

# Effects of Elicitors on Physiological and Phytochemical Characters of Hyssop (*Hyssopus officinalis* L. subsp. *angustifolius* Bieb.) in Various Irrigation Conditions

Mehrab Yadegari

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

## Introduction

*Hyssopus officinalis* L. belongs to the family Lamiaceae, is one of the endangered endemic species in Iran. This plant is rich in essential oil, flavonoids, monoterpene glycosides, trypanocidal terpenoids, rosmarinic acid, and linolenic acid<sup>6</sup>. The main compounds of the essential oil from *H.officinalis* L. collected from natural habitats are  $\alpha$ -pinene, Sabinene, 3-Carene, Beta-Pinene, Cis- Pinocamphone, Myrtenol, Pinocamphone and Camphor. 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. Drought stress has detrimental effects on growth and yield and can upset the balance between the antioxidant defense system and free radicals by stimulating a series of biochemical reactions, where free radicals cause cell damage. In sustainable production systems of medicinal and aromatic plants, stable quantitative and qualitative functions can be achieved under conditions of environmental stress and it is possible to improve the production of secondary metabolites in these plants under adverse environmental conditions. Therefore, this study was done to evaluate the organic elicitors on the physiological and phytochemical properties of *H.officinalis* to determine and introduce the best elicitor under water stress.

## Materials and Methods

This investigation was done from spring (May) 2022 to fall (September) 2023 at the Research Farm (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. The present study was conducted in a randomized complete block design (RCBD) with three replications to investigate the effect of foliar application of different organic elicitors (chitosan, salicylic acid and phenylalanine) with control level (without any spraying) on the physiological and phytochemical characters of *H.officinalis* L. In each year, treatments were performed in 3 stages (end of vegetative, beginning of flowering and 50% of flowering) and in full flowering, harvesting was done. 3 irrigation regimes (4, 6, 8 day interval) in main plots and foliar application of elicitors in sub plots were done. The essential oils were extracted by hydro-distillation and analyzed using GC/MS.

## Results and Discussion

According to obtained results, applied organic elicitors significantly influenced the physiological and phytochemical characters of *H.officinalis* L. However the assayed traits showed slightly variation during the studied years. In two years, the highest chlorophyll content (17.12-17.31 mg.Kg<sup>-1</sup> FW) and total phenol content (1.77-1.81 mg.g<sup>-1</sup> DW) were obtained in chitosan (0.5 mg.l<sup>-1</sup>) and phenyl alanine (1000 mg.l<sup>-1</sup>) treatments respectively. In most of measured characters, plants treated with chitosan (0.5 mg.l<sup>-1</sup>) and phenyl alanine (1000 mg.l<sup>-1</sup>) were in the same group. Amounts of some characters in plants treated with phenyl alanine (2000 mg.l<sup>-1</sup>) and salicylic acid (3 mM) lesser than control plants. The main constituents of essential oil were Sabinene, 3-Carene, Beta-Pinene, Cis- Pinocamphone, Myrtenol, Pinocamphone and Camphor (cyclic monoterpenes) that made the most components of essential oil plants. Among of elicitors, the chitosan effect on increasing of physiological and phytochemical characters such as the chlorophyll content was higher than other elicitors. Applied elicitors showed significant effects on essential oil content and composition of *H.officinalis* L. The highest essential oil content (0.89-0.91 %) was obtained from the treated plants by chitosan (0.5 mg.l<sup>-1</sup>

<sup>1</sup>). According to the biennial results of the chemical analysis of the essential oils from plants treated with treatments by GC/MS, the most important chemical compounds that determine the quality of *H.officinalis* L. essential oil including Beta-Pinene (17.93-18.53 %), Pinocamphone (24.97-25.12 %) and Cis-Pinocamphone (42.87-45.12 %) were identified. Cis-Pinocamphone belonging to bicyclic monoterpene was the predominant constituent of essential oil of *H.officinalis* L.

### **Conclusion**

According to the results of this study, water deficit stress caused significant phytochemical changes in the *H.officinalis* L. essential oil. The main constituents of the volatile oils of *H.officinalis* L. were Sabinene, 3-Carene, Beta-Pinene, Cis- Pinocamphone, Myrtenol, Pinocamphone and Camphor were identified in the *H.officinalis* essential oil. Generally, Foliar application of chitosan and phenyl alanine significantly increased the monoterpenes compounds in essential oils of *Hyssopus officinalis* L., so that the content of these compounds and essential oil content in treated plants by organic elicitors 63% was more than the control plants. Finally, the application of chitosan at 0.5 mg.l<sup>-1</sup> can be a good strategy to improve physiological and essential oil quantity and quality of *H.officinalis* L. in cold and semi-arid climates.

**Keywords:** Chitosan, cis-Pinocamphone, foliar application, irrigation, phenyl alanine.

# اثرات محلول پاشی محرک‌های رشدی بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis* L. subsp. *angustifolius* Bieb.) در شرایط آبیاری مختلف

مهراب یادگاری

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

[Mehrab.Yadegari@iau.ac.ir](mailto:Mehrab.Yadegari@iau.ac.ir)

## چکیده

زوفا با نام علمی *Hyssopus officinalis* L. از گیاهان دارویی با ارزش و بومی ایران و از خانواده نعنائیان است. عدم رعایت اصول بهره برداری، از مخاطرات نابودی این گیاه ارزشمند محسوب می‌گردد. این مطالعه از بهار (اردیبهشت ماه) ۱۴۰۱ تا پاییز (مهرماه) ۱۴۰۲ در مزرعه تحقیقاتی شهرکرد با موقعیت جغرافیایی ۳۲ درجه و ۲۰ دقیقه عرض شمالی و ۵۰ درجه و ۵۱ دقیقه شرقی و ارتفاع ۲۰۶۱ متر از سطح دریا انجام شد. بر اساس طبقه‌بندی اقلیمی کوپن، این منطقه دارای اقلیم سرد و نیمه خشک است. تحقیق حاضر در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار به صورت کرت‌های یکبار خرد شده در جهت ارزیابی محرک‌های رشدی آلی بر برخی صفات فیزیولوژیکی، فیتوشیمیایی، اسانس و ترکیبات اسانس گیاه دارویی زوفا انجام گردید. در هر سال، تیمارها در سه مرحله قبل از گلدهی، شروع گلدهی و ۵۰ درصد گلدهی اعمال و در زمان گلدهی کامل اقدام به برداشت شد. تیمارهای دوره آبیاری (۴، ۶ و ۸ روز یکبار) در کرت‌های اصلی و محلول پاشی برگ (کیتوزان، اسید سالیسیلیک و فنیل آلانین) در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب، در دستگاه کلونجر و شناسایی ترکیبات با دستگاه GC/MS و GC-FID انجام شد. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، محرک‌های آلی به‌طور معنی‌داری ( $p < 0.01$ ) بر صفات فیزیولوژیکی و اسانس گیاه زوفا تأثیر داشتند. در مورد صفات فیزیولوژیکی بالاترین مقادیر در دو سال تحقیق برای صفات محتوای کلروفیل (۱۲/۱۷-۱۷/۳۱ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر) و فنول (۱/۷۷-۱/۸۱ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر) در تیمارهای کیتوزان (۰/۵ گرم در لیتر) و فنیل آلانین (۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) تحت دور آبیاری ۴ و ۶ روز به دست آمد. در بین محرک‌های مورد استفاده، اثر کیتوزان بر افزایش میزان کلروفیل کل بیشتر از سایر محرک‌ها بود. در بیشتر صفات مورد ارزیابی، گیاهان تحت تیمار کیتوزان نیم گرم در لیتر و فنیل آلانین ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در یک گروه آماری قرار گرفتند. کاربرد اسید سالیسیلیک و فنیل آلانین در مقادیر بالا، بر بسیاری از صفات مورد مطالعه تأثیر معنی‌داری نداشت و با گیاهان شاهد در یک گروه آماری قرار گرفتند. بر اساس نتایج دو ساله محرک‌های مورد بررسی اثر معنی‌داری بر کمیت و کیفیت اسانس داشتند. بیشترین مقدار اسانس (۰/۸۹-۰/۹۱ درصد) از گیاهان تیمار شده با کیتوزان (۰/۵ گرم در لیتر) در دور آبی ۴ و ۶ به دست آمد که در قیاس با شاهد افزایشی بیش از ۶۳ درصد داشت. تجزیه ترکیبات اسانس زوفا بدست آمده از GC/MS مشخص نمود که ترکیبات غالب اسانس در تمامی تیمارها در دو سال انجام تحقیق شامل بتا-پینن، پینوکامفون، سیس-پینوکامفون، میرتول، سابینن، ۳-کارن، کامفور (مونوترپن‌های حلقوی) بودند. بیشترین مقادیر ترکیبات مهم و تعیین‌کننده کیفیت اسانس شامل بتا-پینن (۱۷/۹۳-۱۸/۵۳ درصد)، پینوکامفون (۲۴/۹۷-۲۵/۱۲ درصد)، سیس-پینوکامفون (۴۲/۸۷-۴۵/۱۲ درصد)، غالباً در تیمارهای کیتوزان در دوره‌های آبیاری ۴ و ۶ روز یکبار بدست آمد. ماده مؤثره سیس-پینوکامفون از مونوترپن‌های حلقوی ترکیب غالب در اسانس تمامی گیاهان بود. بر اساس نتایج به‌دست آمده، استفاده از کیتوزان با غلظت ۰/۵ گرم در لیتر می‌تواند نقش مؤثری در بهبود صفات فیزیولوژیکی، فیتوشیمیایی و اسانس زوفا تحت شرایط اقلیمی سرد و نیمه خشک داشته باشد.

## مقدمه

خانواده نعناعیان، یکی از بزرگترین خانواده‌های گیاهی است که تاکنون ۲۰۰ جنس و ۲۰۰۰ گونه متعلق به آن شناخته شده است. از این خانواده، زوفا با نام علمی *Hyssopus officinalis* L. از گیاهان دارویی با ارزش و بومی ایران است. گیاهی چند ساله، بوته‌ای با ساقه‌های متعدد چوبی است. برگ‌های این گیاه صاف، فاقد دندانه، باریک، کشیده و کم و بیش نیزه ای شکل و رنگ آن سبز و روشن است. این گیاه به خشکی مقاوم است ولی در آغاز رویش و همچنین پس از اولین برداشت به آب کافی نیاز دارد. پس از اولین برداشت چنانچه شرایط اقلیمی مناسب باشد به خصوص اگر آب کافی در اختیار گیاه باشد (در اواخر تابستان) گیاهان مجدداً به گل می‌روند (Mozaffarian, 2008). مقدار اسانس زوفا بین ۰/۳ تا ۱ درصد و ترکیب‌های اصلی تشکیل‌دهنده اسانس کامفور، بتاکامفون، پینوکامفن، آلفا و بتا-پینن، کامفن، هیسوپین و ایزوپینوکامفون است (Zawislak, 2013).

با توجه به قرار گرفتن ایران در منطقه خشک و نیمه خشک، تنش آب یکی از مسائل محدودکننده رشد و نمو گیاهان است. تنش ملایم آب منجر به افزایش مقادیر اسانس گیاهان دارویی آویشن دنبابی (*T. daenensis* L.) و آویشن باغی (*T. vulgaris* L.) (Askary et al., 2018)، گیاه ترخون (*Artemisia dracunculus*) (Mumivand, et al., 2021)، افزایش مقادیر مالون دی آلدئید و کل فنول همیشه بهار مکزیکی (*Tagetes minuta*) (Babaei et al., 2021)، آنزیم آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز گیاه بادرشبویه (*Dracocephalum moldavica*) (Ghanbarzadeh et al., 2019)، راندمان مصرف آب، اسیدهای فنولیک و کربوهیدرات‌های محلول در آب در چچم (*Lolium multiflorum*) و علف بره (*Festuca arundinacea*) (Fariaszewska, et al., 2020)، آنزیم‌های کاتالاز و پرولین گیاه سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) (Hayati et al., 2021)، کاهش پتانسیل آب برگ، هدایت روزنه‌ای، فتوسنتز خالص، تعرق و افزایش سزکویی ترین‌ها در گیاه دارویی مریم گلی (*Salvia dolomitica* Codd) (Caser et al., 2019) گردید. گیاهان تحت تنش خشکی تولید متابولیت‌هایی را می‌نمایند که از آنها در مقابل رادیکال‌های آزاد از جمله اکسیژن رادیکال محافظت نموده و از کاهش فتوسنتز جلوگیری نمایند (Albergaria et al., 2020). در تنش خشکی اسیدهای آمینه، قندها و متابولیسم تحت تأثیر قرار می‌گیرند. از آنجا که تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان به وسیله عوامل محیطی تغییر می‌یابد و تنش رطوبتی نیز عامل مؤثری در کاهش رشد و همچنین ساخت ترکیبات طبیعی گیاهان دارویی می‌باشد (Zandalinas et al., 2017)، بنابراین ارائه‌ی روش‌هایی که گیاه بتواند ماده مؤثره‌ی بیشتر تولید نماید، ضروری به نظر می‌رسد که باید به طور کامل مورد ارزیابی قرار گیرد.

از جمله روش‌هایی که به منظور افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه از جمله ترپنوئیدها به کار می‌رود، استفاده از محرک‌های زیستی و غیرزیستی می‌باشد (Ghasemi Pirbalouti et al., 2017). 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 بیوسنتز و انباشت متابولیت‌های ثانویه و همچنین تغییرات فیزیولوژیک و مورفولوژیک، در گیاهان می‌شوند (Alavi Samany et al., 2022; Naderi et al., 2017). افزایش راندمان مصرف آب، کاهش تنفس نوری، افزایش سطح و دوام برگ و در نهایت افزایش عملکرد از اثرات این محرک‌های رشدی است (Kheiri et al., 2020; Yadegari, 2018). 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. محرک‌های رشد در گیاه به مقدار کمی وجود دارند، اما برای رشد و نمو گیاه ضروری هستند. رفتار رشد و نمو گیاهان در معرض محرک‌های طبیعی یا مصنوعی رشد، تغییر می‌کند (Thakur and Kumar, 2020). از محرک‌های رشدی دارای پایه آلی می‌توان اسید سالیسیلیک، فنیل آلانین و کیتوزان را نام برد. کیتوزان از ترکیبات اصلی دیواره سلولی بسیاری از گونه‌های قارچی، میگو و خرچنگ است که برای بهبود بخشیدن ساخت متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی تأیید شده‌اند (Dzung, 2011). از صفات کیتوزان می‌توان به دارا بودن خاصیت ضد ویروسی، ضد قارچی، ضدباکتریایی، غیرسمی، غیرآلرژیک بودن، امکان تشکیل ترکیبات پیچیده با یون‌های فلزی و هیدروکربن آروماتیک، ابرجاذب بودن، قابلیت فوق‌العاده برای تبدیل به مواد و مشتقات متعدد در شرایط مختلف، انحلال در محلول‌های اسید آلی ضعیف مانند اسید لاکتیک و اسید استیک و افزایش عملکرد اشاره نمود (Dzung, 2011). در این راستا کیتوزان باعث افزایش اسانس گیاهان دارویی ریحان (*Ocimum basilicum*) و بادرنجبویه

(Alizadeh et al., 2020) (*Satureja hortensis* L.) مرزه (Hawrylak-Nowak et al., 2021) (*Melissa officinalis* L.) مرزنگوش (Heng et al., 2012) (*Origanum vulgare*) نعناع فلفلی (Ahmad et al., 2017) (*Mentha piperita* L.) و آویشن دناپی (*Thymus daenensis*) (Emami-Bistgani et al. 2017) گردیده است.

فنیل آلانین یکی از محرک‌های آلی و آروماتیک است و به عنوان پیش ساز فنیل آلانین آمونیاک (PAL) در مسیر فنیل پروپانویید نقش کلیدی دارد (Govindaraju et al., 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)، زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) (Aghaei et al., 2019) و مرزه (*Satureja hortensis*) (Poorghadir et al., 2020) گزارش شده است.

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

از آنجایی که هدف از تولید تجاری گیاهان دارویی، به دست آوردن مقدار بیشتری ماده خشک در واحد سطح است که دارای مقادیر بالاتری از مواد مؤثره نیز باشد، آگاهی از عوامل مدیریتی مناسب جهت به دست آوردن پتانسیل عملکرد گیاه دارویی زوفا بسیار حایز اهمیت است. لذا معرفی مناسب‌ترین غلظت از محرک‌های رشدی تحت شرایط کم آبیاری در جهت بالا بردن عملکرد و میزان ماده مؤثره در گیاه دارویی زوفا امری ضروری به نظر می‌رسد.

## مواد و روش‌ها

**طرح تحقیق:** پژوهش حاضر در مزرعه تحقیقاتی پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد با مشخصات عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۲۰ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۱ دقیقه شرقی و ارتفاع ۲۰۶۱ متر از سطح دریا، در طی سال‌های زراعی ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ انجام گردید. طی دو سال زراعی تیمارهای پایه آلی شامل کیتوزان (۰/۲۵ و ۰/۵ گرم در لیتر)، اسید سالیسیلیک (۱/۵ و ۳ میلی مولار) و فنیل آلانین (۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر) و تیمار شاهد (بدون هر نوع محلول پاشی) برای این پژوهش انتخاب شد. محلول‌های کیتوزان و فنیل آلانین بر اساس غلظت‌های تعیین شده در پایه آب تهیه شد. با توجه به جرم مولکولی اسید سالیسیلیک (۱۲/۱۳۸ گرم بر مول)، برای تهیه اسید سالیسیلیک ۱/۵ میلی مولار، ۲۰۷/۱۸ گرم و برای تهیه محلول اسید سالیسیلیک ۳ میلی مولار، ۴۱۴/۳۶ گرم، از آن، ابتدا در اتانول ۷۰ درصد حل نموده و سپس با آب، به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر رسانده شد. پژوهش به صورت کرت‌های یکبار خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و سه سطح آبیاری (۴، ۶ و ۸ روز یکبار) در کرت‌های اصلی و تیمارهای محلول پاشی برگی در سه مرحله (اوج رشد رویشی، شروع گلدهی و ۵۰ درصد گلدهی) در کرت‌های فرعی؛ انجام شد (Aghaei et al., 2019).

**کاشت گیاه زوفا:** زمین مورد نظر در پاییز شخم زده شده و سپس در بهار پس از مساعد شدن شرایط آب و هوایی کرت اصلی در هر تکرار (بلوک) به عرض حدود ۷ متر و طول دو متر (۷×۲) با فاصله ۱/۵ متر از همدیگر آماده و سپس هر کدام از کرت‌ها به سه قسمت مساوی به عرض حدود ۲ متر با فاصله ۰/۵ متر از هم دیگر مجزا و آماده به کشت شدند. این کار در هر تکرار (بلوک) انجام شده و فاصله هر بلوک از هم ۲ متر و جهت انجام کار عمود بر شیب زمین بود. نشاءهای ۴-۶ برگی زوفا تهیه شده 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. مشخصات خاکشناسی و اقلیمی منطقه مورد تحقیق در جدول ۱ و مشخصات آب مورد استفاده جهت آبیاری در جدول ۲ آورده شده است.

### جدول ۱- مشخصات خاکشناسی و اقلیمی محل پژوهش

Table1. Physicochemical and climatic properties of experimental field.

سال	2022	2023	خصوصیات
Year			Properties
	82	83	P (ppm)
	209.2	212	K(ppm)
	0.09	0.08	N (ppm)
	0.41	0.42	EC (ds.m-1)
	0.77	0.85	Organic Carbon (%)
	7.4	7.3	pH
	311.1	309.3	Average rainfall (mm)
	11.6	11.2	Average temperature (C <sup>0</sup> )
	22.6	21.8	Average maximum temperature (C <sup>0</sup> )
	-12.4	-12.1	Average minimum temperature (C <sup>0</sup> )

جدول ۲- مشخصات آب مورد استفاده جهت آبیاری

Table 2. Water properties used for irrigation.

HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Cl <sup>-</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	TDS	E.C	pH
(meq/lit)	(meq/lit)	(meq/lit)	(meq/lit)	(meq/lit)	(meq/lit)	(mg/lit)	(µs/cm)	
3.42	0.91	1.43	2.28	0.16	0.763	247.93	387	8.11

ادامه جدول ۲- مشخصات آب مورد استفاده جهت آبیاری

Table 2. Continued water properties used for irrigation.

NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Zn	Mn	Cu	Fe	Cd	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>
(meq/lit)	(meq/lit)	(meq/lit)	(meq/lit)	(meq/lit)	(meq/lit)	(meq/lit)	(meq/lit)
23.67	0.001	0.001	0.001	0.009	0	0.001	0.21

**برداشت نمونه‌ها:** نمونه‌های گیاهی شامل اندام‌های رویشی و گل، در زمان گلدهی (باز شدن ۵۰-۷۰ درصد از گل‌ها در هر خوشه) به طور جداگانه از هر کدام از تیمارهای تحت آزمایش در سال اول در ۲۴ مرداد ماه و در سال دوم در ۲۸ مرداد ماه جمع آوری گردید. همچنین در همین زمان از برگ‌های جوان کاملاً توسعه یافته گیاهان تیمار شده جهت اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی نمونه‌برداری انجام گرفت و نمونه‌های برداشت شده در مزرعه بلافاصله در فویل آلومینیومی پیچیده و بعد از برچسب زدن نام تیمار در تانک حاوی نیتروژن مایع قرار گرفته، به آزمایشگاه انتقال داده و صفات ذیل مورد محاسبه قرار گرفت.

**اندازه‌گیری صفات مورد ارزیابی:** برای برآورد محتوای نسبی آب برگ، ۰/۵ گرم از جوان‌ترین برگ توسعه یافته هر گیاه (FW) جدا کرده و سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر شناور گردیدند. پس از گذشت این مدت، وزن اشباع برگ با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ برآورد گردید (TW). سپس برگ‌ها به مدت ۲۴ 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 زیر محاسبه گردید (Arnon, 1975):

$$\% R.W.C = (FW - DW) / (TW - DW)$$

جهت 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 به صورت توده یکنواختی درآمد. این عمل در نور کم و محیط خنک انجام شد. پس از سانتریفیوژ کردن عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۵۰۰ در دقیقه، محلول روئی برداشته شد و جذب نور توسط آن در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر (حداکثر جذب نور کلروفیل a) و ۶۴۵ نانومتر (حداکثر جذب نور کلروفیل b) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل CARY-100 ساخت واریان استرالیا) و با استفاده از استون ۸۰٪ به‌عنوان محلول مرجع قرائت گردید (Dere et al., 1998):

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

محتوای ترکیبات فنول 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 به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۴۵۰۰ 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 ۱ به ۱۵) اضافه و به خوبی مخلوط گردید. پس از گذشت ۵ دقیقه، ۰/۲ میلی‌لیتر محلول بی‌کربنات سدیم ۷٪ و ۰/۸ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر به محلول اضافه شد و ۹۰ دقیقه در دمای اتاق و شرایط تاریکی نگهداری شد. سپس جذب نمونه‌ها در ۷۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر ساخت کشور آمریکا مدل Perkin elmer قرائت و محتوای ترکیبات فنولی کل عصاره‌ها بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک به کیلوگرم وزن تر اندام هوایی محاسبه گردید (Marinova et al., 2005).

جهت تعیین میزان اسید آمینه پرولین، ابتدا ۰/۳ گرم از بافت برگ تازه با ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳٪ (وزن به حجم) در هاون چینی ساییده شد. سپس نمونه ساییده شده درون لوله آزمایش ریخته و به مدت دو دقیقه به شدت تکان داده شد. بدین ترتیب، دو فاز جامد و مایع نمونه‌ها به دقت تفکیک گردید. فاز مایع با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و بخش بالایی آن جدا شد. پس از خشک کردن نمونه‌ها در آب یخ، ۴ میلی‌لیتر تولوئن به هر نمونه اضافه و کاملاً تکان داده شد تا پرولین وارد فاز تولوئن گردد. سپس، نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه به حال سکون رها شدند و نهایتاً میزان جذب نور فاز بالایی نمونه‌ها به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل CARY-100 ساخت واریان استرالیا) در طول موج ۵۱۵ نانومتر و با استفاده از تولوئن به عنوان محلول مرجع تعیین گردید. در رابطه ذیل، عدد ۱۱۵/۵ وزن مولکولی پرولین می‌باشد (Bates et al., 1973):

پرولین (میکروگرم در گرم وزن تر) =  $115.5 \times (\text{میکروگرم در میکرومول}) / \text{حجم عصاره (میلی‌لیتر)} \times \text{پرولین عصاره (میکروگرم در میلی‌لیتر)} \times \text{وزن نمونه (گرم)} / 5$

برای اسانس‌گیری، پس از برداشت نمونه‌های گیاهی، به منظور محافظت نوری نمونه‌ها و حداقل آسیب به کیفیت اسانس، ساختارهای هوایی در پاکت‌های کاغذی جمع‌آوری شدند. به روش هوای آزاد در سایه با دمای معمولی ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد، کاملاً خشک شدند. بعد از خشک شدن ساختارهای هوایی، اقدام به 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 به روش تقطیر با آب، در دستگاه کلونجر (بروسیلیکات آلمانی ساخت شیشه آلات ایران) و براساس درصد وزنی ماده خشک، صورت گرفت که برای هر نمونه مدت تقریبی دو ساعت به طول انجامید. اسانس گیاهان مورد نظر پس از آماده‌سازی، جهت شناسایی ترکیبات به دستگاه GC/MS (مدل 7890A/5975C ساخت اجیلنت آمریکا) مجهز به ستون موئینه HP-5MS به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میکرون با محدوده دمایی آن 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.

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

## نتایج و بحث

**صفات فیزیولوژیکی:** تیمارهای مورد استفاده بر صفات فیزیولوژیکی مورد برآورد، اثرات چشم‌گیری داشتند. بجز اثر سه‌گانه آبیاری-محرک-سال، سایر اثرات ساده و متقابل در غالب موارد در سطح ۹۹ درصد اطمینان ( $p < 0.01$ ) معنی‌دار بودند (جدول ۳). بیشترین مقادیر صفات مورد ارزیابی در دو سال انجام تحقیق در مورد صفات کل کلروفیل (۱۷/۱۲-۱۷/۳۱ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر)، کلروفیل a (۱۱/۹۱-۱۳/۱۲ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر)، کلروفیل b (۴/۰۱-۵/۷ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر)، محتوای نسبی آب برگ (۶۲/۸-۶۳/۵ درصد)، در دور آبیاری ۴ و ۶ روز یکبار و در گیاهان تحت تیمار با ۰/۵ گرم در لیتر کیتوزان و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر فنیل آلانین بدست آمد؛ هرچند که تیمار ۱/۵ میلی مولار اسید سالیسیلیک نیز در برخی از صفات مورد برآورد در گروه مشابهی قرار گرفت. کمترین مقادیر نیز غالباً در دور آبیاری ۸ روز یکبار و در گیاهان شاهد و یا در پاره‌ای از موارد با تیمار اسید سالیسیلیک ۳ میلی مولار بدست آمد (جدول ۴-۶). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با کاهش رطوبت یا به عبارتی افزایش فواصل آبیاری صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی زوفا کاهش یافت. اثر تنش آبی بر توسعه دیواره سلولی در اثر فشار تورژسانس

صورت می‌گیرد. بنابراین هر کاهش در فشار تورژسانس که ناشی از عدم تعادل در وضعیت آب گیاه باشد، منجر به کاهش رشد و حتی در صورت شدید بودن خشکی موجب توقف رشد می‌شود (Fariaszewska *et al.*, 2020; Kulak, 2020). در شرایط کمبود آب به علت صدمات متابولیکی و تغییر سطح متابولیت‌های مربوطه، تثبیت دی‌اکسیدکربن کاهش می‌یابد. از طرف دیگر کمبود آب عموماً باعث تخریب و شکسته شدن کلروپلاست‌ها و کاهش میزان کلروفیل شده و مقدار فعالیت آنزیم‌ها را طی فرآیند فتوسنتز کاهش می‌دهد (Xiaolu *et al.*, 2016; Zandalinas *et al.*, 2017). به نظر می‌رسد کاربرد محرک کیتوزان از طریق افزایش سطح برگ و فراهم نمودن زمینه مناسب جهت دریافت انرژی و نیز شرکت در ساختار کلروفیل و آنزیم‌های درگیر در متابولیسم کربن فتوسنتزی، موجب افزایش بازده فتوسنتزی می‌شود (Alizadeh *et al.*, 2020; Alavi Samany *et al.*, 2022). نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که تنش کم‌آبی بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a و b) اثر معنی‌دار داشته است. نتایج به دست آمده از آنالیز رنگیزه‌های فتوسنتزی نشان داد که با افزایش شدت کمبود آب در غالب موارد به‌طور معنی‌داری از میزان رنگیزه‌های کلروفیل a و b کاسته شد ( $p < 0.01$ ). به‌طور کلی، اولین واکنش گیاهان در برابر کمبود آب کاهش رشد رویشی آنهاست. رشد سلول مهمترین فرآیند است که با تنش آبی تحت تأثیر قرار می‌گیرد. نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس مرکب صفات نشان داد که تنش کم‌آبی بر تمام صفات مورد ارزیابی اثر معنی‌داری داشته است. البته باتوجه به تحمل نسبی این گیاه به خشکی، بیشترین مقادیر صفات فیزیولوژیکی در دور آبی ۶ روز یکبار بدست آمد و پس از آن کاهش نسبی در مقادیر محرز بود. کاهش کلروفیل در شرایط خشکی تا حدودی به علت افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن است که باعث پراکسیداسیون این رنگیزه‌ها و سرانجام تجزیه شیمیایی آنها می‌شود. دلیل دیگر کاهش کلروفیل برگ‌ها، تغییر متابولیسم نیتروژن و استفاده بیشتر از گلوتامات (ماده اولیه سنتز کلروفیل و پرولین) در مسیر تولید پرولین است (Caser *et al.*, 2019). محرک‌ها با تحت تأثیر قرار دادن خصوصیات فیزیولوژیکی، رشد و عملکرد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند. اسید سالیسیلیک با دو مکانیسم افزایش میزان کلروفیل و بهبود فعالیت آنزیم‌های دخیل در فتوسنتز نقش مهمی در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و بهبود رشد زایشی گیاهان تیمار شده دارد (Ali *et al.*, 2021). محرک‌های آلی از جمله کیتوزان منجر به، بهبود سنتز و تجمع کلروفیل می‌شوند و کارایی فتوسیستم‌ها را افزایش می‌دهند و همچنین از طریق افزایش رشد ریشه، جذب عناصر غذایی و میزان سنتز کلروفیل در گیاهان را بهبود می‌بخشند که منجر به افزایش رشد و عملکرد می‌گردند (Abdul-Hafeez and Ibrahim, 2020).

**صفات فیتوشیمیایی:** تیمارهای مورد استفاده، اثرات معنی‌داری بر صفات فیتوشیمیایی داشتند. بجز اثر سه گانه آبیاری-محرک-سال، سایر اثرات ساده و متقابل در سطح ۹۹ درصد اطمینان ( $p < 0.01$ ) معنی‌دار بودند (جدول ۳). بیشترین مقادیر کل فنول (۱/۷۷-۱/۸۱ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر)، در دور آبیاری ۴ و ۶ روز یکبار و در گیاهان تحت تیمار با ۰/۵ گرم در لیتر کیتوزان و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر فنیل آلانین بدست آمد. بیشترین مقادیر پرولین در دو سال انجام تحقیق (۳۲/۷۷-۳۴/۱ میکروگرم در گرم وزن تر) در تیمارهای تحت دور آبیاری ۸ روز و در محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک ۳ مولار و یا شاهد بدست آمد. کمترین مقادیر پرولین (۱۶/۵۶-۱۵/۹۹ میکروگرم در گرم وزن تر) نیز در تیمارهای تحت دور آبیاری ۴ روز و در محلول‌پاشی کیتوزان ۰/۵ گرم در لیتر ایجاد شد (جداول ۴-۶). کاهش مقدار کلروفیل به هنگام تنش کمبود آب می‌تواند به دلیل تحریک آنزیم بیوسنتز پرولین یعنی گلوتامیل کیناز در پتانسیل آبی پایین باشد. با افزایش تبدیل گلوتامات به پرولین در هنگام تنش خشکی، در واقع گلوتامات که پیش‌ساز کلروفیل نیز می‌باشد، از دسترس خارج شده و سنتز کلروفیل‌ها دچار نقصان می‌شود. به عبارتی کاهش سنتز کلروفیل می‌تواند به علت کاهش تجمع اسید آمینولولیتیک باشد. این اسید پیش‌ساز همه تتراپیرول‌ها و پیش‌ساز پروتوکلروفیلید است که در معرض نور به کلروفیل تبدیل می‌شود و در تنش خشکی کاهش می‌یابد. از طرف دیگر، فعالیت آنزیم گلوتامات کیناز که اولین آنزیم مسیر بیوسنتز کلروفیل است، با تنش خشکی بسیار کاهش می‌یابد (Esch *et al.*, 2019; Caser *et al.*, 2019). از سوی دیگر فنولیک اسیدها با داشتن ساختار ویژه دارای پتانسیل بالایی برای برهمکنش با پروتئین‌های مختلف از جمله آنزیم‌ها می‌باشند. به همین دلیل آن‌ها می‌توانند باعث ممانعت از فعالیت آنزیم‌هایی مانند ایزوفورم‌های مختلف سیتوکرم P<sub>450</sub>، سیکلواکسیژناز، الکل دهیدروژناز، لیپواکسیژناز و زانتین‌اکسیداز شوند که در طی فعالیت خود مقادیر بالای رادیکال‌های آزاد تولید می‌کنند و از طرفی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهند (Abdi *et al.*, 2022; Abdul-Hafeez and Ibrahim, 2021).

محرک‌ها با افزایش ظرفیت فتوسنتزی و کربوهیدرات‌ها، مواد اولیه را برای سنتز ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و آنتوسیانین‌ها فراهم می‌آورند. علت افزایش ترکیبات فنولی در تیمار با محرک‌های مختلف، اثر این ترکیبات بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز



و افزایش فعالیت این آنزیم است (Alizadeh and Fattahi, 2021). از آنجا که این آنزیم یک آنزیم کلیدی در بیوسنتز همه ترکیبات فنولی است، به نظر می‌رسد که در تحقیق حاضر نیز تغییر فعالیت این آنزیم یکی از دلایل افزایش مقدار ترکیبات فنولی در گیاهان زوفا باشد. سنتز ترکیبات فنولی در بافت‌های گیاهی وابسته به کربوهیدرات‌ها می‌باشد. به نظر می‌رسد که افزایش جذب عناصر غذایی در تیمارهای محلول‌پاشی به‌طور غیرمستقیم با تحت تأثیر قرار دادن متابولیسم کربوهیدرات‌ها، این ترکیبات را به سمت سنتز ترکیبات فنولی هدایت می‌کند که نتیجه آن افزایش مقدار این ترکیبات می‌باشد (Ghasemi Pirbalouti *et al.*, 2017). گزارش‌های دیگر نشان داد که کاهش میزان کلروفیل در اثر تنش خشکی مربوط به افزایش تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن می‌باشد که موجب پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه این رنگیزه‌ها می‌شود. همان‌طور که اشاره شد، کاهش مقدار کلروفیل در اثر تنش خشکی در سایر گونه‌های گیاهی نیز گزارش شده است (Emami-Bistgani *et al.*, 2017; Fariaszewska *et al.*, 2020). با توجه به وجود عنصر نیتروژن در محرک کیتوزان و نقش ساختاری این عنصر در حلقه‌های تتراپیرولی کلروفیل، چنین افزایشی توجیه‌پذیر می‌باشد. از طرف دیگر، احتمالاً مصرف کیتوزان با تأثیر بر روی ژن‌های مسئول سازنده کلروفیل، تولید کلروفیل را زیاد نموده است (Dzung, 2011). میزان رنگیزه‌های کلروفیلی تحت تأثیر کیتوزان افزایش یافت. از نتایج حاصل از این پژوهش نیز می‌توان نتیجه گرفت که محرکی مثل کیتوزان با افزایش محتوای رنگیزه‌ها، روی رشد، متابولیسم و فتوسنتز گیاه زوفا تأثیر مثبتی دارد (Khosh Eqbal *et al.*, 2020).

پرولین مکانیسم‌هایی مثل تشکیل باندهای هیدروژنی آبی در اطراف پروتئین‌ها را برای حفاظت ساختار آن‌ها و زدودن رادیکال‌های آزاد فعال می‌کند. به‌طور کلی، گیاهان می‌توانند خودشان را تا اندازه‌ای در مقابل تنش خشکی ملایم توسط تجمع اسمولیت‌ها به‌خصوص پرولین محافظت کنند. با کاهش پتانسیل آب، میزان سنتز پرولین از اسید گلوتامیک افزایش می‌یابد (Caser *et al.*, 2019; Esch *et al.*, 2019). تجمع پرولین در زمان تنش، به علت تغییر در سرعت اکسیداسیون پرولین به گلوتامات یا عدم دخالت آن در سنتز پروتئین و یا مجموعه این عوامل می‌باشد. از طرف دیگر در گیاهان مقاوم به خشکی میزان اکسیداسیون مولکول‌ها کاهش می‌یابد که یکی از پیامدهای آن افزایش پرولین است (Shaykh-Samani *et al.*, 2023). به‌طور کلی، متابولیت‌های ثانویه به گیاهان دارویی و معطر کمک می‌کنند تا گیاه به شرایط و تنش‌های محیطی مانند خشکی سازگاری بیشتری پیدا کند. به علاوه، تأثیرات ناشی از تنش در افزایش اسانس عمدتاً به علت اثر آن بر رشد و نمو گیاه است. گیاهان غلظت بالایی از متابولیت‌ها را تحت شرایط کمبود آب تولید می‌کنند و مقدار کمتری از کربن را به رشد تخصیص می‌دهند که نشان از یک تعادل بین دفاع و رشد می‌باشد (Babaei *et al.*, 2021). به‌طور کلی، نتایج تحقیقات نشان داده است که تنش‌های محیطی غیرزنده مانند تنش خشکی اثرات مهمی بر صفات فیتوشیمیایی گیاهان دارویی ایجاد می‌نمایند (Ghasemi Pirbalouti *et al.*, 2017). افزایش تنش خشکی در گیاهان، منجر به افزایش اسید آمینه پرولین گردیده و میزان ذخیره آن در سیتوپلاسم سلولی بیشتر می‌شود. این اسید آمینه در حفاظت سلولی نقش دارد و می‌تواند تا اندازه‌ای موجب ادامه جذب آب از محیط ریشه شود، لیکن اتکای گیاه به این ترکیبات آلی برای تنظیم اسمزی هزینه‌بر بوده و گیاه از طریق کاهش عملکرد این هزینه را جبران می‌نماید. تنش خشکی منجر به کاهش میزان کلروفیل کل گیاه گردیده و از این طریق منجر به کاهش اسانس نیز می‌شود. افزایش صفات مورفولوژیکی از جمله ارتفاع، وزن خشک گیاه در اثر کاربرد مواد محرک گیاهی را می‌توان به افزایش تولید فیتوهورمون‌ها به‌خصوص ایندول استیک اسید نسبت داد (Zakerian *et al.*, 2020).

### جدول ۳- تجزیه واریانس مرکب مربعات صفات فیزیولوژیکی گیاهان زوفا در سال‌های اجرای تحقیق

**Table 3. Complex analysis of variance of mean of squares of physiological properties in *Hyssopus officinalis* L. subsp. *angustifolius* Bieb.**

منابع تغییرات SOV <sub>z</sub>	درجه آزادی DF <sub>v</sub>	پرولین Proline	کل کلروفیل Total Chlorophyll	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل a Chlorophyll a	کل فنول Total Phenol	محتوای نسبی آب R.W.C
سال Year (Y)	1	14.1**	9.28**	0.93 <sup>ns</sup>	11.5**	0.14 <sup>ns</sup>	11.4**
تکرار (سال) R(Y)	4	0.8	0.86	1.17	0.15	1.22	0.6
آبیاری Irrigation(A)	2	18.2**	8.9**	14.6**	7.9**	26.05**	15.9**
آبیاری × سال A×Y	2	11.08**	3.88**	7.65**	17.77**	12.88**	21.04**

خطای کرت‌های اصلی	8	1.01	0.17	0.17	0.56	1.21	0.17
E <sub>a</sub>							
محرك	6	22.8**	3.2**	12.09**	15.87**	15.77**	16.1**
Elicitor (B)							
آبیاری×محرك	12	10.92**	1.1**	8.8**	20.14**	14.89**	19.3**
A×B							
محرك×سال	6	9.67**	1.07**	6.34**	15.22**	11.96**	9.89**
B×Y							
آبیاری×محرك×سال	12	0.82 <sup>ns</sup>	0.07 <sup>ns</sup>	0.9 <sup>ns</sup>	1.09 <sup>ns</sup>	1.1 <sup>ns</sup>	0.09 <sup>ns</sup>
A×B×Y							
خطای کرت‌های فرعی	72	0.5	0.09	0.8	1.1	0.87	0.11
E <sub>b</sub>							
ضریب تغییرات		3.74	5.12	8.6	6.53	5.88	4.45
CV (%)							

<sup>ns</sup>, \*\* و \* به ترتیب عدم معنی داری، معنی داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

<sup>z</sup> SOV: source of variation, <sup>y</sup>df: degree of freedom, <sup>v</sup>CV: coefficient of variation, \*, \*\* significant at P=0.05 and P=0.01 levels of probability respectively, ns: not significant.

#### جدول ۴- مقایسات میانگین صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی زوفا تحت تأثیر محرک‌های رشد و دور آبیاری ۴ روز

Table 4. Means of physiological and phytochemical properties in *Hyssopus officinalis* L. subsp. *angustifolius* Bieb. plants affected by Elicitors by irrigation interval 4 day

سال Year	تیمارها Treatment*	پرولین	کل کلروفیل	کلروفیل b	کلروفیل a	کل فنول	محتوای نسبی آب
		Proline	Total Chlorophyll	Chlorophyll b	Chlorophyll a	Total Phenol	R.W.C
		μg.gr <sup>-1</sup> FW	mg.Kg <sup>-1</sup> FW				%
2022	کنترل (Control)	22.77±0.6 <sup>de</sup>	13.99±0.8 <sup>cd</sup>	4.01±0.01 <sup>b</sup>	9.99±0.7 <sup>c</sup>	1.14±0.02 <sup>c</sup>	58.99±1.2 <sup>b</sup>
	اسید سالیسیلیک	21.89±0.5 <sup>e</sup>	14.55±0.6 <sup>b</sup>	4.02±0.02 <sup>b</sup>	10.4±0.5 <sup>bc</sup>	1.16±0.03 <sup>c</sup>	59.11±1.1 <sup>b</sup>
	Salicylic Acid	19.1±0.9 <sup>f</sup>	14.1±0.8 <sup>ab</sup>	5.01±0.02 <sup>ab</sup>	9.1±0.6 <sup>cd</sup>	1.17±0.01 <sup>c</sup>	59.1±1.3 <sup>b</sup>
	فنیل آلانین	16.58±0.6 <sup>fg</sup>	13.58±0.5 <sup>e</sup>	4.02±0.01 <sup>b</sup>	9.58±0.9 <sup>c</sup>	1.77±0.02 <sup>a</sup>	60.22±1.4 <sup>ab</sup>
	Phenylalanine	17.66±0.5 <sup>f</sup>	13.78±0.7 <sup>c</sup>	5.02±0.01 <sup>ab</sup>	8.78±0.4 <sup>d</sup>	1.21±0.01 <sup>de</sup>	60.32±1.5 <sup>ab</sup>
	کیتوزان	18.82±0.4 <sup>f</sup>	14.82±0.8 <sup>b</sup>	4.01±0.02 <sup>b</sup>	10.82±0.7 <sup>b</sup>	1.22±0.01 <sup>d</sup>	61.42±1.1 <sup>a</sup>
	Chitosan	16.56±0.9 <sup>g</sup>	15.11±0.6 <sup>b</sup>	5.02±0.03 <sup>ab</sup>	10.11±0.8 <sup>bc</sup>	1.21±0.01 <sup>de</sup>	63.5±0.9 <sup>a</sup>
	LSD	0.78	1.00	1.00	0.97	0.99	0.66
2023	کنترل (Control)	23.21±0.3 <sup>d</sup>	12.87±0.3 <sup>c</sup>	4.12±0.02 <sup>b</sup>	8.75±0.2 <sup>d</sup>	1.16±0.01 <sup>e</sup>	54.02±0.8 <sup>c</sup>
	اسید سالیسیلیک	22.4±0.4 <sup>de</sup>	13.64±0.5 <sup>c</sup>	4.34±0.01 <sup>b</sup>	9.31±0.1 <sup>cd</sup>	1.17±0.02 <sup>e</sup>	59.23±1.3 <sup>b</sup>
	Salicylic Acid	20.31±0.5 <sup>e</sup>	14.23±0.6 <sup>bc</sup>	4.42±0.01 <sup>b</sup>	9.81±0.2 <sup>b</sup>	1.18±0.02 <sup>e</sup>	58.31±1.1 <sup>b</sup>
	فنیل آلانین	17.63±0.6 <sup>f</sup>	17.31±0.7 <sup>a</sup>	5.7±0.02 <sup>a</sup>	11.63±0.3 <sup>ab</sup>	1.21±0.01 <sup>de</sup>	57.91±1.2 <sup>b</sup>
	Phenylalanine	18.71±0.4 <sup>f</sup>	16.82±0.4 <sup>ab</sup>	4.91±0.01 <sup>ab</sup>	11.91±0.2 <sup>ab</sup>	1.18±0.01 <sup>e</sup>	60.55±1.3 <sup>ab</sup>
	کیتوزان	17.65±0.3 <sup>f</sup>	16.91±0.3 <sup>a</sup>	5.22±0.01 <sup>a</sup>	11.71±0.4 <sup>b</sup>	1.23±0.02 <sup>d</sup>	61.64±1.4 <sup>a</sup>
	Chitosan	15.99±0.4 <sup>g</sup>	14.53±0.5 <sup>b</sup>	4.51±0.02 <sup>b</sup>	10.03±0.3 <sup>c</sup>	1.19±0.02 <sup>e</sup>	62.8±0.9 <sup>a</sup>
	LSD	0.91	1.00	0.95	1.00	0.97	0.74

اسید سالیسیلیک ۱: ۱/۵ میلی مولار، اسید سالیسیلیک ۲: ۳ میلی مولار، فنیل آلانین ۱: ۱ گرم در لیتر، فنیل آلانین ۲: ۲ گرم در لیتر، کیتوزان ۱: ۰/۲۵ گرم در لیتر، کیتوزان ۲: ۰/۵ گرم در لیتر --- اعدادی که در هر ستون دارای حروف مشابه هستند دارای گروه مشابه هستند.

\*Salicylic Acid 1: 1.5 mM, Salicylic Acid 2: 3 mM, Phenylalanine 1: 1 g.l<sup>-1</sup>, Phenylalanine 2: 2 g.l<sup>-1</sup>, Chitosan 1: 0.25 g.l<sup>-1</sup>, Chitosan 2: 0.5 g.l<sup>-1</sup>-----Numbers in each column that have same word, have same group.

#### جدول ۵- مقایسات میانگین صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی زوفا تحت تأثیر محرک‌های رشد و دور آبیاری ۶ روز

Table 5. Means of physiological and phytochemical properties in *Hyssopus officinalis* L. subsp. *angustifolius* Bieb. plants affected by Elicitors by irrigation interval 6 day

سال Year	تیمارها Treatment*	پرولین	کل کلروفیل	کلروفیل b	کلروفیل a	کل فنول	محتوای نسبی آب
		Proline	Total Chlorophyll	Chlorophyll b	Chlorophyll a	Total Phenol	R.W.C
		μg.gr <sup>-1</sup> FW	mg.Kg <sup>-1</sup> FW				%
2022	کنترل (Control)	27.91±1.1 <sup>c</sup>	14.12±0.8 <sup>bc</sup>	2.02±0.03 <sup>d</sup>	12.1±0.5 <sup>ab</sup>	1.15±0.2 <sup>e</sup>	52.9±1.1 <sup>c</sup>
	اسید سالیسیلیک	28.65±1.3 <sup>bc</sup>	15.55±0.6 <sup>b</sup>	3.02±0.04 <sup>c</sup>	12.53±0.4 <sup>a</sup>	1.17±0.1 <sup>e</sup>	55.38±1.2 <sup>bc</sup>
	Salicylic Acid	27.73±0.8 <sup>c</sup>	15.1±0.8 <sup>b</sup>	3.01±0.05 <sup>c</sup>	12.1±0.3 <sup>ab</sup>	1.18±0.1 <sup>e</sup>	56.42±0.9 <sup>b</sup>
	فنیل آلانین	28.63±1.1 <sup>c</sup>	14.58±0.5 <sup>b</sup>	3.08±0.02 <sup>c</sup>	11.5±0.5 <sup>b</sup>	1.21±0.2 <sup>de</sup>	57.39±0.8 <sup>b</sup>
	Phenylalanine	29.71±0.9 <sup>ab</sup>	15.78±0.7 <sup>b</sup>	3.02±0.03 <sup>c</sup>	12.71±0.4 <sup>a</sup>	1.34±0.1 <sup>d</sup>	58.44±0.7 <sup>b</sup>

کیتوزان Chitosan	1	27.07±0.8 <sup>c</sup>	16.82±0.8 <sup>ab</sup>	3.81±0.02 <sup>bc</sup>	13.01±0.6 <sup>a</sup>	1.51±0.2 <sup>c</sup>	59.55±0.8 <sup>b</sup>
	2	28.63±0.7 <sup>cd</sup>	17.12±0.6 <sup>a</sup>	4.01±0.03 <sup>b</sup>	13.12±0.7 <sup>a</sup>	1.26±0.2 <sup>d</sup>	59.64±1.1 <sup>b</sup>
LSD		0.94	0.95	1.00	0.99	1.00	0.86
کنترل (Control)		28.12±0.8 <sup>bc</sup>	14.25±0.7 <sup>bc</sup>	2.15±0.02 <sup>d</sup>	12.1±0.3 <sup>ab</sup>	1.23±0.01 <sup>de</sup>	52.43±1.2 <sup>c</sup>
اسید سالیسیلیک Salicylic Acid	1	28.92±0.9 <sup>bc</sup>	15.14±0.8 <sup>b</sup>	3.15±0.05 <sup>c</sup>	12.01±0.4 <sup>b</sup>	1.29±0.02 <sup>d</sup>	55.62±1.4 <sup>bc</sup>
	2	28.82±0.7 <sup>bc</sup>	15.82±0.8 <sup>b</sup>	3.8±0.04 <sup>bc</sup>	12.02±0.3 <sup>b</sup>	1.49±0.03 <sup>c</sup>	56.55±1.3 <sup>b</sup>
فنیل آلانین Phenylalanine	1	29.02±0.8 <sup>ab</sup>	14.93±0.9 <sup>b</sup>	3.9±0.03 <sup>bc</sup>	11.04±0.5 <sup>b</sup>	1.81±0.02 <sup>a</sup>	58.39±1.1 <sup>b</sup>
	2	29.17±0.7 <sup>ab</sup>	15.94±0.9 <sup>b</sup>	3.82±0.03 <sup>bc</sup>	12.12±0.4 <sup>ab</sup>	1.72±0.01 <sup>ab</sup>	58.12±1.1 <sup>b</sup>
کیتوزان Chitosan	1	28.11±0.9 <sup>c</sup>	16.92±0.8 <sup>a</sup>	3.52±0.02 <sup>c</sup>	13.41±0.6 <sup>a</sup>	1.66±0.02 <sup>b</sup>	54.15±1.2 <sup>c</sup>
	2	28.54±1.1 <sup>c</sup>	16.25±0.7 <sup>ab</sup>	4.15±0.01 <sup>b</sup>	12.11±0.7 <sup>ab</sup>	1.54±0.01 <sup>bc</sup>	57.22±0.9 <sup>b</sup>
LSD		0.84	0.98	1.00	1.00	0.89	0.95

اسید سالیسیلیک ۱: ۱/۵ میلی مولار، اسید سالیسیلیک ۲: ۳ میلی مولار، فنیل آلانین ۱: ۱ گرم در لیتر، فنیل آلانین ۲: ۲ گرم در لیتر، کیتوزان ۱: ۰/۲۵ گرم در لیتر، کیتوزان ۲: ۰/۵ گرم در لیتر --- اعدادی که در هر ستون دارای حروف مشابه هستند دارای گروه مشابه هستند.

\*Salicylic Acid 1: 1.5 mM, Salicylic Acid 2: 3 mM, Phenylalanine 1: 1 g.l<sup>-1</sup>, Phenylalanine 2: 2 g.l<sup>-1</sup>, Chitosan 1: 0.25 g.l<sup>-1</sup>, Chitosan 2: 0.5 g.l<sup>-1</sup>-----Numbers in each column that have same word, have same group.

### جدول ۶- مقایسات میانگین صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی زوفا تحت تأثیر محرک‌های رشد و دور آبیاری ۸ روز

Table 6. Means of physiological and phytochemical properties in *Hyssopus officinalis* L. subsp. *angustifolius* Bieb. plants affected by Elicitors by irrigation interval 8 day

سال Year	تیمارها Treatment*	پرولین	کل کلروفیل	کلروفیل b	کلروفیل a	کل فنول	محتوای نسبی آب	
		Proline	Total Chlorophyll	Chlorophyll b	Chlorophyll a	Total Phenol	R.W.C	
		µg.gr <sup>-1</sup> FW	mg.Kg <sup>-1</sup> FW				%	
2022	کنترل (Control)	28.98±0.9 <sup>bc</sup>	11.01±0.5 <sup>d</sup>	2.01±0.2 <sup>d</sup>	9.01±0.3 <sup>d</sup>	1.15±0.02 <sup>e</sup>	50.02±0.9 <sup>c</sup>	
	اسید سالیسیلیک Salicylic Acid	1	31.92±0.8 <sup>ab</sup>	12.62±0.6 <sup>c</sup>	3.11±0.1 <sup>c</sup>	9.51±0.4 <sup>c</sup>	1.28±0.02 <sup>d</sup>	51.52±0.9 <sup>cd</sup>
		2	32.77±1.1 <sup>ab</sup>	13.55±0.7 <sup>c</sup>	3.65±0.2 <sup>bc</sup>	9.89±0.3 <sup>c</sup>	1.12±0.01 <sup>e</sup>	52.55±0.8 <sup>c</sup>
	فنیل آلانین Phenylalanine	1	30.02±0.7 <sup>b</sup>	12.74±0.5 <sup>c</sup>	3.64±0.05 <sup>c</sup>	9.11±0.5 <sup>cd</sup>	1.55±0.03 <sup>bc</sup>	51.41±0.7 <sup>cd</sup>
		2	30.69±0.8 <sup>b</sup>	12.63±0.7 <sup>c</sup>	3.13±0.1 <sup>c</sup>	9.53±0.4 <sup>c</sup>	1.58±0.01 <sup>b</sup>	53.62±0.9 <sup>c</sup>
	کیتوزان Chitosan	1	30.11±0.9 <sup>b</sup>	13.57±0.6 <sup>c</sup>	3.17±0.1 <sup>c</sup>	10.4±0.6 <sup>bc</sup>	1.63±0.01 <sup>b</sup>	52.31±0.8 <sup>c</sup>
		2	31.88±0.8 <sup>ab</sup>	13.44±0.6 <sup>c</sup>	4.14±0.2 <sup>b</sup>	9.31±0.7 <sup>c</sup>	1.59±0.01 <sup>b</sup>	53.44±1.1 <sup>c</sup>
LSD		0.95	1.00	0.88	0.95	0.96	1.00	
2023	کنترل (Control)	29.55±0.9 <sup>b</sup>	11.14±0.3 <sup>d</sup>	2.14±0.01 <sup>d</sup>	9.01±0.2 <sup>cd</sup>	1.17±0.03 <sup>e</sup>	48.91±1.1 <sup>d</sup>	
	اسید سالیسیلیک Salicylic Acid	1	32.62±0.8 <sup>ab</sup>	10.92±0.4 <sup>d</sup>	2.02±0.02 <sup>d</sup>	8.91±0.3 <sup>d</sup>	1.23±0.02 <sup>de</sup>	50.52±0.9 <sup>d</sup>
		2	34.1±1.1 <sup>a</sup>	11.55±0.2 <sup>d</sup>	2.56±0.03 <sup>d</sup>	9.01±0.3 <sup>cd</sup>	1.25±0.01 <sup>d</sup>	49.55±0.7 <sup>d</sup>
	فنیل آلانین Phenylalanine	1	32.39±0.7 <sup>ab</sup>	11.74±0.6 <sup>d</sup>	2.75±0.02 <sup>cd</sup>	9.02±0.4 <sup>cd</sup>	1.59±0.02 <sup>c</sup>	52.69±0.7 <sup>c</sup>
		2	29.58±0.8 <sup>b</sup>	12.22±0.5 <sup>cd</sup>	2.23±0.01 <sup>d</sup>	10.02±0.4 <sup>c</sup>	1.61±0.01 <sup>bc</sup>	49.98±1.1 <sup>d</sup>
	کیتوزان Chitosan	1	33.25±0.9 <sup>a</sup>	12.57±0.7 <sup>cd</sup>	2.47±0.0 <sup>d</sup>	10.11±0.5 <sup>c</sup>	1.63±0.03 <sup>b</sup>	51.48±0.7 <sup>cd</sup>
		2	31.63±0.8 <sup>ab</sup>	13.14±0.3 <sup>c</sup>	3.01±0.04 <sup>c</sup>	10.14±0.4 <sup>c</sup>	1.55±0.02 <sup>b</sup>	50.37±0.9 <sup>d</sup>
LSD		1.00	1.00	0.95	1.00	0.95	1.00	

اسید سالیسیلیک ۱: ۱/۵ میلی مولار، اسید سالیسیلیک ۲: ۳ میلی مولار، فنیل آلانین ۱: ۱ گرم در لیتر، فنیل آلانین ۲: ۲ گرم در لیتر، کیتوزان ۱: ۰/۲۵ گرم در لیتر، کیتوزان ۲: ۰/۵ گرم در لیتر --- اعدادی که در هر ستون دارای حروف مشابه هستند دارای گروه مشابه هستند.

\*Salicylic Acid 1: 1.5 mM, Salicylic Acid 2: 3 mM, Phenylalanine 1: 1 g.l<sup>-1</sup>, Phenylalanine 2: 2 g.l<sup>-1</sup>, Chitosan 1: 0.25 g.l<sup>-1</sup>, Chitosan 2: 0.5 g.l<sup>-1</sup>-----Numbers in each column that have same word, have same group.

**اسانس و ترکیبات اسانس:** نتایج نشان داد که اثرگذاری تیمارهای آزمایشی در هر دو سال بر میزان اسانس و ترکیبات غالب اسانس، معنی‌دار بود (جدول ۷). در سال نخست پژوهش حاضر، دور آبیاری ۶ روز یکبار و محلول‌پاشی کیتوزان (۰/۵ گرم در لیتر) و در سال دوم، دور آبیاری ۴ روز یکبار و محلول‌پاشی کیتوزان (۰/۵ گرم در لیتر) مقدار اسانس استخراج شده از ساختار هوایی گیاهان زوفا را به میزان ۰/۸۹ و ۰/۹۱ درصد رسانید که بیانگر کارایی بالاتر تیمار کیتوزان در افزایش سنتز و تجمع اسانس گیاه زوفا است، هرچند که تیمار فنیل آلانین (۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) نیز در گروه آماری مشابه قرار گرفت. در دور آبیاری بیش از ۶ روز یکبار، کاهش کلی اسانس و ترکیبات اسانس روی داد و بر این اسانس کمترین مقادیر اسانس و ترکیبات اسانس در دور آبیاری ۸ روز یکبار و در گیاهان شاهد بدست آمد که در بسیاری از موارد با تیمار اسید سالیسیلیک (۳ میلی مولار) و فنیل آلانین (۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در یک گروه آماری قرار گرفتند. در این دور آبیاری نیز در سال اول تیمار فنیل آلانین و کیتوزان (به خصوص در غلظت کم) توانست درصد اسانس را به طور معنی‌داری افزایش دهد (جدول ۸-۱۰). نتایج برآمده از تجزیه فیتوشیمیایی اسانس، وجود ۱۵ ترکیب در اسانس این گیاه را نشان داد. بیشترین اجزای موجود در اسانس شامل کامفور، بتا-پین، سیس-پینوکامفون، میرتول، پینوکامفون،

ساینین و ۳- کارن بود. در بین اجزای اسانس، ماده مؤثره سیس-پینوکامفون بیشترین میزان را در تمامی گیاهان تحت تیمار در هر دو سال تحقیق، به خود اختصاص داد (جداول ۸-۱۰). مشخص گردید که اثرگذاری تیمارهای آزمایشی بر مواد مؤثره مونوترپن‌های حلقوی 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 (جداول ۸-۱۰). میزان ترکیبات غالب اسانس از جمله میرتنول و کامفور به‌ویژه در دور آبیاری ۸ روز یکبار در سطوح تیماری اسید سالیسیلیک ۳ میلی مولار و فنیل آلانین ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در کمترین مقادیر و در گروه یکسان با شاهد قرار گرفتند. در سال اول تیمار کیتوزان در دور آبیاری ۶ روز و در سال دوم تمامی غلظت‌های کیتوزان و فنیل آلانین در دور آبیاری ۴ روز بیشترین تاثیر را در افزایش درصد اسانس داشتند. تیمارهای کیتوزان (۰/۵ گرم در لیتر) و فنیل آلانین (۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بیشترین اثر را بر افزایش میزان ماده مؤثره سیس-پینوکامفون و سایر ترکیبات غالب اسانس تمامی گیاهان در هر دو سال، ایجاد نمودند. در بسیاری از مواد مؤثره غالب اسانس، کمترین مقادیر در تیمار شاهد بوجود آمد. افزایش ناشی از اعمال تیمارهای کیتوزان (۰/۵ گرم در لیتر) و فنیل آلانین (۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بر مقدار اسانس و ترکیبات غالب اسانس در قیاس با گیاهان شاهد، بیش از ۶۳ درصد افزایش نشان دادند (جداول ۸-۱۰).

مجله علمی پژوهشی  
پاییزه  
انتشارات

جدول ۷- تجزیه واریانس مرکب مربعات اسانس و ترکیبات غالب اسانس گیاهان زوفا

Table 7. Complex analysis of variance of mean of squares of the essential oil content and main constituents in *Hyssopus officinalis* L. subsp. *angustifolius* Bieb.

منابع تغییرات SOV <sub>z</sub>	درجه آزادی DF <sub>y</sub>	اسانس Essential oil	سابینن Sabinene	۳-کارن 3- Carene	بتا-پینن Beta- Pinene	سیس-پینوکامفون Cis- Pinocamphone	میرتنول Myrtenol	پینوکامفون Pinocamphone	کامفور Camphor
سال Year (Y)	1	22.1**	7.44**	2.93 <sup>ns</sup>	8.95**	0.22 <sup>ns</sup>	15.1**	11.93**	7.93**
تکرار (سال) R(Y)	4	1.8	0.55	0.11	0.12	0.51	0.72	0.24	0.45
آبیاری Irrigation(A)	2	25.2**	5.61**	14.6**	10.9**	14.11**	14.9**	21.1**	17.6**
آبیاری×سال A×Y	2	37.12**	4.33**	5.44**	22.51**	11.12**	19.11**	5.99**	10.04**
خطای کرت‌های اصلی E <sub>a</sub>	8	2.34	0.21	0.11	0.33	1.01	0.22	0.21	0.24
محرك Elicitor (B)	6	31.8**	4.11**	14.11**	21.1**	14.1**	14.1**	24.11**	24.32**
آبیاری×محرك A×B	12	29.54**	3.32**	10.8**	19.1**	12.4**	22.3**	14.8**	21.8**
محرك×سال B×Y	6	15.44**	2.55**	9.88**	18.8**	9.88**	11.12**	10.14**	11.08**
آبیاری×محرك×سال A×B×Y	12	1.02 <sup>ns</sup>	0.09 <sup>ns</sup>	0.12 <sup>ns</sup>	0.05 <sup>ns</sup>	0.91 <sup>ns</sup>	0.15 <sup>ns</sup>	0.09 <sup>ns</sup>	0.42 <sup>ns</sup>
خطای کرت‌های فرعی E <sub>b</sub>	72	1.5	0.11	0.43	0.43	0.65	0.24	0.12	0.55
ضریب تغییرات CV (%)		10.12	6.34	8.6	4.22	4.33	6.11	6.6	7.15

ns, \*\*, \* و \* به ترتیب عدم معنی داری، معنی داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

<sup>z</sup> SOV: source of variation, <sup>y</sup>df: degree of freedom, <sup>x</sup>CV: coefficient of variation, \*, \*\*, significant at P=0.05 and P=0.01 levels of probability respectively, ns: not significant.

جدول ۸- مقایسات میانگین اسانس و ترکیبات عمده اسانس زوفا تحت تأثیر محرک‌های رشد و دور آبیاری ۴ روز

Table 8. Means of the essential oil content and main chemical composition (%) in *H. officinalis* L. plants affected by elicitors with irrigation interval 4 day

سال Year	تیمار* Treatment*	اسانس Essential oil	سابینن Sabinene	۳-کارن 3- Carene	بتا-پینن Beta- Pinene	سیس-پینوکامفون Cis- Pinocamphone	میرتنول Myrtenol	پینوکامفون Pinocamphone	کامفور Camphor
2022	کنترل (Control)	0.69±0.05 <sup>d</sup>	1.69±0.05 <sup>d</sup>	1.2±0.1 <sup>d</sup>	14.1±0.1 <sup>cd</sup>	35.4±0.5 <sup>d</sup>	3.9±0.05 <sup>d</sup>	18.9±0.9 <sup>c</sup>	1.5±0.01 <sup>b</sup>
	اسید سالیسیلیک Salicylic Acid	1 0.7±0.02 <sup>d</sup>	1.94±0.1 <sup>d</sup>	1.2±0.1 <sup>d</sup>	14.5±0.2 <sup>c</sup>	36.4±0.6 <sup>d</sup>	4.7±0.01 <sup>b</sup>	20.8±0.8 <sup>b</sup>	1.6±0.02 <sup>b</sup>
	2 0.71±0.01 <sup>d</sup>	1.97±0.2 <sup>c</sup>	1.3±0.1 <sup>cd</sup>	15.3±0.3 <sup>c</sup>	37.1±0.8 <sup>c</sup>	4.79±0.0 <sup>ab</sup>	19.7±0.7 <sup>bc</sup>	1.71±0.03 <sup>a</sup>	
	فنیل آلانین Phenylalanine	1 0.71±0.03 <sup>d</sup>	1.99±0.3 <sup>c</sup>	1.5±0.2 <sup>c</sup>	16.2±0.2 <sup>b</sup>	38.1±0.5 <sup>c</sup>	4.85±0.03 <sup>a</sup>	24.97±0.6 <sup>a</sup>	1.89±0.01 <sup>a</sup>
	2 0.72±0.03 <sup>cd</sup>	2.03±0.1 <sup>c</sup>	1.5±0.1 <sup>c</sup>	16.4±0.5 <sup>b</sup>	38.7±0.7 <sup>c</sup>	4.91±0.05 <sup>a</sup>	23.72±0.7 <sup>ab</sup>	1.72±0.02 <sup>a</sup>	
	کیتوزان Chitosan	1 0.74±0.04 <sup>d</sup>	2.11±0.1 <sup>c</sup>	1.6±0.1 <sup>c</sup>	15.1±0.2 <sup>c</sup>	39.1±0.8 <sup>bc</sup>	5.01±0.01 <sup>a</sup>	22.4±0.6 <sup>ab</sup>	1.74±0.01 <sup>a</sup>
2 0.76±0.02 <sup>d</sup>	2.17±0.1 <sup>c</sup>	2.1±0.1 <sup>b</sup>	15.4±0.3 <sup>c</sup>	39.76±0.6 <sup>bc</sup>	5.12±0.02 <sup>a</sup>	23.6±0.6 <sup>a</sup>	1.76±0.02 <sup>a</sup>		
LSD		0.95	1.00	1.00	0.9	1.00	0.95	0.98	1.00
2023	کنترل (Control)	0.71±0.01 <sup>d</sup>	2.69±0.05 <sup>b</sup>	2.06±0.02 <sup>b</sup>	14.22±0.4 <sup>c</sup>	36.4±1.1 <sup>cd</sup>	4.85±0.1 <sup>a</sup>	18.42±0.7 <sup>c</sup>	1.52±0.01 <sup>b</sup>
	اسید سالیسیلیک Salicylic Acid	1 0.74±0.01 <sup>c</sup>	3.21±0.1 <sup>a</sup>	2.14±0.1 <sup>b</sup>	14.59±0.5 <sup>c</sup>	38.4±1.4 <sup>c</sup>	4.12±0.1 <sup>d</sup>	22.1±0.8 <sup>b</sup>	1.2±0.01 <sup>d</sup>
	2 0.72±0.02 <sup>d</sup>	2.97±0.1 <sup>ab</sup>	1.93±0.1 <sup>b</sup>	16.03±0.2 <sup>b</sup>	35.1±1.2 <sup>d</sup>	4.44±0.05 <sup>c</sup>	23.14±0.65 <sup>ab</sup>	1.25±0.02 <sup>d</sup>	
	فنیل آلانین Phenylalanine	1 0.89±0.03 <sup>a</sup>	3.44±0.1 <sup>a</sup>	2.66±0.1 <sup>a</sup>	16.09±0.3 <sup>b</sup>	41.2±1.2 <sup>b</sup>	4.32±0.1 <sup>c</sup>	24.01±0.64 <sup>a</sup>	1.33±0.01 <sup>c</sup>
	2 0.85±0.02 <sup>ab</sup>	2.95±0.2 <sup>ab</sup>	2.51±0.1 <sup>a</sup>	16.24±0.5 <sup>b</sup>	39.7±1.4 <sup>bc</sup>	4.55±0.1 <sup>b</sup>	24.31±0.65 <sup>a</sup>	1.41±0.03 <sup>c</sup>	
	کیتوزان Chitosan	1 0.88±0.03 <sup>a</sup>	3.11±0.1 <sup>a</sup>	2.55±0.05 <sup>a</sup>	15.56±0.4 <sup>bc</sup>	39.78±1.1 <sup>bc</sup>	4.22±0.1 <sup>c</sup>	22.5±0.6 <sup>b</sup>	1.45±0.02 <sup>c</sup>
2 0.91±0.02 <sup>a</sup>	2.85±0.1 <sup>b</sup>	2.11±0.1 <sup>b</sup>	15.49±0.6 <sup>c</sup>	42.87±1.5 <sup>ab</sup>	3.99±0.05 <sup>d</sup>	24.1±0.7 <sup>a</sup>	1.5±0.01 <sup>b</sup>		
LSD		0.88	1.00	0.95	1.00	0.95	1.00	1.00	0.95

اسید سالیسیلیک: ۱/۵ میلی مولار، اسید سالیسیلیک: ۲/۳ میلی مولار، فنیل آلانین ۱: ۱ گرم در لیتر، فنیل آلانین ۲: ۲ گرم در لیتر، کیتوزان ۱: ۰/۲۵ گرم در لیتر، کیتوزان ۲: ۰/۵ گرم در لیتر اعدادی که در هر ستون دارای حروف مشابه هستند دارای گروه مشابه هستند.

\*Salicylic Acid 1: 1.5 mM, Salicylic Acid 2: 3 mM, Phenylalanine 1: 1 g.l<sup>-1</sup>, Phenylalanine 2: 2 g.l<sup>-1</sup>, Chitosan 1: 0.25 g.l<sup>-1</sup>, Chitosan 2: 0.5 g.l<sup>-1</sup>  
Numbers in each column that have same word, have same group.

جدول ۹- مقایسات میانگین اسانس و ترکیبات عمده اسانس زوفا تحت تأثیر محرک‌های رشد و دور آبیاری ۶ روز

Table 9. Means of the essential oil content and main chemical composition (%) in *H. officinalis* L. plants affected by elicitors with irrigation interval 6 day

سال Year	تیمار* Treatment*	اسانس Essential oil	سابینین Sabinene	۳-کارن 3-Carene	بتا-پینین Beta-Pinene	سیس-پینوکامفون Cis-Pinocamphone	میرتنول Myrtenol	پینوکامفون Pinocamphone	کامفور Camphor
2022	کنترل (Control)	0.69±0.01 <sup>d</sup>	2.69±0.01 <sup>b</sup>	1.9±0.02 <sup>b</sup>	15.69±1.1 <sup>b</sup>	35.4±1.1 <sup>d</sup>	4.17±0.1 <sup>cd</sup>	15.42±0.7 <sup>d</sup>	1.55±0.01 <sup>b</sup>
	اسید سالیسیلیک Salicylic Acid	1 0.75±0.02 <sup>c</sup>	3.01±0.02 <sup>a</sup>	2.22±0.02 <sup>ab</sup>	16.86±1.2 <sup>b</sup>	38.53±1.2 <sup>c</sup>	4.23±0.2 <sup>c</sup>	17.1±0.9 <sup>c</sup>	1.51±0.02 <sup>b</sup>
	فنیل آلانین Phenylalanine	1 0.71±0.03 <sup>d</sup>	2.55±0.01 <sup>b</sup>	1.98±0.03 <sup>b</sup>	16.01±0.9 <sup>b</sup>	36.1±1.1 <sup>cd</sup>	4.13±0.05 <sup>d</sup>	15.14±0.8 <sup>d</sup>	1.21±0.02 <sup>d</sup>
	کیتوزان Chitosan	1 0.84±0.04 <sup>b</sup>	3.12±0.02 <sup>a</sup>	2.51±0.01 <sup>a</sup>	17.98±0.8 <sup>a</sup>	44.63±1.4 <sup>a</sup>	4.55±0.1 <sup>b</sup>	20.01±0.7 <sup>b</sup>	1.42±0.02 <sup>c</sup>
	LSD	2 0.79±0.01 <sup>b</sup>	2.9±0.01 <sup>b</sup>	2.43±0.02 <sup>a</sup>	16.99±1.1 <sup>b</sup>	42.7±1.5 <sup>ab</sup>	3.88±0.05 <sup>d</sup>	23.31±0.85 <sup>ab</sup>	1.49±0.01 <sup>bc</sup>
	LSD	1 0.85±0.03 <sup>ab</sup>	3.11±0.01 <sup>a</sup>	2.31±0.04 <sup>a</sup>	17.56±0.9 <sup>a</sup>	43.92±1.2 <sup>ab</sup>	3.92±0.1 <sup>d</sup>	20.5±0.9 <sup>b</sup>	1.45±0.02 <sup>c</sup>
	LSD	2 0.89±0.04 <sup>a</sup>	2.91±0.02 <sup>b</sup>	2.05±0.02 <sup>b</sup>	18.53±0.8 <sup>a</sup>	45.12±1.1 <sup>a</sup>	3.99±0.05 <sup>d</sup>	23.1±1.1 <sup>ab</sup>	1.59±0.02 <sup>b</sup>
2023	کنترل (Control)	0.61±0.01 <sup>e</sup>	2.12±0.01 <sup>c</sup>	1.7±0.02 <sup>bc</sup>	14.77±0.9 <sup>c</sup>	36.4±1.1 <sup>cd</sup>	3.99±0.1 <sup>d</sup>	19.77±1.1 <sup>bc</sup>	1.43±0.01 <sup>c</sup>
	اسید سالیسیلیک Salicylic Acid	1 0.72±0.01 <sup>cd</sup>	2.32±0.01 <sup>b</sup>	2.32±0.02 <sup>a</sup>	16.94±0.8 <sup>b</sup>	39.1±0.9 <sup>c</sup>	4.01±0.1 <sup>d</sup>	21.1±1.1 <sup>b</sup>	1.29±0.01 <sup>c</sup>
	فنیل آلانین Phenylalanine	1 0.71±0.02 <sup>d</sup>	2.21±0.02 <sup>c</sup>	1.77±0.01 <sup>b</sup>	16.54±1.1 <sup>b</sup>	37.1±1.1 <sup>c</sup>	3.77±0.2 <sup>d</sup>	20.88±0.7 <sup>b</sup>	1.22±0.03 <sup>d</sup>
	کیتوزان Chitosan	1 0.82±0.02 <sup>b</sup>	2.58±0.03 <sup>b</sup>	2.42±0.01 <sup>a</sup>	17.03±0.9 <sup>ab</sup>	42.85±0.8 <sup>ab</sup>	4.2±0.2 <sup>ab</sup>	23.53±0.6 <sup>a</sup>	1.55±0.03 <sup>b</sup>
	LSD	2 0.81±0.01 <sup>b</sup>	2.4±0.01 <sup>bc</sup>	2.43±0.01 <sup>a</sup>	16.55±1.1 <sup>b</sup>	42.11±1.2 <sup>b</sup>	3.92±0.2 <sup>d</sup>	22.2±0.6 <sup>ab</sup>	1.32±0.01 <sup>c</sup>
	LSD	1 0.73±0.04 <sup>c</sup>	3.2±0.02 <sup>a</sup>	2.12±0.02 <sup>b</sup>	17.11±0.8 <sup>ab</sup>	39.5±1.1 <sup>bc</sup>	4.2±0.1 <sup>ab</sup>	23.5±0.7 <sup>a</sup>	1.45±0.04 <sup>c</sup>
	LSD	2 0.86±0.02 <sup>a</sup>	3.3±0.03 <sup>a</sup>	2.09±0.01 <sup>b</sup>	17.93±1.1 <sup>a</sup>	42.12±1.3 <sup>b</sup>	4.87±0.1 <sup>a</sup>	25.12±0.8 <sup>a</sup>	1.19±0.04 <sup>d</sup>
LSD		0.95	1.00	0.95	1.00	0.95	1.00	0.95	0.87

اسید سالیسیلیک: ۱/۵ میلی مولار، اسید سالیسیلیک ۲: ۳ میلی مولار، فنیل آلانین ۱: ۱ گرم در لیتر، فنیل آلانین ۲: ۲ گرم در لیتر، کیتوزان ۱: ۰/۲۵ گرم در لیتر، کیتوزان ۲: ۰/۵ گرم در لیتر اعدادی که در هر ستون دارای حروف مشابه هستند دارای گروه مشابه هستند.

\*Salicylic Acid 1: 1.5 mM, Salicylic Acid 2: 3 mM, Phenylalanine 1: 1 g.l<sup>-1</sup>, Phenylalanine 2: 2 g.l<sup>-1</sup>, Chitosan 1: 0.25 g.l<sup>-1</sup>, Chitosan 2: 0.5 g.l<sup>-1</sup>  
Numbers in each column that have same word, have same group.

#### جدول ۱۰- مقایسات میانگین اسانس و ترکیبات عمده اسانس زوفا تحت تأثیر محرک‌های رشد و دور آبیاری ۸ روز

Table 10. Means of the essential oil content and main chemical composition (%) in *H.officinalis* L. plants affected by elicitors with irrigation interval 8 day

سال Year	تیمار* Treatment*	اسانس Essential oil	سابینین Sabinene	۳-کارن 3-Carene	بتا-پینین Beta-Pinene	سیس-پینوکامفون Cis-Pinocamphone	میرتنول Myrtenol	پینوکامفون Pinocamphone	کامفور Camphor
2022	کنترل (Control)	0.65±0.02 <sup>de</sup>	1.92±0.02 <sup>cd</sup>	1.12±0.04 <sup>d</sup>	12.59±1.1 <sup>d</sup>	33.89±1.4 <sup>d</sup>	3.77±0.1 <sup>d</sup>	19.1±0.7 <sup>c</sup>	1.12±0.01 <sup>d</sup>
	اسید سالیسیلیک Salicylic Acid	1 0.69±0.01 <sup>d</sup>	2.02±0.01 <sup>c</sup>	2.21±0.04 <sup>ab</sup>	14.88±0.8 <sup>c</sup>	37.1±1.2 <sup>c</sup>	4.01±0.2 <sup>d</sup>	18.1±0.8 <sup>c</sup>	1.22±0.02 <sup>d</sup>
	فنیل آلانین Phenylalanine	1 0.72±0.03 <sup>cd</sup>	2.11±0.03 <sup>c</sup>	2.01±0.01 <sup>b</sup>	15.59±1.2 <sup>b</sup>	39.77±0.9 <sup>bc</sup>	3.99±0.2 <sup>d</sup>	13.14±0.9 <sup>e</sup>	1.33±0.03 <sup>c</sup>
	کیتوزان Chitosan	1 0.84±0.02 <sup>b</sup>	2.44±0.04 <sup>bc</sup>	1.51±0.03 <sup>c</sup>	17.11±0.9 <sup>a</sup>	38.88±0.8 <sup>c</sup>	4.55±0.1 <sup>b</sup>	15.53±0.8 <sup>d</sup>	1.41±0.04 <sup>c</sup>
	LSD	2 0.75±0.03 <sup>c</sup>	2.55±0.01 <sup>b</sup>	1.88±0.01 <sup>b</sup>	17.55±0.8 <sup>a</sup>	40.12±1.1 <sup>b</sup>	4.77±0.2 <sup>b</sup>	20.2±0.7 <sup>b</sup>	1.29±0.01 <sup>cd</sup>
	LSD	1 0.81±0.02 <sup>b</sup>	3.01±0.03 <sup>a</sup>	1.99±0.03 <sup>b</sup>	17.86±0.9 <sup>a</sup>	41.16±1.2 <sup>b</sup>	4.81±0.3 <sup>a</sup>	19.5±0.8 <sup>c</sup>	1.67±0.03 <sup>b</sup>
	LSD	2 0.71±0.01 <sup>d</sup>	2.95±0.04 <sup>ab</sup>	2.23±0.01 <sup>b</sup>	17.91±1.2 <sup>a</sup>	42.55±0.9 <sup>b</sup>	4.31±0.2 <sup>c</sup>	18.12±0.6 <sup>c</sup>	1.65±0.03 <sup>b</sup>
2023	کنترل (Control)	0.65±0.01 <sup>de</sup>	2.21±0.01 <sup>c</sup>	1.71±0.02 <sup>bc</sup>	12.59±1.2 <sup>d</sup>	36.8±1.1 <sup>cd</sup>	4.39±0.02 <sup>c</sup>	14.17±1.1 <sup>d</sup>	1.23±0.01 <sup>d</sup>
	اسید سالیسیلیک Salicylic Acid	1 0.61±0.01 <sup>e</sup>	2.37±0.01 <sup>c</sup>	1.69±0.04 <sup>bc</sup>	14.45±0.8 <sup>c</sup>	35.1±1.1 <sup>d</sup>	4.11±0.02 <sup>d</sup>	18.96±0.8 <sup>c</sup>	1.17±0.02 <sup>d</sup>
	فنیل آلانین Phenylalanine	1 0.59±0.02 <sup>e</sup>	2.21±0.02 <sup>c</sup>	1.55±0.02 <sup>c</sup>	12.83±1.4 <sup>d</sup>	34.12±0.9 <sup>d</sup>	3.92±0.03 <sup>d</sup>	17.14±1.2 <sup>c</sup>	1.18±0.01 <sup>d</sup>
	کیتوزان Chitosan	1 0.63±0.02 <sup>e</sup>	2.44±0.04 <sup>b</sup>	1.71±0.03 <sup>bc</sup>	15.01±1.1 <sup>c</sup>	37.71±0.7 <sup>c</sup>	4.43±0.03 <sup>c</sup>	19.53±0.9 <sup>c</sup>	1.32±0.04 <sup>c</sup>
	LSD	2 0.61±0.01 <sup>e</sup>	2.63±0.03 <sup>b</sup>	1.82±0.02 <sup>b</sup>	14.91±0.8 <sup>c</sup>	38.81±1.1 <sup>c</sup>	4.12±0.04 <sup>d</sup>	21.2±0.7 <sup>b</sup>	1.29±0.02 <sup>cd</sup>
	LSD	1 0.7±0.03 <sup>d</sup>	3.19±0.02 <sup>a</sup>	1.92±0.02 <sup>b</sup>	15.21±1.2 <sup>c</sup>	39.12±0.9 <sup>c</sup>	4.41±0.04 <sup>c</sup>	19.81±1.2 <sup>bc</sup>	1.51±0.01 <sup>b</sup>
	LSD	2 0.65±0.02 <sup>de</sup>	2.91±0.03 <sup>b</sup>	2.02±0.01 <sup>b</sup>	15.11±0.9 <sup>c</sup>	38.91±0.7 <sup>c</sup>	4.22±0.03 <sup>d</sup>	21.12±0.9 <sup>b</sup>	1.42±0.02 <sup>c</sup>
LSD		1.00	0.95	0.95	1.00	0.98	0.95	0.96	0.88

اسید سالیسیلیک: ۱/۵ میلی مولار، اسید سالیسیلیک ۲: ۳ میلی مولار، فنیل آلانین ۱: ۱ گرم در لیتر، فنیل آلانین ۲: ۲ گرم در لیتر، کیتوزان ۱: ۰/۲۵ گرم در لیتر، کیتوزان ۲: ۰/۵ گرم در لیتر اعدادی که در هر ستون دارای حروف مشابه هستند دارای گروه مشابه هستند.

\*Salicylic Acid 1: 1.5 mM, Salicylic Acid 2: 3 mM, Phenylalanine 1: 1 g.l<sup>-1</sup>, Phenylalanine 2: 2 g.l<sup>-1</sup>, Chitosan 1: 0.25 g.l<sup>-1</sup>, Chitosan 2: 0.5 g.l<sup>-1</sup>  
Numbers in each column that have same word, have same group.

کاهش سطح برگ در اثر تنش خشکی ملایم، موجب بالا رفتن تراکم غده های روغنی در برگ شده و مقدار تجمع اسانس را افزایش می دهد (Pradhan et al., 2017). تغییرات بیوسنتز ترکیبات ترپنوئیدی از جمله مونوترپن ها و سزکوئی ترپن ها ممکن است به علت تغییرات بیوانترژنتیک سلول های گیاهی در پاسخ به عناصر مغذی باشد و به نظر می رسد که یکی از دلایل اختلاف در مقدار و نوع برخی از ترکیبات اسانس گیاه مورد آزمایش، مربوط به اختلاف جایگاه های بیوسنتزی ترکیبات از نظر بهره گیری از منابع انرژی باشد (Sasani et al., 2021). محرک ها برای گیاه، پیام های شیمیایی ارسال می کنند که سبب پاسخ های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی و تجمع فیتوآلکسین می شود. طی پاسخ به محرک، سیستم دفاعی گیاه فعال شده و در نتیجه بیان ژن های دفاعی، متابولیت های ثانویه و محتوای اسانس، افزایش می یابد (Ali, 2021; Babaei et al., 2021). ترکیبات اسانس با محلول پاشی ترکیبات آلی به ویژه اسید سالیسیلیک و فنیل آلانین به دلیل راه اندازی چرخه سنتز اسید آمینه و آنزیم های پروتئینی در افزایش ترکیبات اسانس مؤثرند. به طور کلی هر افزایشی در کل کربوهیدرات های گیاه، موجب افزایش سنتز اسانس در بافت مسئول سنتز

این ترکیبات می‌شود (Caser *et al.*, 2019; Kulak, 2020). یکی از دلایل بیشتر شدن مقدار اسانس را می‌توان به دلیل افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه و تأثیر افزایش جذب عناصر غذایی در ساختمان و کارکرد کلروپلاست دانست که این افزایش ممکن است به تولید بیشتر غده‌های ترشح کننده اسانس در برگ منجر می‌شود. از آنجایی که غده‌های ترشح کننده اسانس گیاهان نعنایان در برگ‌ها قرار دارند، هر عاملی که سبب افزایش سطح و وزن برگ‌ها شود، مقدار اسانس را نیز افزایش خواهد داد. از این رو به نظر می‌رسد افزایش تولید کلروفیل، سبب افزایش بافت‌های فتوسنتزی، افزایش رشد برگ‌ها و در نهایت منجر به افزایش عملکرد اسانس خواهد شد (Ali *et al.*, 2021; Abdul-Hafeez, and Ibrahim, 2021). از سوی دیگر بیوسنتز ترپنوئیدها با اتصال سر به دم ایزوپنتیل دی‌فسفات به ایزومر دی‌متیل آلیل دی‌فسفات ادامه می‌یابد که با این اتصال ژرانیل دی‌فسفات (GPP) حاصل می‌شود. تشکیل مونوترپن‌های الکلی با مونوترپن گاماترپین (GT) شروع شده و در ادامه از طریق پی‌سایمن آروماتیک، واکنش‌ها به سمت سنتز آن‌ها پیش می‌رود. گاماترپین که به وسیله آنزیم گاماترپین سنتاز (GTS) کاتالیز می‌شود، پیش ماده‌ی مونوترپن‌های آروماتیک، در ادامه مسیر بوده و بنابراین نقش اساسی را در این مسیر ایفاء می‌نماید (Thakur and Kumar, 2020; Bohlman and Keeling, 2008). بنابراین به نظر می‌رسد تیمارهای به کار رفته در این پژوهش، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و در نتیجه بازده فتوسنتزی در زوفا را افزایش داده و از این طریق بر ترکیبات تشکیل دهنده اسانس نیز تأثیر گذار بوده‌اند. با توجه به این که بیوسنتز ترپنوئیدها در ترکیب‌ها، 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).

بطور کلی محرک‌های مختلف از جمله کیتوزان (Alizadeh *et al.*, 2020) و اسید سالیسیلیک (Abdi *et al.*, 2022; Momeni *et al.*, 2020) نقش مهمی در فعال کردن آنزیم‌های مسیر متابولیسم ثانویه گیاهان می‌کنند. کاربرد کیتوزان احتمالاً به دلیل افزایش جذب CO<sub>2</sub>، کاهش تعرق، تنظیم ژن و القای آنزیم‌های مرتبط با بیوسنتز ترپنوئیدها، محتوای اسانس را تغییر می‌دهد (Hawrylak *et al.*, 2021; Abdul-Hafeez and Ibrahim, 2021). بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه تحت تأثیر رشد و نمو گیاه است که به رفتارهای فیزیولوژیکی گیاه به ویژه ظرفیت فتوسنتز بستگی دارد. تغییرات مشاهده شده در کیفیت اسانس گیاهان تیمار شده را می‌توان به تفاوت 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 (Hawrylak-Nowak *et al.*, 2021).

تحت تنش خشکی مقادیر مواد مؤثره گیاهان دارویی رفتار مختلفی دارند. چنانچه در زمان رسیدگی و بروز تنش خشکی میزان ماده آلفا-پینن در گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis*) کاهش ولی در اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) افزایش یافت. ترکیبات مؤثره آلفا-پینن، لیمونن و اوکالیپتول در مریم گلی (*Salvia officinalis*) کاهش یافت در حالی که این ترکیبات در ریحان (*Ocimum basilicum*) افزایش یافتند (Kulak, 2020). در گیاهان دارویی قدومه (*Alyssum desertorum*)، آویشن (*Thymus vulgaris*)، همیشه بهار (*Calendula officinalis*)، گاوزبان (*Borago officinalis*)، (Yadegari, 2017) و گونه‌های مرزه (*Satureja*) (Yadegari, 2022)، تنش آبی منجر به کاهش درصد اسانس و نیز برخی از مواد مؤثره اسانس می‌گردد. کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی در هنگام کمبود آب همچنین ممکن است به دلیل تغییر در مجموعه‌های لیپید- پروتئین رنگیزه‌ها و کاهش سنتز کمپلکس‌های رنگدانه‌ای و یا تخریب کمپلکس‌های پروتئین- رنگدانه به دام اندازنده نور و یا به دلیل تخریب اکسیداتیو لیپیدها و پروتئین‌های کلروپلاست باشد (Caser *et al.*, 2019; Esch *et al.*, 2019).

تنش خشکی با تحریک سنتز متابولیت‌های ثانویه از طریق مسیرهای متابولیکی در گیاهان دارویی و معطر که برخی از آنها ناشناخته هستند، سبب تغییرات میزان کمی و کیفی متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Emami Bistgani *et al.*, 2017). بهبود در عملکرد اسانس با استفاده از کیتوزان ممکن است به دلیل افزایش در رشد، جذب مواد غذایی و یا تغییر در تعداد غده‌های ترشحی برگ و یا بیوسنتز مونوترپن‌ها باشد (Ghasemi Pirbalouti *et al.*, 2017; Hawrylak-Nowak *et al.*, 2021). بر اساس نتایج تجزیه فیتوشیمیایی اسانس، ترکیبات مهم اسانس زوفا در این تحقیق پینوکامفون، سیس- پینوکامفون، میرتنول و بتاپینن بودند. شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس زوفا توسط بسیاری از پژوهشگران مورد بررسی قرار گرفته است. در تحقیقی مشخص شد که مهمترین ترکیبات اسانس زوفا، سیس پینوکامفن و بتا پینن است (Khosh Eqbal *et al.*, 2020). در برخی پژوهش‌ها ترکیبات متفاوتی به عنوان ترکیب غالب گزارش شده است، میرتنیل استات از شمال ایران (Fathiazad *et al.*, 2011)، تیمول و بیزابولول از استان فارس (Saebi *et al.*, 2021) گزارش شده است.

در پژوهشی گزارش گردید که میزان ماده مؤثره سیس پینوکامفن در تنش خشکی شدید نسبت به شاهد به طور معنی داری کاهش پیدا کرد، ولی بتا پینن در هر دو سطح تنش نسبت به شاهد افزایش قابل توجه داشت و افزایش آن در تنش خشکی ملایم بیشتر بود (Khosh Eqbal *et al.*, 2020). تنش خشکی با اختلال در فتوسنتز و تنفس، درصد و ترکیب شیمیایی اسانس را تحت تأثیر قرار می دهد (Pradhan *et al.*, 2017). در مطالعه ای مشابه مشخص شد که تنش خشکی اثر افزایش و معنی داری بر روی میزان متیل کابیکول به عنوان یکی از ترکیبات مهم اسانس در ریحان بنفش (*Ocimum basilicum*) داشته است (Malekpoor *et al.*, 2017). تنش خشکی در حد ملایم و متوسط توانسته است میزان برخی ترکیبات مؤثره و مهم نظیر تیمول یک ترکیب فنلی را در گیاه دارویی آویشن دناهی (*Thymus daenensis* L.) افزایش دهد (Abdi *et al.*, 2022; Askary *et al.*, 2018). گزارش شده است که کاربرد کیتوزان منجر به افزایش پلی فنول در گیاه مرزنگوش (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) گردید. به نظر می رسد افزایش در پلی فنول ها به علت تحریک آنزیم های بیوسنتزی از قبیل فنیل آلانین آمونیلایز و کالکون سنتتاز پلی فنل باشد (Heng *et al.*, 2012). آزمایش دیگری مشخص کرد که کاربرد کیتوزان منجر به افزایش ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه آویشن دناهی گردید (Emami Bistgani *et al.*, 2017).

### نتیجه گیری

از نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر، می توان دریافت که صفات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی مورد بررسی در این تحقیق تحت محلول پاشی تیمارهای کیتوزان و فنیل آلانین در غلظت های اندک در دوره های آبیاری ۴ و ۶ روز یکبار، افزایش چشم گیری نسبت به تیمار شاهد نشان دادند. عملکرد اسانس گیاه زوفا با استفاده از محرک کیتوزان تحت شرایط تنش رطوبتی افزایش یافت. بالاترین میزان اسانس در تیمار دوره آبیاری ۶ روز یکبار و به کارگیری ۰/۵ گرم در لیتر کیتوزان مشاهده شد. نه تنها عملکرد اسانس، بلکه درصد ترکیبات شیمیایی اسانس نیز تحت تأثیر محرک قرار گرفت، برخی از ترکیبات افزایش و برخی ترکیبات تحت تأثیر غلظت های بالای محرک های مورد استفاده در گروه مشابه با شاهد قرار گرفتند. در نهایت، می توان نتیجه گرفت که تحت شرایط تنش رطوبتی، محلول پاشی کیتوزان و نیز فنیل آلانین (۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر) به عنوان یک روش می تواند برای کاهش اثرات تنش و به دنبال آن افزایش عملکرد کمی و کیفی اسانس گیاه زوفا مورد استفاده قرار گیرد.

### منابع

1. Abdi, L., Asghari, H.R., Tolyat Abolhasani, M., Amerian, M.R., & Naghdi badi, H. (2022). Effect of salicylic acid on growth and phytochemical characteristics of *Thymus daenensis* under drought irrigation. *Plant Process and Function*, 11(48), 195-210. (In Persian). <https://dorl.net/dor/20.1001.1.23222727.1401.11.48.13.4>
2. Abdul-Hafeez, E.Y., & Ibrahim, O.H.M. (2021). Effects of chitosan and BABA foliar application on flowering and chemical characteristics of German chamomile 'Bode-gold'. *South African Journal of Botany*, 139, 241-245. <https://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2021.01.037>
3. Adams, R.P. (2007). *Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy*. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL.
4. Aghaei, K., Ghasemi Pirbalouti, A., Mousavi, A., Naghdi Badi, H., & Mehnatkesh, A. (2019). Effects of foliar spraying of L-phenylalanine and application of bio-fertilizers on growth, yield, and essential oil of Hyssop (*Hyssopus officinalis* L. Subsp. *Angustifolius*). *Biocatalyst Agriculture Biotechnology*, 21, 101318. <https://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101318>
5. Ahmad, B., Khan, M.M.A., Jaleel, H., Sadiq, Y., Shabbir, A., & Uddin, M. (2017). Exogenously sourced  $\gamma$ -irradiated chitosan-mediated regulation of growth, physiology, quality attributes, and yield in *Mentha piperita* L. *Turkish Journal of Biology*, 41, 388-401. <https://dx.doi.org/10.3906/biy-1608-64>
6. Alavi Samany, S.M., Ghasemi Pirbalouti, A., & Malekpoor, F. (2022). Phytochemical and morpho-physiological changes of hyssop in response to chitosan-spraying under different levels of irrigation. *Industrial Crops and Products*, 176, 114330. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114330>
7. Albergaria, E.T., Oliveira, A.F., & Albuquerque, U.P. (2020). The effect of water deficit stress on the composition of phenolic compounds in medicinal plants. *South African Journal of Botany*, 131, 12-17. <https://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2020.02.002>



8. Ali, B. (2021). Salicylic Acid: an efficient elicitor of secondary metabolite production in plants. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 31, 101884. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101884>
9. Alizadeh, Z., & Fattahi, M. (2021). Essential oil, total phenolic, flavonoids, anthocyanins, carotenoids and antioxidant activity of cultivated Damask Rose (*Rosa damascena*) from Iran: With chemotyping approach concerning morphology and composition. *Scientia Horticulturae*, 288, 110341. <https://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110341>
10. Alizadeh, A., Moghaddam, M., Asgharzade, A., & Mahmoodi Sourestani, M. (2020). Phytochemical and physiological response of *Satureja hortensis* L. to different irrigation regimes and chitosan application. *Industrial Crops and Products*, 158, 112990. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112990>
11. 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.
12. Askary, M., Behdani, M.A., Parsa, S., Mahmoodi, S., & Jamialahmadi, M. (2018). Water stress and manure application affect the quantity and quality of essential oil of *Thymus daenensis* and *Thymus vulgaris*. *Industrial Crops and Products*, 111, 336-344. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.056>
13. Babaei, Kh., Moghaddam, M., & Farhadi, N. (2021). Morphological, physiological and phytochemical responses of Mexican marigold (*Tagetes minuta* L.) to drought stress. *Scientia Horticulturae*, 284, 110-116. <https://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110116>
14. Bates, L.S., Waldren, R.P., & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205-207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
15. Bohlman, J., & Keeling, C.I. (2008). Terpenoid biomaterials. *Plant Journal*, 54, 656-669. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03449.x>
16. Caser, M., Chitarra, W., Angiolillo, F., & Perrone, I. (2019). Drought stress adaptation modulates plant secondary metabolite production in *Salvia dolomitica* Codd. *Industrial Crops and Products*, 129, 85-96. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.11.068>
17. Dere, S., Güneş, T., & Sivaci, R. (1998). Spectrophotometric determination of chlorophyll-A, B and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Turkish Journal of Botany*, 22(1), 13-17. <https://www.researchgate.net/publication/235938850>
18. Dzung, N.A. (2011). *Enhancing crop production with chitosan and its derivatives*. In: Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives, Kim, Se -kwon. Taylor and Francis. Boca Raton London New York.
19. Emami-Bistgami, Z., Siadat, S.A., Bakhshandeh, A., & Ghasemi-Pirbalouti, A. (2017). Interactive effects of drought stress and chitosan application on physiological characteristics and essential oil yield of *Thymus daenensis* Celak. *The Crop Journal*, 5(5), CJ-00231. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2017.04.003>
20. Esch, E.H., Lipson, D.A., & Cleland, E.E. (2019). Invasion and drought alter phenological sensitivity and synergistically lower ecosystem production. *Ecology*, 100(10), 34-45. <https://doi.org/10.1002/ecy.2802>
21. Fariaszewska, A., Aper, J., Van Huylenbroeck, J., & De Swaef, T. (2020). Physiological and biochemical responses of forage grass varieties to mild drought stress under field conditions. *International Journal of Plant Production*, 14, 335–353. <https://doi.org/10.1007/s42106-020-00088-3>
22. Fathiazad, F., Mazandarani, M., & Hamedeyazdan, S. (2011). Phytochemical analysis and antioxidant activity of *Hyssopus officinalis* L. from Iran. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 1(2), 63-67. <https://doi.org/10.5681/apb.2011.009>
23. Ghanbarzadeh, Z., Mohsenzadeh, S., Rowshan, V., & Moradshahi, A. (2019). Evaluation of the growth, essential oil composition and antioxidant activity of *Dracocephalum moldavica* under water deficit stress and symbiosis with *Claroideoglomus etunicatum* and *Micrococcus yunnanensis*. *Scientia Horticulturae*, 256, 108652. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108652>
24. Ghasemi Pirbalouti, A., Malekpoor, F., Salimi, A., & Golparvar, A. (2017). Exogenous application of chitosan on biochemical and physiological characteristics, phenolic content and antioxidant activity of two species of basil (*Ocimum ciliatum* and *Ocimum basilicum*) under reduced irrigation. *Scientia Horticulturae*, 217, 114–22. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.01.031>
25. Gorni, P.H., Pacheco, A.C., Moro, A.L., Albuquerque Silva, J.F., Moreli, R.R., & Rodrigues de Miranda, G. (2020). Salicylic acid foliar application increases biomass, nutrient assimilation, primary metabolites and essential oil content in *Achillea millefolium* L. *Scientia Horticulturae*, 270, 109436. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109436>

26. Govindaraju, S., & 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), 435-44. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.11.001>
27. Hayati, A., Rahimi, M.M., Kelidari, A., & Hosseini, S.M. (2021). Effects of humic acid and iron nanochelate on osmolytes content of black cumin (*Nigella sativa* L.) under drought stress conditions. *Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 37(5), 809-821. (In Persian) <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2021.354715.2995>
28. Hawrylak-Nowak, B., Dresler, S., Rubinowska, K., & Matraszek-Gawron, R. (2021). Eliciting effect of foliar application of chitosan lactate on the phytochemical properties of *Ocimum basilicum* L. and *Melissa officinalis* L. *Food Chemistry*, 342, 128358. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128358>
29. Heng, Y. Xavier, C. Frette, S., Lars, P., Christensen, S., & Kai, G. (2012). Chitosan oligosaccharides promote the content of polyphenols in Greek Oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 136-143. <https://doi.org/10.1021/jf204376j>
30. Kheiri, A., Mohajjel shoja, H., & Sarajoughi, M. (2020). Study on the effect of drought stress and methanol spraying on dehydrin1 gene expression in *Carthamus tinctorius*. *Genetic Engineering and Biosafety Journal*, 9, 67-75. <https://dorl.net/dor/20.1001.1.25885073.1399.9.14.7>
31. Khosh Eqbal, F., Ghasemi Pirbalouti, A., Enteshari, Sh., & Davarpanah, S.J. (2020). Qualitative and quantitative effects of drought stress on essential oil compositions of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.). *Journal of Plant Research*, 33(2), 292-303. (In Persian) <https://dorl.net/dor/20.1001.1.23832592.1399.33.2.1.3>
32. Kulak, M. (2020). Recurrent drought stress effects on essential oil profile of Lamiaceae plants: An approach regarding stress memory. *Industrial Crops and Products*, 154, 1-17. <https://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112695>
33. Malekpoor, F., Ghasemi Pirbalouti, A., Salimi, A., & Momtaz, H. (2017). Effects of chitosan on gene expression of chavicol-O-methyl transferase and phenylpropanoid components of *Ocimum basilicum* (purple cultivar) under water deficit. *Journal of Biology Society*, 30, 391-401. <https://dorl.net/dor/20.1001.1.23832738.1396.30.3.7.0>
34. Marinova, D., Ribarova, F., & Atanassaova, M. (2005). Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Journal University of Chemistry Technology Metallurgy*, 40(3), 255-260.
35. Mohammadi, H., Amirikia, F., Ghorbanpour, M., Fatehi, F., & Hashempour, H. (2019). Salicylic acid induced changes in physiological traits and essential oil constituents in different ecotypes of *Thymus kotschyanus* and *Thymus vulgaris* under well watered and water stress conditions. *Industrial Crops and Products*, 129, 561-574. <https://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.046>
36. Momeni, M., Ghasemi Pirbalouti, A., Mousavi, A., & Badi, H.N. (2020). Effect of foliar applications of salicylic acid and chitosan on the essential oil of *Thymbra spicata* L. under different soil moisture conditions. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 23(5), 1142-1153. <https://dx.doi.org/10.1080/0972060X.2020.1801519>
37. Mozaffarian, V. (2008). *A pictorial dictionary of botanical taxonomy*. Latin-English-French-Germany-Persian. Germany: Koeltz Scientific Books.
38. Mumivand, H., Ebrahimi, A., Morshedloo, M.R., & Shayganfar, A. (2021). Water deficit stress changes in drug yield, antioxidant enzymes activity and essential oil quality and quantity of Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.). *Industrial Crops and Products*, 164, 113381. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113381>
39. Naderi, S., Fakheri, B.A., & Seraji, M. (2014). The effect of chitosan on some physiological and biochemical characteristics of Ajowan (*Carum copticum* L.). *Crop science Research in the Dry Areas I*(1),101-117. <https://doi.org/10.22034/csra.01.01.05> (In Persian)
40. Pandey, P., Irulappan, V., Bagavathiannan, M.V., & Senthil-Kumar, M. (2017). Impact of combined abiotic and biotic stresses on plant growth and avenues for crop improvement by exploiting physio-morphological traits. *Front Plant Science*, 8, 1-15. <https://doi.10.3389/fpls.2017.00537>
41. Poorghadir, M., Mohammadi Torkashvand, A., Mirjalili, S.A., & Moradi, P. (2020). Interactions of amino acids (proline and phenylalanine) and biostimulants (salicylic acid and chitosan) on the growth and essential oil components of Savory (*Satureja hortensis* L.). *Biocatalyst Agriculture Biotechnology*, 30, 101815. <https://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101815>

42. Pradhan, J., Sahoo, S.K., Lalotra, S., & Sarma, R.S. (2017). Positive impact of abiotic stress on medicinal and aromatic plants. *International Journal of Plant Sciences*, 12(2), 309-313. <https://doi.org/10.15740/HAS/IJPS/12.2/309-313>
43. Rahmani Samani, M., Ghasemi Pirbalouti, A., Moattar, F., & 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. <https://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.019>
44. Rajabzadeh, Sh., Ghasemi Pirbalouti, A., Yadegari, M., & 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>
45. Rajabzadeh, Sh., Ghasemi Pirbalouti, A., Yadegari, M., & Rahimi, T. (2023). Evaluation of the foliar application effect on the chemical compositions of *Rosa damascena* Mill. essential oil of Chaharmahal va Bakhtiari province. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 10(2), 80-95. <https://doi.org/10.30495/ejmp.2022.1954175.1682> (In Persian)
46. Saebi, A., Minaei, S., Mahdavian, A.R., & Taghi Ebadi, M. (2021). Quantity and quality of Hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) affected by precision harvesting. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 8(3), 291-304. <https://doi.org/10.22059/ijhst.2020.298266.346>
47. Sasani, N., Pâques, L.E., Boulanger, G., & Singh, A.P. (2021). Physiological and anatomical responses to drought stress differ between two larch species and their hybrid. *Trees*, 35, 1467-1484. <https://doi.org/10.1007/s00468-021-02129-4>
48. Shaykh-Samani, A., Ghasemi Pirbalouti, A., Yadegari, M., & Rajabzadeh, F. (2023). Foliar application of salicylic acid improved the yield and quality of the essential oil from *Dracocephalum kotschyi* Boiss. under water deficit Stress. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 26, 769-779. <https://doi.org/10.30495/iper.2022.1952014.1771>
49. Thakur, M., & Kumar, R. (2020). Foliar application of plant growth regulators modulates the productivity and chemical profile of damask rose (*Rosa damascena* Mill.) under mid hill conditions of the western Himalaya. *Industrial Crops and Products*, 158, 113024. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113024>
50. Xiaolu, W., Jie, Y., Aoxue, L., & Yu, Ch. (2016). Drought stress and re-watering increase secondary metabolites and enzyme activity in *Dendrobium moniliforme*. *Industrial Crops and Products*, 94, 385-393. <https://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.08.041>
51. Yadegari, M. (2022). Effects of NPK, botamisol, and humic acid on morphophysiological traits and essential oil of three *Satureja* species under drought stress. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 38(1), 61-80. <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2022.356264.3073> (In Persian)
52. Yadegari, M. (2018). Foliar application effects of salicylic acid and jasmonic acid on the essential oil composition of *Salvia officinalis*. *Turkish Journal of Biochemistry*, 43(4), 417-424. <https://doi.org/10.1515/tjb-2017-0183>
53. Yadegari, M. (2017). Irrigation periods and Fe, Zn foliar application on agronomic characters of *Borago officinalis*, *Calendula officinalis*, *Thymus vulgaris* and *Alyssum desertorum*. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*, 48(3), 307-315. <https://doi.org/10.1080/00103624.2016.1269796>
54. Zakerian, F., Sefidkon, F., Abbaszadeh, A., & Kalateh, S. (2020). Drought stress and *micorrhiza* fungi effects on physiologic and essential oil characters of *Thymus sahandica* Bornm. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 51(1), 189-201. <https://doi.org/10.22059/ijhs.2018.267489.1521> (In Persian)
55. Zamani, S., Ghasemnejad, A., Alizadeh, M., & Alami, M. (2016). Investigating the effect of salinity and salicylic acid on the activity of phenylalanine ammoniolyase enzyme and Phenylpropanoids compounds of *Cynara scolymus* L. in vitro. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 3(4), 28-39. <https://doi.org/10.30495/ejmp.2016.694504> (In Persian)
56. Zandalinas, S.I., Mittler, R., Balfagon, D., Arbona, V., & Gomez-Cadenas, A. (2017). Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. *Physiology of Plant*, 162(1), 2-12. <https://doi.org/10.1111/ppl.12540>
57. Zawislak, G. (2013). Morphological characters of *Hyssopus officinalis* L. and chemical composition of its essential oil. *Modern Phytomorphology*, 4, 93-95. <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.161195>