

اثر تنظیم‌کننده‌های زیستی بر صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و ترکیبات اسانس

Ammi visnaga (L.)دیاکو رسولی^{۱*}، رقیه محمدپور وشوایی^۲ و براتعلی فاخری^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۵/۱۴

رسولی، د، محمدپور وشوایی، ر، و فاخری، ب. ۱۳۹۸. اثر تنظیم‌کننده‌های زیستی بر صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و ترکیبات اسانس *Ammi visnaga* (L.) Lam. بوم‌شناسی کشاورزی، ۱۱(۱): ۳۰۹-۳۲۰.

چکیده

به منظور بررسی تأثیر تنظیم‌کننده‌های زیستی بر صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و ترکیبات اسانس گیاه دارویی *Ammi visnaga* (L.) آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در دانشگاه زابل در سال زراعی ۹۴-۱۳۹۳ انجام گرفت. تیمارهای استفاده شده در این پژوهش شامل اسید سالیسیلیک، اسید سینامیک و اسید بنزوئیک با سه سطح ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر و اسید آمینه‌های فنیل آلانین و تیروزین با سه سطح ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بودند. نتایج نشان داد که تنظیم‌کننده‌های زیستی باعث افزایش میزان صفات مورد بررسی شدند. همچنین تیمار اسید بنزوئیک ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر بیشترین تأثیر را به نسبت سایر تیمارها داشت؛ به طوری که باعث افزایش معنی‌داری در رشد رویشی (۴۶/۱۶ درصد)، محتوای آب نسبی (۶۰/۱۷ درصد)، رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید، کلروفیل a + کلروفیل b و کلروفیل b) / کارتنوئید به ترتیب ۷۷/۶۳، ۶۰/۶، ۶۶/۶۷ و ۷۳/۳۲ درصد، ۱۹/۱۲ درصد، هیدرات‌های کربن (۵۳/۴۳ درصد)، عملکرد میوه (۶۰/۱ درصد) و درصد و عملکرد اسانس (۷۲/۷۸ و ۳۲/۲۸ درصد) به نسبت شاهد شد. نتایج حاصل از این تحقیق بیان داشت که کاربرد تنظیم‌کننده‌های زیستی با هدف کاهش مصرف کودهای شیمیایی، در افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی *Ammi visnaga* و همچنین پایداری تولید و حفظ محیط‌زیست تأثیر مثبتی داشته است.

واژه‌های کلیدی: اسانس، اسید آمینه، تنظیم‌کننده‌های زیستی، ترکیبات فنلی، *Ammi visnaga*

مقدمه

موضوع سلامت انسان و ثبات اکوسیستم‌ها را در معرض تهدید قرار می‌دهد (Nosengo, 2003)، به طوری که کودهای شیمیایی یکی از منابع مهم انتشار اکسید نیتروژن اتمسفری (N₂O) و در نتیجه گرمایش زمین می‌باشند (Erisman, 2004). گرایش جدید جامعه جهانی به سمت کشاورزی پایدار در راستای پایین آوردن استفاده از نهاده‌های مختلف شیمیایی و همچنین کاربرد تنظیم‌کننده‌های زیستی از اهمیت ویژه‌ای در افزایش تولید محصول و حفظ حاصلخیزی پایدار خاک برخوردار می‌باشند (Hamidi et al., 2005). تنظیم‌کننده‌های زیستی به عنوان ترکیبات شبه‌هورمونی عمل کرده که باعث تنظیم رشد سلولی و تمایز در گیاهان می‌شوند. این ترکیبات به دلیل طبیعی بودن ایمن بوده و خواص سمیت بسیار پایینی را دارا می‌باشند (Adisakwattana et al., 2012).

گرچه استفاده از کودهای زیستی در کشاورزی قدمت زیادی دارد، ولی بهره‌برداری علمی از این گونه منابع سابقه چندانی ندارد. هر چند

در طی چند دهه گذشته، رویکرد جهانی به سمت کشاورزی مدرن همچون سایر فعالیت‌های بشر باعث صدمه به منابع طبیعی و آلوده‌سازی و تخریب محیط زیست شده و سبب بر هم خوردن تعادل اکولوژیک شده است (Rezvani Moghaddam et al., 2009). افزایش بی‌رویه در مصرف کودهای شیمیایی منجر به افزایش هزینه و همچنین مصرف زیاد منابع فسیلی شده است، از طرفی دیگر باعث ورود مقدار زیادی از نیتروژن به خاک، اتمسفر و آب‌ها می‌شود. این

۱- دکتری بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

۲- کارشناسی ارشد آگرواکولوژی، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

۳- دانشیار اصلاح نباتات، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

*نویسنده مسئول: (Email: diakorasouli@znu.ac.ir)

DOI:10.22067/jag.v11i1.61527

تغییر خصوصیات کمی و کیفی گیاهان مورد استفاده قرار می‌گیرند (Wu et al., 2005). پژوهش‌های صورت گرفته بر روی اسیدهای آمینه نشان داده‌اند که این ترکیبات می‌توانند به طور مستقیم یا غیرمستقیم فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه را تحت تأثیر قرار دهند (Garde-Cerdán et al., 2014).

امروزه تنظیم کننده‌های رشد در حکم ابزارهای آگروشیمیایی مفیدی می‌باشند که گیاهان را در راستای مصرف کارآمدتر عناصر غذایی و تظاهر پتانسیل‌های ژنتیکی و فیزیولوژیکی یاری می‌دهند (Wu et al., 2005). کودهای زیستی به عنوان جایگزین مناسب برای کودهای شیمیایی، به منظور افزایش حاصلخیزی خاک در تولید محصولات کشاورزی ارگانیک مطرح می‌باشند (Wu et al., 2005). استفاده از تنظیم کننده‌های زیستی نه تنها مقدار کاربرد کودهای شیمیایی را کاهش می‌دهد، بلکه به ذخیره انرژی و کاهش آلودگی محیط کمک خواهد نمود (Belde et al., 2000).

با توجه به اهمیت و نقش گیاهان دارویی، نکته حائز اهمیت در تولید و پرورش این گونه‌های ارزشمند، افزایش تولید زیست توده آن‌ها بدون کاربرد نهاده‌های مضر شیمیایی اعم از کود یا سموم دفع آفات و علف‌های هرز می‌باشد. در این تحقیق با توجه به فواید تنظیم کننده‌های زیستی در افزایش تولید و راندمان محصول و همچنین حفظ محیط زیست از بقایای کودهای شیمیایی، آزمایشی به منظور تأثیر تنظیم کننده‌های زیستی بر صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و ترکیبات اسانس گیاه دارویی *A. visnaga* انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر تنظیم کننده‌های زیستی بر صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و ترکیبات اسانس گیاه *A. visnaga* آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه زابل در سال زراعی ۹۴-۱۳۹۳ اجرا شد. آزمایش در گلدان‌هایی به ابعاد ۲۰×۲۵ سانتی‌متر انجام گرفت. بذور از بانک ژن سازمان جنگل‌ها و مراتع کشور تهیه شد. ۱۰ عدد بذر در هر گلدان کشت شد و در نهایت سه بوته در هر گلدان نگهداری شد. هر واحد آزمایشی شامل دو گلدان بود. هر گلدان با حدود ۱/۵ کیلوگرم خاک پر شد.

کشت در اول آبان آغاز شد. گلدان‌ها به تعداد ۹۶ عدد بودند که به سه قسمت تقسیم شدند (۴۸ واحد آزمایشی). هر تکرار شامل ۳۲ گلدان (۳۲×۲) بود و تعداد تیمارها نیز به همراه شاهد ۱۶ عدد بودند. تیمارهای استفاده شده در این پژوهش شامل ترکیبات فنلی (اسید سالیسیلیک، اسید سینامیک و اسید بنزوئیک هر کدام در ۱۸ گلدان با سه سطح ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر) و اسید آمینه (فنیل آلانین و تیروزین هر کدام در ۱۸ گلدان با سه سطح ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰

کاربرد این کودها در چند دهه اخیر کاهش یافته ولی امروزه استفاده از آن‌ها مجدداً مطرح شده است (Astarai & Kocheiki, 1997).
Ammi visnaga (L.) Lam گیاه دارویی علفی متعلق به خانواده چتریان^۱ و بومی نواحی مدیترانه می‌باشد. این گیاه بازکننده عروق و ادرآور می‌باشد. علاوه بر این شل‌کننده عضلات بوده و قرن-ها برای تسکین دردهای سخت سنگ کلیه استفاده می‌شده است (Chevalier, 1996). دانه‌های این گیاه به عنوان یک داروی محلی ادرآور استفاده می‌شوند (Uphof, 1959). دانه این گیاه دارای اسانس است که حاوی ویزنامین^۲ یا خلین^۳ می‌باشد که برای درمان آسم استفاده می‌شود. دانه‌ها دارای خاصیت ضد اسپاسم بر روی عضلات برونش کوچک، بازکننده برونش، ادرار و عروق خونی بدون تأثیر بر فشار خون می‌باشند (Bown, 1995). اسانس این گیاه به واسطه تأثیر بر بیماری‌های عروق کرونر و آسم معروف است (Rose & Hulburd, 1992; Satrani et al., 2004). اجزای اصلی تشکیل دهنده اسانس این گیاه لینالول^۴، ایزوآمیل^۵ -۲ متیل بوتیرات^۶ و ایزوبنتیل ایزووالرات^۶ می‌باشد (Khadhri et al., 2011).

فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، تانن‌ها، هیدروکسی سینامیک استرها و لیگنین‌ها از ترکیبات فنلی و جزو متابولیت‌های ثانویه هستند که در بافت‌های گیاهی به وفور یافت می‌شوند. ترکیبات فنلی به عنوان یک نوع از تنظیم کننده‌های زیستی محسوب شده که در شرایط مطلوب محیطی در سلول‌های گیاهی سنتز می‌شوند و در فرایندهای مختلف گیاه مانند رشد و تولید مثل درگیر بوده و نیز به عنوان یک مکانیسم دفاعی در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده عمل می‌کنند (Cohen & Kennedy, 2010). این ترکیبات انتشار وسیعی در گیاهان داشته و فعالیت بیولوژیک متنوع آن‌ها از جمله آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌میکروبی و ضد التهاب آن‌ها در بسیاری از بررسی‌ها گزارش شده است (Jamshidi et al., 2010). خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌رادیکالی ترکیبات فنلی می‌تواند نقش مهمی در نگهداری محصولات غذایی و حفظ سلامتی انسان ایفاء نمایند. ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی می‌توانند با جمع‌آوری و احیای گونه‌های فعال اکسیژن از اکسیداسیون متابولیت‌های حیاتی سلول جلوگیری کرده، مانع بروز تنش اکسیداتیو در سلول‌های گیاهی شوند (Rice-Evans et al., 1997; Myung-Min et al., 2009).

اسیدهای آمینه امروزه به عنوان تنظیم کننده‌های زیستی در تولید بیشتر محصولات کشاورزی به منظور رسیدن به کشاورزی پایدار در

- 1- Umbelliferae
- 2- Visnammin
- 3- Khellin
- 4- Linalool
- 5- Isoamyl 2-methyl butyrate
- 6- Isopentyl isovalerate

روش لیچنتالر (Lichtenthaler, 1987) محاسبه شد. هیدرات‌های کربن کل، هیدرات‌های کربن محلول و هیدرات‌های کربن غیرمحلول، بر اساس روش اسید سولفوریک و با استفاده از اتانول ۹۵ درصد اندازه‌گیری شدند (Lrigoyen & Emerich, 1992). میوه‌های رسیده جمع‌آوری و در هوا خشک شدند. ۵۰ گرم از میوه‌های خشک شده با آسیاب پودر شدند. اسانس نمونه‌های پودر شده با اتر نفت ($60^{\circ}\text{C} - 40^{\circ}\text{C} - \text{PE}$) برای ۴۸ ساعت و در دمای اتاق استخراج شد. اسانس استخراج‌شده با یک روتاری با کاهش فشار تبخیر شده خشک شد. برای خارج کردن رطوبت از اسانس از سولفات سدیم بی‌آب استفاده شد سپس اسانس خالص در یخچال در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Ozturk et al., 2004).

میلی‌گرم بر لیتر) بودند. آب مقطر نیز به عنوان شاهد در شش گلدان بوده و همه تیمارهای استفاده شده به صورت محلول‌پاشی اعمال گردیدند. محلول‌پاشی ۳۰ روز پس از کاشت انجام شد. همچنین دو گرم سوپر فسفات کلسیم (۱۵/۵ درصد P_2O_5)، ۲ گرم سولفات آلومینیوم پنج درصد $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) و ۱۵ گرم سولفات پتاسیم ۴۸ درصد (K_2SO_4) به هر گلدان اضافه شد. اندازه‌گیری‌ها در مرحله رسیدگی (۲۱۰ روز پس از کاشت) و میوه‌دهی (۱۸۰ روز پس از کاشت) انجام شد (آخر اردیبهشت و آخر خرداد ماه). صفات رویشی شامل ارتفاع بوته، تعداد شاخه، تعداد چتر، وزن تر سرشاخه‌های گلدان و وزن خشک سرشاخه‌های گلدان برای هر گلدان اندازه‌گیری گردید. محتوای آب نسبی با روش پسرکلی (Pessarakli, 1999) بدست آمد. میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a, b و کاروتنوئید نیز از

جدول ۱- خصوصیات خاک گلدان‌ها
Table 1- Soil characteristics of pots

بافت خاک Soil texture	اسیدیته pH	هدایت الکتریکی EC	کربن آلی (درصد) Organic carbon (%)	مواد آلی (درصد) Organic materials (%)	نیتروژن (درصد) N (%)	فسفر (درصد) P (%)	پتاسیم (درصد) K (%)
شنی لومی Sandy loam	7.2	0.6	0.9	1.9	0.3	0.1	0.1

مقایسه میانگین داده‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام پذیرفت.

نتایج و بحث رشد رویشی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که رشد رویشی گیاه *A. visnaga* بر تمامی صفات رویشی شامل ارتفاع بوته، تعداد شاخه، تعداد چتر، وزن تر سرشاخه‌های گلدان و وزن خشک سرشاخه‌های گلدان در سطح احتمال یک درصد ($P \leq 0.01$) معنی‌دار بود (جدول ۲). در نتایج مقایسه میانگین صفات رویشی مشاهده گردید که حداکثر رشد رویشی گیاه مربوط به تیمار اسید بنزوئیک ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به شاهد (۴۶/۱۹ درصد) بود. همچنین تأثیر اسید آمینه (فنیل آلانین و تیروزین) باعث افزایش معنی‌دار صفات رویشی نسبت به شاهد (۲۸/۸ و ۲۳/۳۸ درصد) گردید ولی این افزایش به نسبت ترکیبات فنلی کمتر بود. کمترین رشد رویشی برای کلیه صفات رویشی مربوط به شاهد بود که به نسبت سایر تیمارها افزایش نشان نداد (جدول ۳).

ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس

ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل ۳۴۰۰ ساخت کارخانه واریان^۱ مجهز به طیف سنج جرمی^۲ (GC/MS)، ستون DB-5 و نیمه قطبی به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۲۵ میکرون و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون، دتکتور ایون تریپ^۳، گاز حامل هلیوم، سرعت جریان گاز حامل ۳۱/۵ سانتی-متر بر ثانیه و انرژی یونیزاسیون در طیف‌سنج جرمی معادل ۷۰ الکترون وات، برنامه حرارتی ۲۴۰-۶۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۴ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه و دمای محفظه تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و زمان اسکن یک ثانیه بود. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری آن‌ها و مقایسه آن با شاخص موجود در کتب مرجع و مقالات و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری صورت گرفت (Adams, 2001). درصد و عملکرد این ترکیب‌ها نیز با محاسبه سطوح زیر منحنی در کروماتوگراف‌ها محاسبه شد (Ozturk et al., 2004). برای تجزیه تحلیل داده‌ها از نسخه ۹/۲ نرم‌افزار آماری SAS و

1- Varian
2- Saturn II
3- Ion trap

جدول ۲ - تجزیه واریانس ویژگی‌های رشد و ویژگی‌های عملکرد میوه و اسانس *Ammi visnaga* (L.) تحت اثرات تنظیم‌کننده‌های زیستی مختلف
Table 2- Analysis of variance of vegetative growth characteristics, fruit and essential oil yield of *Ammi visnaga* (L.) under effects of different bio-regulators

منابع تغییر SOV	درجات		میانگین مربعات					
	df	Mean sum of squares	وزن خشک سرشاخه‌های گلدار	وزن تر سرشاخه‌های گلدار	محتوای آب نسبی RWC	کلروفیل a Chl a	کلروفیل b Chl b	کاروتنوئید Carotenoids
بلوک Block	2	29.14**	86.37**	0.83**	81.87**	0.44**	0.93**	0.173**
تیمار Treatment	15	360.54**	417.68**	171.28**	74.67**	18.04**	1.35**	2.250**
خطا Error	30	0.22	1.31	0.02	1.39	0.04	0.02	0.003
ضریب تغییرات (%) C.V (%)		0.47	2.24	0.37	6.38	3.51	6.61	1.91

ns, * and **: Non-significant and significant at the 5 and 1% levels of probability, respectively. ns: * and **: Non-significant and significant at the 5 and 1% levels of probability, respectively.

ادامه جدول ۲ - تجزیه واریانس ویژگی‌های رشد و ویژگی‌های عملکرد میوه و اسانس *Ammi visnaga* (L.) تحت اثرات تنظیم‌کننده‌های زیستی مختلف
Table 2- Analysis of variance of vegetative growth characteristics, fruit and essential oil yield of *Ammi visnaga* (L.) under effects of different bio-regulators

منابع تغییر SOV	درجات		میانگین مربعات					
	df	Mean sum of squares	کلروفیل a+ b (Chl a+Chl b)	کلروفیل a+ b (Chl a+Chl b)	عملکرد میوه Fruit yield	درصد اسانس Essential oil content	عملکرد اسانس Essential oil yield	
بلوک Block	2	1.10**	0.13**	24751.16**	909.77**	16170.30**	0.00016**	
تیمار Treatment	15	29.94**	0.32**	140884.28**	4036.11**	97347.51**	0.002704**	
خطا Error	30	0.07	0.01	700.78	13.51	557.86	0.00001	
ضریب تغییرات (%) C.V (%)		3.55	3.89	2.16	1.79	2.32	4.13	

ns: * and **: Non-significant and significant at the 5 and 1% levels of probability, respectively.

جدول ۳- مقایسه میانگین ویژگی‌های رشد، رویش، عملکرد میوه و اسانس *Ammi visnaga* (L.) تحت اثرات تنظیم‌کننده‌های زیستی مختلف

تیمار Treatment	سطوح Levels	ارتفاع بوته Plant height (cm)	تعداد شاخه Branch No.	تعداد چتر Umbel No.	گلداز Fresh weight of herb (g)	گلداز Dry weight of herb (g)	وزن خشک سر شاخه‌های وزن تر سر شاخه‌های	محتوای آب نسبی RWC (%)	کلروفیل a Chl a (µg.gFW)	کلروفیل b Chl b (µg.gFW)	کاروتنوئید Carotenoids (µg.gFW)
شاهد Control	-	80.23 ¹	4.07 ^b	17.50 ^b	28.23 ¹	25.33 ^b		11.10 ^b	2.40 ^b	1.43 ¹	1.50 ^a
تیروزین Tyrosine	50	82.17 ^a	4.80 ^b	21.73 ^a	32.23 ²	28.83 ^a		12.57 ^{ab}	2.70 ^a	1.53 ^{ab}	1.80 ¹
	100	90.50 ¹	5.40 ^f	24.67 ^{ef}	45.57 ^b	40.06 ^a		14.07 ^{de}	4.07 ¹	1.90 ^{ef}	2.07 ¹
	200	98.83 ²	6.00 ^f	25.53 ^e	54.33 ^{ef}	47.63 ^a		14.93 ^{ef}	4.97 ^a	2.00 ^f	2.57 ^b
فیل‌الانین Phenylalanine	50	88.87 ¹	5.60 ^f	25.50 ^e	39.30 ¹	35.07 ^b		14.57 ^{ef}	3.03 ¹	1.60 ^{ab}	1.77 ¹
	100	92.73 ²	5.97 ^e	25.77 ^e	48.40 ²	41.93 ^a		16.60 ^{ef}	4.40 ¹	1.83 ^{ef}	2.60 ²
	200	98.87 ³	6.97 ^e	28.77 ^d	56.10 ³	45.57 ^b		20.43 ^c	5.67 ¹	2.37 ^d	2.90 ¹
اسید بنزویک Benzoic acid	5	103.47 ⁴	7.80 ^b	29.50 ^d	59.90 ⁴	47.10 ¹		21.83 ^c	6.20 ¹	2.37 ^d	3.67 ^a
	10	113.00 ⁵	7.80 ^b	30.80 ^b	63.10 ⁵	48.47 ¹		25.40 ^b	10.07 ¹	3.33 ^b	3.90 ^b
	20	117.70 ⁶	9.90 ^a	39.23 ^a	69.67 ⁶	52.26 ¹		27.87 ^b	10.73 ^a	3.63 ^a	4.50 ^a
اسید سیتمائیک Tarnis-cinnamic acid	5	99.73 ³	6.07 ^e	24.43 ^{ef}	45.53 ^b	39.80 ¹		15.77 ^{ef}	3.73 ¹	1.67 ^{ef}	2.10 ¹
	10	108.10 ⁴	7.07 ^e	31.13 ^b	52.83 ^c	43.60 ¹		18.30 ^{cd}	6.20 ¹	2.50 ^{cd}	3.07 ^a
	20	113.70 ⁵	7.80 ^b	31.67 ^b	64.70 ²	50.10 ¹		24.27 ^{ef}	8.57 ¹	3.10 ^b	3.77 ^a
اسید سالیسیلیک Salicylic acid	5	90.00 ¹	5.97 ^e	23.90 ^f	42.07 ¹	37.30 ²		15.47 ^{ef}	3.93 ¹	1.73 ^{ef}	2.10 ¹
	10	95.03 ²	6.50 ^d	25.20 ^{ef}	52.47 ²	44.50 ¹		18.27 ^{ef}	4.90 ¹	1.97 ^e	2.50 ¹
	20	99.13 ³	7.80 ^b	30.70 ^{bc}	62.43 ³	47.93 ¹		24.13 ^b	6.77 ¹	2.70 ^d	2.87 ¹

* Means, in each column followed by at least on letter in common are not significantly different at 5% probability level, using Duncan's multiple range test.

جدول ۳- مقایسه میانگین ویژگی‌های رشد، رویش، عملکرد میوه و اسانس *Ammi visnaga* (L.) تحت اثرات تنظیم‌کننده‌های زیستی مختلف

تیمار Treatment	سطوح Levels	کلروفیل +a کلروفیل b Chl a+Chl b (µg.gFW)	کاروتنوئید (Chl a+Chl b)/Carotenoids	کل Total carbohydrates (µg.Glu.gFW)	محلول Soluble carbohydrate (µg.Glu.gFW)	محلول Insoluble carbohydrate (µg.Glu.gFW)	هیدرات‌های کربن غیر محلول	هیدرات‌های کربن محلول	میوه Fruit yield (g/plant)	درصد اسانس Essential oil content (%)	عملکرد اسانس Essential oil yield (ml)
شاهد Control	-	3.83 ¹	2.58 ^{ef}	772.85 ¹	123.80 ^a	649.05 ¹			3.95 ^o	1.007 ^k	0.040 ¹
تیروزین Tyrosine	50	4.23 ^{k1}	2.37 ^g	912.20 ¹	152.10 ¹	760.10 ¹			4.15 ⁿ	1.057 ^l	0.043 ¹
	100	5.97 ^{hi}	2.90 ^d	1061.55 ²	176.95 ¹	884.60 ¹			4.65 ^l	1.127 ^l	0.050 ¹
	200	6.97 ^g	2.72 ^{de}	1101.35 ²	188.50 ²	912.85 ¹			5.90 ^h	1.467 ^h	0.086 ¹
فیل‌الانین Phenylalanine	50	4.63 ^k	2.63 ^e	1075.90 ¹	184.35 ¹	891.55 ¹			4.50 ^m	1.267 ^g	0.057 ^h
	100	6.23 ^h	2.40 ^g	1156.65 ²	192.70 ¹	963.95 ¹			5.95 ^g	1.390 ^l	0.083 ¹
	200	8.03 ^f	2.77 ^{de}	1259.60 ²	209.90 ¹	1049.70 ¹			6.95 ^c	1.487 ^h	0.103 ¹
اسید بنزویک Benzoic acid	5	8.57 ^e	2.34 ^g	1356.45 ³	231.10 ¹	1125.35 ¹			6.95 ^c	1.370 ^l	0.097 ^a
	10	13.40 ^b	3.43 ^a	1494.95 ⁴	249.10 ¹	1245.85 ¹			8.75 ^b	1.390 ^l	0.120 ¹
	20	14.36 ^a	3.19 ^{bc}	1649.85 ⁴	274.95 ¹	1374.90 ¹			9.90 ^a	1.487 ^h	0.147 ¹
اسید سیتمائیک Tarnis-cinnamic acid	5	5.40 ¹	2.57 ^{ef}	1180.60 ¹	200.75 ¹	979.85 ¹			5.85 ⁱ	1.220 ^h	0.070 ^b
	10	8.70 ^f	2.83 ^d	1329.70 ²	221.55 ¹	1108.15 ²			6.80 ^f	1.350 ^l	0.093 ^c
	20	11.67 ^e	3.10 ^d	1406.70 ²	234.45 ¹	1172.25 ²			7.55 ^d	1.437 ^e	0.110 ¹
اسید سالیسیلیک Salicylic acid	5	5.67 ^h	2.70 ^{de}	1199.95 ¹	200.05 ¹	999.90 ¹			4.90 ^k	1.140 ¹	0.057 ^h
	10	6.87 ^g	2.75 ^{de}	1298.40 ¹	216.45 ¹	1081.95 ¹			5.03 ^j	1.367 ^{ef}	0.070 ^b
	20	9.47 ^d	3.30 ^{ab}	1322.20 ²	222.15 ¹	1100.05 ²			7.00 ^l	1.477 ^{ab}	0.103 ¹

رنگیزه‌های فتوسنتزی

همه رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید، کلروفیل a + کلروفیل b و (کلروفیل a + کلروفیل b) / کارتنوئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشترین کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید، کلروفیل a + کلروفیل b مربوط به تیمار اسید بنزوئیک ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به شاهد (۷۷/۶۳، ۶۰/۱۶، ۶۶/۶۷ و ۷۳/۳۲ درصد به ترتیب) مشاهده گردید. بیشترین (کلروفیل a + کلروفیل b) / کارتنوئید مربوط به تیمار اسید بنزوئیک ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به شاهد (۲۴/۷۸ درصد) و کمترین میزان آن نیز مربوط به اسید بنزوئیک ۵ میلی‌گرم بر لیتر و تیروزین ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر به نسبت شاهد (۱۰/۲۵ و ۸/۸۶ درصد) بود. در کلیه رنگیزه‌های مورد بررسی به غیر از (کلروفیل a + کلروفیل b) / کارتنوئید سایر تیمارها افزایش معنی‌داری به نسبت شاهد بر رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه *A. visnaga* داشتند (جدول ۳). میزان کلروفیل در گیاهان زنده یکی از فاکتورهای مهم حفظ ظرفیت فتوسنتزی است (Jiang & Huang, 2001). کانگ و وانگ (Kang & Wang, 2003) بیان داشتند که ترکیبات فنلی نظیر اسید بنزوئیک و اسید سینامیک به عنوان ماده شبه‌هورمونی نقش مهمی در تنظیم رشد و نمو گیاه دارند و در تنظیم فرایندهای مختلفی مانند جوانه‌زنی بذر، افزایش میزان فتوسنتز و محتوای کلروفیل، بسته شدن روزنه و مهار بیوسنتز اتیلن گیاه ایفای نقش می‌کنند. تنظیم‌کننده‌های زیستی از طریق اثرات مثبت فیزیولوژیکی از جمله اثر بر متابولیسم سلول‌های گیاهی و افزایش غلظت کلروفیل برگ باعث افزایش عملکرد در گیاهان می‌شوند (Nardi et al., 2002). با افزایش غلظت ترکیبات استفاده شده میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئید افزایش معنی‌دار داشت که این امر بیانگر افزایش متابولیسم فتوسنتزی گیاه با استفاده از غلظت‌های بالای این ترکیبات بوده است.

هیدرات‌های کربن

هیدرات‌های کربن کل، هیدرات‌های کربن محلول و هیدرات‌های کربن غیرمحلول در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین نیز نشان داد که در هر سه نوع هیدرات کربن بیشترین میزان مربوط به تیمار اسید بنزوئیک ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به شاهد (۵۳/۴۳ درصد) بود که باعث افزایش معنی‌دار هیدرات‌های کربن به نسبت سایر تیمارها گردید. کمترین میزان هیدرات‌های کربن کل، محلول و غیرمحلول مربوط به شاهد بود. بعد از اسید بنزوئیک ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر، اسید بنزوئیک ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث بیشترین میزان هیدرات‌های کربن نسبت به شاهد (۴۸/۶۰ درصد) گردید که در هر سه نوع هیدرات کربن اختلاف معنی‌داری بین

گزارش شده است که اسید بنزوئیک به عنوان یک نوع از ترکیبات فنلی باعث افزایش صفات رویشی نظیر ارتفاع بوته، طول ساقه، تعداد شاخه و قطر ساقه گل دهنده در گیاه مریم‌گلی (*Salvia officinalis* Linn. شده است (Preeti & Nagarja et al., 1999). Gogoi, 1997). پرز و همکاران (Perez et al., 2014) گزارش کردند که محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک به عنوان یک ترکیب فنلی باعث افزایش رشد برگ و ساقه در گیاه نعنای فلفلی (*Mentha piperita* L. شده است؛ به طوری که اسید سالیسیلیک به عنوان یک فعال‌کننده ترکیبات زیستی^۱ تأثیر مستقیمی در رشد رویشی گیاه داشته است. بنابراین، می‌توان بیان داشت که ترکیبات فنلی و اسیدهای آمینه به عنوان تنظیم‌کننده‌های زیستی در شرایط مطلوب محیطی در سلول‌های گیاهی باعث افزایش سنتز این ترکیبات شده در نتیجه در فرایندهای مختلف گیاه نظیر افزایش رشد و تولید مثل ایفای نقش می‌کنند. در این تحقیق نیز مشاهده گردید که اسید بنزوئیک و اسید سالیسیلیک به عنوان ترکیبات فنلی به نسبت اسیدهای آمینه فنیل آلانین و تیروزین تأثیر بیشتری بر افزایش رشد رویشی گیاه داشتند که احتمالاً سنتز بیشتر این ترکیبات در سلول‌های گیاهی باعث این افزایش رشد شده است.

محتوای آب نسبی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که محتوای آب نسبی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین محتوای آب نسبی مشخص کرد که بیشترین میزان آن مربوط به تیمار اسید بنزوئیک ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر نسبت به شاهد (۶۰/۱۷ درصد) و کمترین مربوط به شاهد بود. همچنین تیمارهای اسید بنزوئیک ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر، اسید سینامیک ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر و اسید سالیسیلیک ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر بعد از اسید بنزوئیک ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر بیشترین تأثیر را بر محتوای آب نسبی نسبت به شاهد (۵۶/۲۹، ۵۴/۲۶ و ۵۳/۹۹ درصد به ترتیب) داشتند که اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نشد. از طرفی اسید آمینه‌های تیروزین و فنیل آلانین باعث افزایش معنی‌دار محتوای آب نسبی به نسبت شاهد (۲۵/۴۶ و ۱۹/۸۵ درصد) گردیدند که این افزایش به نسبت ترکیبات فنلی معنی‌داری کمتری داشت (جدول ۳). به نظر می‌رسد تنظیم‌کننده‌های زیستی باعث افزایش محتوای آب نسبی در گیاه *A. visnaga* شده‌اند؛ به طوری که با افزایش غلظت تیمارهای استفاده شده نسبت محتوای آب نسبی نیز افزایش یافت. در این تحقیق محتوای آب نسبی گیاه به شدت توسط تنظیم‌کننده‌های اسید سالیسیلیک، اسید سینامیک و اسید بنزوئیک افزایش نشان داد که این امر ممکن است به دلیل افزایش رشد رویشی و در نتیجه افزایش عملکرد گیاه باشد.

1- Bioactive compounds

معنی‌داری با هم نداشتند، در حالی که کمترین درصد و عملکرد اسانس مربوط به شاهد بود که افزایش معنی‌داری نشان نداد. سایر تیمارهای اعمال شده نیز باعث افزایش درصد و عملکرد اسانس شدند به طوری - که به نسبت شاهد اختلاف معنی‌دار بود (جدول ۳). بنابراین، مشخص شد که ترکیبات فنلی و اسیدهای آمینه استفاده شده باعث افزایش معنی‌دار درصد و عملکرد اسانس شد که با توجه به افزایش پارامترهای اندازه‌گیری شده تحت تیمارها افزایش درصد و عملکرد اسانس قابل پیش‌بینی بود.

ترکیبات اسانس

نوع و میزان ترکیب‌های سازنده اسانس در بخش هوایی گیاه *A. visnaga* پس از استخراج، با دستگاه GC/MS تعیین شدند (جدول ۴). ترکیب غالب اسانس بخش هوایی این گیاه در تحقیق حاضر در گروه شاهد و گروه تحت تیمار شامل دی‌متیل بوتانوئیک اسید، ایزوبوتیل ایزوبوتیرات، تیمول و کرواسین بودند. در این تحقیق همه تیمارهای اعمال شده بر بافت سبز گیاه *Lam. (L.) Ammi visnaga* باعث افزایش درصد اسانس شدند. بیشترین میزان دی‌متیل بوتانوئیک اسید تحت تیمارهای اسید سالیسیلیک ۵ میلی‌گرم بر لیتر و تیروزین ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بود که به نسبت شاهد به ترتیب ۶۸ و ۶۶/۵ درصد افزایش نشان داد. بیشترین درصد ترکیب ایزوبوتیل ایزوبوتیرات مربوط به تیمارهای تیروزین ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بود که افزایش ۶۳/۴ و ۶۴ درصدی را باعث شد، همچنین کمترین درصد آن مربوط به تیمار اسید سالیسیلیک ۵ میلی‌گرم بر لیتر (۵۰/۳ درصد) بود که باعث کاهش شدید ایزوبوتیل ایزوبوتیرات شد در حالی - که افزایش غلظت اسید سالیسیلیک بر میزان این ترکیب افزود. بیشترین و کمترین میزان تیمول مربوط به تیمارهای تیروزین ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و اسید سینامیک ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر (به ترتیب ۷۵/۵ و ۴۶/۸ درصد) بود. با افزایش غلظت تیمارهای فنیل آلانین، اسید سینامیک و اسید سالیسیلیک از میزان ترکیب تیمول کاسته شد. بیشترین ترکیب کرواسین مربوط به تیمارهای اسید بنزوئیک ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر و اسید سالیسیلیک ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر (به ترتیب ۹۰ و ۸۹/۵ درصد) بود. همچنین کمترین میزان ترکیب کرواسین مربوط به شاهد بود که در مقایسه با محلول پاشی تیمارهای مورد نظر افزایشی مشاهده نشد.

آن‌ها مشاهده نشد. همچنین سایر تیمارها باعث افزایش معنی‌دار هیدرات کربن به نسبت شاهد شد. گزارشات متعددی نشان داده‌اند که ترکیبات فنلی باعث افزایش میزان کربوهیدرات کل در گیاه می‌شوند؛ به طوری که این ترکیبات با تأثیر در مسیر متابولیسمی کربوهیدرات باعث افزایش آن از طریق ساخت پیش‌سازهای مربوط به قند مورد نیاز گیاه می‌باشند (Ghasemzadeh & Jaafar, 2012; Ibrahim & Jaafar, 2011). در این تحقیق مشخص شد که با افزایش غلظت اسید بنزوئیک به عنوان یک ترکیب فنلی بیشترین میزان هیدرات کربن بدست آمد. همچنین غلظت‌های بالای اسید سینامیک و اسید سالیسیلیک نیز بیشترین میزان هیدرات کربن را بعد از اسید بنزوئیک باعث شدند که مشخص کرد اگرچه تیروزین و فنیل آلانین به عنوان اسیدهای آمینه باعث افزایش هیدرات کربن گردیدند اما این افزایش به نسبت ترکیبات فنلی بسیار پایین‌تر مشاهده شد که با یافته‌های قاسم‌زاده و جافر (Ghasemzadeh & Jaafar, 2012) مطابقت دارد.

عملکرد میوه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که عملکرد میوه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشترین میزان عملکرد میوه مربوط به تیمار اسید بنزوئیک ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر بود (۶۰/۱ درصد) که اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت. همچنین کمترین عملکرد میوه مربوط به شاهد بود که به نسبت محلول پاشی تیمارهای مورد نظر افزایش معنی‌داری نداشت. یانگ و همکاران (Yang et al., 2015) بیان داشتند که اسید بنزوئیک، اسید سینامیک و اسید فرولیک با تأثیر بر رشد گیاه باعث افزایش عملکرد میوه خربزه شدند که در این بین، اسید بنزوئیک بیشترین تأثیر را در افزایش عملکرد داشت. با توجه به اینکه اسید بنزوئیک بیشترین تأثیر را در افزایش عملکرد میوه *A. visnaga* داشته است می‌توان آن را جهت افزایش عملکرد میوه توصیه نمود. همچنین سایر تیمارهای اعمال شده در این تحقیق نشان دادند که باعث افزایش عملکرد میوه در گیاه *A. visnaga* می‌شوند (جدول ۳) که استفاده از هر کدام از این تیمارها را می‌توان به عنوان تنظیم‌کننده‌های زیستی مد نظر جهت افزایش عملکرد میوه قرار داد.

درصد و عملکرد اسانس

درصد و عملکرد اسانس در گیاه *A. visnaga* در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). در مقایسه میانگین داده‌ها مشاهده شد که بیشترین عملکرد اسانس مربوط به تیمار اسید بنزوئیک ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر (۷۲/۷۸ درصد) و بیشترین درصد اسانس مربوط به تیمارهای اسید بنزوئیک ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر و فنیل آلانین ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (۳۲/۲۷ درصد) نسبت به شاهد بود که اختلاف

تاگوچی و همکاران (Taguchi et al., 2001) بیان داشتند که اسید سالیسیلیک به عنوان یکی از تنظیم کننده های زیستی سبب افزایش بیان ژن های مربوط به بیوسنتز و تولید گروهی از متابولیت های ثانویه در گیاهان می شود. در دو گیاه ریحان (*Ocimum basilicum L.*) و نعناع (*Mentha piperita L.*) گزارش شده که بالا بودن تراکم غده های مترشحه اسانس در اثر کاهش سطح برگ ناشی از اعمال تیمار، باعث تجمع بیش تر اسانس می شود (Charles et al., 1990; Sajjadi et al., 2016). در این آزمایش نیز شاید بتوان درصد بالای اسانس برای برخی ترکیبات غالب در گیاه *A. visnaga* را در تیمارهای ترکیبات فنلی و اسید آمینه با افزایش تراکم غده های ترشح کننده اسانس توجیه کرد. علاوه بر ترکیب های غالب سازنده اسانس، در بخش هوایی گیاه *A. visnaga* حدود ۱۰ ترکیب دیگر نیز شناسایی شدند که تأثیر تیمارها بر این ترکیبات در مقایسه با نمونه های شاهد تفاوت قابل ملاحظه نداشتند.

نتیجه گیری

نتایج به دست آمده نشان داد که تیمارهای استفاده شده در این تحقیق به عنوان تنظیم کننده های زیستی اگرچه باعث افزایش صفات مورد بررسی شده اما ترکیبات فنلی نظیر اسید بنزوئیک ۲۰ میلی گرم بر لیتر تأثیر بیشتری در افزایش مقادیر این صفات داشته است. با توجه به ضرورت تولید گیاهان دارویی در نظام های زراعی و لزوم توجه به کشت این گیاهان در نظام های کم نهاده، به نظر می رسد تنظیم کننده های زیستی جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی در تولید این گیاهان باشند. بنابراین استفاده از تنظیم کننده های رشد به عنوان محرک های شبه هورمونی، گیاه را در راستای مصرف کارآمد عناصر غذایی و همچنین تنظیم رشد سلولی و تمایز یاری می دهند. بطور کلی، نتایج این تحقیق حاکی از آن است که کاربرد تنظیم کننده های زیستی، در بهبود عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی *A. visnaga* و همچنین پایداری تولید و حفظ محیط زیست تأثیر مثبتی داشته است. از این رو استفاده از اسید بنزوئیک به عنوان یک تنظیم کننده زیستی را می توان برای افزایش تولید و راندمان گیاه *Ammi visnaga (L.)* پیشنهاد نمود.

جدول ۴- اثر تنظیم کننده های زیستی بر ترکیبات اسانس *Ammi visnaga (L.)*
Table 4- effect of bio-regulators on essential oil composition of *Ammi visnaga (L.)*

Componants	شاخص بازداری KI	شاهد Control	تیمارها Treatments														
			تیروزین Tyrosine (%)			فنیل آلانین Phenylalanine (%)			اسید بنزوئیک Benzoic acid (%)			اسید سینمیک Tarnus-cinnamic acid (%)			اسید سالیسیلیک Salicylic acid (%)		
			50 mg/l	100 mg/l	200 mg/l	50 mg/l	100 mg/l	200 mg/l	5 mg/l	10 mg/l	20 mg/l	5 mg/l	10 mg/l	20 mg/l	5 mg/l	10 mg/l	20 mg/l
α -Thujene	931	0.9	2.5	1.3	1.0	1.2	1.9	2.1	1.1	2.4	3.9	2.2	1.4	0.9	1.5	2.2	3.9
Myrcene	991	0.8	2.0	3.4	8.0	3.6	3.7	1.2	2.8	3.7	1.9	1.4	1.2	2.1	3.4	4.9	4.9
Isobutyl isobutyrate	1004	12.9	20.6	35.3	35.9	18.9	19.6	24.1	14.8	24.3	29.9	11.4	24.4	32.6	6.4	16.5	25.6
Linalool	1029	0.9	2.9	1.6	1.3	3.3	1.3	0.9	0.8	2.4	4.5	2.1	1.4	1.1	1.1	2.5	2.6
2,2-Dimethylbutanoic acid	1108	18.9	35.4	55.4	56.4	20.6	38.8	39.5	55.0	25.9	21.1	27.4	36.5	38.6	59.0	34.4	31.2
α -Isophorone	1121	0.4	0.9	1.9	3.0	2.7	6.2	6.2	11.9	16.7	19.6	13.8	19.3	21.1	6.4	11.3	13.8
Fenchyl acetate	1220	1.3	3.8	2.9	2.5	7.8	5.0	4.2	1.0	3.2	4.8	7.0	6.2	3.2	3.7	4.7	6.5
Bornyl acetate	1289	0.4	1.7	4.4	7.8	2.6	2.9	3.5	0.8	1.2	4.3	5.3	3.5	2.3	0.9	1.8	2.0
Thymol	1290	3.2	8.5	10.8	13.1	9.3	2.8	2.4	2.1	5.2	7.0	8.0	4.8	1.7	6.7	6.3	5.7
Geranyl acetate	1381	0.1	0.2	0.3	1.4	4.9	7.6	9.1	11.5	8.4	5.2	3.8	11.2	12.7	0.9	6.9	7.5
Lavandulyl acetate	1439	0.1	0.1	0.2	0.7	7.6	3.0	1.4	1.4	4.0	3.7	2.7	1.7	1.1	2.2	0.9	-
Citronellyl propionate	1446	0.2	0.3	0.6	5.6	7.9	3.3	0.9	1.0	3.7	5.3	1.6	1.3	1.2	3.1	2.4	1.6
Croweacin	1460	1.6	4.7	5.5	6.7	8.1	11.0	12.1	10.4	15.0	15.9	2.2	2.8	3.3	6.0	8.7	15.3
α -Damascone	1689	-	-	0.4	1.5	2.1	1.0	-	3.2	4.9	5.7	2.7	1.4	-	1.2	2.2	3.1
(Z,E)-farnesal	1701	-	-	0.6	1.1	1.4	0.8	-	3.8	4.1	5.4	2.9	2.1	1.7	1.7	2.4	2.9

- Adams, R.P. 2001. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/ uadrupole Mass Spectroscopy. Allured: Carol Stream. USA.
- Adisakwattana, S., Sompong, W., Meeprom, A., Ngamukote, S., and Yibchok-Anun, S. 2012. Cinnamic acid and its derivatives inhibit fructose-mediated protein glycation. *International Journal of Molecular Sciences* 13: 1778-1789.
- Astarai, A., and Koocheki, A. 1997. The Use of Biological Fertilizers in Sustainable Agriculture. Mashhad ID Press, Mashhad, Iran. (In Persian)
- Belde, M., Matteis, A., Sprengle, B., Albrecht, B., and Hurle, H. 2000. Long- term development of yield affecting weeds after the change from conventional to integrated and organic farming. In: proceeding 20 German Conference on weed Biology and Weed Control 17: 291-301.
- Bown, D. 1995. Encyclopaedia of Herbs and their Uses. Dorling Kindersley, London, ISBN 0-7513-020-31.
- Charles, D.J., Joly, R.J., and Simon, J.E. 1990. Effect of osmotic stress on the essential oil content and composition of peppermint. *Photochemistry* 29(9): 2837-2840.
- Ghasemzadeh, A., and Jaafar, H. 2012. Effect of salicylic acid application on biochemical changes in ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Journal of Medicinal Plants Research* 6: 790-795.
- Chevalier, A. 1996. The Encyclopedia of Medicinal Plants. Dorling Kindersley, London. ISBN 9-780751-303148.
- Cohen, S., and Kennedy, J. 2010. Plant metabolism and the environment: Implications for managing phenolics. *Food Science and Nutrition* 50: 620-643.
- Erisman, J.W. 2004. The Nanjing declaration on management of reactive nitrogen. *Bioscience* 54: 4286-4287.
- Garde-Cerdán, T., López, R., Portu, J., González-Arenzana, L., López-Alfaro, I., and Santamaría, P. 2014. Study of the effects of proline, phenylalanine, and urea foliar application to Tempranillo vineyards on grape amino acid content. Comparison with commercial nitrogen fertilizers. *Food Chemistry* 163: 136-141.
- Hamidi, A., Ghalavand, A., Dehghan, M., Malakuti, M.J., Asgharzade, A., and Chokan, R. 2005. The effect of application of plant growth promoting rhizobacteria on the yield of fodder maize (*Zea mays* L.). *Pajouhesh and Sazandegi* 70: 16-22. (In Persian with English Summary)
- Ibrahim, M., and Jaafar, H. 2011. Involvement of carbohydrate, protein and phenylalanine ammonialyase in up-regulation of secondary metabolites in *Labisia pumila* under various CO₂ and N₂ levels. *Molecules* 16: 4172-4190.
- Jamshidi, M., Ahmadi, H.R., Rezazadeh, S.h., Fathi, F., and Mazanderani, M. 2010. Study on phenolic and antioxidant activity of some selected plant of Mazandaran province. *Journal of Medical Planats* 9(34): 177-183. (In Persian with English Summary)
- Jiang, Y., and Huang, N. 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. *Crop Science* 41: 436-442.
- Kang, C., and Wang, C.H. 2003. Salicylic acid changes activities of H₂O₂ metabolizing enzymes and increases the chilling tolerance of banana seedlings. *Environment and Experimental Botany* 9-15.
- Khadhri, A., El Mokni, R., Mguis, K., Ouerfelli, I., and Eduarda, M.M.A. 2011. Variability of two essential oils of *Ammi visnaga* (L) Lam. a traditional Tunisian medicinal plant. *Journal of Medicinal Plants Research* 5(20): 5079-5082.
- Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
- Lrigoyen, J.J., and Emerich, D.W. 1992. Water stress induced changes in concentration of praline and total soluble sugars in modulates alfalfa (*Medicago satire*) plants. *Physiologic Planetarium* 84: 55-60.
- Myung-Min, H., Trick, H.N., and Rajasheka, E.B. 2009. Secondary metabolism and antioxidant are involved in environmental adaptation and stress tolerance in lettuce. *Journal of Plant Physiology* 166: 180-191.
- Nagarja, G., Gowda J., and Farooqi, A. 1999. Effect of growth regulators on growth and flowering of *Tuberosa* cv. Single. *Karantaka Journal of Agriculture Science* 12: 234-238.
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A., and Vianello, A. 2002. Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biology and Biochemistry* 34: 1527-1536.
- Nosengo, N. 2003. Fertilized to death. *Nature* 425: 894.895.
- Ozturk, A., Unlukara, A., Ipek, A., and Gurbuz, B. 2004. Effects of Salt Stress and Water Deficit on Plant Growth and Essential oil Content of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.). *Pakistan Journal of Botany* 36(4): 787-792.
- Pérez, M.G.F., Rocha-Guzmán, N.E., Mercado-Silva, E., Loarca-Piña, G., and Reynoso-Camacho, R. 2014. Effect of chemical elicitors on peppermint (*Mentha piperita*) plants and their impact on the metabolite profile and antioxidant capacity of resulting infusions. *Food Chemistry* 156: 273-278.
- Pessarakli, M. 1999. Handbook of Plant and Crop Stress. Marcel Dekker Inc.

- Preeti, H., and Gogoi, S. 1997. Effects of preplant chemical treatment of bulbs on growth and flowering of *Polianthes tuberosa* cv. Single. *Annals Biology* 13: 145-149.
- Rezvani Moghaddam, P., Raoofi, M.R., Rashed Mohassel, M.H., and Moradi, R. 2009. Evaluation of sowing patterns and weed control on mung bean (*Vigna radiate* L. Wilczek)- black cumin (*Nigella sativa* L.) intercropping system. *Journal of Agroecology* 1(1): 65-79. (In Persian with English Summary)
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., and Paganga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Science* 2: 152-159.
- Rose, J., and Hulburd, J. 1992. *The Aromatherapy Book Applications and Inhalations*. North Atlantic Books, Health & Fitness 375 pp.
- Sajjadi Niaki, H., Darzi, M.T., and Haj Seyed Hadi, M.R. 2016. Effects of vermicompst and nitroxin biofertilizer on quantity and quality of essential oil of dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.). *Journal of Agroecology* 8(2): 241-250. (In Persian with English Summary)
- Satrani, B., Farah, A., Fechtal, M., Talbi, M., and Bouamri, M.L. 2004. Chemical composition and antimicrobial and antifungal activities of the essential oil of *Ammi visnaga* (L.) Lam from Morocco. *Acta Botanica Gallica* 151 (1): 65-71.
- Taguchi, G., Yazawa, T., Hayashida, N., and Okazaki, M. 2001. Molecular cloning and heterologous expression of novel glucosyltransferases from tobacco cultured cells that have broad substrate specificity and are induced by salicylic acid and auxin. *European Journal of Biochemistry* 268(14): 4086-4094.
- Uphof, J.C.T. 1959. *Dictionary of Economic Plants*. Science 890 pp.
- Wu, S.C., Caob, Z.H., Lib, Z.G., Cheunga, K.C., and Wong, M.H. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: A greenhouse trial. *Geoderma* 125: 155-166.
- Yang, R.X., Gao, Z.G., Liu, X., Yao, Y., Cheng, Y., Huang, J., and McDermott, M.I. 2015. Effects of phenolic compounds of muskmelon root exudates on growth and pathogenic gene expression of *Fusarium oxysporum* f. sp. melonis. *Allelopathy Journal* 35(2): 175-186.



Effects of Bio-Regulators on Morphological and Physiological Traits and Essential Oil of *Ammi visnaga* (L.) Lam

D. Rasouli^{1*}, R. Mohammadpour Vashvaei² and B.A. Fakheri³

Submitted: 03-01-2017

Accepted: 06-08-2017

Rasouli, D., Mohammadpour Vashvaei, R., and Fakheri, B.A. 2019. Effects of bio-regulators on morphological and physiological traits and essential oil of *Ammi visnaga* (L.) Lam. Journal of Agroecology. 11(1):309-320.

Introduction

Ammi visnaga (L.) Lam is a herbaceous medicinal plant and belongs to Umbelliferae family. It is native to the Mediterranean region. *A. visnaga* is well known as a source of essential oil and is especially cultivated for its therapeutic properties (diaphoretic, carminative, antispasmodic, antiseptic, tonic,) being used in traditional medicine systems in many countries. Essential oil of *A. visnaga* is known for its properties against coronary diseases and bronchial asthma. Phenolic compounds considered as a kind of bio-regulators which are synthesized in the environmental conditions in plant cells. These compounds are involved in various processes of plant growth and reproduction as well as a defense mechanism against biotic and abiotic stresses. Amino acids as bio-regulators have been identified as an alternative to chemical fertilizer to increase soil fertility and crop production in sustainable farming. Therefore, the main objective of the present field experiment was to investigate the effects of bio-regulators on morphological and physiological traits and essential oil of *A. visnaga*.

Materials and Methods

A factorial experiment was performed based on a randomized complete block design (RCBD) at Agricultural Research Institute of Zabol University in 2014-15. The experiment was conducted in pots with a height of 20 cm and a diameter of 33 cm. The treatments used in this study consisted phenolic compounds (salicylic acid, trans-cinnamic acid and benzoic acid with three levels of 5, 10 and 20 mg l⁻¹) and amino acids (phenylalanine and tyrosine with three levels of 50, 100 and 200 mg l⁻¹). Distilled water was used as control. All treatments were applied by foliar application and spraying was done 30 days after planting. Measurement was performed at maturity stage (210 days after planting) and fruiting (180 days after planting). The measured traits include vegetative growth characteristics (plant height, branch number, umbel number, fresh weight of herb and dry weight of herb), relative water content (RWC), photosynthetic pigments (Chl a, Chl b, carotenoids, Chl a+Chl b and (Chl a+Chl b)/carotenoids), carbohydrate (total carbohydrates, soluble carbohydrate, insoluble carbohydrate), Fruit yield, essential oil content and yield. For identifying the essential oil components, essential oil fraction was collected and subjected to GC/MS (Gas Chromatography-Mass spectrometry) analysis. Analysis of variance by using SAS software and mean comparisons by Duncan's multiple range test (at the 5% probability level) was done.

Results and Discussion

The results indicated that bio-regulators significantly affected on all of the traits. In addition, benzoic acid 20 mg l⁻¹ had the greatest impact compared to other treatments so that, vegetative growth characteristics 46.2 percent, RWC 60.2 percent, photosynthetic pigments include Chl a 77.6, Chl b 60.6, carotenoids 66.7, Chl a+Chl b 73.3 and Chl a+Chl b/carotenoids 19.1 percent were increased compared to control treatment. After extraction type and amount of volatile compounds were determined in the aerial part of *A. visnaga* with GC-MS. Dominant compounds of essential oil in this plant were included 2, 2-dimethylbutanoic acid, isobutyl isobutyrate, thymol and croveacin. In this study, all treatments on the green tissues of *A. visnaga* were increased the essential oil

1- Ph.D. in Agricultural Biotechnology, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Zanjan

2- M.Sc in Agroecology, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol

3- Associate Professor of Plant Breeding, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol

(*- Corresponding Author Email: diakorasouli@znu.ac.ir)

DOI:10.22067/jag.v11i1.61527

content. The results of this study demonstrated that, the use of bio-regulators, with aimed at reducing the use of chemical fertilizers, had a positive effect to increase the quality and quantity of *A. visnaga* and also, sustainable production and environmental protection.

Conclusion

The results of this study demonstrated that, the use of bio-regulators, with aimed at reducing the use of chemical fertilizers, had a positive effect to increase the quality and quantity of *A. visnaga* and also, sustainable production and environmental protection. Considering the importance of the production of medicinal plants in farming systems, bio-regulators such as phenolic compounds seem to be a viable alternative to chemical fertilizers in the production of these plants.

Keywords: Amino acids, Bio-regulators, Essential oil, Phenolic compounds.