The Effect of Drought Stress, Growth Regulator and Spraying by Zinc and Magnesium Nanoparticles on Morphological and Biochemical Traits on Periwinkle Herb *(Catharanthus roseus* (L.) *G.DON)*

Babak Sepehri[1] | Hamid Reza tohidi Moghadam[2]✉ | Farshad Ghooshchi[3] | Meysam Oveysi[4] | Pourang Kasraie [5]

1. Department of Agronomy, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran. E-mail: sepehri@iauvaramin.ac.ir
2. Corresponding Author, Department of Agronomy, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran. E-mail: tohidi@iauvaramin.ac.ir
3. Department of Agronomy, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran. E-mail: ghooshchi@iauvaramin.ac.ir
4. Department of Agronomy, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran. E-mail: oveysi@iauvaramin.ac.ir
5. Department of Agronomy, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran. E-mail: kasraie@iauvaramin.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received 12 October 2022
Received in revised form 11 March 2023
Accepted 4 April 2023
Published online

Keywords:
Drought stress
Growth regulators
Magnesium
Periwinkle
Zinc

Abstract

Objective: Periwinkle herb with the scientific name *(Catharanthus roseus* (L.) *G.DON)* is one of the most important medicinal plants in the world, which besides having beautiful leaves and flowers and ornamental use, has very important alkaloids in its leaves and roots. It is used in the chemotherapy of various cancers and the treatment of hypotension.

Methods: In order to investigate the effect of growth regulator and spraying by zinc and magnesium nanoparticles under the conditions of drought stresses on total alkaloids, anthocyanin, total chlorophyll, the weight of wet and dry branches contain alkaloids, and the number of lateral branches periwinkle herb an experiment was arranged as factorial layout based on a completely randomized design in greenhouse condition during years 2020 and 2021 in Tehran, Iran.

Results: The results showed that the in study of the effects of drought stress and spraying of zinc and magnesium nanoparticles on all investigated traits (total alkaloid, anthocyanin, total chlorophyll, fresh and dry weight of alkaloid-containing branches, and the number of lateral branches), there was a statistically significant difference at the level of 1% ($P \leq 0.01$). Also, in the investigation of the effects of growth regulators, apart from total alkaloid, on other investigated traits, a statistically significant difference was established at the level of 1% ($P \leq 0.01$). In the investigation of the mutual effects of drought stress and growth regulators on the fresh weight of alkaloids-containing branches, a statistically significant difference was established at the level of 1% ($P \leq 0.01$). However, in other cases, no statistically significant effect was observed on the target traits.

Conclusion: Drought stress revealed defense mechanisms such as anthocyanin pigments and secondary compounds, and total alkaloids also increased with increasing drought stress. The use of micronutrient fertilizers in nano form increased the accumulation of dry matter and secondary compounds, and the effect of magnesium was greater than the effect of zinc. In the application of hormones, the use of gibberellin hormone had a greater effect on the fresh and dry weight of shoots under optimal irrigation conditions and drought stress.

Cite this article: Sepehri, B., Tohidi moghadam H. R., Ghooshchi, F., Oveysi, M., & Kasraei, P. (2022).T**he effect of drought stress, growth regulator and spraying by zinc and magnesium nanoparticles on morphological and biochemical traits on periwinkle herb *(Catharanthus roseus* (L.) *G.DON).*** *Journal Title*, DOI: http//doi.org/000000000000000000

© The Author(s).
Publisher: University of Tehran Press.
DOI: http//doi.org/00000000000000000000

بررسی اثر تنش خشکی، تنظیم کننده های رشد و محلول پاشی با نانوذرات روی و منیزیم بر صفات مورفولوژیک و بیوشیمیایی گیاه دارویی پروانش *(Catharanthus roseus* (L.) *G.DON)*

بابک سپهری[۱]| حمیدرضا توحیدی مقدم[۲]✉| فرشاد قوشچی[۳]| میثم اویسی[۴]| پورنگ کسرایی[۵]

۱. گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین، (پیشوا)، ورامین، ایران، رایانامه: sepehri@iauvaramin.ac.ir
۲. نویسنده مسئول، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین، (پیشوا)، ورامین، ایران، رایانامه: tohidi@iauvaramin.ac.ir
۳. گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین، (پیشوا)، ورامین، ایران، رایانامه: ghooshchi@iauvaramin.ac.ir
۴. گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین، (پیشوا)، ورامین، ایران، رایانامه: oveysi@iauvaramin.ac.ir
۵. گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین، (پیشوا)، ورامین، ایران، رایانامه: kasraie@iauvaramin.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۲۰
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۱۲/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۱/۱۵
تاریخ انتشار:

کلید.واژه‌ها:
پروانش
تنش خشکی
تنظیم کننده‌های رشد
روی
منیزیم

چکیده

هدف: گیاه دارویی پروانش با نام علمی *(Catharanthus roseus* (L.) *G.DON)* یکی از مهمترین گیاهان دارویی در دنیا می‌باشد که علاوه بر داشتن برگ‌ها و گل‌های زیبا و کاربرد زینتی، در برگ‌ها و ریشه های خود دارای آلکالوئیدهای بسیار مهمی می باشد که در شیمی درمانی انواع سرطان‌ها و درمان افت فشار خون کاربرد دارد.

روش پژوهش: این آزمایش به منظور بررسی اثر تنظیم کننده های رشد و محلول پاشی با نانوذرات روی و منیزیم در شرایط تنش خشکی بر میزان آلکالوئید کل، آنتوسیانین، کلروفیل کل، وزن تر و خشک سرشاخه‌های حاوی آلکالوئید، و تعداد شاخه های جانبی گیاه دارویی پروانش در شرایط گلخانه‌ای، به صورت فاکتوریل و در قالب طرح‌های کاملاً تصادفی، طی سال‌های ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰ در تهران صورت گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که در بررسی اثرات تنش خشکی و محلول پاشی نانوذرات روی و منیزیم بر کلیه‌ی صفات مورد بررسی (آلکالوئید کل، آنتوسیانین، کلروفیل کل، وزن تر و خشک سرشاخه‌های حاوی آلکالوئید، و تعداد شاخه های جانبی) اختلاف آماری معنی‌داری در سطح یک درصد ایجاد شد. همچنین در بررسی اثرات تنظیم کننده‌های رشد نیز به غیر از آلکالوئید کل، بر روی سایر صفات مورد بررسی، اثرات آماری معنی‌داری در سطح یک درصد ایجاد شد. در بررسی اثرات متقابل تنش خشکی و تنظیم کننده‌های رشد بر وزن تر سرشاخه-های حاوی آلکالوئید تأثیر معنی‌داری در سطح یک درصد ایجاد شد. اما در سایر موارد اثر آماری معنی‌داری بر صفات مورد نظر مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: تنش خشکی، مکانسیم‌های دفاعی مانند رنگدانه‌های آنتوسیانین و ترکیبات ثانویه را از خود بروز داد و آلکالوئیدهای کل نیز با افزایش تنش خشکی افزایش یافت. مصرف کودهای ریز مغذی به صورت نانو باعث افزایش میزان تجمع ماده خشک و ترکیبات ثانویه شد و تاثیر منیزیم بیشتر از تاثیر روی بود. در کاربرد هورمون‌ها، مصرف هورمون جیبرلین اثر بیشتری در وزن تر و خشک شاخساره‌ها در شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی داشت.

استناد: سپهری، ب.، توحیدی مقدم، ح. ر.، قوشچی، ف.، اویسی، م. و کسرایی، پ (۱۴۰۱). بررسی اثر تنش خشکی، تنظیم کننده های رشد و محلول پاشی با نانوذرات روی و منیزیم بر صفات مورفولوژیک و بیوشیمیایی گیاه دارویی پروانش. *به زراعی کشاورزی، عنوان مجله*، ۰ (۰)، ۰-۰.
DOI: http//doi.org/0000000000000000000000000

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.
DOI: http//doi.org/0000000000000000000000000

۱. مقدمه

از آنجا که مواد مؤثره‌ی موجود در داروهای گیاهی به علت همراه بودن آن‌ها با مواد دیگر پیوسته از یک حالت تعادل بیولوژیک برخوردار می‌باشد، لذا در بدن انباشته نشده و اثرات جانبی به بار نمی‌آورند و از این رو امتیاز و برتری قابل ملاحظه‌ای بر داروهای شیمیایی دارند (Sepehri *et al.*, 2013). در گیاهان دارویی میزان متابولیت از لحاظ اقتصادی مهم‌تر از محصول قسمت حاوی متابولیت گیاه است (Sreevali *et al*, .2003).

یکی از گیاهان دارویی ـ زینتی مهم که امروزه به عنوان گیاه دارویی در جهان مورد توجه قرار گرفته، گیاه دارویی پروانش (پریوش) است، که با نام‌های علمی: کاتارانتوس رزئوس[۱]، وینکا روزا[۲] و لوکنرا روزا[۳] شناخته می‌شود. این گیاه که به تیره‌ی خرزهره[۴] تعلق دارد، نخستین بار توسط جرج دان نامگذاری شد (امیدبیگی، ۱۳۸۸). پروانش از رده‌ی دولپه‌ای‌ها، زیر رده‌ی پیوسته گلبرگ‌ها، راسته‌ی ژنتیانالز[۵]، تیره‌ی خرزهره و جنس کاتارانتوس است (Heywood, 1993). به علت وجودآلکالوئیدهای ارزشمند در پیکر رویشی و ریشه‌ی پروانش، در اکثر فارماکوپه‌ها به عنوان یک گیاه دارویی بسیار مهم معرفی شده است (Abdul jalil *et al*, 2007).

تاکنون بیش از یکصد آلکالوئید از این گیاه استخراج گردیده که تعدادی از آن‌ها دارای اثرات فارماکولوژیک بوده و به عنوان دارو مورد استفاده قرار می‌گیرد (سجادی و دیدیر، ۱۳۷۹). آلکالوئیدها که از ملکول‌های نیتروژن‌دار با ماهیت قلیایی تشکیل شده‌اند، از قوی‌ترین مواد مؤثره‌ی گیاهی به شمار می‌روند. با توجه به تنوع زیاد، از آن‌ها در تهیه‌ی انواع دارو، علی الخصوص داروهای سیستم اعصاب مرکزی استفاده می‌شود (دوازده امامی، ۱۳۸۲). آلکالوئیدهای پروانش همگی به گروه تریپتوفان تعلق دارند. مهمترین ترکیبات ثانویه در گیاه پروانش، آلکالوئیدهای نوع ایندول هستند که با توجه به ساختمان مولکولی به دو دسته آلکالوئیدهای منومر و دیمر تقسیم می‌شوند (سجادی و دیدیر، ۱۳۷۹).

مهمترین آلکالوئیدهای این گیاه که در برگ‌ها ساخته و ذخیره می‌شوند، آلکالوئیدهای وین‌بلاستین[۶] و وین‌کریستین[۷] هستند که هردوی آن‌ها اثر آنتی‌نیوپلازی[۸] (ضد تومور) دارند. این مواد در شیمی‌درمانی برخی سرطان‌ها نیز به کار می‌روند. آلکالوئید مهم دیگری نیز که در ریشه وجود دارد روباسین[۹] (آجمالایسین) نامیده می‌شود که اثر آنتی‌فیبریلیک[۱۰] داشته و سبب افزایش فشارخون می‌گردد (Abdul jalil *et al*, 2006). سولفات‌وین‌بلاستین[۱۱] که نام تجاری آن ولب[۱۲] است، در بیماری‌های سرطان‌خون (لکومیا) تولید بی‌حد سلول‌های گلبول سفید را در بیماران کندتر می‌کند (Lewis, 1977). با توجه به ارزش بالای آلکالوئیدهای وین‌بلاستین و وین‌کریستین و اینکه تنها راه تهیه‌ی این داروها، استخراج از گیاه پروانش بوده، هرگونه افزایشی در مقدار این آلکالوئیدها می‌تواند از جنبه‌ی اقتصادی، ارزش زیادی داشته باشد (سپهری، ۱۳۹۲). پروانش دارای سه واریته است که عبارتند از: آلبا[۱۳] با گل‌های سفید، رزیوس[۱۴] با گل‌های صورتی، آسیلاتا[۱۵] با گل‌های سفید و صورتی که وسط آن لکه‌های ارغوانی مشاهده می‌شود که این سه واریته از بارزترین واریته‌های تجاری محسوب می شوند (امیدبیگی، ۱۳۸۸).

1- *Catharanthus roseus*
2- *Vinca rosea* L
3- *Lochnera rosea* REICHB
4- *Apocynaceae*
5- *Gentianales*
6- Vinblastine
7- Vincristine
8- Anti neoplasy
9- Raubasine
10- Anti fibrilic
11- Vinblastine sulfate
12- Velb
13- *Var. alba*
14- *Var. roseus*
15- *Var. asillata*

۲. پیشینه پژوهش

تنش خشکی عملکرد گیاهان زراعی را از طریق ممانعت از تولید بالقوه آن‌ها محدود می‌کند. اثرات خشکی بر گیاه پیچیده و متغیر است و به وسیله عوامل متعددی از جمله نوع خاک، الگوی ریشه‌دهی، تراکم بوته و عوامل بیماری‌زا تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Boyer, 1996). یکی از اثرات تنش خشکی برهم زدن تعادل تغذیه‌ای در گیاه است (Lewis & Macfalane, 1986). گیاهان در هنگام مواجهه با تنش خشکی با ایجاد یکسری تغییرات فیزیولوژیکی به تنش‌های مختلف پاسخ می‌دهند. تجمع مواد محلول در پاسخ به خشکی (تنظیم اسمزی) راهی برای حفظ آماس است (Sanchez, 2003; Hosseinifard *et al*., 2022). با تکمیل مصرف عناصر غذائی کم مصرف از طریق محلول‌پاشی می‌توان وضعیت رشد گیاه را در شرایط تنش بهبود بخشید. تغذیه مناسب تحت شرایط تنش می‌تواند تا حدی به گیاه در تحمل تنش‌های مختلف کمک کند. با مصرف کودهای محتوی عناصر ریز مغذی اولاً عملکرد گیاه افزایش می‌یابد، ثانیاً افزایش غلظت این عناصر در محصولات کشاورزی نقش مهمی در افزایش کیفیت غذائی و بهبود سلامتی جامعه دارد (ملکوتی و طهرانی، ۱۳۷۸). تنش آب اثر زیادی بر توزیع هورمون‌ها در گیاه به خصوص بر میزان سیتوکینین و اسید آبسیزیک (ABA) دارد. در نتیجه‌ی کمبود آب فعالیت سیتوکنین کاهش یافته در حالی که فعالیت ABA افزایش می‌یابد. پیری ساقه‌ها در گیاه تحت تنش ممکن است به علت کاهش تأمین سیتوکنین از ریشه‌ها باشد. و همچنین ABA در کنترل عکس العمل‌های همگام با کاهش پتانسیل آب غلظت هورمون‌های گیاهی نیز تغییر می‌کند. در هنگام تنش، سیتوکینین و اتیلن غالباً می‌توانند اثر ABA را وقتی زیاد می‌شود خنثی نماید (Bradford, 1995).

تغذیه برگی یکی از راه‌های مؤثر در بر طرف کردن نیازهای گیاهان به عناصر کم مصرف است. اسپری مواد مغذی نه تنها عملکرد و کیفیت محصول را افزایش می‌دهد، بلکه می‌تواند مقادیر کاربرد کود خاکی را کاهش دهد (Swiader, 2000). مطالعات زیادی نشان داده است که در مورد عناصری مثل بر، مس، منیزیم، منگنز و روی محلول پاشی به دلیل رفع سریع کمبود، کاهش سمیت ناشی از تجمع این عناصر در خاک و جلوگیری از تثبیت آن‌ها، روش مناسب تری نسبت به کاربرد در خاک است. محلول‌پاشی عناصر بر، مس، منیزیم، منگنز و روی از مصرف آن‌ها در خاک برای رفع سریع کمبود، کاهش سمیت ناشی از این عناصر در خاک و جلوگیری از تثبیت، مناسب‌تر است (Camberato, 2004). نانوکودها همچنین می‌توانند حلالیت بیش‌تری نسبت به دیگر کودها داشته باشند که این ویژگی در نانوذرات بی‌شکل در انحلال ترکیبات کم محلول مشاهده شده است. این نانوذرات بی‌شکل سینتیک انحلال سریع‌تری نسبت به ذرات در ابعاد معمولی نشان می‌دهند و زیست فراهمی ۵ را بر اثر افزایش نقطه اشباع (غلظتی از ماده در فاز محلول که با فاز جامد آن در تعادل است) افزایش می‌دهند (Chahal *et al*., 2012).

عنصر روی (Zn) از جمله عناصر ضروری برای رشد گیاه است که در تشکیل اسید ایندول استیک دخالت دارد و رشد گیاه را تنظیم می‌کند و هم‌چنین باعث فعال شدن بسیاری از آنزیم‌ها شده، برای سنتز کلروفیل و تشکیل کربوهیدرات‌ها، لازم و ضروری است. چون روی عنصری است که در داخل گیاه، قادر به انتقال مجدد نیست لذا محلول‌پاشی آن، مناسبتر می‌باشد (Vitosh *et al*., 1994) این عنصر نقش مهمی در تولید بیومس بازی می‌کند. در ساختمان ۲۰۰ نوع آنزیم و پروتئین مشارکت دارد و کمبود آن فعالیت چندین آنزیم مهم از جمله فسفاتازها، الکل دی هیدروژناز، کربوکسی پپتیداز RAN و DNA پلیمراز را کاهش می‌دهد (Cakmak, 2008).

منیزیم نیز از عناصر پرمصرف و ضروری است که نقش مولکولی و فیزیولوژیکی عمده‌ای در گیاهان دارد و نقش کلیدی در فتوسنتز بازی می کند، به علاوه اتم مرکزی مولکول کلروفیل را تشکیل می‌دهد. منیزیم برای عملکرد بسیاری از آنزیم‌ها، از جمله ATP آز، پروتئین کیناز، فسفاتاز، گلوتاتیون سینتتاز و کربوکسیلاز ضروری است. بسیاری از آنزیم های کلیدی کلروپلاست به شدت از تغییرات کم در سطوح منیزیم تأثیر می پذیرند. بنابراین منیزیم نقش اساسی در واکنش‌های نوری و تاریکی فتوسنتز ایفا می‌کند (Shaul, 2002).

یکی از راه‌های افزایش جوانه‌زنی و سبزشدن بذر در شرایط تنش استفاده از روش پرایمینگ است (Murungu *et al*., 2003). پرایمینگ باعث افزایش سبز شدن بذرها در دامنه‌ای از شرایط محیطی تنش‌زا، از قبیل تنش شوری، خشکی و دما می‌شود (Demir Kaya *et*

(Harris *et al.*, 2001) پرایمینگ می‌تواند باعث رشد سریع‌تر گیاهچه (*al.*, 2006)، افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی، تحمل گیاه به خشکی از طریق توسعه ریشه‌ها تحت شرایط متغیر محیطی (عیسوند و همکاران، ۱۳۹۰) گل‌دهی زودتر و افزایش کمی و کیفی عملکرد (آذرنیا و عیسوند، ۱۳۹۲) و افزایش جذب موادغذایی (Ashraf *et al.*, 2002) شود. خیساندن بذور با مطلوب‌ترین غلظت هورمون‌های رشد گیاهی، افزایش جوانه‌زنی و همچنین افزایش کارایی رشد و عملکرد را در پی دارد. هورمون‌های گیاهی که به طور معمول برای پرایمینگ استفاده می‌شود، اکسین (NAA, IAA, IBA) جیبرلین‌ها، (GA) کینتین، اسیدآبسیزیک (ABA)، پلی آمین‌ها، اتیلن و اسید سالیسیلیک می‌باشد (Afzal *et al.*,2006).

همچنین مواد تنظیم کننده‌ی رشد گیاهی از عوامل مهم تأثیرگذار بر رشد و نمو گیاهچه محسوب می‌شوند به طوری که اکسین درونی برای نمو ریشه ضروری است. تیمار اکسین خارجی سبب القاء تشکیل ریشه‌های جانبی و ریشه‌های نابجا می‌شود، البته غلظت بهینه اکسین برای تشکیل ریشه‌های جانبی و نابجا باهم متفاوت است (Schiefelbein, 2003). هورمون‌های گیاهی از عوامل مؤثر بر فعالیت-های مختلف رشد، نمو و خواب بذر هستند. جیبرلین‌ها شامل گروهی از هورمون‌ها هستند که بیشترین دخالت مستقیم را در کنترل و تسهیل جوانه‌زنی بذر دارند. افزایش سنتز و آزادسازی هورمون جیبرلیک اسید در بذر موجب تجزیه نشاسته بذر و تبدیل آن به مواد قابل استفاده جنین می‌شود و جوانه‌زنی شروع می‌شود. نقش اصلی هورمون جیبرلین که توسط جنین بذر ترشح می‌شود، فعال نمودن ژن کُدکننده آنزیم‌های دخیل در جوانه‌زنی بذر به ویژه آنزیم استفاده از آلفا آمیلاز است (Afzal *et al.*, 2006). حفظ حد مطلوب و بهینه اکسین در سلول و انتقال قطبی آن در گیاه برای شکل گیری الگوهای نموی، حیاتی و ضروری می‌باشد. همچنین همانند اکسین، سیتوکینین‌ها نیز تنظیم کننده‌های مهمی در رشد و نمو گیاهان به شمار می‌آیند. به طور مشخص اکسین‌ها و سیتوکینین‌ها دارای وظایف مشخص و مهمی در رشد و نمو گیاه هستند و از آنجا که هر دو هورمون به عنوان تنظیم کننده رشد، قابلیت سنتز در بیشتر قسمت‌های گیاه و داشتن وظیفه سیگنالینگ در فرایند نمو دارند، بنابراین از این جهت میان‌کنش اکسین و سیتوکینین در فرایندهای توسعه‌ای و نمو بسیار مورد اهمیت است. به عنوان مثال برای شکل‌گیری و حفظ مریستم‌ها که بنیان کل پیکره گیاه را تشکیل می‌دهند، تعامل اکسین‌ها و سیتوکینین‌ها لازم است (Su *et al.*, 2011).

با توجه به اهمیت آلکالوئیدهای گیاه مذکور در شیمی درمانی و درمان انواع سرطان‌ها، و به منظور معرفی و شناخت بیشتر خصوصیات فیزیولوژیکی و دارویی آن، و نیز شرایط کم آبی حاکم بر کشورمان، پیدا کردن راهکارهای مناسب جهت افزایش خصوصیات کمی و کیفی گیاه در شرایط تنش خشکی از مهمترین اهداف این تحقیق می‌باشد.

۳. روش‌شناسی پژوهش

۳. ۱. نوع آزمایش

این آزمایش بصورت فاکتوریل، در قالب طرح پایه‌ی کاملاً تصادفی در سه تکرار و طی دو سال انجام شد.

۳. ۲. زمان و مکان آزمایش

آزمایش مذکور طی دو سال، که آزمایش اول در اوایل فروردین ماه سال ۱۳۹۹ و آزمایش دوم نیز در اوایل فروردین ۱۴۰۰ در شرایط گلخانه‌ای در منطقه شمیرانات تهران انجام شد.

۳. ۳. گونه مورد مطالعه پروانش

از نوع رزیوس گل صورتی *(Catharanthus roseus* (L.) *G.DON)* بوده که بذرهای آن از مرکز اصلاح بذر کرج تهیه گردیدند.

۳. ۴. تیمارهای مورد استفاده و روش اعمال آن‌ها

آزمایش مذکور، به صورت سه عاملی که عامل اول تنظیم کننده‌های رشد (A) شامل چهار سطح شاهد (آب مقطر a_0) و هورمون‌های اکسین (a_1)، جیبرلین (a_2) و سایتوکینین (a3) هر کدام به غلظت ppm ۵۰، عامل دوم محلول‌پاشی نانوذرات (B) نیز شامل چهار سطح شاهد (b_0) روی (b_1) با غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر، منیزیم (b_2) باغلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر و مخلوط روی و منیزم (b_3) (روی باغلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر و منیزیم با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر)، و عامل سوم تنش خشکی (C) از طریق تشتک تبخیر در سه سطح مشتمل بر ۴۰ میلی‌متر (c_0)، ۶۰ میلی‌متر (c_1) و ۸۰ میلی‌متر (c_2).

۳. ۵. پرایمینگ بذور

ابتدا بذرها به مدت ۲۴ ساعت در چهار سطح شاهد (آب مقطر a_0) و هورمون‌های اکسین (a_1)، جیبرلین (a_2) و سایتوکینین (a_3) به غلظت ۵۰ppm و در داخل پتری‌دیش پرایم شدند. در این نوع از پرایمینگ بذر، توده بذری مورد نظر به واسطه قرار گرفتن در معرض هورمون و یا سایر مواد تنظیم کننده رشدی به منظور ارتقاء فعالیت‌های زیستی پیش از قرار گرفتن در بستر بذر تحت تیمار قرار گرفتند. در این روش نوع هورمون به کار رفته و غلظت آن نقشی حائز اهمیت در نتیجه حاصله بر عهده دارند، به طوری‌که انتخاب نوع هورمون و غلظت آن در مورد گونه‌های مختلف می‌تواند متفاوت باشد.

۳. ۶. کاشت، داشت و برداشت

پس از پرایمینگ، ابتدا بذرها در مجاورت هوای آزاد قرار گرفتند تا کاملاً خشک شوند سپس در داخل جعبه‌های (سینی‌های) مخصوص کاشت که هر جعبه‌ی کاشت به ابعاد ۳۱/۵*۵۳ سانتی‌متر، تعداد ۱۰۴ حفره کاشت، قطر حفره‌ها ۳/۲ سانتی‌متر و ارتفاع حفره‌ها ۵/۵ سانتی‌متر کشت گردیدند. خاک کاشت مخلوطی از کوکوپیت و پیت ماس به نسبت مساوی، و کشت به صورت غیر مستقیم صورت گرفت. به این معنی که در مرحله‌ی سه برگی، گیاهان از داخل جعبه کاشت به داخل گلدان منتقل شدند. جهت کشت گیاهان در داخل گلدان برای هر تکرار چهار گلدان در نظر گرفته شد و در داخل هر گلدان دو بوته کاشته شد و با توجه و در مجموع تعداد کل گلدان‌ها در هر سال ۵۷۶ عدد در نظر گرفته شد. ارتفاع گلدان‌ها ۴۰ سانتی‌متر، و قطر دهانه هر گلدان ۲۰ سانتی‌متر در گلدان صورت گرفت.

محلول‌پاشی نانوذرات در چهار سطح شاهد (b0) نانو ذرات اکسید روی (ZnO NPs) (b1) با غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر، نانو کود منیزیم تک عنصره (b2) با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر و مخلوط روی و منیزم (b3) (روی باغلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر و منیزیم با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) در طی دو مرحله در هر سال صورت گرفت. مرحله اول در مرحله ۴ تا ۶ برگی و مرحله دوم قبل از گل‌دهی گیاهان صورت گرفت.

اعمال تنش خشکی نیز از طریق تشتک تبخیر در سه سطح مشتمل بر ۴۰ میلی‌متر (c_0)، ۶۰ میلی‌متر (c_1) و ۸۰ میلی‌متر (c_2) پس از استقرار گیاهان در گلدان آغاز و تا مرحله برداشت ادامه یافت.

عملیات برداشت مربوط به سال اول اواسط مهر ماه ۱۳۹۹ و عملیات برداشت مربوط به سال دوم در اواسط مهر ۱۴۰۰ صورت گرفت. در مرحله برداشت، گیاهان از سطح خاک و از ناحیه‌ی طوقه چیده شدند.

۳. ۷. اندازه گیری صفات

قبل و پس از برداشت ابتدا صفات بیولوژیک، سپس صفات بیوشیمیایی گیاه مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت. با استفاده از ترازوی دیجیتالی وزن تر سرشاخه‌های دارای برگ‌های حاوی آلکالوئید اندازه گیری گردید. در زمان اوج گل‌دهی از برگ‌های جوان گیاه که دارای بیشترین میزان آلکالوئید بودند نمونه‌برداری شد. گزارشات نشان داده که برداشت گیاه در زمان تمام گل (full bloom) بیشترین میزان آلکالوئیدهای گیاه به خصوص آلکالوئیدهای وین‌بلاستین و وین‌کریستین را دارا می‌باشد (Lata, 2007). نمونه ها مدّت یک هفته

در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد در داخل آون قرار داده شدند. سپس وزن خشک سرشاخه‌ها توسط ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. وزن خشک دقیق زمانی حاصل می‌شود که با گذشت زمان، دیگر کاهش وزن در گیاه مشاهده نگردد.

جهت استخراج و اندازه گیری آلکالوئید کل از روش یاناوان استفاده گردید (زارع‌زاده و همکاران، ۱۳۷۹). برای این منظور ابتدا سه گرم پودر نمونه گیاهی با ۱۵ تا ۲۰ میلی‌لیتر آمونیاک در داخل ارلن مخلوط و پس از ۲۰ دقیقه مقدار ۳۰ میلی‌لیتر کلروفرم به آن اضافه گردید. محلول حاصل به مدت ۲/۵ ساعت بر روی همزن با سرعت ۵۰ الی ۶۰ دور در دقیقه به خوبی مخلوط، سپس نمونه‌ها را توسط قیف چینی که داخل آن کاغذ صافی قرار داده شده و با استفاده از خلاء صاف، و هر ارلن را مجدداً توسط ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم شسته و روی قیف را نیز توسط ۵ میلی لیتر کلروفرم شستشو داده شد. لازم به ذکر است که تمام مراحل زیر هود انجام شد. بعد از اینکه نمونه‌ها در داخل ارلن صاف شدند، آن‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با روتاری در دمای ۶۰-۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و سپس حجم کلروفرم را به حدود ۱۵ میلی لیتر رسانده و از روتاری خارج نموده و دوباره حجم آنها کنترل شد، و در صورتی که حجم کمتر از حد مقرّر باشد با استفاده از کلروفرم مجدداً به ۱۵ میلی لیتر رسانده شود. سپس محتویات ارلن را در دکانتور ریخته و با ۱۵ میلی‌لیتر اسید تارتاریک ۲٪ مخلوط کرده، سپس از آن محلول آبی را از آلی جدا کرده و محلول آبی جدا شده را زیر هواکش مجدداً توسط آمونیاک ۲۵٪ قلیایی کرده و pH آن کنترل شد (تا حدود pH= ۹). سپس دو بار و هر بار ۲۰ میلی‌لیتر کلروفرم به محلول آبی اضافه کرده و کلروفرم‌های به دست آمده بر روی حمام آب گرم در زیر هواکش تبخیر شدند. به هر یک از ارلن‌ها ۱۰ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال اضافه کرده و مدت ۱۰ دقیقه صبر کرده تا آلکالوئیدها در آن به خوبی حل شدند. سپس توسط قطره چکان ۳ قطره معرف کریستال ویولت به هر یک از ارلن‌ها اضافه کرده و با اسید پرکلریک ۰/۱ نرمال تیتر شدند. در نقطه پایان تیتراسیون رنگ کریستال ویولت از بنفش به آبی تغییر کرد. با توجه به اینکه آلکالوئیدهای موجود در یک گیاه معمولاً از نظر فرمولی شبیه به هم می‌باشند، معمولاً برای تعیین وزن ملکولی آلکالوئیدها، وزن ملکولی میانگین آلکالوئیدهای متداول در آن در نظر گرفته شد. مقدار آلکالوئیدها را با توجه به میانگین وزن ملکولی آن‌ها محاسبه گردید.

$$N \times ml = (M \times mg)/eq$$

N = نرمالیته اسید پرکلریک ۰/۱ نرمال

ml = میزان اسید مصرف شده برحسب میلی‌لیتر

M = جرم ملکولی اسید پرکلریک M=۱۰۰

eq = میانگین وزن ملکولی آلکالوئیدها = ۵۲۸/۸۴۷

در نتیجه میزان کل آلکالوئیدها بر حسب میلی‌گرم در ۳ گرم نمونه مصرف شده به دست می‌آید. سپس با محاسبه از طریق تناسب، درصد آلکالوئید در برگ به دست می‌آید (سپهری و همکاران، ۱۳۹۲).

برای سنجش آنتوسیانین ها از روش Wagner (1979) استفاده شد.

برای محاسبه غلظت برحسب میکرومول، ضریب خاموشی (ϵ)۳۳۰۰۰ سانتی متر بر مول استفاده گردید (تقوی‌زاده و همکاران، ۱۳۹۹).

ضریب خاموشی (بر حسب سانتی‌متر بر میکرومول) [cm^2/mol] ew= 33000

برای سنجش کلروفیل موجود در برگ‌ها از روش (Lichtenthaler, 1987) و آرنون (Arnon, 1949) استفاده شد. مقدار کلروفیل a و b و کلروفیل a+b از فرمول زیر محاسبه گردید (عابدی و همکاران، ۱۳۹۸).

$$Chl_a = (12/25 \times A_{663} - 2/79 \times A_{645})$$
$$Chl_b = (21/21 \times A_{645} - 5/1 \times A_{663})$$
$$Chl_{a+b} = (7/15\ A_{663} + 18/71\ A_{645})$$

محاسبات آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزارهای آماری SAS (نسخه 9.1)، و به منظور بررسی یکنواختی واریانس داده‌های دو سال آزمایش از آزمون بارتلت[1] استفاده شد. همچنین برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن[2] استفاده و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel انجام گرفت.

۴. یافته‌های پژوهش

نتایج حاصل از اثرات سطوح تنش خشکی، هورمون‌های گیاهی و عناصر ریزمغذی نتایج تجزیه واریانس وزن تر و خشک سرشاخه‌های حاوی مواد مؤثره و کلروفیل کل در جدول ۱. آمده است. در این آزمایش، در اعمال تنش خشکی و نیز اثرات ساده محلول‌پاشی نانوذرات روی و منیزیم بر کلیه صفات مورد مطالعه (آلکالوئید کل، آنتوسیانین، کلروفیل کل، وزن تر و خشک سرشاخه‌های حاوی آلکالوئید، و تعداد شاخه های جانبی)، اثر آماری معنی‌داری در سطح ۱ درصد مشاهده شد. در بررسی اثرات تنظیم کننده‌های رشد گیاهی نیز به غیر از آلکالوئید کل، بر روی سایر صفات مورد بررسی، اختلاف آماری معنی‌داری در سطح یک درصد ایجاد شد. همچنین در بررسی اثرات متقابل آبیاری و هورمون‌های گیاهی نیز بر روی سرشاخه‌های حاوی آلکالوئید اختلاف آماری در سطح یک درصد ایجاد شد. اما در سایر موارد، هیچ اثر آماری معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول ۱).

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات اندازه‌گیری شده گیاه پروانش تحت تأثیر سطوح تنش خشکی، هورمون گیاهی و محلول‌پاشی روی و منیزم

منابع تغییر	درجه آزادی	وزن تر سرشاخه	وزن خشک سرشاخه	کلروفیل کل	آنتوسیانین	آلکالوئیدهای کل
آبیاری	۲	۳۲۰۵ **	۱۳۵۲ **	۵/۴ **	۰/۵۶ **	۵/۹۷ **
هورمون‌های گیاهی	۳	۲۴۴۸/۵۷ **	۲۵۰/۱ **	۰/۰۷۴ **	۰/۰۰۶۶ **	۰/۰۱۵ ns
عناصر ریزمغذی	۳	۳۲۶/۰۵ **	۱۹۸/۱ **	۰/۰۲۲ **	۰/۰۲۷ **	۰/۰۹۳ **
آبیاری× هورمون‌های گیاهی	۶	۳۴/۹۶ **	۵/۶۱ ns	۰/۰۰۰۶۶ ns	۰/۰۰۰۱۴ ns	۰/۰۰۰۷۹ ns
آبیاری× عناصر ریزمغذی	۶	۳/۰۷ ns	۳/۴۳ ns	۰/۰۰۰۱۹ ns	۰/۰۰۰۲۷ ns	۰/۰۰۲۷ ns
هورمون‌های گیاهی × عناصر ریزمغذی	۹	۳/۱۹ ns	۱/۶۷ ns	۰/۰۰۰۵ ns	۰/۰۰۰۶۶ ns	۰/۰۰۵۹ ns
آبیاری× هورمون‌های گیاهی× عناصر ریزمغذی	۱۸	۰/۲۷ ns	۰/۴۴ ns	۰/۰۰۰۰۱۹ ns	۰/۰۰۰۰۸ ns	۰/۰۰۰۴۱ ns
خطای آزمایشی	۹۶	۱۰/۶۷	۸/۹۷	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۰۹۱	۰/۰۱۳
ضریب تغییرات (CV) %		۷/۹۳	۱۳/۶	۱/۳	۱/۳	۱/۳

* و ** به ترتیب نشانه اختلاف آماری در سطح آماری ۵ و ۱ درصد، ns اختلاف آماری غیر معنی‌دار

همچنین نتایج آزمون بارتلت (جدول ۲) حاکی از آن بود که صفات در طی دو سال نتایج مشابهی را نشان دادند به همین دلیل میانگین دو سال نتایج هر صفت مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. با توجه به این‌که طرح مذکور در قالب طرح پایه‌ی کاملاً تصادفی بوده و در

[1] Bartlett's Test
[2] Duncan's multiple range test

شرایط گلخانه‌ای و طی دو سال صورت گرفت، لذا به منظور یکنواختی داده‌ها از آزمون بارتلت استفاده شده و نتایج آن در سطح معنی‌داری ۵ درصد در جدول ۲. آمده است.

جدول ۲. جدول نتایج آزمون بارتلت

ردیف	صفت	P≤0.05
۱	وزن تر سر شاخه	۰/۵
۲	وزن خشک سر شاخه	۰/۲۸
۳	کلروفیل کل	۰/۸۹
۴	آلکالوئید کل	۰/۵۶
۵	آنتوسیانین	۰/۵

نتایج مقایسه میانگین وزن خشک سرشاخه و کلروفیل کل تحت تأثیر اثرات اصلی آبیاری، هورمون‌های گیاهی و عناصر ریزمغذی در جدول ۳. مشاهده می‌گردد.

جدول ۳. مقایسه میانگین‌های وزن خشک سرشاخه و کلروفیل گیاه پروانش کل تحت تأثیر اثرات اصلی آبیاری، هورمون‌های گیاهی و محلول‌پاشی روی و منیزیم

تیمار	وزن خشک سرشاخه (گرم در بوته)	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم)
سطوح آبیاری (میلی‌متر)		
۴۰ میلی‌متر تبخیر (آبیاری مطلوب)	۲۷/۳۶ a	۲/۴۲ a
۶۰ میلی‌متر تبخیر (تنش ملایم خشکی)	۲۱/۹۲ b	۲/۰۸ b
۸۰ میلی‌متر تبخیر (تنش شدید خشکی)	۱۶/۷۴ c	۱/۷۵ c
هورمون‌های گیاهی (پی‌پی‌ام)		
عدم مصرف (شاهد)	۱۸/۶ c	۲/۰۳ d
اکسین (۵۰ پی‌پی‌ام)	۲۱/۲ b	۲/۰۶ c
جیبرلین (۵۰ پی‌پی‌ام)	۲۴/۲ a	۲/۱۳ a
سایتوکینین (۵۰ پی‌پی‌ام)	۲۳/۹ a	۱/۲ b
عناصر ریزمغذی (میلی‌گرم بر لیتر)		
شاهد	۱۹/۴ d	۲/۰۵ d
روی (۱ میلی‌گرم بر لیتر)	۲۲/۸ b	۲/۰۹ b
منیزیم منیزیم (۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر)	۲۰/۹ c	۲/۰۷ c
روی (۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر) + منیزیم (۰/۰۲۵ میلی‌گرم بر لیتر)	۲۴/۸ a	۲/۱۱a

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون با استفاده از آزمون دانکن فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

در بررسی اثرات ساده‌ی تنش خشکی در هر دو سطح (۶۰ و ۸۰ میلی‌متر تبخیر)، تنظیم کننده‌های رشد گیاهی و عناصر ریزمغذی بر شاخص‌های وزن خشک سرشاخه‌های حاوی آلکالوئید و نیز کلروفیل کل برگ‌ها، اختلاف آماری معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده شد، اما در هیچ‌یک از اثرات متقابل دوگانه و سه گانه (اثر متقابل تنش خشکی و هورمون‌های تنظیم کتنده رشد، اثر متقابل تنش خشکی و نانوکودهای عناصر ریز مغذی، اثر متقابل هورمون‌های تنظیم کننده رشد و عناصر ریز مغذی، اثر متقابل تنش خشکی، هورمون‌های تنظیم کننده رشد و عناصر ریز مغذی) اختلاف آماری معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد مشاهده نشد (جدول ۳).

جدول ۴. مقایسه میانگین‌های کلروفیل کل، آنتوسیانین و آلکالوئید کل گیاه پروانش تحت تأثیر اثرات اصلی آبیاری، هورمون‌های گیاهی و محلول‌پاشی روی و منیزیم

تیمار	آنتوسیانین (میکرومول بر گرم وزن تر)	آلکالوئید کل (درصد)
سطوح آبیاری (میلی‌متر)		
۴۰ میلی‌متر تبخیر (آبیاری مطلوب)	۰/۵۱ c	۰/۸۷ c
۶۰ میلی‌متر تبخیر (تنش ملایم خشکی)	۰/۶۳ b	۱/۲۶ b
۸۰ میلی‌متر تبخیر (تنش شدید خشکی)	۰/۷۳ a	۱/۵۷ a
هورمون‌های گیاهی (پی‌پی‌ام)		
عدم مصرف (شاهد)	۰/۶۲ bc	
اکسین (۵۰ پی‌پی‌ام)	۰/۶۱ c	
جیبرلین (۵۰ پی‌پی‌ام)	۰/۶۴ a	
سایتوکینین (۵۰ پی‌پی‌ام)	۰/۶۲ b	
عناصر ریزمغذی (میلی‌گرم بر لیتر)		
شاهد	۰/۵۹ c	۱/۱۷ c
روی (۱ میلی‌گرم بر لیتر)	۰/۶۳ b	۱/۲۳ b
منیزیم منیزیم (۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر)	۰/۶۲ b	۱/۲۴ ab
روی (۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر) + منیزیم (۰/۰۲۵ میلی‌گرم بر لیتر)	۰/۶۵ a	۱/۲۹ a

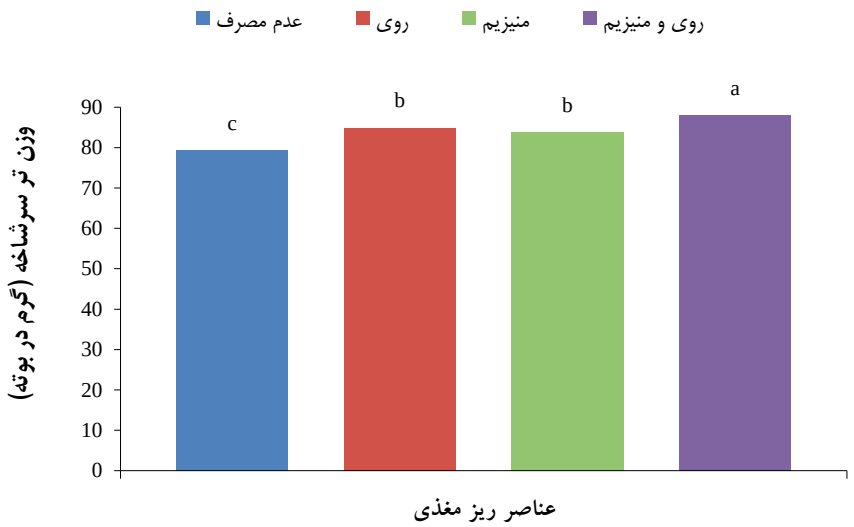
میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون با استفاده از آزمون دانکن فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

همچنین در آزمایش بر روی آنتوسیانین و آلکالوئید کل (جدول ۴)، تأثیر ساده‌ی تنش خشکی و نیز عناصر ریزمغذی (به طور مجزا) سبب اختلاف آماری معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد گردید. اما در کاربرد هورمون‌های گیاهی و نیز کلیه‌ی اثرات متقابل هیچ‌گونه اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد.

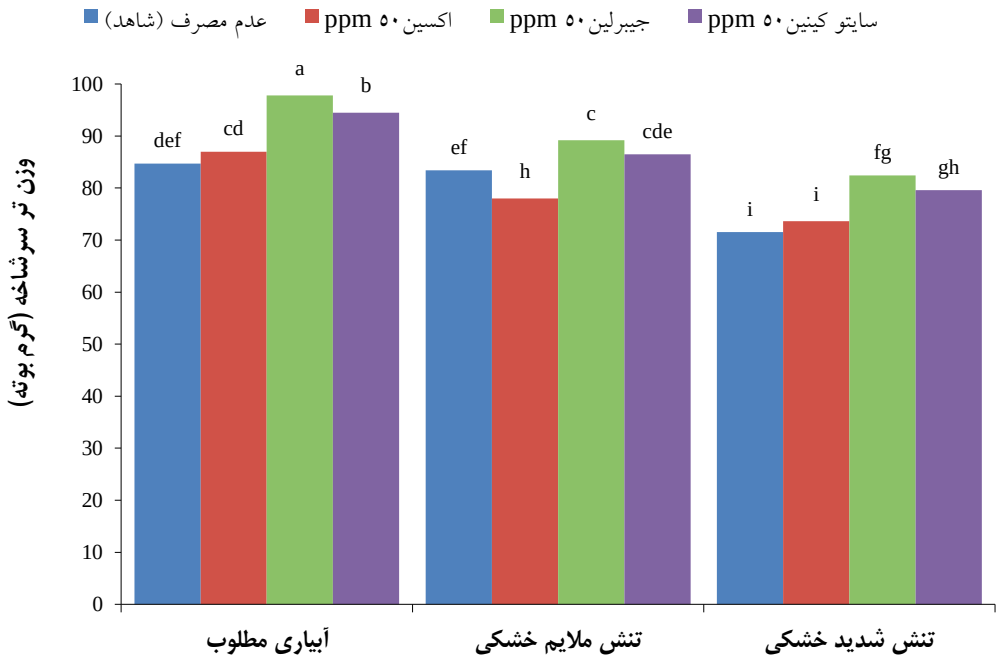
۵. بحث

۵. ۱. وزن تر سرشاخه‌های حاوی آلکالوئید

وزن تر سرشاخه‌ها تحت تأثیر اثرات اصلی تیمارهای آبیاری، مصرف هورمون و عناصر ریزمغذی و بر هم‌کنش دو گانه سطوح آبیاری و مصرف هورمون قرار گرفت (جدول ۱). بیشترین وزن تر سرشاخه (۸۸ گرم در بوته) در مصرف همزمان عناصر روی و منیزیم بدست آمد که نسبت به تیمار عدم مصرف ۱۰ درصد افزایش داشت (شکل ۱). هم‌چنین در تمام سطوح آبیاری، مصرف هورمون اسید جیبرلین باعث افزایش معنی‌دار وزن تر سرشاخه نسبت به سایر هورمون‌ها شد به طوری‌که بیشترین وزن تر سرشاخه (۹۷/۸۳ گرم در بوته) در تیمار آبیاری مطلوب و مصرف جیبرلین به دست آمد (شکل ۲).



شکل ۱. مقایسه میانگین‌های وزن تر سر شاخه گیاه پروانش تحت تأثیر محلول‌پاشی نانو کود روی و منیزیم طی دو سال آزمایش. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون با استفاده از آزمون دانکن فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.



شکل ۲. مقایسه میانگین‌های وزن تر سر شاخه‌های گیاه پروانش تحت تأثیر سطوح تنش خشکی× هورمون‌های گیاهی طی دو سال آزمایش. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون با استفاده از آزمون دانکن فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

۵. ۲. وزن خشک سرشاخه‌های حاوی آلکالوئید

وزن خشک سرشاخه‌ها نیز تحت تأثیر اثرات اصلی سطوح آبیاری، مصرف هورمون و عناصر ریزمغذی قرار گرفت (جدول ۱). وزن خشک سرشاخه متأثر از سطوح آبیاری کاهش یافت به نحوی‌که تنش ملایم و شدید خشکی باعث کاهش ۲۰ و ۳۸ درصدی وزن خشک سرشاخه نسبت به آبیاری مطلوب شد. همچنین نتایج نشان داد که مصرف جیبرلین و سایتوکینین باعث افزایش وزن خشک ساقه شدند به طوریکه هر دو هورمون به ترتیب با میانگین‌های ۲۴/۲ و ۲۳/۹ گرم در بوته در گروه برتر قرار داشتند که نسبت به هورمون اکسین و تیمار عدم مصرف، به ترتیب ۱۱ و ۲۲ درصد افزایش نشان داد. اگرچه هر دو عنصر ریز مغذی به تنهایی باعث افزایش وزن خشک سرشاخه‌ها شد اما تیمار برتر متعلق به استفاده همزمان دو عنصر روی و منیزیم (۲۴/۸ گرم در بوته) بود به طوری‌که نسبت به تیمار روی، منیزیم و تیمار شاهد، افزایشی ۸، ۱۵ و ۲۱ درصدی داشت (جدول ۳).

محلول‌پاشی عناصر ریزمغذی با افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی، نقش مؤثر در فعالیت‌های سلولی با فعال شدن بیش از ۳۵ آنزیم مختلف در گیاه و همچنین افزایش فتوسنتز برگ، می‌تواند منجر به افزایش عملکرد بیولوژیک گیاهان گردد (کلانتر احمدی و دزفولی، ۱۳۹۸). عنصر روی با افزایش هورمون اکسین و عنصر منیزیم با نقش داشتن در فرآیند فتوسنتز (Obaid and Al-Hadethi, 2013) باعث افزایش رشد سلولی، افزایش سطح برگ و در نهایت باعث افزایش رشد رویشی شده که این خود باعث افزایش عملکرد زیستی در گیاه می‌شود.

تنش خشکی با افزایش مقاومت روزنه‌ای، کاهش محتوی آب نسبی برگ و در ادامه آن کاهش فتوسنتز برگ همراه است، که این عوامل منجر به کاهش اجزای عملکرد زیستی و شاخساره‌های گیاه می‌گردد (EL Sabagh *et al*. 2019; Aghdam *et al*., 2019). عملکرد زیستی از چند جنبه حائز اهمیت است. از طرفی به دلیل اینکه دربرگیرنده عملکرد اسانس است و می‌تواند از لحاظ اقتصادی مورد توجه قرار گیرد. از نظر فیزیولوژیکی نیز عملکرد زیستی معادل تولید خالص کل می‌باشد. بنابراین گیاهانی دارای عملکرد بالایی خواهند بود

که با توجه به شرایط رشد خود از عوامل تولید بهترین استفاده را داشته و مواد فتوسنتزی بیشتری را در اندام‌های خود تجمع دهند و داری بیشترین تولید خالص باشند. دلیل افزایش تولید ماده خشک در گیاهان تحت تیمار آبیاری مطلوب، گسترش بیشتر و دوام بهتر سطح برگ است که موجب ایجاد منبع فیزیولوژیکی کافی به منظور استفاده هرچه بیشتر از نور دریافتی و تولید ماده خشک می‌گردد که نتیجه این گزارش با این تحقیق مطابقت دارد.

در آزمایشی دیگر (Madah *et al.*, 2006) اثر متقابل سطوح آبیاری و هورمون بر وزن تر شاخساره معنی‌دار بود که به نظر می‌رسد جیبرلین که به عنوان یک هورمون گیاهی، با تأثیر بر مریستم‌های رویشی و زایشی موجب افزایش تعداد ساقه در بوته می‌گردد که در شرایط آبیاری مطلوب، این فرآیند تسهیل شده است. گزارش شده میزان بالای اکسین در طویل شدن و تقسیم سلولی دخالت داشته و مانع از رشد رویشی گیاه می‌شود.

۵. ۳. کلروفیل کل

نتایج حاکی از آن بود که میزان کلروفیل کل تحت تأثیر اثرات اصلی آبیاری، هورمون‌های گیاهی و عناصر ریز مغذی قرار گرفت (جدول ۱). نتایج نشان داد تنش خشکی باعث کاهش میزان کلروفیل کل شد به نحوی‌که تنش ملایم و شدید باعث کاهش ۱۴ و ۲۷ درصدی کلروفیل کل نسبت به آبیاری مطلوب شد. در بین هورمون‌های اعمال شده، جیبرلین موجب افزایش چشمگیری در میزان کلروفیل کل شد به نحوی‌که گیاهان تیمار شده با جیبرلین نسبت به گیاهان بدون تیمار، چهار درصد کلروفیل کل بیشتری داشتند هم‌چنین، علاوه بر نقش مثبت و معنی‌دار هر یک از عناصر ریزمغذی مورد استفاده در افزایش کلروفیل کل، استفاده همزمان این دو عنصر نیز باعث افزایش کلروفیل کل شد و با میانگین ۲/۱۱ میلی‌گرم در گرم وزن تر، در گروه برتر قرار گرفت (جدول ۳).

بررسی تأثیر محلول‌پاشی عناصر غذایی بر مقدار رنگدانه‌های گیاه پروانش نشان داد بالاترین مقدار در ترکیب محلول‌پاشی روی و منیزیم و کمترین مقدار در شرایط عدم محلول‌پاشی مشاهده شد. نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری میان کاربرد تک‌به‌تک روی و منیزیم نسبت به یکدیگر وجود ندارد، با این حال به نظر می‌رسد ترکیب هردو به صورت هم‌افزایی باعث افزایش مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی شدند.

به طور کلی گیاه در شرایط عدم محدودیت رطوبتی محتوی کلروفیل بالاتری داشت، که این میزان کلروفیل می‌تواند منجر به افزایش توان فتوسنتزی گیاه گردد. تنش خشکی با شکسته شدن کلروپلاست‌ها و کاهش میزان کلروفیل و توقف تولید آن همراه است، که این عمل به دلیل تجزیه پروتئین‌ها و در نتیجه افزایش آمینواسیدها همچون پرولین می‌باشد (اسماعیلی و همکاران، ۱۳۹۱). مطالعات نشان می‌دهد در شرایط تنش خشکی میزان آبسزیک اسید در برگ‌ها، ساقه‌ها و ریشه‌ها افزایش می‌یابد. در این شرایط آبسزیک اسید سرعت فتوسنتز و مقدار کلروفیل برگ را کاهش می‌دهد. همچنین در شرایط تنش خشکی و به تبعه آن بسته شدن روزنه‌ها و کاهش تبادلات گازی میزان و سرعت فتوسنتز کاهش می‌یابد، در این شرایط محتوای کلروفیل نیز کاهش می‌یابد (Reddy *et al.*, 2004). از طرفی تنش خشکی با بسته شدن روزنه‌ها و کاهش تبادلات گازی میزان فتوسنتز را تحت تأثیر قرار می‌دهد، در این شرایط میزان کلروفیل و سایر رنگدانه‌ها کاهش می‌یابد. با توجه به ماهیت مشابه کلروفیل a و کلروفیل b دلایل کاهش این دو در شرایط تنش خشکی مشابه می‌باشد. بررسی دیگر تحقیقات نیز نشان می‌دهد محلول‌پاشی عناصر روی و منیزیم منجر به افزایش مقدار کلروفیل برگ می‌گردد، به نظر می‌رسد این افزایش به دلیل نقش مؤثر عناصر روی و منیزیم در فعالیت‌های متابولیسمی سلولی همچون فعالیت آنزیم‌ها، کوآنزیم‌ها، پروتئین‌ها و .. باشد (کلانتر احمدی و دزفولی، ۱۳۹۸: Ghorbani *et al.*, 2019). عنصر روی برای فعالیت انواع گوناگون آنزیم لازم است و کمبود آن موجب به‌هم‌ریختگی در سوخت‌وساز قندها و ساخت پروتئین‌ها می‌شود. گیاهانی که با کمبود روی روبرو هستند، فعالیت آنزیم کربنیک آنهیدراز و فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفاتاز به شدت کاهش می‌یابد (Balaji *et al.*, 2014).

منیزیم در فعال کردن آنزیم‌های فتوسنتزی دکربوکسیلاز و دهیدروژناز مورد نیاز است. گزارش شده گیاهانی که تحت تیمار منیزیم قرار می‌گیرند فعالیت فتوسنتزی بهتری دارند که ناشی از افزایش کلروفیل برگ می باشد (Obaid and Al-Hadethi., 2013). افزایش

محتوای کلروفیل به دنبال کاربرد خارجی تنظیم‌کننده‌های رشد با افزایش دور آبیاری می‌تواند توجیهی برای بهبود رشد و زیست توده گیاهان زراعی باشد. اسید جیبرلیک باعث افزایش مقدار کلروفیل می‌شود ولی به دلیل افزایش سطح برگ توسط آن، مقدار کلروفیل نسبت به واحد سطح کاهش می‌یابد .(Rasouli and Javanmardi, 2010). که در این آزمایش نیز با افزایش سطح برگ در اثر کاربرد همزمان عناصر ریز مغذی و هورمون‌های گیاهی به کار رفته می‌تواند دلیلی بر عدم اختلاف آماری معنی‌داری در اثرات متقابل آن‌ها باشد.

۵. ۴. آنتوسیانین

نتایج حاکی از آن بود که میزان آنتوسیانین گیاه تحت تأثیر اثرات اصلی آبیاری، هورمون‌های گیاهی و عناصر ریز مغذی قرار گرفت (جدول ۱). نتایج نشان داد تنش خشکی باعث افزایش میزان آنتوسیانین شد به نحوی که تنش ملایم و شدید باعث افزایش ۳۰ و ۱۳ درصدی آنتوسیانین نسبت به آبیاری مطلوب شد. در بین هورمون‌های اعمال شده، جیبرلین موجب افزایش چشم‌گیری در میزان آنتوسیانین شد به نحوی‌که گیاهان تیمار شده با جیبرلین نسبت به گیاهان بدون تیمار، سه درصد آنتوسیانین بیشتری داشتند. همچنین، علاوه بر نقش مثبت و معنی‌دار هر یک از عناصر ریزمغذی مورد استفاده در افزایش آنتوسیانین، استفاده همزمان این دو عنصر نیز باعث افزایش آنتوسیانین شد و با میانگین ۰/۶۵ میلی‌مول در سانتی‌متر، در گروه برتر قرار گرفت (جدول ۴). در آزمایش دیگر، (سدری و همکاران، ۱۴۰۰) عنوان کردند تیمارهـای محلـول پاشـی عناصـر غذایی در دو زمان محلولپاشی و در سه سال متـوالی، بـر آنتوسـیانین موجود در میوه انگور تأثیر معنی‌داری داشت. همچنین (Toopchi Khosroshahi *et al.*, 2019) در آزمایش بر روی گلرنگ *(tinctorius Carthamus(*مشاهده کردند که اثرات متقابل تنش خشکی و محلول‌پاشی پلی‌آمین‌ها سبب اختلاف آماری معنی‌داری در غلظت آنتوسیانین نسبت به تیمار شاهد گردید. میزان متابولیت‌های ثانویه در برخی گیاهان تحت خشکی افزایش می‌یابد. افزایش آنتوسیانین‌ها در برگ و ریشه گیاهان تیمارشده با خشکی نشان می‌دهد که راهبردهای غیرآنزیمی نیز نقش مهمی در غلبه بر تنش اکسیداتیو دارند. آنتوسیانین‌ها به عنوان یک رنگیزه آنتی‌اکسیدانی، تنش اکسیداتیو را کاهش می‌دهند (زمانی و همکاران، ۱۳۹۲).

۵. ۵. آلکالوئید کل

درصد آلکالوئیدهای کل تحت تأثیر اثر اصلی آبیاری و عناصر ریز مغذی تغییرات معنی‌داری داشت (جدول ۱). بیشترین درصد آلکالوئیدهای کل در تنش شدید خشکی (۱/۵۷ درصد) به دست آمد که نسبت به تنش ملایم خشکی و آبیاری مطلوب به ترتیب ۱۹ و ۴۴ درصد افزایش نشان داد (شکل ۳). با مصرف عناصر ریزمغذی تغییرات محسوسی در میزان آلکالوئیدهای کل گیاه مشاهده شد به طوری‌که تیمار مصرف همزمان روی و منیزیم (۱/۲۹ درصد) بیشترین درصد آلکالوئیدهای کل را دارا بود (جدول ۴). همچنین بین تیمار مصرف روی یا منیزیم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بررسی مقاالات نشان می‌دهد که اثر تنش آب بر متابولیت‌های ثانویه گیاهی یک پدیده خاص گونه‌ای است و بستگی به شدت تنش دارد (Azhar *et al.*, 2011). اثرهای مثبت محدودیت آب، به سنتز متابولیت‌های ثانویه، فعالیت‌های آنزیمی و تجمع مواد محلول مربوط می‌شود (Singh-Sangwan *et al.*, 2001). برای گیاهان معطر و دارویی، خشکی باعث تغییرات قابل توجهی در عملکرد و ترکیب‌های متابولیت‌های آن‌ها می‌شود (Bettaieb *et al*., 2009). به طوری که عملکرد متابولیت‌های ثانو یه بخشی از سیستم دفاعی گیاه در برابر تنش‌های محیطی محسوب می‌شود. شرایط تنش ، باعث تسریع بیوسنتز این ترکیب‌ها می‌شود (Ezz *et al.*, 2009). بررسی دیگر نتایج بر روی گیاه پروانش نشان داد که با افزایش غلظت تنظیم کننده رشد IAA میزان آجمالیسین کم شد، د. همچنین مشاهده شد که استفاده ازغلظت‌های مختلف تنظیم کننده رشد IAA بر میزان آجمالیسین تاثیر معکوس داشته، به گونهای که استفاده از غلظتهای بیشتر این تنظیم کننده رشد باعث کاهش آجمالیسین شد. همچنین بررسی نتایج حاصل نشان داد که افزایش غلظت این تنظیم کننده رشد از ۰/۱ به ۱ میلی گرم در لیتر باعث کاهش معنی دار میزان آلکالوئید کل در هر دو گروه کشت بافت و کشت سوسپانسیونی شد. بررسی تاثیر نوع کشت و استفاده همزمان از تنظیم کننده رشد IAA بر میزان

آلکالوئید کل نیز از اختالف بی‌معنی در سطح احتمال ۰/۵ درصد خبر می‌دهد، یعنی استفاده همزمان از تنظیم کننده رشد IAA در کشت سوسپانسیونی و کشت بافت باعث افزایش معنی دار میزان آلکالوئید کل شد (Kazemzadeh Haghighi *et al.*, 2020).

شکل ۳. مقایسه میانگین‌های آلکالوئید کل برگ پروانش تحت تأثیر سطوح آبیاری. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون با استفاده از آزمون دانکن فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

۶. نتیجه‌گیری و پیشنهادها

در واکنش به تنش خشکی در مرحله رویشی، مکانسیم‌های دفاعی مانند رنگدانه‌های آنتوسیانین و ترکیبات ثانویه را از خود بروز داد. آلکالوئیدهای کل با افزایش تنش خشکی افزایش یافت و در نتیجه کیفیت اسانس گیاه پروانش در اثر تنش خشکی بیشتر شد. مصرف کودهای ریز مغذی به صورت نانو باعث افزایش میزان تجمع ماده خشک و ترکیبات ثانویه شد اگرچه تأثیر منیزیم تا حدودی بیشتر از روی بود. همچنین سایر شاخص‌های رشد با کاربرد روی و منیزیم در مقایسه با شاهد از مقادیر بالاتری برخوردار بود. کاربرد منیزیم میزان کلروفیل و شاخص‌های فتوسنتزی را افزایش داد که این افزایش به ویژه در شرایط تنش خشکی می‌تواند موجب بهبود رشد و عملکرد گیاه شود. همچنین کاربرد منیزیم موجب افزایش میزان کلروفیل برگ گردید که نشان دهنده اهمیت کاربرد عناصر ریز مغذی در افزایش میزان کلروفیل و بالا بردن شاخص‌های فتوسنتز است. مصرف هورمون جیبرلین باعث افزایش وزن تر و خشک شاخساره‌ها در شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی بود که در نتیجه به عنوان مناسبترین تنظیم کننده رشد گیاه (در بین سه هورمون استفاده شده) در واکنش به این صفات در این آزمایش توصیه می‌شود که احتمالاً به علت افزایش شاخص‌های فتوسنتزی و تثبیت دی اکسید کربن باشد.

با توجه به اقلیم خشک و فقر مواد آلی خاک اغلب نقاط کشور عزیزمان، کاربرد نانوکودها به صورت محلول‌پاشی و نیز استفاده از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی، می‌تواند نقش به سزایی در افزایش راندمان تولید انواع محصولات کشاورزی، به خصوص گیاهان دارویی ایفا نماید. ضمن این‌که با عنایت به اهمیت و ارزش آلکالوئیدهای گیاه دارویی پروانش، و پرهزینه بودن استخراج آلکالوئیدهای آن، باید بیشتر به جامعه‌ی کشاورزی معرفی گردد.

۷. تشکر و قدرانی

بدین وسیله از حمایت‌های اساتید بزرگوار گروه زراعت دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین (پیشوا) که برای اجرای طرح مذکور یاری رساندند تشکر و قدردانی می‌گردد.

۸. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع، توسط نویسندگان وجود ندارد.

۹. منابع

آذرنیا، محسن و عیسوند، حمید رضا (۱۳۹۲). بررسی اثر هیدرو پرایمینگ و پرایمینگ هورمونی بر عملکرد و اجزاء عملکرد نخود در شرایط دیم و آبی. *نشریه تولید گیاهان زراعی*. ۶ (۴)، ۱۸- ۱.

اسماعیلی منزه، علی؛ امیدی، حشمت و بستانی، عبدالامیر (۱۳۹۱). تاثیر تنش خشکی بر عملکرد و اجزای عملکرد، پرولین، رنگدانه های فتوسنتزی، آب نسبی برگ چند ژنوتیپ گلرنگ *(Carthamus tinctorius)*. *پژوهش آب در کشاورزی*. ۲۶ (۲)، ۱۸۷-۱۹۶.

امیدبیگی، رضا (۱۳۸۸). *تولید و فرآوری گیاهان دارویی*. مشهد: انتشارات آستان قدس رضوی.

باقری زنوز، ابراهیم (۱۳۸۲). *تاریخ تحولات علوم کشاورزی ایران (از دورهٔ باستان تا عصر حاضر)*. تهران: انتشارات دانشگاه تهران.

پازکی، علیرضا؛ قاضی پیرکوهی، محمد؛ شیرانی راد، امیر حسین؛ بیگدلی، محسن و حبیبی، داوود (۱۳۹۰). تغییرات درصد و عملکرد اسانس گیاه دارویی ریحان *(Ocimum basilicum* L.*)* تحت تاثیر کاربرد مقادیر نیتروژن، منیزیم و منگنز. *نشریه‌ی یافته‌های نوین کشاورزی*. ۶ (۱۶)، ۱-۵.

تقوی‌زاده یزدی، محمد احسان؛ خارا، جلیل؛ حسیندخت، محمد رضا؛ صادق‌نیا، حمید رضا؛ اسماعیلی‌زاده بهابادی، صدیقه؛ امیری، محمد صادق و درودی، مجید (۱۳۹۹). سنجش و ارزیابی ترکیبات فیتوشیمیایی و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه Rheum turkestanicum Janisch. دانشگاه علوم پزشکی مشهد. *مجله مطالعات علوم پزشکی*. ۳۱ (۲)، ۷۵-۸۱.

دوازده امامی، سعید (۱۳۸۲). کاربرد گیاهان دارویی. *انتشارات نصوح اصفهان*.

زارع‌زاده، عباس؛ خلدبرین، بهمن؛ مرادشاهی، علی؛ باباخانلو، پرویز و رجائی، هما (۱۳۷۹). تغییرات مقدار کل آلکالوئیدهای گیاه دارویی عروسک پشت پرده *(Physalis alkekengi)* در واکنش به مقادیر مختلف کود ازته. *نشریه پژوهش و سازندگی*. ۶ (۱)، ۶۱-۱۱۲.

زمانی، زهرا؛ نیاکان، مریم و قربانلی، مه‌لقا (۱۳۹۲). بررسی اثر بوتریسین برون‌زا بر میزان ترکیبات فنلی آنزیم‌های آنتی اکسیدان و نیترات ردوکتاز دانه رست گیاه بنگ دانه *(Hyoscyomus niger)* تحت شرایط تنش خشکی. *مجله فیزیولوژی محیطی گیاهی*. ۸ (۳۱)، ۷۸-۹۰.

سپهری، بابک (۱۳۹۲). بررسی اثرات بررسی اثرات انواع بستر کاشت و دو گونه قارچ میکوریزا بر رشد، عملکرد و محتوای آلکالوئیدهای گیاه دارویی پروانش*(Catharanthus roseus* (L.) *G. DON)*. *پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد*. به راهنمایی حمید رضا دورودیان. تهران: دانشگاه آزاد واحد ورامین (پیشوا)، دانشکده کشاورزی.

سجادی، ابراهیم و دیدیر، هالارد (۱۳۷۹). مقایسه‌ی اندام‌های مختلف گیاه پروانش از لحاظ تولید آلکالوئیدهای ایندول. *انتشارات پژوهش و سازندگی*. ۳ (۱۳)، ۳۰-۳۳.

سدری، محمد حسین؛ کرمی، فرهاد و اوستان، صابر (۱۴۰۰). اثر نیتروژن، روی، بور و منیزیم و زمان محلول پاشی بر کیفیت و کمیت انگور دیم *(Rainfed Grapevine* M.*)* . *نشریه پژوهش‌های خاک*. ۳۵ (۲)، ۱۳۵-۱۵۴.

عابدی، زهرا؛ نجفی زرینی، حمید؛ عمادی، سید مصطفی و باقری، نادعلی (۱۳۹۸). ارزیابی روابط بین صفات زراعی و فیزیولوژیکی سویا و گروهبندی ژنوتیپ‌های سویا تحت تأثیر کاربرد گوگرد. *پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی*. ۱۱ (۲۹)، ۱۴۲-۱۳۴.

عیسوند، حمید رضا؛ آذرنیا، محسن؛ نظریان فیروزآبادی، فرهاد و شرفی، رضا (۱۳۹۰). بررسی اثر جیبرلین و اسیدآبسیسیک بر سبز شدن و برخی خصوصیات فیزیولوژیکی بذر و گیاهچه نخود در شرایط دیم و آبی. *مجله علوم گیاهان زراعی ایران*. ۴۲ (۴)، ۷۸۹-۷۹۷.

کلانتر احمدی، سید احمد و شوشی دزفولی، احمد علی (۱۳۹۸). اثر محلول‌پاشی عناصر ریزمغذی بر عملکرد و کیفیت روغن دانه کلزا *(Brassica napus* L.*)* رقم هایولا ۴۰۱ در شرایط تنش خشکی. *نشریه علوم زراعی ایران*. ۲۱ (۳)، ۲۳۷-۲۵۱.

ملکوتی، محمد جعفر و طهرانی، محمد مهدی (۱۳۷۸). *نقش ریزمغذی‌ها در افزایش عملکرد و بهبود کیفیت محصولات، عناصر خرد با تأثیرکلان*. تهران: انتشارات دانشگاه تربیت مدرس.

References

Abdul Jaleel, C., Gopi, R., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., & Panneerselvam, R. (2007). Antioxidant potentials and malicine accumulation in *Catharanthus roseus* after treatment with giberellic acid. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *60*, 195– 200. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.06.009.

Abdul Jaleel, C., Gopi, R., Sankar, B., Manivannan, P., Kishorekumar, A., & metabolism, R., in Panneerselvam. (2006). Studies on germination, lipid peroxidation and praline in *Catharanthus roseus* seedling under salt stress. *South African journal of Botany*. *73*, 190-195.

Abedi, Z., Najafi zarrini, H., Emadi, S. M., & Bagheri, N. (2019). Evaluation of Relationship between Agronomical and Physiological Traits of Soybean and Grouping of Soybean Genotypes under Different aAmount of Sulfur Application. *Journal of Crop Breeding*. *11*, 134-142. (In Persian).

Afzal, I., Basra, S. H. M., Ahmad, N., Cheema, M. A., Warraich, E. A., & Khaliq, A. (2006). Effect of priming and growth regulator treatments on emergence and seedling growth of hybrid maize. *International Journal of Agriculture and Biology*, *4*(2), 303-306.

Aghdam, A. M., Sayfzadeh, S. Rad, A. S., Valadabadi, S. A., & Zakerin, H. R. (2019). The assessment of water stress and delay cropping on quantitative and qualitative traits of rapeseed genotypes. *Industrial Crops and Products*, *131*, 160-165.

Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta vulgaris. *Plant Physiology*. *24*, 1-15.

Ashraf, M., Karim, F., & Rasul, E. (2002). Interactive effects of gibberellic acid (GA_3) and salt stress on growth, ion accumulation and photosynthetic capacity of two spring wheat *(Triticum aestivum* L.*)* cultivars differing in salt tolerance. *Plant Growth Regulator*. *36*(1), 49-59.

Azarnia, M., & Eisvand, H. R. (2013) (a). Effects of Hydro and Hormonal Priming on Yield and Yield Components of Chickpea in irrigated and rain-fed conditions. *Crop production journal*, *6*(4), 1-18. (In Persian).

Azhar, N., Hussain, B., Ashraf, M. Y., & Abbasi, K. Y. (2011). Water stress mediated changes in growth, physiology and secondary metabolites of desi ajwain *(Trachyspermum ammi* L.*)*. *Pakistan Journal of Botany*, *43*(9), 15-19.

Bagheri zanvaz, E. (2003). *The history of developments agricultural sciences history Iran (from antiquity until now)*. Tehran: university of Tehran publications.

Bettaieb, I., Zakhama, N., Wannes, W. A., Kchouk, M. E., & Marzouk, B. (2009). Water deficit effects on Salvia officinalis fatty acids and essential oils composition. *Scientica Horticulturae*, *120*(2), 271-275.

Boyer, J. S. (1996). Advances in drought tolerance in plants. *Advances in Biotechnology advances*, *56*,187-218.

Cakmak, I. (2008). Enrichment of cereal grains with zinc: agronomic or genetic biofortification? *Plant and Soil*, *302*, 1–17.

Camberato, J. J. (2004). Foliar application on sugar beet. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, *12*, 120-126.

Chahal, A. S., Madgulkar, A. R., Kshirsagar, S. J., Bhalekar, M. R., Dikpati, A., & Gawli, P. (2012). Amorphous nanoparticles for solubility enhancement. *Journal of Advanced Pharmaceutical Science*, *2*, 167–178.

Davazdah emami, S. (2002). *Medicinal plants application*. Esfahan: Esfahan nasouh publications. (In Persian).

Demir Kaya, M., Okçu, G., Atak, M., Çikili, Y., & Kolsarici, O. (2006). Seed treatment to overcome salt and drought stress during germination in sunflower *(Helianthus annuus* L.). European Journal of Agronomy, *24*, 291-295.

Eisvand, H. R., Azarnia, M., Nazarian Firozabadi, F., & Sharafi, R. (2011a). Effect of Priming by gibberllin and abcsisic acid on emergence and some seedling physiological characters of Chickpea *(Cicer arietinum* L.) under dry and irrigated conditions. *Iranian Journal of Field Crop Science*, *42*(4), 789-797. (In Persian).

EL Sabagh., A., Sorour, S., Omar, A. E., Islam, M. S., Ueda, A., Saneoka, H., & Barutçular, C. (2015, September). *Soybean (Glycine Max L.) growth enhancement under Water Stress Conditions*. International Conference on Chemical, Agricultural and Biological Sciences (CABS-2015). Istanbul, Turkey. doi.org/10.17758/ERPUB.ER915116.

Esmaeili monazah, A., Omidi, H., & Bostani, A. (2012). The effect of drought stress on yield and yield components, proline, photosynthetic pigmens and RWC of *(Carthamus tinctorius)* of genotypes. *Research of water in agriculture*, *26*(2), 187-196. (In Persian).

Ezz, E., Aziz, E. E., Hendawy, S. F., & Omer, E. A. (2009). Response of Thymus vulgaris L. to salt stress and alar (B9) in newly reclaimed soil. *Journal of Applied Sciences Research*, *5*(12), 2165-2170.

Farooq, M., Basra, S. M. A., Rehman, H., & Saleem, B. A. (2008). Seed priming enhances the performance of late sown wheat *(Triticum aestivum* L.*)* by improving chilling. Journal of Agronomy Crop Science, *194*, 55–60.

Ghorbani, P., Eshghi, S., Ershadi, A., Shekafandeh, A., & Razzaghi, F. (2019). The Possible Role of Foliar Application of Manganese Sulfate on Mitigating Adverse Effects of Water Stress in Grapevine. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *50*(13), Pp. 1550-1562.

Harris, D. B. S. R., aghuwanshi, G. S., Gangwar, S. C., Singh, K. D., Joshi, A., Rashid, H., & Hollington, P. A. (2001). Participatory evaluation by farmers of on farm seed priming in wheat in India Nepal and Pakistan. *Experimental Agriculture*, *37*,403-415.

Heywood, V. H. d. (1993). *Flowering plants of the world*. New York: Oxford University press.

Hosseinifard M, Stefaniak S, Ghorbani Javid M, Soltani E, Wojtyla Ł, Garnczarska M. (2022). Contribution of Exogenous Proline to Abiotic Stresses Tolerance in Plants: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*. *23*(9), 5186. https://doi.org/10.3390/ijms23095186.

Kalantar ahmadi, S. A. & Dezfouli, A. A. (2019). Effects of foliar application of micronutrients on seed yield and oil quality of canola (*Brassica napus* L. cv. Hyola401) under drought stress conditions. *Iranian Journal of Crop Sciences*. *21*(3), 237-253. (In Persian).

Kazemzadeh Haghighi A., Sobhanian, H., Bakhshi Khaniki, G. R., & Ebrahimi, M. A. (2021). Evaluation of the hormonal treatments effect on biosynthesis of *Catharanthus roseus* (L) *G.Don.* indol alkaloids in tissue culture, suspension culture and field culture. *Journal of Developmental Biology*, *13*(1), 1-13.

Lata, B. (2007) Cultivation, mineral nutrition and seed production of (*Catharanthus roseus* L. *G. Don)* in the temperate climate zone. *Phytochemistry Reviews*. *6*, 403 – 41.

Lewis, D. C. & Macfalane, J. D. (1986). Effect of foliar applied manganese on the growth of safflower (*Carthamus tinctorious* L.) and the diagnosis of manganese deficiency by plant tissue and seed analysis. Australian Journal of Agricultural Research, *37*, 567-572.

Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, *148*, 350- 382.

Madah, S., Falahyan, F., Sabakhporand, F., & Andchalpyan, H. (2006). Effect of salicylic acid on yield and yield components and instruction of chickpea plant. Journal of Plant Science, *62*(1), 61-70.

Malakoti, M. & Tehrani, M. (2000). *The Role of Micronutrients on Yield and Qualify Increasing of Crops*. Tehran: Publications of Tarbiat Modarres University. (In Persian).

Murungu, F. S., Nyamugafata, P., Chiduza, C., Clark, L. J., & Whalley, W. R. (2003). Effects of seed priming aggregate size and soil matric potential on emergence of cotton *(Gossypium hirsutum* L.*)* and maize (*zea mays* L.). Soil and Till. Res, *74*, 161-168.

Obaid, E. A., & Al-Hadethi M. A. E. (2013). Effect of Foliar Application with Manganese and Zinc on Pomegranate Growth, Yield and Fruit Quality. *Journal of Horticultural Science and Ornamental Plants*, *5*(1), 41-45.

Omidbeigi, R. (2009). *Production and processing of herbs*. Mashhad: Qods Razavi Press. (In Persian).

Pazoki, A. R., Ghazi pirkouki, M., Shirani rad, A. H., Bigdeli, M., & Habibi, Davood. (2011). Essential Oil Percent and Essential Oil Yield of Basil *(Ocimum Basilicum* L.*)* Changes Affected by Nitrogen, Magnesium And Manganese Amounts. *New findings in Agriculture*, *16*(6), 1-5. (In Persian).

Rasouli-Sadaghiani, M. H., Hassani, A., Barin, M., Rezaee Danesh, Y., & Sefidkon, F. (2010). Effects of AM fungi on growth, essential oil production and nutrients uptake in basil. *Journal of Medicinal Plants Research, 4*(21), 2222-2228.

Reddy, A. R., Chaitanya, K. V., & Vivekanandan, M. (2004). Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Journal of Plant Physiology. *161*, 1189- 1202.

Sajjadi, A., & Didier, H. (2000). *Comparison of various plant organs of periwinkle in terms of producing indole alkaloids*. Tehran: Research and Construction Publication. (In Persian).

Sanchez, F. J., De Andres, E. F., Tenorio, J. L., & Ayerbe, L. (2003). Growth of epicotyls, turgor maintenance and osmotic adjustment in pea plants *(Pisum sativum* L.*)* subjected to water stress. Field Crops Research. *86*, 81-90.

Schiefelbein, J. W. (2003). Cell-fate specification in the epidermis: A common patterning mechanism in the root and shoot. *Current Opinion in Plant Biology*, *6*, 74 78.

Sedri, H., Karami, F., & Avestan, S. (2021). Effect of Nitrogen, Zinc, Boron, and Magnesium and Time of Foliar Application on Quality and Quantity of Rainfed Grapevine M. *Journal of Soil Research*, *35*(2), 135-154. (In Persian).

Sepehri, B., Doroodian, H. R., Nemati, N., & Zarghami, R. (2013). Effects of mycorrhiza type and seedbed soil on total alkaloids, vinblastine and vincristine of periwinkle (*Catharanthus roseus*). International Journal of AgriScience, 3(6): 2228-6322.

Sepehri, B., Doroodian, H. R., & Nemati, N. (2012). *The effects of types of seedbed soils and two types of mycorrhiza on growth, yield and content of alkaloids of periwinkle (Catharanthus roseus (L.) G. DON)*. Master thesis. Tehran: Varamin Azad University (Pishva), Faculty of Agriculture. (In Persian).

Shaul, O. (2002). Magnesium transport and function in plants: the tip of the iceberg. *BioMetals, 15*, 309–323.

Singh-Sangwan, N., Farooqi, A. H. A., Shabih, F., & Sangwan, R. S. (2001). Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regulation*, *34*, 3- 21.

Swiader, J. M. (2000). Micronutrient fertilizer recommendation for vegetable crop, Horticulture Facts.

Taghavizadeh Yazdi, M. E., Khara, J., Husaindokht, M. R., Sadeghnia, H., Esmaeilzadeh Bahabadi, S., Amiri, M. S., Darrudi, M. (2020). Assessment of Phitochemical components and antioxidants activity of *Rheum turkestanicum* Janisch. *Studies in Medical Sciences*, *31*(2), 75-81. (In Persian).

Toopchi Khosroshahi, J., Salehi Lisar, S. Y., Ghasemi Golazani, K., & Motefakker Azad, R. (2019). The effect of polyamines on the antioxidant responses of the plant *(tinctorius Carthamus)* under drought stress conditions. *Journal of plant production research*, *26*(2), 157-171.

Vitosh, M. L., Warncke, D. D., & Lucase, R. E. (1994). *Zinc determine of crop and soil science*. Michigan: Michigan state university Extension.

Wagner, G. J. (1979). "Content and vacuol/extra vacuole distribution of neutral sugar, free amino acid and anthocyanins in protoplast." *Plant Physiology*, *64*, 88- 93.

Zamani, Z., Niakan, M., & Gorbanly, M. (2013). Effect of exogenous putrescine in phenolic composition, antioxidant enzymes and nitrate reductase of *Hyosyamus niger* under drought stress, Journal of Iran, Plant Ecophysiology. Research. *3*: 78-90. (In Persian).

Zarezadeh, A., Khaldbrin, B., Moradshahy, A., Babakhanlou, P., & Rajai, H. (2000). Changes in the total amount of alkaloids in medicinal plant of *(Physalis alkekengi)* in response to different amounts of nitrogen fertilizer. Journal of Agricultural Science. *37*, 54-59. (In Persian).