Plant Production Technology/Volume24/ Issu2/Pages 125-140/Autumn and Winter 2025
https://doi.org/10.22084/ppt.2024.29935.2137

ORIGINAL RESEARCH PAPER

Foliar Application Effects of Elicitors on Morpho-physiological and Essential Oil Components of *Dracocephalum kotschyi* Boiss

Yadegari, M[1*]

1. Associate Professor, Research Center of Nutrition and Organic Products (R.C.N.O.P), Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
*: Corresponding Author Email: mehrabyadegari@gmail.com

Received: 2024/09/28 Accepted: 2024/20/28

Introduction
The environmental factors cause changes in the growth, quantity, and quality of active substances (such as alkaloids, glycosides, steroids and volatile oils) in the medicinal and aromatic plants. Among environmental stresses, water deficit stress plays an important role in the biosynthesis of secondary metabolites in medicinal and aromatic plants in arid and semi-arid regions like Iran. *Dracocephalum kotschyi* Boiss. commonly known as Badrandjboie-Dennaie and Zarrin-Giah called in Farsi, belongs to the family Lamiaceae, is one of the endangered endemic species in Iran. The main compounds of the essential oil from *D.kotachyi* are Monoterpene hydrocarbons category (alpha-pinene, gamma-terpinene, neral, geranial, nerol, geraniol, limonene, carvacrol and thymol), Oxygenated monoterpenes category (alpha-campholene aldehyde), Sesquiterpenes (caryophyllene) and geranyl acetate from Acetates of carboxylic acids category. The extreme harvesting, limited distribution, and no commercial farming of *D.kotachyi* has led to the danger of its extinction which is one of the most important challenges. Therefore, this study was done to evaluate the elicitors (organic and alcoholic) on the morpho-physiological characters and essential oil quantity and quality of *D.kotschyi* to determine and introduce the best elicitor.

Materials and methods
This investigation was done in biennial research from spring (May) 2022 to fall (September) 2023 at the Research Farm of Islamic Azad University Branch of Shahrekord, Iran (latitude. 32°20′ N, longitude. 50°51′ E, altitude. 2061 m). Based on the Köppen climate classification, the climate of the area of study is classified as cold and semiarid. Seeds of *D.kotschyi* Boiss. (Lamiaceae) were obtained from Forest and Rangeland Institute, Iran. Firstly, the seeds were sterilized and sown on May 2022 and 2023 under greenhouse condition (25^{0C}, light 12/12 day/night, 65% RH). After about 45-50 days from sowing, when the seedlings had 4-6 true leaves with 8-10 cm tall, were transplanted in the experimental field on 20 May.The present study was conducted in a randomized complete block design (RCBD) with three replications to investigate the effect of foliar application of different elicitors of organic [chitosan (0.25 and 0.5 $gr.l^{-1}$, salicylic acid (1.5 and 3 mM), phenylalanine (1000 and 2000 $mg.l^{-1}$)] and alcoholic [(ethanol (10% and 20%), methanol (10% and 20%), acetone (10% and 20%)] and control level (without any spraying) on the morpho-physiological characters and essential oil quantity and quality of *D.kotschyi* In each year, treatments were applied in stage of V_4-V_8 and the sampling was performed in flowering stage. The essential oils were extracted by hydro-distillation and analyzed using GC/MS and GC-FID.

Results and discussion
According to obtained results, applied organic and alcoholic elicitors significantly (α=1% and 5%) influenced the morpho-physiological characters and essential oil content/composition of *D.kotschyi*, however the assayed traits showed slightly variation during the studied years. In two years, the highest shoot dry matter (140.3-145.1 $g.plant^{-1}$) and chlorophyll content (2.51-2.55 $mg.g^{-1}$ DW) was obtained in salicylic acid (3 mM) and phenyl alanine (1000 $mg.l^{-1}$) treatments respectively. In most of measured characters, plants treated with salicylic acid (3 mM), phenyl alanine (1000 $mg.l^{-1}$) and ethanol (20 %) were in the same group. Amounts of some characters in plants treated with methanol and acetone lesser than control plants. The main constituents of essential oil were Neral, Alpha-Pinene, Limonene, Geranial and Geraniol (alcoholic monoterpenes) that made the most components of essential oil plants. The organic elicitors effect especially salicylic acid on increasing the total phenol content was higher than the alcoholic ones. Applied elicitors showed significant effects on essential oil content and composition of *D.kotschyi* and the highest essential oil content (1.12-1.18 %) was obtained from the treated plants by salicylic acid (3 mM). According to the biennial results of the chemical analysis of the essential oils from *D. kotschyi* by GC/MS and GC-FID, the most important chemical compounds that determine the quality of *D. kotschyi* essential oil including α-pinene (21.32-29.22%), geranial (8.34-15.78%), neral (6.43-13.1%), limonene (4.33-8.76%), geraniol (1.08-2.71%), geranyl acetate (4.11-8.91%), α-campholene aldehyde (1.32-3.77%) were identified. α-Pinene belonging to monoterpene hydrocarbons was the

predominant constituent of the *D. kotschyi*. The most correlation indices were obtained between essential oil content with shoot dry matter and alpha-pinene.

Conclusions

Foliar application of salicylic acid and phenyl alanine significantly increased the monoterpene alcohols compounds in essential oils of *D.kotschyi* so that the content of these compounds in treated plants by organic elicitors 58% was more than the control plants. Finally, the application of salicylic acid at 3 mM can be a good strategy to improve morpho-physiological characters and essential oil quantity and quality of *D.kotschyi* in cold and semi-arid climates.

Keywords: Alpha-pinene, geranial, phenyl alanine, salicylic acid.

Citations: Yadegari, M. (2025). Foliar Application Effects of Elicitors on Morpho-physiological and Essential Oil Components of *Dracocephalum kotschyi* Boiss. *Plant Production Technology*, 24(2), 125-140. https://doi.org/10.22084/ppt.2024.29935.2137

© 2022 The Author(s). Bu- Ali Sina University Publication. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Online ISSN: 2476-5651 **Print ISSN:** 2476-6321

فنآوری تولیدات گیاهی/ جلد بیست و چهارم/ شمارهٔ دوم/ صفحات ۱۲۵-۱۴۰/ پاییز و زمستان ۱۴۰۳
https://doi.org/10.22084/ppt.2024.29935.2137

اثرات محلول‌پاشی محرک‌های رشدی بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی و اسانس گیاه دارویی زرین گیاه (*Dracocephalum kotschyi* Boiss.)

Foliar Application Effects of Elicitors on Morpho-physiological and Essential Oil Components of *Dracocephalum kotschyi* Boiss.

مهراب یادگاری[1*]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۷/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۰۷
(مقاله پژوهشی)

چکیده

زرین گیاه یا بادرنجبویه دنایی با نام علمی *Dracocephalum kotchyi* Boiss. از گیاهان دارویی با ارزش و بومی ایران است. این مطالعه در جهت ارزیابی محرک‌های رشدی (آلی و الکلی) بر صفات مورفو-فیزیولوژیکی، کمیت و کیفیت اسانس زرین گیاه انجام شد. تحقیق حاضر به‌صورت دوساله از اردیبهشت ۱۴۰۱ تا مهرماه ۱۴۰۲ به‌صورت کرت‌های یکبار خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای پایه الکلی (متانول، اتانول و استون (۱۰ و ۲۰ درصد)) و پایه آلی (کیتوزان (۰/۲۵ و ۰/۵ گرم در لیتر)، اسید سالیسیلیک (یک و نیم و سه میلی‌مولار) و فنیل آلانین (۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر)) و تیمار شاهد (محلول‌پاشی آب) بر برخی صفات مورفوفیزیولوژیکی، اسانس و ترکیبات اسانس گیاه دارویی زرین گیاه مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که محرک‌های آلی و الکلی به‌طور معنی‌داری بر صفات مورفوفیزیولوژیکی و اسانس گیاه زرین گیاه تأثیر داشتند. بالاترین مقادیر عملکرد ماده خشک (۱۴۰/۳- ۱۴۵/۱ گرم در گیاه) در تیمار اسید سالیسیلیک سه میلی‌مولار و محتوای کلروفیل (۵۱/۵۵-۲/۲ میلی‌گرم در وزن خشک) در تیمار فنیل آلانین ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد. بیشترین مقدار اسانس (۱/۱۲-۱/۱۸ درصد) از گیاهان تیمار شده با اسید سالیسیلیک سه میلی‌مولار به‌دست آمد. ماده مؤثره آلفا-پینن از هیدروکربن‌های مونوترپنه ترکیب غالب در اسانس تمامی گیاهان بود. استفاده از اسید سالیسیلیک با غلظت سه میلی‌مولار می‌تواند نقش مؤثری در بهبود صفات مورفوفیزیولوژیکی و اسانس زرین گیاه تحت شرایط اقلیمی سرد و نیمه خشک داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: آلفا-پینن، ژرانیال، فنیل آلانین، سالیسیلیک اسید.

ارجاع به مقاله: یادگاری، م. (۱۴۰۳). اثرات محلول‌پاشی محرک‌های رشدی بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی و اسانس گیاه دارویی زرین گیاه (*Dracocephalum kotschyi* Boiss.)، *مجله فنآوری تولیدات گیاهی*، ۲۴(۲)، ۱۲۵-۱۴۰.
https://doi.org/10.22084/ppt.2024.29935.2137 .

حق نشر متعلق به نویسنده (گان) است و نویسنده تحت مجوز Commons Creative License Attribution (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/) به مجله اجازه می‌دهد مقاله‌ی چاپ شده را در سامانه به اشتراک بگذارد، منوط بر اینکه حقوق مؤلف اثر حفظ و به انتشار اولیه مقاله در این مجله اشاره شود.

شاپا الکترونیکی: ۲۴۷۶-۵۶۵۱ **شاپا چاپی:** ۲۴۷۶-۶۳۲۱

۱. دانشیار، مرکز تحقیقات تغذیه و محصولات ارگانیک، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
*: نویسنده مسئول Email: mehrabyadegari@gmail.com

۱. مقدمه

خانواده نعناعیان، یکی از بزرگترین خانواده‌های گیاهی است که تاکنون ۲۰۰ جنس و ۲۰۰۰ گونه متعلق به آن شناخته شده‌است. از این خانواده، زرین گیاه یا بادرنجبویه دنایی با نام علمی *Dracocephalum kotchyi* Boiss. از گیاهان دارویی با ارزش و بومی ایران است. گیاهی علفی، معطر، چند ساله، نیمه چوبی با ساقه های متعدد، برگ‌های دمبرگ‌دار و تخم مرغی شکل است (Mozaffarian, 2008). ترکیبات شیمیایی موجود در زرین‌گیاه شامل فلاونوئید، استرول‌های اشباع‌شده، تانن ها و قند از نوع گلوکز و گالاکتوز می‌باشد. مهم‌ترین مواد متشکله اسانس، ترکیباتی نظیر آلفا-پینن، لیمونن، نرال، ژرانیال، پاراسیمن، آلفا- کامفولن آلدئید، بورنیل استات، سیترال، میرسن، کاریوفیلن و ترپینل استات است (Ashrafi *et al.*, 2017; Fallah *et al.*, 2020). گیاهی است که تا حدود بالایی به خشکی متحمل بوده و همگام با افزایش میزان ماده خشک گیاهی، درصد اسانس افزایش می‌یابد (Shaykh-Samani *et al.*, 2023). ویژگی‌های رشد و عملکرد گیاهان دارویی و معطر از جمله مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی، متأثر از عوامل ژنتیکی، تغییرات محیطی و مدیریتی و اثرات متقابل آن-هاست (Thakur and Kumar, 2020). یکی از رهیافت‌های نوین در بهبود کمی و کیفی محصولات کشاورزی استفاده از محرک‌های رشد است. کاربرد محرک‌های رشدی به میزان 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 بیوستنز و انباشت متابولیت‌های ثانویه و همچنین تغییرات فیزیولوژیک و مورفولوژیک، در گیاهان می‌شوند (Alavi Samany *et al.*, 2022; Zhao *et al.*, 2005). افزایش راندمان مصرف آب، کاهش تنفس نوری، افزایش سطح و دوام برگ و در نهایت افزایش عملکرد از اثرات این محرک‌های رشدی است (Yadegari, 2018; Kheiri *et al.*, 2020). تیمار گیاهان با محرک‌ها، مشابه حمله عوامل بیماری‌زا، موجب بروز آرایشی از عکس‌العمل‌های دفاعی، از قبیل تجمع مجموعه‌ای از متابولیت‌های ثانویه‌ی دفاعی در گیاه می‌شود. محرک‌ها از طریق گیرنده‌های موجود در غشای پلاسمایی دریافت می‌شوند و از طریق القاء نسخه برداری و بیان ژن‌های دخیل در بیوسنتز، متابولیت‌ها را تحت‌تأثیر قرار می‌دهند (Lee-Sae *et al.*, 2011). محرک‌های رشد در گیاه به مقدار کمی وجود دارند، اما برای رشد و نمو گیاه ضروری هستند. هنگامی‌که گیاهان در معرض محرک‌های طبیعی یا مصنوعی رشد قرار می‌گیرند، رفتار رشد و نمو گیاه تغییر می‌کند (Thakur and Kumar, 2020). از جمله محرک‌های اثربخش بر رشد و نمو گیاه می‌توان محرک‌های الکلی از جمله اتانول، متانول و استون را نام برد. متانول به‌صورت فرم آلدهید و دی‌اکسیدکربن در گیاه، اکسید شده و به‌صورت اسیدهای آمینه (سرین و متیونین) و کربوهیدرات‌ها، در بافت‌های مختلف گیاهان سنتز می‌شوند. افزایش راندمان مصرف آب، کاهش تنفس نوری، افزایش سطح و دوام برگ و در نهایت افزایش عملکرد از اثرات این محرک‌های الکلی است (Nonomura and Benson, 1992). محلول‌پاشی اتانول و متانول منجر به افزایش طول عمر گل و برگ گیاه سوسن (*Alstroemeria hybrida*) (Yaghoubi Kiaseh and Yadegari, 2015)، افزایش ترکیبات ثانویه و موثره ریحان (*Ocimum basilicum* c.v. Keshkeni) (Moghaddam *et al.*, 2018)، افزایش تحمل به شوری در گیاه ژرانیوم (*Pelargonium graveolens*) (Vojodi Mehrabani, 2019)، افزایش ماده خشک و میزان ترکیبات ثانویه گیاه دارویی آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) (Mousavi *et al.*,2021) شده‌است.

از سایر محرک‌های رشدی می‌توان به محرک‌های دارای پایه آلی اشاره نمود. از انواع آن اسید سالیسیلیک، فنیل آلانین و کیتوزان قابل بیان هستند. تیمار با اسید سالیسیلیک در آویشن دنایی (*Thymus daenensis* Celak) منجر به افزایش مقدار و ترکیبات اسانس و تحمل به خشکی (Abdi *et al.*, 2022)، افزایش شاخص سطح برگ نوعی ارزن (*Pennisetum typhoides*) (Mathur and Vyas, 2007)، افزایش ترکیب‌های فنیل‌پروپانوئیدی گیاه کنگرفرنگی (*Cynara scolymus*) (Zamani *et al.*, 2016)، افزایش اسانس و ترکیبات اسانس گیاهان دارویی مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) (Yadegari, 2018)، بومادران (*Achillea millefolium* L.) (Gorni *et al.*, 2020)، زرین گیاه (*Dracocephalum kotschyi* 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) شده است. کیتوزان از دیگر محرک‌های آلی، به‌عنوان یک محرک، باعث افزایش آنتراکوئینون روناس (*Rubia tinctorum*) (Vasconsuelo *et al.*, 2004)، آرتمیزین درمنه (*Artemisia annua*) (Putalun *et al.*, 2007)، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، فنیل‌آلانین آمونیولیاز و گلوکاناز گیاه توتون (*Nicotiana tabacum*) (Falcon-Rodriguez *et al.*, 2009)، لیگنان و فنیل پروپانوییید کتان سفید (*Linum album*) (Esmaeilzadeh bahabadi and Sharifi, 2013)، عملکرد اسانس گونه‌های ریحان (*Ocimum ciliatum* و *Ocimum basilicum*) (Hawrylak-Nowak *et al.*, 2021) و مرزه (*Satureja hortensis* L.) (Alizadeh *et al.*, 2020) شده‌است.

فنیل آلانین یکی از محرک‌های آلی و آروماتیک است و به‌عنوان پیش ساز فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) در مسیر فنیل پروپانوییید نقش کلیدی دارد (Govindaraju and Indra Arulselvi, 2018). نقش بسیار مؤثر این محرک در افزایش عملکرد کمی و کیفی اسانس گیاهان دارویی گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.) (Rajabzadeh *et al.*, 2024)، مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) (Rahmani Samani *et al.*, 2019) و زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) (Aghaei *et al.*, 2021) گزارش شده‌است. 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 عملکرد بیولوژیک گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) (Esmaeilzadeh bahabadi and Sharifi, 2013) شده‌است.

باتوجه‌به بررسی منابع، تاکنون تحقیق جامعی راجع‌به اثرگذاری محلول‌پاشی اتانول، متانول و استون (محرک‌های الکلی) و اسید سالیسیلیک، فنیل آلانین و کیتوزان (محرک‌های آلی) بر صفات مورفوفیزیولوژیکی و اسانس زرین گیاه انجام نشده‌است. این پژوهش در جهت یافتن بهترین محرک رشدی برای به‌دست‌آوردن بالاترین مقادیر صفات مورفوفیزیولوژیکی و کمیت و کیفیت اسانس زرین گیاه انجام شد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. 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 طی سال‌های زراعی ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ به‌صورت دوساله از بهار (اردیبهشت ماه) ۱۴۰۱ تا پاییز (مهرماه) ۱۴۰۲ به‌صورت کرت‌های یکبار خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام گردید. خصوصیات اقلیمی و خاکشناسی منطقه در جدول ۱ و خصوصیات آب آبیاری در جدول ۲ آمده‌است. نشاءهای چهار-شش برگی زرین گیاه تهیه‌شده از شرکت پاکان بذر اصفهان، در سال اول در تاریخ ۱۵ اردیبهشت ماه و در سال دوم در ۲۰ اردیبهشت ماه در کرت‌های آزمایشی کاشت شدند و بلافاصله آبیاری انجام شد. فاصله بین ردیف‌ها ۵۰ سانتیمتر و فاصله روی ردیف ۱۰ سانتی‌متر در نظر گرفته‌شد. با کمک دستگاه مه‌پاش در مرحله رویشی گیاه در مرحله چهار-هشت برگی هر چهار روز یک بار در سه نوبت محلول‌پاشی انجام شد. محلول‌پاشی با آب روی نمونه‌های شاهد نیز با سه تکرار در هر کرت انجام شد.

۲-۲. مشخصات تیمارها

طی دو سال زراعی تیمارهای پایه الکلی شامل متانول (۱۰ و ۲۰ درصد)، اتانول (۱۰ و ۲۰ درصد) و استون (۱۰ و ۲۰ درصد) و پایه آلی شامل کیتوزان (۰/۲۵ و ۰/۵ گرم در لیتر)، اسید سالیسیلیک (یک و نیم و سه میلی‌مولار) و فنیل آلانین (۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و تیمار شاهد (محلول‌پاشی آب) برای این پژوهش انتخاب شد. برای تهیه‌ی محلول فنیل آلانین، با حل کردن به‌ترتیب؛ یک گرم و دو گرم در یک لیتر آب، محلول‌های مورد نظر به‌دست‌آمد. باتوجه‌به جرم مولکولی اسید سالیسیلیک (۱۲/ ۱۳۸گرم بر مول)، برای تهیه اسید سالیسیلیک یک و نیم میلی‌مولار، ۲۰۷/۱۸ گرم و برای تهیه محلول اسید سالیسیلیک سه میلی‌مولار، ۴۱۴/۳۶ گرم، از آن، ابتدا در الکل اتانول ۷۰ درصد حل نموده و سپس با آب، به حجم ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده‌شد. برای تهیه‌ی کیتوزان ۰/۲۵ و

۰/۵۰ گرم در لیتر، به ترتیب ۰/۲۵ و ۰/۵۰ گرم کیتوزان در یک لیتر آب حل شد.

Table1: Physicochemical and climatic properties of experimental field.

Characters	2022	2023
P (ppm)	82	83
K (ppm)	209.2	212
N (ppm)	0.09	0.08
EC ($ds.m^{-1}$)	0.41	0.42
Organic Carbon (%)	0.77	0.85
pH	7.4	7.3
Average rainfall (mm)	311.1	276.3
Average temperature (C^0)	11.6	11.9
Average maximum temperature (C^0)	22.6	24.8
Average minimum temperature (C^0)	-12.4	-10.1

Table 2: characters of used water for irrigation

HCO_3	Cl	Mg	Ca	K	Na	TDS	EC	pH
meq/l						mg/l	ms/m	
3.44	0.93	1.45	2.31	0.18	0.543	245.2	366	7.4

Continued Table 2: characters of used water for irrigation

NO_3	Zn	Mn	Cu	Fe	Cd	SO_4	CO_3
meq/l							
24.55	0.001	0.001	0.001	0.008	0	0.001	0.22

۲-۳. محتوای نسبی آب برگ

برای برآورد محتوای نسبی آب برگ، ۰/۵ گرم از جوان‌ترین برگ توسعه یافته هر گیاه (FW) جدا کرده و سپس نمونه‌ها به‌مدت ۲٤ ساعت در آب مقطر شناور گردیدند. پس از گذشت این مدت، وزن اشباع برگ با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ برآورد گردید (TW). سپس برگ‌ها به‌مدت ۲٤ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و بعد از گذشت این مدت وزن خشک برگ‌ها با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ برآورد گردید (DW). در نهایت محتوای آب نسبی با استفاده از معادله ۱ محاسبه گردید (Arnon, 1975):

معادله ۱: % R.W.C= (FW-DW) / (TW-DW)

۲-٤. کلروفیل کل

برای اندازه‌گیری 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 به‌صورت توده یکنواختی درآمد. این عمل در نور کم و محیط خنک انجام شد. پس از سانتریفیوژ کردن عصاره حاصل، محلول رویی برداشته شد و جذب نور توسط آن در طول موج‌های ٦٦٣ نانومتر (حداکثر جذب نور کلروفیل a) و ٦٤٥ نانومتر (حداکثر جذب نور کلروفیل b) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل CARY-100 ساخت واریان استرالیا) و با استفاده از استون ۸۰ درصد به‌عنوان محلول مرجع قرائت و با معادله ۲ محاسبه گردید (Dere *et al.*, 1998):

معادله ۲: $\text{Chl total (mg.Kg Fw}^{-1}) = (20.21 \times A645) + (8.02 \times A663)$

۲-۵. میزان فنل کل

محتوای ترکیبات فنل کل با استفاده از معرف فولین- سیوکالتو اندازه‌گیری شد. برای تهیه عصاره متانولی، ۰/۲ گرم (۲۰۰ میلی‌گرم) برگ تازه از برگ‌های جوان کاملاً توسعه یافته جدا شد و در هاون چینی با ۲۰ میلی‌لیتر متانول ۹۹ درصد عصاره‌گیری گردید. سپس به‌مدت پنج دقیقه با سرعت ٤٥۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. بخش شفاف قسمت فوقانی آن برای آزمایشات جداسازی شد. سپس به ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره متانولی، ۱/۸ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر، ۰/۲ میلی‌لیتر معرف فولین- سیوکالتو (رقیق شده با نسبت یک به ۱۵) اضافه و به‌خوبی مخلوط گردید. پس از گذشت پنج 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 Perklin elmer قرائت و محتوای ترکیبات فنلی کل عصاره‌ها بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک به کیلوگرم وزن تر اندام هوایی محاسبه گردید (Marinova *et al.*, 2005).

۲-۶. برداشت نمونه‌ها

کرت‌ها شامل شش ردیف به‌طول شش متر بود که دو ردیف کناری به‌عنوان اثرات حاشیه‌ای در زمان برداشت حذف گردیدند. نمونه‌های گیاهی، در زمان گلدهی (باز شدن ۵۰-۷۰ درصد از گل‌ها در هر خوشه) به‌طور جداگانه از هر کدام از تیمارهای تحت آزمایش در سال اول در ۲۴ مرداد ماه و در سال دوم در ۲۸ مرداد ماه جمع‌آوری گردید. همچنین از برگ گیاهان تیمار شده جهت اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی، نمونه‌برداری انجام گرفت و نمونه‌های برداشت‌شده در مزرعه بلافاصله در فویل آلومینیومی پیچیده و بعد از برچسب زدن نام تیمار در تانک حاوی نیتروژن مایع قرار داده و به آزمایشگاه انتقال داده شد.

۲-۷. اسانس‌گیری

پس از برداشت، به‌منظور محافظت نوری نمونه‌ها و حداقل آسیب به کیفیت اسانس، ساختارهای هوایی در پاکت‌های کاغذی جمع‌آوری شدند. به‌روش هوای آزاد در سایه با دمای معمولی ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد، کاملاً خشک شدند. بعد از خشک‌شدن ساختارهای هوایی، اقدام‌به خرد کردن 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 به‌روش تقطیر با آب، در دستگاه کلونجر (بروسیلیکات آلمانی ساخت شیشه آلات ایران) و براساس درصد وزنی، صورت گرفت که برای هر نمونه مدت دو ساعت به‌طول انجامید. اسانس گیاهان مورد نظر پس از آماده‌سازی، جهت شناسایی ترکیبات به‌دستگاه GC/MS (مدل7890A/5975C ساخت اجیلنت آمریکا) مجهز به ستون موئینهHP-5MS به‌طول 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 بازداری آن‌ها 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.

۲-۸. روش انجام تجزیه داده ها

پس از انجام آزمون همگنی واریانس‌های خطای آزمایشی (بارتلت) و مشخص شدن عدم معنی‌داری در هر دو سال، تجزیه مرکب اطلاعات برآمده از تحقیق و همبستگی ساده بین اسانس، اجزای مهم اسانس وصفات مورفوفیزیولوژیکی از روش پیرسون به‌واسطه نرم‌افزار آماری $SAS_{ver.9}$ انجام شد. مقایسات میانگین اسانس و ترکیبات اسانس از روش حداقل اختلاف معنی‌دار (L.S.D) در سطح یک‌درصد انجام شد و برای اطمینان از مقادیر خطای استاندارد (SE)، به‌طور جداگانه نیز با نرم افزار Excel ver. 2013، برآورد مجدد انجام شد.

۳. نتایج و بحث

۳-۱. صفات مورفوفیزیولوژیکی

نتایج دو ساله اطلاعات برآمده از این پژوهش نشان داد که میزان عملکرد ساختار هوایی، محتوای نسبی آب برگ، مقادیر کلروفیل و فنل کل گیاهان زرین گیاه تحت تأثیر تیمارهای مورداستفاده در این تحقیق، تغیرات چشم‌گیری داشتند (جدول ۳) و در گروه‌های مختلف قرار گرفتند (جدول ٤). تیمار اسید سالیسیلیک سه میلی‌مولار میزان عملکرد ساختار هوایی را به ۱۴۰/۳ گرم در گیاه و در سال دوم به ۱۴۵/۱ گرم در گیاه رساند. عملکرد ساختار هوایی تیمار شاهد در دو سال انجام پژوهش به‌ترتیب به‌میزان ۹۵/۱ و ۹۹/۱ گرم در گیاه بود. لذا استفاده از تیمار اسید سالیسیلیک سه میلی مولار به‌ترتیب در دو سال به‌میزان ٤۷ درصد و ٤٦ درصد منجربه افزایش عملکرد ساختار رویشی گردید (جدول ٤). فتوسنتز از مهم‌ترین واکنش‌های حیاتی در گیاه می‌باشد که نقش تعیین کننده در عملکرد و همچنین خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارد. استفاده از ترکیبات محرک رشد، به‌گیاه کمک می‌کند تا بر عوامل بازدارنده رشدی غلبه کند. این ترکیبات با تحت‌تأثیر قراردادن

خصوصیات فیزیولوژیکی، رشد و عملکرد گیاه را تحت‌تأثیر قرار می‌دهند (Abdul-Hafeez and Ibrahim, 2021; Ali, 2021). بر اساس نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش، محلول-پاشی گیاهان زرین گیاه با محرک‌های آلی و الکلی موجب افزایش عملکرد ماده خشک گیاه گردید که همراه با افزایش میزان اسانس بود. از سوی دیگر اسیدهای فنلی با داشتن ساختار ویژه دارای پتانسیل بالایی برای برهمکنش با پروتئین‌های مختلف از جمله آنزیم‌ها می‌باشند. به‌همین‌دلیل آن‌ها می‌توانند باعث ممانعت از فعالیت آنزیم‌هایی مانند ایزوفرم‌های مختلف سیتوکرم P_{450}، سیکلواکسیژناز، الکل دهیدروژناز، لیپواکسیژناز و زانتین‌اکسیداز شوند که در طی فعالیت خود مقادیر بالای رادیکال‌های آزاد تولید می‌کنند و از طرفی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی را افزایش دهند (Farahani *et al.*, 2020). متانول به‌عنوان یک محرک در فرم آلدئید، اکسید شده و به‌صورت اسیدهای آمینه (سرین و متیونین) و کربوهیدرات‌ها، در بافت‌های مختلف گیاهان سنتز می‌شود. متانول به‌صورت محلول پاشی برگی بر روی چندین محصول C_3 در مناطق گرم و خشک استفاده شده که افزایش مادهٔ تر و کارآیی مصرف آب (WUE) به‌واسطه اثر محرک متانول بر روی گیاهان اثبات شده‌است (Pandey *et al.*, 2017; Nonomura and Benson, 1992). نتایج بررسی‌ها نشان داد که محلول پاشی برگی متانول در اغلب گیاهان زراعی و باغی موجب افزایش راندمان مصرف آب، کاهش تنفس نوری، افزایش سطح و دوام برگ و در نهایت افزایش عملکرد می‌شود (Karamian and Asadbegy, 2016; Kheiri *et al.*, 2020).

یکی از مسیرهای پاسخ دفاعی سلول گیاهی، در برابر پاتوژن یا محرک، انفجار اکسیداتیو و آزاد شدن اکسیژن فعال است. مشخص شده‌است که در برخی از کشت‌های سلول گیاهی، با اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species) و در گروهی از گیاهان پس از تیمار با محرک و میانجی‌گری یون سوپراکسید(O^{-2}) و پراکسید هیدروژن، تجمع متابولیت‌های ثانویه انجام می‌شود. ROS دارای یون سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل (OH^-) بوسیلهٔ اکسید کردن رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی، چربی‌های غشایی، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک؛ باعث آسیب‌های اکسید کنندگی می‌شود، بنابراین گیاه نیاز به یک سیستم دفاعی ضد اکسیدکننده دارد (Pandey *et al.*, 2017; Karamian and Asadbegy, 2016). محرک‌ها با تحت‌تأثیر قراردادن خصوصیات فیزیولوژیکی، رشد و عملکرد گیاه را تحت‌تأثیر 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 تیمارشده دارد (Rudrappa *et al.*, 2006; 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 (Shaabani *et al.*, 2020). محرک‌ها با افزایش ظرفیت فتوسنتزی و کربوهیدرات‌ها، مواد اولیه را برای سنتز ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانین‌ها فراهم می-آورند. علت افزایش ترکیبات فنلی در تیمار با محرک‌های مختلف، اثر این ترکیبات بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز و افزایش فعالیت این آنزیم است (Alizadeh and Fattahi, 2021; Ghanbarzadeh *et al.*, 2019; Gohari *et al.*, 2020). از آن‌جا که این آنزیم یک آنزیم کلیدی در بیوسنتز همه ترکیبات فنلی است، به‌نظر می‌رسد که در تحقیق حاضر نیز تغییر فعالیت این آنزیم یکی از دلایل افزایش مقدار ترکیبات فنلی در گیاهان زرین گیاه باشد. سنتز ترکیبات فنلی در بافت‌های گیاهی وابسته به کربوهیدرات‌ها می‌باشد. به‌نظر می‌رسد که افزایش جذب عناصر غذایی در تیمارهای محلول‌پاشی به‌طور غیرمستقیم با تحت تأثیر قرار دادن متابولیسم کربوهیدرات‌ها، این ترکیبات را به‌سمت سنتز ترکیبات فنلی هدایت می‌کند که نتیجهٔ آن افزایش مقدار این ترکیبات می‌باشد (Sanikhani *et al.*, 2020).

Table 3: Complex analysis variance of variation of morpho-physiological characters in *D.kotschyi*

S.O.V [z]	D.F[y]	Total phenol	Total Chlorophyll	Relative Water Content	Shoot Dry Matter
Year	1	0.4^{ns}	0.51^{*}	0.25^{*}	2.2^{ns}
R(Y)	4	0.6^{ns}	0.36^{*}	0.176^{*}	41.01^{*}
T	12	12.9^{**}	4.9^{**}	4.3^{**}	65.02^{**}
E	60	0.8	0.1	0.05	11.71
CV %		5.98	6.15	4.56	7.4

[z] SOV: source of variation, [y]df: degree of freedom, [x]CV: coefficient of variation, *, ** significant at P=0.05 and P=0.01 levels of probability respectively, ns: not significant

Table 4: Means of morpho-physiological characters in *D.kotschyi* plants affected by elicitors.

Year	Treatment		Total phenol (mg.g^{-1} DW)	Total Chlorophyll (mg.g^{-1} DW)	Relative Water Content	Shoot Dry Matter (g.plant^{-1})
	Control		1.33±0.06 ^{e}	1.18±0.03 ^{f}	50.7±1.4 ^{e}	95.1±1.2^{e}
	Methanol	10	1.44±0.05 ^{e}	1.19±0.01 ^{ef}	55.3±1.3 ^{d}	108.5±2.3^{d}
		20	1.69±0.1 ^{d}	1.66±0.03 ^{d}	58.4±1.2 ^{c}	121.1±2.1 ^{c}
	Ethanol	10	2.05±0.02 ^{c}	2.09±0.02 ^{bc}	59.3±1.3 ^{c}	119.9±1.2^{c}
		20	2.46±0.06 ^{a}	2.51±0.01 ^{a}	65.5±2.2 ^{ab}	133.88±1.2 ^{b}
	Acetone	10	2.08±0.07 ^{c}	1.81±0.06 ^{c}	54.6±1.5 ^{d}	108.8±1.4^{d}
		20	1.99±0.07 ^{c}	1.73±0.03 ^{d}	52.9±1.2 ^{e}	119.4±2.3 ^{c}
2022	LSD		1.00	1.00	0.78	0.88
	*Salicylic Acid	1	1.76±0.03 ^{d}	2.57±0.04 ^{a}	60.1±1.4 ^{c}	130.3±3.4 ^{b}
		2	2.54±0.05 ^{a}	2.51±0.02 ^{a}	68.3±2.3 ^{a}	140.3±3.2 ^{a}
	Phenylalanine	1	2.53±0.06 ^{a}	2.55±0.05 ^{a}	66.4±2.4 ^{b}	129.9±2.9 ^{b}
		2	1.59±0.6 ^{d}	2.11±0.07 ^{bc}	63.1±1.1 ^{b}	110.9±1.8 ^{d}
	Chitosan	1	1.99±0.04 ^{c}	1.81±0.02 ^{cd}	64.7±1.2 ^{b}	133.7±3.2 ^{b}
		2	1.77±0.05 ^{d}	1.89±0.03 ^{c}	61.5±1.6 ^{b}	100.9±1.2 ^{e}
	LSD		1.00	1.00	0.77	0.87
	Control		1.41±0.05 ^{e}	1.19±0.04 ^{ef}	49.8±1.2 ^{e}	99.1±2.5 ^{e}
	Methanol	10	1.77±0.03 ^{d}	1.21±0.02 ^{e}	56.5±1.5 ^{d}	111.8±2.9 ^{d}
		20	2.06±0.08 ^{c}	1.73±0.01 ^{d}	57.6±2.5 ^{c}	118.2±2.3 ^{c}
	Ethanol	10	1.99±0.04 ^{c}	2.02±0.03 ^{c}	60.7±2.2 ^{bc}	120.1±2.1 ^{c}
		20	2.22±0.05 ^{b}	2.44±0.02 ^{a}	68.5±1.2 ^{a}	136.9±2.1 ^{a}
	Acetone	10	2.12±0.03 ^{b}	1.85±0.08 ^{c}	55.9±1.9 ^{d}	122.8±1.2 ^{c}
		20	1.96±0.09 ^{c}	1.76±0.04 ^{d}	53.5±1.4 ^{de}	123.5±3.3 ^{c}
2023	LSD		1.00	1.00	0.95	0.76
	*Salicylic Acid	1	1.81±0.04 ^{c}	2.44±0.02 ^{a}	61.1±1.2 ^{b}	137.1±1.2 ^{a}
		2	2.59±0.03 ^{a}	2.59±0.06 ^{a}	67.8±1.8 ^{a}	145.1±5.1 ^{a}
	Phenylalanine	1	2.41±0.04 ^{ab}	2.51±0.02 ^{a}	65.8±2.2 ^{ab}	138.1±3.1 ^{a}
		2	1.62±0.05 ^{d}	1.57±0.01 ^{d}	62.2±1.4 ^{b}	108.2±2.2 ^{d}
	Chitosan	1	2.03±0.06 ^{c}	1.84±0.05 ^{c}	63.2±1.9 ^{b}	139.8±3.4 ^{a}
		2	1.89±0.08 ^{c}	1.93±0.047 ^{c}	60.7±1.7 ^{c}	110.1±1.8 ^{d}
	LSD		0.95	1.00	0.98	0.85

*Salicylic Acid 1: 1.5 mM, Salicylic Acid 2: 3 mM, Phenylalanine 1: 1000 mg.l^{-1}, Phenylalanine 2: 2000 mg.l^{-1}, Chitosan 1: 0.25 g.l^{-1}. Chitosan 2: 0.5 g.l^{-1} - Numbers in each column that have same word, have same group

۳-۲. اسانس و ترکیبات اسانس

نتایج نشان داد که اثرگذاری تیمارهای آزمایشی در هر دو سال بر میزان ترکیبات غالب اسانس و محتوای اسانس، معنی‌دار بود (جدول ۵). نتایج برآمده از تجزیه فیتوشیمیایی اسانس، وجود ۱۸ ترکیب در اسانس این گیاه را نشان داد. بیشترین اجزای موجود در اسانس شامل آلفا-پینن، لیمونن، نرال، ژرانیال، نرول، ژرانیل استات، ژرانیول و اوکالیپتول بود. در بین اجزای اسانس، مادهٔ مؤثرهٔ آلفا-پینن بیشترین میزان را در تمامی گیاهان تحت تیمار در هر دو سال تحقیق، به خود اختصاص داد (جدول ٦). مشخص گردید که اثرگذاری تیمارهای آزمایشی بر مواد مؤثرهٔ مونوترپنه اکسیژنه الکل‌دار (آلفا-پینن، گاما-ترپینن، نرال، ژرانیال، نرول، ژرانیول، لیمونن، کارواکرول، تیمول)،

سزکویی‌ترپنه معطر (کاریوفیلن)، هیدروکربنه اکسیژنه (آلفا-کامفولن آلدئید)، مونوترپنه اتری (اوکالیپتول)، مونوترپنه متیل‌دار (پارا-سیمن، ژرانیک اسید متیل استر) و هیدروکربنه از گروه اسیدهای کربوکسیلیک (ژرانیل استات) و نیز میزان اسانس، معنی‌دار و در گروه‌های مختلفی قرار گرفتند. با اعمال تیمارهای پایه آلی و مقایسه با نمونه شاهد، روند افزایشی در میزان کمی و کیفی اسانس مشاهده گردید (جدول ٦). میزان ترکیبات اسانس در سطوح تیماری استون و متانول، در کمترین مقادیر قرار گرفتند. تیمارهای اسید سالیسیلیک، فنیل آلانین و اتانول بیشترین اثر را بر میزان ماده مؤثرهٔ آلفا-پینن و سایر ترکیبات غالب اسانس تمامی گیاهان در هر دو سال، ایجاد نمودند. در تولید مواد مؤثرهٔ لیمونن، نرال، ژرانیک اسید متیل استر و ژرانیال، کاربرد تیمارهای متانول و استون دارای اثر کاهنده و یا مانند شاهد بود و بقیه تیمارها از جمله اسید سالیسیلیک سه میلی مولار، فنیل آلانین ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر و اتانول ۲۰ درصد منجر به افزایش این مواد مؤثره گردیدند. در بسیاری از مواد مؤثره غالب اسانس، کمترین مقادیر در تیمار شاهد به‌وجودآمد. بیشترین ترکیبات اسانس به‌ترتیب آلفا-پینن، ژرانیال، نرال، لیمونن و ژرانیل استات بودند که در تیمارهای مختلف بیش از ٤٥ درصد اسانس را به‌خود اختصاص دادند (جدول ٦). محرک‌ها برای گیاه، پیام‌های شیمیایی ارسال می‌کنند که سبب پاسخ‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی و تجمع فیتوآلکسین می‌شود. طی پاسخ به سیگنال محرک، سیستم دفاعی گیاه، فعال شده و در نتیجهٔ بیان ژن‌های دفاعی، متابولیت‌های ثانویه و محتوای اسانس، افزایش می‌یابند (Zhao *et al.*, 2005). اتانول و متانول با داشتن مولکول‌های کوچکتر از دی اکسید کربن به‌راحتی از طریق انتشار ساده بدون صرف انرژی از غشاء سلول گیاهی عبور کرده و جذب سلول‌های گیاهی می‌شود و حتی در زمان خشکی و کم آبی که روزنه‌های گیاهی بسته باشد به‌آسانی کربن خود را در اختیار گیاه، جهت انجام فرآیند فتوسنتز قرار می‌دهد و ماده خشک گیاه افزایش می‌یابد (Thakur and Kumar, 2020). ترکیبات اسانس با محلول پاشی ترکیبات الکلی و آلی به‌ویژه اسید سالیسیلیک، فنیل آلانین و اتانول به‌دلیل راه اندازی چرخه سنتز اسید آمینه و آنزیم‌های پروتئینی در افزایش ترکیبات اسانس مؤثرند. به‌طورکلی هر افزایشی در کل کربوهیدرات‌های گیاه، موجب افزایش سنتز اسانس در بافت مسئول سنتز این ترکیبات می‌شود (Aghaei *et al.*, 2021). یکی از دلایل بیشتر شدن مقدار اسانس را می‌توان به‌دلیل 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 ترشح کننده اسانس در برگ منجر می‌شود. از آنجایی که غده‌های ترشح‌کننده اسانس گیاهان نعناعیان در برگ‌ها قرار دارند، هر عاملی که سبب افزایش سطح و وزن برگ‌ها شود، مقدار اسانس را نیز افزایش خواهد داد. از این‌رو به‌نظر می‌رسد افزایش تولید کلروفیل، سبب افزایش بافت‌های فتوسنتزی، افزایش رشد برگ‌ها و در نتیجه افزایش تعداد کرک‌های ترشحی اسانس و در نهایت منجر به افزایش عملکرد اسانس خواهد شد (Ali, 2021). از سوی دیگر بیوسنتز ترپنوئیدها با اتصال سر به‌دم ایزوپنتیل دی‌فسفات به ایزومر دی‌متیل آلیل دی‌فسفات ادامه می‌یابد که با این اتصال ژرانیل دی‌فسفات (GPP) حاصل می‌شود. علاوه بر این، اتصال GPP با واحدهای IPP، پرنیل دی‌فسفات‌های (PDP) مانند فارنسیل دی‌فسفات (FPP) و ژرانیل دی‌فسفات (GGPP) را تشکیل می‌دهد. محصول GPP و FPP طی فرآیندهای حلقوی شدن به‌ترتیب اسکلت‌های مونوترپن و سزکویی‌ترپنی را تشکیل می‌دهند. تشکیل مونوترپنه های الکلی از جمله تیمول و کارواکرول با مونوترپن گاماترپینن (GT) شروع شده و در ادامه از طریق پی‌سایمن آروماتیک، واکنش‌ها به‌سمت سنتز آن‌ها پیش می‌رود. گاماترپینن که به‌وسیله آنزیم گاماترپینن‌سنتاز (GTS) کاتالیز می‌شود، پیش ماده‌ی مونوترپن‌های آروماتیک، در ادامه مسیر بوده و بنابراین نقش اساسی را در این مسیر ایفاء می‌نماید (Thakur and Kumar, 2020). از آنجایی که ترکیبات غالب اسانس‌ها از گروه ترپن‌ها می‌باشد و به‌دلیل این‌که گلوکز به‌عنوان پیش ماده ضروری در سنتز اسانس و به‌ویژه مونوترپن‌هاست، بنابراین فتوسنتز و تولید فرآورده‌های فتوسنتزی ارتباط مستقیمی با تولید اسانس دارد (Farahani *et al.*, 2020). در تحقیق حاضر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک سه میلی مولار، مقدار اسانس استخراج‌شده از ساختار هوایی گیاهان زرین گیاه را به‌میزان ۱/۱۲ و ۱/۱۸ درصد رسانید که بیانگر کارایی بالاتر تیمار اسید سالیسیلیک در افزایش سنتز و تجمع اسانس گیاه زرین گیاه است، هرچند که تیمارهای اتانول

۲۰ درصد و فنیل آلانین ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیز در گروه‌های آماری مشابه با اسید سالیسیلیک سه میلی‌مولار قرار گرفتند (جدول ٦). تیمارهای به‌کاررفته در این پژوهش، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و در نتیجه بازده فتوسنتزی در زرین گیاه را افزایش داده و از این طریق بر ترکیبات تشکیل دهنده اسانس نیز تأثیر گذار بوده‌اند. باتوجه‌به این‌که بیوسنتز 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).

Table 5: Complex analysis of variance of variation of essential oil content and main compositions in *D.kotschyi*

SOV [z]	DF[y]	Neral	Limonene	Alpha-Pinene	Carvacrol	Caryophyllene	Gamma-Terpinene	P-Cymene	Essential oil
Year	1	0.01*	0.72$^{n.s}$	0.14$^{n.s}$	0.1$^{n.s}$	0.4$^{n.s}$	5.8**	0.1^{ns}	2.7$^{n.s}$
R(Y)	4	0.007*	1.75*	7.3**	8.54**	2.28*	0.36*	0.245*	9.66**
T	12	0.3**	7.72**	6.89**	4.67**	3.9**	2.9**	1.2**	14.9**
E	60	0.002	0.5	0.08	0.09	0.65	0.1	0.07	1.1
CV %		6.6	8.12	7.14	5.67	6.14	5.8	4.83	6.4

Continued Table 5: Complex analysis of variance of variation of essential oil content and main compositions in *D.kotschyi*

SOV	DF	Eucalyptol	Alpha campholene Aldehyde	Geranic acid methyl ester	Geranyl acetate	Geraniol	Geranial	Thymol
Year	1	0.72^{ns}	0.14^{ns}	0.1^{ns}	1.4^{ns}	0.8^{ns}	0.1^{ns}	1.5*
R(Y)	4	12.3**	7.22**	9.8**	14.6**	3.86*	0.176*	1.05*
T	12	1.01*	6.05**	8.2**	17.9**	8.9**	1.6**	7.9**
E	60	0.5	0.08	0.09	1.8	1.1	0.05	0.3
CV%		3.74	7.55	5.12	8.6	6.53	4.88	5.82

[z] SOV: source of variation, [y]df: degree of freedom, [x]CV: coefficient of variation, *, ** significant at P=0.05 and P=0.01 levels of probability respectively, ns: not significant

Table 6: Means of main chemical composition (%) in *D.kotschyi* plants affected by elicitors (2022-2023)

Treatment		Neral	Limonene	Alpha-Pinene	Carvacrol	Caryophyllene	Gamma-Terpinene	P-Cymene	Essential oil
		2022							
Control		6.5±0.8^{d}	5.76±0.7^{c}	21.32±1.2^{e}	0.94±0.06^{e}	0.85±0.08^{e}	0.78±0.08^{e}	0.99±0.01^{c}	0.84±0.03^{d}
Methanol	10	7.5±0.6^{cd}	5.44±0.8^{d}	23.32±1.1^{d}	1.21±0.01^{d}	1.32±0.09^{c}	1.81±0.06^{b}	1.91±0.02^{a}	0.85±0.05^{d}
	20	8.02±0.4^{c}	7.73±1.1^{a}	25.73±1.4^{c}	1.73±0.03^{c}	1.44±0.06^{b}	1.39±0.05^{c}	1.76±0.02^{a}	0.96±0.01^{c}
Ethanol	10	11.1±0.8^{ab}	7.85±0.7^{a}	24.85±1.5^{c}	1.85±0.02^{b}	1.33±0.06^{c}	1.38±0.04^{c}	1.36±0.01^{b}	0.99±0.03^{bc}
	20	12.86±1.1^{a}	7.44±0.9^{b}	27.44±1.2^{b}	2.21±0.1^{a}	1.55±0.03^{b}	1.44±0.05^{c}	1.92±0.01^{a}	1.09±0.05^{a}
Acetone	10	6.43±0.6^{e}	4.76±0.7^{d}	22.76±1.1^{d}	1.18±0.06^{d}	1.08±0.07^{cd}	1.1±0.08^{cd}	1.69±0.02^{a}	0.88±0.03^{d}
	20	7.82±0.6^{c}	4.55±0.7^{de}	21.76±1.4^{e}	1.88±0.05^{b}	1.44±0.04^{b}	1.22±0.07^{c}	1.45±0.03^{b}	0.92±0.04^{c}
LSD		0.24	0.96	1.00	1.00	0.55	0.95	0.88	0.2
Salicylic Acid*	1	11.82±0.6^{a}	7.76±0.7^{a}	27.76±1.4^{b}	1.18±0.06^{d}	1.08±0.07^{cd}	1.82±0.07^{b}	1.42±0.02^{b}	0.83±0.09^{d}
	2	13.1±0.8^{a}	8.22±0.9^{a}	29.22±15^{a}	2.01±0.1^{b}	1.86±0.06^{a}	2.02±0.04^{a}	1.14±0.02^{c}	1.12±0.04^{a}
Phenylalanine	1	12.21±0.5^{a}	8.01±0.8^{a}	28.01±1.6^{a}	1.78±0.05^{c}	1.64±0.08^{b}	1.91±0.1^{ab}	0.11±0.01^{f}	1.11±0.03^{a}
	2	11.78±0.7^{a}	6.57±0.6^{b}	26.57±1.3^{b}	1.11±0.07^{d}	1.22±0.02^{c}	1.44±0.05^{c}	0.75±0.02^{d}	0.92±0.05^{c}
Chitosan	1	11.82±0.8^{a}	8.76±0.7^{a}	27.11±1.4^{b}	2.22±0.08^{a}	1.49±0.09^{b}	2.1±0.08^{a}	0.69±0.01^{d}	1.09±0.02^{a}
	2	10.82±0.6^{b}	7.76±0.7^{ab}	26.76±1.2^{b}	2.18±0.06^{a}	1.11±0.07^{cd}	1.96±0.1^{a}	0.69±0.02^{d}	0.99±0.03^{bc}
LSD		0.78	0.77	1.00	1.00	0.94	0.97	0.99	0.55
Treatment		Neral	Limonene	Alpha-Pinene	Carvacrol	Caryophyllene	Gamma-Terpinene	P-Cymene	Essential oil
									2023
Control		6.5±0.8^{d}	4.33±0.7^{e}	22.23±1.2^{d}	1.85±0.07^{b}	0.98±0.08^{d}	0.81±0.02^{e}	1.22±0.01^{b}	0.87±0.02^{d}
Methanol	10	8.5±0.9^{c}	5.44±0.8^{d}	25.32±1.1^{c}	2.21±0.01^{a}	1.15±0.09^{c}	1.07±0.01^{d}	1.33±0.02^{b}	0.96±0.05^{c}
	20	9.02±0.4^{bc}	6.73±0.1^{b}	24.73±1.3^{c}	2.73±0.03^{a}	1.53±0.02^{b}	1.24±0.05^{c}	0.76±0.02^{d}	0.99±0.01^{bc}
Ethanol	10	11.97±0.3^{a}	7.85±0.7^{a}	25.85±1.5^{c}	1.85±0.02^{b}	1.11±0.06^{cd}	1.39±0.04^{c}	1.36±0.01^{b}	0.98±0.03^{c}
	20	12.88±0.9^{a}	8.44±0.9^{a}	27.44±10.2^{b}	2.44±0.06^{a}	1.41±0.03^{bc}	1.77±0.05^{b}	0.92±0.03^{cd}	1.04±0.04^{b}
Acetone	10	8.82±0.6^{c}	4.76±0.7^{d}	22.76±1.4^{d}	1.18±0.04^{d}	1.21±0.05^{c}	1.05±0.06^{d}	0.69±0.02^{d}	0.89±0.09^{cd}
	20	9.55±0.7^{b}	4.99±0.8^{d}	23.76±1.1^{d}	2.18±0.05^{ab}	1.44±0.06^{b}	1.21±0.07^{c}	0.88±0.03^{d}	0.95±0.05^{c}
LSD		0.29	1.00	0.98	1.00	0.88	0.87	0.99	0.44

Salicylic Acid	1	9.82±0.8^{b}	4.83±0.66^{d}	24.76±1.1^{c}	2.15±0.01^{b}	1.08±0.06^{d}	1.88±0.07^{b}	1.11±0.03^{c}	0.89±0.09^{cd}
	2	11.99±0.7^{a}	7.22±0.9^{b}	28.22±1.2^{a}	2.22±0.03^{ab}	1.99±0.07^{a}	2.11±0.08^{a}	1.02±0.01^{c}	1.18±0.04^{a}
Phenylalanine	1	11.87±0.9^{a}	8.01±0.8^{a}	28.32±1.4^{a}	2.56±0.05^{a}	1.33±0.02^{c}	1.98±0.08^{a}	1.04±0.01^{c}	1.07±0.03^{a}
	2	9.78±0.7^{b}	6.63±0.6^{b}	25.57±1.1^{c}	2.11±0.03^{b}	1.35±0.02^{c}	1.76±0.05^{b}	1.33±0.01^{b}	0.98±0.05^{bc}
Chitosan	1	10.82±0.8^{b}	7.88±0.7^{a}	27.76±1.4^{ab}	2.18±0.05^{b}	1.41±0.06^{bc}	1.1±0.08^{cd}	1.22±0.02^{bc}	1.03±0.01^{b}
	2	8.93±0.9^{c}	6.51±0.6^{bc}	26.76±1.3^{b}	2.06±0.04^{b}	1.31±0.05^{c}	0.89±0.07^{de}	1.31±0.03^{b}	0.99±0.02^{bc}
LSD		0.82	0.77	0.95	1.00	0.99	0.89	0.94	0.88

Treatment		Eucalyptol	Alphavcampholene aldehyde	Geranic acid	Geranyl acetate	Geraniol	Geranial	Thymol
								2022
Control		1.55±0.04^{d}	1.81±0.1^{c}	2.78±0.06^{d}	4.81±0.08^{d}	1.91±0.07^{d}	10.91±0.4^{d}	1.02±0.02^{a}
Methanol	10	2.44±0.05^{c}	1.32±0.2^{d}	2.21±0.08^{d}	6.48±0.09^{bc}	1.81±0.08^{d}	11.91±0.4^{c}	0.99±0.03^{ab}
	20	2.65±0.08^{b}	2.72±0.1^{b}	3.73±0.03^{c}	5.77±0.06^{c}	2.44±0.05^{b}	11.76±0.2^{c}	0.58±0.01^{cd}
Ethanol	10	2.78±0.04^{b}	2.85±0.2^{b}	3.85±0.02^{c}	6.75±0.08^{b}	1.77±0.04^{d}	12.36±0.6^{c}	0.86±0.03^{b}
	20	3.06±0.06^{a}	3.44±0.1^{a}	5.44±0.07^{a}	7.88±0.03^{a}	1.38±0.05^{f}	14.92±0.4^{a}	1.04± 0.05^{a}
Acetone	10	2.49±0.04^{bc}	2.44±0.2^{b}	3.67±0.08^{c}	5.55±0.04^{c}	1.82±0.05^{d}	10.92±0.4^{d}	0.91±0.02^{ab}
	20	2.32±0.05^{c}	3.02±0.1^{ab}	2.41±0.04^{d}	4.91±0.05^{d}	1.66±0.03^{e}	11.55±0.3^{c}	0.94±0.03^{a}
LSD		0.91	0.87	0.88	0.69	0.81	0.72	0.66
Salicylic Acid	1	2.81±0.04^{b}	2.76±0.1^{b}	2.18±0.05^{d}	6.08±0.06^{c}	2.1±0.07^{c}	13.69±0.3^{b}	0.96±0.09^{ab}
	2	3.25±0.02^{a}	3.22±0.3^{a}	4.44±0.08^{b}	8.89±0.09^{a}	2.3±0.04^{b}	15.79±0.3^{a}	1.11±0.04^{a}
Phenylalanine	1	3.05±0.05^{a}	3.01±0.4^{ab}	3.98±0.05^{bc}	8.91±0.08^{a}	1.56±0.04^{e}	14.11±0.7^{a}	1.17±0.03^{a}
	2	2.57±0.06^{b}	3.57±0.5^{a}	2.11±0.07^{d}	6.35±0.02^{c}	1.44±0.09^{f}	12.75±0.1^{b}	0.92±0.05^{ab}
Chitosan	1	3.35±0.05^{a}	3.44±0.1^{a}	3.67±0.1^{c}	6.78±0.02^{b}	1.82±0.03^{d}	13.92±0.4^{b}	1.03±0.02^{a}
	2	2.19±0.07^{c}	3.03±0.3^{ab}	2.44±0.2^{d}	5.55±0.08^{c}	1.55±0.05^{e}	12.92±0.7^{c}	0.96±0.01^{a}
LSD		1.00	0.95	0.75	0.85	0.88	0.85	0.77

Treatment		Eucalyptol	Alpha campholene aldehyde	Geranic acid	Geranyl acetate	Geraniol	Geranial	Thymol
								2023
Control		1.88±0.01^{d}	1.77±0.1^{d}	2.32±0.02^{d}	4.11±0.08^{e}	2.05±0.03^{c}	8.55±0.4^{e}	1.01±0.01^{a}
Methanol	10	2.44±0.02^{c}	2.32±0.2^{b}	2.44±0.01^{d}	4.48±0.09^{de}	1.75±0.08^{d}	9.91±0.7^{d}	0.5±0.02^{d}
	20	2.69±0.04^{b}	2.75±0.4^{b}	3.73±0.03^{c}	4.88±0.06^{d}	2.61±0.05^{a}	10.76±0.8^{d}	0.56±0.03^{d}
Ethanol	10	2.85±0.02^{b}	1.85±0.5^{c}	3.91±0.02^{c}	5.75±0.05^{c}	2.28±0.03^{b}	11.36±0.6^{c}	0.88±0.01^{b}
	20	3.11±0.01^{a}	3.44±0.4^{a}	4.99±0.1^{ab}	6.55±0.03^{b}	2.71±0.04^{a}	14.93±0.4^{a}	0.93±0.02^{a}
Acetone	10	1.45±0.02^{e}	2.44±0.3^{b}	3.88±0.07^{c}	5.55±0.09^{c}	1.91±0.05^{d}	8.34±0.3^{e}	0.77±0.01^{b}
	20	2.06±0.03^{c}	2.78±0.2^{b}	2.93±0.08^{cd}	5.98±0.04^{c}	1.81±0.02^{d}	9.77±0.4^{d}	0.93±0.02^{ab}
LSD		1.00	1.00	0.77	0.55	0.76	0.88	0.2
Salicylic Acid	1	2.76±0.05^{b}	2.61±0.3^{b}	2.55±0.06^{d}	6.08±0.07^{c}	1.99±0.06^{cd}	12.69±0.3^{b}	0.81±0.09^{b}
	2	3.26±0.06^{a}	3.22±0.5^{a}	5.22±0.09^{a}	8.86±0.08^{a}	1.12±0.04^{g}	15.78±0.4^{a}	1.14±0.04^{a}
Phenylalanine	1	2.15±0.07^{c}	2.88±0.4^{b}	2.61±0.05^{d}	6.64±0.04^{b}	1.81±0.05^{d}	13.11±0.7^{b}	0.88±0.03^{b}
	2	3.48±0.09^{a}	3.77±0.5^{a}	2.92±0.07^{cd}	6.35±0.02^{c}	1.66±0.07^{e}	15.75±0.9^{a}	1.1±0.05^{a}
Chitosan	1	3.44±0.08^{a}	3.11±0.4^{a}	3.82±0.2^{c}	6.55±0.03^{b}	1.77±0.08^{d}	14.92±0.4^{a}	0.88±0.05^{b}
	2	2.08±0.06^{c}	2.55±0.2^{b}	2.44±0.1^{d}	5.89±0.08^{c}	1.94±0.05^{d}	13.66±0.8^{b}	0.76±0.05^{b}
LSD		0.99	1.00	0.99	0.88	0.73	0.99	0.88

*Salicylic Acid 1: 1.5 mM, Salicylic Acid 2: 3 mM, Phenylalanine 1: 1000 mg.l^{-1}, Phenylalanine 2: 2000 mg.l^{-1}, Chitosan 1: 0.25 g.l^{-1}. Chitosan 2: 0.5 g.l^{-1} – Numbers in each column that have same word, have same group

۳-۳. ضرایب همبستگی

نتایج برآمده از ضرایب همبستگی ساده پیرسون بین مقدار اسانس، ترکیبات مهم اسانس و صفات مورفوفیزیولوژیکی نشان‌داد که همبستگی مثبت و معنی‌داری بین صفات مورد بررسی وجود داشت که در این بین ضرایب مربوط به وزن خشک و اسانس با ترکیبات غالب اسانس چشم‌گیرتر بود (جدول ۷). به‌طورکلی محرک‌های مختلف از جمله کیتوزان (Alizadeh *et al.*, 2020) و اسید سالیسیلیک (Poorghadir *et al.*, 2020) نقش مهمی در فعال‌کردن آنزیم‌های مسیر متابولیسم ثانویه گیاهان می‌کنند. کاربرد کیتوزان احتمالاً به‌دلیل افزایش جذب CO_2، کاهش تعرق، تنظیم ژن و القای آنزیم‌های مرتبط با بیوسنتز ترپنوئیدها، محتوای اسانس را تغییر می‌دهد (Hawrylak-Nowak *et al.*, 2021). تغییر در پاسخ گیاه به‌غلظت‌های مختلف هر محرک رشد می‌تواند در ارتباط با گونه گیاهی، مرحله رشد، روش‌های کاربرد و شرایط محیطی مرتبط باشد (Ali, 2021). بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه تحت تأثیر رشد و نمو گیاه است که به رفتارهای فیزیولوژیکی گیاه به‌ویژه ظرفیت فتوسنتز بستگی دارد. تغییر در فعالیت فتوسنتز باعث تغییر در فعالیت متابولیکی گیاه می شود (Sanikhani *et al.*, 2020). در گیاهان معطر، بیوسنتز و تجمع اسانس‌ها به‌طور مستقیم یا غیر مستقیم با ظرفیت فتوسنتز گیاه مرتبط است. به-

طوری که تغییرات مشاهده شده در کیفیت اسانس گیاهان تیمار شده را می‌توان به‌تفاوت در اثرات هر یک از محرک‌ها بر رشد گیاه، پاسخ گیاه به عوامل زیستی و غیرزیستی که منجر به افزایش مواد مؤثره گیاه می‌شود، نسبت داد (Rajabzadeh *et al.*, 2024).

Table 7: Simple correlation indices between morpho-physiological attributes, essential oil content and the main constituents of essential oil under growth elicitors.

Year		Essential oil (1)	Alpha pinene (2)	Limonene (3)	Neral (4)	eranial (5)	Geranyl acetate (6)	Total phenol (7)	Total Chlorophyll (8)	Relative Water Content(9)	Shoot Dry Matter(10)
2022	1	1									
	2	0.88**	1								
	3	0.81**	0.71**	1							
	4	0.77**	0.91**	0.88**	1						
	5	0.69**	0.51**	0.71**	0.88**	1					
	6	0.71**	0.44*	0.55**	0.23ns	0.21ns	1				
	7	0.88**	0.55**	0.81**	0.45*	0.39*	0.32 ns	1			
	8	0.76**	0.66**	0.88**	0.66**	0.33 ns	0.21 ns	0.44*	1		
	9	0.58**	0.22 ns	0.44*	0.55**	0.79**	0.74**	0.71**	0.88**	1	
	10	0.92**	0.88**	0.91**	0.66**	0.55**	0.45*	0.33 ns	0.67**	0.56**	1
Year		Essential oil (1)	Alpha pinene (2)	Limonene (3)	Neral (4)	eranial (5)	Geranyl acetate (6)	Total phenol (7)	Total Chlorophyll (8)	Relative Water Content(9)	Shoot Dry Matter(10)
2023	1	1									
	2	0.88**	1								
	3	0.77**	0.88**	1							
	4	0.65**	0.94**	0.78**	1						
	5	0.71**	0.59**	0.79**	0.77**	1					
	6	0.72**	0.33ns	0.68**	0.21ns	0.55**	1				
	7	0.62**	0.77**	0.88**	0.33ns	0.66**	0.21 ns	1			
	8	0.71**	0.69**	0.85**	0.82**	0.55**	0.11 ns	0.32 ns	1		
	9	0.59**	0.11 ns	0.33 ns	0.66**	0.66**	0.66**	0.66**	0.91**	1	
	10	0.91**	0.77**	0.88**	0.77**	0.77**	0.65*	0.44 *	0.81**	0.77**	1

*, ** significant at P=0.05 and P=0.01 levels of probability respectively, ns: not significant.

٤. نتیجه‌گیری

در این بررسی مشخص گردید که محرک‌های رشدی به‌خصوص اسید سالیسیلیک سه میلی مولار و فنیل آلانین ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نقش مثبتی بر افزایش کمیت و کیفیت اسانس زرین گیاه داشتند. در بین اجزای اسانس، مواد مؤثر مونوترپنه اکسیژنه الکل‌دار (آلفا-پینن، گاما-ترپینن، نرال، ژرانیال، نرول، ژرانیول، لیمونن، کارواکرول، تیمول)، در محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک، فنیل آلانین و اتانول، بیشترین مقدار را به‌دست آوردند. درحالی‌که در برخی موارد، محلول‌پاشی متانول و استون در مقایسه با شاهد اثرات کاهشی بر مقدار این ترکیبات داشت. باتوجه‌به قیمت محرک‌های رشدی اسید سالیسیلیک و نیز فنیل آلانین از یک‌سو و از سوی دیگر قیمت بالای اسانس زرین گیاه و استفاده‌های متعدد این گیاه ارزشمند در صنایع مختلف غذایی و دارویی و همچنین افزایش بیش از ۵۰ درصدی اسانس و ترکیبات اسانس گیاهان تحت تیمار با این مواد محرک؛ در نهایت می‌توان نتیجه گرفت

که تحت شرایط اقلیم و خاک مشابه، محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک سه میلی‌مولار و فنیل آلانین ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌عنوان یک روش مفید و اقتصادی می‌تواند برای افزایش کمیت و کیفیت اسانس این گیاه به‌کار برده شود.

۵. سپاس‌گزاری

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد به‌جهت همکاری و مساعدت، تقدیر به‌عمل می‌آید.

٦. منابع

Abdi, L., Asghari, H. R., Tolyat Abolhasani, M., Amerian, M. R. and 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. (In Persian). http://dorl.net/dor/20.1001.1.23222727.1401.11.48.13.4

Abdul-Hafeez, E.Y. and 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. doi: 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.

Aghaei, K., Ghasemi Pirbalouti, A., Mousavi, A., Naghdi Badi, H.A. and Mehnatkesh A. M. (2021). Effects of different fertilizers and the foliar application of L-phenylalanine on mineral contents of hyssop [*Hyssopus officinalis* L. subsp. *angustifolius* (Bieb.)]. *Journal of Horticultural Plants Nutrition*, 4(2), 13-28. https://doi.org/10.22070/hpn.2021.4639.1038

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. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114330

Ali, B. (2021). Salicylic Acid: an efficient elicitor of secondary metabolite production in plants. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 31, 101884. doi: 10.1016/j.bcab.2020.101884

Alizadeh, A., Moghaddam, M., Asgharzade, A. and 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

Alizadeh, Z. and 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

Arnon, D.I. (1975). Physiological principles of dry land crop production. In: U.S.Gupta (Ed.) Physiological Aspects of Dry Land Farming. pp. 3-14. Oxford Press.

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* Bois. *African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines*, 14, 209-217. doi: 10.21010/ajtcam.v14i3.23.

Dere, S., Güneş, T. and 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(1), 13-17. https://www.researchgate.net/publication/235938850

Esmaeilzadeh bahabadi, S. and Sharifi, M. (2013). Increasing the production of plant secondary metabolites, using biotic elicitors. *Journal of Cell Tissue*, 4 (2), 119-128. doi: 10.52547/JCT.4.2.119

Falcon-Rodriguez, A. B., Cabrera, J. C., Ortega, E. and Martinez-Tellez, M.A. (2009). Concentration and physicochemical properties of chitosan derivatives determine the induction of defence responses in roots and leaves of Tobacco (*Nicotiana tabacum*) plants. *American Journal of Agriculture Biology Science*, 4 (3), 192-200. doi: 10.3844/ajabssp.2009.192.200

Fallah, S., Mouguee, S., Rostaei, M. and Adavi, 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. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111885

Farahani, H., Sajedi, N.A., Madani, H., Changizi, M. and Naeini, M.R. (2020). Effect of foliar-applied silicon on flower yield and essential oil composition of Damask Rose (*Rosa damascena* Mill.) under water deficit stress. *Silicon*, doi:1007/s12633-020-00762-1.

Ghanbarzadeh, Z., Mohsenzadeh, S., Rowshan, V. and Moradshahi, A. (2019). Evaluation of the growth, essential oil composition and antioxidant activity of *Dracocephalum moldavica* under water deficit stress and symbiosis with *Claroideoglomus etunicatum* and *Micrococcus yunnanensis*. *Scientia Horticulturae*, 256, 108652. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108652

Gohari, Gh., Feridoni, S., Panahi Rad, S., Sepehri, N. and Dadpour, M.R. (2020). Foliar application of phenylalanine on nutritional value in *Vitis vinifera* var. Hosseini. *Journal of Food Researches*, 30(4), 109-121. doi: 10.22034/fr.2021.37105.1708

Gorni, P. H., Pacheco, A. C., Moro, A. L., Albuquerque Silva, J. F., Moreli, R. R. and 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. doi: 10.1016/j.scienta.2020.109436

Govindaraju, S. and Indra Arulselvi, P. (2018). Effect of cytokinin combined elicitors (L-phenylalanine, salicylic acid and chitosan) on in vitro propagation, secondary metabolites and molecular characterization of medicinal herb-*Coleus aromaticus* Benth (L). *Journal of Saudi Society Agriculture Science*, 17(4), 435-444. doi: 10.1016/j.jssas.2016.11.001

Hawrylak-Nowak, B., Dresler, S., Rubinowska, K. and 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

Karamian, R. and Asadbegy, M. (2016). Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of three *Onobrychis* species from Iran. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22, 112-119. doi: 10.15171/PS.2016.18

Kheiri, A., Mohajjel shoja, H. and Sarajoughi, M. (2020). Study on the effect of drought stress and methanol spraying on dehydrine1 gene expression in *Carthamus tinctorius*. *Genetic Engineering and Biosafety Journal*, 9, 67-75. http://dorl.net/dor/20.1001.1.25885073.1399.9.1.4.7

Lee-Sae, N., Kerdchoechuen, O. and Laohakunjit, N. (2011). Effect of ammonium nitrate on cell growth and production of phenolic compounds in cell suspension cultures of *Vitis vinifera*. *Aricultural Science*, 42(2), 249-252. doi: 10.3390/molecules19067901

Marinova, D., Ribarova, F. and Atanassaova, M. (2005). Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Journal University of Chemistry Technology Metallurgy*, 40 (3), 255-260.

Mathur, N. and Vyas, A. (2007). Physiological effect of some bio-regulators on vegetative growth, yield and chemical constituents of pearl millet (*Pennisetum typhoides* (Burm) Stapf. and Hubb). *International Journal of Agricultur Research*, 2(3), 238-245. doi: 10.3923/ijar.2007.238.245

Moghaddam, M., Narimani, R., Rostami, G. and Mojarab, S. (2018). Studying the effect of foliar application of methanol and ethanol on morphological and biochemical characteristics of sweet basil (*Ocimum basilicum* cv Keshkeni luvelou). *Iranian Journal of Field Crops Research*, 16(2), 345-354. (In Persian). doi: 10.22067/gsc.v16i2.57520

Mohammadi, H., Amirikia, F., Ghorbanpour, M., Fatehi, F. and 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. doi: 10.1016/j.indcrop.2018.12.046

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. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 23(5), 1142-1153. doi: 10.1080/0972060X.2020.1801519

Mousavi, S.M., Akbarpour, V., Moradi, H. and Sadeghi, H. (2021). Effect of methanol and ethanol foliar application on some growth characteristics and some of secondary metabolites thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Journal of Plant Production Research*, 28(1), 213-229. doi: 10.22069/jopp.2021.18130.2685

Mozaffarian, V. (2008). A Pictorial Dictionary of Botanical Taxonomy Latin-English-French-Germany-Persian. Germany: Koeltz Scientific Books.

Nonomura, A. M. and Benson, A. (1992). The path of carbon in photosynthesis: improved crop yields with methanol. *Procedures Natural Science*, 5(20), 9794–9798. doi: 10.1073/pnas.89.20.9794

Pandey, P., Irulappan, V., Bagavathiannan, M. V. and 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. doi: 10.3389/fpls.2017.00537

Poorghadir, M., Mohammadi Torkashvand, A., Mirjalili, S. A. and 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

Putalun, W., Luealon, W. and De-Eknamkul, W. (2007). Tanaka improvement of artemisinin production by chitosan in hairy root cultures of *Artemisia annua* L. *Biotechnology Lecture*, 29, 1143-1146. doi: 10.1007/s10529-007-9368-8

Rahmani Samani, M., Ghasemi Pirbalouti, A., Moattar, F. and Golparvar, A. R. (2019). L-phenylalanine and bio-fertilizers interaction effects on growth, yield and chemical compositions and content of essential oil from the Sage (*Salvia officinalis* L.) leaves. *Industrial Crops and Products*, 137, 1-8. doi: 10.1016/j.indcrop.2019.05.019

Rajabzadeh, Sh., Ghasemi, A., Yadegari, M. and Rahimi, T. (2024). Physiological and phytochemical responses of *Rosa damascena* Mill. to the foliar application of different elicitors. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 27, https://doi.org/10.1080/0972060X.2023.2255613

Rudrappa, T., Neelwarne, B., Lakshmanan, V. and Aswanthanarayana, S. R. (2006). Elicitation of peroxidase activity in genetically transformed root cultures of *Beta vulgaris* L. *Electronic Journal of Biotechnology*, 9, 5-10. doi: f84ebc43e22df2c5bb0733aeac55ed32f1e93bfe

Sanikhani, M., Akbari, A. and Kheiry, A. (2020). Effect of phenylalanine and tryptophan on morphological and physiological characteristics in colocynth (*Citrullus colocynthis* L.). *Journal of Plant Process and Function*, 9(35), 317-328. (In Persian). http://dorl.net/dor/20.1001.1.23222727.1399.9.35.5.6

Shaabani, M., Mousavi, S. H., Azizi, M. and Jafari, A. A. (2020). Cytotoxic and apoptogenic effects of *Dracocephalum kotschyi* Boiss., extracts against human glioblastoma U87 cells. *Avicenna Journal Phytomedation*, 10(6), 594-603.

Shaykh-Samani, A., Ghasemi Pirbalouti, A., Yadegari, M. and Rajabzadeh, F. (2023). Foliar application of salicylic acid improved the yield and quality of the essential oil from *Dracocephalum kotschyi* Boiss. under water deficit Stress. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 26, 769-779. doi: 10.30495/iper.2022.1952014.1771

Thakur, M. and 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

Vasconsuelo, A., Giulietti, A. M. and Boland, R. (2004). Signal transduction events mediating chitosan stimulation of anthraquinone synthesis in *Rubia tinctorum. Plant Science*, 53, 405-413. doi: 10.1016/j.plantsci.2003.10.007

Vojodi Mehrabani, L. (2019). The effects of methanol and ethanol foliar application under salinity stress on some physiological characteristics of *Pelargonium graveolens* L. *Journal of Plant Physiology and Breeding*, 9(1), 63-73. (In Persian). https://civilica.com/doc/1565889

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. doi: 10.1515/tjb-2017-0183

Yaghoubi Kiaseh, D. and Yadegari, M. (2015). The Effect of ethanol and cycloheximide on the vase life of cut flowers Alstroemeria (*Alstroemeria hybrida*). *Journal of Ornamental Plants*, 6(2), 73-82.

Zamani, S., Ghasemnejad, A., Alizadeh, M. and 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. (In Persian). doi: 10.1021/jf020953b

Zhao, D. X., Fu, C. X., Han, Y. S. and Lu, D. P. (2005). Effects of elicitation on jaceosidin and hispidulin production in cell suspension cultures of *Saussurea medusa*. *Process Biochemistry*, 40(2), 739-745. doi: 10.1016/j.procbio.2004.01.040