال معمولی با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. بعد از ۲۴ ساعت وزن اشباع برگ‌ها اندازه‌گیری و برگ‌ها به مدت ۲۴ ساعت دیگر در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار گرفته و وزن خشک هر یک توسط ترازوی دیجیتال با دقت  $0.0001$  گرم اندازه‌گیری شد. با قرار دادن اعداد حاصل از توزین در فرمول زیر RWC محاسبه گردید.

$$\text{RWC} = \frac{Fw - Dw}{Sw - Dw} \times 100 \quad \text{رابطه ۶}$$

Fw: وزن تر برگ بلافاصله بعد از نمونه‌برداری،  
Dw: وزن خشک برگ بعد از قرار گرفتن در آون،  
Sw: وزن اشباع برگ بعد از قرار گرفتن در آب مقطر

۳۵۰، ۴۵۰ و ۵۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) رسم شده و میزان فلاونوئید برابر میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم وزن خشک گیاه محاسبه گردید. ضمناً بلانک محلول نیز به همین صورت و بدون عصاره آماده شد. تمامی سنجش‌ها در سه تکرار انجام شد (Chang *et al.*, 2002).

#### سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدان

سنجش فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH (2, 2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl) به روش Barros و همکاران (۲۰۰۷) انجام شد. این روش براساس تغییر رنگ محلول متانولی بنفش رنگ ۲ و ۲- دی فنیل-۱- پیکریل- هیدرازیل به محلول زرد رنگ دی فنیل- پیکریل هیدرازین می‌باشد. ۲۵۰ میکرولیتر از عصاره متانولی با درشبو با ۷۵۰ میکرولیتر از محلول DPPH (دو میلی‌گرم DPPH (C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>, Merck, Germany, NO. 300267) در ۵۰ میلی‌لیتر متانول حل شد) مخلوط شد. این نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی و دمای اتاق نگهداری شد و بعد میزان جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت شد. درصد مهار رادیکال‌های آزاد با فرمول ذیل محاسبه گردید (Barros *et al.*, 2007).

$$\text{رابطه ۵} \quad \text{Ac} = \frac{Ac-As}{Ac} \times 100 = \text{درصد مهار رادیکال آزاد}$$

Ac: عدد جذب مربوط به شاهد، As: عدد جذب مربوط

به نمونه

#### درصد اسانس

برداشت بوته‌ها برای استخراج اسانس در زمان گلدهی کامل (Full bloom) بوته‌ها انجام شد (Aćimović *et al.*, 2019). بوته‌ها پس از برداشت و حذف مواد زائد در شرایط

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس ویژگی‌های مورفولوژیک بادرشبو تحت تیمارهای محرک زیستی و تنش آبی

منبع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع بوته	تعداد ساقه فرعی	وزن تر بوته	وزن خشک بوته	تعداد برگ	قطر ساقه	تعداد گل آذین	طول گل آذین
تکرار	۲	۴۲/۲۰ <sup>ns</sup>	۰/۳۸ <sup>ns</sup>	۶۲/۲۹ <sup>ns</sup>	۱۲/۷۰ <sup>ns</sup>	۶۰/۱۶ <sup>ns</sup>	۰/۵۸ <sup>ns</sup>	۰/۲۶ <sup>ns</sup>	۰/۱۳ <sup>ns</sup>
تنش خشکی	۱	۴۱۵/۴۲ <sup>**</sup>	۲۲۲/۱۸ <sup>**</sup>	۳۴۲۹۷/۱۴ <sup>**</sup>	۲۵۵۸/۷۱ <sup>**</sup>	۴۴۰۳۸/۰ <sup>**</sup>	۲۷/۱۰ <sup>**</sup>	۵۰۸/۷۷ <sup>**</sup>	۱۱۶/۶۶ <sup>**</sup>
خطای اصلی	۲	۷/۷۸	۰/۶۴	۷/۵۲	۶/۶۴	۵۸/۱۶	۰/۶۶	۰/۰۰۵۶	۰/۵۰
محرک زیستی	۶	۱۳/۷۷ <sup>ns</sup>	۲۳/۳۳ <sup>**</sup>	۵۶۳/۵۶ <sup>**</sup>	۲۱۵/۸۲ <sup>**</sup>	۱۲۲۹/۰ <sup>**</sup>	۲/۶۸ <sup>**</sup>	**۲۲/۰۲	۵/۷۷ <sup>**</sup>
تنش خشکی × محرک زیستی	۶	۱۱/۳۱ <sup>ns</sup>	۲/۱۴ <sup>ns</sup>	۹۱/۱۷ <sup>**</sup>	۲۶/۰۹ <sup>*</sup>	۳۰۶۰/۵ <sup>**</sup>	۱/۰۶ <sup>**</sup>	۳/۶۰ <sup>*</sup>	۲/۹۸ <sup>*</sup>
خطا کل	۲۴	۱۶/۹۳	۱/۱۲	۱۶/۳۰	۱۰/۰۲	۶۹/۲۵	۰/۲۴	۱/۱۷	۰/۹۷
ضریب تغییرات (%)	-	۷/۱۰	۵/۶۵	۳/۵۵	۸/۶۶	۳/۳۶	۸/۳۲	۸/۲۵	۶/۷۴

\*\*، \* و ns: به ترتیب معنی داری در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ و عدم معنی داری می‌باشد.

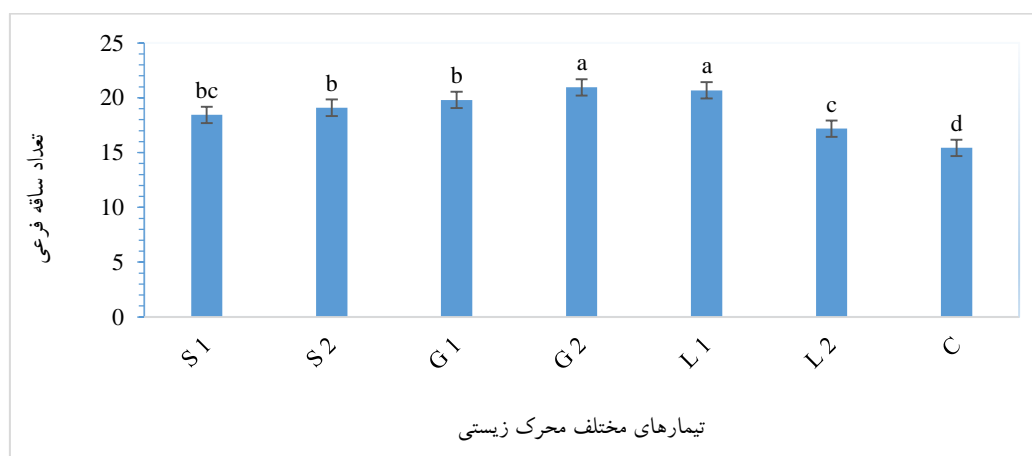
## نتایج

### ارتفاع بوته

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها حکایت از آن دارد که از میان فاکتورهای آزمایش، تنها اثر ساده تنش آبی بر صفت ارتفاع بوته در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). به طوری که بیشترین ارتفاع بوته (۶۱/۰۵ سانتی‌متر) در آبیاری کامل و کمترین ارتفاع بوته (۵۴/۷۶ سانتی‌متر) در تنش خشکی (۷۰٪ ظرفیت زراعی) ارزیابی شد.

### تعداد ساقه فرعی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها حکایت از آن داشت که



شکل ۱- اثر ساده محرک‌های زیستی بر تعداد ساقه فرعی در بوته بادرشبو

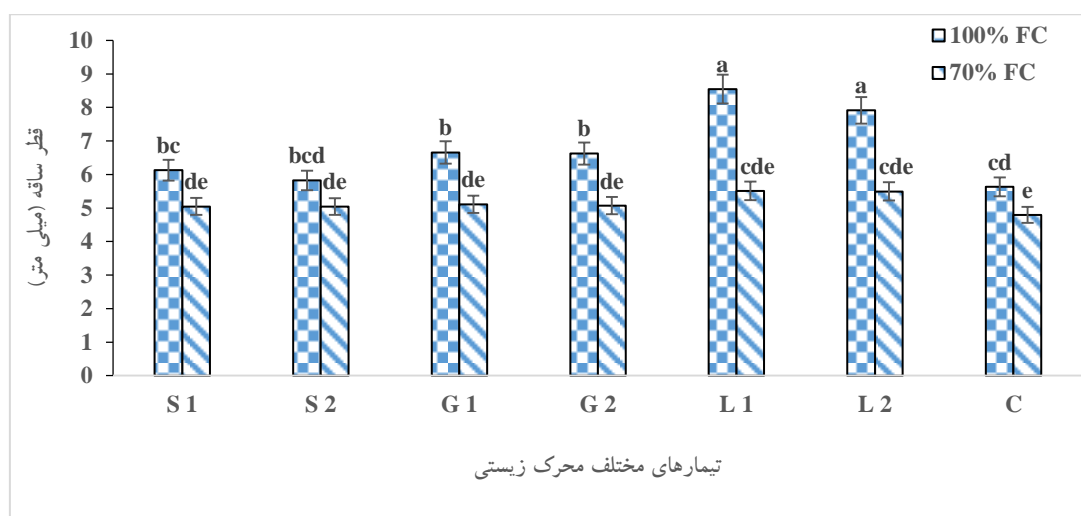
S1: عصاره زعفران ۰/۰۱٪، S2: عصاره زعفران ۰/۰۵٪، G1: عصاره جینسینگ ۱٪، G2: عصاره جینسینگ ۰/۰۵٪، L1: ال-سیستئین ۵۰ میکرومول، L2: ال-سیستئین ۱۰۰ میکرومول و C: شاهد. ستون‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ بود.

### قطر ساقه

نتایج تجزیه واریانس داده‌های مندرج در جدول ۱ حکایت از آن داشت که اثرهای ساده تنش آبی و محرک زیستی بر قطر ساقه اصلی در بادرشبو معنی‌دار بود ( $P < 0.01$ ). بیشترین قطر ساقه (۸/۵۵ میلی‌متر) تحت

اثرهای ساده تنش آبی و محرک در سطح احتمال ۱٪ ( $P < 0.01$ ) بر تعداد ساقه فرعی در گیاه دارویی بادرشبو معنی‌دار بود. اما اثر متقابل این دو فاکتور بر تعداد ساقه فرعی در بوته معنی‌دار نبود (جدول ۱). نتایج نشان داد که بیشترین تعداد ساقه فرعی (۲۱/۰۹) در شرایط آبیاری کامل وجود داشت و با اعمال تنش کم آبیاری از تعداد انشعابات جانبی ساقه (۱۶/۴۹) کاسته شد. بررسی اثر ساده محرک زیستی بر تعداد ساقه فرعی نیز حکایت از آن بود که بالاترین تعداد (۲۰/۹۵) در تیمار محلول‌پاشی توسط محرک زیستی عصاره جینسینگ ۰/۰۵٪ تولید شد، در حالی که کمترین تعداد ساقه (۱۵/۴۳) فرعی در تیمار شاهد سنجش گردید (شکل ۱).

شرایط آبیاری کامل و تیمار محلول‌پاشی با آمینواسید ال-سیستئین در غلظت ۵۰ میکرومولار بدست آمد. در حالی که کمترین قطر ساقه (۴/۷۹ میلی‌متر) در تیمار شاهد و تحت شرایط تنش کم آبیاری حاصل شد (شکل ۲).



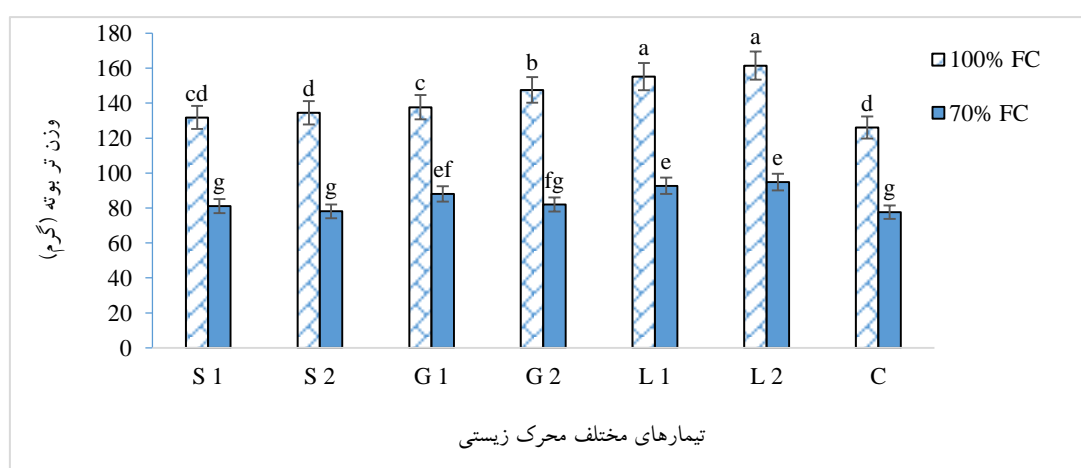
شکل ۲- اثر متقابل تنش آبی و محرک زیستی بر قطر ساقه اصلی گیاه دارویی بادرشبو

S1: عصاره زعفران ۰/۰۱٪، S2: عصاره زعفران ۰/۰۵٪، G1: عصاره جینسینگ ۱٪، G2: عصاره جینسینگ ۰/۵٪، L1: ال-سیستین ۵۰ میکرومول، L2: ال-سیستین ۱۰۰ میکرومول و C: شاهد. ستون‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ بود.

وزن تر بوته

(۱۶۱/۵۶ گرم) از تیمار محلول‌پاشی با ال-سیستین ۱۰۰ میکرومولار و تحت شرایط آبیاری کامل حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد در شرایط تنش آبی (۷۷/۶۳ گرم)، افزایش ۱۰۸ درصدی نشان داد (شکل ۳).

نتایج تجزیه واریانس مندرج در جدول ۱ حکایت از آن دارد که اثرهای ساده تنش آبی و محرک زیستی و همچنین اثر متقابل این تیمارها بر وزن تر بوته معنی‌دار بود ( $P < 0.01$ ). در آزمایش ما بیشترین وزن تر بوته بادرشبو



شکل ۳- اثر متقابل تنش آبی و محرک زیستی بر وزن تر بوته در بادرشبو

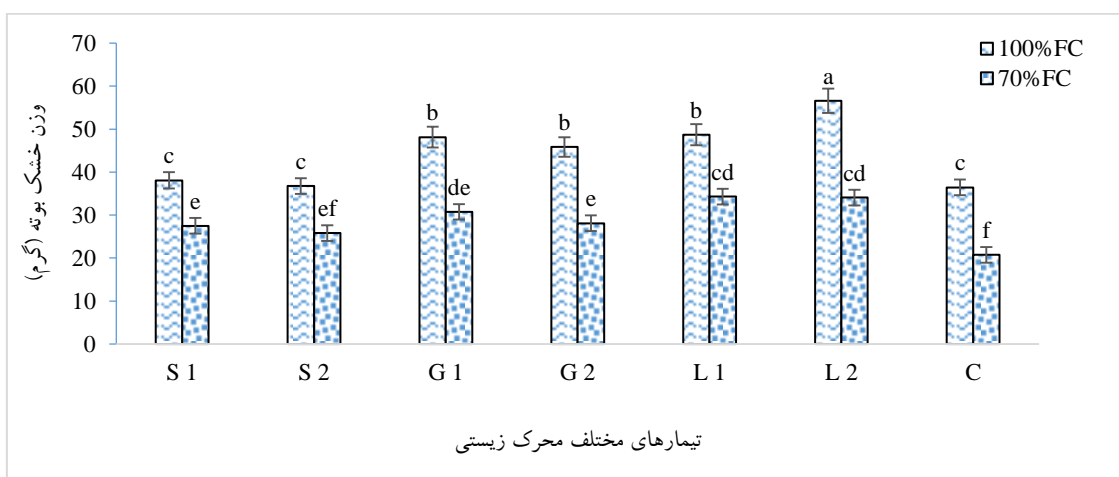
S1: عصاره زعفران ۰/۰۱٪، S2: عصاره زعفران ۰/۰۵٪، G1: عصاره جینسینگ ۱٪، G2: عصاره جینسینگ ۰/۵٪، L1: ال-سیستین ۵۰ میکرومول، L2: ال-سیستین ۱۰۰ میکرومول و C: شاهد. ستون‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ بود.



## وزن خشک بوته

تحت آبیاری کامل حاصل شد. در حالی که کمترین میزان (۲۰/۷۴ گرم) از تیمار شاهد در شرایط تنش خشکی بدست آمد (شکل ۴). البته افزایش بیومس در گیاه بادرشبو تحت تیمارهای محلول پاشی با اسید آمینه می تواند به دلیل نیتروژن موجود در آن نیز باشد که با نتایج سایر محققان مطابقت دارد (Rezakhani & Haj Seyed Hadi, 2018).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها بر وزن خشک بوته نشان داد که اثرهای ساده تنش آبی و محرک زیستی و همچنین اثرهای متقابل آنها بر این صفت معنی‌دار بود (جدول ۱). به طوری که بیشترین وزن خشک بوته (۵۶/۶۲ گرم) از تیمار محلول پاشی با ال-سیستئین با غلظت ۱۰۰ میکرومول



شکل ۴- اثر متقابل تنش آبی و محرک زیستی بر وزن خشک بوته در بادرشبو

S1: عصاره زعفران ۰/۰۱٪، S2: عصاره زعفران ۰/۰۵٪، G1: عصاره جینسینگ ۱٪، G2: عصاره جینسینگ ۰/۰۵٪، L1: ال-سیستئین ۵۰ میکرومول،

L2: ال-سیستئین ۱۰۰ میکرومول و C: شاهد. ستون‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ بود.

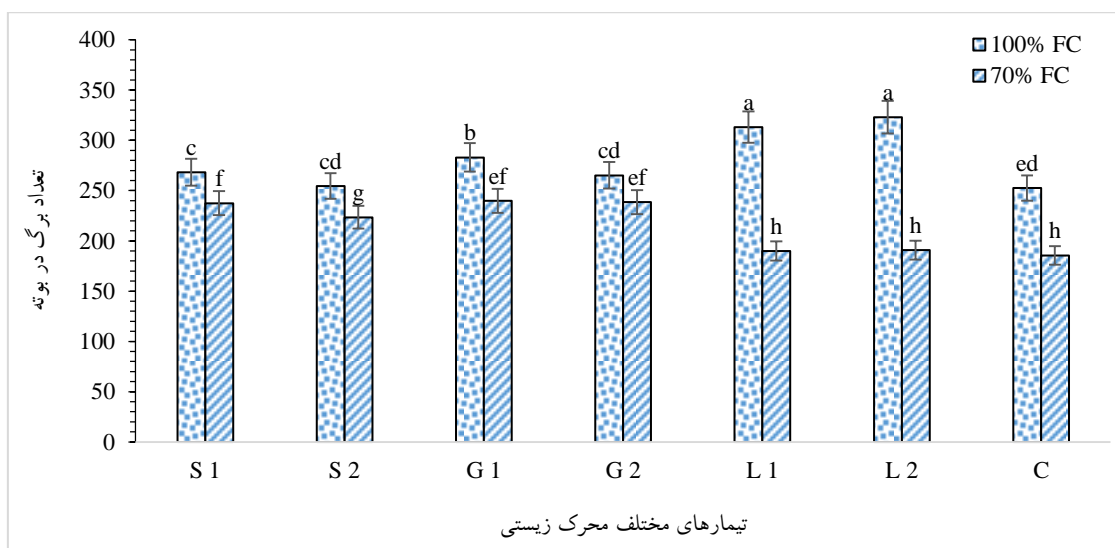
## تعداد برگ در بوته

به‌عنوان منبع تأمین نیتروژن، در تولید پروتئین گیاهی و سبزینه (کلروفیل) و در نتیجه افزایش سطح برگ و فتوسنتز گیاه مؤثر هستند (Ghazi Manas *et al.*, 2013).

## تعداد گل‌آذین در بوته

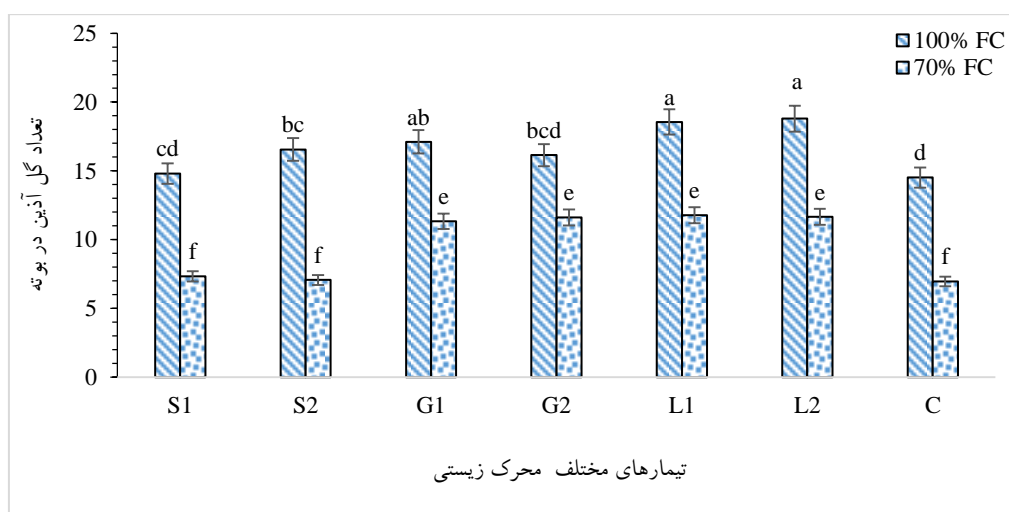
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها حکایت از آن داشت که اثرهای ساده تنش و محرک زیستی در سطح احتمال ۱٪ و اثر متقابل آنها در سطح احتمال ۵٪ بر تعداد گل‌آذین در بوته بادرشبو معنی‌دار بود. به طوری که بیشترین تعداد گل‌آذین در بوته (۱۸/۷۹) از تیمار محلول پاشی با ال-سیستئین در غلظت ۱۰۰ میکرومول تحت آبیاری کامل حاصل شد. در حالی که کمترین تعداد (۶/۹۶) از تیمار شاهد تحت تنش کم آبیاری شمارش گردید (شکل ۶).

همان‌طور که نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثرهای ساده تنش آبی، محرک زیستی و اثر متقابل آنها بر تعداد برگ در بوته بادرشبو در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). به طوری که بیشترین تعداد برگ (۳۲۳) از تیمار محلول پاشی با ال-سیستئین با غلظت ۱۰۰ میکرومول تحت آبیاری کامل حاصل شد. در حالی که کمترین تعداد (۱۸۵/۴۴) از تیمار شاهد تحت تنش کم آبیاری شمارش گردید (شکل ۵). در آزمایش Rezakhani و Haj Seyed Hadi (۲۰۱۸) نیز بیشترین شاخص سطح برگ گشنیز در تیمار محلول پاشی با اسید آمینه فورته حاصل شد. البته سایر محققان نیز به نقش مثبت اسیدهای آمینه در افزایش شاخص سطح برگ اشاره کرده‌اند. آنان بیان کردند که اسیدهای آمینه



شکل ۵- اثر متقابل تنش آبی و محرک زیستی بر تعداد برگ در بوته

S1: عصاره زعفران ۰/۰۱٪، S2: عصاره زعفران ۰/۰۵٪، G1: عصاره جینسینگ ۱٪، G2: عصاره جینسینگ ۰/۵٪، L1: ال-سیستئین ۵۰ میکرومول، L2: ال-سیستئین ۱۰۰ میکرومول و C: شاهد. ستون‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ بود.



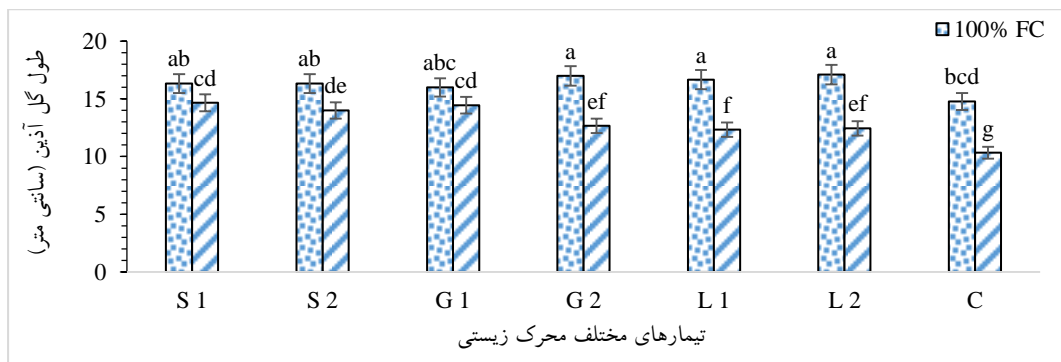
شکل ۶- اثر متقابل تنش آبی و محرک زیستی بر تعداد گل آذین در بوته بادرشبو

S1: عصاره زعفران ۰/۰۱٪، S2: عصاره زعفران ۰/۰۵٪، G1: عصاره جینسینگ ۱٪، G2: عصاره جینسینگ ۰/۵٪، L1: ال-سیستئین ۵۰ میکرومول، L2: ال-سیستئین ۱۰۰ میکرومول و C: شاهد. ستون‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ بود.

### طول گل آذین

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها حکایت از آن داشت که اثر ساده تنش و محرک زیستی در سطح احتمال ۱٪ و اثر متقابل آنها در سطح احتمال ۵٪ بر طول گل آذین در بادرشبو معنی‌دار بود (جدول ۱). در این آزمایش بلندترین

طول گل آذین (۱۷/۱۱ سانتی‌متر) مربوط به تیمار محلول‌پاشی با ال-سیستئین در غلظت ۱۰۰ میکرومول تحت آبیاری کامل بود، در صورتی‌که کوتاه‌ترین گل آذین در تیمار شاهد تحت تنش کم آبیاری (۷۰٪ ظرفیت زراعی) مشاهده شد (شکل ۷).



شکل ۷- اثر متقابل تنش و محرک زیستی بر طول گل آذین در بوته بادرشبو

S1: عصاره زعفران ۰/۰۱٪، S2: عصاره زعفران ۰/۰۵٪، G1: عصاره جینسینگ ۱٪، G2: عصاره جینسینگ ۰/۵٪، L1: ال-سیستین ۵۰ میکرومول، L2: ال-سیستین ۱۰۰ میکرومول و C: شاهد. ستون‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ بود.

### رنگیزه‌های فتوسنتزی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها حکایت از آن داشت که میزان کلروفیل a و کلروفیل کل تنها تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفتند ( $P < 0.01$ ). در حالی که افزون بر اثر تنش خشکی بر میزان کلروفیل b، اثر متقابل تنش خشکی × محرک زیستی نیز بر این فاکتور اثر معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ داشت (جدول ۲). در این آزمایش بیشترین میزان کلروفیل a ( $21/62 \text{ mg/g FW}$ ) از تیمار آبیاری کامل (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی) حاصل شد و کمترین میزان آن ( $12/76 \text{ mg/g FW}$ ) از تیمار تنش آبی حاصل شد. همان‌طور که در نتایج مندرج در جدول ۲ مشاهده گردید میزان کلروفیل b تحت تأثیر اثر متقابل آبیاری و محلول‌پاشی با محرک‌های زیستی قرار گرفت. در آزمایش ما بیشترین میزان کلروفیل b ( $22/87 \text{ mg/g FW}$ ) از تیمار محلول‌پاشی با عصاره جینسینگ ۰/۵٪ تحت شرایط آبیاری کامل حاصل شد، در حالی که کمترین میزان کلروفیل b ( $6/21 \text{ mg/g FW}$ ) از تیمار شاهد تحت شرایط تنش آبی حاصل شد (جدول ۳). مشابه کلروفیل a، میزان کلروفیل کل نیز تحت تأثیر اثر ساده تنش آبی قرار گرفت و بیشترین میزان آن در شرایط آبیاری کامل تولید شد ( $35/68 \text{ mg/g FW}$ ) که نسبت به گیاهان تحت تنش آبی ( $14/42 \text{ mg/g FW}$ ) ۱۴۷٪ بیشتر بود.

### میزان کاروتنوئید

نتایج تجزیه واریانس داده‌های مندرج در جدول ۲ حکایت از آن داشت که اثر ساده تنش خشکی ( $P < 0.05$ ) و محرک زیستی ( $P < 0.01$ ) بر میزان کاروتنوئید کل معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل تیمارهای تنش خشکی و محلول‌پاشی با محرک‌های زیستی نیز بر میزان کاروتنوئید کل در سطح احتمال ۵٪ اثر معنی‌داری داشت (جدول ۲). بیشترین میزان کاروتنوئید ( $9/18 \text{ mg/g FW}$ ) در تیمار محلول‌پاشی با ال-سیستین ۵۰ میکرومول تحت شرایط آبیاری کامل (۱۰۰٪ FC) حاصل شد و کمترین میزان ( $4/76 \text{ mg/g FW}$ ) از تیمار شاهد در شرایط تنش آبی بدست آمد (جدول ۳).

### محتوای فنل کل

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده تنش خشکی و محرک زیستی و همچنین اثر متقابل این دو فاکتور بر محتوای فنل کل در سطح احتمال ۱٪ اثر معنی‌داری از لحاظ آماری داشت (جدول ۲). به طوری که بیشترین میزان فنل کل ( $33/17 \text{ mg GA/g DW}$ ) در شرایط تنش آبی و در تیمار شاهد مشاهده گردید و کمترین میزان آن ( $9/42 \text{ mg GAE/g DW}$ ) از تیمار محلول‌پاشی با ال-سیستین ۵۰ میکرومولار تحت شرایط آبیاری کامل سنجش شد. در کلیه تیمارها میزان فنل کل تحت شرایط تنش خشکی نسبت به آبیاری کامل بیشتر بود (جدول ۳).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی بادرشبو تحت تنش آبی و محرک زیستی

منبع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید	فنل کل	فلاونوئید	فعالیت آنزیمی اکسیدانی	محتوای آب نسبی	درصد اسانس
تکرار	۲	۲/۲۴ <sup>ns</sup>	۱/۶۲ <sup>ns</sup>	۶/۱۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۸۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۸ <sup>ns</sup>	۱۰/۴۰ <sup>ns</sup>	۱۸/۴۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۱۲ <sup>ns</sup>
تنش خشکی	۱	۲۲۷/۴۵ <sup>**</sup>	۸۸۹/۱۸ <sup>*</sup>	۶۱۹/۳۹ <sup>**</sup>	۱۲/۷۰ <sup>*</sup>	۲۵۷۴/۰۳ <sup>**</sup>	۰/۰۱۴ <sup>**</sup>	۲۱۴۶/۴۳ <sup>**</sup>	۱۵۳۹/۳۶ <sup>**</sup>	۰/۰۱۰ <sup>**</sup>
خطای اصلی	۲	۳۹/۰۶	۱۵/۶۲	۱۰۶/۸۷	۵/۲۳	۰/۶۶	۰/۰۰۰۵	۹/۳۱	۹/۷۳	۰/۰۰۰۷۱
محرک زیستی	۶	۲۴/۳۳ <sup>ns</sup>	۱۲/۰۸ <sup>ns</sup>	۶۶/۳۶ <sup>ns</sup>	۷/۷۴ <sup>**</sup>	۴۶/۰۷ <sup>**</sup>	۰/۰۰۱۳ <sup>ns</sup>	۴۱/۰۵ <sup>*</sup>	۱۰۵/۰۰ <sup>*</sup>	۰/۰۱۸ <sup>**</sup>
تنش خشکی × محرک زیستی	۶	۱۶/۹۱ <sup>ns</sup>	۲۲/۰۷ <sup>*</sup>	۴۵/۹۸ <sup>ns</sup>	۴/۱۲ <sup>*</sup>	۱۱/۳۳ <sup>**</sup>	۰/۰۰۰۳۱ <sup>ns</sup>	۱۳/۴۹ <sup>ns</sup>	۵۹/۹۷ <sup>*</sup>	۰/۰۱۳ <sup>**</sup>
خطا کل	۲۴	۱۳/۴۶	۸/۲۲	۳۶/۶۳	۱/۶۸	۱/۸۲	۰/۰۰۱۳	۱۰/۵۵	۲۱/۴۳	۰/۰۰۰۴۴
ضریب تغییرات (%)	-	۲۲/۳۲	۲۰/۵۵	۶/۰۵	۲۰/۹۹	۶/۷۳	۲/۴۷	۳/۹۰	۶/۸۶	۹/۲۸

\*\*، \* و ns: به ترتیب معنی داری در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ و عدم معنی داری می‌باشد.

## محتوای فلاونوئید کل

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها حکایت از آن داشت که محتوای فلاونوئید کل تنها تحت تأثیر اثر ساده تنش آبی قرار گرفت ( $P < 0.01$ ). به طوری که بیشترین میزان فلاونوئید کل ( $1/53 \text{ mg QE/g DW}$ ) تحت تنش خشکی و کمترین میزان آن از تیمار آبیاری کامل با مقدار  $1/44 \text{ mg QE/g DW}$  بدست آمد. به عبارت دیگر بروز تنش خشکی منجر به تجمع بیشتر ترکیب‌های فلاونوئیدی شد.

۲ قابل مشاهده است، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه بادرشبو در این آزمایش تحت تأثیر اثر ساده تنش خشکی و محلول‌پاشی با محرک‌های زیستی قرار گرفت. اما اثر متقابل این دو فاکتور بر میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اثر معنی‌داری از لحاظ آماری نداشت (جدول ۲). بیشترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ( $95/37\%$ ) از تیمار شاهد در شرایط تنش آبی بدست آمد. در حالی که کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی ( $74/80\%$ ) در شرایط آبیاری کامل و از تیمار محلول‌پاشی با ال - سیستین  $50$  میکرومولار حاصل شد.

## ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

همان‌طور که در نتایج مندرج در جدول تجزیه واریانس

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات فیتوشیمیایی مختلف بادرشبو تحت تیمارهای مختلف آبی و محلول‌پاشی با محرک‌ها

درصد اسانس	محتوای آب نسبی	فنل کل	کاروتنوئید	کلروفیل کل	تیمارهای مختلف محلول‌پاشی	تیمارهای آبیاری
۰/۱۸de	۶۲/۳۲ef	۳۰/۹۱a	۵/۲۱cde	۱۰/۴۸ def	S1	
۰/۳۱b	۶۰/۲۰ef	۳۱/۱۷a	۶/۳۶bc	۱۰/۰۶ def	S2	
۰/۲d	۶۳/۲۱ e	۲۵/۴b	۶/۰۸c	۹ ef	G1	
۰/۲۴c	۵۵/۲۶f	۲۵/۸۲b	۶/۴۳bc	۸/۳۳ ef	G2	۷۰٪ ظرفیت زراعی
۰/۲۴c	۶۶/۸۴de	۲۴/۱۸b	۶/۱۷c	۱۱/۱۳de	L1	
۰/۳۸a	۶۴/۵۶de	۲۴/۵۳b	۵/۳۷cde	۱۰/۲۴ def	L2	
۰/۱۲f	۵۵/۱۵f	۳۳/۱۷a	۴/۷۶e	۶/۲۱ f	C	
۰/۱۹de	۷۲/۰۵bcd	۱۲/۴۷d	۸/۴۹ab	۱۷/۱۸bc	S1	
۰/۱۸۵de	۶۸/۹۳ bcd	۱۱/۳۶de	۶/۵۰bc	۲۱/۹۵ab	S2	
۰/۱۲۳f	۷۶/۴۴abc	۱۳/۰۷d	۶/۷۴bc	۱۹/۱۶abc	G1	
۰/۱۶e	۷۷/۹۴ab	۱۲/۶۱d	۶/۳۷bc	۲۲/۸۷a	G2	۱۰۰٪ ظرفیت زراعی
۰/۲۶c	۸۳/۲۰a	۹/۴۳e	۹/۱۸a	۱۷/۲۳bc	L1	
۰/۲۷bc	۶۸/۰۶de	۱۰/۱۴e	۵/۹۸cd	۱۶/۶c	L2	
۰/۲۶c	۶۷/۶۸de	۱۶/۵۶c	۴/۸۲e	۱۴/۸۸cd	C	

ستون‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال  $0/05$  بود.

S1: عصاره زعفران  $0/01\%$ ، S2: عصاره زعفران  $0/05\%$ ، G1: عصاره جینسینگ  $1\%$ ، G2: عصاره جینسینگ  $0/5\%$ ، L1: ال - سیستین  $50$  میکرومول، L2: ال - سیستین  $100$  میکرومول و C: شاهد

## درصد اسانس

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها حکایت از آن داشت که اثرهای ساده تنش خشکی و محلول‌پاشی با محرک‌های زیستی و همچنین اثر متقابل این تیمارها بر درصد اسانس در گیاه دارویی بادرشبو اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ نشان داد (جدول ۲). به طوری که بیشترین میزان اسانس (۰/۳۸٪) تحت شرایط آبیاری کامل از تیمار محلول‌پاشی با ال-سیستین در غلظت ۱۰۰ میکرومولار حاصل شد و کمترین میزان اسانس (۰/۱۲٪) هم از تیمار شاهد در شرایط آبیاری کامل بدست آمد (جدول ۳).

## محتوای نسبی آب

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها حکایت از آن داشت که اثر ساده تنش خشکی ( $P < 0.01$ ) و اثر ساده محلول‌پاشی با محرک‌های زیستی ( $P < 0.05$ ) و همچنین اثر متقابل تنش خشکی  $\times$  محلول‌پاشی با محرک زیستی ( $P < 0.05$ ) بر محتوای نسبی آب در گیاه بادرشبو اثر معنی‌داری داشت (جدول ۲). به طوری که بیشترین محتوای نسبی آب (۸۳/۲۰٪) تحت شرایط آبیاری کامل و از تیمار محلول‌پاشی با ال-سیستین ۵۰ میکرومولار بدست آمد و کمترین محتوای نسبی آب (۵۵/۱۵٪) از تیمار شاهد تحت شرایط تنش خشکی حاصل شد (جدول ۳).

## بحث

رشد رویشی در گیاهان تحت تأثیر عوامل متعددی قرار می‌گیرد که از مهمترین این عوامل میزان آب در دسترس است. یکی از اولین علائم کمبود آب، کاهش آماس و در نتیجه کاهش تقسیم و توسعه سلول به‌ویژه در ساقه و برگ‌هاست و به‌همین دلیل اولین اثرهای محسوس تنش خشکی را می‌توان از اندازه کوچکتر برگ‌ها یا ارتفاع گیاهان تشخیص داد (Sodaeizadeh et al., 2016). براساس نتایج آزمایش پژوهشگران افزایش تنش خشکی منجر به کاهش معنی‌دار ویژگی‌های مورفولوژیک اندام

هوایی در گیاه مرزه گردید. در گزارش آنان نیز بیشترین ارتفاع بوته از تیمار آبیاری در سطح ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی بدست آمد که با نتایج ما مطابقت داشت (Sodaeizadeh et al., 2016). همان‌طور که در نتایج مشهود است محلول‌پاشی با اسید آمینه تأثیر مثبتی بر پارامترهای مرتبط با عملکرد گیاه بادرشبو دارد. پژوهشگران علت این موضوع را اهمیت تغذیه برگ‌های اسیدهای آمینه آزاد به‌عنوان یک منبع مهم در سنتز پروتئین در گیاهان بیان کردند (Raesi et al., 2014). در نتایج تحقیقی دیگر، محلول‌پاشی اسیدهای آمینه و اوره ویژگی‌های کمی و کیفی بابونه را تحت تأثیر قرار داد، به طوری که محلول‌پاشی با آمینول فورته باعث افزایش عملکرد گل و درصد اسانس در گیاه دارویی بابونه شد (Haj Seyed Hadi & Rezaee Ghale, 2016). محققان بیان کردند که افزایش وزن تر بوته با کاربرد اسیدهای آمینه در مقایسه با تیمار شاهد به دلیل آن است که اسیدهای آمینه توانایی بهبود فرایندهای بیوشیمیایی اصلی و سوخت‌وساز گیاهان را دارند (Golzadeh et al., 2011).

در مورد اثر تنش خشکی بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی نتایج متفاوتی ارائه شده است. مغایر با نتایج ما سایر محققان گزارش کردند که تحت شرایط تنش خشکی میزان کلروفیل افزایش می‌یابد. طبق اظهارات آنان کلروفیل تا حدی به کاهش آب مقاوم است (Schutz & Fangmeir, 2001). از سوی دیگر محققان با مطالعه اثر تنش خشکی بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در گیاه دارویی بادرشبو، نتیجه گرفتند که بیشترین مقدار این پارامترها در تیمار آبیاری در سطح ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی تجمع یافته که با نتایج ما مطابقت دارد (Safikhani et al., 2008). کلروفیل یکی از مهمترین فاکتورهای حفظ ظرفیت فتوسنتزی است. در شرایط مطلوب رطوبتی میزان کلروفیل افزایش می‌یابد که سبب می‌شود فرایند فتوسنتز با ظرفیت بیشتری به تولید اسمیلات‌ها ادامه دهد و این فرایند منجر به حصول عملکرد بالای مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی می‌گردد (Jiang & Huang, 2001). تنش خشکی میزان رادیکال‌های آزاد را در گیاه افزایش می‌دهد و باعث ایجاد

نتایج حاصل از آزمایش ما حکایت از آن داشت که اعمال تنش کم آبیاری (۷۰٪ ظرفیت زراعی) اگرچه برخی ویژگی‌های مورفولوژیک و فیتوشیمیایی را کاهش داد، اما از نظر میزان فنل کل، فلاونوئید کل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارای بالاترین میزان بود. به طوری که بیشترین درصد اسانس مربوط به تیمار محلول‌پاشی با ال-سیستین ۱۰۰ میکرومولار در شرایط آبیاری کامل (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی) بود. اعمال تیمارهای مختلف بر ویژگی‌های مورفولوژیک نیز حکایت از آن داشت که بیشترین وزن تر و خشک شاخساره و قطر ساقه تحت شرایط محلول‌پاشی با ال-سیستین حاصل شد که حکایت از اثر مثبت این اسیدآمین در تحمل شرایط تنش بود. با توجه به اقلیم آب و هوایی خشک و نیمه‌خشک ایران و کمبود منابع آبی موجود در کشور، یافتن راهکارهایی مناسب در راستای مصرف بهینه منابع آبی، اعمال تنش کم آبیاری همراه با استفاده از محرک‌های زیستی به‌ویژه در گیاهان دارویی می‌تواند به‌عنوان گامی مؤثر در پیشبرد اهداف کشاورزی پایدار محسوب شود. به‌طور کلی استفاده از محرک‌های زیستی در شرایط کم آبیاری، افزون بر افزایش متابولیت‌های ثانویه، منجر به تحمل شرایط تنش می‌گردد.

### منابع مورد استفاده

- Acimović, M., Sikora, V., Brdar-Jokanović, M. and Kiprovska, B., 2019. *Dracocephalum moldovica*: Cultivation, chemical composition, and biological activity. *Journal of Agronomy, Technology and Engineering Management*, 2(1): 153-167.
- Ahmadian, A., Taji, H. and Golnari, P., 2018. Study of the effect of foliar application of different fertilizers and different concentrations of saffron petal extract on leaf and coriander characteristics. Fifth National Saffron conference, Torbat Heydariyeh, Iran, 14 November: 1-3.
- Arnon, A.N., 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23: 112-121.
- Atal, C. and kapur, K., 1998. Cultivation and Utilization of Medicinal Plant. *Jamu/tawi-India*. 877p.
- Aziz, E.E., Hussein, M.S., Wahaba, H.E. and Razin, A.M., 2013. Essential oil constituents of

شرایط پراکسیداسیون و تجزیه رنگی‌ها می‌گردد ( Schutz & Fangmeir, 2001). Thomas و همکاران (۲۰۰۹) اشاره کردند که محلول‌پاشی محرک‌های زیستی (محتوای اسیدهای آمینه آزاد) می‌تواند شاخص‌های فیزیولوژیکی، ترکیب‌های بیوشیمیایی و عملکرد بوته چای را به نحو گسترده‌ای بهبود ببخشد.

در مطالعه Safikhani و همکاران (۲۰۰۸) کمترین درصد اسانس (۱۹۵٪) از تیمار آبیاری کامل (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی) بدست آمد. اسانس‌ها ترکیب‌های ترینوئیدی بوده و وجود عناصر غذایی نیتروژن و فسفر برای سنتز واحدهای سازنده آنها (ایزوپرنوئیدها) ضروریست ( Ghazi Manas et al., 2013)، از این رو محلول‌پاشی با اسیدهای آمینه با فراهمی بیشتر این عناصر می‌تواند موجب افزایش میزان اسانس گردد. سایر محققان نیز کاهش عملکرد اسانس بادرشبو را در شرایط کم آبیاری (۷۰٪ ظرفیت زراعی) گزارش کردند (Efeoglu et al., 2009). اسانس‌ها دارای ساختاری ترینوئیدی بوده و واحدهای سازنده آنها (ایزوپرنوئیدها) برای سنتز نیاز به NADPH و ATP دارند. وجود عناصری مانند نیتروژن و فسفر در ساختار اسیدهای آمینه برای تشکیل ترکیب‌های ذکرشده ضروریست ( Ghazi Manas et al., 2013). از این رو محلول‌پاشی با اسیدهای آمینه از طریق فراهمی و جذب بیشتر این عناصر می‌تواند موجب افزایش میزان اسانس گردد. Saburi و همکاران (۲۰۱۴) نیز به تأثیر مثبت محلول‌پاشی با اسیدهای آمینه آمینول فورته و هیومیفورته بر افزایش رشد، عملکرد پیکره رویشی و درصد اسانس در گیاه دارویی ریحان اشاره کردند. در مورد محتوای نسبی آب برگ، نتایج ما با نتایج سایر محققان در این مورد مغایرت داشت؛ زیرا آنان گزارش کردند که تنش خشکی بر گنجایش نسبی آب برگ بین تیمارهای مختلف بر گیاه دارویی مرزه اختلاف آماری معنی‌داری نداشت (Sodaeizadeh et al., 2016). همسو با نتایج ما، سایر محققان نیز گزارش کردند که بروز تنش خشکی باعث کاهش محتوای نسبی برگ و کاهش عملکرد گیاه بادرنجبویه شده است (Munne-Bosch & Alegre, 1999).

- Published by the editorial House wies Jutra, Limited. Warsaw, 89p.
- Ghazi Manas, M., Banj Shafiee, S., Haj Seyed Hadi, M.R. and Darzi, M.T., 2013. Effects of vermicompost and nitrogen on quantitative and qualitative yield of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 29(2): 269-280.
  - Golzadeh, H., Mehrafarin, A., Naqdi Badi, H., Fazeli, F., Ghaderi, A. and Zarrin Panjeh, N., 2011. The effect of biostimulants on quantitative and qualitative yield of German chamomile. Journal of Medicinal Plants, 11(8): 195-207.
  - Haj Seyed Hadi, M.R. and Rezaee Ghale, H., 2016. Effects of vermicompost and foliar application of amino acids and urea on quantitative and qualitative yield of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 31(6): 1057-1070.
  - Hussein, M.S., El-Shrbeny, S.E., Khalil, M.Y., Naguib, N.Y. and Aly, S.M., 2006. Growth characters and chemical constituents of *Dracocephalum moldavica* L. plants in relation to compost fertilizer and planting distance. Journal of Scientia Horticulture, 108(3): 322-331.
  - Jiang, Y. and Huang, B., 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turf grasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. Crop Science, 41(2): 436-442.
  - Jeong, K.S., Jang, C.S., Park, S.H., Lee, J.S., Yoon, S.M., Kim, T.H., Shin, C.H. and Choi, K., 2016. Two unrecorded naturalized plants in Korea: *Stachys agraria* and *Dracocephalum moldavica* (Lamiaceae). Korean Journal of Plant Taxonomy, 46: 413-419.
  - Khaleghnezhad, V., Yousefi, A.R., Tavakoli, A. and Farajmand, B., 2019. Interactive effects of abscisic acid and temperature on rosmarinic acid, total phenolic compounds, anthocyanin, carotenoid and flavonoid content of dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.). Scientia Horticulturae, 250: 302-309.
  - Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophyll and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembrane. Methods in Enzymology, 148: 350-381.
  - Majidi Herwan, A., 1993. Physiological mechanism of resistance to environmental constraints. The First Congress of Agriculture and Plant Breeding, Tehran, Iran, 6-9 September: 133-134.
  - McDonald, S., 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. Food Chemistry, 73: 73-84.
  - Munne-Bosch, S. and Alegre, L., 1999. Role of dew on the recovery of water stressed *Melissa officinalis*. Journal of Plant Physiology, 154(5-6): 759-766.
  - *Dracocephalum moldavica* L. grown under salt stress and different sources of soil amendment. Middle-East Journal of Scientific Research, 16: 706-713.
  - Azizi, Gh., Musavi, S.Gh. and Seghatoleslami, M.J., 2020. Effects of foliar application of seaweed, urea and micronutrient fertilizers on yield and its components of Saffron (*Crocus sativus* L.). Journal of saffron Research, 8(1): 141-159.
  - Barros, L., Baptista, P. and Ferreira, I.C.F.R., 2007. Effect of fruiting body maturity stage on antioxidant activity measured by several biochemical assays *Lactarius piperatus*. Food and Chemical Toxicology, 45(9): 1731-1737.
  - Borna, F., Omidbaigi, R. and Sefidkon, F., 2007. The effect of sowing dates on growth, yield and essential oil content of *Dracocephalum moldavica* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 23(3): 307-314.
  - Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M. and Chern, J.C., 2002. Estimation of total flavonoid content in Propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis, 10(3): 178-182.
  - Chu, S.S., Liu, S.L., Liu, Q.Z., Liu, Z.L. and Du, S.S., 2011. Composition and toxicity of Chinese *Dracocephalum moldavica* (Labiatae) essential oil against two grain storage insects. Journal of Medicinal Plants Research, 5: 4621-4626.
  - Dmitruk, M., Weryszko-chielew, E. and Sulborska, A., 2018. Flowering and nectar secretion in two forms of the Moldavian dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.)-a plant with extraordinary apicultural potential. Journal of Agricultural Science, 62: 97-109.
  - Efeoglu, B., Ekmekci, Y. and Cicek, N., 2009. Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. South African Journal of Botany, 75: 34-42.
  - Fallah, S., Rosttaei, M., Lprigooini, Z. and Surki, A.A., 2018. Chemical compositions of essential oil and antioxidant activity of dragonhead (*Dracocephalum moldavica*) in sole crop and dragonhead-soybean (*Glycine max*) intercropping system under organic manure and chemical fertilizers. Industrial Crops and Products, 115: 158-165.
  - Firouzkoohi, F., Esmailzadeh Bahabadi, S., Mohkami, Z. and Yosefzadei, F., 2018. The effect of different solvents on total phenolic, flavonoid contents and antioxidant activity of different organs of *Momordica charantia* L. cultured in Sistan region. Ecophytochemistry of Medicinal Plants, 20 (4): 74-85.
  - Gawrońska, H., 2008. Biostimulators in Modern Agriculture: General Aspects. Arysta Life Science.



- physiological properties of *Dracocephalum moldavica* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 23(1): 86-99.
- Schutz, M. and Fangmeir, E., 2001. Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Minaret) to elevated CO<sub>2</sub> and water limitation. Environmental Pollution, 114: 187-194.
  - Sharma, A.K., 2002. A Hand Book Organic Farming. Agrobios, India, 627p.
  - Sodaeizadeh, H., Shamsaii, M., Tajmalian, M., Mir Mohammadi Meybodi, S.A.M. and Hakimzadeh, M.A., 2016. The effect of drought stress on some morphological and physiological traits of savory. Plant Process and Function, 5 (15): 1-12.
  - Thomas, J., Mandal, A.K.A., Raj Kumar, R. and Chrodia, A., 2009. Role of biologically active amino acid formulations on quality and crop productivity of Tea (*Camelia* sp.). International journal of agricultural research, 4: 228-36.
  - Trovato, M., Mattioli, R. and Costantino, P., 2008. Multiple roles of proline in plant stress tolerance and development. Rendiconti Lincei, 19(4): 325-346.
  - Uzma, F. and Asghari, B., 2007. Effect of abscisic acid and chlorocholine chloride on nodulation and biochemical content of *Vigna radliata* L. under water stress. Pakistan Journal of Botany, 38(5): 1511-1518.
  - Zhao, D.X., Fu, C.X., Han, Y.S. and Lu, D.P., 2005. Effects of elicitation on jaceosidin and hispidulin production in cell suspension cultures of *Saussurea medusa*. Process Biochemistry, 40(2): 739-745.
  - Nasrabadi, B., 2005. The effect of different planting times on growth, yield, amount and components of essential oil of sage plant. Master Thesis. Trabiati Modares University.
  - Omidbagi, R., Hassani, A. and Sefidkan, F., 2003. Essential oil content and composing of sweet Basil (*Ocimum basilicum*) at different irrigation regimes. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 6: 104-108.
  - Radman, R., Saez, T., Bucke, C. and Keshavarz, T., 2003. Elicitation of plant and microbial systems. Biotechnology and Applied Biochemistry, 37: 91-102.
  - Raeisi, M., Farahani, L. and Palashi, M., 2014. Changes of qualitative and quantitative properties of radish (*Raphanus sativus* L.) under foliar spraying through amino acid. International Journal of Biosciences, 4(1): 463-468.
  - Rezakhani, A. and Haj Seyed Hadi, M.R., 2018. The effect of animal manure and amino acid spraying on growth characteristics, grain yield and essential oil of coriander (*Coriandrum sativum* L.). Iranian Crop Science, 48(3): 777-786.
  - Saburi, M., Haj Seyed Hadi, M.R. and Darzi, M.T., 2014. Effects of amino acids and nitrogen fixing bacteria on quantitative yield and essential oil content of basil (*Ocimum basilicum*). Journal of Agricultural Science Developments, 3(8): 265-268.
  - Safikhani, F., Heidari Sharifabadi, H., Sharifi Ashurabadi, E., Siadat, S.A., Seyednejad, S.M. and Abbaszadeh, B., 2008. The effect of drought stress on the percentage and yield of essential oil and

## Effects of elicitors on some morphological and phytochemical traits of *Dracocephalum moldavica* L. under low irrigation stress

S. Madadkhani<sup>1</sup>, A. Kheiry<sup>2\*</sup>, M. Arghavani<sup>3</sup>, M. Sani Khani<sup>3</sup> and Z. Mohkami<sup>4</sup>

1- M.Sc. of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

2\*- Corresponding author, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

E-mail: kheiry@znu.ac.ir

3- Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

4- Institute of Agricultural Research, University of Zabol, Zabol, Iran

Received: April 2021

Revised: November 2021

Accepted: December 2021

### Abstract

The use of elicitors to produce the environmentally friendly biological products and in conjunction with the modern agriculture can increase the qualitative and quantitative growth of plants and reduce the effects of environmental stresses on them. To investigate the effects of biostimulants under the low irrigation stress on the morphological and phytochemical characteristics of *Dracocephalum moldavica* L., a factorial experiment was conducted in a completely randomized block design in the Zanjan University research farm in three replications in 2019. The main factor was the irrigation (100 and 70% of field capacity) and the sub-factor was the foliar application of elicitors including saffron extract (0.01 and 0.05%), ginseng extract (0.5 and 1%), amino acid L-cysteine (50 and 100  $\mu$ M), and control treatment (no foliar application) at the four-, eight-, and twelve-leaf stages. The morphological and phytochemical traits were evaluated at the 90% flowering stage of the plants. In the present experiment, the highest amount of total chlorophyll (35.68 mg / g FW), carotenoids (9.18 mg / g FW), and relative leaf water content (83.20%) was obtained under the full irrigation conditions stimulated by the 50  $\mu$ M L-cysteine treatment. While under the water stress conditions, the highest content of total phenols (33.17 mg GA / g DW), total flavonoids (1.53 mg QE / g DW), and antioxidant capacity (95.37%) was obtained in the no foliar application of elicitors treatment. The highest essential oil percentage (0.38%) was observed in the 100  $\mu$ M L-cysteine treatment under the full irrigation conditions. Although the morphological parameters of *D. moldavica* had their highest values under the full irrigation conditions, the low irrigation stress led to the synthesis of higher amounts of phenolics and flavonoids and the stronger antioxidant capacity.

**Keywords:** Amino acid, essential oil, foliar application, low irrigation stress, ginseng extract, saffron extract.