Journal of
Plant Environmental Physiology
Print ISSN: 2423-7671
Online ISSN: 2783-4689
PSI
Phycological Society of Iran

Effects of foliar application of salicylic acid and proline on the growth traits and the essential oil content of *Dracocephalum kotschyi* Boiss. under water deficit conditions

Azam Shaykh Samani[1], Abdollah Ghasemi Pirbalouti[2], Mehrab Yadegari[3], Faezeh Rajabzadeh[4]

[1] Medicinal and Aromatic Plants, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran, Email: a_shikhsamani@yahoo.com
[2] Research Center for Medicinal plants, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, Email: ghasemi@qodsiau.ac.ir
[3] Department of Agronomy and Medicinal Plants, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran, Email: mehrabyadegari@gmail.com
[4] Department of Agronomy, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, Email: faizehrajabzadeh@yahoo.com

Article type:
Research article

Article history
Received: 14.03.2021
Revised: 26.05.2021
Accepted: 29.05.2021
Published:20.04.2023

Keywords
Effective substance
Elicitor
Essential oil
Proline
Water deficit stress

Abstract

In the drought conditions of the last few decades, the use of novel scientific methods to increase the growth and production of effective substances of the medicinal and aromatic plants has been essential. This study was done to investigate the effect of foliar application of salicylic acid and proline on the growth traits and essential oil content of *Dracocephalum kotschyi* Boiss. (Lamiaceae family) under water deficit conditions at the Research Farm of the Research Center of Agricultural and Natural Resources of Chaharmahal va Bakhtiari Province, Iran during the two crop years of 2017-2019. The experiment was performed as a factorial in a CRBD with three replications. Experimental factors included irrigation treatment at two levels of normal irrigation (non-stress, irrigation after draining 30% of F.C.) and deficit irrigation regime (irrigation after draining 50% of F.C.), and three levels of foliar application (control, salicylic acid 1 mM, and proline 1 mM). The essential oil from the aerial parts of the herb at early flowering stage was extracted by water distillation. According to the results, the highest content of chlorophyll a, b, and total (0.96, 0.45, and 1.39 mg/g, respectively) were observed in water deficit irrigation treatment. Also, application of water deficit stress increased the proline content by 70% compared to the control while it did not show a significant effect on the morphological traits of plant height, stem diameter, and plant dry weight. Salicylic acid as a defense factor reduced the negative effects of deficit irrigation conditions on the essential oil, proline, and chlorophylls a, b, and total contents. The highest and lowest contents of essential oils were obtained in foliar-application of proline (1.12 mL/100 g dry matter) and control (0.84 mL/100 g dry matter), respectively. In conclusion, the foliar-spraying of salicylic acid in conditions of deficit irrigation is recommended to reduce the negative effects of stress and increase the content of *D. kotschyi* essential oil.

Cite this article as: Shaykh Samani, A., Ghasemi Pirbalouti, A., Yadegari, M., Rajabzadeh, F. (2023). Effects of foliar application of salicylic acid and proline on the growth traits and the essential oil content of *Dracocephalum kotschyi* Boiss. under water deficit conditions. *Journal of Plant Environmental Physiology*, 69(1): 160-171.

©The author(s)
Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch
Doi: 10.30495/iper.2022.1952014.1771 Dor: 20.1001.1.24237671.1402.18.69.9.7

فیزیولوژی محیطی گیاهی
شاپا چاپی: ۲۴۲۳-۷۶۷۱
شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳-۴۶۸۹
PSI
انجمن جلبک شناسی ایران
Phycological Society of Iran
دانشگاه آزاد اسلامی
واحد گرگان

اثر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و پرولین بر رشد و میزان اسانس گیاه دارویی زرین‌گیاه (*Dracocephalum kotschyi* Boiss.) تحت شرایط کم‌آبیاری

اعظم شیخ سامانی[۱]، عبداله قاسمی پیربلوطی[۲*]، مهراب یادگاری[۳]، فائزه رجب‌زاده[٤]

۱ گیاهان دارویی و معطر، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران، رایانامه: a_shikhsamani@yahoo.com
۲ مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، واحد شهرقدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، رایانامه: ghasemi@qodsiau.ac.ir
۳ گروه زراعت و گیاهان دارویی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران، رایانامه: mehrabyadegari@gmail.com
٤ گروه زراعت، واحد شهرقدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، رایانامه:faizehrajabzadeh@yahoo.com

نوع مقاله:
مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۲٤
تاریخ بازنگری: ۱٤۰۰/۰۳/۰۵
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۰/۰۳/۰۸
تاریخ چاپ:۱٤۰۲/۰۱/۳۱

واژه‌های کلیدی:
اسانس
الیسیتور
پرولین
تنش کم‌آبی
ماده مؤثره

چکیده

در شرایط خشک‌سالی چند دهه اخیر، استفاده از روش‌های علمی و جدید برای افزایش رشد و میزان موثره گیاهان دارویی و معطر امری ضروری است. این پژوهش، به‌منظور بررسی اثر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و پرولین بر ویژگی‌های مورفو-فیزیولوژیکی و میزان اسانس گیاه دارویی و معطر زرین‌گیاه (*Dracocephalum kotschyi* Boiss.) از تیره نعناعیان، در شرایط مختلف رطوبتی خاک در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری در دو سال زراعی (۹۸-۹۹ و ۹۷-۹۸) اجرا شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل عامل آبیاری در دو سطح آبیاری مطلوب یا شاهد (بدون تنش یا آبیاری در ۳۰ درصد تخلیه رطوبتی از ظرفیت زراعی .F.C) و کم‌آبیاری (آبیاری پس از ۵۰ درصد تخلیه رطوبتی از .F.C) و عامل محلول‌پاشی برگی در سه سطح شاهد (محلول‌پاشی حلال یا آب) و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و پرولین با غلظت‌های ۱ میلی‌مولار در نظر گرفته شد. نمونه‌های اسانس از اندام هوایی در اوایل گل‌دهی به روش تقطیر با آب استخراج شدند. مطابق نتایج، بیشترین میزان کلروفیل‌های *a*، *b* و کل (به‌ترتیب ۰/۹٦، ۰/٤۵ و ۱/۳۹ میلی‌گرم در گرم) در تیمار کم‌آبی مشاهده شد. همچنین، اعمال تیمار کم‌آبی باعث افزایش ۷۰ درصدی مقدار پرولین نسبت به شاهد شد؛ در حالی‌که تأثیر معنی‌داری بر صفات مورفولوژیکی ارتفاع گیاه، قطر ساقه و وزن خشک گیاه نشان نداد. محلول-پاشی اسیدسالیسیلیک به‌عنوان یک عامل دفاعی در برابر تنش کم‌آبی سبب کاهش اثرات منفی تنش بر میزان اسانس، پرولین و کلروفیل‌های *a*، *b* و کل شد. بیشترین و کمترین میزان اسانس به‌ترتیب در محلول‌پاشی پرولین (۱/۱۲ میلی‌لیتر در ۱۰۰ گرم وزن خشک) و شاهد (۰/۸٤ میلی‌لیتر در ۱۰۰ گرم وزن خشک) به‌دست آمد. در نهایت، استفاده از اسید سالیسیلیک در شرایط کمبود رطوبت برای کاهش اثرات منفی تنش و افزایش میزان اسانس زرین‌گیاه توصیه می‌شود.

استناد: شیخ سامانی، اعظم؛ قاسمی پیربلوطی، عبداله؛ یادگاری، مهراب؛ رجب‌زاده، فائزه. (۱٤۰۲). اثر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و پرولین بر رشد و میزان اسانس گیاه دارویی زرین‌گیاه (*Dracocephalum kotschyi* Boiss) تحت شرایط کم‌آبیاری. *فیزیولوژی محیطی گیاهی*، ٦۹ (۱)، ۱۷۱-۱٦۰.

Doi: 10.30495/iper.2022.1952014.1771
Dor: 20.1001.1.24237671.1402.18.69.9.7

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان
© نویسندگان.

مقدمه

گیاه دارویی و معطر زرین‌گیاه (*Dracocephalum kotschyi* Boiss.) که به نام بادرنجبویه دنایی نیز شناخته می‌شود، از خانواده نعناعیان (Lamiaceae) بوده و یکی از گونه‌های بومی در حال انقراض ایران است (Ashrafi, 2017). برداشت بیش از حد این گیاه در مرحله گلدهی، خشکسالی، عدم کشت و اهلی شدن و محدود بودن مناطق پراکنش آن باعث شده که زرین‌گیاه در فهرست گیاهان در خطر انقراض قرار گیرد (Fallah et al., 2020). این گیاه دارای خواص دارویی ازجمله اثرات ضدچربی خون، تقویت سیستم‌ایمنی، ضداسپاسم، ضددرد، سیتوتوکسیک، ضدمیکروب، و ضدویروس است (Shakib et al., 2018). از زرین‌گیاه برای درمان درد، تب، سردرد، التهاب، احتقان و تشنج و در طب سنتی ایران از آن برای التیام زخم‌ها و دردهای روماتیسمی استفاده می‌شود (Sonboli et al., 2019). زرین‌گیاه سرشار از اسانس، فلاونوئید، ترپنوئیدهای تری‌پانوسیدال، رزمارینیک اسید، لینولنیک اسید و گلیکوزیدهای مونوترپن است و اسانس آن دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشد (Goli et al., 2013). ترکیباتی نظیر آلفاپینن، لیمونن، ژرانیول، ژرانیال، کارواکرول، نرال، ژرنیال استات، کاریوفیلن و اوکالیپتول اجزای اصلی اسانس زرین‌گیاه می‌باشند (Samadi et al., 2018).

بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه مانند اسانس‌ها تحت تأثیر عوامل محیطی (مدیریتی و اکولوژیکی) و عوامل وراثتی (شیمی‌تیپ، ژنوتیپ، رقم، زیرگونه و مرحله فنولوژیکی) و برهمکنش آن‌ها است (Bakhtiar et al., 2021; Farhadi et al., 2020). در مناطق خشک و نیمه خشکی، کمبود آب نقش مهمی در رشد و کمیت و کیفیت مواد موثره گیاهان دارویی (مانند آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها و اسانس) دارد. تنش خشکی با تحریک یک‌سری واکنش‌های بیوشیمیایی و رساندن آسیب سلولی توسط رادیکال‌های آزاد، باعث برهم زدن تعادل بین سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و رادیکال‌های آزاد می‌شود (Babaei et al., 2021). نتایج بیشتر مطالعات نشان می‌دهد که تشکیل و تجمع اسانس‌های گیاهان دارویی معمولاً با تنش خفیف خشکی افزایش می‌یابد (Alavi Samany et al., 2022).

برای دستیابی به عملکردهای کمی و کیفی پایدار گیاهان دارویی و معطر در شرایط استرس محیطی و افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در این شرایط، بایستی نسبت به مدیریت‌های نوین باغبانی اقدام کرد. در این راستا، یکی از راه‌های کاهش خسارات ناشی از تنش خشکی یا تنش کم‌آبی و افزایش تحمل آن، کاربرد خارجی پرولین است. پرولین نوعی آمینو اسید موجود در ساختارهای پروتئینی است. پرولین به‌عنوان یک اسمولیت، گونه‌های فعال اکسیژن (آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی) را می‌رباید و ساختار پروتئین را تثبیت می‌کند؛ در نتیجه قادر است از سلول‌ها در برابر آسیب‌های تنش محافظت کند (Szabados and Savoure, 2009). پرولین موجب تنظیم فشار اسمزی، کاهش هدررفت آب از سلول و حفظ آماس سلولی شده و همچنین در بهبود فتوسنتز نقش دارد (Sofy et al., 2020).

راه‌کار دیگر برای کاهش خسارات ناشی از تنش خشکی، استفاده از الیسیتورهایی مانند اسید سالیسیلیک است (Momeni et al., 2020). اسید سالیسیلیک یا مونوهیدروکسی بنزوئیک اسید، یک ترکیب فنلی است که به‌طور طبیعی در گیاهان در مقادیر بسیار کم وجود دارد و عملکردهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه را تنظیم می‌کند. این ترکیب به‌عنوان یکی از محرک‌های موثر برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی و معطر

مورد تایید قرار گرفته است که باعث ایجاد تنش کاذب در گیاه و تحریک پاسخ‌های دفاعی گیاه می‌شود (Sofy et al., 2020). همچنین، در فعال‌سازی سیستم آنتی‌اکسیدانی ناشی از تنش درگیر است (Janda and Ruelland, 2015). تحقیقات Sofy و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد که محلول‌پاشی پرولین و اسید سالیسیلیک می‌تواند اثرات منفی تنش کم‌آبی در ذرت را کاهش دهد. Momeni و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که محلول‌پاشی ۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک تحت تنش کمبود آب باعث افزایش محتوای اسانس و غلظت کارواکرول در *Thymbra spicata* L. شد. Darvizheh و Darvizheh (۲۰۱۸) گزارش کردند که محلول پاشی پرولین به‌عنوان یک عامل دفاعی در شرایط تنش کم آبی موجب افزایش قطر ساقه، ارتفاع، وزن خشک و تر گل و کاهش میزان پرولین شد. مطابق نتایج تا به حال مطالعه چندانی در زمینه اثر کم‌آبیاری و محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک و پرولین بر گیاهان دارویی ارزشمند و انحصاری ایران انجام نشده است؛ لذا مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثرات محلول‌پاشی برگی اسیدسالیسیلیک و پرولین در دو سطح مختلف آبیاری بر برخی خصوصیات مورفو-فیزیولوژیکی و میزان اسانس گیاه دارویی زرین‌گیاه (*Dracocephalum kotschyi* Boiss.) کشت شده در شرایط آب و هوایی شهرکرد طی دو سال زراعی به مرحله اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در دو سال زراعی (۹۹-۹۸ و ۹۸-۹۷) در مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری، شهرکرد با عرض شمالی جغرافیایی ۲۰ درجه و ۳۲ دقیقه و طول شرقی جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۱ دقیقه با ارتفاع ۲۰۶۱ متر از سطح دریا اجرا شد. آمار هواشناسی منطقه مورد مطالعه در طول دو سال زراعی در جدول ۱ و نتایج تجزیه فیزیکوشیمیایی خاک از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۱: میانگین تغییرات دمایی و بارندگی منطقه مورد مطالعه طی ۱۳۹۹-۱۳۹۷

پارامتر	سال	خرداد	تیر	مرداد	شهریور	مهر	آبان	آذر	دی	بهمن	اسفند	فروردین	اردیبهشت
متوسط دما (درجه سانتی‌گراد)	۹۸-۱۳۹۷	۲۰	۲۴/۳	۲۴/۵	۲۲/۳	۱۵/۸	۸/۸	۵/۳	۳/۲	۲/۹	۲/۱	۹/۰	۱۲/۸
	۹۹-۱۳۹۸	۱۹/۵	۲۷/۳	۲۴/۱	۲۰/۹	۱۶/۸	۷/۴	۳/۰	۱/۷	۱/۳	۷/۱	۸/۶	۱۴/۲
بارندگی (میلی‌متر)	۹۸-۱۳۹۷	۱۳	-	-	۲/۴	۵/۸	۵۳/۸	۴۴/۸	۹۰/۵	۲۵/۶	۳۲/۹	۱۱۷/۴	۶/۵
	۹۹-۱۳۹۸	۵/۶	-	۷/۱	-	۱	۲۵/۲	۳۵/۸	۱۶/۱	۱۶	۵۲/۶	۷۴/۲	۳۲/۲
متوسط رطوبت نسبی (درصد)	۹۸-۱۳۹۷	۳۸/۵	۲۵	۲۷/۵	۲۹/۵	۳۸/۵	۵۴	۵۴	۵۵	۵۴	۵۴/۵	۵۲/۵	۴۴/۵
	۹۹-۱۳۹۸	۳۸/۵	۲۷	۲۸/۵	۲۸	۳۵/۵	۴۷	۶۴/۵	۵۹	۵۰/۵	۵۱	۵۵/۵	۴۷

جدول ۲: نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

عمق‌خاک (سانتی‌متر)	بافت خاک	کربن آلی(درصد)	هدایت‌الکتریکی (دسی‌زیمنس برمتر)	واکنش	ازت (درصد)	فسفر	پتاسیم	روی	منگنز	آهن	مس	بور
						(میلی‌گرم بر کیلوگرم)						
۰-۳۰	سیلتی کلی‌لوم	۰/۳۵۱	۱/۰۳	۷/۸٤	۰/۰۳۳	۲/۲	۱٦۷	۰/٤۹	۷/۲٦	۲/۵۸	۱/۱۵	۲/۱٤

فاکتورهای آزمایشی شامل تیمار آبیاری در دو سطح (آبیاری مطلوب یا بدون تنش و کم‌آبیاری) به‌ترتیب آبیاری در حد ظرفیت زراعی (F.C.) و پس از تخلیه ۵۰ درصد ظرفیت زراعی (Emami Bistgani et al., 2017) بر مبنای میزان تبخیر از تشتک کلاس A و تیمار محلول‌پاشی شاهد، سالیسیلیک اسید (۱ میلی‌مولار) و پرولین (۱ میلی‌مولار) (Ghasemi Pirbalouti et al., 2014) در نظر گرفته شد. ابعاد هر کرت ۱/۸۰×٦ متر (شامل ۳ پشته ٦۰ سانتی‌متری) و فاصله بین تکرارها ۲ متر تعیین شد. محلول‌پاشی طی سه مرحله (قبل از گلدهی، شروع گلدهی و ۵۰٪ گلدهی) و به فاصله ۱۵ روز یک‌بار انجام شد.

نمونه‌برداری: دو هفته پس از زمان ۵۰ ٪ گلدهی، پس از حذف ردیف‌های کناری و ابتدا و انتهای هر ردیف به‌عنوان اثر حاشیه، تعداد ۱۰ بوته از هر کرت به‌طور تصادفی انتخاب و صفات ارتفاع گیاه، قطر ساقه و وزن خشک بوته اندازه‌گیری شدند.

اندازه‌گیری میزان کلروفیل *a*، *b* و کل: در هر تیمار، از سه برگ کاملاً سبز و تازه از هر گیاه نمونه‌برداری شد. مقدار ۰/۵ گرم از نمونه در ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ و الکل مطلق با نسبت ۱:۱ در یک لوله آزمایش عصاره‌گیری شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد انکوبه شدند و پس از آن سرد و یک شب در تاریکی نگهداری شدند. سپس، میزان کلروفیل *a*، *b* و کل، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Perkin-Elmer Lambda UV/Vis) در طول موج ٦٦۳ و ٦٤۵ نانومتر بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر محاسبه گردید (Arnon, 1967).

اندازه‌گیری میزان پرولین: مقدار پرولین با استفاده از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) تعیین شد. بدین‌منظور، ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳٪ به ۰/۵ گرم ماده تر گیاهی اضافه شد. بعد از ۲٤ ساعت محلول در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. مقدار ۲ میلی‌لیتر اسید نااین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک-گلاسیال به ۲ میلی‌لیتر از عصاره صاف شده افزوده و مخلوط شد. همزمان منحنی استاندارد پرولین ترسیم گردید. نمونه‌ها در حمام آب گرم به مدت ۱ ساعت حرارت و سپس درون حمام یخ قرار داده شدند. سپس، مقدار پرولین با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Perkin-Elmer Lambda UV/Vis) در طول موج ۵۲۰ نانومتر و با استفاده از معادله استاندارد، حجم عصاره و وزن نمونه محاسبه گردید.

اندازه‌گیری میزان اسانس: برای تعیین میزان اسانس، از ۲۰ گرم نمونه خشک شده به کمک دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آب اسانس‌گیری انجام شد. درصد اسانس بر حسب میلی‌لیتر میزان اسانس برای هر ۱۰۰ گرم از گیاه خشک شده محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (19.0) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون

چند دامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال ۱ و ۵٪ انجام شد. جهت رسم نمودار از نرم افزار Excel 2010 استفاده گردید.

نتایج

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر ساده آبیاری و محلول‌پاشی و اثر متقابل تیمارها بر ارتفاع بوته معنی‌دار نبود؛ با این وجود اثر ساده سال بر ارتفاع بوته ($p \leq 0.01$) معنی‌دار بود (جدول ۳)؛ به‌طوری‌که بیشترین ارتفاع بوته (۴۲/۷۵ سانتی‌متر) در سال اول به‌دست آمد (جدول ٤).

جدول ۳: تجزیه واریانس اثرات محلول‌پاشی، آبیاری و سال بر صفات مورفو-فیزیولوژیکی و میزان اسانس زرین‌گیاه

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		ارتفاع گیاه	قطر گیاه	وزن خشک	پرولین	کلروفیل کل	کلروفیل *a*	کلروفیل *b*	میزان اسانس
آبیاری	۱	۹/۵۱ ns	۳۵/۰٦ns	۷/۱۱ns	۱٤۷۰/۳۵**	۱۰۸/٤۷**	۹۳/۱۹**	٤/۲۸**	۰/۱٤۹ ns
محلول‌پاشی	۲	۹۳/۵۱ns	٤۳/۲ns	۱۵٤/۷۵ns	۲۳۳/۹۰**	۹/٤۸**	۳/٦۷**	۰/٤۱ ns	۰/۰۰۱**
سال	۱	۳٤۵/۲۸**	۳٦/۹**	٤٤۱/۰۰ ns	۳/۹۵ **	۰/۰۸ **	۱/٦۷ ns	۰/۳۵ **	۰/۰۰۸ ns
محلول‌پاشی * آبیاری	۲	۱٦/۳٤ns	۵۳/۱۱ns	۲۲۳/۰۳ns	۲۱٤/۷۱ *	۵/۰۷ **	۲/۰٦ **	۰/۸۲ ns	۰/۰۰۷ ns
سال * آبیاری	۱	۵/۹٤ns	۱۳/۷٤ns	٤٤/٤٤ns	۰/۳۰۹ns	۰/۸۵ ns	۱/۱٤ ns	۰/۰۸ ns	۰/۰۰۰ ns
سال * محلول‌پاشی	۲	٦۰/۹۹ns	۲۹/۱٤ns	۱۹۵/۵۸ ns	۰/٦۳۲ ns	۲/۰۲ ns	۰/۰۳۱ ns	۰/٤۵ ns	۰/۰۰٤ ns
سال*محلول‌پاشی*آبیاری	۲	۷۳/۳۸ns	۹۰/۳۵ns	۱۸۰/۵۳ ns	۰/۵۰٦ ns	۱/٦٦ ns	۰/۵۱۵ ns	۰/۲۲ ns	۰/۰۰۰ ns
خطا	۲٤	۷۲/۲٦	۱۰/۵۸	۱۸۱/۱۰	۳۸/۵۰	۲/۲۰	۰/۵۵	۰/۵۷	۰/۰٤

ns- عدم تفاوت معنی‌دار، * و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

جدول ٤: مقایسه میانگین اثرات ساده عوامل آزمایش بر صفات مورفو-فیزیولوژیکی زرین‌گیاه

تیمار		ارتفاع گیاه	قطر گیاه	وزن خشک	پرولین	کلروفیل کل	کلروفیل a	کلروفیل b
		(سانتی‌متر)		(گرم)	(میکرومول بر گرم)	(میلی‌گرم بر گرم)		
آبیاری	آبیاری‌مطلوب	۳۱/۸۲±۱۳/۷۳	۱۰/۰۰±٤/٦۲	۱۲۷/۲۲±۸/۳۰	۲۸/۱۷±۸/۱۲b	۱/۱۵±۰/۱۵ b	۰/۷۹±۰/۰۷b	۰/۳۵±۰/۰٤ b
	کم‌آبیاری	۳۱/۷٤±۱٤/۰۸	۸/٤۸± ٤/۰۷	۱۲۹/٦۷±۸/۲۸	٤۷/۹٤±۱۰/٦٦a	۱/۳۹±۰/۲۳ a	۰/۹٦±۰/۱٦a	۰/٤۵±۰/۱۲ a
محلول پاشی	شاهد	۲۹/۵۷±۱۳/۷۹	۹/۳۹± ٤/۷۷	۱۲۸/٤۲±۹/۲۹	٤٦/۹۲±۱۲/٦۱a	۱/۳۹±۰/۲۸ a	۰/۹٦±۰/۲۰a	۰/٤۰± ۰/۱۱
	اسیدسالیسیلیک	۳۲/٦۲±۱٤/٦۲	۹/۳۱± ٤/۲۳	۱۳۲/٦۷± ۹/۹۵	۳٤/۳۳±۱۰/۳۱b	۱/۱۳±۰/۱۹ b	۰/۷۸±۰/۰۹c	۰/۳۵± ۰/۰٦
	پرولین	۳۳/۱٤±۱۳/٦۲	۹/۰۲± ٤/٤۵	۱۲٤/۲۵±۱۰/۲۳	۳۲/۹۲±۱٤/۲٤c	۱/۲۹±۰/۱۲ a	۰/۸۸±۰/۰۷b	۰/۳۹± ۰/۰٦
سال	سال اول	٤۲/۷۵±۸/۸۰a	٤/٤۸±۲/٦۹b	۱۲۲/۰٦±۱۲/۷۸	٤۲/۰٦±۱٤/٦٦a	۱/۲۱±۰/۲٤ b	۰/۸٦±۰/۱۵	۰/۳۵±۰/۰٦ b
	سال دوم	۲۰/۸۱±۷/۳۹ b	۱۲/۰۰±۳/۹۷a	۱۳٤/۸۳±۱۲/۵۰	۳٤/۰٦±۱۱/۷٤b	۱/۳۳±۰/۲۱ a	۰/۹۰±۰/۱۵	۰/٤۱±۰/۰۹ a

میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، در سطح ۵٪ در یک گروه آماری قرار می‌گیرند.

نتایج نشان داد که تنها اثر ساده سال بر قطر گیاه ($p \leq 0.01$) معنی‌دار است و سایر تیمارها و برهمکنش آن‌ها بر قطر گیاه معنی‌دار نبود (جدول ۳). بیشترین قطر گیاه (۱۲ سانتی‌متر) در سال دوم به‌دست آمد (جدول ٤).

با توجه به نتایج، اثر ساده آبیاری ($p \leq 0.01$) بر میزان کلروفیل (*a*، *b* و کل)، اثر ساده محلول‌پاشی ($p \leq 0.01$) بر میزان کلروفیل (*a* و کل) و اثر متقابل محلول‌پاشی و آبیاری ($p \leq 0.01$) بر روی کلروفیل *a* و کل معنی‌دار بود (جدول ۳). بیشترین مقدار کلروفیل *a* و کل به‌ترتیب ۱/۱۵ و ۱/٦۳ میلی‌گرم در

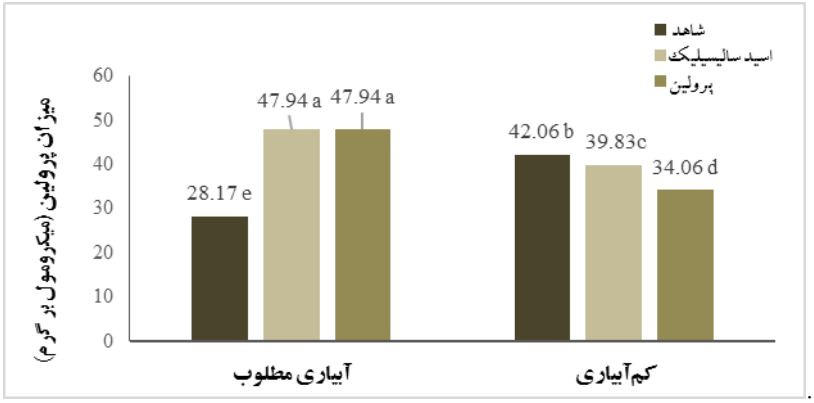
گرم در تیمار کم‌آبیاری و در شرایط عدم محلول‌پاشی و بیشترین میزان کلروفیل b (۰/٤٥ میلی‌گرم در گرم) در تیمار کم‌آبیاری به‌دست آمد؛ به‌طوری‌که به‌ترتیب افزایش ٤٦ و ٤٠ درصدی نسبت به شاهد نشان داد (جداول ٤ و ٥).

جدول ۵: مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری و محلول‌پاشی بر صفات مورفو-فیزیولوژیکی زرین‌گیاه

میزان اسانس (میلی‌لیتر در ۱۰۰ گرم وزن خشک)	کلروفیل b	کلروفیل a	کلروفیل کل	وزن خشک	قطر گیاه	ارتفاع گیاه	تیمار	
	(میلی‌گرم بر گرم)			(گرم)	(سانتی‌متر)		محلول‌پاشی	آبیاری
۰/۸۸± ۰/۱۹	۰/۳۵±۰/۰٤	۰/۷۸±۰/۰٥d	۱/۱٦±۰/۰۸ d	۱۲۷/۲۲ ± ۸/۳۰	۱۰/۰±٤/٦۲	۳۱/۸۲±۱۳/۷۳	شاهد	آبیاری مطلوب یا شاهد
۰/۹۷± ۰/۲۰	۰/٤٥±۰/۱۲	۰/۷٦±۰/۱۰d	۱/۰۷± ۰/۲۳ e	۱۲۹/٦۷ ± ۸/۲۸	۸/٤۸±٤/۰۷	۳۱/۷٤±۱٤/۰۸	اسیدسالیسیلیک	
۱/۱۰± ۰/۱۷	۰/٤٥±۰/۱۲	۰/۸٤± ۰/۰٥ c	۱/۲۱ ± ۰/۰۸ c	۱۲۹/٦۷ ± ۸/۲۸	۸/٤۸±٤/۰۷	۳۱/۷٤±۱٤/۰۸	پرولین	
۰/۸۰± ۰/۱۱	۰/۳٥±۰/۰٦	۱/۱٥±۰/۰۸a	۱/٦۳± ۰/۱۸ a	۱۲۲/۰٦±۱۲/۷۸	٤/٤۸±۲/٦۹	٤/۷٥± ۸/۸۰	شاهد	کم-آبیاری
۱/۱۰± ۰/۰۸	۰/٤٥±۰/۱۲	۰/۸۱±۰/۰٦ c	۱/۱۹±۰/۱۳ d	۱۲۹/٦۷± ۸/۲۸	۸/٤۸±٤/۰۷	۳۱/۷٤±۱٤/۰۸	اسیدسالیسیلیک	
۱/۱٤± ۰/۳۰	۰/٤۱±۰/۰۹	۰/۹۳±۰/۰٦b	۱/۳۷±۰/۱۲b	۱۳٤/۸۳±۱۲/٥۰	۱۲/۰±۳/۹۷	۲۰/۸۱±۷/۳۹	پرولین	

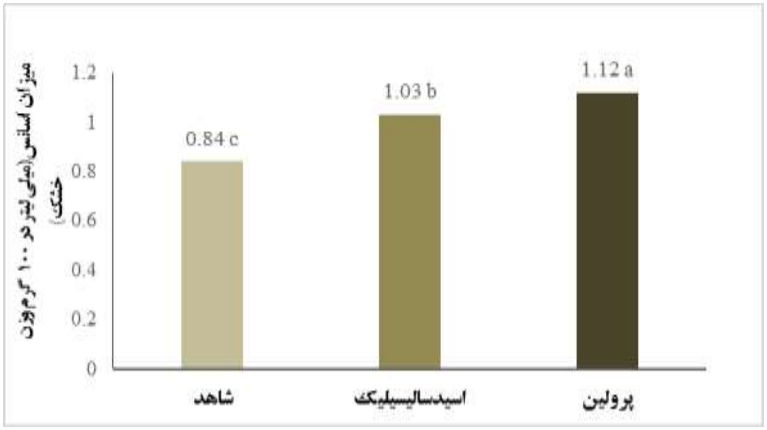
میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، در سطح ٥٪ در یک گروه آماری قرار می‌گیرند.

وزن خشک اندام هوایی تحت تأثیر تیمارهای اعمال شده قرار نگرفت و تفاوت معنی‌داری نشان نداد (جداول ۳ و ٤). مطابق نتایج تجزیه واریانس، اثر ساده تیمارها ($p\leq0.01$) و اثر متقابل محلول‌پاشی و آبیاری ($p\leq0.05$) بر میزان پرولین معنی‌دار بود، اما برهمکنش سایر تیمارها تأثیر معنی‌داری بر میزان پرولین نداشت (جدول ۳). با توجه به مقایسه میانگین اثرات ساده آبیاری، بیشترین مقدار پرولین در تیمار کم‌آبیاری (٤۷/۹٤ میکرومول بر گرم) مشاهده شد که در مقایسه با تیمار شاهد (۲۸/۱۷ میکرومول بر گرم)، ۷۰ درصد افزایش نشان داد (جدول ٤). در بررسی مقایسه میانگین اثرات ساده محلول‌پاشی، شرایط عدم محلول‌پاشی یا شاهد (٤٦/۹۲ میکرومول بر گرم) (جدول ٤) دارای بیشترین مقدار پرولین بود. در مقایسه میانگین اثرات متقابل، بیشترین مقدار پرولین در تیمار محلول پاشی اسید سالیسیلیک و پرولین و شرایط مطلوب آبیاری (٤۷/۹٤ میکرومول بر گرم) به‌دست آمد (شکل ۱).



شکل ۱: مقایسه میانگین اثر متقابل محلول‌پاشی و آبیاری بر میزان پرولین

با توجه به نتایج، تنها اثر ساده محلول‌پاشی بر میزان اسانس ($p \leq 0.01$) معنی‌دار بود (جدول ۳). تیمارهای محلول‌پاشی پرولین و اسیدسالیسیلیک، به‌ترتیب افزایش ۳۳ و ۲۳ درصدی را نسبت به شاهد نشان دادند. به‌طوری‌که، بیشترین مقدار اسانس در تیمارهای پرولین و اسید سالیسیلیک (به‌ترتیب ۱/۱۲ و ۱/۰۳ میلی‌لیتر در ۱۰۰ گرم وزن خشک) و کمترین میزان (۰/۸٤ میلی‌لیتر در ۱۰۰ گرم وزن خشک) در شاهد به‌دست آمد (شکل ۲).



شکل ۲: مقایسه میانگین اثر ساده محلول‌پاشی بر میزان اسانس

بحث

ارتفاع گیاه بیش از هر عامل دیگری تحت تأثیر ویژگی‌های ژنتیکی قرار می‌گیرد، اگرچه شرایط محیطی مانند تنش کم‌آبی نیز بر ارتفاع گیاه تأثیر می‌گذارد (Carvalho et al., 2018)؛ با این حال در تحقیق حاضر، به جز تیمار سال، اثر سایر تیمارها بر ارتفاع بوته معنی‌دار نبود (جدول ۳). به‌طوری‌که بیشترین ارتفاع بوته (٤۲/۷۵ سانتی‌متر) در سال اول به‌دست آمد (جدول ٤). بارش و دما به‌طور مستقیم بر توازن آب در گیاه تأثیر می‌گذارند و جزء عوامل تغییر در رطوبت خاک و رشد گیاه می‌باشند (Shokouhi, 2019). مطابق جدول ۱، با توجه به افزایش متوسط بارندگی و کاهش متوسط دمای منطقه مورد مطالعه در سال اول رشد گیاه نسبت به سال دوم رشد، این نتیجه دور از انتظار نبود. همچنین، به‌نظر می رسد گیاهان متحمل به خشکی مانند زرین‌گیاه با حفظ فشار تورژسانس سلول‌های محافظ روزنه، هدایت روزنه‌ای را تحت تنش آبی حفظ کرده و تغییر قابل توجهی در سرعت رشد، فتوسنتز و خصوصیات مورفولوژیکی گیاه ایجاد نمی‌شود. Ghasemi Pirbalouti و همکاران (۲۰۱٤) گزارش کردند که ارتفاع گیاه دارویی آویشن دنایی تحت تأثیر تنش خشکی و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک قرار نگرفت.

افزایش رشد رویشی گیاه در سال دوم آزمایش منجر به افزایش قطر بوته شد و بیشترین قطر گیاه (۱۲ سانتی‌متر) در سال دوم به‌دست آمد (جدول ٤). رشد ثانویه ناشی از تقسیم سلولی مریستم‌های جانبی، موجب افزایش ضخامت دیواره سلولی و قطر گیاه در سال دوم آزمایش شده است (Mohammadi Khalifelouiy et al., 2020). آب باعث افزایش تورژسانس سلولی، حجم و اندازه سلول و در نتیجه افزایش قطر گیاه می‌شود. همانطور که در قسمت ارتفاع بوته ذکر شد، به‌نظر می‌رسد زرین‌گیاه با حفظ فشار تورژسانس سلولی از کاهش قطر گیاه در شرایط تنش کم‌آبی جلوگیری کرده است.

بر خلاف انتظار، میزان کلروفیل (*a*، *b* و کل) در تیمار کم‌آبیاری نسبت به آبیاری مطلوب افزایش معنی‌داری داشت، اما در تیمار محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و پرولین، میزان این صفات نسبت به شاهد کاهش یافت (جدول ٤). به‌طوری‌که بیشترین مقدار کلروفیل *a* و کل به‌ترتیب ۱/۱۵ و ۱/٦۳ میلی‌گرم در گرم در تیمار کم‌آبیاری و در شرایط عدم محلول‌پاشی و بیشترین میزان کلروفیل *b* (۰/٤٥ میلی‌گرم در گرم) در تیمار کم‌آبیاری به‌دست آمد (جداول ٤ و ٥). کلروفیل‌ها به‌عنوان یکی از عوامل اصلی مؤثر بر ظرفیت بازده فتوسنتزی شناخته می‌شوند. مشابه پژوهش حاضر، در برخی از مطالعات تأثیر مثبت تنش کم‌آبی ملایم بر کلروفیل در جنس نعناعیان، مانند مانند آویشن قره‌باغی (Sodaiizadeh et al., 2017)، کاکوتی (Koocheki et al., 2008) و آویشن دنایی (Emami Bistgani et al., 2017) گزارش شده است که افزایش میزان کلروفیل را در پی داشته است. افزایش میزان کلروفیل متناسب با افزایش شدت تنش احتمالاً به دلیل افزایش غلظت کلروفیل در واحد سطح و وزن ناشی از کاهش رطوبت نسبی برگ است. احتمالاً زرین‌گیاه با استفاده از مکانیسم‌های دفاعی مانند افزایش تجمع کلروفیل، با تنش کمبود آب سازگار شده است.

بر اساس گزارش‌های مربوط به محصولات زراعی و باغی، انتظار داشتیم تنش کم‌آبی باعث کاهش ماده خشک و تر اندام‌های هوایی شود، در حالی که نتیجه مورد انتظار حاصل نشد (جدول ۳). برای توجیه این نتیجه می‌توان گفت که زرین‌گیاه تحت تنش کم‌آبی، رنگدانه‌های فتوسنتزی کلروفیل را حفظ کرده و از کاهش وزن خشک و تر گیاه جلوگیری کرده است. با وجود تفاوت ناچیز بین تیمارهای اعمال شده از نظر عملکرد ماده خشک و تر، در شرایط کم‌آبیاری و استفاده از پرولین و اسید سالیسیلیک افزایش ۱۰ درصدی این صفات مشاهده شد. به‌نظر می‌رسد پرولین و اسید سالیسیلیک توانسته‌اند اثرات منفی کم‌آبیاری بر عملکرد بیولوژیکی را کاهش دهند. Ghasemi Pirbalouti و همکاران (۲۰۱٤) نشان دادند که تنش خشکی و اسید سالیسیلیک تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک و تر آویشن دنایی نداشتند.

با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها، میزان پرولین در تیمار کم‌آبیاری نسبت به تیمار آبیاری مطلوب افزایش معنی‌داری نشان داد. همچنین محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و پرولین باعث کاهش میزان پرولین در گیاه شد (جدول ٤). افزایش پرولین طی تنش کم‌آبی ممکن است به‌دلیل تجزیه پروتئین‌ها باشد. به‌دلیل تجزیه پروتئین‌ها، اسمولیت‌هایی مانند پرولین در سلول تجمع می‌یابد که منجر به کاهش پتانسیل اسمزی، جذب آب، حفظ تورژسانس سلول‌ها و افزایش مقاومت در برابر تنش کم‌آبی می‌شود (Carvalho et al., 2018). همچنین، در شرایط تنش کم‌آبی، احتمالاً پرولین به دلیل افزایش سطح فعالیت D1-گلوتامیل کیناز تجمع می‌یابد. در این شرایط، گیاه دچار خشکی فیزیولوژیکی می‌شود و در نتیجه آنزیم‌های بیوسنتز پرولین فعال شده و آنزیم‌های تجزیه کننده غیر فعال می‌شوند (Umebese et al., 2009).

در تحقیق حاضر در تیمار کم‌آبیاری میزان افزایش پرولین در حالت شاهد بیشتر از زمان محلول‌پاشی بود که می‌تواند ناشی از اثر کاهش تنش به‌دلیل محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و پرولین باشد (شکل ۱). میزان کاهش تنش در زمان استفاده از پرولین بیشتر از زمان مصرف اسید سالیسیلیک بود. محلول‌پاشی پرولین با حذف و خنثی کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن و جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها و پروتئین‌ها و با تنظیم فشار اسمزی، پایداری غشای سلولی را حفظ کرده و مقاومت گیاه را در برابر تنش افزایش می‌دهد

(Carvalho et al., 2018). اسید سالیسیلیک نیز، احتمالاً آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را فعال کرده و با افزایش فعالیت آن‌ها، گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) ایجاد شده در اثر تنش را حذف می‌کند (Akbari and Maleki, 2018). تحقیقات Sofy و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد که محلول‌پاشی پرولین و اسید سالیسیلیک می‌تواند اثرات منفی تنش کم‌آبی در ذرت را کاهش دهد.

با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین مقدار اسانس در تیمارهای پرولین و اسید سالیسیلیک (به‌ترتیب ۱/۱۲ و ۱/۰۳ میلی‌لیتر در ۱۰۰ گرم وزن خشک) و کمترین میزان (۰/۸٤ میلی‌لیتر در ۱۰۰ گرم وزن خشک) در تیمار به‌دست آمد (شکل ۲). افزایش میزان اسانس در گیاهان تیمار شده با پرولین ممکن است به‌دلیل نقش آن در افزایش رشد کلی اندام‌های هوایی باشد. این ترکیب ممکن است که سنتز پروتئین را افزایش داده و فرآیند فتوسنتز را بهبود می‌بخشد (Janda and Ruelland, 2015). اسید سالیسیلیک به‌عنوان یک محرک، یک سری پیام‌های شیمیایی به گیاه می‌فرستد که سبب رها شدن پاسخ‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی و تجمع فیتوالکسین‌ها می‌شود. در پاسخ به سیگنال السیتور، سیستم دفاعی گیاه فعال شده و در نتیجه بیان ژن‌های دفاعی، متابولیت‌های ثانویه تجمع می‌یابند (Zhao et al., 2005). Mohammadi Khalifelouiy و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که بیشترین میزان اسانس گیاه مرزه تحت کاربرد پرولین به‌دست آمد. بر اساس گزارش Momeni و همکاران (۲۰۲۰)، بیشترین مقدار اسانس گیاه دارویی زوفایی تحت تنش خشکی ملایم و کاربرد اسید سالیسیلیک حاصل شد. از سوی دیگر، با وجود عدم معنی‌داری تیمار آبیاری، میزان اسانس در شرایط کم‌آبیاری نسبت به شرایط آبیاری مطلوب افزایش جزئی نشان داد (جدول ۵). مواد فعالی مانند اسانس،ها به دلیل سازگاری گیاه با تنش‌های بیولوژیکی و غیرزیستی توسط گیاهان ساخته می‌شوند و سیگنال‌های این تنش‌ها به‌عنوان محرک برای سلول گیاهی عمل می‌کنند. با بروز تنش کم‌آبی، رشد گیاه متوقف شده و گیاه کربن تثبیت شده را در سنتز و تشکیل مخازن متابولیت‌های ثانویه به‌ویژه اسانس مصرف می‌کند (Mousavi et al., 2021). همچنین، تنش خشکی موجب افزایش تراکم غده‌های حاوی ترپن در برگ و نهایتاً افزایش میزان تجمع اسانس می‌شود (Pradhan et al., 2017).

نتیجه‌گیری نهایی

مطابق نتایج پژوهش حاضر، بیشترین میزان کلروفیل *a*، *b* و کل (به‌ترتیب ۰/۹٦، ۰/٤٥ و ۱/۳۹ میلی‌گرم در گرم) در تیمار کم‌آبی مشاهده شد. همچنین، اعمال تیمار کم‌آبی باعث افزایش ۷۰ درصدی غلظت پرولین نسبت به شاهد شد؛ در حالی‌که تأثیر معنی‌داری بر صفات مورفولوژیکی ارتفاع گیاه، قطر ساقه و وزن خشک گیاه نشان نداد. بیشترین مقدار پرولین در تیمار محلول پاشی اسید سالیسیلیک و شرایط مطلوب آبیاری (٤۷/۹٤ میکرومول بر گرم) به‌دست آمد. محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک به‌عنوان یک عامل دفاعی در برابر تنش کم‌آبی سبب کاهش اثرات منفی تنش بر میزان اسانس، پرولین و کلروفیل‌های *a*، *b* و کل شد. تیمارهای محلول‌پاشی پرولین و اسیدسالیسیلیک، به‌ترتیب افزایش ۳۳ و ۲۳ درصدی را نسبت به شاهد نشان دادند. به‌طوری‌که، بیشترین مقدار اسانس در تیمارهای پرولین و اسید سالیسیلیک (به‌ترتیب ۱/۱۲ و ۱/۰۳ میلی‌لیتر در ۱۰۰ گرم وزن خشک) و کمترین میزان (۰/۸٤ میلی‌لیتر در ۱۰۰ گرم وزن خشک) در تیمار به‌دست آمد. در نهایت، استفاده از اسید سالیسیلیک در شرایط کمبود رطوبت برای کاهش اثرات منفی تنش و افزایش میزان اسانس زرین‌گیاه توصیه می‌شود.

References

Akbari, J. and Maleki, A. (2018). The effect of ascorbic acid and salicylic acid foliar on vegetative properties and yield and yield components of *Vigna unguiculata* L. under drought stress. Applied Research of Plant Ecophysiology. 4(2): 159-180.

Alavi Samany, S.M., Ghasemi Pirbalouti, A. and 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.

Arnon, A.N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal. 23: 112-121.

Ashrafi, B., Ramak, P., Ezatpour, B. and Talei, G.R. (2017). Investigation on chemical composition, antamicrobial, antioxidant, and cytotoxic properties of essential oil from *Dracocephalum kotschyi* BOISS. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines. 14(3): 209-217.

Babaei, K., Moghaddam, M., Farhadi, N. and Ghasemi Pirbalouti, A. (2021). Morphological, physiological and phytochemical responses of Mexican marigold (*Tagetes minuta* L.) to drought stress. Scientia Horticulturae. 284:110116.

Bakhtiar, A., Khaghani, S., Ghasemi Pirbalouti, A., Gomarian, M. and Chavoshi, S. (2021). Essential oil variation among different populations of *Ziziphora tenuior* L. cultivated at semiarid climate. Essential Oil Research. 1-9.

Bates, L.S., Waldren, E.P. and Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline forwater stress studies. Plant Soil. 39: 205–207.

Carvalho, M.E.A., Castro, P.R.C., Gaziola, S.A. and Azevedo, R.A. (2018). Is seaweed extract an elicitor compound? Changing proline content in drought-stressed bean plants. Comunicata Scientiae. 9(2): 292-297.

Emami Bistgani, Z., Siadat, S.A., Bakhshandeh, A., Ghasemi Pirbalouti, A. and Hashemi, M. (2017). Interactive effects of drought stress and chitosan application on physiological characteristics and essential oil yield of *Thymus daenensis* Celak. The Crop Journal. 5: 407-415.

Fallah, S., Mouguee, S., Rostaei, M., Adavi, Z. and Lorigooini, Z. (2020). Chemical compositions and antioxidant activity of essential oil of wild and cultivated *Dracocephalum kotschyi* grown indifferent ecosystems: A comparative study. Industrial Crops and Products. 143, 11885.

Farhadi, N., Babaei, K., Farsaraei, S., Moghaddam, M. and Ghasemi Pirbalouti, A. (2020). Changes in essential oil compositions, total phenol, flavonoids and antioxidant capacity of *Achillea millefolium* at different growth stages. Industrial Crops and Products. 152, 112570.

Ghasemi Pirbalouti, A., Samani, M.R., Hashemi, M. and Zeinali, H. (2014). Salicylic acid affects growth, essential oil and chemical compositions of thyme (*Thymus daenensis* Celak.) under reduced irrigation. Plant Growth Regulation. 72(3): 289-301.

Goli, S.A.H., Sahafi, S.M., Rashidi, B. and Rahimmalek, M. (2013). Novel oilseed of *Dracocephalum kotschyi* with high n-3 to n-6 polyunsaturated fatty acid ratio. Industrial Crops and Products. 43: 188-193.

Janda, M. and Ruelland, E. (2015). Magical mystery tour: salicylic acid signalling. Environmental and Experimental Botany. 114: 117-128.

Koocheki, A., Nassiri-Mahallati, M. and Azizi, G. (2008). Effect of drought, salinity, and defoliation on growth characteristics of some medicinal plants of Iran. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants. 14: 37-53.

Mohammadi Khalifelouiy, Z., Abbasifar, A.R., Khadivi A. and Akramian M. (2020). The effect of proline and 24-epibrassinolide on growth indices and biochemical characteristics of the summer savory (*Satureja Hortensis* L.). Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology). 32(4): 925-940. (In Persian)

Momeni, M., Ghasemi Pirbalouti, A., Mousavi, A. and 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. Essential Oil Bearing Plants. 23(5): 1142-1153.

Mousavi, A.S., Naeemi, M., Ghilizadeh, A. and Rahemi Karizaki, A. (2021). The Effect of elicitors on some physiological vharacteristics, essential oil percentage and yield in hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) under different irrigation regimes. Environmental Stresses in Crop Sciences. 14(2): 415-424.

Pradhan, J., Sahoo, S.K., Lalotra, S. and Sarma, R.S. (2017). Positive impact of abiotic stress on medicinal and aromatic plants. International Journal of Plant Sciences. 12(2): 309-313.

Samadi, L., Larijani, K., Naghdi Badi, H. and Mehrafarin, A. (2018). Qualitative and quantitative variations of the essential oils of *Dracocephalum kotschyi* Boiss. as affected by different drying methods. Journal of Food Processing and Preservation. e13816, 1-12.

Shakib, P., Taherikalani, M. and Ramazanzadeh, R. (2018). Chemical composition, genotoxicity and antimicrobial activities of *Dracocephalum kotschyi* Boiss against OXA-48 producing *Klebsiella pneumoniae* isolated from major hospitals of Kurdistan Province, Iran. Microbiology Research Journal International. 24: 1-8.

Shokouhi, M. (2019). Evaluation of the impact of climate change on temperature and precipitation of rainfed wheat production in Kurdistan province. Journal of Agricultural Meteorology. 7(1): 22-35. (In Persian)

Sodaiizadeh, H., Shamsaie, M., Tajamoliyan, M., Mirmohammady Maibody, S.A.M. and Hakimzadeh, M.A. (2017). Evaluation of some physiological characteristics of *Thymus fedtschenko* under different levels of water stress. Environmental Stresses in Crop Sciences. 9(4): 423-427.

Sofy, M.R., Seleiman, M.F., Alhammad, B.A., Alharbi, B.M. and Mohamed, H.I. (2020). Minimizing adverse effects of Pb on maize plants by combined treatment with jasmonic, salicylic acids and proline. Agronomy. 10, 699.

Sonboli, A., Mirzania, F. and Gholipour, A. (2019). Essential oil composition of *Dracocephalum* 522 *kotschyi* Boiss. from Iran. Natural Product Research. 14: 2095-2098.

Szabados, L. and Savoure, A. (2009). Proline: A multifunctional amino acid. Trends in Plant Sciences. 15(2): 89-97.

Umebese, C.E., Olatimilehin, T.O. and Ogunsusi, T.A. (2009). Salicyclic acid protects nitrate reductase activity, growth and proline in amaranth and tomato plants duringwater defecit. American Journal of Agricultural and Biological Sciences. 4: 224-229.

Zhao, J., Davis, L.C. and Verpoorte, R. (2005). Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. Biotechnology Advances. 23: 283-333.