

اثرات محرک‌های آلی و دوره‌های آبیاری بر خصوصیات فیزیولوژیک و فیتوشیمیایی گیاه دارویی چویل (*Ferulago angulate* (Schltdl.) Boiss)

مهراب یادگاری

مرکز تحقیقات تغذیه و محصولات ارگانیک، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۱۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۰۱/۲۵)

چکیده

گیاه چویل با نام علمی *Ferulago angulate* (Schltdl.) Boiss متعلق به تیره چتریان، از گیاهان دارویی ارزشمند بومی ایران و از خانواده چتریان است. این پژوهش از بهار (اردیبهشت ماه) ۱۴۰۱ تا پاییز (مهرماه) ۱۴۰۲ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انجام شد. تحقیق حاضر در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار به صورت کرت‌های یک‌بار خردشده در جهت ارزیابی محرک‌های رشدی آلی بر برخی صفات فیزیولوژیک، اسانس و ترکیبات اسانس گیاه دارویی چویل انجام گردید. تیمارهای دوره آبیاری (۳)، ۶ و ۹ روز یکبار) در کرت‌های اصلی و محلول‌پاشی برگی (کیتوزان، اسید سالیسیلیک و فنیل آلانین) در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب، در دستگاه کلونجر و شناسایی ترکیبات با دستگاه GC/MS انجام شد. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، محرک‌های آلی به‌طور معنی‌داری بر صفات فیزیولوژیک و اسانس گیاه چویل تأثیر داشتند. بالاترین محتوای کلروفیل (۱۷/۱-۱۶/۶ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر) و فنل (۱/۶۵-۱/۵۷ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر) در تیمارهای کیتوزان (۰/۲۵ گرم در لیتر) و فنیل آلانین (۱ گرم در لیتر) در دوره آبیاری ۳ و ۶ روز به دست آمدند. بیشترین میزان اسانس (۰/۶۵-۰/۶۱ درصد) در گیاهان تحت تیمار با کیتوزان (۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر) و فنیل آلانین (۱ گرم در لیتر) با دوره آبیاری سه روز یکبار حاصل شد. ترکیبات شیمیایی مهم و تعیین‌کننده کیفیت اسانس این گیاه شامل آلفا-توجن (۱۱/۱-۵/۵ درصد)، آلفا-پینن (۲/۲-۹/۹ درصد) و سیس-اوسیمین (۲۲/۴-۱۲/۲ درصد) بودند. ماده مؤثره آلفا-پینن از مونوترپن‌های حلقوی ترکیب غالب در اسانس تمامی گیاهان بود. در گیاهان تیمارشده با اسید سالیسیلیک، مقادیر ترکیبات بلند زنجیره هیدروکربن‌های حلقوی اسانس از جمله هنیکوزان و نونادکان بیشتر از سایر گیاهان بود. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، استفاده از کیتوزان با غلظت ۰/۲۵ گرم در لیتر می‌تواند نقش مؤثری در بهبود صفات فیزیولوژیک و اسانس چویل تحت شرایط اقلیمی سرد و نیمه‌خشک داشته باشد.

کلمات کلیدی: آبیاری، آلفا-پینن، چویل، فنیل آلانین، کیتوزان، محلول‌پاشی

مقدمه

بومی غرب ایران است که در کشورهای ترکیه، سوریه، لبنان، عراق و ایران پراکنش دارد. جنس *Ferulago* با حدود ۳۵ گونه به‌طور گسترده در جنوب اروپا و نواحی بالکان پراکنده است.

گیاه چویل با نام علمی *Ferulago angulate* (Schltdl.) Boiss متعلق به تیره چتریان (Apiaceae)، یکی از گیاهان با ارزش و

آب منجر به افزایش مقادیر اسانس گیاهان دارویی آویشن دناپی (*Thymus daenensis* L.)، آویشن باغی (*T. vulgaris*) (L. Askary et al., 2018)، ترخون (*Artemisia dracunculus*) (Mumivand et al., 2021)، مریم‌گلی (*Salvia officinalis*)، جعفری (*Petroselinum crispum*) و *Tropaeolum majus* (Kandil et al., 2016)، اسانس و ماده مؤثره تیمول، مالون دی‌آلدئید و فنل همیشه‌بهار مکزیکی (*Tagetes minuta*) (Babaei et al., 2021)، افزایش راندمان مصرف آب، اسیدهای فنلیک، فلاونوئید و کربوهیدرات‌های محلول در آب در *Lolium multiflorum* و *Festuca arundinacea* (Fariaszewska et al., 2020)، کاهش پتانسیل آب برگ، هدایت روزنه‌ای، فتوسنتز خالص، تعرق و افزایش سزکویی‌ترین‌های مریم‌گلی (*Salvia dolomitica* Codd) (Caser et al., 2019) گردیده است. این تنش منجر به افزایش مقادیر آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز دیسموتاز و پرولین گیاه سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) (Hayati et al., 2021)، آنزیم آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز گیاه بادرشوبیه (*Dracocephalum moldavica*) (Ghanbarzadeh et al., 2019) شده است. گیاهان تحت تنش خشکی متابولیت‌هایی تولید می‌نمایند که از آنها در مقابل رادیکال‌های آزاد محافظت نموده و از کاهش فتوسنتز در این گیاهان جلوگیری می‌نمایند (Albergaria et al., 2020). در تنش خشکی اسیدهای آمینه، قندها و متابولیسم تحت تأثیر قرار می‌گیرند. از آنجا که تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان به‌وسیله عوامل محیطی تغییر می‌یابد و تنش رطوبتی نیز عامل مؤثری در کاهش رشد و همچنین ساخت ترکیبات طبیعی گیاهان دارویی است (Zandalinas et al., 2017)، لذا ارائه روش‌هایی که گیاه بتواند ماده مؤثره بیشتر تولید نماید، ضروری به‌نظر می‌رسد و باید به‌طور کامل مورد ارزیابی قرار گیرد. یکی از روش‌هایی که به‌منظور افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه از جمله ترپنوئیدها به کار می‌رود، استفاده از محرک‌های زیستی و غیرزیستی است (Esmailzadeh bahabadi and Sharifi, 2013; Ghasemi Pirbalouti et al.,

تعداد هفت گونه از آنها در ایران رویش دارند. اغلب گونه‌های آن از گیاهان با ارزش مرتعی محسوب می‌شوند (Mozaffarian, 2008). چویل به‌طورکلی در تیپ اراضی کوهستانی، به‌ویژه کوه‌های بلند با عرصه سنگلاخی و صخره‌ای در نقاط خاک‌دار مانند شکاف سنگ‌ها دیده می‌شود. از لحاظ شیب، محدوده رویشی دارای شیبی بین ۴۰ تا ۴۵ درصد و بالاتر است (Jahantab et al., 2011). گیاه چویل در فصل بهار رویش خود را آغاز می‌کند. در زمینه شناسایی ترکیبات مؤثره اسانس گیاه چویل پژوهش‌های مختلفی صورت گرفته است. در تحقیقی گزارش شد که ۷۷/۱ درصد اسانس حاصل از این گیاه مونوترپن و ۱۲/۶ درصد سزکویی‌ترین هستند. ترکیبات اصلی اسانس، آلفا-پینن (۱۷/۳ درصد)، بورنیل استات (۱۴/۵ درصد) و سیس-اوسیمن (۱۴/۴ درصد) (Rustaiyan and Sedaghat, 2002)؛ آلفا-پینن (۲۵/۸۲ درصد)، بتا-اوسیمن (۲۳/۴۸ درصد)، بورنیل استات (۹/۹۴ درصد)، جرماکرن-دی (۴/۰۱ درصد)، میرسن (۳/۰۶ درصد)، گاما-ترپینن (۳ درصد)، لیمونن (۲/۲۷ درصد) و پی-سایمن (۱/۹۹ درصد) (Shahbazi, 2016)؛ آلفاپینن (۲۰/۸۸ درصد)، بتا اوسیمن (۶/۸ درصد)، سیس اوسیمن (۲۳/۶ درصد)، آلفاتوجن (۱۰/۱۴ درصد)، آلفا فلاندرن (۳/۴۹ درصد)، نونادکان (۵/۰۱ درصد) و بتا فلاندرن (۷/۵۷ درصد) (Safari et al., 2018) و در پژوهشی دیگر، گاما-ترپینولن (۱۱/۹۷ درصد)، آلفا-پینن (۱۰ درصد)، ساینن (۶/۸۹ درصد)، لینالول (۵/۵۶ درصد) و سیس-اوسیمن (۴/۴۱ درصد) از میان ۵۱ ترکیب اسانس، بیان شده اند (Razavi et al., 2015).

رشد و نمو گیاه و تغییرات کمی و کیفی مواد مؤثره گیاهان دارویی از طریق فرآیندهای ژنتیکی صورت می‌گیرد و عوامل محیطی، نقش عمده‌ای را در این میان بازی می‌کنند، به طوری که سبب بروز تغییراتی اساسی در رشد گیاهان دارویی و همچنین کمیت و کیفیت مواد مؤثره آنها نظیر آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، اسانس و امثال آن می‌گردد (Yadegari, 2017). با توجه به قرارگرفتن ایران در منطقه خشک و نیمه‌خشک، تنش آب یکی از مسائل محدودکننده رشد و نمو گیاهان است. تنش

(Falcon-Rodriguez et al., 2009)، لیگنان و فنیل پروپانویید کتان سفید (*Linum album*) (Esmailzadeh bahabadi and Sharifi et al., 2013)، عملکرد اسانس گیاهان دارویی ریحان (*Melissa officinalis* L.) و بادرنجبویه (*Ocimum basilicum*) (Hawrylak-Nowak et al., 2021)، مرزه (*Satureja hortensis* L.) (Alizadeh et al., 2020)، مرزنگوش (*Origanum vulgare*) (Heng et al., 2012)، نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) (Ahmad et al., 2017)، آویشن دناپی (*Thymus daenensis*) (Emami-Bistgani et al., 2017) و صفات مورفولوژیک گونه‌ای از گیاه مرزنگوش (*Greek oregano*) (Heng et al., 2012) شده است.

از دیگر محرک‌های آلی اسید سالیسیلیک است که کاربرد آن منجر به افزایش مقدار اسانس و تحمل به خشکی گیاهان دارویی آویشن دناپی (*Thymus daenensis* Celak) (Abdi et al., 2022)، مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) (Yadegari, 2018)، بومادران (*Achillea millefolium* L.) (Gorni et al., 2020)، بادرنجبویه دناپی (*Dracocephalum kotschy* Boiss) (Shaykh-Samani et al., 2023)، گونه‌های آویشن (*Thymus kotschyanus* و *Thymus vulgaris*) (Mohammadi et al., 2019) و گیاه (*Thymbra spicata* L.) (Momeni et al., 2020) و افزایش مقادیر فنیل پروپانوییدی کنگرفرنگی (*Cynara scolymus*) (Zamani et al., 2016) شده است. محلول‌پاشی توأم اسید سالیسیلیک، کیتوزان و فنیل آلانین، منجر به افزایش اسانس و ترکیبات اسانس گیاه دارویی مرزه (*Satureja hortensis* L.) (Poorghadir et al., 2020) و گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.) (Rajabzadeh et al., 2023) گردیده است.

از آنجایی که هدف از تولید تجاری گیاهان دارویی، به‌دست آوردن مقدار بیشتر از اسانس و مواد مؤثره در واحد سطح است، لذا آگاهی از عوامل مدیریتی مناسب جهت به‌دست آوردن پتانسیل عملکرد گیاه دارویی چویل بسیار حائز اهمیت است. لذا معرفی مناسب‌ترین غلظت از محرک‌های رشدی تحت شرایط کم آبیاری در جهت بالابردن عملکرد و

کاربرد محرک‌های رشدی به‌میزان محدود و در غلظت‌های پایین، ساخت ترکیبات خاصی را در سلول زنده، تحریک یا بهبود بخشیده و زمان دستیابی به مقادیر بالای متابولیت‌های ثانویه را کاهش می‌دهد. محرک‌های رشدی، ترکیباتی با منشأ زیستی یا غیرزیستی هستند که از طریق القای سیستم دفاعی، باعث بیوسنتز و انباشت متابولیت‌های ثانویه و همچنین تغییرات فیزیولوژیک و مورفولوژیک در گیاهان می‌شوند (Alavi Samany et al., 2022; Fooladi Vanda et al., 2019). افزایش راندمان مصرف آب، کاهش تنفس نوری، افزایش سطح و دوام برگ و در نهایت افزایش عملکرد از اثرات این محرک‌های رشدی هستند (Kheiri et al., 2020; Yadegari, 2018). تیمار گیاهان با محرک‌ها، مشابه حمله عوامل بیماری‌زا، موجب بروز مجموعه‌ای از عکس‌العمل‌های دفاعی، مانند تجمع مجموعه‌ای از متابولیت‌های ثانویه‌ی دفاعی در گیاه می‌شود. محرک‌های رشد به‌طور طبیعی به مقدار اندک وجود دارند، اما برای رشد و نمو گیاه ضروری بوده و رشد و نمو گیاهان در معرض آن‌ها تغییر می‌کند (Thakur and Kumar, 2020). از محرک‌های رشدی دارای پایه آلی می‌توان اسید سالیسیلیک، فنیل آلانین و کیتوزان را نام برد. کیتوزان از ترکیبات اصلی دیواره سلولی بسیاری از گونه‌های قارچی، میگو و خرچنگ است که برای بهبودبخشیدن ساختار متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی تأیید شده است (Dzung, 2011; Falcon-Rodriguez et al., 2009). از صفات کیتوزان می‌توان به دارابودن خاصیت ضدویروسی، ضدقارچی، ضدباکتریایی، غیرسمی، غیرآلرژیک، تشکیل ترکیبات پیچیده با یون‌های فلزی و هیدروکربن آروماتیک، دارای خاصیت ابرجاذب بودن، قابلیت فوق‌العاده برای تبدیل به مواد و مشتقات متعدد در شرایط مختلف، انحلال در محلول‌های اسیدهای آلی ضعیف مانند اسید لاکتیک و اسید استیک و نیز افزایش عملکرد اشاره نمود (Dzung, 2011). در این راستا کیتوزان باعث افزایش مقادیر آرتمیزین درمنه (*Artemisia annua*) (Caiyan et al., 2011)، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و فنیل‌آلانین آمونیولیز توتون (*Nicotiana tabacum*)

میزان ماده مؤثره در گیاه دارویی چویل امری ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها

طرح تحقیق: پژوهش حاضر در مزرعه تحقیقاتی پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد با مشخصات عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۲۰ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۱ دقیقه شرقی و ارتفاع ۲۰۶۱ متر از سطح دریا، در سال‌های زراعی ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ انجام شد. در دوسال زراعی تیمارهای پایه آلی شامل کیتوزان (۰/۲۵ و ۰/۵ گرم در لیتر-K1 و K2)، اسید سالیسیلیک (۱/۵ و ۳ میلی‌مولار-SA1 و SA2) و فنیل آلانین (۱ و ۲ گرم در لیتر-Ph1 و Ph2) و تیمار شاهد (بدون هر نوع محلول‌پاشی) برای این پژوهش انتخاب شد. برای تهیه محلول فنیل آلانین، با حل کردن به ترتیب؛ یک گرم و دو گرم در یک لیتر آب، محلول‌های مورد نظر به دست آمد. با توجه به جرم مولکولی اسید سالیسیلیک (۱۳۸/۱۲) گرم بر مول، برای تهیه اسید سالیسیلیک ۱/۵ میلی‌مولار، ۲۰۷/۱۸ گرم و برای تهیه محلول اسید سالیسیلیک ۳ میلی‌مولار، ۴۱۴/۳۶ گرم، از آن، ابتدا در الکل اتانول ۷۰ درصد حل نموده و سپس با آب، به حجم ۱ لیتر رسانده شد. برای تهیه کیتوزان ۰/۲۵ و ۰/۵۰ گرم در لیتر، به ترتیب ۰/۲۵ و ۰/۵۰ گرم کیتوزان در یک لیتر آب حل شد. پژوهش به صورت کرت‌های یکبار خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه سطح آبیاری (۳، ۶ و ۹ روز یکبار) منطبق بر میزان تبخیر از تشت تبخیر کلاس A به ترتیب در سه سطح ظرفیت مزرعه، ۵۰ درصد و ۷۵ درصد تخلیه رطوبتی (Yadegari, 2022, 2017) به عنوان کرت‌های اصلی و تیمارهای محلول‌پاشی برگ‌گی در سه مرحله (قبل از گلدهی، شروع گلدهی و ۵۰ درصد گلدهی) در کرت‌های فرعی؛ انجام شد. دبی آبیاری (به صورت بارانی) در هر کرت اصلی، ثابت و مدت زمان انجام، ۶۰ دقیقه در نظر گرفته شد. خصوصیات اقلیمی و خاکشناسی منطقه در جدول ۱ و خصوصیات آب آبیاری در جدول ۲ آمده است.

کاشت گیاه چویل: زمین مورد نظر در پاییز شخم زده شده

و سپس در بهار پس از مساعدشدن شرایط آب و هوایی کرت اصلی در هر تکرار (بلوک) به عرض حدود ۷ متر و طول دو متر (۷×۲) با فاصله ۱/۵ متر از همدیگر آماده و سپس هر کدام از کرت‌ها به سه قسمت مساوی به عرض حدود ۲ متر با فاصله ۰/۵ متر از هم دیگر مجزا و آماده به کشت شدند. این کار در هر تکرار (بلوک) انجام شده و فاصله هر بلوک از هم ۲ متر و جهت انجام کار عمود بر شیب زمین بود. نشاءهای ۴-۶ برگگی چویل تهیه شده از شرکت پاکان بذرافشان، در سال اول در تاریخ ۱۵ اردیبهشت ماه و در سال دوم در ۲۰ اردیبهشت ماه در کرت‌های آزمایشی کاشت شدند.

برداشت نمونه‌ها: نمونه‌های گیاهی، در زمان گلدهی کامل به‌طور جداگانه از هر کدام از تیمارهای تحت آزمایش در سال اول در ۲۸ مرداد ماه و در سال دوم در ۳۱ مرداد ماه جمع آوری گردید. همچنین از برگ گیاهان تیمار شده جهت اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک، نمونه‌برداری انجام گرفت و نمونه‌های برداشت شده در مزرعه بلافاصله در فویل آلومینیومی پیچیده و بعد از برجسب زدن نام تیمار در تانک حاوی نیتروژن مایع قرار داده و به آزمایشگاه انتقال داده شد.

اندازه‌گیری صفات: برای محتوای نسبی آب برگ، ۰/۵ گرم از جوان‌ترین برگ توسعه یافته هر گیاه (FW) جدا کرده و سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر شناور شدند. پس از گذشت این مدت، وزن اشباع برگ با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ برآورد شد (TW). سپس برگ‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آن با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و بعد از گذشت این مدت وزن خشک برگ‌ها با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری (DW) و در نهایت محتوای آب نسبی با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید (Arnon, 1975):

$$R.W.C (\%) = \frac{(FW-DW)}{(TW-DW)}$$

جهت اندازه‌گیری غلظت کلروفیل کل، ۰/۱۲۵ گرم بافت برگ تازه با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ و ۰/۱ گرم کربنات کلسیم (برای خنثی نمودن حالت اسیدی مایع درون سلولی و ممانعت از تخریب کلروفیل) در یک هاون چینی ساییده شد تا به صورت توده یکنواختی درآمد. این عمل در نور کم و محیط خنک انجام شد. پس از سانتریفیوژ کردن عصاره حاصل،

جدول ۱- مشخصات خاکشناسی و اقلیمی محل پژوهش

خصوصیات	سال ۱۴۰۱	سال ۱۴۰۲
فسفر (میلی‌گرم در کیلوگرم)	۸۳/۸	۸۲/۱
پتاسیم (میلی‌گرم در کیلوگرم)	۲۱۲	۲۰۹/۲
نیتروژن (میلی‌گرم در کیلوگرم)	۰/۰۸	۰/۰۹
هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر)	۰/۴۲	۰/۴۱
کربن آلی (%)	۰/۸۵	۰/۷۷
اسیدیته	۷/۳	۷/۴
متوسط بارندگی (میلی‌متر)	۳۰۹/۳	۳۱۱/۱
متوسط درجه حرارت (درجه سانتی‌گراد)	۱۱/۲	۱۱/۶
متوسط حداکثر درجه حرارت (درجه سانتی‌گراد)	۲۱/۸	۲۲/۶
متوسط حداقل درجه حرارت (درجه سانتی‌گراد)	-۱۲/۱	-۱۲/۴

جدول ۲- مشخصات آب مورد استفاده جهت آبیاری

پH	هدایت الکتریکی	کل املاح محلول	سدیم	پتاسیم	کلسیم	منیزیم	کلر	بی‌کربنات
	µSiemens/cm	میلی‌گرم در لیتر	میلی‌اکی‌والان در لیتر	میلی‌اکی‌والان در لیتر	میلی‌اکی‌والان در لیتر	میلی‌اکی‌والان در لیتر	میلی‌اکی‌والان در لیتر	میلی‌اکی‌والان در لیتر
۸/۱۱	۳۸۷	۲۴۷/۹۳	۰/۷۶۳	۰/۱۶	۲/۲۸	۱/۴۳	۰/۹۱	۳/۴۲

ادامه جدول ۲-

کربنات	سولفات	کادمیوم	آهن	مس	منگنز	روی	نیترات
۰/۲۱	۰/۰۰۱	۰	۰/۰۰۹	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۲۳/۶۷

۰/۲ میلی‌لیتر معرف فولین-سیوکالتو (رقیق‌شده با نسبت ۱ به ۱۵) اضافه و به‌خوبی مخلوط شد. پس از گذشت ۵ دقیقه، ۰/۲ میلی‌لیتر محلول بی‌کربنات سدیم ۷٪ و ۰/۸ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر به محلول اضافه شد و ۹۰ دقیقه در دمای اتاق و شرایط تاریکی نگهداری شد. سپس جذب نمونه‌ها در ۷۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر ساخت کشور آمریکا مدل Perkin elmer خوانده و محتوای ترکیبات فنلی کل عصاره‌ها بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک به کیلوگرم وزن تر اندام هوایی محاسبه شد (Marinova et al., 2005).

جهت تعیین غلظت اسیدآمینه پرولین، ابتدا ۰/۳ گرم از بافت برگ تازه با ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳٪ (وزن

محلول رویی برداشته شد و جذب نور توسط آن در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر (حداکثر جذب نور کلروفیل a) و ۶۴۵ نانومتر (حداکثر جذب نور کلروفیل b) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل CARY-100 ساخت واریان استرالیا) و با استفاده از استون ۸۰٪ به‌عنوان محلول شاهد خوانده گردید (Dere et al., 1998):

$$\text{Chl total (mg.Kg Fw}^{-1}\text{)} = (20.21 \times A_{645}) + (8.02 \times A_{663})$$

محتوای ترکیبات فنل کل با استفاده از معرف فولین-سیوکالتو اندازه‌گیری شد. ابتدا به ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره‌های مختلف یا محلول استاندارد گالیک اسید (صفر، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، ۱/۸ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر،

و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع (Adams, 2007) و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری (Wiley and NIST) صورت گرفت.

پس از انجام آزمون همگنی واریانس‌های خطای آزمایشی (بارتلت) و مشخص شدن عدم معنی‌داری در هر دو سال، تجزیه مرکب اطلاعات برآمده از پژوهش به‌واسطه نرم‌افزار آماری SAS ver.9 انجام شد. مقایسات میانگین اسانس و ترکیبات اسانس از روش حداقل اختلاف معنی‌دار (L.S.D) در سطح ۱٪ انجام شد و برای اطمینان از مقادیر خطای استاندارد (SE)، به‌طور جداگانه نیز با نرم‌افزار Excel ver. 2013، برآورد مجدد انجام شد.

نتایج و بحث

صفات فیزیولوژیک: در پژوهش حاضر تیمارهای مورد استفاده بر صفات فیزیولوژیک اندازه‌گیری شده، اثرات معنی‌داری داشتند (جدول ۳). بیشترین مقادیر کل کلروفیل (۱۶/۶-۱۷/۱) میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر)، کلروفیل a (۱۱/۹-۱۱/۱) میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر)، کلروفیل b (۵/۵-۵/۲۲) میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر)، کل فنل (۱/۶۵-۱/۵۷) میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر)، محتوای نسبی آب برگ (۶۷/۷-۶۵/۵ درصد)، در دوره آبیاری ۳ و ۶ روز یکبار و در گیاهان تحت تیمار با ۰/۲۵ گرم در لیتر کیتوزان (K_1I_1 , K_1I_2) و ۱ گرم در لیتر فنیل آلانین (Ph_1I_1 , Ph_1I_2) بدست آمد هر چند که تیمار ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک (SA_1) نیز در برخی از صفات مورد برآورد در گروه مشابهی قرار گرفت. کمترین مقادیر نیز اغلب در دوره آبیاری ۹ روز یکبار (I_3) و در گیاهان شاهد و در برخی از صفات با تیمار اسید سالیسیلیک ۳ میلی‌مولار بدست آمد. بیشترین غلظت پرولین (۲۴/۲-۲۴/۵۵) میکروگرم در گرم وزن تر) در تیمارهای دوره آبیاری ۹ روز و در گیاهان شاهد و یا در محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک ۳ مولار بدست آمد. کمترین غلظت پرولین (۱۶/۱-۱۵/۹۱) میکروگرم در گرم وزن تر) نیز در تیمارهای تحت دوره آبیاری ۳ روز و در

به حجم) در هاون چینی ساییده شد. سپس نمونه ساییده‌شده درون لوله آزمایش ریخته و به مدت ۲ دقیقه به شدت تکان داده شد. بدین ترتیب، دو فاز جامد و مایع نمونه‌ها به دقت تفکیک گردید. فاز مایع با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و بخش بالایی آن جدا شد. پس از خنک کردن نمونه‌ها در آب یخ، ۴ میلی‌لیتر تولوئن به هر نمونه اضافه و کاملاً تکان داده شد تا پرولین وارد فاز تولوئن گردد. سپس، نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه به حال سکون رها شدند و در نهایت میزان جذب نور فاز بالایی نمونه‌ها به کمک دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل CARY-100 ساخت واریان استرالیا) در طول موج ۵۱۵ نانومتر و با استفاده از تولوئن به‌عنوان محلول شاهد تعیین شد. در رابطه ذیل، عدد ۱۱۵/۵ وزن مولکولی پرولین است (Bates et al., 1973):

پرولین (میکروگرم در گرم وزن تر) = $۱۱۵/۵$ (میکروگرم در میکرومول) / حجم عصاره (میلی‌لیتر) × پرولین عصاره (میکروگرم در میلی‌لیتر) × وزن نمونه (گرم) / ۵

برای اسانس‌گیری، پس از برداشت نمونه‌های گیاهی، به‌منظور محافظت نوری نمونه‌ها و حداقل آسیب به کیفیت اسانس، اندام‌های هوایی در پاکت‌های کاغذی جمع‌آوری شدند. به روش هوای آزاد در سایه با دمای معمولی ۲۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد، کاملاً خشک شدند. بعد از خشک‌شدن ساختارهای هوایی، اقدام به خردکردن اندام‌های گیاهی گردید. سپس مقدار ۳۰۰ گرم از هر نمونه با ترازوی دیجیتالی مدل Sartorius ساخت کشور آلمان با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شد. اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب، در دستگاه کلونجر (بروسیلیکات آلمانی ساخت شیشه آلات ایران) و براساس درصد وزنی، صورت گرفت که برای هر نمونه مدت تقریبی دو ساعت به طول انجامید. اسانس گیاهان مورد نظر پس از آماده‌سازی، جهت شناسایی ترکیبات به دستگاه GC/MS (مدل 7890A/5975C ساخت اجیلنت آمریکا) مجهز به ستون موئینه HP-5MS به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میکرون با محدوده دمایی آون ستون از ۶۰ تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد تزریق گردید. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازدارد آن‌ها

جدول ۳- تجزیه واریانس مرکب مربعات صفات فیزیولوژیک گیاهان چویل در سال‌های اجرای تحقیق

منابع تغییرات	درجه آزادی	محتوای نسبی آب	کل فنل	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	پرولین
سال (Y)	۱	۲۱/۴**	۰/۱۸ ^{ns}	۱۴/۱**	۰/۸۸ ^{ns}	۱۱/۱**	۱۵/۶**
سال در تکرار	۴	۰/۶۸	۱/۴۵	۰/۲۳	۱/۵۵	۰/۶۶	۰/۷۶
آبیاری (A)	۲	۲۱/۹**	۲۶/۷۷**	۱۰/۰۲**	۱۶/۶**	۱۰/۹**	۲۱/۲**
A×Y	۲	۲۱/۶۷	۱۴/۱۲**	۱۹/۴۳**	۷/۸۸**	۴/۹۹**	۲۳/۱**
خطای a	۸	۰/۲۱	۱/۳۳	۰/۴۴	۰/۲۳	۰/۲۴	۱/۲
محرک (B)	۶	۲۳/۱**	۱۶/۳۴**	۱۶/۰۹**	۱۴/۱۱**	۵/۶۷**	۱۹/۱**
A×B	۱۲	۲۵/۳**	۱۴/۶۷**	۲۲/۶۷**	۱۰/۸**	۲/۱**	۱۱/۸۸**
B×Y	۶	۱۱/۸۹**	۱۱/۴۵**	۱۷/۸۸**	۶/۷۸**	۲/۶۶**	۱۴/۱**
A×B×Y	۱۲	۰/۱۱ ^{ns}	۱/۰۷ ^{ns}	۱/۱۴ ^{ns}	۰/۶۷ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۵۵ ^{ns}
خطای b	۷۲	۰/۱۴	۰/۵۵	۱/۲۳	۰/۶۵	۰/۱۱	۰/۴۴
ضریب تغییرات		۵/۱۲	۶/۴۵	۶/۸۹	۷/۱۳	۶/۶۷	۵/۶۶

*، ** و ns به ترتیب معنی دار در سطح $\alpha=0/05$ ، $\alpha=0/01$ و عدم معنی دار

جدول ۴- مقایسات میانگین صفات فیزیولوژیک گیاه دارویی چویل تحت تأثیر محرک‌های رشد و دوره آبیاری (۱۴۰۱)

Ph1I3	Ph1I2	Ph1I1	K2I3	K2I2	K2I1	K1I3	K1I2	K1I1	CI3	CI2	CI1	صفت*
۵۸/۲	۶۲/۳	۶۴/۶	۵۹/۱	۶۰/۱	۶۳/۱	۶۰/۵	۶۴/۴	۶۵/۵	۵۲/۱	۵۲/۲	۵۵/۵	محتوای نسبی آب (%)
۱/۴۴	۱/۵۷	۱/۵۵	۱/۴۳	۱/۳۶	۱/۲۱	۱/۲۵	۱/۳۲	۱/۴۴	۱/۴۵	۱/۲۲	۱/۱۴	فنل (mg.KgFw ⁻¹)
۱۳/۳	۱۴/۴	۱۶/۱	۱۵/۹	۱۶/۱	۱۶/۴	۱۵/۹	۱۶/۴	۱۶/۶	۱۱/۱	۱۲/۸	۱۳/۳	Chl (mg.KgFw ⁻¹)
۸/۹	۹/۷	۱۱/۱	۱۰/۵	۱۰/۸	۱۰/۹	۱۰/۷	۱۱/۱	۱۱/۱	۷/۷	۷/۷	۸/۱	Chl a (mg.KgFw ⁻¹)
۴/۴	۴/۷	۵/۱	۵/۴	۵/۳	۵/۵	۵/۲	۵/۳	۵/۵	۳/۴	۵/۱	۵/۲	Chl b (mg.KgFw ⁻¹)
۲۰/۵	۱۸/۱	۱۶/۲	۲۱/۱	۱۸/۹	۱۷/۱	۱۹/۹	۱۷/۸	۱۶/۱	۲۴/۲	۲۲/۹	۲۰/۸	پرولین (µg.KgFw ⁻¹)

ادامه جدول ۴-

SA2I3	SA2I2	SA2I1	SA1I3	SA1I2	SA1I1	Ph2I3	Ph2I2	Ph2I1	صفت*
۵۳/۳	۵۵/۵	۵۸/۷	۵۴/۵	۵۶/۷	۵۸/۵	۵۹/۲	۶۳/۳	۶۴/۴	محتوای نسبی آب (%)
۱/۲۵	۱/۳۲	۱/۳۷	۱/۲۷	۱/۲۹	۱/۴۴	۱/۱۱	۱/۳۵	۱/۳۱	فنل (mg.KgFw ⁻¹)
۱۲/۱	۱۲/۵	۱۲/۸	۱۲/۳	۱۲/۷	۱۳/۱	۱۴/۴	۱۴/۸	۱۵/۴	Chl (mg.KgFw ⁻¹)
۸/۶	۸/۷	۸/۱	۸/۵	۸/۸	۹/۶	۹/۷	۱۰/۱	۱۰/۳	Chl a (mg.KgFw ⁻¹)
۳/۵	۳/۸	۴/۷	۳/۸	۳/۹	۳/۵	۴/۷	۴/۷	۵/۱	Chl b (mg.KgFw ⁻¹)
۲۳/۹	۲۲/۸	۲۰/۱	۲۱/۶	۲۰/۸	۱۹/۱	۲۱/۹	۱۹/۸	۱۸/۱	پرولین (µg.KgFw ⁻¹)

*C: شاهد، K1: کیتوزان ۰/۲۵ گرم در لیتر، K2: کیتوزان ۰/۵ گرم در لیتر، Ph1: فنیل آلانین ۱ گرم در لیتر، Ph2: فنیل آلانین ۲ گرم در لیتر، SA1: اسید سالیسیلیک ۱/۵ میلی‌مولار، SA2: اسید سالیسیلیک ۳ میلی‌مولار، I1: دوره آبیاری ۳ روز یکبار، I2: دوره آبیاری ۶ روز یکبار، I3: دوره آبیاری ۹ روز یکبار.

جدول ۵- مقایسات میانگین صفات فیزیولوژیک گیاه دارویی چویل تحت تأثیر محرک‌های رشد و دوره آبیاری (۱۴۰۲)

Ph1I3	Ph1I2	Ph1I1	K2I3	K2I2	K2I1	K1I3	K1I2	K1I1	CI3	CI2	CI1	صفت*
۶۱/۲	۶۴/۳	۶۷/۷	۵۹/۵	۶۲/۱	۶۳/۶	۶۲/۵	۶۴/۸	۶۵/۱	۵۳/۲	۵۵/۲	۵۶/۵	محتوای نسبی آب (٪)
۱/۳۹	۱/۵۲	۱/۶۱	۱/۴۸	۱/۳۶	۱/۲۲	۰/۹۸	۱/۱۱	۱/۶۵	۱/۰۱	۱/۳۴	۱/۴۲	فنل (mg.KgFw ⁻¹)
۱۵/۵	۱۷/۱	۱۶/۹۴	۱۵/۹۶	۱۶/۳	۱۶/۵۵	۱۶/۱	۱۶/۵۱	۱۶/۹۸	۱۱/۸	۱۲/۱	۱۳/۵	(mg.KgFw ⁻¹)Chl
۱۰/۴۹	۱۱/۹	۱۱/۸۴	۱۱/۴۵	۱۱/۸	۱۱/۴۵	۱۰/۹۹	۱۱/۵	۱۱/۸	۷/۷	۷/۸	۹/۴	(mg.KgFw ⁻¹) Chl a
۵/۰۲	۵/۲۲	۵/۱۵	۴/۵۲	۴/۵	۵/۱۱	۵/۰۵	۵/۰۲	۵/۱۹	۴/۱۱	۴/۳۱	۴/۳	(mg.KgFw ⁻¹) Chl b
۲۳/۵	۲۱/۱	۱۵/۹۱	۲۲/۳۱	۱۹/۶۶	۱۷/۲۲	۲۰/۱۵	۱۷/۵۵	۱۶/۰۹	۲۴/۵۵	۲۳/۴۲	۲۱/۳	پرولین (µg.KgFw ⁻¹)

ادامه جدول ۵-

SA2I3	SA2I2	SA2I1	SA1I3	SA1I2	SA1I1	Ph2I3	Ph2I2	Ph2I1	صفت*
۵۵/۸	۵۷/۵	۵۹/۱	۵۴/۹	۵۶/۵	۵۸/۱	۶۱/۲	۶۳/۹	۶۴/۸	محتوای نسبی آب (٪)
۱/۰۳	۱/۲۲	۱/۲۶	۱/۰۲	۱/۰۷	۱/۲۱	۱/۱۴	۱/۲۴	۱/۲۸	فنل (mg.KgFw ⁻¹)
۱۱/۸۱	۱۲/۵	۱۲/۸	۱۲/۳	۱۲/۷	۱۳/۱	۱۴/۴	۱۴/۸	۱۵/۴	(mg.KgFw ⁻¹)Chl
۷/۹	۸/۵۱	۸/۷۹	۹/۴۹	۸/۶۹	۹/۱۱	۹/۷	۱۰/۵	۱۰/۴۱	(mg.KgFw ⁻¹) Chl a
۳/۹۲	۴/۰۲	۴/۰۵	۴/۸۲	۴/۰۲	۴/۰۲	۴/۷	۴/۳	۵/۰۲	(mg.KgFw ⁻¹) Chl b
۲۴/۰۸	۲۲/۵۵	۲۱/۳۱	۲۲/۵۵	۲۱/۷۷	۱۸/۵۵	۲۲/۹۸	۲۱/۹۲	۱۸/۵۵	پرولین (µg.KgFw ⁻¹)

*C: شاهد، K1: کیتوزان ۰/۲۵ گرم در لیتر، K2: کیتوزان ۰/۵ گرم در لیتر، Ph1: فنیل آلانین ۱ گرم در لیتر، Ph2: فنیل آلانین ۲ گرم در لیتر، SA1: اسید سالیسیلیک ۱/۵ میلی‌مولار، SA1: اسید سالیسیلیک ۳ میلی‌مولار، I1: دوره آبیاری ۳ روز یکبار، I2: دوره آبیاری ۶ روز یکبار، I3: دوره آبیاری ۹ روز یکبار.

صورت شدید بودن خشکی، موجب توقف رشد می‌شود (Fariaszewska et al., 2020; Kulak, 2020). با توجه به تحمل نسبی این گیاه به خشکی، بیشترین مقادیر صفات فیزیولوژیک و نیز کمیت و کیفیت اسانس در دوره آبی ۶ روز یکبار به دست آمد و پس از آن کاهش نسبی در مقادیر، مشاهده گردید. کاهش کلروفیل در شرایط خشکی تا حدودی به علت افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن است که باعث پراکسیداسیون این رنگیزه‌ها و سرانجام تجزیه شیمیایی آنها می‌شود. در شرایط کمبود آب به علت صدمات متابولیکی و تغییر سطح متابولیت‌های مربوطه، تثبیت دی‌اکسید کربن کاهش می‌یابد. از طرف دیگر کمبود آب عموماً باعث تخریب و شکسته شدن کلروپلاست‌ها و کاهش میزان کلروفیل شده و مقدار فعالیت آنزیم‌ها را طی فرآیند فتوسنتز کاهش می‌دهد

محلول‌پاشی کیتوزان ۰/۲۵ گرم در لیتر (K₁I₁) و نیز فنیل آلانین ۱ گرم در لیتر (Ph₁I₁) ایجاد شد (جدول ۴ و ۵). به‌طور کلی، اولین واکنش گیاهان در برابر کمبود آب کاهش رشد رویشی آن‌هاست. رشد سلول مهمترین فرآیند است که با تنش آبی تحت تأثیر قرار می‌گیرد. کاهش رشد سلول منجر به کاهش ارتفاع گیاه می‌شود. نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب صفات نشان داد که تنش کم‌آبی بر تمام صفات مورد ارزیابی اثر معنی‌داری داشته است. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با کاهش رطوبت یا به عبارتی افزایش فواصل آبیاری، صفات فیزیولوژیک و فیتوشیمیایی چویل کاهش یافت که نشان‌دهنده کاهش تقسیم و رشد سلولی گیاه در طی کمبود آب است. هر کاهشی در فشار تورژسانس که ناشی از عدم تعادل در وضعیت آب گیاه باشد، منجر به کاهش رشد و حتی در

جمله آنزیم‌ها هستند. به همین دلیل آن‌ها می‌توانند باعث ممانعت از فعالیت آنزیم‌هایی مانند ایزوفرم‌های مختلف سیتوکرم P₄₅₀، سیکلواکسیژناز، الکل دهیدروژناز، لیپواکسیژناز و زانتین‌اکسیداز شوند که در طی فعالیت خود مقادیر بالای رادیکال‌های آزاد تولید می‌کنند و از طرفی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهند (Abdi et al., 2022; Abdul-Hafeez and Ibrahim, 2021). محرک‌ها با تحت تأثیر قراردادن خصوصیات فیزیولوژیک، رشد و عملکرد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند. اسید سالیسیلیک با دو مکانیسم افزایش میزان کلروفیل و بهبود فعالیت آنزیم‌های دخیل در فتوسنتز نقش مهمی در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و بهبود رشد زایشی گیاهان تیمار شده دارد (Ali et al., 2021). محرک‌های آلی از جمله کیتوزان منجر به، بهبود سنتز و تجمع کلروفیل می‌شوند و کارایی فتوسیستم‌ها را افزایش می‌دهند و همچنین از طریق افزایش رشد ریشه، جذب عناصر غذایی و میزان سنتز کلروفیل در گیاهان را بهبود می‌بخشند که منجر به افزایش رشد و عملکرد می‌گردند (Abdul-Hafeez and Ibrahim, 2021).

کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی در هنگام کمبود آب همچنین ممکن است به دلیل تغییر در مجموعه‌های لیپید- پروتئین رنگیزه‌ها و کاهش سنتز کمپلکس‌های رنگدانه‌ای و یا تخریب کمپلکس‌های پروتئین- رنگدانه به دام اندازنده نور و یا به دلیل تخریب اکسیداتیو لیپیدها و پروتئین‌های کلروپلاست باشد (Caser et al., 2019; Esch et al., 2019). گزارش‌های دیگر نشان داده که کاهش میزان کلروفیل در اثر تنش خشکی مربوط به افزایش تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن است که موجب پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه این رنگیزه‌ها می‌شود. همان‌طور که اشاره شد، کاهش مقدار کلروفیل در اثر تنش خشکی در سایر گونه‌های گیاهی نیز گزارش شده است (Emami-Bistgani et al., 2017; Fariaszewska et al., 2020). با توجه به وجود عنصر نیتروژن در محرک کیتوزان و نقش ساختاری این عنصر در حلقه‌های تتراپیرولی کلروفیل، چنین افزایشی توجیه‌پذیر است. به نظر می‌رسد مصرف کیتوزان با تأثیر بر ژن‌های سازنده کلروفیل، تولید کلروفیل را

(Xiaolu et al., 2016; Zandalinas et al., 2017). به‌نظر می‌رسد کاربرد محرک کیتوزان از طریق افزایش سطح برگ و فراهم نمودن زمینه مناسب جهت دریافت انرژی و نیز شرکت در ساختار کلروفیل و آنزیم‌های درگیر در متابولیسم کربن فتوسنتزی، موجب افزایش بازده فتوسنتزی می‌شود (Alavi et al., 2020; Alizadeh et al., 2022; Samany et al., 2022). نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که تنش کم‌آبی بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a و b) اثر معنی‌دار داشته است. نتایج به‌دست آمده از آنالیز رنگیزه‌های فتوسنتزی نشان داد که با افزایش شدت کمبود آب به‌طور معنی‌داری از میزان رنگیزه‌های کلروفیل a و b کاسته شد ($P < 0.01$). دلیل دیگر کاهش کلروفیل برگ‌ها، تغییر متابولیسم نیتروژن و استفاده بیشتر از گلوتامات (ماده اولیه سنتز کلروفیل و پرولین) در مسیر تولید پرولین است (Caser et al., 2019). به عبارتی، کاهش مقدار کلروفیل به هنگام تنش کمبود آب می‌تواند به دلیل تحریک آنزیم بیوسنتز پرولین یعنی گلوتامیل کیناز در پتانسیل آبی پایین باشد. با افزایش تبدیل گلوتامات به پرولین در هنگام تنش خشکی، در واقع گلوتامات که پیش‌ساز کلروفیل نیز است، از دسترس خارج شده و سنتز کلروفیل‌ها کاهش می‌یابد. به عبارتی کاهش سنتز کلروفیل می‌تواند به علت کاهش تجمع اسید آمینولولوییک باشد. این اسید پیش‌ساز همه تتراپیرول‌ها و پیش‌ساز پروتوکلروفیلید است که در معرض نور به کلروفیل تبدیل می‌شود و در تنش خشکی کاهش می‌یابد. از طرف دیگر، فعالیت آنزیم گلوتامات کیناز که اولین آنزیم مسیر بیوسنتز کلروفیل است، با تنش خشکی بسیار کاهش می‌یابد (Caser et al., 2019; Esch et al., 2019). محرک‌ها برای گیاه، پیام‌های شیمیایی ارسال می‌کنند که سبب پاسخ‌های فیزیولوژیک، مورفولوژیک و تجمع فیتوالکسین می‌شوند. طی پاسخ به محرک، سیستم دفاعی گیاه فعال شده و در نتیجه بیان ژن‌های دفاعی، متابولیت‌های ثانویه و محتوای اسانس، افزایش می‌یابد (Ali, 2021; Esmaeilzadeh bahabadi and Sharifi, 2013). از سوی دیگر فنلیک اسیدها با داشتن ساختار ویژه دارای پتانسیل بالایی برای برهمکنش با پروتئین‌های مختلف از

گلوتامیک افزایش می‌یابد (Caser et al., 2019; Esch et al., 2019). تجمع پرولین در زمان تنش، به‌علت تغییر در سرعت اکسیداسیون پرولین به گلوتامات یا عدم دخالت آن در سنتز پروتئین و یا مجموعه این عوامل است. از طرف دیگر در گیاهان متحمل به خشکی میزان اکسیداسیون مولکول‌ها کاهش می‌یابد که یکی از پیامدهای آن افزایش پرولین است (Esmaeilzadeh bahabadi and Sharifi, 2013).

گزارش شده است که کاربرد کیتوزان منجر به افزایش پلی‌فنل در گیاه مرزنگوش (*Origanum vulgare ssp. hirtum*) گردید. به نظر می‌رسد افزایش پلی‌فنل‌ها به علت تحریک آنزیم‌های بیوسنتزی از قبیل فنیل آلانین آمونیلایز و کالکون سنتاز پلی‌فنل باشد (Heng et al., 2012). پژوهش دیگری مشخص کرد که کاربرد کیتوزان منجر به افزایش ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه آویشن دناپی شد (Emami Bistgani et al., 2017). از نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر، می‌توان استنباط نمود که محرک‌های به‌کار رفته به‌ویژه کیتوزان، اثرات مضر حاصل از تنش کمبود آب را کاهش داده و سبب بهبود رشد گیاه در شرایط تنش می‌شوند. کیتوزان با بالابردن محتوای تنظیم‌کننده‌های اسمزی (پرولین) و افزایش غلظت برخی از عناصر غذایی، از کاهش شدید محتوای نسبی آب برگ جلوگیری کرده که این امر سبب پایداری در برابر تنش کم آبی شد.

اسانس و ترکیبات اسانس: نتایج نشان داد که اثرگذاری تیمارهای آزمایشی در هر دو سال بر اسانس و ترکیبات غالب اسانس، معنی‌دار بود (جدول ۶). نتایج برآمده از تجزیه فیتوشیمیایی اسانس، وجود ۱۵ ترکیب در اسانس این گیاه را نشان داد. بیشترین اجزای موجود در اسانس شامل آلفا-توجن، آلفا-پینن، بتا-فلاندرن، سیس-اوسیمن، ۴-توژانول، بتا-اوسیمن، بورنیل استات و نونادکان بود. در بین اجزای اسانس، مواد مؤثره آلفا-پینن و سیس-اوسیمن از دسته مونوترپن‌های حلقوی بیشترین میزان را در تمامی گیاهان تحت تیمار در هر دو سال تحقیق، به خود اختصاص دادند (جدول ۷ و ۸). مشخص گردید که اثرگذاری تیمارهای آزمایشی بر مواد مؤثره

زیاد می‌نماید (Dzung, 2011). در پژوهش حاضر میزان رنگیزه‌های کلروفیلی تحت تأثیر کیتوزان افزایش یافتند. از نتایج حاصل از این پژوهش نیز می‌توان نتیجه گرفت که محرکی مثل کیتوزان با افزایش محتوای رنگیزه‌ها، روی رشد، متابولیسم و فتوسنتز گیاه چویل تأثیر مثبتی دارد که در سایر گیاهان نیز گزارشاتی در این خصوص وجود دارد (Khosh et al., 2020). محرک‌ها با افزایش ظرفیت فتوسنتزی و کربوهیدرات‌ها، مواد اولیه را برای سنتز ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانین‌ها فراهم می‌آورند. علت افزایش ترکیبات فنلی در تیمار با محرک‌های مختلف، اثر این ترکیبات بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز و افزایش فعالیت این آنزیم است (Alizadeh and Fattahi, 2021). از آنجا که این آنزیم یک آنزیم کلیدی در بیوسنتز همه ترکیبات فنلی است، به نظر می‌رسد که در تحقیق حاضر نیز تغییر فعالیت این آنزیم یکی از دلایل افزایش مقدار ترکیبات فنلی در گیاهان چویل باشد. سنتز ترکیبات فنلی در بافت‌های گیاهی وابسته به کربوهیدرات‌ها است. به‌نظر می‌رسد که افزایش جذب عناصر غذایی در تیمارهای محلول‌پاشی به‌طور غیرمستقیم با تحت تأثیر قراردادن متابولیسم کربوهیدرات‌ها، این ترکیبات را به سمت سنتز ترکیبات فنلی هدایت می‌کند که نتیجه آن افزایش مقدار این ترکیبات است (Ghasemi Pirbalouti et al., 2017). افزایش تنش خشکی در گیاهان، منجر به افزایش اسید آمینه پرولین گردیده و میزان ذخیره آن در سیتوپلاسم سلولی بیشتر می‌شود. این اسیدآمینه در حفاظت سلولی نقش دارد و می‌تواند تا اندازه‌ای موجب ادامه جذب آب از محیط ریشه شود، اما اتکای گیاه به این ترکیبات آلی برای تنظیم اسمزی هزینه‌بر بوده و گیاه از طریق کاهش عملکرد این هزینه را جبران می‌نماید. پرولین مکانیسم‌هایی مثل تشکیل باندهای هیدروژنی آبی در اطراف پروتئین‌ها را برای حفاظت ساختار آن‌ها و از بین بردن رادیکال‌های آزاد فعال می‌کند. به‌طورکلی، گیاهان می‌توانند خودشان را تا اندازه‌ای در مقابل تنش خشکی ملایم توسط تجمع اسمولیت‌ها به‌خصوص پرولین محافظت کنند. با کاهش پتانسیل آب، میزان سنتز پرولین از اسید

جدول ۶- تجزیه واریانس مرکب مربعات اسانس و ترکیبات اسانس گیاهان چویل

منابع تغییرات	درجه آزادی	اسانس	آلفا-توجن	آلفا-پینن	بتا-میرسن	آلفا-فلاندرن	بتا-فلاندرن	سیس-اوسیمین	۴-توژانول
سال (Y)	۱	۹/۸۸**	۱۲/۴۴**	۲۰/۱**	۰/۳۳ns	۱۱/۱**	۲/۴۲**	۷/۷۷**	۱۷/۱**
سال در تکرار	۴	۰/۵۳	۰/۳۱	۰/۸۱	۰/۶۱	۰/۲۱	۰/۱۸	۰/۴۳	۰/۸
آبیاری (A)	۲	۱۸/۸**	۲۰/۱**	۱۶/۹**	۱۶/۹۸**	۱۵/۹**	۲۲/۶**	۷/۶۱**	۳۳/۲**
A×Y	۲	۱۲/۱**	۶/۱**	۲۲/۱۱**	۱۴/۴**	۳۶/۵۱**	۸/۸۹**	۴/۹۹**	۴۶/۱۲**
خطای a	۸	۰/۱۸	۰/۲۵	۰/۳۳	۱/۴	۰/۴۷	۰/۱۸	۰/۳۱	۲/۵۵
محرک (B)	۶	۳۲/۱**	۲۸/۰۷**	۱۶/۱**	۲۲/۱**	۳۴/۱**	۱۴/۵۵**	۷/۱۱**	۴۴/۸**
A×B	۱۲	۲۵/۸**	۱۶/۸**	۲۷/۳**	۲۷/۴**	۲۶/۱**	۱۵/۸**	۴/۶۹**	۳۱/۵۲**
B×Y	۶	۱۱/۱۴**	۱۲/۱۴**	۱۴/۶**	۹/۴۵**	۲۲/۸**	۱۱/۹**	۲/۸۹**	۱۹/۱**
A×B×Y	۱۲	۰/۵۵ns	۰/۱۱ns	۰/۲۲ns	۰/۴۴ns	۰/۱۲ns	۰/۱۷ns	۰/۱۲ns	۱/۱ns
خطای b	۷۲	۰/۷۶	۰/۱۷	۰/۳۳	۰/۸۸	۰/۵۵	۰/۴۳	۰/۱۶	۱/۹۸
ضریب تغییرات		۷/۹۹	۶/۷۷	۸/۲۲	۵/۷۷	۴/۶۹	۷/۶	۶/۵۵	۸/۱

*، ** و ns به ترتیب معنی دار در سطح $\alpha=0/05$ ، $\alpha=0/01$ و عدم معنی دار

ادامه جدول ۶-۶

منابع تغییرات	درجه آزادی	بتا-اوسیمین	سایینن	وربنون	یورنیل استات	نفتالن ایمتانول	بیسیکلو جرماکرن	نونادکان	هینیکوزان
سال (Y)	۱	۱۰/۱**	۱۴/۱**	۲۲/۱**	۰/۲۹ns	۱۶/۱**	۲/۸۸**	۰/۱۲ns	۱۵/۱**
سال در تکرار	۴	۰/۷۷	۰/۵۵	۰/۹۵	۰/۵۵	۰/۴۳	۰/۲۶	۰/۲۷	۰/۷
آبیاری (A)	۲	۲۳/۸**	۱۴/۱**	۲۰/۹**	۲۷/۱**	۱۶/۱**	۲۵/۱**	۱۰/۱۲**	۲۲/۷**
A×Y	۲	۲۵/۱**	۷/۲**	۱۶/۲**	۲۱/۴**	۳۳/۱**	۱۰/۱**	۱۲/۱**	۱۸/۱**
خطای a	۸	۰/۲۹	۰/۳۴	۰/۴۵	۲/۱	۰/۵۵	۰/۱۱	۰/۵۶	۱/۱
محرک (B)	۶	۱۲/۱**	۳۱/۱**	۱۷/۱**	۲۵/۱**	۲۲/۱**	۲۱/۱**	۷/۴۴**	۱۱/۸**
A×B	۱۲	۲۳/۸**	۱۷/۸**	۳۱/۳**	۲۹/۴**	۱۸/۱**	۲۲/۸**	۱۰/۸۸**	۸/۱۲**
B×Y	۶	۲۴/۱۴**	۱۴/۷**	۱۹/۶**	۹/۱۲**	۱۴/۸**	۱۴/۱**	۱۱/۱**	۱۰/۱**
A×B×Y	۱۲	۰/۹۶ns	۰/۲۱ns	۰/۲۹ns	۰/۳۸ns	۰/۰۸ns	۰/۲۴ns	۰/۱۸ns	۰/۱ns
خطای b	۷۲	۰/۹۸	۰/۲۵	۰/۴۴	۰/۵۵	۰/۲۳	۰/۷۷	۰/۲۲	۰/۲۲
ضریب تغییرات		۸/۱۲	۷/۹۹	۹/۱	۷/۷	۱۰/۸۸	۱۱/۱	۱۰/۱	۹/۱۴

*، ** و ns به ترتیب معنی دار در سطح $\alpha=0/05$ ، $\alpha=0/01$ و عدم معنی دار

اسانس مشاهده شد (جدول ۷ و ۸). میزان ترکیبات اسانس در سطوح تیماری اسید سالیسیلیک ۳ میلی مولار و فنیل آلانین ۲ گرم در لیتر در کمترین مقادیر قرار گرفتند. تیمارهای کیتوزان

مونوترپن‌های حلقوی و نیز میزان اسانس، معنی دار و در گروه‌های مختلفی قرار گرفتند. با اعمال تیمارهای پایه آلی و مقایسه با نمونه شاهد، روند افزایشی در میزان کمی و کیفی

جدول ۷- مقایسات میانگین اسانس و ترکیبات اسانس گیاه دارویی چویل تحت تأثیر محرک‌های رشد و دوره آبیاری (۱۴۰۱)

Ph1I3	Ph1I2	Ph1I1	K2I3	K2I2	K2I1	K1I3	K1I2	K1I1	CI3	CI2	CI1	شاخص بازداری	ترکیب
۷/۵	۸/۲	۹/۴	۶/۶	۸/۷	۹/۱	۹/۹	۱۰/۲	۸/۸	۶/۵	۷/۲	۷/۷	۹۲۶	آلفا-توجن
۱۸/۲	۱۸/۵	۱۹/۹	۱۷/۷	۱۸/۲	۱۸/۷	۱۸/۳	۲۱/۲	۱۹/۹	۱۰/۵	۱۱/۳	۱۱/۷	۹۳۷	آلفا-پینن
۲/۹	۳/۱	۳/۳	۲/۸	۲/۷	۲/۶	۲/۲	۲/۳	۲/۲	۲/۹	۲/۸	۳/۰۱	۹۸۶	بتا-میرسن
۳/۲	۳/۵۱	۳/۴۱	۱/۸	۱/۹۱	۲/۱۳	۲/۳	۲/۴	۲/۶۲	۲/۲	۲/۴۱	۲/۵۴	۱۰۰۳	آلفا-فلاندرن
۶/۹۱	۶/۷۷	۶/۱۲	۶/۵۵	۶/۱۴	۶/۱۱	۵/۸۸	۷/۵۱	۷/۴۱	۵/۲۲	۵/۳	۵/۴۵	۱۰۲۷	بتا-فلاندرن
۱۷/۷	۱۸/۹	۲۱/۹	۱۸/۸	۲۱/۷	۱۹/۹	۱۸/۱	۲۰/۲	۲۲/۴	۱۲/۲	۱۳/۳	۱۵/۴۵	۱۰۳۱	سیس-اوسیمن
۴/۶	۴/۸	۵/۱	۴/۷	۴/۴	۴/۱۱	۴/۶۶	۴/۸۱	۴/۵۵	۳/۳	۳/۴۱	۴/۱۷	۱۰۴۱	۴-توزانول
۶/۶	۶/۸	۵/۸	۵/۸۸	۵/۹۹	۶/۱۲	۶/۱۴	۵/۸	۶/۵۶	۳/۴	۳/۵۵	۵/۶۵	۱۰۵۳	بتا-اوسیمن
۳/۳	۳/۵	۳/۶۱	۱/۸۲	۱/۹۳	۲/۲	۱/۹۱	۲/۲۳	۲/۵۲	۱/۷۶	۱/۸۲	۱/۹۹	۱۱۹۲	ساینین
۳/۳۱	۳/۴۴	۳/۵۶	۲/۵۱	۲/۷۱	۳/۴۴	۲/۰۸	۳/۵۳	۳/۴۴	۲/۱۱	۲/۱۴	۲/۳	۱۲۰۴	وربتون
۵/۵۱	۵/۸۹	۶/۶	۵/۶۵	۵/۷۲	۵/۸۱	۳/۴۴	۶/۸۳	۶/۵۱	۳/۲۳	۳/۴	۴/۷۷	۱۲۱۹	بورنیل استات
۰/۹۹	۱۱/۱	۲/۵۹	۲/۱۲	۲/۰۲	۱/۹۱	۱/۸۸	۱/۹۸	۲/۰۳	۰/۷۵	۰/۹۳	۱/۱۲	۱۴۶۸	نفتالن ایمتانول
۱/۴۵	۱/۷۷	۲/۸۸	۱/۶۶	۱/۷۶	۱/۹۹	۱/۵۱	۱/۶۳	۲/۲۱	۱/۱۱	۱/۴۴	۱/۵۵	۱۴۹۱	بیسیکلوجرماکرن
۱/۴۴	۱/۵۶	۱/۷۶	۱/۷۷	۲/۲۳	۴/۴۵	۳/۸۱	۵/۱۱	۴/۴۵	۱/۱۵	۱/۷۸	۲/۲۱	۱۹۰۰	نونادکان
۰/۶۶	۰/۹۹	۱/۱	۱/۳۳	۱/۵۶	۱/۸۹	۱/۷۷	۱/۹۹	۲/۲۴	۰/۷۹	۰/۸۲	۲/۲۹	۲۱۰۹	هنیکوزان
۰/۴۸	۰/۵۵	۰/۶۴	۰/۳۳	۰/۳۸	۰/۴۶	۰/۵۵	۰/۵۹	۰/۶۵	۰/۲۱	۰/۲۸	۰/۳۸	اسانس (گرم در ۱۰۰ گرم ماده تر)	

*C: شاهد، K1: کیتوزان ۰/۲۵ گرم در لیتر، K2: کیتوزان ۰/۵ گرم در لیتر، Ph1: فنیل آلانین ۱ گرم در لیتر، Ph2: فنیل آلانین ۲ گرم در لیتر، SA1: اسید سالیسیلیک ۱/۵ میلی‌مولار، SA1: اسید سالیسیلیک ۳ میلی‌مولار، I1: دوره آبیاری ۳ روز یکبار، I2: دوره آبیاری ۶ روز یکبار، I3: دوره آبیاری ۹ روز یکبار.

در سال نخست پژوهش حاضر، دوره آبیاری ۳ روز یکبار و محلول‌پاشی کیتوزان (۰/۲۵ گرم در لیتر) و فنیل آلانین (۱ گرم در لیتر) و در سال دوم، دوره آبیاری ۳ و ۶ روز یکبار و محلول‌پاشی کیتوزان (۰/۲۵ گرم در لیتر) مقدار اسانس استخراج‌شده از ساختار هوایی گیاهان چویل را به میزان ۰/۶۵ و ۰/۶۱ درصد رسانید که بیانگر کارایی بالاتر تیمار کیتوزان در افزایش سنتز و تجمع اسانس گیاه چویل است، هر چند که تیمار فنیل آلانین (۱ گرم در لیتر) نیز در گروه آماری مشابه قرار گرفت. در دوره آبیاری بیش از ۶ روز یکبار، کاهش کلی اسانس و ترکیبات اسانس روی داد و بر این اسانس کمترین مقادیر اسانس و ترکیبات اسانس در دوره آبیاری ۹ روز یکبار و در گیاهان شاهد بدست آمد که در بسیاری از موارد با تیمار

(۰/۲۵ گرم در لیتر) و فنیل آلانین (۱ گرم در لیتر) بیشترین اثر را بر میزان ماده مؤثره سیس-اوسیمن، آلفا-توجن و آلفا-پینن و سایر ترکیبات غالب اسانس تمامی گیاهان در هر دو سال، ایجاد نمودند. در تولید مواد مؤثره نفتالن ایمتانول، بیسیکلوجرماکرن، نونادکان و هنیکوزان کاربرد تیمارهای اسید سالیسیلیک دارای بیشترین اثر افزایشده بود و بقیه تیمارها از جمله کیتوزان و فنیل آلانین به همراه تیمارهای شاهد کمترین غلظت این مواد مؤثره را تولید نمودند. کمترین غلظت مواد مؤثره غالب اسانس در بسیاری از موارد، در تیمار شاهد بوجود آمد. بیشترین ترکیبات اسانس به ترتیب شامل آلفا-پینن، سیس-اوسیمن و آلفا-توجن بودند که در تیمارهای مختلف بیش از ۵۴ درصد اسانس را به خود اختصاص دادند (جدول ۷ و ۸).

ادامه جدول ۷-۷

SA2I3	SA2I2	SA2I1	SA1I3	SA1I2	SA1I1	Ph2I3	Ph2I2	Ph2I1	شاخص بازداری	ترکیب
۵/۵	۶/۳	۷/۵	۶/۱	۶/۵	۷/۱	۷/۳	۷/۵	۹/۳	۹۲۶	آلفا-توجن
۹/۹	۱۰/۱	۱۱/۱	۱۰/۲	۱۰/۵	۱۰/۸	۹/۴	۹/۸	۱۰/۱	۹۳۷	آلفا-پینن
۲/۲	۲/۴	۲/۵	۲/۳	۲/۵	۲/۳	۲/۵	۲/۷	۲/۸	۹۸۶	بتا-میرسن
۲/۲	۲/۱۵	۱/۹	۱/۹۵	۱/۸۱	۱/۹۸	۱/۷۱	۱/۸	۲/۱	۱۰۰۳	آلفا-فلاندرن
۵/۵۷	۵/۶۶	۶/۱۲	۵/۸۱	۵/۹	۶/۳۲	۶/۶	۶/۵۲	۶/۱۲	۱۰۲۷	بتا-فلاندرن
۱۳/۱	۱۴/۴	۱۵/۵	۱۴/۵	۱۵/۶	۱۶/۶	۱۴/۴	۱۵/۵	۱۶/۷	۱۰۳۱	سیس-اوسیمن
۳/۲	۳/۵۱	۳/۶۱	۴/۴۱	۴/۵۵	۴/۷	۴/۴۳	۴/۶۶	۴/۹	۱۰۴۱	۴-توژانول
۳/۲۳	۴/۱۱	۵/۵	۳/۶	۳/۷۱	۳/۸۶	۳/۵۲	۳/۶۶	۳/۹	۱۰۵۳	بتا-اوسیمن
۱/۸	۱/۷۲	۱/۹۲	۲/۲	۱/۹۱	۲/۴۲	۲/۰۱	۲/۲۳	۲/۴۵	۱۱۹۲	سایینن
۱/۱۲	۱/۲۳	۲/۲۱	۱/۴۱	۱/۵۵	۱/۷۷	۱/۸	۱/۷۶	۲/۲۱	۱۲۰۴	وربنون
۳/۵۱	۳/۶۳	۳/۷۸	۴/۴۳	۴/۴۵	۵/۵۴	۳/۵۹	۴/۴۳	۵/۶۵	۱۲۱۹	بورنیل استات
۲/۷۸	۲/۹۹	۳/۰۱	۲/۸۱	۳/۴۴	۲/۹۵	۱/۰۲	۰/۹۹	۰/۸۸	۱۴۶۸	نفتالن ایمتانول
۱/۲۴	۱/۴۴	۱/۵۶	۲/۳۱	۲/۹۹	۲/۷۶	۲/۶۶	۱/۷۷	۱/۶۵	۱۴۹۱	بیسیکلو جرماکرن
۳/۱۳	۳/۴۳	۴/۵۵	۴/۲۲	۵/۷۸	۴/۷۷	۱/۰۱	۱/۱۱	۱/۴۳	۱۹۰۰	نونادکان
۱/۷۸	۱/۹۹	۲/۹۹	۱/۹۸	۲/۷۷	۳/۱۱	۱/۰۱	۱/۱۴	۱/۱۹	۲۱۰۹	هنیکوزان
۰/۲۲	۰/۲۷	۰/۳۷	۰/۲۸	۰/۳۱	۰/۳۹	۰/۴۴	۰/۴۸	۰/۵۵		اسانس (گرم در ۱۰۰ گرم ماده تر)

*C: شاهد، K1: کیتوزان ۰/۲۵ گرم در لیتر، K2: کیتوزان ۰/۵ گرم در لیتر، Ph1: فنیل آلانین ۱ گرم در لیتر، Ph2: فنیل آلانین ۲ گرم در لیتر، SA1: اسید سالیسیلیک ۱/۵ میلی مولار، SA1: اسید سالیسیلیک ۳ میلی مولار، I1: دوره آبیاری ۳ روز یکبار، I2: دوره آبیاری ۶ روز یکبار، I3: دوره آبیاری ۹ روز یکبار.

برگ‌ها قرار دارند، هر عاملی که سبب افزایش سطح و وزن برگ‌ها شود، مقدار اسانس را نیز افزایش خواهد داد (Ali et al., 2021). از این رو به نظر می‌رسد افزایش تولید کلروفیل، سبب افزایش بافت‌های فتوسنتزی، افزایش رشد برگ‌ها و در نهایت منجر به افزایش عملکرد اسانس خواهد شد (Abdul-Hafeez and Ibrahim, 2021). از سوی دیگر بیوستتر ترپنوئیدها با اتصال سر به دم ایزوپنتیل دی‌فسفات به ایزومر دی‌متیل آلیل دی‌فسفات ادامه می‌یابد که با این اتصال ژرانیل دی‌فسفات (GPP) حاصل می‌شود. تشکیل مونوترپن‌های الکلی با مونوترپن گاماترپین (GT) شروع شده و در ادامه از طریق پی‌سایمن آروماتیک، واکنش‌ها به سمت سنتز آن‌ها پیش می‌رود. گاماترپین که به وسیله آنزیم گاماترپین سنتاز (GTS) کاتالیز می‌شود، پیش‌ماده مونوترپن‌های آروماتیک، در ادامه

اسید سالیسیلیک (۳ میلی مولار) و فنیل آلانین (۲ گرم در لیتر) در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۷ و ۸). ترکیبات اسانس با محلول‌پاشی محرک‌های آلی به‌ویژه کیتوزان و فنیل آلانین به دلیل راه‌اندازی چرخه سنتز اسیدآمین و آنزیم‌های پروتئینی در افزایش ترکیبات اسانس مؤثرند. به‌طورکلی هر افزایشی در کل کربوهیدرات‌های گیاه، موجب افزایش سنتز اسانس در بافت مسئول ساخت این ترکیبات می‌شود (Caser et al., 2019; Kulak, 2020). یکی از دلایل بیشترشدن مقدار اسانس را می‌توان به دلیل افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه و تأثیر افزایش جذب عناصر غذایی در ساختمان و کارکرد کلروپلاست دانست که این افزایش ممکن است به تولید بیشتر غده‌های ترشح‌کننده اسانس در برگ منجر شود. از آنجایی که غده‌های ترشح‌کننده اسانس گیاه چویل در

جدول ۸- مقایسات میانگین اسانس و ترکیبات اسانس گیاه دارویی چویل تحت تأثیر محرک‌های رشد و دوره آبیاری (۱۴۰۲)

Ph1I3	Ph1I2	Ph1I1	K2I3	K2I2	K2I1	K1I3	K1I2	K1I1	CI3	CI2	CI1	شاخص بازداری	ترکیب
۹/۸۹	۱۱/۱	۱۰/۱	۹/۹	۱۰/۱۱	۱۰/۳	۷/۷۱	۷/۸۹	۸/۸	۶/۴۲	۶/۳	۷/۷۶	۹۲۶	آلفا-توجن
۱۲/۲	۱۳/۳	۱۴/۴	۱۸/۸	۱۵/۵	۲۱/۱	۲۴/۴	۲۵/۲	۲۳/۴	۱۱/۲	۱۴/۴	۱۵/۵۵	۹۳۷	آلفا-پینن
۱/۹۸	۲/۲	۳/۲	۲/۱۵	۲/۴۵	۲/۸۷	۳/۰۱	۲/۲۲	۲/۱۶	۱/۹۸	۲/۰۱	۲/۱۴	۹۸۶	بتا-میرسن
۳/۱۳	۳/۴۲	۱/۴۵	۱/۶۷	۱/۸۹	۳/۰۲	۲/۱۴	۱/۵۵	۱/۷۷	۲/۸۸	۲/۷۸	۲/۱۲	۱۰۰۳	آلفا-فلاندرن
۵/۵	۵/۳۴	۵/۱۲	۴/۴	۳/۳۹	۳/۶۷	۵/۶۹	۶/۸	۶/۵۴	۳/۳۴	۳/۵۵	۴/۴۴	۱۰۲۷	بتا-فلاندرن
۱۷/۷	۱۶/۶	۱۸/۱	۱۸/۷	۱۸/۵	۱۷/۷۸	۱۵/۵	۱۷/۶	۱۹/۹	۱۴/۴	۱۵/۵۶	۱۶/۶	۱۰۳۱	سیس-اوسیمین
۴/۳۴	۴/۸۸	۴/۹۱	۳/۳۲	۳/۳۸	۳/۴۱	۳/۳	۳/۳۷	۳/۴۵	۲/۲۷	۲/۴۴	۳/۵۵	۱۰۴۱	۴-تورژانول
۳/۴۴	۵/۵۴	۶/۲	۵/۶۷	۵/۴۵	۴/۴۶	۵/۴۵	۵/۲۹	۵/۳	۵/۴۴	۳/۱۹	۳/۴۴	۱۰۵۳	بتا-اوسیمین
۱/۶۷	۱/۸۸	۳/۴۵	۲/۲۳	۲/۱۸	۲/۸۹	۳/۱۲	۲/۴۵	۲/۸۸	۱/۵۵	۱/۶۷	۱/۸۹	۱۱۹۲	ساینن
۲/۴۴	۲/۶۷	۲/۸۹	۱/۹۹	۱/۷۸	۱/۵۵	۲/۶۶	۳/۱۴	۳/۰۳	۰/۹۹	۱/۰۲	۱/۲۳	۱۲۰۴	وربنون
۵/۴	۵/۴۵	۵/۷۶	۶/۴	۶/۴۳	۵/۶۷	۵/۵۲	۶/۵۱	۴/۴۵	۳/۱۵	۳/۴۴	۳/۷۸	۱۲۱۹	بورنیل استات
۲/۰۲	۲/۱۴	۱/۹۹	۱/۷۸	۱/۶۶	۲/۱۱	۱/۱۴	۱/۱۸	۱/۵۶	۰/۸۸	۱/۰۱	۱/۱۴	۱۴۶۸	نفتالن ایمتانول
۱/۵۹	۲/۸۸	۲/۹۲	۱/۶۷	۱/۷۸	۱/۸۹	۱/۶۶	۱/۷۸	۱/۹۸	۱/۱۴	۱/۵۵	۲/۰۶	۱۴۹۱	بیسیکلوجرماکرن
۳/۴۵	۳/۶۶	۳/۴۹	۴/۰۱	۴/۱۴	۳/۷۷	۴/۱۲	۴/۴۹	۴/۱۴	۲/۹۴	۳/۰۳	۳/۵۵	۱۹۰۰	نوادکان
۲/۱۲	۱/۹۹	۲/۱۵	۲/۱۱	۲/۰۱	۱/۸۸	۱/۳۳	۱/۳۵	۱/۵۶	۱/۸۹	۱/۹۱	۲/۱۲	۲۱۰۹	هنیکوزان
۰/۳۴	۰/۳۶	۰/۳۹	۰/۳۲	۰/۴۴	۰/۴۸	۰/۵۱	۰/۶۱	۰/۶	۰/۲۵	۰/۲۸	۰/۳۳	اسانس (گرم در ۱۰۰گرم ماده تر)	

*C: شاهد، K1: کیتوزان ۰/۲۵ گرم در لیتر، K2: کیتوزان ۰/۵ گرم در لیتر، Ph1: فینیل آلانین ۱ گرم در لیتر، Ph2: فینیل آلانین ۲ گرم در لیتر، SA1: اسید سالیسیلیک ۱/۵ میلی مولار، SA1: اسید سالیسیلیک ۳ میلی مولار، II: دوره آبیاری ۳ روز یکبار، I2: دوره آبیاری ۶ روز یکبار، I3: دوره آبیاری ۹ روز یکبار.

(Ghasemi Pirbalouti *et al.*, 2017; Babaei *et al.*, 2021) محرک‌های مختلف از جمله کیتوزان (Alizadeh *et al.*, 2020) و اسید سالیسیلیک (Abdi *et al.*, 2022) نقش مهمی در فعال کردن آنزیم‌های مسیر متابولیسم ثانویه گیاهان دارند. احتمال می‌رود کاربرد کیتوزان به دلیل افزایش جذب دی‌اکسید کربن، کاهش تعرق، تنظیم ژن و القای آنزیم‌های مرتبط با بیوستز ترپنوئیدها، محتوای اسانس را تغییر می‌دهد (Hawrylak-Nowak *et al.*, 2021; Abdul-Hafeez and Ibrahim, 2021). بیوستز متابولیت‌های ثانویه تحت تأثیر رشد و نمو گیاه است که به رفتارهای فیزیولوژیک گیاه به‌ویژه ظرفیت فتوستز بستگی دارد. تغییرات مشاهده شده در کیفیت اسانس گیاهان تیمار شده را می‌توان به تفاوت در اثرات هر یک از محرک‌ها بر

مسیر بوده و بنابراین نقش اساسی را در این مسیر ایفاء می‌نماید (Thakur and Kumar, 2020; Bohlman and Keeling, 2008). به نظر می‌رسد تیمارهای به‌کار رفته در این پژوهش، میزان رنگیزه‌های فتوستزی و در نتیجه بازده فتوستزی در چویل را افزایش داده و از این طریق بر ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس نیز تأثیرگذار بوده‌اند. با توجه به این‌که بیوستز ترپنوئیدها در تریکوم‌ها، توسط ژن‌ها کنترل می‌شوند اثر اصلی محرک‌ها بر تولید اسانس به تأثیر آنها بر ژن‌ها و آنزیم‌های درگیر در متابولیسم ثانویه گیاه مربوط می‌شود (Pandey *et al.*, 2017). به‌طورکلی، نتایج تحقیقات نشان داده است که تنش‌های محیطی غیرزنده مانند تنش خشکی اثرات مهمی بر صفات فیتوشیمیایی گیاهان دارویی ایجاد می‌نمایند

ادامه جدول ۸-

SA2I3	SA2I2	SA2I1	SA1I3	SA1I2	SA1I1	Ph2I3	Ph2I2	Ph2I1	شاخص بازداری	ترکیب
۶/۲	۶/۲۳	۶/۴۴	۸/۸۱	۹/۹۱	۱۰/۱	۸/۸۱	۹/۹۹	۱۰/۱	۹۲۶	آلفا-توجن
۱۲/۴	۱۴/۴	۱۵/۵	۱۲/۳۲	۱۶/۶	۱۷/۷	۱۸/۸	۱۹/۶	۲۰/۱	۹۳۷	آلفا-پینن
۱/۹	۱/۹۵	۲/۰۱	۲/۲	۲/۲۳	۲/۲۸	۲/۴۵	۲/۶۵	۲/۷۷	۹۸۶	بتا-میرسن
۳/۲۳	۲/۲۹	۱/۸۹	۱/۷۷	۲/۵۵	۳/۰۲	۱/۵۵	۲/۳۳	۲/۶۹	۱۰۰۳	آلفا-فلاندرن
۳/۴۴	۴/۴۴	۳/۵	۴/۵	۵/۶۷	۵/۷۸	۵/۸۲	۵/۹۱	۶/۰۲	۱۰۲۷	بتا-فلاندرن
۱۴/۵۴	۱۴/۷	۱۶/۶	۱۴/۵	۱۷/۷	۱۶/۶	۱۵/۵	۱۶/۶	۱۷/۰۲	۱۰۳۱	سیس-اوسیمن
۲/۲	۲/۳۴	۲/۵	۲/۳۱	۳/۳۵	۳/۴۲	۴/۴	۴/۳۶	۳/۷۷	۱۰۴۱	۴-تورزانول
۳/۱۸	۳/۴۴	۳/۵۵	۴/۴۳	۴/۷۷	۴/۸۹	۵/۵۱	۵/۷۷	۵/۸۹	۱۰۵۳	بتا-اوسیمن
۱/۵۷	۱/۸۹	۲/۲۳	۲/۴۴	۲/۶۵	۲/۷۷	۲/۸۸	۲/۵۵	۱/۹۹	۱۱۹۲	ساینن
۰/۹۷	۰/۹۵	۱/۰۳	۱/۱	۱/۱۵	۱/۵۶	۱/۷۷	۱/۸۸	۱/۹۸	۱۲۰۴	وربنون
۳/۱۹	۳/۲۲	۳/۴۴	۴/۵۶	۵/۵۸	۴/۳۴	۵/۳۴	۶/۳۲	۶/۰۵	۱۲۱۹	بورنیل استات
۱/۲۲	۱/۹۵	۲/۰۳	۲/۲۳	۲/۵۵	۱/۹۹	۱/۰۱	۱/۲۳	۱/۵۵	۱۴۶۸	نفتالن ایمتانول
۱/۵۹	۲/۶۷	۲/۸۷	۲/۰۲	۲/۸۸	۳/۱۱	۲/۱۷	۱/۹۹	۱/۷۸	۱۴۹۱	بیسیکلوجرماکرن
۲/۹۲	۲/۹۹	۳/۹۹	۳/۱۴	۴/۹۸	۴/۶۱	۲/۵۵	۳/۰۲	۳/۲۳	۱۹۰۰	نونادکان
۱/۶۷	۱/۹۹	۲/۵۵	۱/۷۷	۲/۴۴	۲/۹۸	۰/۹۹	۱/۱۱	۱/۳۳	۲۱۰۹	هنیکوزان
۰/۲۵	۰/۲۸	۰/۳۱	۰/۳۵	۰/۳۸	۰/۴۱	۰/۴۴	۰/۴۸	۰/۵۱		اسانس (گرم در ۱۰۰ گرم ماده تر)

*C: شاهد، K1: کیتوزان ۰/۲۵ گرم در لیتر، K2: کیتوزان ۰/۵ گرم در لیتر، Ph1: فنیل آلانین ۱ گرم در لیتر، Ph2: فنیل آلانین ۲ گرم در لیتر، SA1: اسید سالیسیلیک ۱/۵ میلی‌مولار، SA1: اسید سالیسیلیک ۳ میلی‌مولار، I1: دوره آبیاری ۳ روز یکبار، I2: دوره آبیاری ۶ روز یکبار، I3: دوره آبیاری ۹ روز یکبار.

رشد گیاه، پاسخ گیاه به عوامل زیستی و غیرزیستی که منجر به افزایش مواد مؤثره گیاه می‌شود، نسبت داد (Hawrylak-Nowak et al., 2021). تحت تنش خشکی، مقادیر مواد مؤثره گیاهان دارویی رفتار مختلفی دارند. چنانچه در زمان گلدهی و بروز تنش خشکی، میزان ماده آلفا-پینن در گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis*) کاهش ولی در اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) افزایش یافت. ترکیبات مؤثره آلفا-پینن، لیمونن و اوکالیپتول در مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) کاهش یافت در حالی که این ترکیبات در ریحان (*Ocimum basilicum*) افزایش یافتند (Kulak, 2020). در گیاهان دارویی قدومه (*Alyssum desertorum*)، آویشن (*Thymus vulgaris*)، همیشه‌بهار (*Calendula officinalis*)، گاوزبان (*Borago officinalis*)

رشد گیاه، پاسخ گیاه به عوامل زیستی و غیرزیستی که منجر به افزایش مواد مؤثره گیاه می‌شود، نسبت داد (Hawrylak-Nowak et al., 2021). تحت تنش خشکی، مقادیر مواد مؤثره گیاهان دارویی رفتار مختلفی دارند. چنانچه در زمان گلدهی و بروز تنش خشکی، میزان ماده آلفا-پینن در گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis*) کاهش ولی در اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) افزایش یافت. ترکیبات مؤثره آلفا-پینن، لیمونن و اوکالیپتول در مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) کاهش یافت در حالی که این ترکیبات در ریحان (*Ocimum basilicum*) افزایش یافتند (Kulak, 2020). در گیاهان دارویی قدومه (*Alyssum desertorum*)، آویشن (*Thymus vulgaris*)، همیشه‌بهار (*Calendula officinalis*)، گاوزبان (*Borago officinalis*)

خشکی با تحریک سنتز متابولیت‌های ثانویه از طریق مسیرهای

رشد گیاه، پاسخ گیاه به عوامل زیستی و غیرزیستی که منجر به افزایش مواد مؤثره گیاه می‌شود، نسبت داد (Hawrylak-Nowak et al., 2021). تحت تنش خشکی، مقادیر مواد مؤثره گیاهان دارویی رفتار مختلفی دارند. چنانچه در زمان گلدهی و بروز تنش خشکی، میزان ماده آلفا-پینن در گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis*) کاهش ولی در اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) افزایش یافت. ترکیبات مؤثره آلفا-پینن، لیمونن و اوکالیپتول در مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) کاهش یافت در حالی که این ترکیبات در ریحان (*Ocimum basilicum*) افزایش یافتند (Kulak, 2020). در گیاهان دارویی قدومه (*Alyssum desertorum*)، آویشن (*Thymus vulgaris*)، همیشه‌بهار (*Calendula officinalis*)، گاوزبان (*Borago officinalis*)

ترکیبات اسانس گیاه مورد آزمایش، مربوط به اختلاف جایگاه‌های بیوسنتزی ترکیبات از نظر بهره‌گیری از منابع انرژی باشد (Sasani et al., 2021).

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر، تنش خشکی منجر به کاهش غلظت کلروفیل کل گیاه گردید و از این طریق منجر به کاهش اسانس نیز شد. از طرف دیگر عملکرد اسانس گیاه چویل با استفاده از محرک کیتوزان تحت شرایط تنش رطوبتی افزایش یافت. نه تنها عملکرد اسانس، بلکه درصد ترکیبات شیمیایی اسانس نیز تحت تأثیر آن قرار گرفت و برخی از ترکیبات افزایش یافته و برخی ترکیبات کاهش یافتند. بالاترین میزان اسانس در تیمار آبیاری ۳ و ۶ روز یکبار و به‌کارگیری ۰/۲۵ گرم در لیتر کیتوزان مشاهده شد. در نهایت، می‌توان نتیجه گرفت که تحت شرایط تنش رطوبتی، محلول‌پاشی کیتوزان و نیز فنیل آلانین (۱ گرم در لیتر) به‌عنوان یک روش مفید می‌تواند برای کاهش اثرات تنش و به دنبال آن افزایش عملکرد اسانس گیاه چویل در اقلیم‌ها و شرایط خاک مشابه مورد استفاده قرار گیرد.

متابولیسمی در گیاهان دارویی و معطر که برخی از آنها ناشناخته هستند، سبب تغییرات میزان کمی و کیفی متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Emami Bistgani et al., 2017). بهبود در عملکرد اسانس با استفاده از کیتوزان ممکن است به دلیل افزایش در رشد، جذب مواد غذایی و یا تغییر در تعداد غده‌های ترشحی برگ و یا بیوسنتز مونوترپین‌ها باشد (Ghasemi Pirbalouti et al., 2017; Hawrylak-Nowak et al., 2021).

تنش خشکی با اختلال در فتوسنتز و تنفس، درصد و ترکیب شیمیایی اسانس را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Pradhan et al., 2017). در مطالعه‌ای مشخص شد که تنش خشکی اثر معنی‌داری بر افزایش میزان متیل کاویکول به‌عنوان یکی از ترکیبات مهم اسانس در ریحان بنفش (*Ocimum basilicum*) دارد (Malekpoor et al., 2017). تنش خشکی در حد ملایم و متوسط توانسته میزان برخی ترکیبات موثره و مهم نظیر تیمول یک ترکیب فنلی را در گیاه دارویی آویشن افزایش دهد (Abdi et al., 2022; Askary et al., 2018; Zakerian et al., 2020). تغییرات بیوسنتز ترکیبات ترپنوئیدی از جمله مونوترپین‌ها و سزکوئی‌ترین‌ها ممکن است به علت تغییرات بیوانرژی‌تیک سلول‌های گیاهی در پاسخ به عناصر مغذی باشد و به‌نظر می‌رسد که یکی از دلایل اختلاف در مقدار و نوع برخی از

منابع

- Abdi, L., Asghari, H. R., Tolyat Abolhasani, M., Amerian, M. R., & Naghdi badi, H. (2022). Effect of salicylic acid on growth and phytochemical characteristics of *Thymus daenensis* under drought irrigation. *Plant Process and Function*, 11(48), 195-210. <http://doi.net/dor/20.1001.1.23222727.1401.11.48.13.4>
- Abdul-Hafeez, E. Y. & Ibrahim, O. H. M. (2021). Effects of chitosan and BABA foliar application on flowering and chemical characteristics of German chamomile 'Bode-gold'. *South African Journal of Botany*, 139, 241-245. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2021.01.037>
- Adams, R. P. (2007). Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/ Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL.
- Ahmad, B., Khan, M. M. A., Jaleel, H., Sadiq, Y., Shabbir, A., & Uddin, M. (2017). Exogenously sourced γ -irradiated chitosan-mediated regulation of growth, physiology, quality attributes, and yield in *Mentha piperita* L. *Turkish Journal of Biology*, 41, 388-401. <http://dx.doi.org/10.3906/biy-1608-64>
- Alavi Samany, S. M., Ghasemi Pirbalouti, A., & Malekpoor, F. (2022). Phytochemical and morpho-physiological changes of hyssop in response to chitosan-spraying under different levels of irrigation. *Industrial Crops and Products*, 176, 114330. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114330>
- Albergaria, E. T., Oliveira, A. F., & Albuquerque, U. P. (2020). The effect of water deficit stress on the composition of phenolic compounds in medicinal plants. *South African Journal of Botany*, 131, 12-17. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2020.02.002>
- Ali, B. (2021). Salicylic acid: An efficient elicitor of secondary metabolite production in plants. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 31, 101884. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101884>
- Alizadeh, Z. & Fattahi, M. (2021). Essential oil, total phenolic, flavonoids, anthocyanins, carotenoids and antioxidant activity of cultivated Damask Rose (*Rosa damascena*) from Iran: With chemotyping approach concerning morphology and composition. *Scientia Horticulturae*, 288, 110341. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110341>

- Alizadeh, A., Moghaddam, M., Asgharzade, A., & Mahmoodi Sourestani, M. (2020). Phytochemical and physiological response of *Satureja hortensis* L. to different irrigation regimes and chitosan application. *Industrial Crops and Products*, 158, 112990. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112990>
- Arnon, D. I. (1975). Physiological principles of dry land crop production. In: Physiological Aspects of Dry Land Farming (ed. Gupta, U. S.) Pp. 3-14. Oxford Press.
- Askary, M., Behdani, M. A., Parsa, S., Mahmoodi, S., & Jamialahmadi, M. (2018). Water stress and manure application affect the quantity and quality of essential oil of *Thymus daenensis* and *Thymus vulgaris*. *Industrial Crops and Products*, 111, 336-344. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.056>
- Babaei, Kh., Moghaddam, M., & Farhadi, N. (2021). Morphological, physiological and phytochemical responses of Mexican marigold (*Tagetes minuta* L.) to drought stress. *Scientia Horticulturae*, 284, 110-116. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110116>
- Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
- Bohlman, J. & Keeling, C. I. (2008). Terpenoid biomaterials. *Plant Journal*, 54, 656-669. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03449.x>
- Caiyan, L., Dongming, M., Gaobin, P., Xiaofang, Q., Zhigao, D., & Hong, W. (2011). Foliar application of chitosan activates artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua* L. *Industrial Crops and Products*, 33, 176-182. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.10.001>
- Caser, M., Chitarra, W., Angiolillo, F., & Perrone, I. (2019). Drought stress adaptation modulates plant secondary metabolite production in *Salvia dolomitica* Codd. *Industrial Crops and Products*, 129, 85-96. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.11.068>
- Dere, S., Gunes, T., & Sivaci, R. (1998). Spectrophotometric determination of chlorophyll-A, B and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Turkish Journal of Botany*, 22, 13-17. <https://www.researchgate.net/publication/235938850>
- Dzung, N. A. (2011). Enhancing Crop Production with Chitosan and Its Derivatives. In: Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives, Kim, Se -kwon. Taylor and Francis. Boca Raton London New York. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2017.04.003>
- Emami-Bistgani, Z., Siadat, S. A., Bakhshandeh, A., & Ghasemi-Pirbalouti, A. (2017). Interactive effects of drought stress and chitosan application on physiological characteristics and essential oil yield of *Thymus daenensis* Celak. *Crop Journal*, CJ-00231, 1-9.
- Esch, E. H., Lipson, D. A., & Cleland, E. E. (2019). Invasion and drought alter phenological sensitivity and synergistically lower ecosystem production. *Ecology*, 100, 34-45. <https://doi.org/10.1002/ecy.2802>
- Esmailzadeh bahabadi, S. & Sharifi, M. (2013). Increasing the production of plant secondary metabolites, using biotic elicitors. *Journal of Cell Tissue*, 4, 119-128. 10.52547/JCT.4.2.119
- Falcon-Rodriguez, A. B., Cabrera, J. C., Ortega, E., & Martinez-Tellez, M. A. (2009). Concentration and physicochemical properties of chitosan derivatives determine the induction of defense responses in roots and leaves of Tobacco (*Nicotiana tabacum*) plants. *American Journal of Agriculture Biology Science*, 4, 192-200. <http://dx.doi.org/10.3844/ajabssp.2009.192.200>
- Fariaszewska, A., Aper, J., Van Huylbroeck, J., & De Swaef, T. (2020). Physiological and biochemical responses of forage grass varieties to mild drought stress under field conditions. *International Journal of Plant Production*, 14, 335-353. <https://doi.org/10.1007/s42106-020-00088-3>
- Ghanbarzadeh, Z., Mohsenzadeh, S., Rowshan, V., & Moradshahi, A. (2019). Evaluation of the growth, essential oil composition and antioxidant activity of *Dracocephalum moldavica* under water deficit stress and symbiosis with *Claroideoglossum etunicatum* and *Micrococcus yunnanensis*. *Scientia Horticulturae*, 256, 108652. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108652>
- Ghasemi Pirbalouti, A., Malekpoor, F., Salimi, A., & Golparvar, A. (2017). Exogenous application of chitosan on biochemical and physiological characteristics, phenolic content and antioxidant activity of two species of basil (*Ocimum ciliatum* and *Ocimum basilicum*) under reduced irrigation. *Scientia Horticulturae*, 217, 114-22. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.01.031>
- Gorni, P. H., Pacheco, A. C., Moro, A. L., Albuquerque Silva, J. F., Moreli, R. R., & Rodrigues de Miranda, G. (2020). Salicylic acid foliar application increases biomass, nutrient assimilation, primary metabolites and essential oil content in *Achillea millefolium* L. *Scientia Horticulturae*, 270, 109436. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109436>
- Hayati, A., Rahimi, M. M., Kelidari, A., & Hosseini, S. M. (2021). Effects of humic acid and iron nanochelate on osmolytes content of black cumin (*Nigella sativa* L.) under drought stress conditions. *Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 37(5), 809-821. <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2021.354715.2995>
- Hawrylak-Nowak, B., Dresler, S., Rubinowska, K., & Matraszek-Gawron, R. (2021). Eliciting effect of foliar application of chitosan lactate on the phytochemical properties of *Ocimum basilicum* L. and *Melissa officinalis* L.

- Food Chemistry*, 342, 128358. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128358>
- Heng, Y., Xavier, C., Frette, S., Lars, P., Christensen, S., & Kai, G. (2012). Chitosan oligosaccharides promote the content of polyphenols in Greek Oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 136-143. <https://doi.org/10.1021/jf204376j>
- Fooladi Vanda, Gh., Shabani, L., & Razavizadeh, R. (2019). Chitosan enhances rosmarinic acid production in shoot cultures of *Melissa officinalis* L. through the induction of methyl jasmonate. *Botanical Studies*, 60, 26 <http://dx.doi.org/10.1186/s40529-019-0274-x>
- Jahantab, A., Sepehri, A., Mirdailami, S., Ghasemi Arian, Y., & Nouri, S. (2011). Autecology of *Ferulago angulate* (Schlecht) Boiss as an herbal medicinal plant in central of Zagros. *Research of Plant Sciences*, 6(4), 12-22.
- Kandil, M. A. M., Reham, S., & Ahmed, S. S. (2016). Growth and quality of sage (*Salvia officinalis*), parsley (*Petroselinum crispum*) and nasturtium (*Tropaeolum majus*) as affected by water deficit. *Middle East Journal of Agriculture Research*, 5(3), 286-294. <https://www.researchgate.net/publication/307016400>
- Kheiri, A., Mohajjel shoja, H., & Sarajoughi, M. (2020). Study on the effect of drought stress and methanol spraying on dehydrin1 gene expression in *Carthamus tinctorius*. *Genetic Engineering and Biosafety Journal*, 9, 67-75. <http://dori.net/dor/20.1001.1.25885073.1399.9.1.4.7>
- Khosh Eqbal, F., Ghasemi Pirbalouti, A., Enteshari, Sh., & Davarpanah, S. J. (2020). Qualitative and quantitative effects of drought stress on essential oil compositions of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.). *Journal of Plant Research*, 33(2), 292-303. <https://dori.net/dor/20.1001.1.23832592.1399.33.2.1.3>
- Kulak, M. (2020). Recurrent drought stress effects on essential oil profile of Lamiaceae plants: An approach regarding stress memory. *Industrial Crops and Products*, 154, 1-17. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112695>
- Malekpoor, F., Ghasemi Pirbalouti, A., Salimi, A., & Momtaz, H. (2017). Effects of chitosan on gene expression of chavicol-O-methyl transferase and phenylpropanoid components of *Ocimum basilicum* (purple cultivar) under water deficit. *Journal of Biology Society*, 30, 391-401. <https://dori.net/dor/20.1001.1.23832738.1396.30.3.7.0>
- Marinova, D., Ribarova, F., & Atanassaova, M. (2005). Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Journal University of Chemistry Technology Metallurgy*, 40(3), 255-260.
- Mohammadi, H., Amirikia, F., Ghorbanpour, M., Fatehi, F., & Hashempour, H. (2019). Salicylic acid induced changes in physiological traits and essential oil constituents in different ecotypes of *Thymus kotschyanus* and *Thymus vulgaris* under well watered and water stress conditions. *Industrial Crops and Products*, 129, 561-574. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.046>
- Momeni, M., Ghasemi Pirbalouti, A., Mousavi, A., & Badi, H. N. (2020). Effect of foliar applications of salicylic acid and chitosan on the essential oil of *Thymbra spicata* L. under different soil moisture conditions. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 23(5), 1142-1153. <http://dx.doi.org/10.1080/0972060X.2020.1801519>
- Mozaffarian, V. (2008). *A Pictorial Dictionary of Botanical Taxonomy Latin-English-French-Germany-Persian*. Germany: Koeltz Scientific Books.
- Mumivand, H., Ebrahimi, A., Morshedloo, M. R., & Shayganfar, A. (2021). Water deficit stress changes in drug yield, antioxidant enzymes activity and essential oil quality and quantity of Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.). *Industrial Crops and Products*, 164, 113381. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113381>
- Pandey, P., Irulappan, V., Bagavathiannan, M. V., & Senthil-Kumar, M. (2017). Impact of combined abiotic and biotic stresses on plant growth and avenues for crop improvement by exploiting physio-morphological traits. *Front Plant Science*, 8, 1-15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00537>
- Poorghadir, M., Mohammadi Torkashvand, A., Mirjalili, S. A., & Moradi, P. (2020). Interactions of amino acids (proline and phenylalanine) and biostimulants (salicylic acid and chitosan) on the growth and essential oil components of Savory (*Satureja hortensis* L.). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 30, 101815. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101815>
- Pradhan, J., Sahoo, S. K., Lalotra, S., & Sarma, R. S. (2017). Positive impact of abiotic stress on medicinal and aromatic plants. *International Journal of Plant Sciences*, 12 (2), 309-313. <https://doi.org/10.15740/HAS/IJPS/12.2/309-313>
- Rajabzadeh, Sh., Ghasemi, A., Yadegari, M., & Rahimi, T. (2023). Evaluation of the foliar application effect on the chemical compositions of *Rosa damascena* Mill. essential oil of Chaharmahal va Bakhtiari province. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 10(2), 80-95. <https://doi.org/10.30495/ejmp.2022.1954175.1682>
- Razavi, S. M., Ravansalar, A., & Mirinejad, Sh. (2015). The investigation on phytochemicals from *Ferulago angulata* (Schlecht) Boiss, indigenous to central parts of Iran. *Natural Product Research*, 29, 2037-2040. <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1017725>
- Rustaiyan, A. & Sedaghat, S. (2002). Composition of the essential oil of *Ferulago angolata* (Schlecht) Boiss. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 146(6), 447-448. <http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2002.9699917>
- Safari, Kh., Yadegari, M., & Hamedi, B. (2018). Effects of climate and soil properties on phytochemical characteristics of *Ferulago angulate* (Schltdl.) Boiss. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 9(2), 2719-2726. <https://doi.org/10.30495/ijpp.2019.664576>

- Sasani, N., Paques, L. E., Boulanger, G., & Singh, A. P. (2021). Physiological and anatomical responses to drought stress differ between two larch species and their hybrid. *Trees*, 35, 1467-1484. <https://doi.org/10.1007/s00468-021-02129-4>
- Shahbazi, Y. (2016). Variation in chemical composition of essential oil of *Ferulago angulata* collected from west parts of Iran. *Pharmaceutical Sciences*, 22(1), 16-21. <http://dx.doi.org/10.15171/PS.2016.04>
- Shaykh-Samani, A., Ghasemi Pirbalouti, A., Yadegari, M., & Rajabzadeh, F. (2023). Foliar application of salicylic acid improved the yield and quality of the essential oil from *Dracocephalum kotschy* Boiss. under water deficit Stress. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 26, 769-779. <https://doi.org/10.30495/iper.2022.1952014.1771>
- Thakur, M. & Kumar, R. (2020). Foliar application of plant growth regulators modulates the productivity and chemical profile of damask rose (*Rosa damascena* Mill.) under mid hill conditions of the western Himalaya. *Industrial Crops and Products*, 158, 113024. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113024>
- Xiaolu, W., Jie, Y., Aoxue, L., & Yu, Ch. (2016). Drought stress and re-watering increase secondary metabolites and enzyme activity in *Dendrobium moniliforme*. *Industrial Crops and Products*, 94, 385-393. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.08.041>
- Yadegari, M. (2022). Effects of NPK, botanisol, and humic acid on morphophysiological traits and essential oil of three *Satureja* species under drought stress. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 38 (1), 61-80. <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2022.356264.3073>
- Yadegari, M. (2018). Foliar application effects of salicylic acid and jasmonic acid on the essential oil composition of *Salvia officinalis*. *Turkish Journal of Biochemistry*, 43(4), 417-424. <https://doi.org/10.1515/tjb-2017-0183>
- Yadegari, M. (2017). Irrigation periods and Fe, Zn foliar application on agronomic characters of *Borago officinalis*, *Calendula officinalis*, *Thymus vulgaris* and *Alyssum desertorum*. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*, 48(3), 307-315. <https://doi.org/10.1080/00103624.2016.1269796>
- Zakerian, F., Sefidkon, F., Abbaszadeh, A., & Kalateh, S. (2020). Drought stress and *micorrhiza* fungi effects on physiologic and essential oil characters of *Thymus sahandica* Bornm. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 51(1), 189-201. <https://doi.org/10.22059/ijhs.2018.267489.1521>
- Zamani, S., Ghasemnejad, A., Alizadeh, M., & Alami, M. (2016). Investigating the effect of salinity and salicylic acid on the activity of phenylalanine ammonialyase enzyme and Phenylpropanoids compounds of *Cynara scolymus* L. in vitro. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 3(4), 28-39. <https://doi.org/10.30495/ejmp.2016.694504>
- Zandalinas, S. I., Mittler, R., Balfagon, D., Arbona, V., & Gomez-Cadenas, A. (2017). Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. *Physiology of Plant*, 162(1), 2-12. <https://doi.org/10.1111/ppl.12540>

Effects of irrigation regimes and organic elicitors on physiological and phytochemical characters and the essential oil of *Ferulago angulate* (Schltdl.) Boiss

Mehrab Yadegari

Research Center of Nutrition and Organic Products (R.C.N.O.P.), Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

(Received: 2023/12/05, Accepted: 2024/04/13)

Abstract

Ferulago angulate (Schltdl.) Boiss. belongs to the Apiaceae family and is one of the endangered endemic species in Iran. This investigation was done from spring (May) 2022 to fall (September) 2023 at the Research Farm of the Islamic Azad University Branch of Shahrekord, Iran. The present study was conducted in a randomized complete block design (RCBD) with three replications to investigate the effect of foliar application of different organic elicitors (chitosan, salicylic acid and phenylalanine) with a control level (without any spraying) on the physiological and phytochemical characters of *Ferulago angulate*. Three irrigation regimes (3, 6, and 9 day intervals) in main plots and foliar application of elicitors in sub plots were done. The essential oils were extracted by hydro-distillation and analyzed using GC/MS. According to the obtained results, applied elicitors significantly influenced the physiological and phytochemical characters of *Ferulago angulate*. In two years, the highest chlorophyll content (16.6-17.1 mg.Kg⁻¹ FW) and total phenol content (1.57-1.65 mg.Kg⁻¹ FW) were obtained in chitosan (0.25 mg.l⁻¹) and phenylalanine (1g.l⁻¹) treatments by irrigation regimes at a 3- and 6 day interval, respectively. The highest essential oil content (0.65-0.61 %) was obtained from the treated plants by chitosan (0.25 mg.l⁻¹) and phenylalanine (1g.l⁻¹) in an irrigation regime with a 3 day interval. According to the biennial results of the chemical analysis of the essential oils by GC/MS, the most important chemical compounds that determine the quality of *Ferulago angulate* essential oil included Cyclic monoterpenes such as alpha-thujone (11.1-5.5 %), alpha-pinene (9.9-25.2 %) and cis-ocimene (12.2-22.4%), which are the most common components of essential oil plants. Alpha-pinene, belonging to the bicyclic monoterpene was the predominant constituent of the essential oil of *Ferulago angulate*. Cyclic hydrocarbons such as nonadecane and heneicosane in plants treated with salicylic acid are higher than in other treated plants. Finally, the application of chitosan at 0.25 mg.l⁻¹ can be a good strategy to improve the physiological and essential oil quantity and quality of *Ferulago angulate* in cold and semi-arid climates.

Keywords: Alpha-pinene, Chitosan, *Ferulago angulate*, foliar application, irrigation, phenylalanine

Corresponding author, Email: mehrabyadegari@gmail.com