Research Article

Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research

DOI: 10.22092/IJMAPR.2026.368790.3525

Vol. 42, No. 3, Page 439-459 (2026)

Modeling and analysis of the combined effects of nano-silicon and selenium on the medicinal yield and biochemical traits of *Thymus daenensis* Celak. under drought stress using Artificial Neural Networks and Multivariate Regression

Hosein Ahmadi[1], Mohammad Reza Fatahi Moghadam*[2], Zabihollah Zamani[1], Majid Shokrpour[1] and Mohammad Reza Morshedloo[3]

1. Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture and Natural Sciences, University of Tehran, Iran
2*. Corresponding author, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture and Natural Sciences, University of Tehran, Iran, E-mail: fattahi@ut.ac.ir
3. Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran.

Received: 03/03/2025 Revised: 30/08/2026 Accepted: 05/09/2026

Abstract

Background and Objective: *Thymus daenensis* Celak. is an endemic medicinal plant of Iran valued for its high thymol content and essential oil content. A novel approach to enhancing plant tolerance to environmental stress is applying nanoparticles as bioelicitors. Nanosilicon and nanoselenium are among the nanoparticles that can enhance stress tolerance and improve plant performance by influencing physiological and biochemical pathways. This study assessed the combined effects of nanosilicon and nanoselenium treatments on the agronomic, phytochemical, and physiological traits of *T. daenensis* under drought stress.

Methodology: The study was conducted in a research field using a split-plot experimental design. The experimental factors consisted of two water-stress levels (control and irrigation cessation before flowering) and five concentrations of the combined nanosilicon and nanoselenium treatment (0, 10, 20, 40, and 60 mg/L). We measured agronomic traits, including dry matter yield, essential oil yield, and thymol yield. We also determined mineral element concentrations (nitrogen, phosphorus, potassium, calcium, magnesium, and iron) and physiological indices (chlorophyll, malondialdehyde, and hydrogen peroxide). Multivariate regression analysis and artificial neural network (ANN) modeling were used to analyze the observed trends and model the data.

Results: The results showed that drought stress significantly reduced dry matter yield, essential oil yield, and thymol yield, with more pronounced reductions during the second harvest. Nano-elicitor application positively affected certain agronomic traits, particularly at a concentration of 10 mg/L, which increased dry matter yield by 18%. However, concentrations above 20 mg/L produced adverse effects and reduced plant performance. Regarding mineral element concentrations, nano-elicitor application increased the uptake of nitrogen, phosphorus, calcium, magnesium, and iron, whereas potassium levels remained largely unchanged under stress conditions. Physiological assessments showed that drought stress increased malondialdehyde and hydrogen peroxide levels, indicating enhanced oxidative stress. However, applying the nano-elicitors at 10 mg/L effectively reduced hydrogen peroxide levels under drought stress. ANN modeling demonstrated greater predictive accuracy than conventional regression models and proved to be a reliable approach for predicting plant performance under different stress and treatment conditions. The ANN model exhibited a lower standard deviation and a higher coefficient of determination (R^2), exceeding 95% when predicting essential oil and thymol yield. The modeling results further demonstrated that artificial neural networks, as an artificial

Copyright: © 2026 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (http://ijmapr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

intelligence approach, provided more accurate predictions than six other commonly used regression models.

Conclusion: Overall, the findings indicated that nanosilicon and nanoselenium can positively affect certain agronomic and physiological traits of *T. daenensis*, although these effects depend on the application concentration and the prevailing stress conditions. Under drought stress, the 10 mg/L treatment produced the most favorable overall outcomes, as it improved yield and helped reduce oxidative stress. ANN modeling also demonstrated strong predictive performance and offered a useful and optimized approach for managing medicinal plant cultivation under stressful environmental conditions. Further research should examine the molecular mechanisms through which nano-elicitors influence plant regulatory and metabolic pathways. The findings suggest that applying nanosilicon and nanoselenium at appropriate concentrations may serve as a practical strategy to improve the performance of medicinal plants exposed to drought stress. However, additional studies are needed to clarify the physiological and molecular mechanisms through which these nanoparticles act in plants and to evaluate their long-term impacts on soil properties and the environment.

Keywords: Drought stress, nanosilicon, nanoselenium, thymol, artificial neural network, regression modeling.

تحلیل و مدلسازی اثر ترکیبی نانو- سیلیکون و سلنیوم بر عملکرد دارویی و صفات بیوشیمیایی آویشن دنایی (*Thymus daenensis* Celak.) تحت تنش کم‌آبی با کاربرد شبکه‌های عصبی مصنوعی و رگرسیون چندمتغیره

حسین احمدی[۱]، محمدرضا فتاحی‌مقدم*[۲]، ذبیح‌اله زمانی[۱]، مجید شکرپور[۱] و محمدرضا مرشدلو[۳]

۱- گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

۲*- نویسنده مسئول، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران، پست‌الکترونیک: fattahi@ut.ac.ir

۳- گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۱۳ تاریخ اصلاح نهایی: ۱۴۰۵/۰۶/۰۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۶/۱۴

چکیده

سابقه و هدف: آویشن دنایی (*Thymus daenensis*) یکی از گیاهان دارویی بومی ایران است که به‌دلیل محتوای بالای تیمول و اسانس، از اهمیت ویژه‌ای در صنایع دارویی و عطرسازی برخوردار است. یکی از راهکارهای نوین برای بهبود تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی، استفاده از نانوذرات به‌عنوان الیسیتورهای زیستی است. نانوسیلیکون و نانوسلنیوم ازجمله نانوذراتی هستند که می‌توانند با تأثیر بر مسیرهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، تحمل گیاه را به تنش‌ها افزایش داده و عملکرد آن را بهبود ببخشند. این پژوهش با هدف بررسی تأثیر تیمار ترکیبی نانوسیلیکون و نانوسلنیوم بر صفات عملکردی، فیتوشیمیایی و فیزیولوژیکی آویشن دنایی تحت شرایط تنش کم‌آبی انجام شد.

مواد و روش‌ها: این پژوهش در قالب طرح اسپلیت پلات بر مبنای بلوک‌های کامل تصادفی (RCBD) در مزرعه‌ای تحقیقاتی اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل دو سطح تنش آبی (شاهد و قطع آبیاری قبل از گلدهی) و پنج غلظت نانوالیسیتورهای ترکیبی سیلیکون و سلنیوم (۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر) بودند. صفات عملکردی (ماده خشک، اسانس و تیمول)، غلظت عناصر معدنی (نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و آهن) و شاخص‌های فیزیولوژیکی (کلروفیل، مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن) اندازه‌گیری شدند. برای بررسی روند تغییرات و مدل‌سازی داده‌ها، از روش‌های تحلیل رگرسیون چندمتغیره و شبکه عصبی مصنوعی استفاده گردید.

نتایج: نتایج نشان داد که تنش کم‌آبی باعث کاهش معنی‌دار عملکرد ماده خشک، اسانس و تیمول شد، به‌طوری‌که در برداشت دوم شدت کاهش بیشتر بود. کاربرد نانوالیسیتورها تأثیر مثبتی بر برخی صفات عملکردی داشت، به‌ویژه در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر، که موجب افزایش ۱۸ درصدی ماده خشک شد. با این حال، در غلظت‌های بالاتر از ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر، آثار معکوسی مشاهده شد و عملکرد کاهش یافت. از نظر غلظت عناصر معدنی، کاربرد نانوالیسیتورها باعث افزایش جذب عناصر نیتروژن، فسفر، کلسیم، منیزیم و آهن شد، در حالی که پتاسیم در شرایط تنش تغییر چندانی نداشت. در بررسی شاخص‌های فیزیولوژیکی، تنش کم‌آبی باعث افزایش مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن شد که نشان‌دهنده افزایش استرس اکسیداتیو بود. با این حال، تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوالیسیتورها محتوای پراکسیدهیدروژن را در شرایط تنش قطع‌آبیاری کاهش داد. مدل شبکه عصبی مصنوعی نسبت به رگرسیون‌های چندمتغیره عملکرد بهتر و انحراف استاندارد پایین‌تری داشت و ضریب تبیین (R^2) آن برای پیش‌بینی عملکرد اسانس و تیمول بیش از ۹۵ درصد بود. نتایج مدلسازی نشان داد که شبکه‌های عصبی مصنوعی به عنوان یکی از رهیافت‌های هوش مصنوعی دقت بیشتری نسبت به شش مدل رگرسیونی رایج دیگر داشت.

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی، یافته‌های این مطالعه در محدوده شرایط آزمایشی (یک منطقه جغرافیایی و یک فصل رشد) نشان داد که کاربرد نانوسیلیکون و نانوسلنیوم می‌تواند تأثیر مثبتی بر برخی صفات عملکردی و فیزیولوژیکی آویشن دنایی داشته باشد، اما این اثرها به غلظت مصرفی و شرایط تنش بستگی دارد. در شرایط کم‌آبی، غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر بهترین نتیجه را در بهبود عملکرد و کاهش

استرس اکسیداتیو داشت. همچنین، نتایج کسب شده جایگزینی مدل‌های رایج رگرسیونی با شبکه‌های عصبی را برای پیش‌بینی عملکرد محصولات کشاورزی در مطالعات تیماری مختلف تنش و الیسیتور پیشنهاد می‌نماید. در واقع استفاده از مدل‌سازی شبکه عصبی مصنوعی به‌عنوان یک ابزار پیش‌بینی قدرتمند، امکان بهینه‌سازی تیمارهای زراعی برای افزایش بهره‌وری گیاهان دارویی را فراهم می‌کند. با توجه به یافته‌های این تحقیق، استفاده از نانوسیلیکون و نانوسلنیوم در دوزهای مناسب می‌تواند به‌عنوان رویکردی مفید برای بهبود عملکرد گیاهان دارویی در شرایط تنش خشکی مورد توجه قرار گیرد. با این حال، تعمیم‌پذیری این نتایج نیازمند تکرار آزمایش در اقلیم‌ها و دوره‌های رشد مختلف است. بررسی‌های گسترده‌تر برای درک دقیق سازوکارهای عمل این نانوذرات در سطح فیزیولوژیکی و مولکولی و به‌ویژه ارزیابی جامع اثر بلندمدت آنها بر سلامت خاک و محیط‌زیست، پیش از هرگونه توصیه عملی در مقیاس وسیع، کاملاً ضروریست.

واژه‌های کلیدی: تنش خشکی، نانوسیلیکون، نانوسلنیوم، تیمول، شبکه عصبی مصنوعی، مدل‌سازی رگرسیونی.

مقدمه

مراتع به‌عنوان یکی از منابع طبیعی با اهمیت، نقش حیاتی در تأمین علوفه، حفظ تنوع زیستی و تولید محصولات دارویی دارند. این اکوسیستم‌ها نه تنها محیطی مناسب برای رشد گیاهان خوراکی و دارویی فراهم می‌کنند، بلکه به‌عنوان ذخیره‌گاه‌های ژنتیکی گیاهان ارزشمند نیز شناخته می‌شوند. بخش عمده‌ای از فلور مراتع کشور را گیاهان دارویی تشکیل می‌دهند. شناسایی گیاهان دارویی در عرصه‌های منابع طبیعی و مرتعی هر منطقه، گامی اساسی در جهت توسعه پایدار این گیاهان است و می‌تواند اطلاعات اساسی را در اختیار محققان در زمینه‌های مختلف تحقیقاتی و کاربردی قرار دهد (Armand & Jahantab, 2019). ویژگی‌های کمی و کیفی اسانس‌هایی که از گیاهان معطر استخراج می‌شوند، تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار دارند که علاوه بر ژنتیک گیاه، شامل شرایط اکولوژیکی، مرحله فنولوژیکی، زمان برداشت و نوع اندام گیاهی می‌شود (Jahantab *et al*., 2017؛ Ahmadi *et al*., 2024). با توجه به اهمیت و ارزش گونه‌های دارویی، انجام مطالعات کاربردی در زمینه حفاظت و حمایت به منظور مدیریت اصولی لازم و ضروری به نظر می‌رسد (Ghafari *et al*., 2021).

آویشن دنایی در مقایسه با سایر گونه‌های این جنس و گونه رایج و پرکشت جهانی آن یعنی آویشن باغی (*Thymus vulgaris*)، دارای تیمول بالاتر و حدوداً دو برابر اسانس بیشتری است که برتری آن را نشان می‌دهد (Bistgani *et al*., 2019).

در دهه‌های اخیر، استفاده از نانوذرات در کشاورزی به عنوان روشی نوین برای بهبود عملکرد گیاهان و بهبود شرایط کشت به محبوبیت بالایی دست یافته است (Selvakesavan *et al*., 2023؛ Samynathan *et al*., 2023). ازجمله نانوذرات مورد توجه در این زمینه، نانوذرات سلیسیوم و سلنیوم می‌باشند که به‌دلیل ویژگی‌های خاص خود، مورد توجه قرار گرفته‌اند. سلیسیوم و سلنیوم، به عنوان عناصر طبیعی مفید (غیرحیاتی) شناخته می‌شوند که فراوانی بالایی در پوسته گیاهان و دانه‌های آنها دارند. سیلیکون نیز باعث افزایش استحکام و مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های محیطی می‌شود (Mukarram *et al*., 2022؛ Farouk, 2022). نانوذرات سلیسیوم با افزایش مقاومت به تنش‌های فیزیولوژیکی و بیولوژیکی گیاهان، عملکرد و عمر مفید آنها را افزایش می‌دهد. علاوه بر این، نانوذرات سلیسیوم نیز می‌تواند سبب بهبود رشد، جذب عناصر غذایی و مقاومت به بیماری‌ها شود (Lala, 2021). سیلیکون پس از جذب به شکل مونوسیلیسیک اسید ($Si(OH)_4$)، در دیواره سلولی، فضای بین سلولی و در زیر کوتیکول برگ‌ها و ساقه‌ها تجمع می‌یابد. سپس پلیمریزه شده و به صورت سیلیکا فیبر ($SiO_2.nH_2O$) یا اپیدرمال سیلیکا-سلولز کمپلکس رسوب می‌کند. این رسوبات سخت و جامد، دیواره سلولی را ضخیم‌تر و محکم‌تر می‌کنند. این موضوع باعث می‌شود، ساقه‌ها قوی‌تر شده و از ورس (خوابیدگی) گیاه جلوگیری شود و مقاومت مکانیکی گیاه در برابر باد، باران و برخورد فیزیکی افزایش یابد. در شرایط تنش شوری و خشکی، سیلیکون به گیاه کمک می‌کند تا غلظت پرولین و سایر املاح را درون سلول‌ها تنظیم کند که این موضوع به حفظ فشار تورگر (Turgor Pressure)

و ادامه فرایندهای حیاتی کمک می‌نماید. همچنین سیلیکون در فعال‌سازی مسیرهای سیگنالینگ، آنزیم‌های آنتی اکسیدان، تولید لیگنین و فیتوالکسین‌ها نیز نقش دارد (Pereira *et al*., 2024).

نانوذرات سلنیوم نیز به عنوان یک منبع مورد توجه برای تقویت سیستم دفاعی گیاهان در برابر استرس‌های محیطی به خوبی شناخته شده هستند. سلنیوم به عنوان یکی از آنتی‌اکسیدان‌های قوی، می‌تواند فعالیت آنزیم‌های ضداکسیدانی را افزایش داده و از آسیب‌های ناشی از استرس‌های اکسیداتیو محافظت کند. علاوه بر این، نانوذرات سلنیوم می‌تواند باعث افزایش تولید فیتوکلروفیل و محتوای کلروفیل در گیاهان شود که این موضوع به خودی خود می‌تواند به بهبود عملکرد فتوسنتزی و افزایش عملکرد و کیفیت محصول منجر می‌گردد (Samynathan *et al*., 2023). یکی از ویژگی‌های منحصر به فرد نانوذرات، اندازه آنهاست. به دلیل ابعاد نانومتری، نانوذرات قادرند به‌طور مؤثرتری در سطح گیاهان جذب و اثرگذاری نمایند. علاوه بر این، به دلیل نسبت سطح به حجم بالا، نانوذرات قابلیت ارتباط بیشتری با سطح سلولی گیاهان دارند که این ویژگی باعث افزایش کارایی آنها می‌شود (Selvakesavan *et al*., 2023).

در مطالعات اخیر، افزایش سنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان در اثر کاربرد نانوذرات (به عنوان یک محرک مولکولی- سلولی) به عنوان یک سازوکار دفاعی در برابر استرس‌های اکسیداتیو ایجاد شده شناخته می‌شود (Selvakesavan *et al*., 2023). نانوذرات (NPs) می‌توانند با ورود به سلول‌های گیاهی از طریق آپوپلاست و غشاء پلاسمایی و تداخل در زنجیره انتقال الکترون در کلروپلاست‌ها و میتوکندری‌ها، باعث تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) شوند که این می‌تواند به غشاء پلاسمایی آسیب برساند و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه را فعال کند (Wang *et al*., 2023). در ابتدا، سیگنال استرس توسط گیرنده‌های موجود در غشاء سلولی تشخیص داده می‌شود و باعث ایجاد یک سلسله سیگنال‌دهی درون‌سلولی می‌شود. این فرآیند شامل فعال‌سازی فسفولیپاز C و تولید مولکول‌های سیگنال ثانویه مانند اینوزیتول تری‌فسفات (IP3) و دی‌آسیل‌گلیسرول (DAG) است که باعث افزایش غلظت یون‌های Ca^{2+} در سیتوزول می‌شود و توسط پروتئین‌های متصل شونده به کلسیم (CaBP) یا کینازهای وابسته به کلسیم (CDPK) به عنوان سنسورهای سلولی تشخیص داده می‌شوند و در نهایت منجر به تغییر بیان ژن‌ها می‌شوند (Dekomah *et al*., 2022). در واقع، نانوذرات ممکن است با تقلید از یون‌های Ca^{2+} یا مولکول‌های سیگنال‌دهی، موجب افزایش فسفریلاسیون آبشارهای کینازهای میتوژنی MAPKو تنظیم بیان ژن‌ها شوند که این موضوع در نهایت به بیش‌تولید متابولیت‌های ثانویه و فعال شدن سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی ختم می‌شود (Selvakesavan *et al*., 2023).

با توجه به اهمیت بالای آویشن دنایی به عنوان یکی از گیاهان دارویی بومی ایران به دلیل داشتن محتوای بالایی از تیمول و اسانس، این پژوهش با هدف مدل‌سازی و بررسی آثار تنش آبی (شاهد و قطع آبیاری قبل از گلدهی) و غلظت‌های مختلف نانوالیسیتورهای ترکیبی سلنیوم و سیلیکون (۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌گرم در لیتر) و اثر متقابل آنها بر نوسان عملکرد دارویی و بیوشیمیایی این گیاه در قالب طرح اسپلیت پلات اجرا شد. تأثیر این تیمارها بر سطح سمیت سلولی، غلظت عناصر مختلف و محتوای اسانس بررسی شد. علاوه بر این، تحلیل‌های آماری و مدل‌سازی روابط بین تیمارها و پاسخ‌های گیاه برای شناسایی الگوهای وابسته به تنش، سطح تحمل تنش خشکی و نقش نانوذرات در وضعیت تحمل گیاه انجام شد.

مواد و روش‌ها

کشت و اعمال تیمارها در مزرعه

یک ژنوتیپ (بوته مادری) پررشد از اکوتیپ ملایر آویشن دنایی، که دارای محتوای بالاتر تیمول نسبت به سایر اکوتیپ‌های موجود در کلکسیون آویشن (که قبلاً بواسطه بذر در ایستگاه تحقیقات علوم باغبانی دانشگاه تهران کشت شده بودند) بود و به عنوان تیپ تیمولی غالب شناخته می‌شد، برای تکثیر رویشی به دلیل قلمه در اوایل مرحله رویشی انتخاب گردید.

در مجموع حدود ۴۰۰ عدد قلمه علفی پنج سانتی‌متری از آن برداشت شد. یک‌سوم پایینی قلمه‌ها ابتدا به مدت چند ثانیه در الکل و بعد از چند ثانیه در قارچ‌کش کاپتان ضدعفونی شدند. سپس برگ‌های این قسمت قلمه‌ها حذف و با استفاده از هورمون ایندول بوتریک اسید ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام (مرک، آمریکا) تیمار گردیدند و در نهایت در سینی کشت حاوی نسبت ۶۰:۴۰ حجمی کوکوپیت: پرلیت کشت شدند. قلمه‌ها به مدت دو ماه در گلخانه و در زیر سیستم مه‌پاش اتوماتیک قرار گرفتند که با فواصل زمانی ۳ تا ۴ ساعت یکبار و به‌مدت یک دقیقه کار می‌کرد. دمای گلخانه در طول فصل رشد بین ۳۰-۲۱ درجه سانتی‌گراد، دوره نوری ۱۸ ساعت و رطوبت نسبی ۷۰-۵۰ درصد و شدت نور تجمیعی روزانه ۲۵-۲۰ مول بر مترمربع در روز بود. پس از ریشه‌دار شدن، قلمه‌ها به گلدان‌های یک لیتری کوچک حاوی خاک برگ: ماسه: خاک مزرعه با نسبت ۱:۱:۲ حجمی منتقل شدند. گیاهان در طول رشد در گلخانه به صورت منظم و به میزان ۹۰ درصد ظرفیت زراعی بستر آبیاری می‌شدند و هر دو هفته یکبار با یک محلول چهار برابر رقیق شده هوگلند تغذیه می‌گردیدند. پی اچ خاک نیز به صورت مرتب (بین ۶/۵-۷/۵) بررسی شده و در مواقع لازم با محلول اسید نیتریک تنظیم می‌شد.

برای سازگاری با شرایط مزرعه، گیاهان گلدانی به مدت دو هفته در فضای خارج از گلخانه و در سایه نسبی-آفتاب نگهداری و بعد به مزرعه ایستگاه تحقیقات باغبانی دانشگاه تهران (35°77'N, 50°92'E) منتقل و با فواصل بین بوته‌ای ۲۵ سانتی‌متری و فاصله بین ردیفی ۵۰ سانتی‌متری کشت شدند. آبیاری گیاهان در طول رشد به صورت منظم و به صورت قطره‌ای (در حد ظرفیت زراعی خاک) انجام شد تا به رشد کافی برسند. آزمایش در قالب طرح اسپلیت پلات بر مبنای بلوک‌های کامل تصادفی (RCBD) اجرا شد و هر بلوک شامل ۱۰ ردیف افقی (۵ سطح الیسیتور×۲ سطح تنش آبی) بود. یک ماه مانده به گلدهی، آبیاری برای نیمی از ردیف‌ها قطع شد تا تنش قطع آبیاری اعمال گردد. تیمار محلول ترکیبی نانوسلیسیوم (اندازه ذرات ۳۰-۲۰ نانومتر، ساختار آمورف و مساحت سطح ویژه ۱۸۰ گرم بر مترمربع) و نانوسلنیوم (اندازه ذرات ۴۵-۱۰ نانومتر، مورفولوژی تقریباً کروی و مساحت سطح ویژه تقریباً ۵۰ گرم بر مترمربع) (US-NANO، آمریکا) هریک با نسبت‌های مساوی ترکیب شدند تا محلول‌هایی با غلظت‌های نهایی مورد مطالعه (شاهد، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰ میلی‌گرم بر لیتر) ساخته شدند. پنج روز مانده به شروع تنش قطع آبیاری اولین تیمار نانوالیسیتورها اعمال شد. ۲۰ روز بعد از محلول‌پاشی اول، یکبار دیگر نیز محلول‌پاشی تکرار شد. در هر مرحله از کاربرد، محلول‌های ساخته شده با استفاده از دستگاه اولتراسونیک هموژنیزه شد. در مجموع دو مرحله محلول‌پاشی در هر برداشت انجام شد.

پس از اعمال تیمارها، برداشت سرشاخه‌های گلدار در مرحله اوایل گلدهی (در سال ۱۴۰۲) انجام گردید. برداشت‌ها در دو چین متوالی انجام شد. در این آزمایش، در مجموع ۱۰ ردیف وجود داشت که پنج ردیف از آن به عنوان کرت اصلی شاهد (بدون تنش آبیاری) و پنج ردیف دیگر برای تنش قطع آبیاری در نظر گرفته شدند. با توجه به تقسیم هر ردیف افقی به سه بلوک عمودی (به عنوان سه تکرار) و وجود سه بوته در هر واحد آزمایشی، در مجموع ۹ بوته روی هر ردیف وجود داشت. هر ردیف، طولی در حدود ۲/۵ متر داشت. هریک از کرت‌های اصلی ۵/۵ متر مربع مساحت داشتند. در کل مساحت سطح زیر کشت با در نظر گرفتن حاشیه کرت‌ها حدود ۱۱/۵ مترمربع بود. بیان میزان عملکرد وزن خشک، اسانس و تیمول براساس تعمیم دادن مقادیر بدست آمده در سطح زیر کشت مزرعه برای هر تیمار و محاسبه نتایج برحسب تن در هکتار یا لیتر در هکتار انجام شد. صفات مربوط به جذب عناصر و شاخص‌های بیوشیمیایی تنها در برداشت دوم (شهریورماه) با ۳ تکرار اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری کلیه صفات عملکردی و فیتوشیمیایی در برداشت اول (خردادماه) و برداشت دوم (شهریورماه) با ۴ تکرار انجام شد.

اندازه‌گیری محتوای مالون دی آلدهید

مقدار ۰/۲ گرم از نمونه برگ تازه به همراه نیتروژن مایع برای مدت یک دقیقه در هاون خرد شد. پودر برگ خرد شده

درون میکروتیوب ریخته شد، سپس مقدار دو میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) که در درون ظرف یخ قرار داشت به آن اضافه گردید. تیوب‌ها در دمای چهار درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۴۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس یک میلی‌لیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفوژ به تیوپ‌های دو میلی‌لیتری منتقل شده و یک میلی‌لیتر محلول اسید تیوباربیوتیک ۰/۵ درصد حاوی اسید تری کلرواستیک ۲۰ درصد به آن افزوده شد. سپس مخلوط در حمام آب داغ (۹۰ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده شد. در این مرحله به منظور توقف واکنش، ظرف محتوای مخلوط حرارت داده شده را به سرعت درون حمام یخ قرار داده و اجازه داده شد به مدت ۳۰ دقیقه در حمام یخ بماند. مخلوط سرد شده با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ده دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گردید. سپس MDA-TBA (به رنگ قرمز) تشکیل شد. در این مرحله، محلول آماده قرائت با پلیت ریدر بود. در نهایت، سنجش میزان جذب نمونه‌های مورد آزمایش توسط یک دستگاه میکروپلیت ریدر (Bio-Tek microplate reader, Agilent, USA) در دو طول موج ۵۳۲ نانومتر و ۶۰۰ نانومتر انجام شد (جذب در طول موج دوم، جذب چربی‌های غیرخالص است که باید از جذب در طول موج اول کم شود). از محلول ۰/۵ درصد اسید تیوباربیوتیک حاوی اسید تری کلرواستیک ۲۰ درصد نیز به عنوان بلانک (کم کردن جذب ۲-تیوباربیوتیک اسید) استفاده شد. در نهایت میزان مالون دی آلدئید برحسب نانومول بر گرم وزن‌تر محاسبه گردید. از رابطه زیر برای محاسبه محتوای مالون دی آلدهید استفاده شد.

$$MDA = [(۵۳۲\ nm - ۶۰۰nm) / (QD \times QF)] \times DF$$

MDA = میزان نهایی مالون دی آلدئید برحسب نانومول بر گرم وزن‌تر، QD = قطر هر چاهک پلیت یا کوت برحسب سانتی‌متر، QF = ضریب خاموشی ($۱۵۵\ mM^{-1}.cm^{-1}$) و فاکتور رقت (V_s/V_t) (Heath & Packer, 1968).

اندازه‌گیری محتوای پراکسید هیدروژن

برای اندازه‌گیری محتوای پراکسید هیدروژن کل سلول‌ها (به عنوان شاخص سمیت سلولی)، مقدار ۲۰ میلی‌گرم از بافت برگی با دو میلی‌لیتر محلول ۰/۱ درصد TCA هموژنیزه و مخلوط شد. سپس عصاره بدست آمده با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد (Behtash *et al.*, 2022). بعد ۰/۵ میلی‌لیتر از سوپرناتانت با ۰/۵ میلی‌لیتر میلی بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار با پی. اچ ۷ و یک میلی‌لیتر پتاسیم یدید یک مولار ترکیب شدند. در نهایت جذب در طول موج ۳۹۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (BioTek Spectrophotometer, Agilent, USA) قرائت گردید و مقدار پراکسید هیدروژن برحسب منحنی کالیبراسیون استانداردهای پراکسید هیدروژن بدست آمد. از مخلوط ۰/۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ درصد TCA و ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار با پی. اچ ۷ و یک میلی‌لیتر پتاسیم یدید یک مولار به عنوان بلانک برای اسپکتروفتومتر استفاده شد. قرائت با کووت کوارتز انجام شد، زیرا جذب در محدوده نور UV بود. در نهایت محتوای پراکسید هیدروژن نمونه‌ها از روی منحنی کالیبراسیون (استانداردها شامل ۰، ۴، ۸، ۱۶ و ۲۴ میکرومول پراکسید هیدروژن) برحسب میکرومول بر میلی‌لیتر محاسبه و قرائت گردید.

اندازه‌گیری کلروفیل کل

از دستگاه کلروفیل‌سنج قابل حمل (502 Plus Chlorophyll Meter, Japan) برای قرائت محتوای کلروفیل کل استفاده شد. از میانگین قرائت پنج برگ بالغ وسط هر بوته استفاده شد. این آزمایش با سه تکرار برای هر تیمار آزمایشی انجام شد.

استخراج اسانس

سرشاخه‌های گلدار که در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد آون به مدت دو روز خشک شده بود، برای تعیین محتوای اسانس (با سه تکرار بیولوژیکی) استفاده شد. نمونه‌های خشک شده به وسیله آسیاب آزمایشگاهی به قطعات ریز (برای استخراج بهتر اسانس) خرد شدند و مقدار ۲۰ گرم از هر نمونه برای اسانس‌گیری با استفاده از ترازوی دیجیتالی (Sartorius، آلمان) با دقت هزارم گرم وزن گردیدند. نمونه‌ها به داخل بالن منتقل شده و با استفاده از آب مقطر به حجم ۴۰۰ سی‌سی رسانده شدند. نمونه‌ها در دستگاه کلونجر قرار گرفتند و به‌مدت سه

ساعت اسانس‌گیری شدند (British Pharmacopoeia Commission, 2000). قرائت حجمی اسانس از روی شیشه مدرج کلونجر انجام شد. سپس از بالا ۳۰۰ میکرولیتر هگزان اضافه گردید و قسمت بالایی (اسانس) از بالای کلونجر توسط سمپلر جدا شد. پس از جداسازی، نمونه‌های اسانس توسط سولفات سدیم خشک آبگیری شده و درون شیشه‌های مخصوص (ویال اسانس) تا زمان آنالیز ترکیبات در محل تاریک و دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. محتوای اسانس در نهایت به صورت درصد حجمی/ وزنی بیان شد. درصد حجمی/ وزنی اشاره شده بر مبنای میزان اسانس (برحسب میلی‌لیتر) قرائت شده از لوله مدرج کلونجر در هر ۱۰۰ گرم وزن خشک گیاه محاسبه شد.

شناسایی و کمیت‌سنجی ترکیبات اسانس

شناسایی ترکیبات موجود در اسانس‌ها به کمک دستگاه GC-MS و اندازه‌گیری کمی ترکیبات توسط دستگاه GC-FID در آزمایشگاه طیف‌سنجی جرمی دانشگاه مراغه انجام شد. دستگاه GC-MS و GC-FID مورد استفاده از نوع Agilent 7990 B متصل به اسپکترومتر جرمی A ۵۹۷۷ که مجهز به ستون پنج درصد متیل پلی سیکلوزان، با طول ۳۰ متر و با قطر داخلی و ضخامت لایه ۰/۲۵ میلی‌متر بود. برنامه دمایی ستون به شرح زیر تنظیم گردید: دمای ابتدایی آون ۶۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت پنج دقیقه، گرادیان حرارتی سه درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه و افزایش دما تا ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد، سپس یک دقیقه توقف در این دما انجام شد. دمای اتاقک تزریق ۲۳۰ و دتکتور ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد و از گاز هلیم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه استفاده گردید. دستگاه تزریق کننده در حالت اسپلیت (split) با نسبت ۱:۳۰ تنظیم شد. ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد بود. محدوده اسکن طیف‌ها از m/z ۵۰۰ – ۵۰ تنظیم شد.

شناسایی برخی از ترکیبات ترپنوئیدی با تزریق استانداردهای فیتوشیمیایی معتبر (Sigma–Aldrich, USA) و با استفاده از کتابخانه رایانه‌ای (WILEY275, NIST 05, ADAMS) انجام شد. علاوه بر این، شاخص بازداری حسابی ترکیبات با استفاده از تزریق نرمال آلکان‌ها (n-alkanes, $C_8 – C_{30}$) (Sigma, USA) بدست آمد و برای اطمینان از شناسایی درست ترکیبات شاخص بازداری بدست آمده با شاخص‌های بازداری موجود در کتاب مرجع آدامز (Adams, 2017) مطابقت داده شد. کمی‌سازی ترکیبات با گرفتن مساحت زیر پیک‌ها بدون کاربرد فاکتور تصحیح با استفاده از دستگاه GC-FID و با همان برنامه دمایی یکسان انجام گردید. مقدار ترکیبات به صورت درصد نسبی (از کل ترکیبات تفکیک شده) بیان شد. برای بدست آوردن شاخص بازداری از رابطه شاخص بازداری حسابی آدامز (Adams, 2017) که برای روش گرادیان دمایی مناسب‌تر است، استفاده شد. در واقع برای این موضوع از پیوستگی بازداری خطی سری‌های همگن-نرمال آلکان‌ها استفاده شد. همچنین از استانداردهای معتبر (تیمول، کارواکرول، گاماترپینن و غیره، Sigma–Aldrich, USA) برای تطابق زمان‌های بازداری و شناسایی پیک‌های بارز استفاده گردید.

اندازه‌گیری عناصر معدنی

ابتدا یک گرم از ماده گیاهی (برگ) در کوره به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد سوازنده شد تا به خاکستر تبدیل شود. سپس این خاکستر در ۸ میلی‌لیتر محلول تیزاب (۲ میلی‌لیتر اسید کلریدریک و ۶ میلی‌لیتر اسید نیتریک) هضم گردید و نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت روی هات پلیت قرار گرفتند. سپس با آب دیونیزه به حجم ۵۰ سی‌سی رسانده شد. در نهایت میزان ۵ عنصر کلسیم، پتاسیم، منیزیم، فسفر و آهن توسط دستگاه پلاسمای جفت شده القایی- طیف‌سنج نشر نوری (Spectro arcos ICP-OES, Germany) اندازه‌گیری شد (Demirezen & Aksoy, 2004). با توجه به حجم عصاره‌گیری و مقدار ماده گیاهی استفاده شده، مقدار کمی عناصر محاسبه و برحسب گرم بر ۱۰۰ گرم وزن خشک گیاه (درصد) بیان شد.

مدلسازی صفات عملکردی و تجزیه و تحلیل‌های آماری

تجزیه و تحلیل آماری تمام صفات اندازه‌گیری شده در آزمایش دوم به‌جز صفات عملکردی براساس اسپلیت پلات

بر مبنای بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد، زیرا اندازه‌گیری‌های بیوشیمیایی و عناصر تنها در برداشت اول انجام گردید. اما اندازه‌گیری شاخص‌های عملکردی در دو برداشت متوالی انجام شد. ازاین‌رو، تجزیه و تحلیل آماری این شاخص‌ها به صورت اسپلیت پلات در زمان و مکان انجام گردید. مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح ۵ درصد انجام شد. به دلیل اهمیت صفات عملکردی در کشت و کار آویشن دنایی مدل‌های مختلف رگرسیونی مانند رگرسیون چندگانه خطی (Linear multiple regression)، رگرسیون پلی نومیال چندگانه درجه دو (Second order regression)، رگرسیون گام به گام (Stepwise regression)، رگرسیون مؤلفه‌های اصلی (PCR)، رگرسیون حداقل مربعات جزئی (PLSR)، رگرسیون بردار پشتیبان (SVR) و شبکه عصبی (ANN) با هدف تخمین و پیش‌بینی نیز برازش شدند.

لایه پنهان شبکه عصبی با تعداد نورون‌های متفاوت برای هر صفت آزموده شدند. برای جلوگیری بیش‌آموزش (over-training) شبکه، سعی بر آن شد که با حداقل تعداد نورون‌ها آنالیز انجام شود. در نهایت پس از بهینه‌سازی تعداد نورون‌های متناسب برای هر شبکه به ترتیب از ۲، ۳، و ۶ نورون برای مدلسازی صفات عملکرد ماده خشک، اسانس و تیمول استفاده شد. لایه ورودی شامل دو متغیر (تنش قطع آبیاری و تیمار نانوالیسیتور) بود. برای هر سطح از تنش نیز همانند سطوح تیمار الیسیتوری از یک متغیر کمی استفاده شد. در مجموع، از ۸۰ داده مربوط به ۱۰ تیمار فاکتوریل، هریک با ۸ تکرار (به‌دلیل ادغام داده‌های مربوط به برداشت) برای مدلسازی‌ها استفاده شد. در هر مرحله آنالیز، خروجی شبکه فقط دارای یک متغیر وابسته یا صفت بود. از الگوریتم آموزشی لونبرگ- مارکوات (Levenberg-Marquardt) برای آموزش داده‌ها استفاده شد. تابع انتقال لایه پنهان تانژانت-سیگموئید و تابع انتقال لایه خروجی نیز خطی بود. ۷۰ درصد داده‌ها برای آموزش، ۱۵ درصد برای اعتبارسنجی و ۱۵ درصد باقی‌مانده نیز برای آزمون شبکه استفاده گردید. شایان ذکر است که داده‌های ورودی و خروجی، مورد نرمال‌سازی (بین ۱ و ۱-) به روش mapminmax و تصادفی‌سازی (Randomization) قرار گرفتند. همچنین از این داده‌های نرمال‌سازی شده برای برازش مدل‌های رگرسیونی نیز استفاده شد. دقت مدل‌ها براساس سه شاخص انحراف استاندارد، R^2 و RSEM ارزیابی شد و نمودار تیلور برای مصورسازی دقت مدل‌ها در نرم‌افزار R ترسیم گردید.

نتایج

مدلسازی و آنالیز تغییرات کمی صفات عملکردی بر اثر تنش قطع آبیاری و تیمار نانوالیسیتور

براساس جدول تجزیه واریانس، اثرهای اصلی (تنش، برداشت و تیمار نانوالیسیتور) و برهم‌کنش تنش × تیمار برای صفات عملکردی در سطح یک درصد معنی‌دار بودند. به‌جز برای عملکرد تیمول، دو صفت عملکرد وزن خشک و عملکرد اسانس برای برهم‌کنش سه‌گانه تیمار×تنش×برداشت در سطح یک درصد معنی‌دار بودند (جدول ۱).

مقایسه میانگین اثرهای اصلی نشان داد که بر اثر تنش قطع آبیاری عملکرد نهایی ماده خشک، درصد و عملکرد اسانس و عملکرد تیمول به‌طور معنی‌داری به شدت افت پیدا می‌کند (جدول ۲). همچنین در برداشت دوم میانگین شاخص‌های عملکردی بالاتر بوده است (جدول ۲). در برداشت دوم عملکرد ماده خشک حدود ۱۸ درصد افزایش یافت، با این حال عملکرد اسانس و تیمول تنها ۴ درصد افزایش یافته بود (جدول ۲). مقایسه اثرهای اصلی نیز نشان داد که کاربرد ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوالیسیتور سیلسیوم و سلنیوم (به صورت ترکیبی) تفاوت معنی‌داری با شاهد برای صفات عملکردی ایجاد نکرده است.

همچنین مقایسه میانگین اثرهای اصلی نشان داد که کاربرد ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوالیسیتور سیلسیوم و سلنیوم (به صورت ترکیبی) تفاوت معنی‌داری با شاهد برای صفات عملکردی ایجاد نکرده است. با این حال، افزایش معنی‌داری در تیمار ۲۰ پی.پی. ام با شاهد مشاهده گردید و حداکثر مقادیر حاصل برای این سه صفت بدست آمد. غلظت بیشتر از

۲۰ میلی‌گرم بر لیتر اثر معکوسی بر صفات عملکردی وزن خشک، اسانس و تیمول داشت و موجب افت آنها شد (جدول ۲). براساس مقایسه میانگین اثر متقابل تنش در تیمار، بیشترین میزان عملکرد ماده خشک (۹/۴۶ و ۹/۳۷ تن در هکتار) در تیمار شاهد (بدون تنش) همراه با کاربرد ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر تیمار ترکیبی نانوسیلیکون و سلنیوم بدست آمد اما این دو تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. با این حال، بیشترین میزان عملکرد اسانس (۴۵۵ لیتر در هکتار) و عملکرد تیمول (۲۴۹ لیتر در هکتار) تنها در تیمار کنترل همراه با کاربرد ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر تیمار ترکیبی نانوسیلیکون و سلنیوم بدست آمد که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها نشان می‌داد (شکل ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات عملکردی آویشن دنایی تحت تیمارهای نانوالیسیتور، تنش کم‌آبی و زمان برداشت

Table 1. ANOVA of *Thymus daenensis* yield traits under nanoelicitor, drought stress, and harvest time treatments

S.O.V.	d.f.	M.S.			
		Dry weight yield	Essential oil yield	Thymol yield	Essential oil content
Block (B)	3	0.008^{ns}	84.96^{**}	7.30^{ns}	0.039^{**}
Drought stress (D)	1	142.03^{**}	242484.35^{**}	69208.43^{**}	38.08^{**}
B × D	3	0.008^{ns}	30.26^{**}	13.28^{**}	0.002^{ns}
Nanoelicitor (N)	4	2.36^{**}	7198.12^{**}	2669.04^{**}	1.12^{**}
D × N	4	0.38^{**}	173.08^{**}	55.34^{**}	0.02^{**}
B × D × N	24	0.021^{ns}	68.72^{**}	14.58^{ns}	0.004^{*}
Harvest time (H)	1	33.31^{**}	4838.32^{**}	1092.73^{**}	0.677^{**}
D × H	1	0.61^{**}	11.56^{**}	2.30^{ns}	0.008^{ns}
B × D × H	6	0.01^{ns}	27.15^{ns}	46.93^{ns}	0.001^{ns}
N × H	4	0.33^{**}	20.62^{**}	55.64^{ns}	0.001^{ns}
N × D × H	4	0.23^{**}	0.72^{**}	41.39^{ns}	0.001^{ns}
Experimental error	24	0.01	29.37	10.42	0.002
C.V. (%)		20.30	16.27	16.16	7.04

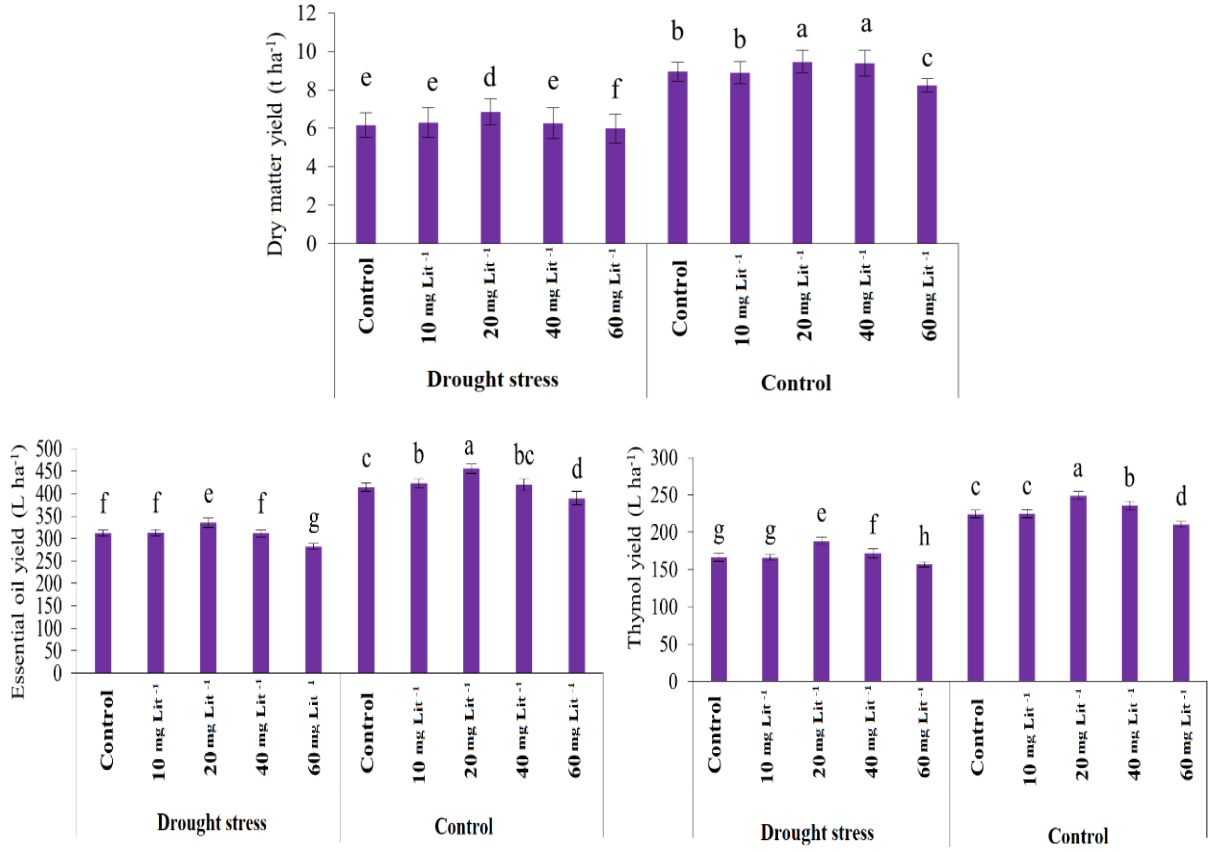
^{ns}, *, and **: non-significant, significant at 5, and 1% probability levels, respectively.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر اصلی تیمارهای نانوالیسیتور، تنش کم‌آبی و زمان برداشت بر صفات عملکردی آویشن دنایی

Table 2. Mean comparison of nanoelicitor, drought stress, and harvest time main effects on yield-related traits in *Thymus daenensis*

Treatment	Level	Dry weight yield (t ha^{-1})	Essential oil yield (L ha^{-1})	Thymol yield (L ha^{-1})	Essential oil (%)
Drought stress	Control	8.97^{a}	310.15^{a}	228.72^{a}	5.25^{a}
	Irrigation cutoff	6.31^{b}	420.26^{b}	169.89^{b}	3.87^{b}
Nanoelicitor (Silicon + Selenium)	Control	7.55^{c}	362.66^{b}	195.41^{c}	4.54^{b}
	10 mg L^{-1}	7.58^{c}	367.43^{b}	195.28^{c}	4.59^{b}
	20 mg L^{-1}	8.15^{a}	395.09^{a}	218.55^{a}	4.93^{a}
	40 mg L^{-1}	7.82^{b}	365.54^{b}	203.69^{b}	4.57^{b}
	60 mg L^{-1}	7.11^{d}	335.29^{c}	183.61^{d}	4.18^{c}
Harvest	First	7.00^{b}	357.43^{b}	195.61^{b}	4.47^{b}
	Second	8.29^{a}	372.98^{a}	203.00^{a}	4.65^{a}

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test).



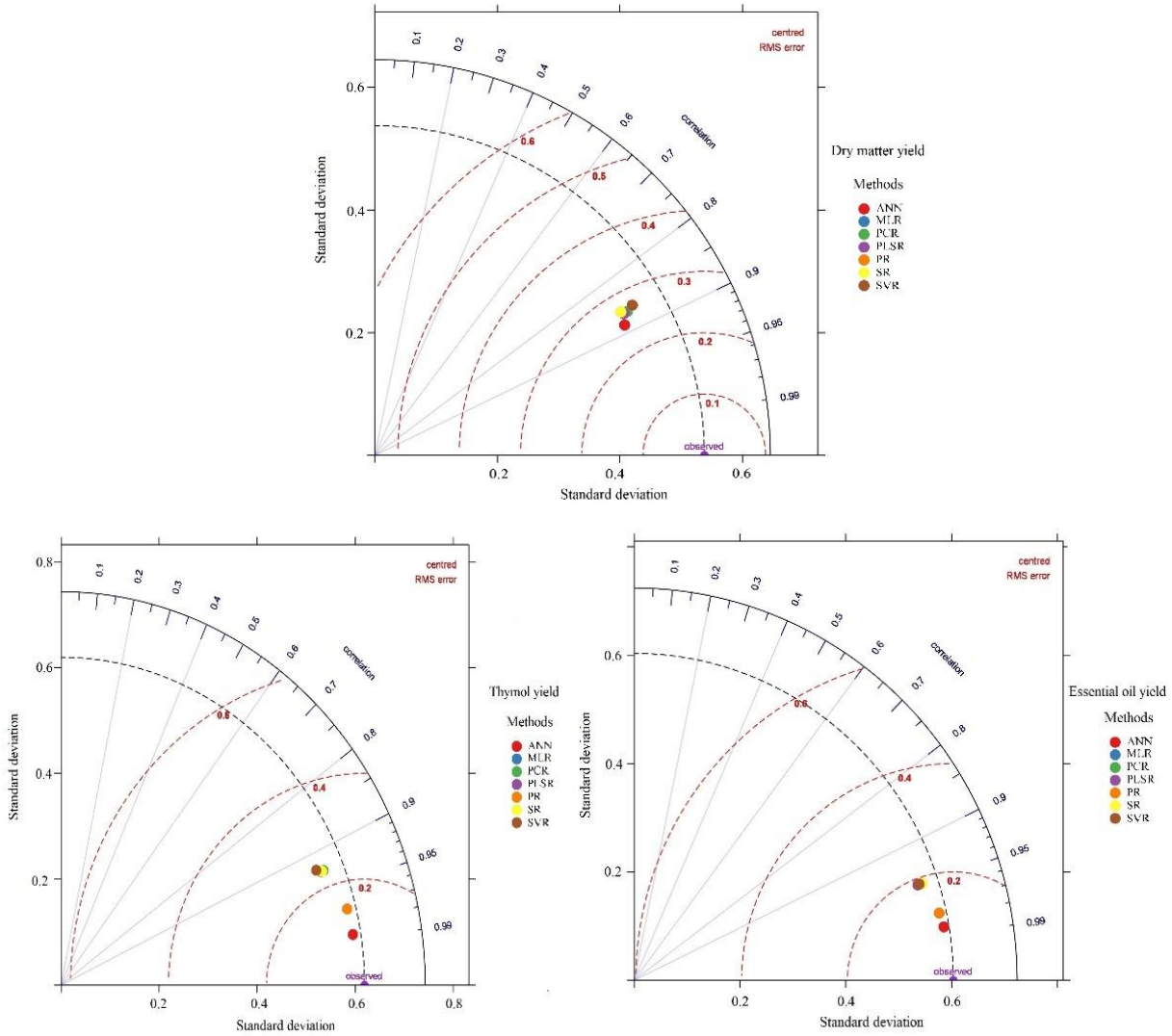
شکل ۱– مقایسه میانگین اثرمتقابل تنش کم‌آبی × نانوالیسیتور بر صفات عملکردی آویشن دنایی

Figure 1. Mean comparison of drought stress × nanoelicitor interaction on yield-related traits in *Thymus daenensis*

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test).

نتایج مدلسازی نشان داد که شبکه‌های عصبی مصنوعی به عنوان یکی از رهیافت‌های هوش مصنوعی دقت بیشتری نسبت به شش مدل رگرسیونی رایج دیگر داشت. براساس نمودار تیلور، پیش‌بینی شبکه عصبی انحراف استاندارد (محور طولی) پایین‌تر، RSEM کمتر و نزدیک به صفر (خطوط نقطه‌چین قرمز) و ضریب تبیین (R^2) (خطوط شعاعی) بالاتری داشت که نزدیک به داده‌های مشاهده‌ای بود (خط نقطه‌چین مشکی) (شکل ۲ و جدول ۴).

ضریب R^2 مربوط به شبکه عصبی در پیش‌بینی عملکرد اسانس و عملکرد دارویی بالای ۹۵ درصد بود (جدول ۳). نمودار رگرسیون بین داده‌های پیش‌بینی شده و مشاهده شده مربوط به مدلسازی شبکه عصبی در شکل ۳ نشان داده شده است. پس از مدل شبکه عصبی، رگرسیون پلی نومیال درجه دو چندگانه، بیشترین قدرت پیش‌بینی و کمترین خطا را داشت، در حالی که بقیه مدل‌ها (رگرسیون مؤلفه‌های اصلی، خطی، بردار پشتیبان، حداقل مربعات جزئی و گام به گام) تفاوت چندانی با یکدیگر از نظر دقت نداشتند. شایان ذکر است که براساس جدول ۵ و ۶، در مجموع ۲۴ ترکیب در آنالیز نمونه‌های مختلف اسانس شناسایی شدند و کمیت آنها گزارش گردید.



شکل ۲- نمودار تیلور مربوط به دقت مدل‌های برازش‌شده رگرسیونی و شبکه عصبی مصنوعی برای صفات عملکردی آویشن دنایی

Figure 2. Taylor diagram comparing the accuracy of fitted multivariate regression and artificial neural network models for yield-related traits of *Thymus daenensis*

ANN: Artificial neural network; MLR: Multiple linear regression; PCR: Principal component regression; PLSR: Partial least square regression; PR: Polynomial regression (Second order); SR: Stepwise regression; SVR: support vector regression.

جدول ۳- مقایسه دقت مدل‌های رگرسیونی چندمتغیره و شبکه عصبی مصنوعی در مدلسازی صفات عملکردی آویشن دنایی

Table 3. Comparing the accuracy of multivariate regression and artificial neural network models for modeling yield-related traits of *Thymus daenensis*

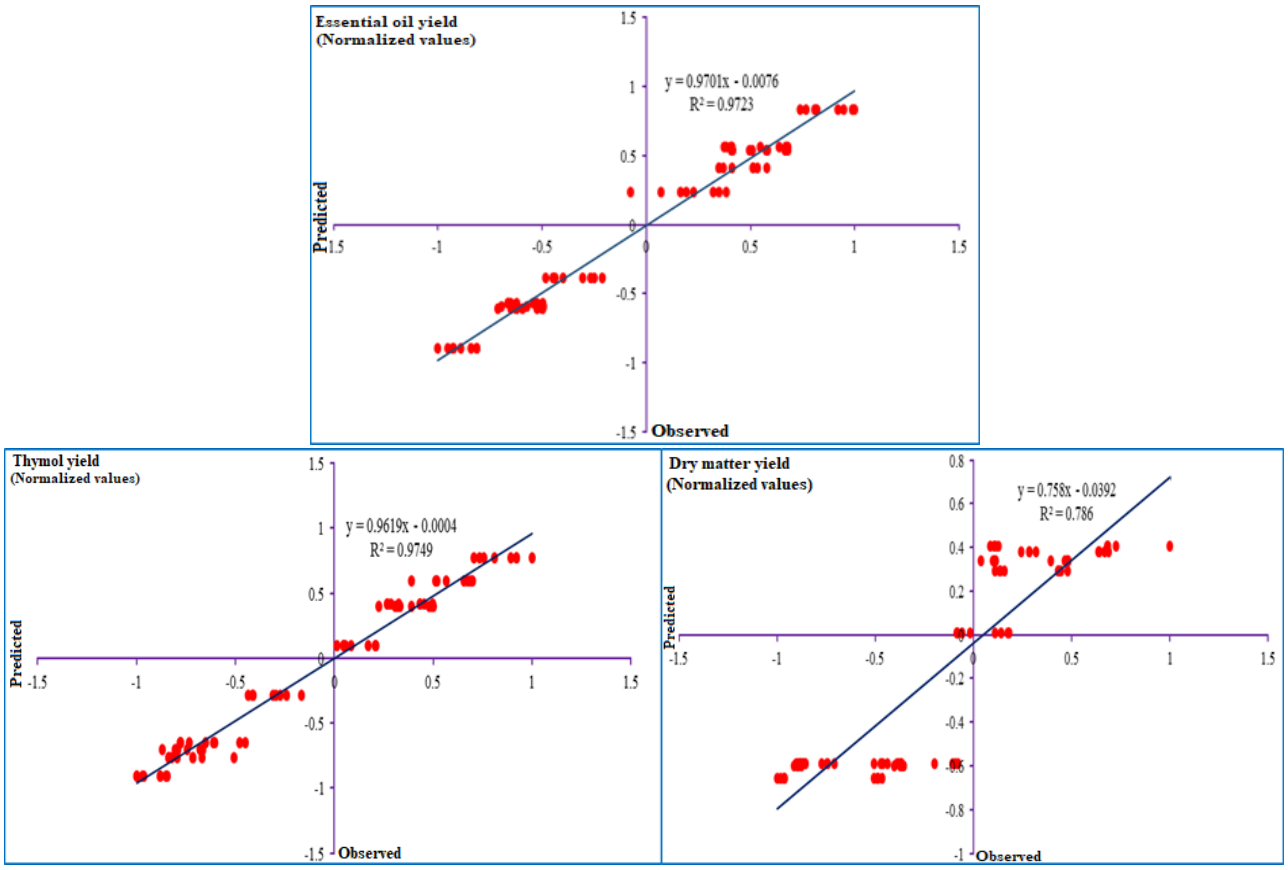
Model	R^2		
Trait	**Thymol yield**	**Essential oil yield**	**Dry matter yield**
Artificial Neural Network (ANN)	0.974	0.972	0.786
Linear Multiple Regression (MLR)	0.860	0.900	0.749
Second Order Regression	0.942	0.955	0.781
Principal Component Regression (PCR)	0.859	0.897	**0.755**
Partial Least Squares Regression (PLSR)	0.859	0.905	**0.755**
Support Vector Regression (SVR)	0.852	0.902	**0.746**

جدول ۴- مقایسه R^2 مربوط به آموزش، اعتبارسنجی و آزمون مدل شبکه عصبی مصنوعی برای صفات عملکردی آویشن دنایی

Table 4. Comparison of R^2 values obtained from training, validation, and testing of artificial neural network model for yield-related traits of *Thymus daenensis*

	Algorithm	Training		Validation		Testing	
		R^2	RMSE*	R^2	RMSE	R^2	RMSE
Thymol yield	Artificial neural network	0.977	0.096	0.966	0.098	0.964	0.103
Essential oil yield		0.977	0.008	0.963	0.107	0.956	0.131
Dry matter yield		0.756	0.253	0.861	0.221	0.830	0.243

*RMSE: Root Mean Square Error



شکل ۳- رگرسیون داده‌های پیش‌بینی‌شده و مشاهده‌شده در مدل شبکه عصبی مصنوعی برای صفات عملکردی آویشن دنایی

Figure 3. Regression of predicted *vs.* observed values from the artificial neural network model for yield-related traits of *Thymus daenensis*

جدول ۵- درصد ترکیبات اسانس در برداشت اول آویشن دنایی تحت تیمارهای تنش کم‌آبی و نانوالیسیتور

Table 5. Essential oil composition in the first harvest of *Thymus daenensis* as affected by drought stress and nanoelicitor treatments

No	RIc	RIs	Compound	First harvest									
				Drought stress treatments									
				Irrigation cut-off					Control				
				Nanoelicitor treatments					Nanoelicitor treatments				
				Control	10 mg L^{-1}	20 mg L^{-1}	40 mg L^{-1}	60 mg L^{-1}	Control	10 mg L^{-1}	20 mg L^{-1}	40 mg L^{-1}	60 mg L^{-1}
1	923	924	α-thujene	2.3	1.9	2.4	2.2	2.2	2.3	2.3	2.2	2.0	2.2
2	930	932	α-pinene	1.2	1.4	1.0	0.9	1.1	1.3	1.2	1.2	1.2	1.2
3	944	946	camphene	0.4	0.5	0.5	0.7	0.6	0.5	0.5	0.4	0.5	0.4
4	971	969	sabinene	0.4	0.6	0.6	0.8	0.7	0.5	0.6	0.5	0.5	0.5
5	975	974	β-pinene	0.4	0.6	0.6	0.8	0.7	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
6	990	995	myrcene	0.4	0.5	0.5	0.7	0.7	0.5	0.5	0.5	0.5	0.4
7	1002	1003	α -phellandrene	0.5	0.7	0.7	1.0	0.9	0.6	0.7	0.6	0.6	0.6
8	1009	1008	δ-carene	1.3	1.5	1.1	1.0	1.2	1.4	1.2	1.3	1.3	1.3
9	1014	1015	α-terpinene	3.7	3.6	3.6	3.6	3.6	3.6	3.9	3.7	3.9	3.7
10	1020	1021	***p*-cymene**	**5.0**	**3.9**	**4.0**	**3.9**	**3.9**	**3.9**	**4.4**	**4.0**	**4.5**	**4.2**
11	1027	1026	1,8-cineole	0.5	0.7	0.7	0.9	0.9	0.6	0.7	0.6	0.6	0.6
12	1045	1044	β-ocimene	0.4	0.6	0.6	0.8	0.8	0.6	0.6	0.5	0.5	0.5
13	1054	1054	**γ-terpinene**	**15.2**	**13.0**	**12.6**	**12.3**	**11.4**	**12.7**	**12.5**	**12.6**	**13.0**	**12.6**
14	1063	1065	cis-sabinene hydrate	0.4	0.6	0.6	0.8	0.8	0.6	0.6	0.5	0.5	0.5
15	1087	1086	α-terpinolene	0.4	0.6	0.6	0.7	0.7	0.5	0.5	0.5	0.5	0.4
16	1096	1096	linalool	0.9	1.3	1.4	1.6	1.6	1.2	1.3	1.1	1.1	1.0
17	1097	1098	*trans*-sabinene hydrate	0.4	0.6	0.6	0.7	0.8	0.5	0.6	0.5	0.5	0.5
18	1240	1241	carvacrol methyl ether	2.3	3.5	3.3	3.4	3.7	3.6	3.0	3.6	3.5	3.6
19	1288	1289	**thymol**	**53.5**	**53.3**	**56.4**	**54.7**	**55.9**	**53.7**	**53.4**	**55.0**	**56.5**	**54.4**
20	1297	1298	**carvacrol**	**2.6**	**3.9**	**3.7**	**3.8**	**4.2**	**4.1**	**3.3**	**4.1**	**4.0**	**4.1**
21	1415	1417	E-caryophyllene	1.1	1.1	1.1	1.0	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.2
22	1448	1452	α-humulene	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
23	1504	1506	α-bisabolene	0.6	0.6	0.5	0.5	0.5	0.6	0.6	0.5	0.5	0.6
24	1579	1582	caryophyllene oxide	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2
			Total	94.1	95.2	97.6	97.0	98.1	95.0	94.1	95.8	98.1	95.2

RIc= Calculated Retention Indices, RIs= Standard retention Indices based on Adams, 2017

جدول ۶- درصد ترکیبات اسانس در برداشت دوم آویشن دنایی تحت تیمارهای تنش کم‌آبی و نانوالیسیتور

Table 6. Essential oil composition in the second harvest of *Thymus daenensis* as affected by drought stress and nanoelicitor treatments

No	RIc	RIs	Compound	Second harvest									
				Drought stress treatments									
				Irrigation cut-off					Control				
				Nanoelicitor treatments					Nanoelicitor treatments				
				Control	10 mg L^{-1}	20 mg L^{-1}	40 mg L^{-1}	60 mg L^{-1}	Control	10 mg L^{-1}	20 mg L^{-1}	40 mg L^{-1}	60 mg L^{-1}
1	923	924	α-thujene	2.4	1.9	2.5	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3	2.0	2.3
2	930	932	α-pinene	1.3	1.4	1.1	0.9	1.1	1.3	1.2	1.3	1.2	1.2
3	944	946	camphene	0.4	0.5	0.5	0.7	0.7	0.5	0.5	0.5	0.5	0.4
4	971	969	sabinene	0.4	0.6	0.6	0.8	0.7	0.5	0.6	0.5	0.5	0.4
5	975	974	β-pinene	0.4	0.6	0.6	0.8	0.7	0.5	0.6	0.5	0.5	0.5
6	990	995	myrcene	0.4	0.5	0.6	0.7	0.7	0.5	0.5	0.5	0.5	0.4
7	1002	1003	α-phellandrene	0.5	0.7	0.7	1.0	0.9	0.6	0.7	0.6	0.6	0.6
8	1009	1008	δ-carene	1.3	1.5	1.2	1.0	1.2	1.4	1.3	1.3	1.3	1.3
9	1014	1015	α-terpinene	3.8	3.6	3.7	3.7	3.6	3.6	3.9	3.7	4.0	3.8
10	1020	1021	***p*-cymene**	**5.1**	**4.0**	**4.1**	**4.0**	**4.0**	**3.3**	**4.5**	**4.1**	**4.5**	**4.2**
11	1027	1026	1,8-cineole	0.5	0.7	0.7	0.9	0.9	0.6	0.7	0.6	0.6	0.6
12	1045	1044	β-ocimene	0.4	0.6	0.6	0.8	0.8	0.6	0.6	0.5	0.5	0.5
13	1054	1054	**γ-terpinene**	**15.4**	**13.2**	**12.8**	**12.5**	**11.6**	**12.9**	**12.7**	**12.8**	**13.2**	**12.8**
14	1063	1065	cis-sabinene hydrate	0.4	0.7	0.6	0.8	0.8	0.6	0.6	0.5	0.6	0.5
15	1087	1086	α-terpinolene	0.4	0.6	0.6	0.7	0.7	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
16	1096	1096	linalool	0.9	1.3	1.4	1.6	1.7	1.2	1.3	1.1	1.2	1.1
17	1097	1098	*trans*-sabinene hydrate	0.4	0.6	0.6	0.75	0.8	0.5	0.59	0.5	0.53	0.49
18	1240	1241	carvacrol methyl ether	2.3	3.5	3.3	3.3	3.7	3.7	3.0	3.6	3.6	3.7
19	1288	1289	**thymol**	**53.6**	**52.9**	**56.1**	**55.5**	**55.7**	**53.9**	**52.9**	**54.4**	**55.7**	**53.8**
20	1297	1298	**carvacrol**	**2.6**	**4.0**	**3.8**	**3.8**	**4.2**	**4.1**	**3.4**	**4.1**	**4.0**	**4.1**
21	1415	1417	E-caryophyllene	1.2	1.1	1.1	1.0	1.1	1.1	1.1	1.1	1.2	1.2
22	1448	1452	α-humulene	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
23	1504	1506	α-bisabolene	0.6	0.6	0.5	0.5	0.5	0.6	0.6	0.5	0.6	0.6
24	1579	1582	caryophyllene oxide	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2
			Total	94.8	95.4	97.9	98.3	98.7	95.2	94.2	95.7	97.9	95.2

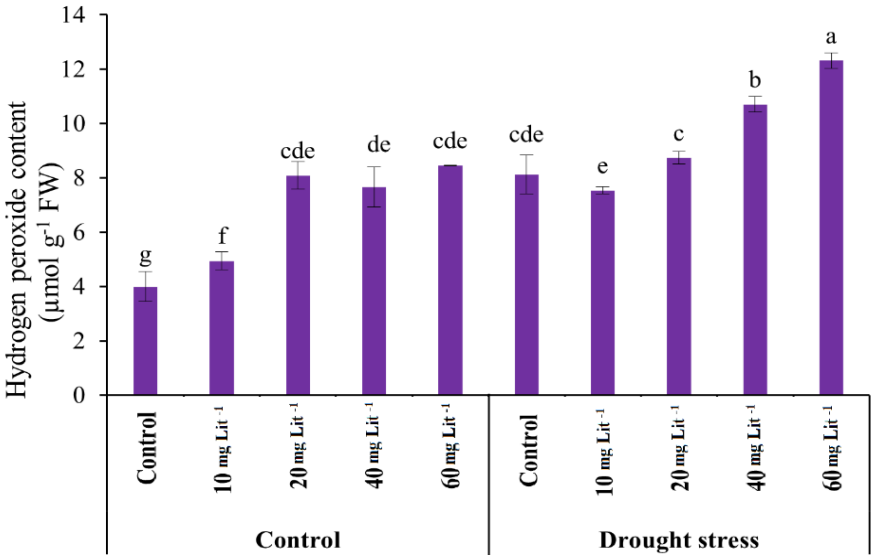
RIc= Calculated Retention Indices, RIs= Standard retention Indices based on Adams, 2017

تغییرات صفات بیوشیمیایی بر اثر تنش قطع آبیاری و تیمار نانوالیسیتور

براساس جدول تجزیه واریانس (طرح اسپلیت پلات)، اثر اصلی (تنش و تیمار نانوالیسیتور)، برای غلظت عناصر و شاخص‌های بیوشیمیایی در سطح یک درصد معنی‌دار بودند. برهم‌کنش تیمار× تنش برای غلظت کلسیم، محتوای کلروفیل کل و مالون دی آلدهید معنی‌دار نبود. با این حال، باقی صفات به‌جز محتوای آهن (سطح ۵ درصد) در سطح یک درصد معنی‌دار بودند (جدول ۷). مقایسه میانگین اثرهای اصلی نشان داد که بر اثر تنش قطع آبیاری و با افزایش غلظت کاربرد نانوالیسیتورها شاخص‌های سمیت سلولی (محتوای مالون دی آلدهید و پراکسید هیدروژن) افزایش پیدا کرد (جدول ۸).

در اثر تنش آبی محتوای کلروفیل نیز کاهش پیدا کرد (جدول ۸). کاهش کلروفیل کل در مقایسه تمام سطوح نانوالیسیتورها با تیمار شاهد معنی‌دار بود (جدول ۸). براساس نمودار اثر متقابل نانوالیسیتور×تنش محتوای پراکسید هیدروژن مشاهده شد، به‌نحوی‌که در سطوح مختلف نانوالیسیتورها تنش سلولی نسبت به شرایط شاهد افزایش می‌یابد، با این حال، تحت شرایط تنش قطع آبیاری تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوالیسیتورها باعث کاهش محتوای پراکسید هیدروژن نسبت به شاهد تحت تنش (تنش قطع آبیاری بدون کاربرد نانوالیسیتور) شد (شکل ۴).

همچنین به‌جز عنصر پتاسیم که تحت شرایط شاهد بیشترین مقدار را داشت، بقیه عناصر اندازه‌گیری شده با اعمال تنش قطع آبیاری افزایش کمی معنی‌داری نشان دادند (جدول ۹). براساس مقایسه میانگین اثرهای اصلی، در تیمار ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوالیسیتور، محتوای عناصر نسبت به شاهد افزایش پیدا کرد، ولی در غلظت‌های بالاتر و پایین‌تر فاقد تفاوت معنی‌دار یا تفاوت کمتری داشتند (جدول ۹). برای تمامی عناصر نیز تا غلظت ۲۰ میلی گرم بر لیتر، افزایش غلظت در شرایط تنش و کنترل مشاهده گردید، اما در سطوح بیشتر از غلظت یادشده (۲۰ میلی‌گرم بر لیتر) افت معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۱۰).



شکل ۴- مقایسه میانگین اثرمتقابل تنش کم‌آبی × نانوالیسیتور بر محتوای پراکسید هیدروژن آویشن دنایی

Figure 4. Mean comparison of drought stress × nanoelicitor interaction on hydrogen peroxide content in *Thymus daenensis*

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test).

جدول ۷- تجزیه واریانس غلظت عناصر آویشن دنایی تحت تیمارهای نانوالیسیتور و تنش کم‌آبی

Table 7. ANOVA of *Thymus daenensis* elements concentration under nanoelicitor and drought stress treatments

S.O.V.	d.f.	M.S.								
		N content	Ca content	Fe content	K content	Mg content	P content	Malondialdehyde content	Total chlorophyll	H_2O_2 content
Block (B)	2	0.019^{ns}	0.035^{ns}	0.001^{ns}	0.51^{*}	0.014^{*}	0.008^{*}	0.016^{ns}	2.94^{ns}	0.011^{ns}
Drought stress (D)	1	0.83^{**}	13.08^{*}	0.025^{**}	5.89^{**}	0.16^{**}	13.09^{**}	140.74^{**}	53.4^{**}	61.11^{**}
B × D (First error)	2	0.012^{ns}	0.10^{ns}	0.002^{ns}	0.012^{ns}	0.0004^{ns}	0.0002^{ns}	0.34^{ns}	1.28^{ns}	0.19^{ns}
Nanoelicitor (N)	4	0.27^{**}	0.32^{**}	0.02^{ns}	2.65^{**}	0.07^{**}	0.04^{**}	11.18^{**}	22.76^{**}	21.14^{**}
D × N	4	0.13^{**}	0.07^{ns}	0.006^{*}	1.024^{**}	0.028^{**}	0.015^{**}	0.54^{ns}	2.85^{ns}	2.84^{**}
Second error	16	0.049	0.050	0.002	0.09	0.002	0.001	0.30	1.06	0.21
C.V. (%)		5.69	6.90	12.78	8.83	8.90	8.81	2.87	3.32	5.48

^{ns}, *, and **: non-significant, significant at 5, and 1% probability levels, respectively.

جدول ۸- مقایسه میانگین اثرهای اصلی تیمارهای نانوالیسیتور و تنش کم‌آبی بر صفات بیوشیمیایی آویشن دنایی

Table 8. Mean comparison of nanoelicitor and drought stress main effects on biochemical traits in *Thymus daenensis*

Treatment	Level	Malondialdehyde content (nmol g^{-1} FW)	Total chlorophyll (SPAD value)	Hydrogen peroxide content (µmol g^{-1} FW)
Drought stress	Control	16.63^{b}	35.36^{a}	6.62^{b}
	Irrigation Cut-off	20.96^{a}	20.96^{a}	9.47^{a}
Nanoelicitor (Silicon + Selenium)	Control	16.90^{c}	37.42^{a}	6.05^{d}
	10 mg L^{-1}	18.19^{b}	33.58^{b}	6.23^{d}
	20 mg L^{-1}	18.71^{b}	33.58^{b}	8.40^{c}
	40 mg L^{-1}	19.84^{a}	32.95^{b}	9.17^{b}
	60 mg L^{-1}	20.35^{a}	32.58^{b}	10.38^{a}

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test).

جدول ۹- مقایسه میانگین اثرهای اصلی تیمارهای نانوالیسیتور و تنش کم‌آبی بر محتوای عناصر آویشن دنایی

Table 9. Mean comparison of nanoelicitor and drought stress main effects on nutrients content in *Thymus daenensis*

Treatment	Level	N content (g 100 g^{-1} DW)	K content (g 100 g^{-1} DW)	P content (g 100 g^{-1} DW)	Ca content (g 100 g^{-1} DW)	Mg content (g 100 g^{-1} DW)	Fe content (g 100 g^{-1} DW)
Drought stress	Control	3.45^{b}	4.52^{a}	0.46^{b}	2.58^{b}	0.61^{b}	0.32^{b}
	Irrigation Cut-off	3.78^{a}	3.63^{b}	0.56^{a}	3.89^{a}	0.75^{a}	0.27^{a}
Nanoelicitor (Silicon + Selenium)	Control	3.41^{b}	4.04^{bc}	0.50^{bc}	3.20^{bc}	0.67^{bc}	0.29^{cd}
	10 mg L^{-1}	3.53^{b}	4.41^{b}	0.55^{b}	2.99^{c}	0.73^{b}	0.34^{bc}
	20 mg L^{-1}	3.85^{a}	4.93^{a}	0.62^{a}	3.57^{a}	0.82^{a}	0.44^{a}
	40 mg L^{-1}	3.84^{a}	3.82^{c}	0.47^{c}	3.34^{ab}	0.63^{c}	0.36^{b}
	60 mg L^{-1}	3.44^{b}	3.14^{d}	0.39^{d}	3.07^{c}	0.52^{d}	0.28^{d}

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test).

جدول ۱۰- مقایسه میانگین اثرمتقابل تنش کم‌آبی × نانوالیسیتور بر محتوای عناصر آویشن دنایی

Table 10. Mean comparison of drought stress × nanoelicitor interaction on nutrients content in *Thymus daenensis*

Treatment		N content (g 100 g^{-1} DW)	K content (g 100 g^{-1} DW)	P content (g 100 g^{-1} DW)	Mg content (g 100 g^{-1} DW)	Fe content (g 100 g^{-1} DW)
Drought stress	Nanoelicitor (Silicon + Selenium)					
Control	Control	3.00e	4.54bc	0.45d-f	0.59d-f	0.23f
	10 mg L^{-1}	3.38cd	5.12b	0.47d-f	0.62d-f	0.29d-f
	20 mg L^{-1}	3.74ab	5.90a	0.50cd	0.66cd	0.41ab
	40 mg L^{-1}	3.83ab	3.86d	0.47de	0.63de	0.35b-d
	60 mg L^{-1}	3.31de	3.18e	0.39f	0.52f	0.30c-e
Irrigation cut-off	Control	3.83ab	3.56de	0.57bc	0.76bc	0.36b-d
	10 mg L^{-1}	3.69a-c	3.71de	0.64b	0.85b	0.40b
	20 mg L^{-1}	3.96a	3.97cd	0.74a	0.98a	0.48a
	40 mg L^{-1}	3.86ab	3.79d	0.48d	0.64d	0.37bc
	60 mg L^{-1}	3.58b-d	3.12e	0.40ef	0.53ef	0.27ef

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test).

بحث

این تحقیق با هدف تحلیل و مدل‌سازی اثر ترکیبی نانو- سیلیکون و سلنیوم بر عملکرد دارویی و صفات بیوشیمیایی آویشن دنایی تحت تنش کم‌آبی با کاربرد شبکه‌های عصبی مصنوعی و رگرسیون چندمتغیره انجام شد. در مجموع ۲۴ ترکیب در آنالیز نمونه‌های مختلف اسانس هر دو برداشت شناسایی و کمیت‌سنجی شد (جدول ۵ و ۶). مقایسه میانگین اثرهای اصلی نشان داد که بر اثر تنش قطع آبیاری عملکرد

نهایی ماده خشک، اسانس و عملکرد دارویی (عملکرد تیمول) به‌طور معنی‌داری به شدت افت پیدا می‌کند. در برداشت دوم میانگین عملکرد ماده خشک، اسانس و تیمول بالاتر بوده است. در برداشت دوم عملکرد ماده خشک حدود ۱۸ درصد افزایش یافت، با این حال عملکرد اسانس و تیمول تنها ۴ درصد افزایش یافته بودند. این کاهش احتمالاً به دلیل اختلال در تعادل آب و کاهش دسترسی گیاه به عناصر غذایی ضروری است که منجر به کاهش فعالیت فتوسنتزی و کاهش تولید متابولیت‌های اولیه می‌شود.

نتایج مدلسازی نشان داد که شبکه‌های عصبی مصنوعی به عنوان یکی از رهیافت‌های هوش مصنوعی دقت بیشتری نسبت به شش مدل رگرسیونی رایج دیگر داشت. پس از مدل شبکه عصبی، رگرسیون پلی نومیال درجه دو چندگانه، بیشترین قدرت پیش‌بینی و کمترین خطا را داشت، در حالی که بقیه مدل‌ها (رگرسیون مؤلفه‌های اصلی، خطی، بردار پشتیبان، حداقل مربعات جزئی و گام به گام) تفاوت چندانی با یکدیگر از نظر دقت نداشتند. مدل‌سازی داده‌ها با استفاده از شبکه عصبی مصنوعی (ANN) نشان داد که این روش نسبت به مدل‌های رگرسیونی سنتی دقت بیشتری در پیش‌بینی عملکرد گیاه تحت تیمارهای مختلف دارد (Sabzi-Nojadeh *et al.*, 2021؛ Gholizadeh *et al.*, 2022). این یافته‌ها با مطالعات پیشین هم‌خوانی دارد که نشان داده‌اند مدل‌های ANN قادرند اثرهای پیچیده متغیرهای محیطی و ژنتیکی را در برهم‌کنش با یکدیگر بهتر مدل‌سازی کنند (Sandhu *et al.*, 2021).

در مقایسه با مدل‌های رگرسیونی خطی که معمولاً فرض می‌کنند متغیرهای مستقل تأثیری ثابت و یکنواخت بر متغیرهای وابسته دارند، شبکه‌های عصبی مصنوعی قادرند الگوهای غیرخطی را شناسایی کرده و پیش‌بینی‌های دقیق‌تری ارائه دهند (Gholizadeh *et al.*, 2022؛ Sandhu *et al.*, 2021). پژوهش‌های مشابه، برتری مدل‌های شبکه عصبی را در پیش‌بینی عملکرد دارویی زنیان (اسانس) و سرخدار (پاکلی تاکزل) اثبات کردند (Niazian *et al.*, 2018؛ Farhadi *et al.*, 2020). به‌طوری‌که تا به حال، گزارش‌های متعدد و متناقضی درباره تأثیر تنش اسمزی بر تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه منتشر شده است، اما بیشترین تأکید در این گزارش‌ها بر روند افزایشی متابولیت‌های ثانویه در طول تنش‌های اسمزی بوده است (Kulak *et al.*, 2019). به عنوان سازوکار دفاعی در گیاهان، تغییرات تنظیمی همواره در مسیرهای متابولیکی گیاهان رخ می‌دهد (Sangwan *et al.*, 2001).

بروز یک انحراف در مسیر بیوسنتز متابولیت‌ها می‌تواند به دلیل پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاهان به محدودیت فراهمی آب و عمدتاً به دلیل کاهش جذب کربن دی اکسید به دلیل بسته شدن جزئی روزنه‌ها موجه باشد (Selmar & Kleinwächter, 2013). در این حالت، مصرف هم‌ارزهای کاهشی ($NADPH+H^+$) برای تثبیت کربن دی اکسید توسط چرخه کالوین به‌طور قابل توجهی کاهش می‌یابد و منجر به تجمع $NADPH+H^+$ اضافی می‌شود. بنابراین، طبق قانون بویل، با تخصیص دوباره کربن دی اکسید برگ، مازاد $NADPH+H^+$ برای سنتز متابولیت‌های اولیه به شدت کاهش می‌یابد (Selmar & Kleinwächter, 2013). بنابراین، تغییر مسیر ناشی از آن به‌طور قابل ملاحظه‌ای با افزایش تولیدات متابولیت‌های ثانویه مربوط به تنش، ازجمله ترکیبات ترپنوئیدی اسانس‌ها، فنل‌ها و آلکالوئیدها همراه خواهد بود (Kulak *et al.*, 2019). برخی دیگر، کاهش جذب کربن دی اکسید در طی تنش را به عنوان عاملی می‌دانند که کربن لازم را برای سنتز اسکلت‌های اولیه برای تولید متابولیت‌های ثانویه فراهم نمی‌کند (Attia *et al.*, 2018).

کاربرد نانوسیلیکون و نانوسلنیوم در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر توانست تا حدی اثرهای منفی تنش خشکی را کاهش دهد. این موضوع احتمالاً به دلیل تأثیر سیلیکون و سلنیوم در بهبود جذب عناصر معدنی، افزایش تثبیت کلروفیل و تقویت دیواره سلولی بوده است که موجب کاهش اثرهای مخرب تنش‌های محیطی می‌شود (Ghassemi-Golezani & Abdoli, 2021؛ Wang *et al.*, 2023). همچنین، نانوسلنیوم و سیلیکون در تقویت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) توانسته است در غلظت‌های پایین در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از خشکی مؤثر واقع شود (Kralova & Jampilek, 2021). با این حال، در غلظت‌های بالاتر از ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر، اثرهای معکوس

مشاهده شد که احتمالاً به دلیل سمیت سلولی ناشی از تجمع بیش از حد نانوذرات است که می‌تواند موجب تغییرات در هموستازی سلولی و تخریب ساختارهای حیاتی گیاه شود (Kralova & Jampilek, 2021). نتایج مشابهی در گیاهان دارویی دیگر مانند سنای مصری (*Cassia acutifolia*) و به‌لیمو (*Aloysia citrodora*) تحت تأثیر نانوسیلسیوم و نانوسلنیوم گزارش شده است که در آن مقادیر کم نانوذرات موجب افزایش مقاومت به تنش شد، اما در غلظت‌های بالا باعث کاهش عملکرد گردید (Atiyah *et al.*, 2023؛ Ghanbari *et al.*, 2023).

مقایسه میانگین اثرهای اصلی نشان داد که بر اثر تنش قطع آبیاری و با افزایش غلظت کاربرد نانوالیسیتورها شاخص‌های سمیت سلولی (محتوای مالون دی آلدهید و پراکسید هیدروژن) افزایش پیدا کرد. در اثر تنش آبی محتوای کلروفیل نیز کاهش یافت. اگرچه انتظار می‌رفت جذب عناصر به‌ویژه عناصر کم تحرک مانند کلسیم تابع جذب آب در شرایط غیر تنش بهبود یابد، اما افزایش غلظت تمام عناصر به‌جز پتاسیم مشاهده شد. در توافق با این مطالعه، Chen و همکاران (۲۰۱۱) اظهار داشتند تنش خشکی و کاربرد کود نانوسیلیکونی می‌تواند مقدار جذب و تجمع عناصر مختلف را افزایش دهد. تحت شرایط تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی چنین موردی می‌تواند ناشی از افزایش درون سلولی عناصر معدنی به صورت درون‌زاد و خود به خود باشد تا به عنوان نوعی سازوکار دفاعی برای سیگنالیک سلولی (عمدتا ناشی از کلسیم) و مقابله با تنش اسمزی ایفای نقش کند. به‌طور مشابهی، در مطالعات قبلی نیز افزایش شاخص‌های سمیت سلولی و فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیدان تحت شرایط تنش با کاربرد الیسیتورهای غیرزیستی گزارش شده بود (Ahmadi *et al.*, 2023؛ Ahmadi *et al.*, 2020؛ Behtash *et al.*, 2022). کلسیم نقش کلیدی در پایداری غشاهای سلولی و کاهش نشت یونی در شرایط تنش دارد که به گیاه در حفظ تعادل یونی و مقابله با خشکی کمک می‌کند (White *et al.*, 2003).

یکی از یافته‌های مهم این پژوهش، افزایش جذب عناصر معدنی مانند نیتروژن، فسفر، کلسیم و آهن در تیمارهای نانوالیسیتور بود. این افزایش ممکن است به دلیل اثرهای نانوذرات بر بهبود جذب و انتقال عناصر غذایی در گیاه باشد (Debona *et al.*, 2017). همچنین، افزایش غلظت نیتروژن می‌تواند باعث بهبود سنتز پروتئین‌ها و آنزیم‌های مرتبط با متابولیسم انرژی شده و در نهایت رشد و عملکرد گیاه را تحت شرایط تنش بهبود ببخشد (Hawkesford *et al.*, 2012). جذب بالاتر این عناصر می‌تواند از طریق سازوکارهای مختلفی مانند بهبود هدایت هیدرولیکی، تنظیم فشار اسمزی سلول‌ها و تقویت سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی موجب افزایش تحمل گیاه به تنش خشکی شود (Hawkesford *et al.*, 2012). به‌طورکلی مشاهده شد که کاربرد نانوالیسیتورها به‌خودی‌خود برای گیاه مضر بوده و سمیت سلولی ایجاد می‌کند. با این حال، کاربرد غلظت‌های پایین و کنترل‌شده آن‌ها می‌تواند از افت برخی صفات فیزیولوژیک و عملکردی جلوگیری و حتی آن را بهبود ببخشد.

در این پژوهش، تأثیر نانوسیلیکون و نانوسلنیوم بر عملکرد دارویی و بیوشیمیایی آویشن دنایی تحت شرایط تنش کم‌آبی بررسی شد. نتایج نشان داد که تنش خشکی موجب کاهش معنی‌دار عملکرد ماده خشک، اسانس و تیمول شد و همزمان باعث افزایش شاخص‌های استرس اکسیداتیو مانند پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدهید گردید. استفاده از نانوالیسیتورها در غلظت‌های پایین (به‌ویژه ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر) اثرهای مثبتی در کاهش آسیب‌های ناشی از تنش و بهبود برخی از ویژگی‌های فیزیولوژیکی و عملکردی گیاه داشت. این نتایج نشان می‌دهند که سطوح پایین تیمارهای ترکیبی نانوسیلیکون و نانوسلنیوم می‌توانند با بهبود جذب عناصر معدنی و کاهش تنش اکسیداتیو، مقاومت گیاه را در برابر خشکی افزایش دهند. با توجه به یافته‌های این تحقیق، استفاده از نانوسیلیکون و نانوسلنیوم در غلظت‌های مناسب می‌تواند به‌عنوان یک راهبرد مفید برای بهبود عملکرد گیاهان دارویی در شرایط تنش خشکی مورد توجه قرار گیرد. با این حال، بررسی‌های بیشتری برای درک بهتر سازوکارهای فیزیولوژیکی و مولکولی اثر این نانوذرات و ارزیابی اثر بلندمدت آنها بر خاک و محیط‌زیست، ضروریست.

References

- Adams, R.P., 2017. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Texensis Publishing, 809p. https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20083116584
- Ahmadi, H., Farhadi, H., Morshedloo, M.R. and Maggi, F., 2023. Modeling and optimizing concentration of exogenous application of γ-aminobutyric acid on NaCl-stressed pineapple mint (*Mentha suaveolens*) using response surface methodology: An investigation into secondary metabolites and physiological parameters. BMC Plant Biology, 23(1): 1-16. https://doi.org/10.1186/s12870-023-04312-w
- Ahmadi, H., Babalar, M., Sarcheshmeh, M.A.A., Morshedloo, M.R. and Shokrpour, M., 2020. Effects of exogenous application of citrulline on prolonged water stress damage in hyssop (*Hyssopus officinalis* L.): Antioxidant activity, biochemical indices, and essential oil profile. Food Chemistry, 333: 127433. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127433
- Ahmadi, H., Fatahi Moghadam, M.R., Zamani, Z., Shorpoor, M., Jahantab, E. and Morshedloo, M., 2024. Characterization and quantification of predominant active substances in different phenological stages of two *Thymus daenensis* chemotypes through LC-MS/MS and GC. Journal of Rangeland, 17(4): 640-664. https://sid.ir/paper/1489163/en
- Armand, N. and Jahantab, E., 2019. Comparing the essential oil composition of *Smyrnium cordifolium* Boiss. in different natural habitats of Boyer Ahmad County. Journal of Rangeland, 13(1): 39-51. http://rangelandsrm.ir/article-1-715-en.html
- Atiyah, M., Hilo, B. and Altaee, N., 2023. Effect of silicon and nano-selenium on the chemical characteristics of the Egyptian Senna plant (*Cassia acutifolia*) under the influence of salt stress. Euphrates Journal of Agricultural Science, 15(3): 1-13. https://ejs-agri.com/index.php/EJAS/article/view/48
- Attia, E.Z., Abd El-Baky, R.M., Desoukey, S.Y., Mohamed, M.A.E.H., Bishr, M.M. and Kamel, M.S., 2018. Chemical composition and antimicrobial activities of essential oils of *Ruta graveolens* plants treated with salicylic acid under drought stress conditions. Future Journal of Pharmaceutical Sciences, 4(2): 254-264 10.1016/j.fjps.2018.09.001
- Behtash, F., Abedini, F., Ahmadi, H., Mosavi, S.B., Aghaee, A., Morshedloo, M.R. and Lorenzo, J.M., 2022. Zinc application mitigates copper toxicity by regulating Cu uptake, activity of antioxidant enzymes, and improving physiological characteristics in summer squash. Antioxidants, 11(9): 1688. https://doi.org/10.3390/antiox11091688
- Bistgani, Z.E., Hashemi, M., DaCosta, M., Craker, L., Maggi, F. and Morshedloo, M.R., 2019. Effect of salinity stress on the physiological characteristics, phenolic compounds and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. and *Thymus daenensis* Celak. Industrial Crops and Products, 135: 311-320. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.055
- British Pharmacopoeia Commission, Great Britain. 2000. Medicines Commission. British Pharmacopoeia. Bernan Press, (PA), 218p. https://books.google.com/books/about/British_Pharmacopoeia_2000.html?id=Nb7LIu2zB2sC
- Chen, W., Yao, X., Cai, K. and Chen, J., 2011. Silicon alleviates drought stress of rice plants by improving plant water status, photosynthesis and mineral nutrient absorption. Biological Trace Element Research, 142: 67-76. https://doi.org/10.1007/s12011-010-8742-x
- Debona, D., Rodrigues, F.A. and Datnoff, L.E., 2017. Silicon's role in abiotic and biotic plant stresses. Annual Review of Phytopathology, 55: 85-107. https://doi.org/0.1146/annurev-phyto-080516-035312
- Dekomah, S.D., Bi, Z., Dormatey, R., Wang, Y., Haider, F.U., Sun, C. and Bai, J., 2022. The role of CDPKs in plant development, nutrient and stress signaling. Frontiers in Genetics, 13: 996203. https://doi.org/10.3389/fgene.2022.996203
- Demirezen, D. and Aksoy, A., 2004. Accumulation of heavy metals in *Typha angustifolia* (L.) and *Potamogeton pectinatus* (L.) living in Sultan Marsh (Kayseri, Turkey). Chemosphere, 56(7): 685-696. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.04.011
- Farhadi, S., Salehi, M., Moieni, A., Safaie, N. and Sabet, M.S., 2020. Modeling of paclitaxel biosynthesis elicitation in *Corylus avellana* cell culture using adaptive neuro-fuzzy inference system-genetic algorithm (ANFIS-GA) and multiple regression methods. PLoS One, 15(8): e0237478. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237478
- Farouk, S., 2022. Silicon-mediated modulations of genes and secondary metabolites in plants: 77-90. In: Etesami, H., Al-Saeedi, A.H. and Anwar Hossain, M. (Eds.). Silicon and Nano-silicon in Environmental Stress Management and Crop Quality Improvement. Academic Press, 378p. https:/doi.org/10.1016/B978-0-323-91225-9.00014-5
- Ghafari, S., Ghorbani, A., Moameri, M., Mostafazadeh, R., Bidar Lord, M. and Kake Mami, A., 2021. Habitat potential modeling of *Thymus kotschyanus* Boiss. & Hohen. in the northern Ardabil Province rangelands. Journal of Rangeland, 15(2): 195-213. http://rangelandsrm.ir/article-1-1032-fa.html

- Ghanbari, F., Bag-Nazari, M. and Azizi, A., 2023. Exogenous application of selenium and nano-selenium alleviate salt stress and improves secondary metabolites in *Lemon verbena* under salinity stress. Scientific Reports, 13(1): 5352. https://doi.org/10.1038/s41598-023-32436-4
- Ghassemi-Golezani, K. and Abdoli, S., 2021. Improving ATPase and PPase activities, nutrient uptake and growth of salt-stressed ajowan plants by salicylic acid and iron-oxide nanoparticles. Plant Cell Reports, 40: 559-573. https:doi.org/10.1007/s00299-020-02652-7
- Gholizadeh, A., Khodadadi, M. and Sharifi-Zagheh, A., 2022. Modeling the final fruit yield of coriander (*Coriandrum sativum* L.) using multiple linear regression and artificial neural network models. Archives of Agronomy and Soil Science, 68(10): 1398-1412. https://doi.org/10.1080/03650340.2021.1894637
- Hawkesford, M.J., Kopriva, S. and De Kok, L.J., 2012. Nutrient use efficiency in plants. Annual Review of Plant Biology, 63: 153-186. https://doi.org/10.1081/CSS-100104098
- Heath, R.L. and Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: II. Role of electron transfer. Archives of Biochemistry and Biophysics, 125(3): 850-857. https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90523-7
- Jahantab, E., Deylamsalehi, M., Karami Borzabadi, R., Motavalizadeh Kakhky, A., Ansari, F. and Shakoori, S., 2017. Comparing quantitative and qualitative characteristics of essential oils obtained from various parts of *Echinophora cinerea* Boiss in the Dena region. Journal of Rangeland, 11(3): 274-282. http://rangelandsrm.ir/article-1-502-en.html
- Kralova, K. and Jampilek, J., 2021. Responses of medicinal and aromatic plants to engineered nanoparticles. Applied Sciences, 11(4): 1813. https://doi.org/10.3390/app11041813
- Kulak, M., Ozkan, A. and Bindak, R., 2019. A bibliometric analysis of the essential oil-bearing plants exposed to water stress: How long way we have come and how much further? Scientia Horticulturae, 246: 418-436. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.11.031
- Lala, S., 2021. Nanoparticles as elicitors and harvesters of economically important secondary metabolites in higher plants: A review. IET Nanobiotechnology, 15(1): 28-57. https://doi.org/10.1049/nbt2.12005
- Mohammadi, H., Ghorbanpour, M. and Brestic, M., 2018. Exogenous putrescine changes redox regulations and essential oil constituents in field-grown *Thymus vulgaris* L. under well-watered and drought stress conditions. Industrial Crops and Products, 122: 119-132. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.064
- Mukarram, M., Petrik, P., Mushtaq, Z., Khan, M.M.A., Gulfishan, M. and Lux, A., 2022. Silicon nanoparticles in higher plants: Uptake, action, stress tolerance, and crosstalk with phytohormones, antioxidants, and other signaling molecules. Environmental Pollution, 310: 119855. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119855
- Niazian, M., Sadat-Noori, S.A. and Abdipour, M., 2018. Modeling the seed yield of ajowan (*Trachyspermum ammi* L.) using artificial neural network and multiple linear regression models. Industrial Crops and Products, 117: 224-234. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.03.013
- Pereira, S., Monteiro, A., Moutinho-Pereira, J. and Dinis, L.T., 2024. Silicon, an emergent strategy to lighten the effects of (a) biotic stresses on crops: A review. Journal of Agronomy and Crop Science, 210(6): e12762. https://doi.org/10.1111/jac.12762
- Sabzi-Nojadeh, M., Niedbała, G., Younessi-Hamzekhanlu, M., Aharizad, S., Esmaeilpour, M., Abdipour, M. and Niazian, M., 2021. Modeling the essential oil and trans-anethole yield of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill. var. *vulgare*) by application of artificial neural network and multiple linear regression methods. Agriculture, 11(12): 1191. https://doi.org/10.3390/agriculture11121191
- Samynathan, R., Venkidasamy, B., Ramya, K., Muthuramalingam, P., Shin, H., Kumari, P.S. and Sivanesan, I., 2023. A recent update on the impact of nano-selenium on plant growth, metabolism, and stress tolerance. Plants, 12(4): 853. https://doi.org/10.3390/plants12040853
- Sandhu, K.S., Lozada, D.N., Zhang, Z., Pumphrey, M.O. and Carter, A.H., 2021. Deep learning for predicting complex traits in spring wheat breeding programs. Frontiers in Plant Science, 11: 613325. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.613325
- Sangwan, N.S., Farooqi, A.H.A., Shabih, F. and Sangwan, R.S., 2001. Regulation of essential oil production in plants. Plant Growth Regulation, 34: 3-21. https://doi.org/10.1023/A:1013386921596
- Selmar, D. and Kleinwächter, M., 2013. Stress enhances the synthesis of secondary plant products: The impact of stress-related over-reduction on the accumulation of natural products. Plant and Cell Physiology, 54(6): 817-826. https://doi.org/10.1093/pcp/pct054
- Selvakesavan, R.K., Kruszka, D., Shakya, P., Mondal, D. and Franklin, G., 2023. Impact of nanomaterials on plant secondary metabolism: 133-170. In: Al-Khayri, J.M., Alnaddaf, L.M. and Jain, S.M., (Eds.). Nanomaterial Interactions with Plant Cellular Mechanisms and Macromolecules and Agricultural Implications. Springer, 507p. https://doi.org/10.1007/978-3-031-20878-2_6
- Wang, X., Xie, H., Wang, P. and Yin, H., 2023. Nanoparticles in plants: Uptake, transport and physiological activity in leaf and root. Materials, 16(8): 309. https://doi.org/10.3390/ma16083097
- White, P.J. and Broadley, M.R., 2003. Calcium in plants. Annals of Botany, 92(4): 487-511. https://doi.org/10.1093/aob/mcg164