Research Article

Agricultural Engineering., 48(1) (2025) 93- 112 ISSN (E): 2588-526X

DOI: 10.22055/agen.2025.47090.1731 ISSN (P): 2588-5944

Application of stress-modulating growth stimulants on biochemical characteristics and yield of ajwain (Carum copticum L.) under water deficit stress

S. Heydarzadeh[1], A. Tobeh[2*], S. Jahanbakhsh[2] and S. Farzaneh[3]

1. Ph.D Student, Department of plant genetics and production engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
2. Professor, Department of plant genetics and production engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
3. Associate Professor, Department of plant genetics and production engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

Received: 8 June 2024 Accepted: 13 January 2025 *Corresponding Author: a_tobeh@uma.ac.ir

Abstract

Introduction: Ajwain (Carum copticum L.) is a medicinal herb from the Apiaceae family that is widely cultivated in Europe, Iran, India, Egypt, and Pakistan. Pharmacological and clinical trials indicate that C. copticum is effective in treating pharyngitis, showcasing benefits like antioxidant, antiparasitic, expectorant, and antilithiatic effects. Although this herb can withstand damage from water stress, regular and sufficient watering will increase its yield. Inadequate water supply, particularly in terms of quantity and allocation throughout growth and developmental stages, leads to reduced achievement of the crop's intrinsic potential, eventually decreasing the farmer's production and livelihood. Water deprivation is a major limiting factor in semi-arid and arid regions, affecting all aspects of plant morphology, physiology, growth, development, and yield. Chitosan facilitates the formation of secondary compounds like polyphenolics, flavonoids, and lignin, which are beneficial for various herb species, and for the activation of herb defense enzymes. Humic acid can especially influence the growth of medicinal herbs by affecting cell membrane permeability, metabolic pathways, cellular respiration, photosynthetic efficiency, enzyme activation, and cell growth. Melatonin improves plant tolerance against various environmental stresses, including extreme temperatures, cold, salinity, chemical compounds, heavy metals, and pathogens. The use of selenium improve photosynthesis, antioxidant activity, carbohydrate accumulation, and synthesis of secondary metabolites under drought stress. The aims of this study was to assess the effects of stress modifiers include chitosan, humic acid, melatonin, and selenium on the physiological and yield traits of ajwain when exposed under water stress.

Materials and Methods: A two-year field trial was performed in the 2022 and 2023 years of cultivation at the University of Mohaghegh Ardabili in Ardabil, Iran. The experimental design was factorial, using a complete randomized block design with three replications. The factors were the stress modulator treatment (MEN: melatonin, CHN: chitosan, HUC: humic acid, and SEM: selenium and CON: control) and irrigation treatments (watering at 100%, 75%, and 50% of field capacity (FC) as normal, moderate deficit irrigation and severe deficit irrigation, respectively). All plots consisted of 8 rows of herbs spaced 20 cm from each other, with plants spaced 40 cm apart within each row. Seeds of ajwain (Carum copticum L.) were sown on March 20, 2022 and 2023. During the vegetative phase of ajwain the tretments were applied by foliar spraying ofon the leaves in the three stages at ten-day intervals, coinciding with periods of moisture stress.

© 2025 The Author(s). Published by Shahid Chamran University of Ahvaz. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Weeds were carefully controlled when needed. The soil was collected from a depth of 0-30 cm, analyzed, and found to be silty clay (36% Silt, 33% Clay, 31% Sand) with an electrical conductivity of 0.37 dS /m, pH of 7.8, 1.04% of organic matter, 0.11% total N, 10.04, and 344 mg kg−1 available P and K, respectively. A 2-year investigation analysis of variance (ANOVA) was conducted operating the general linear model (GLM) (SAS 9.1.3) combining the findings from 2022 and 2023. The LSD trial was evaluated for comparing means at $p < 0.05$.

Results and Discussion: The results showed that under normal irrigation conditions, ajwain plants sprayed with melatonin had the seed yield (733.35 kg/ha), and essential oil yield (22.11 kg/ha). The maximum absorption of nitrogen, phosphorus and potassium (3.09%, 0.40%, and 1.65%, respectively) was obtained under normal irrigation conditions and foliar spraying with melatonin. While the highest amount of total phenol and flavonoid (29.55 and 3.33 mg/g dw, respectively), DPPH radical inhibition percentage, nitric acid radical inhibition percentage, and superoxide radical collection capacity were 78.85, 67.88, and 138.47% respectively, which were observed in the conditions of severe stress by melatonin foliar spraying. Melatonin improved the amount of essential oil of ajwain (3.30%) under medium stress conditions. Water stress hinders plant growth and development by impacting many physiologic processes, including nutrient absorption, stomata function, transpiration rate, sugar synthesis, hormone production, assimilation, and photosynthesis. Stressful environments were shown to accelerate the synthesis of EOs, as evidenced by the increased EO content under stress. This is likely due to the role of secondary metabolites in helping plants withstand ecological stresses. The application of MEN, CHA, HUM, and SEM directly enhanced photosynthetic pigments, improved photosynthetic efficiency, increased the concentration and activity of RuBisCo, and promoted ATP and NADPH production to enhance plant productivity. Drought stress triggers the production of secondary metabolites and essential oils, which act as protective molecules against environmental pressures. The biostimulant composition, which includes macro and microelements, vitamins, amino acids, and growth hormones, plays a crucial role in promoting plant growth, as well as the percentage and yield of essential oil. When soil moisture availability is restricted, the uptake of water, the solubility of minerals in the soil, and their absorption by roots decline, leading to adverse effects on photosynthesis and transpiration rates. In these circumstances, as previously demonstrated, the foliar application of MEN, CHA, HUM, and SEM positively influences stomatal opening adjustment and chlorophyll abundance, facilitating the growth, division, and elongation of herb root cells. As a result, foliar spraying of MEN, CHA, HUM, and SEM likely maximized this influence by reactivating various biosynthetic and biological pathways and genes that regulate secondary metabolite production, while also enhancing the glands that manufacture essential oils in the flowers and leaves of plants under water restriction. Since hydrocarbons are required as precursors for the production of phenols, an increase in their rate and concentration influences the enhancement of phenolic combinations. Applying MEN, and CHA has been shown to be beneficial in reducing the impact of free radicals and increasing the production of phenolic compounds. This effect may be related to the role of MEN, and CHA in improving antioxidant activity against ROS.

Conclusion: Overall, among all the tested stress modulators, MEN and CHN emerged as valuable tools for improving growth, physiological characteristics, essential oil, and fixed production in ajwain herb. They can help reduce the detrimental impacts of water stress and establish a sustainable framework for optimizing ajwain performance even under moisture-deficit conditions in semi-arid and arid regions of Iran.

Keywords: antioxidant, melatonin, moisture stress, sustainable agriculture

مهندسی زراعی (مجله علمی کشاورزی) جلد ۴۸ شماره۱، بهار ۱۴۰۴

مقاله پژوهشی

کاربرد محرک‌های رشد تعدیل کننده تنش بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و عملکرد گیاه دارویی زنیان (*Carum copticum* L.) تحت تنش کم آبی

سعید حیدرزاده[۱]، احمد توبه[۲*]، سدابه جهانبخش[۲] و سلیم فرزانه[۳]

۱- دانشجوی دکتری گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۲- استاد گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۳- دانشیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۱۹
پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۱۰/۲۴

کلمات کلیدی:
آنتی‌اکسیدان،
ملاتونین،
تنش رطوبتی،
کشاورزی پایدار

* عهده دار مکاتبات
Email: a_tobeh@uma.ac.ir

چکیده

تنش کم آبی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد گیاهان در نواحی خشک و نیمه‌خشک به شمار می‌رود. به منظور بررسی تأثیر محرک‌های تعدیل‌کننده تنش بر ویژگی‌های کمی و کیفی زنیان (*C. copticum* L.)، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه محقق اردبیلی با سه تکرار انجام شد. در این مطالعه، تیمارهای آزمایشی شامل تعدیل کننده تنش (ملاتونین، کیتوزان، اسید هیومیک، سلنیوم و شاهد) و رژیم آبیاری که شامل آبیاری در ۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه که به ترتیب آبیاری معمولی و تنش کم آبی متوسط و شدید بودند. نتایج نشان داد که در شرایط تیمار بدون تنش، گیاهان زنیان محلول‌پاشی شده با ملاتونین بیشترین عملکرد دانه (۷۳۳/۳۵ کیلوگرم در هکتار)، عملکرد اسانس (۲۲/۱۱ کیلوگرم در هکتار) را نشان دادند. حداکثر جذب نیتروژن، فسفر و پتاسیم (به ترتیب با ۳/۰۹، ۰/۴۰ و ۱/۶۵ درصد) در شرایط آبیاری معمولی و محلول‌پاشی با ملاتونین و کیتوزان به‌دست آمد. در حالی که، بیشترین میزان فنل و فلاونوئید کل (به ترتیب ۲۹/۵۵ و ۳/۳۳ میلی‌گرم در گرم وزن خشک)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، درصد مهار رادیکال نیتریک اسید و ظرفیت جمع‌آوری رادیکال سوپراکسید به ترتیب ۷۸/۸۵، ۶۷/۸۸ و ۱۳۸/۴۷ درصد در شرایط تنش کم‌آبی شدید و محلول‌پاشی با ملاتونین و کیتوزان مشاهده شد. همچنین محلول پاشی ملاتونین باعث بهبود میزان اسانس زنیان (۳/۳۰ درصد) در شرایط تنش متوسط شد. در نتیجه، نتایج این آزمایش نشان داد که گیاهان زنیان وقتی در معرض تنش کمبود آب قرار می‌گیرند، به ویژه هنگامی که با ملاتونین محلول‌پاشی می‌شوند، واکنش مطلوبی به تیمارهای تعدیل‌کننده تنش نشان می‌دهند.

مقدمه

زنیان (*Carum copticum* L.) یک گیاه دارویی یکساله با کاربرد دارویی از خانواده آپیاسه[1] است که در اروپا، ایران، هند، مصر و پاکستان گسترش یافته است و معمولاً در طب سنتی برای کاربردهای درمانی به عنوان آنتی‌بیوتیک و ضد میکروبی استفاده می‌شود (۲۴). تحقیقات متعدد روی فارماکولوژی و آزمایش‌های بالینی نشان داد که زنیان علاوه بر القای اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد انگلی، خلط‌آور و ضدسنگ‌ریزه، فارنژیت ناگهانی و سرماخوردگی معمولی را درمان می‌کند (۲۳). از آنجایی که داروهای شیمیایی تأثیرات منفی متعددی ایجاد می‌کنند، تشخیص و بهبود محصولات گیاهی با مزایای سلامتی و ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌ها ضروری است (۳۳). زنیان به عنوان یک گیاه دارویی در بسیاری از فعالیت‌های صنعتی از جمله داروسازی، مواد غذایی و محصولات آرایشی و بهداشتی استفاده می‌شود (۲۴).

در سطح جهانی، به نظر می‌رسد گسترش دمای بالای سالانه در تداوم گرم شدن شرایط آب و هوایی و درجه رو به رشد خشکسالی قابل توجه است (۱۳). تامین ناکافی آب، به‌ویژه کمیت، و تخصیص نامناسب در طول مراحل رشد و نمو، بر کاهش دستیابی به توانایی‌های ذاتی محصول تأثیر می‌گذارد که در نهایت باعث کاهش تولید محصول می‌شود (۲). کمبود آب منجر به کاهش اثرات متابولیک و بیولوژیکی مانند کاهش بلوغ و رشد محصول، فعالیت منافذ روزنه‌ای، مقدار ماده خشک جمع‌آوری‌شده، نسبت محتوای کلروفیل، سرعت توسعه و رشد، محتوای آب برگ و ظرفیت و کارایی پتانسیل فتوسنتز می‌شود (۶، ۱۴). تحت تنش آب، نشت الکترون زیاد به سمت O_2 رخ می‌دهد و انواع مختلفی از گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)[2] مانند سوپراکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال هیدروکسیل و رادیکال اکسیژن تولید می‌کند (۸، ۱۳). گونه‌های فعال اکسیژن می‌تواند تأثیر منفی بر مولکول‌های پروتئین، لیپیدهای غشاء و اطلاعات ژنتیکی داشته باشد که در داخل سلول ایجاد شوند. در نتیجه، مسیرهای آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی باید برای مقابله با آسیب سلولی ناشی از ROS که توسط فشار اکسیداتیو ایجاد می‌شود، فعال شوند (۲۰). با توجه به پیش‌بینی کاهش چشمگیر دسترسی به آب در سال‌های آینده، مدیریت کاهش مصرف آب برای تولید زنیان مهم است (۲۴). از این رو، فناوری جدید با هدف کاهش کمبود آب و ارتقای تحمل محصولات در حال حاضر تحت بررسی است (۲۸).

کیتوزان یک بستر بیوپلیمری بیولوژیکی غیرسمی است که از طریق سم‌زدایی خنثی از کیتین، ویژگی اصلی اسکلت‌های خارجی مصرف بندپایان و دیواره‌های سلولی قارچ‌ها و دومین منبع کربن پایدار پس از مواد لیگنوسلولزی تولید می‌شود (۶، ۸، ۳۵). به خوبی درک می‌شود که کیتوزان باعث سنتز ترکیبات ثانویه از جمله پلی فنولیک، محتوای فلاونوئیدو لیگنین می‌شود که در گونه‌های گیاهی متعدد و همچنین القای آنزیم‌های دفاعی گیاهی ایجاد می‌شود (۲۰). سلطانی و همکاران[3] (۲۸) نشان داند که محلول‌پاشی کیتوزان می‌تواند یکی از فرآیندهایی برای کاهش تأثیرات نامطلوب سویه‌های زیستی و غیرزنده باشد. اسید هیومیک می‌تواند بر نفوذپذیری غشای سلولی، فعالیت های متابولیکی، تنفس سلولی، کارایی فتوسنتز، فعال شدن آنزیم‌ها و رشد سلولی گیاهان تأثیر بگذارد (۲۲، ۳۲). یکی دیگر از مزایای احتمالی اسید هیومیک کاهش فشار کمبود رطوبت است، زیرا گیاهان با تنظیم فشار اسمزی و حفظ جذب رطوبت و انبساط سلولی به اثر اسید هیومیک واکنش نشان می‌دهند و در نتیجه اثرات مخرب تنش کمبود آب را کاهش می‌دهند (۳۲). ملاتونین یک مولکول بیولوژیکی، چندمنظوره، سازگار با محیط زیست، تنظیم کننده بیولوژیکی عمومی با جرم مولکولی کم است که به دلیل جذب سریع، نقش‌های متعددی در گیاهان دارد (۱۱، ۱۲). علاوه بر این، ملاتونین از نظر بهبود بلوغ و رشد گیاهان، کارایی فتوسنتزی، تاخیر در پیری برگ، دفاع آنتی

1 - Apiaceae
2 - Reactive oxygen species
3- Soltani *et al.*

اکسیدانی آنزیمی و بلوغ گیاه تحت تنش کمبود آب و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی غشای سلولی و بافت‌ها تأثیرات سودآوری دارد (۱۷). سلنیوم یک ریز عنصر حیاتی گیاهی است که اعمال تنظیمی را به عنوان کوفاکتور برای آنزیم‌های مختلف انجام می‌دهد و رشد و نمو گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۳۴). استفاده از سلنیوم با بهبود کمیت و کیفیت محصول، افزایش فتوسنتز، متابولیسم آنتی‌اکسیدانی، تجمع کربوهیدرات‌ها، و سنتز متابولیت‌های ثانویه، حفظ ساختار کلروپلاست، سیالیت غشای پلاسما و تاخیر در پیری همراه است (۲۷). سلنیوم در گیاهان با فعال کردن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، بهبود وضعیت تغذیه، القای تغییرات هورمونی، تسهیل جذب مواد مغذی و ارتقاء رشد کلی گیاه، مقاومت گیاهان را در برابر تنش خشکی افزایش می‌دهد (۳، ۹، ۱۸). این تحقیق با هدف ارزیابی اثرات تعدیل کننده تنش مانند کیتوزان، ملاتونین، اسید هیومیک و سلنیوم بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و عملکرد زنیان در مواجهه با تنش آبی انجام شد.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایشی

این پژوهش طی دو سال (۱۴۰۱ و ۱۴۰۲) در قالب طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی به روش فاکتوریل با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل (۳۸/۱۵ درجه شمالی، ۴۸/۱۵ درجه شرقی، ۱۳۵۰ متر بالاتر از میانگین سطح دریا) اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل تعدیل کننده تنش (ملاتونین، کیتوزان، اسید هیومیک، سلنیوم و شاهد) و رژیم آبیاری که شامل آبیاری در ۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه که به ترتیب آبیاری معمولی و کم‌آبیاری متوسط و کم آبیاری شدید بودند. ملاتونین ابتدا در حداقل مقدار اتانول و سپس در آب حل شد (۱۵). اسید هیومیک در آب مقطر حل شد (۲۲). کیتوزان در اسید استیک ۱ درصد حل شد و سپس با آب مقطر رقیق شد، سپس pH محلول‌های کیتوزان با ۱٪ NaOH روی ۶/۵ تنظیم شد (۲۸). سلنیوم از منبع سلنات سدیم (Na_2SeO_3) استفاده شد. از آنجایی که سلنیوم در آب نامحلول است، برای تهیه آن قبل از آن در اتیل الکل و سپس در آب مقطر حل شد (۳). شکل ۱ پارامترهای آب و هوایی محل تحقیق را در طول تحقیق نشان می‌دهد.

تهیه زمین آزمایشی

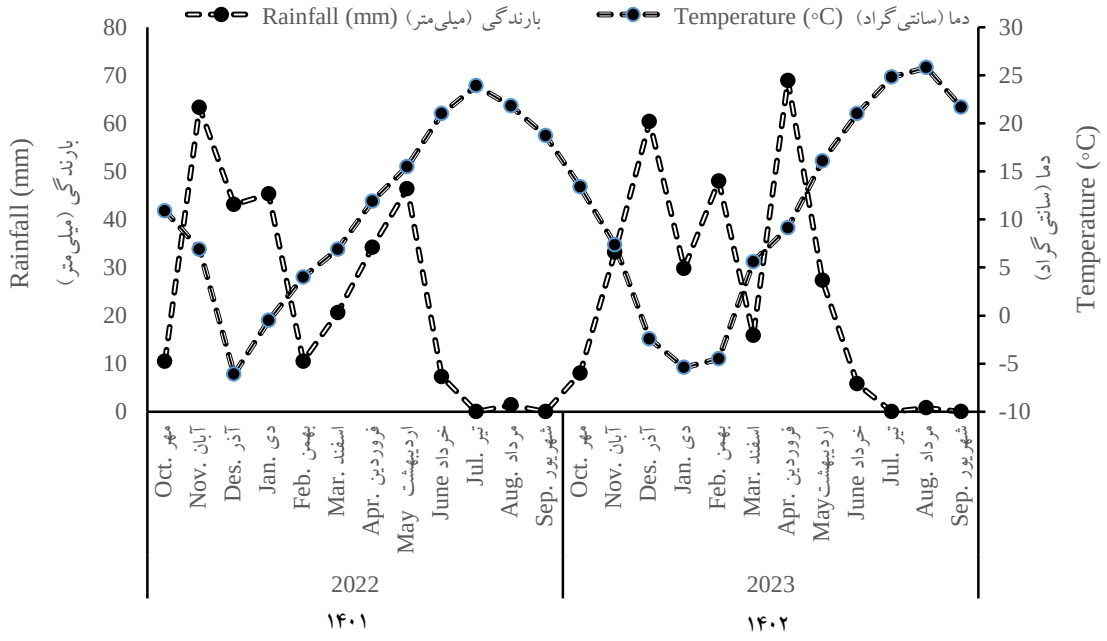
پس از عملیات آماده سازی زمین (شخم، دیسک و تسطیح)، بذور در عمق سه سانتیمتری زیر سطح خاک به صورت کرتی به ترتیب در ۲۰ و ۲۴ اسفند ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ به فاصله ۴۰ سانتی‌متر در داخل هر ردیف کاشته شدند و در ۲ و ۵ شهریور ماه برداشت انجام شد. همه کرت‌های آزمایشی دارای ۵ ردیف از گیاهان بودند که در فاصله ۲۰ سانتی‌متری قرار گرفتند و گیاهان با فاصله ۴۰ سانتی‌متری و در طول ۴ متری در داخل هر ردیف کاشت شدند. در مرحله ساقه رفتن زنیان، محلول‌پاشی با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر روی برگ‌ها در ۳ مرحله در دوره‌های ده روزه همزمان با تنش کمبود رطوبتی انجام شد. به‌منظور جلوگیری از نشت آب به کرت‌های مجاور، فاصله هر کرت ۱/۵ متر و فاصله بین دو بلوک دو متر در نظر گرفته شد. جهت اعمال دقیق تیمارهای آبیاری از تأسیسات آبیاری لوله‌کشی شده و کنتور آب استفاده گردید.

برای سنجش میزان رطوبت خاک از دستگاهTDR مدل TRASE SYSTE با نشان TRASE، مدلX۶۰۵۰، ساخت شرکت Soil Moisture استفاده شد. فرمول (۱) برای محاسبه مقدار آب مورد نیازهر کرت با توجه به بیلان رطوبتی خاک استفاده شد.

$$IRRI= Drz(FC-\Theta)/ Ei \quad (1)$$

که در آن Θ = درصد حجمی رطوبت قبل از آبیاری، = IRRI مقدار آبی که در موقع آبیاری برحسب سانتیمتر به زمین داد شد، Ei = راندمان آبیاری، FC=درصدحجمی رطوبت در حد ظرفیت زراعی وDrz= عمق توسعه ریشه(سانتیمتر) می‌باشد.

علف‌های هرز در صورت نیاز به دقت کنترل شدند. خاک مزرعه آزمایشی در عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری دارای بافت سیلت -رسی با هدایت الکتریکی ۰/۳۷ دسی‌زیمنس بر متر، محتوای نیتروژن ۰/۱۱ درصد، اسیدیته ۷/۸، محتوای پتاسیم و محتوای فسفر به ترتیب ۳۴۴ و ۱۰/۰۴ میلی‌گرم در کیلوگرم بود.



شکل(۱) میانگین دمای ماهانه هوا و بارندگی کل برای فصول رشد ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲

Figure (1) The average monthly air temperature and total rainfall for the growing seasons of 2022 and 2023.

عملکرد دانه

برای تعیین عملکرد دانه از تمام تیمارهای آزمایشی به صورت جداگانه پس از رفتن به مرحله حداکثر رسیدگی، ۱۰ بوته به طور تصادفی از هر کرت برداشت شد.

اسانس و عملکرد اسانس

اسانس گیاه زنیان با استفاده از روش تقطیر با آب و با دستگاه کلونجر (۷) استخراج شد. برای انجام این کار، ۵۰ گرم نمونه بذری از هر کرت وزن گردید و پس از آسیاب شدن در ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر در داخل دستگاه کلونجر به مدت سه ساعت جوشانده شد تا اسانس آن استخراج شود. سپس اسانس جمع آوری شده (گرم) وزن شد و درصد اسانس و عملکرد اسانس براساس روابط ۲ و ۳ محاسبه شدند (۲۴).

$$\text{درصد اسانس} = \frac{\text{اسانس استخراج شده (گرم)}}{\text{۵۰ گرم بذر زنیان}} \quad (۲)$$

درصد اسانس × عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار) = عملکرد اسانس (کیلوگرم در هکتار) (۳)

صفات آنتی‌اکسیدانی

برای اندازه‌گیری صفات آنتی‌اکسیدانی بذر گیاه زنیان جهت تهیه محلول عصاره گیری ، ۲ گرم از بذر پودر گردید و بعد با ۲۵ میلی‌لیتر محلول متانول در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بر روی شیکر مغناطیسی در مدت ۳ ساعت عصاره‌گیری گردید. بعد از آن محلول به‌دست آمده با کمک کاغذ صافی واتمن صاف گردید. سپس عصاره‌های حاصل در درون ظروفی که توسط کاغذ آلومینیومی پوشیده بودند، نگه داشته شد (۲۶).

محتوای فنل کل از طریق معرف Folin-Ciocalteu و براساس روش شین و همکاران[1] (۲۶) اندازه‌گیری گردید. براساس این روش به ۱۰ میکرولیتر از محلول عصاره گیری شده، ۱ میلی‌لیتر معرف Folin-

1- Shin *et al*.

Ciocalteu ده برابر رقیق شده، ۱ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم ۱۰ درصد بعد از ۳ دقیقه، افزوده شد. محلول به‌دست آمده به مدت ۱ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید و بعد از آن جذب نمونه در ۷۵۰ نانومتر با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر Beckman مدل DU800 قرائت گردید. یک منحنی استاندارد با اسید گالیک (۵،۴،۳ تری هیدروکسی بنزوئیک اسید)، برای تعیین محتوای فنل استفاده شد. میزان بر حسب میلی‌گرم در گرم بیان شد.

محتوای فلاونوئید کل براساس روش کلریمتری کلرید آلومینیوم تعیین گردید (۲۶). اول ۲۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی با ۱ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر شده و ۰/۰۷۵ میلی‌لیتر از نیتریت سدیم (۵ درصد) به آن افزوده گردید. بعد از گذشت ۵ دقیقه از مراحل انجام واکنش ۰/۱۵ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم (۱۰ درصد) به آن افزوده شد سپس بعد از گذشت ۶ دقیقه از مراحل انجام واکنش ۰/۵ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم (یک مول بر لیتر) به آن افزوده شد و سپس به حجم نهایی ۳ میلی‌لیتر رسید و جذب نمونه در ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. محتوای فلاونوئید با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین تعیین شد. میزان بر حسب میلی‌گرم در گرم بیان شد.

ظرفیت جمع‌آوری رادیکال اکسید نیتریک با روش برند-ویلیامز و همکاران (۵) تعیین گردید. برای جمع-آوری رادیکال‌های آزاد نیتریک به ۴۰ میکرولیتر از محلول عصاره گیری شده، ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سالین (۱۰ میلی‌مولار) و ۲ میلی‌لیتر سدیم نیتروپروسید (۱۰ میلی‌مولار) افزوده شد و در دمای اتاق به مدت ۱۵۰ دقیقه انکوبه شدند. بعد از آن ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول بالای با ۱ میلی‌لیتر سولفانیلیک اسید (۰/۳۳ درصد در گلاسیال استیک اسید ۱۰ درصد) ترکیب گردید و به مدت ۵ دقیقه برای کامل شدن واکنش به حالت استراحت قرار گرفت. بعد از آن ۱ میلی‌لیتر نفتیل اتیلن دی آمین دی‌هیدروکلراید (۰/۱ درصد) افزوده گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق واقع گردید. یک رنگ صورتی توزیع شده در محلول حاصل تشکیل شد. سپس جذب نمونه‌ها در ۵۴۰ نانومتر قرائت گردید. درصد مهار آن براساس رابطه ۴ محاسبه شد.

درصد جمع‌آوری رادیکال نیتریک اکسید = (A blank – A sample)× 100/ A sample (۴)

جذب مخلوط واکنش بدون عصاره =A blank

جذب مخلوط واکنش حاوی عصاره =A sample

رادیکال‌های آنیون سوپراکسید با کمک یک سیستم اتواکسیداسیون پیروگالول تعیین گردید (۱۶). ۹ میلی‌لیتر از محلول بافر تریس اسیدکلریدریک (pH= ۸/۲ ، ۵۰ میلی-مول بر لیتر) به لوله آزمایش افزوده گردید و لوله نمونه‌های آزمایش به مدت ۲۰ دقیقه در داخل بن‌ماری در دمای اتاق انکوبه شدند. ۴۰ میکرولیتر از محلول پیروگالول (۴۵ میلی-مول بر لیتر پیروگالول در اسیدکلریدریک ۱۰ میلی‌مول بر لیتر)، که از پیش در دمای اتاق انکوبه گردیده بود، با کمک یک سرنگ میکرولیتری به بخش فوقانی لوله‌ی آزمایش اضافه گردیده و ترکیب شد. ترکیب حاصل برای ۳ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد و بعد بلافاصله ۱ قطره اسیدآسکوربیک در جهت خاتمه واکنش به درون مخلوط تزریق گردید. جذب مخلوط حاصل در ۴۲۰ نانومتر به عنوان A_0 بعد از ۵ دقیقه خوانده شد و این A_0 نشان دهنده سرعت اتواکسیداسیون پیروگالول است. سرعت اتواکسیداسیون A_1 براساس روش فوق است تنها به بافر تریس میزان معینی از عصاره (۱۰ میکرولیتر) اضافه گردید. به طور همزمان یک بلانک شاهد از مواد واکنشی (۹ میلی-لیتر از محلول بافر تریس اسید کلریدریک، ۴۰ میکرولیتر از محلول پیروگالول و بدون اسید آسکوربیک و عصاره) به عنوان A_2 لحاظ گردید. درصد جمع‌آوری رادیکال با کمک رابطه ۵ تعیین شد:

درصد جمع آوری رادیکال سوپراکسید = $A_0 - (A_1-A_2)\times 100/A_0$ (۵)

میزان جاروب کنندگی رادیکال پایدار DPPH براساس روش برند-ویلیامز و همکاران (۵) اندازه‌گیری گردید. ۴۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی با ۲ میلی‌لیتر محلول متانولی (۰/۰۰۴ درصد) ترکیب گردید. جذب مخلوط حاصل پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون (در دمای اتاق و تاریکی) در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. درصد فعالیت جاروب کنندگی نمونه براساس رابطه ۶ تعیین شد.

درصد مهار رادیکال DPPH = $(1- A_{sample} / A_{blank}) \times 100$ (۶)

A blank= جذب مخلوط واکنش بدون عصاره

A sample = جذب مخلوط واکنش حاوی عصاره

عناصر غذایی

برای اندازه‌گیری نیتروژن، فسفر و پتاسیم، برگ‌های زنیان آسیاب، هضم و به مدت ۴ ساعت در دمای ۵۰۰ درجه سانتیگراد سوزانده شدند تا میزان جذب مواد مغذی تعیین شود. ذرات خاکستر (۵ میلی‌گرم) در ۱ میلی لیتر هیدروکلریک اسید هضم شدند و سپس با استفاده از کاغذ صافی واتمن (درجه ۴۲) جدا شدند. جذب فسفر با استفاده از روش وانادومولیبدات که شامل تولید کمپلکس زرد رنگ اسید هتروپلی‌وانادومولیبد و فسفریک احیا نشده، تثبیت شده در محیط نیتریک اسید، شدت رنگ آن در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتری اندازه گیری شد (۲). جذب پتاسیم با استفاده از فیلم فتومتر شعله تعیین شد (۱). نیتروژن با استفاده از روش کجلدال اندازه‌گیری شد (۲).

تجزیه و تحلیل مرکب داده‌ها با کمک نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) صورت گرفت. همچنین برای بررسی مقایسهٔ میانگین‌ها از روش LSD استفاده گردید.

نتایج و بحث

طبق نتایج حاصل، عناصر غذایی (پتاسیم، نیتروژن و فسفر)، محتوای فنل کل، محتوای فلاونوئید کل، درصد مهار رادیکال DPPH، درصد مهار رادیکال نیتریک اکسید، ظرفیت جمع‌آوری رادیکال سوپراکسید، عملکرد دانه، عملکرد اسانس و درصد اسانس گیاه زنیان تحت تأثیر اثرات ساده سال و اثر متقابل رژیم آبیاری و تعدیل کننده تنش در سطح احتمال ۱ درصد قرار گرفتند (جدول ۱).

جدول (۱) تجزیه واریانس دو ساله صفات بیوشیمیایی و عملکرد گیاه زنیان در پاسخ به شرایط رژیم آبیاری، کاربرد تعدیل کننده تنش

Table (1) Analysis of two-year variance of biochemical traits and yield of ajowan plants in response to irrigation conditions, application of stress modifier.

عملکرد اسانس Essential oil yield	درصد اسانس Essential oil	عملکرد دانه Seed yield	عملکرد بیولوژیک Biological yield	رادیکال سوپراکسید Superoxide radical	نیتریک اکسید Inhibition of nitric oxide radical	رادیکال DPPH radical	فلاونوئید کل Total flavonoid content	فنل کل Total phenol content	پتاسیم K	فسفر P	نیتروژن N	درجه آزادی df	منابع تغییر Source of variation
14.99**	0.0008^{ns}	18208.14**	632488.97**	1517.24**	582.42**	223.03**	1.06**	43.77**	0.42**	0.009**	1.22**	1	سال
0.17	0.001^{ns}	69.35	14060.50	1.76	0.51	0.83	0.01	0.69	0.0003	0.0001	0.0006	4	(Y) Year تکرار
193.22**	0.76**	194134.90**	13509080.57**	4211.27**	889.45**	1781.87**	5**	447.40**	0.88**	0.08**	1.86**	2	(R) Rep آبیاری
0.03^{ns}	0.001^{ns}	41.81^{ns}	8122.43^{ns}	2.54^{ns}	0.26^{ns}	0.19^{ns}	0.001^{ns}	0.16^{ns}	0.0003^{ns}	0.000003^{ns}	0.0005^{ns}	2	(Irr) irrigation سال ×آبیاری
48.95**	0.22**	6941.85**	1618004.15**	470.44**	116.52**	354.10**	0.61**	64.12**	0.06**	0.01**	0.25**	4	YxIrr تعدیل کننده
0.09^{ns}	0.0002^{ns}	51.33^{ns}	454.76^{ns}	3.57^{ns}	1.31^{ns}	0.21^{ns}	0.0001^{ns}	0.15^{ns}	0.0002^{ns}	0.000001^{ns}	0.001^{ns}	4	(Sma) stress modulators سال ×تعدیل کننده
0.45**	0.003**	8599.61**	1280608.82**	107.25**	28.67**	199.26**	0.23**	19.82**	0.01**	0.005**	0.05**	8	YxSma آبیاری ×تعدیل
0.05^{ns}	0.0002^{ns}	77.59^{ns}	718.22^{ns}	1.94^{ns}	0.35^{ns}	0.57^{ns}	0.00007^{ns}	0.04^{ns}	0.0002^{ns}	0.000003^{ns}	0.0005^{ns}	8	IrcxSma سال ×آبیاری×تعدیل
0.12	0.0006	79.77	27838.84	3.70	0.64	6.72	0.009	0.36	0.0004	0.0001	0.001	56	YxIrcxSma خطای آزمایش Error
1.88	0.87	1.45	5.77	1.59	1.36	3.98	3.70	2.65	1.46	3.27	1.40		ضریب تغییرات CV (%)

**، *و ^{ns}، به ترتیب معنی‌داری در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد و غیرمعنی‌دار.

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

نیتروژن

براساس نتایج حاصل، میزان نیتروژن گیاهان زنیان به طور معنی‌داری در شرایط آبیاری معمولی نسبت به شرایط تنش کم‌آبیاری متوسط و شدید بیشتر بود (جدول ۲). بیشترین میزان نیتروژن با ۳/۰۹ درصد در گیاهان محلول‌پاشی شده با ملاتونین در شرایط آبیاری معمولی به‌دست آمد (جدول ۲). در گیاهان آبیاری معمولی، تفاوت قابل توجهی در میزان نیتروژن بین ملاتونین و کیتوزان مشاهده نشد (جدول ۲). در حالی که کمترین میزان آن ۲/۲۷ درصد در گیاهان تیمار نشده با محرک‌های زیستی تعدیل کننده تنش در شرایط تنش کم‌آبیاری شدید به دست آمد (جدول ۲). میانگین نیتروژن در گیاهان زنیان ۲/۵۷ درصد در سال اول و ۲/۸۰ درصد در سال دوم کشت بود (جدول ۳). زمانی که دسترسی آب زمین محدود می‌گردد، جذب آب، حلالیت عناصر غذایی در خاک مزرعه و جذب آنها به وسیله ریشه با تاثیرات نامطلوب بر روی فتوسنتز و سرعت تعرق تقلیل پیدا می‌کند (۱۳). در نتیجه، گیاهان رشد و نمو خود را تقلیل می‌دهند تا با کمبود آب و عناصر غذایی در شرایط تنش کم آبی روبه‌رو می‌شود، مقاومت کنند (۲۲). تحت وضعیت تنش کم آبی، گیاهان به خاطر تقلیل پتانسیل ماتریکس زمین، کمبود آب و کرنش اسمزی را تجربه می‌کنند که موجب عدم تعادل یونی و کمبود مواد معدنی می‌گردد (۴). براساس نتایج سایر مطالعات، استفاده از تعدیل‌کننده‌های تنش ملاتونین، کیتوزان، اسید هیومیک و سلنیوم به طور مثبت بر تنظیم دهانه روزنه و فراوانی کلروفیل تأثیر می‌گذارد و رشد، تقسیم و افزایش طول سلول‌های ریشه گیاه را تسهیل می‌کند و بر این اساس رطوبت، جذب مواد معدنی و گسترش رویشی گیاهان را افزایش می دهد (۳، ۲۵، ۲۲). در نهایت، استفاده برگی از تعدیل‌کننده‌های تنش ملاتونین، کیتوزان، اسید هیومیک و سلنیوم بر عملکردهای فیزیولوژیکی گیاهان با افزایش فعالیت آنزیمی و تخصیص مواد جذب شده فتوسنتزی و همچنین با تحریک رشد و طویل شدن سلول‌ها که منجر به افزایش رشد و محتوای تغذیه در گیاهان می‌شود، تأثیر می‌گذارد (۳، ۱۲، ۲۲، ۳۱).

فسفر

تعدیل‌کننده‌های تنش ملاتونین، کیتوزان، اسید هیومیک و سلنیوم که در هر سه شرایط آبیاری محلول‌پاشی شده بودند، میزان فسفر را در مقایسه با گیاهان تیمار نشده به‌طور قابل ملاحظه افزایش دادند (جدول ۲). بیشترین میزان فسفر (۰/۴۰ درصد) از گیاهان محلول‌پاشی شده با ملاتونین تحت آبیاری معمولی به‌دست آمد (جدول ۲). در حالی که، کمترین مقدار آن (۰/۲۱ درصد) در گیاهان تیمار نشده تحت کم‌آبیاری شدید مشاهده شد (جدول ۲). میانگین فسفر در سال اول گیاهان زنیان ۰/۲۹ درصد و در سال دوم کشت ۰/۳۱ درصد بود (جدول ۳). نتایج تحقیقات پژوهشگران بیان کننده این موضوع است که جذب عناصر معدنی و تجمع آنها در گیاه تحت تنش کمبود آب به‌طور محسوسی تقلیل پیدا می‌کند (۴).

برای توجیه این موضوع دلایل زیادی بیان شده است. کاهش دسترسی به آب در خاک مزرعه مقدار جذب عناصر معدنی را محدود می‌کند. علاوه بر این با تقلیل آب خاک امکان حلالیت عناصر معدنی نیز تقلیل پیدا می‌کند. همچنین تقلیل جذب آب از لحاظ فیزیولوژیک سبب نزول فتوسنتز و تعرق توسط گیاه می‌شود (۳۱). در چنین حالتی سیستم‌های انتقال فعال نیز به خاطر صرفه‌جویی در روند مصرف انرژی زیستی با مشکل مواجه می‌گردد (۲۲). مجموعه این وضعیت سبب تقلیل معنی‌دار در میزان جذب‌کنندگی ریشه و در نهایت تقلیل جذب عناصر معدنی توسط گیاه می‌شود. با توجه به این نتایج حاصل به وضوح می‌توان ذکر کرد که محلول‌پاشی محرک‌های رشد به‌واسطه سنتز محرک‌های تنظیم‌کننده رشد در اطراف ریشه‌ها منجر به بهبود معنی‌دار رشد گیاه،

افزایش فتوسنتز و جذب مواد غذایی شده است (۳). مطابق با گزارش سایر مطالعات، محلول‌پاشی محرک‌های رشد از طریق فراهم نمودن متعادل اکثر عناصر غذایی، جلوگیری از آبشویی و بهبود حلالیت عناصر غذایی باعث تسریع و بهبود جذب فسفر توسط ریشه‌ها باعث توسعه سیستم ریشه‌ای و بهبود جذب آب و عناصر غذایی توسط گیاه شده باشد (۹، ۱۷، ۱۹، ۲۹).

پتاسیم

براساس نتایج حاصل، میزان پتاسیم گیاهان زنیان به طور معنی‌داری در شرایط آبیاری معمولی نسبت به شرایط تنش کم‌آبیاری متوسط و شدید بیشتر بود (جدول ۲). بیشترین میزان پتاسیم (۱/۶۵ درصد) در گیاهان محلول‌پاشی شده با ملاتونین در شرایط آبیاری معمولی مشاهده شد (جدول ۲). در حالی که، کمترین مقدار آن (۱/۱ درصد) در شرایط کم‌آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی و بدون استفاده از محرک‌های زیستی تعدیل کننده تنش به دست آمد (جدول ۲). متوسط میزان پتاسیم در سال اول ۱/۳۵ درصد بود در حالی که در سال دوم کشت ۱/۴۹ درصد بود (جدول ۳). در بین عناصر غذایی، پتاسیم در باز و بسته کردن دهانه روزنه‌ها و نیز تنظیم اسمزی در سلول‌های ریشه گیاهان نقش به‌سزایی دارد، قابلیت گیاهان در جذب این عنصر از محیط ریشه در شرایط نامساعد محیطی از جمله خشکی و شوری می‌تواند در میزان تولید گیاه مؤثر باشد (۳۱). محققان علت این کاهش را در ارتباط با کاهش آب خاک می‌دانند که منجر به کاهش جریان عناصر از خاک به گیاه می‌شود (۴). گزارش شده است که استفاده از محرک‌های رشد کیتوزان، هیومیک اسید نیز تأثیر معنی‌داری بر غلظت پتاسیم در گیاه دارویی آویشن داشته است (۲۲). محرک‌های رشد علاوه بر در دسترس قرار دادن نیتروژن و فسفر مورد نیاز گیاه، از طریق افزایش رشد رویشی گیاه و به دنبال آن توسعه ریشه باعث بهبود جذب و افزایش فراهمی پتاسیم و سایر عناصر ریزمغذی می‌شوند (۴، ۲۸، ۳۲). افزایش اسیدیته خاک و عدم تثبیت پتاسیم در حضور محرک‌های رشد می‌تواند از دلایل افزایش دسترسی این عنصر در خاک و به تبع آن جذب بیشتر آن توسط گیاه باشد (۱۹، ۳۲).

محتوای فنل کل

استفاده از تعدیل کننده‌های تنش ملاتونین، کیتوزان، اسید هیومیک و سلنیوم محتوای فنل کل را در مقایسه با گیاهان تیمار نشده در هر سه رژیم آبیاری به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش داد (جدول ۲). بیشترین محتوای فنل کل ۲۹/۵۵ میلی گرم بر گرم وزن خشک در گیاهان محلول‌پاشی شده با ملاتونین در شرایط تنش کم‌آبیاری شدید مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری از نظر آماری با تیمار کیتوزان در شرایط تنش کم‌آبیاری شدید نشان ندادند (جدول ۲). در حالی‌که، کمترین مقدار آن با ۱۶/۳۲ میلی گرم در گرم وزن خشک در شرایط ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و بدون استفاده از محرک‌های زیستی تعدیل کننده تنش به دست آمد (جدول ۲). میانگین محتوای فنل کل گیاهان زنیان در سال اول ۲۳/۳۸ میلی گرم در گرم وزن خشک و در سال دوم ۲۱/۹۸ میلی گرم در گرم وزن خشک بود (جدول ۳).

ترکیبات فنلی از طریق اهدای الکترون به رادیکال‌های آزاد واکنش‌های اکسیداسیون چربی را مهار می‌کنند (۲۲). افزایش تجمع ترکیبات ثانویه (فنل، فلاونوئیدها) در دانه زنیان در گیاهان محلول‌پاشی شده با محرک‌های تعدیل کننده تنش در این تحقیق مطابق با سایر مطالعات می‌تواند به خاطر افزایش دسترسی گیاه به عناصر غذایی مخصوصا کربن و نیتروژن شود که سبب افزایش تولید ترکیبات فنلی در شرایط تنش کم آبی می‌شود (۱، ۳، ۲۳، ۲۸). به‌طوری که تولید منابع مورد نیاز در جهت متابولیسم اولیه گیاهان رابطه تنگاتنگی با سنتز ترکیبات ثانویه در مسیرهای بیوشیمیایی دارد و ازدیاد رشد و نمو گیاهان همراه با بهبود کارآیی فتوسنتز عرضه متابولیت‌ها و سوبستراهای لازم برای مسیرهای متابولیسمی ثانویه را افزایش داده و در نهایت موجب سنتز بهینه ترکیبات مذکور می‌شود (۲۳).

جدول (۲) مقایسه میانگین صفات بیوشیمیایی و عملکرد گیاه زنیان در پاسخ به رژیم آبیاری و کاربرد تعدیل کننده تنش.

Table (2) Mean comparison of biochemical traits and yield of ajowan plants in response to irrigation conditions, application of stress modifier.

رژیم آبیاری Irrigation regime	تعدیل کننده تنش Stress modulators	نیتروژن N (%)	فسفر P (%)	پتاسیم K (%)	فنل کل Total phenol content (mg g^{-1})	فلاونوئید کل Total flavonoid content (mg g^{-1})	رادیکال DPPH (%) radical	نیتریک اکسید Inhibition of nitric oxide radical (%)	رادیکال سوپراکسید Superoxide radical (%)	عملکرد دانه Seed yield (kg ha^{-1})	درصد اسانس Essential oil (%)	عملکرد اسانس Essential oil yield (kg ha^{-1})
۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (FC100%)	ملاتونین (Melatoni)	3.09^{a}	0.40^{a}	1.65^{a}	20.75^{g}	2.41^{gh}	60.43^{g}	56.87^{e}	116.76^{f}	733.35^{a}	3.01^{f}	22.11^{a}
	کیتوزان (Chitosan)	3.06^{a}	0.39^{a}	1.62^{b}	19.79^{h}	2.36^{gh}	60.38^{g}	55.53^{f}	113.25^{g}	704.50^{b}	2.97^{g}	20.92^{b}
	هیومیک اسید (Humic acid)	2.96^{b}	0.37^{b}	1.58^{c}	18.85^{i}	2.18^{i}	55.61^{hi}	52.59^{h}	108.08^{hi}	694.41^{b}	2.85^{i}	19.79^{d}
	سلنیوم (Selenium)	2.83^{c}	0.36^{b}	1.56^{c}	18.18^{i}	2.10^{ij}	53.24^{ij}	52.30^{h}	105.97^{hi}	683.29^{c}	2.80^{k}	19.10^{e}
	شاهد (Control)	2.73^{d}	0.32^{e}	1.47^{e}	16.32^{j}	2.01^{j}	50.49^{j}	49.95^{i}	102.69^{j}	634.28^{f}	2.73^{l}	17.31^{fg}
۷۵ درصد ظرفیت زراعی (FC75%)	ملاتونین (Melatoni)	2.81^{c}	0.35^{c}	1.53^{d}	24.68^{d}	2.88^{c}	71.10^{de}	61.78^{c}	127.86^{c}	662.95^{d}	3.30^{a}	21.88^{a}
	کیتوزان (Chitosan)	2.79^{c}	0.33^{d}	1.51^{d}	23.55^{e}	2.71^{d}	69.07^{e}	61.37^{c}	127.26^{c}	652.18^{e}	3.24^{b}	21.16^{b}
	هیومیک اسید (Humic acid)	2.72^{d}	0.29^{f}	1.45^{e}	22.53^{f}	2.55^{ef}	64.34^{f}	59.64^{d}	121.90^{de}	629.56^{f}	3.21^{c}	20.22^{c}
	سلنیوم (Selenium)	2.59^{f}	0.28^{fg}	1.41^{f}	21.27^{g}	2.47^{fg}	63.67^{f}	59.16^{d}	120.01^{e}	625.29^{f}	3.10^{d}	19.43^{de}
	شاهد (Control)	2.47^{h}	0.25^{h}	1.28^{h}	19.71^{h}	2.31^{h}	57.14^{h}	54.30^{g}	110.02^{h}	580.83^{g}	3.03^{f}	17.62^{f}
۵۰ درصد ظرفیت زراعی (FC50%)	ملاتونین (Melatoni)	2.65^{e}	0.28^{g}	1.35^{g}	29.55^{a}	3.33^{a}	78.85^{a}	67.88^{a}	138.47^{a}	559.02^{h}	3.07^{de}	17.20^{fg}
	کیتوزان (Chitosan)	2.53^{g}	0.27^{g}	1.33^{g}	29.13^{a}	3.27^{a}	76.86^{ab}	67.10^{a}	136.27^{ab}	552.62^{h}	3.06^{e}	16.95^{g}
	هیومیک اسید (Humic acid)	2.39^{i}	0.24^{i}	1.26^{h}	26.84^{b}	3.10^{b}	74.55^{bc}	65.05^{b}	135.17^{b}	521.73^{i}	2.91^{h}	15.20^{h}
	سلنیوم (Selenium)	2.38^{i}	0.23^{i}	1.23^{i}	25.61^{c}	2.93^{c}	73.15^{cd}	62.13^{c}	128.85^{c}	519.35^{i}	2.86^{i}	14.85^{h}
	شاهد (Control)	2.27^{j}	0.21^{j}	1.1^{j}	23.44^{e}	2.63^{de}	68.01^{e}	60.06^{d}	123.70^{d}	481.61^{j}	2.82^{jk}	13.60^{i}

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Means with at least one common letter do not differ significantly at the 5% probability level.

جدول (۳) مقایسه میانگین اثر سال بر صفات بیوشیمیایی و عملکرد گیاه زنیان.

Table (3) Mean comparison of effect of year on biochemical traits and yield of ajowan plants.

عملکرد اسانس Essential oil yield (kg ha^{-1})	عملکرد دانه Seed yield (kg ha^{-1})	رادیکال سوپراکسید Superoxide radical (%)	نیتریک اکسید Inhibition of nitric oxide radical (%)	رادیکال DPPH DPPH (%) radical	فلاونوئید Flavonoid content (mg g^{-1})	فنل Phenol content (mg g^{-1})	پتاسیم K (%)	فسفر P (%)	نیتروژن N (%)	سال year
18.08b	601.57b	125.12a	61.59a	66.70a	2.71a	23.38a	1.35b	0.29b	2.57b	سال اول first year
18.90a	630.02a	116.91b	56.50b	63.55b	2.52b	21.98b	1.49a	0.31a	2.80a	سال دوم second year

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Means with at least one common letter do not differ significantly at the 5% probability level.

محتوای فلاونوئید کل

براساس نتایج حاصل، بیشترین محتوای فلاونوئید کل ۳/۳۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک در گیاهان محلول‌پاشی شده با ملاتونین در شرایط تنش کم‌آبیاری شدید مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری از نظر آماری با کیتوزان در شرایط تنش کم‌آبیاری شدید نشان ندادند (جدول ۲). در حالی که، کمترین مقدار آن با ۲/۰۱ میلی‌گرم در گرم بر گرم وزن خشک در شرایط ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و بدون استفاده از محرک‌های زیستی تعدیل کننده تنش به دست آمد (جدول ۲). میانگین محتوای فلاونوئید کل گیاه زنیان در سال اول ۲/۷۱ میلی‌گرم در گرم وزن خشک و در سال دوم ۲/۵۲ میلی‌گرم در گرم وزن خشک بود (جدول ۳). فلاونوئیدها ترکیبات زیستی فعال مهمی هستند که توانایی تعدیل تشکیل و پاکسازی رادیکال‌های آزاد را دارند. این ترکیبات در گیاهان به وسیله جاروب کردن رادیکال‌های آزاد و یا سازوکارهایی مانند خاموش کردن اکسیژن منفرد از اکسیداسیون لیپید ممانعت می‌کند (۱). همچنین به خوبی بررسی گردیده است که غلظت بالای فلاونوئیدها و فنل می‌تواند به وسیله نقش محرک‌های زیستی در بیوسنتز توضیح داده شود که موجب ایجاد مسیر شیکمیک استات می‌شود و تولید ترکیبات فلاونوئیدها و فنل را بهبود می‌بخشد (۲۱، ۲۳، ۳۴). از سوی دیگر، رضوی زاده و همکاران[5] (۲۰۲۲) بیان کردند که افزایش ترکیبات فنلی با افزایش میزان کربوهیدرات‌ها در گیاه ارتباط مستقیم دارد از آنجا که هیدرات‌های کربن اسکلت مورد نیاز برای ساخت ترکیبات فنلی شناخته شده‌اند لذا افزایش در مقدار آنها به عنوان افزایش سوبسترا برای ترکیبات فنلی می‌باشد که این امر ممکن است به اختصاص یافتن بیشتر کربن به مسیر شیکمیک اسید مربوط باشد (۲۳). بنابراین تحمل گیاه را در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی افزایش می‌دهد.

درصد مهار رادیکال DPPH

طبق نتایج حاصل، بیشترین درصد مهار رادیکال DPPH ۷۸/۸۵ درصد بود (جدول ۲)، که در گیاهان تیمار شده با ملاتونین در شرایط تنش کم‌آبیاری شدید به دست آمد (جدول ۲). در حالی که، کمترین میزان آن (۵۰/۴۹ درصد) از گیاهان شاهد در شرایط آبیاری معمولی به دست آمد (جدول ۲). میانگین درصد مهار رادیکال DPPH در سال اول کشت ۶۶/۷۰ درصد بود در حالی که در سال دوم ۶۳/۵۵ درصد به‌دست آمد (جدول ۳). علاوه بر این، رحیمی و همکاران[6] (۲۰۲۲) بیان کردند که این کاهش در مهار رادیکال DPPH با محتوای فنل و فلاونوئید ارتباط مثبت دارد. این همبستگی مثبت قوی بین فنل و فلاونوئید و رادیکال DPPH نیز در آویشن مشاهده شده است، که نشان می‌دهد که کاهش در مهار رادیکال DPPH ارتباطی با مقدار زیادی از ترکیبات فنل و فلاونوئید می‌تواند داشته باشد (۲۲). ترکیبات فنلی متابولیت‌های طبیعی ثانویه می‌باشند که به عنوان جاروب کننده در برابر رادیکال‌های آزاد و گونه‌های ROS نقش ایفا می‌کنند و از اسکلت‌های سیتوپلاسمی و کلروپلاستیک تحت شرایط تنش کم آب حفاظت می‌کنند و از اسیدهای چرب و اکسیداسیون پروتئین غشای سلولی در برابر فعالیت لیپوکسیژناز حفاظت می‌کنند (۲۳). براساس سایر مطالعات، استفاده از محرک‌های رشد ملاتونین، کیتوزان، اسید هیومیک و سلنیوم نسبت فتوسنتز، فعالیت آنزیمی را که در محافظت از نشاسته نقش دارد و بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه را افزایش می‌دهد که برای بهبود استقامت گیاه در شرایط تنش‌زای زنده و غیرزنده کمک می‌کند (۱، ۳۰،۳۱).

درصد مهار رادیکال نیتریک اکسید

استفاده از تعدیل کننده‌های تنش، درصد مهار رادیکال نیتریک اکسید را در مقایسه با گیاهان محلول‌پاشی نشده در هر سه رژیم آبیاری به‌طور قابل

5- Razavizadeh *et al.*

6-- Rahimi *et al.*

ملاحظه‌ای افزایش داد (جدول ۲). بیشترین درصد مهار رادیکال نیتریک اکسید با ۶۷/۸۸ درصد در گیاهان محلول‌پاشی شده با ملاتونین در شرایط تنش کم‌آبیاری شدید به‌دست آمد که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با تیمار کیتوزان در شرایط تنش کم‌آبیاری شدید نداشتند (جدول ۲). در حالی که، کمترین میزان آن با ۴۹/۹۵ درصد در شرایط ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و بدون استفاده از محرک‌های زیستی تعدیل کننده تنش مشاهده شد (جدول ۲). میانگین درصد مهار رادیکال نیتریک اکسید گیاهان زنیان در سال اول ۶۱/۵۹ درصد و در سال دوم ۵۰ /۵۶ درصد بدست آمد (جدول ۳). نتایج تحقیقات نشان داده است که جمع‌کننده‌های رادیکال نیتریک اکسید با اکسیژن هدایت کننده رقابت می‌کنند تا تولید نیتریت اکسید را تحت شرایط کم آبی کاهش دهند (۲۹، ۲۲). این نیتریک اکسید از سدیم نیتروپروسید حاصل شد که با اکسیژن جهت تشکیل نیتریت واکنش می‌دهد. رقابت جمع‌کننده‌های نیتریک اکسید با اکسیژن منجر به محصولات احیایی نیتریک اکسید در گیاهان محلول‌پاشی شده با محرک‌های زیستی ملاتونین، کیتوزان، اسید هیومیک و سلنیوم می‌شود (۱، ۲۸، ۳۰، ۳۱).

ظرفیت جمع‌آوری رادیکال سوپراکسید

طبق نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین ظرفیت جمع‌آوری رادیکال سوپراکسید با ۱۳۸/۴۷ درصد در گیاهان محلول‌پاشی شده با ملاتونین در شرایط تنش کم‌آبیاری شدید مشاهده شد (جدول ۲). در حالی که، کمترین میزان آن با ۱۰۲/۶۹ درصد در شرایط ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و بدون استفاده از محرک‌های زیستی تعدیل کننده تنش مشاهده شد (جدول ۲). میانگین ظرفیت جمع‌آوری رادیکال سوپراکسید گیاه زنیان در سال اول با ۱۲۵/۱۲ درصد و در سال دوم با ۱۱۶/۹۱ درصد به‌دست آمد (جدول ۳). رادیکال سوپراکسید، عامل اکسیدکننده نیرومندی است که می‌تواند با غشاءهای بیولوژیکی واکنش داده و آسیب بافتی را القاء کند. همچنین می‌تواند به اکسیژن منفرد، رادیکال هیدروکسیل و هیدروژن پراکسید تجزیه شود (۱۵). ترکیبات حاوی آنتی‌اکسیدان‌ها توانایی جمع‌آوری این رادیکال‌ها را از خود تحت شرایط تنش کم آبی نشان می‌دهند. استفاده از تعدیل کننده‌های تنش برای کاهش تأثیر رادیکال‌های آزاد و افزایش تولید ترکیبات فنلی نشان داده است که در شرایط کمبود رطوبت سودآوری مطلوبی دارد (۱). براساس سایر مطالعات، چنین تأثیری ممکن است با عملکرد ملاتونین و کیتوزان در بهبود آنتی‌اکسیدان‌های فعال در مقابل گونه‌های ROS مرتبط باشد (۱، ۳۰).

عملکرد دانه

عملکرد دانه گیاه زنیان به طور معنی‌داری در شرایط آبیاری معمولی نسبت به شرایط کم‌آبیاری متوسط و شدید بیشتر بود (جدول ۲). بیشترین عملکرد دانه زنیان (۷۳۳/۳۵ کیلوگرم در هکتار) در گیاهان محلول‌پاشی شده با ملاتونین در شرایط آبیاری معمولی مشاهده شد (جدول ۲). در حالی که، کمترین مقدار آن (۴۸۱/۶۱ کیلوگرم در هکتار) در شرایط کم‌آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی و بدون استفاده از محرک‌های زیستی تعدیل کننده تنش به دست آمد (جدول ۲). متوسط عملکرد دانه در سال اول ۶۰۱/۵۷ کیلوگرم در هکتار بود در حالی که در سال دوم ۶۳۰/۰۲ کیلوگرم در هکتار حاصل شد (جدول ۳). دوره و شدت شرایط تنش آبی بستگی به نحوه واکنش گیاهان زراعی به تنش کم آبی دارد (۱۳). در این مطالعه، عملکرد دانه گیاه زنیان در شرایط تنش کم آبی کاهش یافت که می‌تواند به دلیل کاهش جذب کربن فتوسنتزی (ضروری‌ترین عملیات تعیین کننده عملکرد محصول)، منجر به سرکوب ظاهر و رشد برگ، ریزش القایی برگ، بسته شدن روزنه‌ای برگ‌ها و کاهش تثبیت عملکرد کربن باشد (۱۵، ۲۴). اما محلول پاشی تعدیل‌کننده‌های تنش ملاتونین، کیتوزان، اسید هیومیک و سلنیوم توانایی کاهش اثرات مخرب تنش‌های مختلف را دارند. در مطالعه ما،

تعدیل‌کننده‌های تنش به‌عنوان یک ترکیبات جمع‌کننده قوی برای تنظیم واکنش گیاهان به کمبود رطوبت، که در مدیریت بیولوژیکی نقش دارند، استفاده شد. گزارش کردند که محلول پاشی تعدیل‌کننده‌های تنش کیتوزان و اسید هیومیک مستقیماً رنگدانه‌های فتوسنتزی را افزایش داده، کارایی فتوسنتز را بهبود می‌بخشد، غلظت و فعالیت RuBisCo را افزایش می‌دهد و تولید ATP و NADPH را برای افزایش عملکرد گیاه ارتقا می‌دهد (۱). این بهبود به نقش ملاتونین، کیتوزان، اسید هیومیک و سلنیوم در تثبیت دی‌اکسید کربن نسبت داده شد که به طور مثبت بر جذب کربن و متعاقب آن بهبود عملکرد دانه تاثیر می‌گذارد (۱، ۲۵، ۳۴). در واقع، مطالعات قبلی نشان داده‌اند که چنین محرک‌های تعدیل‌کننده‌های تنش باعث گسترش سطح برگ و بهینه‌سازی برداشت نور و استفاده در فتوسنتز می‌شوند (۱، ۱۱، ۳۱). همچنین با فعال کردن سنتز هورمون‌های گیاهی، افزایش ظرفیت نگهداری آب، تبادل گاز، انتقال مواد معدنی و جذب عناصر غذایی به ویژه فسفر بر متابولیسم گیاه تأثیر می‌گذارند که همین امر منجر به بهبود عملکرد دانه می‌شود (۱، ۱۱، ۳۱).

درصد اسانس

بر اساس یافته‌های این مطالعه، درصد اسانس گیاهان زنیان در شرایط تنش کم‌آبیاری بیشتر از کشت گیاهان در شرایط آبیاری معمولی بود (جدول ۲). به طوری که، بیشترین درصد اسانس با ۳/۳۰ درصد در گیاهان محلول‌پاشی شده با ملاتونین تحت تنش کم‌آبیاری متوسط (۷۵ درصد ظرفیت زراعی) مشاهده شد (جدول ۲). کمترین میزان آن با ۲/۷۳ درصد در گیاهان شاهد بدون استفاده از محرک‌های زیستی تعدیل کننده تنش در شرایط آبیاری معمولی بود (جدول ۲). این بررسی نشان داد که بالاترین درصد اسانس از دانه‌های زنیان در شرایط تنش کم‌آبیاری متوسط تولید شد که آنها را به نتایج ارزشمندی برای کاربردهای صنعتی تبدیل می‌کند. شرایط تنش کم آبی روند سنتز اسانس را سرعت می‌بخشد، همان‌طور که با افزایش درصد اسانس زنیان در شرایط تنش کم آبی مشهود است، که با عملکرد متابولیت‌های ثانویه به عنوان اجزای مقاوم در برابر تنش اکولوژیکی مرتبط می‌باشد (۲۱). علاوه بر این، در تنش کم‌آبی، نسبت $NADP^+$ (به عنوان گیرنده‌های الکترون)/ $NADPH^+ H^+$ کاهش یافت که به‌طور نامطلوبی بر پاسخ‌های چرخه فتوسنتزی و تولید گیاهان تأثیر گذاشت (۲۳). بنابراین، سلول‌های مولد اسانس محتوای و اجزای اسانس را از طریق افزایش استفاده از $NADPH^+ H^+$ و کاهش پیامدهای نامطلوب تنش مرتبط با کمبود آب افزایش دادند (۱). در نتیجه، محلول‌پاشی ملاتونین، کیتوزان، اسید هیومیک و سلنیوم احتمالاً با فعال‌سازی مجدد مسیرهای بیوسنتزی و بیولوژیکی مختلف و ژن‌هایی که تولید متابولیت‌های ثانویه را تنظیم می‌کنند و همچنین افزایش غدد سازنده اسانس در بذر، نقشی موثری در به حداکثر رساندن چنین تأثیری تحت محدودیت آب در برگ‌های گیاهان ایفا کرده است (۲۱). از آنجایی که برگ‌ها یک اندام فیزیولوژیکی مهم هستند، محلول‌پاشی محرک‌های رشد ممکن است روش‌های کارآمد متعددی را برای تأثیر بر متابولیسم و انتقال مواد معدنی و جذب عناصر غذایی به ویژه فسفر روی میزان اسانس گیاهان ارائه دهند (۱، ۳، ۳۴). نکته‌ای که باید در اینجا به آن اشاره کرد این است که همیشه همراه با افزایش شدت تنش، میزان اسانس افزایش نمی‌یابد، زیرا در تنش‌های شدیدتر، گیاه بیشتر مواد فتوسنتزی خود را صرف تولید ترکیب‌های تنظیم کننده اسمزی از جمله پرولین، گلسین-بتائین و ترکیب‌های قندی مانند ساکاروز، فروکتوز و فروکتان‌ها می‌کند تا شرایط لازم برای ادامه حیات آن فراهم شود (۳۰).

عملکرد اسانس

طبق نتایج حاصل، بیشترین عملکرد اسانس (۲۲/۱۱ کیلوگرم در هکتار) از گیاهان زنیان محلول‌پاشی شده با ملاتونین تحت آبیاری معمولی به‌دست آمد که تفاوت

قابل ملاحظه‌ای با ملاتونین در شرایط تنش کم‌آبیاری متوسط نشان ندادند (جدول ۲). در حالی که کمترین آن (۱۳/۶۰ کیلوگرم در هکتار) در گیاهان شاهد در شرایط کم‌آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی به دست آمد (جدول ۲). میانگین عملکرد اسانس در سال اول ۱۸/۰۸ کیلوگرم در هکتار بود در حالی که در سال دوم ۱۸/۹۰ کیلوگرم در هکتار حاصل شد (جدول ۳). کاهش عملکرد اسانس در اثر کاهش رطوبت خاک ممکن است ناشی از اثر زیان آور تنش خشکی بر رشد و عملکرد گیاه باشد. اثرات نامناسب تنش خشکی در کاهش عملکرد اسانس گیاهان مختلف توسط سایر پژوهشگران گزارش شده است (۲۱، ۱). محلول‌پاشی محرک‌های زیستی از نظر عناصر ماکرو و میکرو، ویتامین‌ها، اسیدهای آمینه و تنظیم‌کننده‌های رشد از جمله سیتوکینین، نقش مهمی در ارتقاء رشد گیاه و درصد و همچنین عملکرد اسانس دارد (۲۸). افزایش عملکرد اسانس تولید شده توسط محرک‌های رشد تعدیل کننده تنش نیز احتمالاً به بهبود جذب دی‌اکسید کربن نسبت داده می‌شود (۳، ۲۱، ۲۳). در واقع، اثرات آنزیم‌ها و پپتیدهای مرتبط با تشکیل متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی و معطر در پاسخ به تیمارهای محرک‌های رشد نسبت داده می‌شود (۱، ۳۴). این نتایج با سایر مطالعات که نقش محرک‌های رشد را در افزایش تولید ترکیبات متابولیت‌های ثانویه در طول تنش نشان می‌دهند، که در نهایت درصد اسانس و عملکرد اسانس دانه را بهبود می‌بخشد، مطابقت دارد (۱، ۱۱، ۳۱).

نتیجه‌گیری

ویژگی‌های کمی و کیفی گیاه زنیان تحت سطوح مختلف آبیاری و مصرف تعدیل‌کننده تنش مورد ارزیابی قرار گرفت و مشخص شد که استفاده از ملاتونین و کیتوزان در افزایش عملکرد دانه و عملکرد اسانس گیاه زنیان موفقیت‌آمیزتر از هیومیک اسید و سلنیوم بود. محلول‌پاشی ملاتونین در کاهش اثرات نامطلوب تنش کمبود آب از طریق بهبود عملکرد گیاهان، جذب عناصر غذایی نیتروژن، فسفر و پتاسیم، بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی موثر بود. به‌طور مشابه، محلول‌پاشی با ملاتونین و کیتوزان به طور قابل‌توجهی به مقاومت گیاه زنیان در برابر کمبود آب از طریق بهبود درصد مهار رادیکال DPPH، درصد مهار رادیکال نیتریک اسید و ظرفیت جمع‌آوری رادیکال سوپراکسید کمک کردند. به طور کلی، در میان تیمارهای محرک‌های رشد تعدیل‌کننده تنش آزمایش‌شده، ملاتونین و کیتوزان به‌عنوان محرک زیستی مفید برای بهبود رشد و نمو، ویژگی‌های بیوشیمیایی و اسانس گیاه زنیان در جهت کاهش اثرات مخرب تنش آب به عنوان یک شاخص پایدار برای عملکرد زنیان در راستایی کشاورزی پایدار قابل توصیه می‌باشد.

References

1. Abdali, R., Rahimi, A., Siavash Moghaddam, S., Heydarzadeh, S., Arena, C., Vitale, E., and Zamanian, M. 2023. The Role of Stress Modifier Biostimulants on Adaptive Strategy of Oregano Plant for Increasing Productivity under Water Shortage. Plants, 12(24): p.e4117. https://doi.org/10.3390/plants12244117.

2. Amirnia, R., Ghiyasi, M., Siavash Moghaddam, S., Rahimi, A., Damalas, C.A., and Heydarzadeh, S. 2019. Nitrogen-fixing soil bacteria plus mycorrhizal fungi improve seed yield and quality traits of lentil (*Lens culinaris* Medik). Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 19: 592-602. https://doi.org/ 10.1007/s42729-019-00058-3.

3. Asghari, J., Mahdavikia, H., Rezaei-Chiyaneh, E., Banaei-Asl, F., Amani Machiani, M., and Harrison, M.T. 2023. Selenium nanoparticles improve physiological and phytochemical properties of basil (*Ocimum basilicum* L.) under drought stress conditions. Land, 12(1): p.164. https://doi.org/10.3390/land12010164.

4. Bistgani, Z.E., Hashemi, M., Akbari, P., and Mumivand, H. 2023. Influence of drought stress and foliar application of chitosan on nutrient accumulation and phenolic composition of *Thymus daenensis* Celak. Crop Science, 63(2): 921-935. https://doi.org/ 10.1002/csc2.20901.

5. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., and Berset, C.L.W.T. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food science and Technology, 28(1): 25-30. https://doi.org/ 10.1016/S0023-6438(95)80008-5.

6. Bulgari, R., Franzoni, G., and Ferrante, A. 2019. Biostimulants application in horticultural crops under abiotic stress conditions. Agronomy, 9(6): p.e306. https://doi.org/ 10.3390/agronomy9060306.

7. Clevenger, J.F. 1928. Apparatus for the determination of volatile oil. Journal of the American Pharmacists Association, 17(4): 345-349. https://doi.org/ 10.1002/jps.3080170407.

8. Das, D., Bisht, K., Chauhan, A., Gautam, S., Jaiswal, J.P., Salvi, P., and Lohani, P. 2023. Morpho-physiological and Biochemical responses in wheat foliar sprayed with zinc-chitosan-salicylic acid nanoparticles during drought stress. Plant Nano Biology, 4: p.100034. https://doi.org/ 10.1016/j.plana.2023.100034.

9. Fang, J., Peng, Y., Zheng, L., He, C., Peng, S., Huang, Y., Wang, L., Liu, H., and Feng, G. 2023. Chitosan–Se Engineered Nanomaterial Mitigates Salt Stress in Plants by Scavenging Reactive Oxygen Species. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 72(1): 176-188. https://doi.org/ 10.1021/acs.jafc.3c06185.

10. Faridvand, S., Rezaei-Chiyaneh, E., Battaglia, M.L., Gitari, H.I., Raza, M.A., and Siddique, K.H. 2022. Application of bio and chemical fertilizers improves yield, and essential oil quantity and quality of Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) intercropped with mung bean (*Vigna radiata* L.). Food and Energy Security, 11(2): p.e319. https://doi.org/ 10.1002/fes3.319.

11. Farouk, S., and Al-Amri, S.M. 2019. Ameliorative roles of melatonin and/or zeolite on chromium-induced leaf senescence in marjoram plants by activating antioxidant defense, osmolyte accumulation, and ultrastructural modification. Industrial Crops and Products, 142: p.e111823. https://doi.org/ 10.1016/j.indcrop.2019.111823.

12. Gohari, G., Farhadi, H., Panahirad, S., Zareei, E., Labib, P., Jafari, H., Mahdavinia, G., Hassanpouraghdam, M.B., Ioannou, A., Kulak, M., and Fotopoulos, V. 2023. Mitigation of salinity impact in spearmint plants through the application of engineered chitosan-melatonin nanoparticles. International Journal of Biological Macromolecules, 224: 893-907. https://doi.org/ 10.1016/j.ijbiomac.2022.10.175.

13. Heydarzadeh, S., Arena, C., Vitale, E., Rahimi, A., Mirzapour, M., Nasar, J., Kisaka, O., Sow, S., Ranjan, S., and Gitari, H. 2023. Impact of different fertilizer sources under supplemental irrigation and rainfed conditions on eco-physiological responses and yield characteristics of dragon's head (*Lallemantia iberica*). Plants, 12(8): p.e1693. https://doi.org/ 10.3390/plants12081693.

14. Heydarzadeh, S., Jalilian, J., Pirzad, A., Jamei, R., and Petrussa, E. 2022. Fodder value and physiological aspects of rainfed smooth vetch affected by biofertilizers and supplementary irrigation in an agri-silviculture system. Agroforestry Systems, 97: 221-232. https://doi.org/10.1007/s10457-021-00695-7.

15. Jafari, M., and Shahsavar, A. 2021. The effect of foliar application of melatonin on changes in secondary metabolite contents in two citrus species under drought stress conditions. Frontiers in Plant Science, 12: p.e692735. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.692735.

16. Jing, T.Y., and Zhao, X.Y. 1995. The improved pyrogallol method by using terminating agent for superoxide dismutase measurement. Progress in Biochemistry and Biophysics, 22(1), 84-86.

17. Labulo, A.H., David, O.A., Terna, A.D., Omotosho, T.P., Tanko, N.S., Hassan, I., Oluwole, B.R., and Odebode, A. 2024. Modulation of physiological and biochemical activities of *Eugenia uniflora* by green-synthesized silver nanoparticle and melatonin under drought stress. Plant Biotechnology Reports, 18: 289–299. https://doi.org/10.1007/s11816-024-00887-4.

18. Liu, H., Xiao, C., Qiu, T., Deng, J., Cheng, H., Cong, X., Cheng, S., Rao, S., and Zhang, Y. 2022. Selenium regulates antioxidant, photosynthesis, and cell permeability in plants under various abiotic stresses: a review. Plants, 12(1): p.e44. https://doi.org/10.3390/plants12010044.

19. Mazrou, R.M., Hassan, F.A., Mansour, M.M.F., and Moussa, M.M. 2023. Melatonin enhanced drought stress tolerance and productivity of *pelargonium graveolens* L.(Herit) by regulating physiological and biochemical responses. Horticulturae, 9(11): p.e1222. https://doi.org/10.3390/plants12010044.

20. Mustafa, G., Shehzad, M.A., Tahir, M.H.N., Nawaz, F., Akhtar, G., Bashir, M.A., and Ghaffar, A. 2022. Pretreatment with chitosan arbitrates physiological processes and antioxidant defense system to increase drought tolerance in alfalfa (*Medicago sativa* L.). Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 22(2): 2169-2186. https://doi.org/10.1007/s42729-022-00801-3.

21. Naghizadeh, M., Reiter, R.J., Kabiri, R., and Moradi, R. 2024. Melatonin improves antioxidant defense mechanism of basil under drought stress. Horticulture, Environment, and Biotechnology, 65: 83–94. https://doi.org/10.1007/s13580-022-00507-6.

22. Rahimi, A., Mohammadi, M.M., Siavash Moghaddam, S., Heydarzadeh, S., and Gitari, H. 2022. Effects of stress modifier biostimulants on vegetative growth, nutrients, and antioxidants contents of garden thyme (*Thymus vulgaris* L.) under water deficit conditions. Journal of Plant Growth Regulation, 41(5): 2059-2072. https://doi.org/10.1007/s00344-022-10604-6.

23. Razavizadeh, R., Mosayebi, Z., and Forghani, A.H. 2022. The role of chitosan in improvisation the drought stress in *Carum copticum* through biochemical and essential oil components. Russian Journal of Plant Physiology, 69(7): p.e156. https://doi.org/10.1134/S1021443722100223.

24. Rezaei-Chiyaneh, E., Mahdavikia, H., Subramanian, S., Alipour, H., Siddique, K.H., and Smith, D.L. 2021. Co-inoculation of phosphate-solubilizing bacteria and mycorrhizal fungi: Effect on seed yield, physiological variables, and fixed oil and essential oil productivity of ajowan (*Carum copticum* L.) under water deficit. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 21: 3159-3179. https://doi.org/10.1007/s42729-021-00596-9.

25. Sattar, A., Sher, A., Ijaz, M., Ul-Allah, S., Hussain, S., Rasheed, U., Hussain, J., Al-Qahtani, S.M., Al-Harbi, N.A., Mahmoud, S.F., and Ibrahim, M.F. 2023. Modulation of antioxidant defense mechanisms and morpho-physiological attributes of wheat through exogenous application of silicon and melatonin under water deficit conditions. Sustainability, 15(9): p.e7426. https://doi.org/2071-1050/15/9/7426.

26. Shin, Y., Liu, R.H., Nock, J.F., Holliday, D., and Watkins, C.B. 2007. Temperature and relative humidity effects on quality, total ascorbic acid, phenolics and flavonoid concentrations, and antioxidant activity of strawberry. Postharvest Biology and Technology, 45(3): 349-357. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.03.007.

27. Soliman, M.H., Alnusairi, G.S., Khan, A.A., Alnusaire, T.S., Fakhr, M.A., Abdulmajeed, A.M., Aldesuquy, H.S., Yahya, M., and Najeeb, U. 2023. Biochar and selenium nanoparticles induce water transporter genes

for sustaining carbon assimilation and grain production in salt-stressed wheat. Journal of Plant Growth Regulation, 42(3): 1522-1543. https://doi.org/10.1007/s00344-022-10636-y.

28. Soltani, R., Pazoki, A., and Monem, R. 2024. Co-application of chitosan and ascorbic acid alleviated drought stress in common chicory (*Cichorium Intybus* L.) by improving physiological and biochemical changes. Journal of Plant Growth Regulation, 43:1184–1194. https://doi.org/ 10.1007/s00344-023-11176-9.

29. Tadele, K.T., and Zerssa, G.W. 2023. Biostimulants and phytohormones improve productivity and quality of medicinal plants under abiotic stress. In *Medicinal Plants: Their Response to Abiotic Stress* (pp. 335-362). Singapore: Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-19-5611-9_13.

30. Ullah, M.A., Gul, F.Z., Zaman, G., Iqbal, J., Drouet, S., Tungmunnithum, D., Hano, C., and Abbasi, B.H. 2023. The influence of exogenous melatonin and chitosan on secondary metabolites' production and biological activities of tissue extracts in agitated micro-shoot cultures of *Ajuga integrifolia* Buch. Ham. ex D. Don. Acta Physiologiae Plantarum, 45(9): p.e106. https://doi.org/10.1007/s11738-023-03586-9.

31. Yadav, S., Sharma, S., Sharma, K.D., Dhansu, P., Devi, S., Preet, K., Ahlawat, P., Kamboj, P., Rani, P., Rani, B., and Kaushik, P. 2023. Selenium mediated alterations in physiology of wheat under different soil moisture levels. Sustainability, 15(3): p.e1771. https://doi.org/2071-1050/15/3/1771.

32. Zafar, F., Noreen, Z., Shah, A.A., and Usman, S. 2024. Co-application of humic acid, potassium dihydrogen phosphate, and melatonin to ameliorate the effects of drought stress on barley (*Hordeum vulgare* L.). Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 24(1): 618-634. https://doi.org/10.1007/s42729-023-01570-3.

33. Ziaee, M., Sheikhzadeh Takabi, A., and Ebadollahi, A. 2023. Fabrication of *Carum copticum* essential oil–loaded chitosan nanoparticles and evaluation its insecticidal activity for controlling *Rhyzopertha dominica* and *Tribolium confusum*. Frontiers in Plant Science, 14: p.e1187616. https://doi.org/ 10.3389/fpls.2023.1187616.

34. Zohra, E., Ikram, M., Omar, A.A., Hussain, M., Satti, S.H., Raja, N.I., Mashwani, Z.U.R., and Ehsan, M. 2021. Potential applications of biogenic selenium nanoparticles in alleviating biotic and abiotic stresses in plants: A comprehensive insight on the mechanistic approach and future perspectives. Green Processing and Synthesis,10(1): 456-475. https://doi.org/10.1515/gps-2021-0047.

35. Zandian, F., Farnia, A., Sheikholeslami, M., and Rezaizad, A. 2022. Investigating the use of chitosan on yield and some quality characteristics of tomatoes. Agricultural Engineering, 45(3): 283-298. https://doi.org/20.1001.1.2588526.1401.45.3.4.2.