

Effect of Vegetal Protein Hydrolysates Application on Some Growth and Photosynthetic Parameters, Nutrient Uptake and Essential Oil Content of Sage (*Salvia officinalis*) Under Drought Stress

Mohammad Saadatian¹, Abbas Hassani^{2*}, Samad Nejad Ebrahimi³

(Received: October, 2025

Accepted: November, 2025)

Abstract

Drought is one of the most important environmental stresses that limits the growth and production of agricultural products worldwide. Nowadays, the use of biostimulants in agriculture to enhance plant growth and performance under abiotic stresses has attracted considerable attention. Accordingly, in order to investigate the effect of vegetal protein hydrolysates (VPHs) application (as foliar application at concentrations of 2 and 4 ml L⁻¹, fertigation at concentrations of 1.5 and 3 ml L⁻¹, and control without protein application) under drought stress conditions (40, 70 and 100% of field capacity) on some morphological, physiological and phytochemical characteristics of sage (*Salvia officinalis*), a pot experiment was conducted as a factorial experiment in completely randomized design with three replications. The results showed that drought stress reduced plant height, stem diameter, leaf number, leaf and stem fresh and dry weight, chlorophyll content, net photosynthesis rate, stomatal conductance, transpiration, leaf nitrogen, phosphorus and potassium content, essential oil content and yield. However, the use of VPHs, improved growth indices, photosynthetic pigments and parameters, enhanced the uptake of nitrogen, phosphorus and potassium, and increased essential oil content and yield. So that in the fertigation treatment with a concentration of 3 ml L⁻¹, plant height, stem diameter, number of leaves, leaf dry weight, total chlorophyll content, net photosynthesis rate, leaf nitrogen content, essential oil content and yield increased by 52.29, 12.38, 28.94, 39.66, 21.78, 20.1, 72.48, 13.14 and 60.87 percent, respectively, compared to the treatment without protein application. The findings of this study showed that VPHs can be used as an effective biostimulant to improve growth and nutrition and increase essential oil production of medicinal plants under drought stress conditions.

Key words: Biostimulants, Essential oil, Photosynthesis, Plant nutrition, Water deficit stress

Saadatian M., Hassani A., Nejad Ebrahimi S. 2025. Effect of Vegetal Protein Hydrolysates Application on Some Growth and Photosynthetic Parameters, Nutrient Uptake and Essential Oil Content of Sage (*Salvia officinalis*) Under Drought Stress. *Applied Soil Research*. 14(1): 82-99

1. Ph.D. Student, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

2. Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

3. Professor, Department of Phytochemistry, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

* Corresponding Author Email: a.hassani@urmia.ac.ir

اثر کاربرد پروتئین‌های هیدرولیزشده گیاهی بر برخی شاخص‌های رشدی و فتوسنتزی، جذب عناصر غذایی و میزان اسانس مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) در شرایط تنش خشکی

محمد سعادتیان^۱، عباس حسنی^{۲*}، صمد نژاد ابراهیمی^۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۲۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۷/۰۴

چکیده

خشکی یکی از مهمترین تنش‌های محیطی است که رشد و تولید محصولات کشاورزی را در سراسر جهان محدود می‌کند. امروزه استفاده از محرک‌های زیستی در کشاورزی برای بهبود رشد و عملکرد گیاه در شرایط تنش‌های غیرزیستی توجه زیادی را به خود جلب کرده است. بر همین مینا، به منظور بررسی تأثیر کاربرد پروتئین‌های هیدرولیزشده گیاهی (به روش محلول‌پاشی (۲ و ۴ میلی‌لیتر در لیتر) و کود آبیاری (۱/۵ و ۳ میلی‌لیتر در لیتر) و شاهد بدون کاربرد پروتئین) در شرایط تنش خشکی (۴۰، ۷۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) بر برخی شاخص‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه مریم‌گلی (*Salvia officinalis*)، یک آزمایش گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. نتایج نشان داد که تنش خشکی سبب کاهش ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد برگ، وزن تر و خشک برگ و ساقه، غلظت کلروفیل، نرخ فتوسنتز خالص، هدایت روزنه‌ای، تعرق، غلظت نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ، درصد و عملکرد اسانس شد. با این حال، کاربرد پروتئین‌های هیدرولیزشده گیاهی موجب بهبود شاخص‌های رشدی، رنگیزه‌ها و شاخص‌های فتوسنتزی، افزایش جذب نیتروژن، فسفر و پتاسیم و درصد و عملکرد اسانس گردید. به طوری که در تیمار کودآبیاری با غلظت ۳ میلی‌لیتر در لیتر، ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد برگ، وزن خشک برگ، غلظت کلروفیل کل، نرخ فتوسنتز خالص، مقادیر نیتروژن برگ، درصد و عملکرد اسانس به ترتیب معادل ۵۲/۲۹، ۱۲/۳۸، ۲۸/۹۴، ۳۹/۶۶، ۲۱/۷۸، ۲۰/۱، ۷۲/۴۸، ۱۳/۱۴ و ۶۰/۸۷ درصد نسبت به تیمار بدون کاربرد پروتئین افزایش نشان دادند. یافته‌های این پژوهش نشان داد که پروتئین‌های هیدرولیزشده گیاهی می‌توانند به عنوان یک محرک زیستی مؤثر برای بهبود رشد و تغذیه و افزایش تولید اسانس گیاهان دارویی در شرایط تنش خشکی مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: اسانس، تغذیه گیاهی، تنش کم‌آبی، فتوسنتز، محرک‌های زیستی

سعادتیان م، حسنی ع، نژاد ابراهیمی ص. ۱۴۰۴. اثر کاربرد پروتئین‌های هیدرولیزشده گیاهی بر برخی شاخص‌های رشدی و فتوسنتزی، جذب عناصر غذایی و میزان اسانس مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) در شرایط تنش خشکی. تحقیقات کاربردی خاک. جلد ۱۴، شماره ۱. صفحه: ۸۲-۹۹

۱- دانشجوی دکتری علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲- استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۳- استاد گروه فیتوشیمی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

* پست الکترونیک: a.hassani@urmia.ac.ir

مقدمه

در دهه‌های اخیر، تغییرات اقلیمی و افزایش نامتوازن جمعیت انسانی موجب فشار روزافزون بر منابع طبیعی، به‌ویژه منابع آبی شده‌اند. پدیده خشکسالی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین چالش‌های زیست‌محیطی و کشاورزی، در حال گسترش در سراسر جهان است و پیش‌بینی می‌شود که در آینده، شدت و فراوانی آن افزایش یابد. کم‌آبی نه‌تنها باعث کاهش شدید تولیدات کشاورزی می‌شود، بلکه پایداری زیست‌بوم‌های زراعی را نیز تهدید می‌کند (Farooq et al., 2009). تنش خشکی به‌واسطه محدودیت دسترسی به آب، تأثیرات گسترده‌ای بر رشد، فیزیولوژی و متابولیسم گیاهان دارد. این تنش منجر به بسته‌شدن روزنه‌ها، کاهش نرخ فتوسنتز، کاهش جذب عناصر غذایی، کاهش رشد و در نهایت افت عملکرد کمی و کیفی گیاه می‌شود (Zhang et al., 2018). همچنین با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، می‌تواند به غشاهای سلولی و ماکرومولکول‌ها آسیب رسانده و باعث اختلال در عملکرد آن‌ها و ایجاد تنش اکسیداتیو گردد (Gill & Tuteja, 2010). در شرایط کم‌آبی، آسیمیلاسیون CO₂ توسط برگ‌ها، عمدتاً به دلیل بسته‌شدن روزنه‌ها، آسیب غشاء و اختلال در فعالیت آنزیم‌های مختلف، به‌ویژه آنزیم‌های مسئول تثبیت دی‌اکسیدکربن و سنتز آدنوزین تری‌فسفات، کاهش می‌یابد (Farooq et al., 2009; Ji et al., 2023). علاوه بر بسته‌شدن روزنه‌ها، هدایت مزوفیلی نیز کاهش می‌یابد که این امر موجب محدود شدن بیشتر انتشار دی‌اکسیدکربن به کلروپلاست‌ها و کاهش بازده فتوسنتزی می‌شود (Qiao et al., 2024). تنش خشکی فرآیندهای بیوشیمیایی مرتبط با فتوسنتز، از جمله زنجیره انتقال الکترون و چرخه کالوین را نیز مختل می‌کند. این امر باعث کاهش ظرفیت کربوکسیلاسیون و نرخ انتقال الکترون فتوسنتزی در شرایط اشباع نوری می‌شود (Zhou et al., 2013).

در گیاهان دارویی و معطر، تولید متابولیت‌های ثانویه اگرچه تحت کنترل فرآیندهای ژنتیکی می‌باشد اما کمیت و کیفیت ترکیبات یادشده به‌طور مشخص تحت تأثیر عوامل محیطی مختلف نظیر بروز تنش‌های محیطی نیز قرار می‌گیرد (Figueiredo et al., 2008). در پژوهشی اثر تنش خشکی بر بابونه آلمانی (*Matricaria recutita*) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تنش خشکی سبب کاهش ارتفاع و وزن خشک بوته، میزان کلروفیل و فتوسنتز

گردید در حالی که درصد و عملکرد اسانس در پاسخ به تنش خشکی ملایم افزایش نشان دادند (Farhoudi, 2017). مینایی و همکاران (Minaei et al., 2019)، ضمن بررسی اثر تنش خشکی بر گیاه مرزنجوش بخارایی (*Origanum vulgare ssp. gracile*)، مشاهده نمودند که با کاهش مقدار آب خاک، مولفه‌های رشدی، مقدار نسبی آب برگ، میزان کلروفیل و عملکرد اسانس دچار کاهش می‌گردند. همچنین طبق گزارش اصلانی و همکاران (Aslani et al., 2023)، در اثر اعمال تنش خشکی در گیاه مریم‌گلی، شاخص‌های رشدی، عملکرد پیکر رویشی، میزان کلروفیل، میزان جذب عناصر غذایی و درصد و عملکرد اسانس کاهش یافت. گیاهان مکانیسم‌های محافظتی متعددی را برای مقابله با اثرات خشکی از خود نشان می‌دهند. با این حال، این استراتژی‌های دفاعی اغلب برای حفظ سلامت و بهره‌وری گیاه در مواجهه با شرایط کم‌آبی، به‌قدر کافی مؤثر نیستند. بنابراین، تلاش برای یافتن تکنیک‌های زراعی مناسب که بتواند مکانیسم‌های دفاعی گیاهان را در برابر تنش خشکی افزایش دهد، بسیار مهم است. در این راستا، استراتژی‌های جدیدی مانند استفاده از محرک‌های زیستی (Biostimulants) به عنوان ابزاری امیدوارکننده، نوآورانه و سازگار با محیط زیست برای بهبود رشد و بهره‌وری گیاه و کاهش اثرات منفی تنش‌های غیرزیستی ارزیابی شده‌اند. محرک‌های زیستی گروه متنوعی از مواد آلی یا معدنی (نظیر اسیدهای آمینه، اسیدهای هیومیک، عصاره جلبک-های دریایی، پروتئین‌های هیدرولیزشده و سیلیکون) و نیز میکروارگانیسم‌های مفید هستند که با هدف بهبود جذب آب و مواد مغذی و همچنین افزایش تحمل به تنش‌های غیرزیستی و افزایش عملکرد و صفات کیفی محصول، در گیاهان استفاده می‌شوند (Du Jardin, 2015; Bulgari et al., 2019). در میان انواع محرک‌های زیستی، پروتئین‌های هیدرولیزشده گیاهی جایگاه ویژه‌ای یافته‌اند. این ترکیبات که با هیدرولیز شیمیایی یا آنزیمی از منابع گیاهی مانند سویا، برنج، ذرت و حبوبات حاصل می‌شوند حاوی اسیدهای آمینه آزاد، پپتیدها و سایر ترکیبات زیستی فعال می‌باشند. ساختار ساده و قابلیت جذب بالای این ترکیبات سبب شده است که به‌سرعت توسط گیاه جذب شده و در مسیرهای متابولیکی نقش فعالی ایفا کنند (Colla et al., 2015; Colla et al., 2017). مطالعات اخیر، اثرات مثبت پروتئین-های هیدرولیزشده گیاهی را به توانایی آن‌ها در ایجاد

تصادفی و در سه تکرار بر روی گیاه مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) انجام گرفت. فاکتورهای آزمایشی شامل کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی در پنج سطح (محلول- پاشی برگ "Fo" با غلظت‌های ۲ و ۴ میلی‌لیتر در لیتر و کود آبیاری "Fe" با غلظت‌های ۱/۵ و ۳ میلی‌لیتر در لیتر و شاهد بدون مصرف پروتئین) و تنش خشکی در سه سطح (۴۰، ۷۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) بودند. پروتئین هیدرولیز شده مورد استفاده در این پژوهش، یک محرک زیستی تجاری (Trainer®) تولید شده توسط شرکت ایتالیایی Hello Nature, Rivoli Veronese است که با هیدرولیز آنزیمی لگوم‌ها بدست آمده و شامل ۵ درصد نیتروژن آلی، ۱۷/۵ درصد کربن آلی و ۳۱ درصد آمینواسیدهای آزاد و پپتیدهای قابل حل می‌باشد. هر واحد آزمایشی متشکل از ۴ گلدان و بنابراین در مجموع ۱۸۰ گلدان مورد استفاده قرار گرفت. پس از آماده‌سازی و پرکردن گلدان‌ها با مخلوطی از خاک و ماسه با نسبت ۳ به ۲، تعدادی بذر گیاه مریم‌گلی (تهیه شده از شرکت پاکان بذر اصفهان) در هر گلدان کاشته شد و پس از جوانه‌زنی و سبز شدن، بوته‌ها در طی چند مرحله تنک گردیده و در نهایت در داخل هر گلدان ۷ بوته نگهداری شد. تا مرحله هشت برگی شدن بوته‌ها (حدود یک ماه پس از کاشت بذور)، گلدان‌ها به مقدار مساوی آبیاری گردیده و از این مرحله به بعد، تیمارهای آبیاری با توزین روزانه گلدان‌ها و جبران آب مصرفی (بر اثر تبخیر و تعرق) با توجه به هر تیمار اعمال شد. تیمار با پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی همزمان با شروع تیمارهای تنش خشکی شروع شده و تا انتهای دوره آزمایشی، هر هفته یکبار تکرار گردید. دمای گلخانه در طول دوره آزمایش در بازه 20 ± 2 تا 30 ± 2 درجه سلسیوس متغیر بود و نور مورد نیاز گیاهان از طریق نور طبیعی خورشید تأمین می‌شد. حدود ۲ ماه پس از اعمال تیمارهای تنش خشکی نمونه برداری از گیاهان برای اندازه‌گیری صفات رشدی (ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد برگ، وزن تر و خشک برگ و ساقه)، مقادیر کلروفیل، شاخص‌های فتوسنتزی، غلظت عناصر غذایی، درصد و عملکرد اسانس انجام گرفت. همچنین قبل از شروع آزمایشات، نمونه‌ای از خاک مورد استفاده در گلدان‌ها مورد آنالیز قرار گرفت که نتایج آن در جدول ۱ آورده شده است.

فعالیت‌های شبه‌هورمونی، تقویت متابولیسم کربن و نیتروژن (Colla et al., 2014)، افزایش جذب و استفاده از آب و مواد مغذی (Halpern et al., 2015; Colla et al., 2017)، تحریک متابولیسم ثانویه (Carillo et al., 2019)، بهبود فعالیت میکروبی (Du Jardin, 2015)، تنظیم آنزیم‌های کلیدی در چرخه‌های فتوسنتزی و تنفس سلولی (Colla et al., 2015) و افزایش تحمل گیاه در برابر تنش‌های غیرزیستی مختلف مانند شوری (El-Nakhel et al., 2022)، خشکی و دماهای شدید (Mamatha et al., 2023) مرتبط دانسته‌اند. این اثرات به‌ویژه در شرایط تنش‌های محیطی نظیر کم‌آبی، برجسته‌تر می‌شوند، چرا که این ترکیبات می‌توانند به‌عنوان سیگنال‌های تنظیمی برای بیان ژن‌های مرتبط با مقاومت به تنش عمل کنند (Colla et al., 2017).

مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) گیاهی علفی و چندساله متعلق به تیره نعناع است که به‌دلیل دارا بودن ترکیبات فعال متعددی نظیر اسانس‌ها، فنل‌ها و فلاونوئیدها، در صنایع دارویی، غذایی و آرایشی و بهداشتی به‌طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد. از مواد موثره این گیاه برای درمان برخی اختلالات گوارشی، از بین بردن برخی علائم یائسگی، به‌عنوان ضدتهوع، ضداسپاسم، ضدعفونی‌کننده و ضدالتهاب استفاده می‌شود (Jasicka-Misiak et al., 2018). با این حال، تولید این گیاه تحت تأثیر تنش‌های محیطی، به‌ویژه خشکی قرار می‌گیرد که منجر به کاهش رشد، تولید ماده خشک و کیفیت اسانس آن می‌شود (Bettaieb et al., 2009). بر همین اساس، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی بر ویژگی‌های رشدی، شاخص‌های فتوسنتزی، جذب عناصر غذایی و میزان تولید اسانس در گیاه مریم‌گلی در شرایط تنش خشکی انجام گردید. نتایج این پژوهش می‌تواند به درک بهتر نقش محرک‌های زیستی در بهبود مقاومت گیاهان دارویی به تنش خشکی کمک نموده و راهکارهایی برای افزایش بهره‌وری کشت این گیاهان در مناطق خشک و نیمه‌خشک ارائه دهد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً

جدول ۱- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

Table 1. Some physical and chemical properties of the soil used in the study

FC (%)	N (%)	P (mg kg ⁻¹)	K (mg kg ⁻¹)	CaCO ₃ (%)	O.M (%)	EC (dS m ⁻¹)	pH	Soil Texture
18	0.15	9.12	237	16.5	0.97	0.69	7.72	Sandy Clay Loam

صفات زراعی

A663 و A645: به ترتیب جذب در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر، W: وزن تر نمونه برگی، V: حجم محلول صاف شده.

شاخص‌های فتوسنتزی

حدود ۸ هفته بعد از شروع تیمارها، اندازه‌گیری شاخص‌های فتوسنتزی شامل نرخ فتوسنتز خالص ($P_n \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)، میزان تعرق ($E \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) و هدایت روزنه‌ای ($g_s \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)، در هر دقیقه با استفاده از یک رژیم نوری طبیعی و با استفاده از دستگاه فتوسنتز متر قابل حمل (WALZ hcm-1000) انجام شد. اندازه‌گیری‌ها در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، با رطوبت نسبی بین ۵۰٪ تا ۷۰٪ و غلظت CO_2 محیطی معادل $400 \mu\text{mol s}^{-1}$ صورت گرفت. نرخ جریان به‌طور ثابت بر روی $500 \mu\text{mol s}^{-1}$ تنظیم شده بود.

غلظت عناصر غذایی برگ

برای اندازه‌گیری عناصر غذایی، نمونه‌های برگ خشک شده در آن، به کمک آسیاب پودر شده و در نهایت عصاره آن‌ها به روش هضم به‌وسیله سوزاندن خشک تهیه گردید. میزان سفر با روش رنگ‌سنجی و با استفاده از محلول زرد حاوی آمونیوم هپتامولبیدات وانادات و اسید نیتریک، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Cotteni, 1980). مقدار پتاسیم به‌روش نثر شعله‌ای و با کمک دستگاه فلیم‌فتومتر (Emami, 1996) و مقدار عنصر نیتروژن نیز به روش هضم توسط اسید سولفوریک، اسید سالیسیلیک و آب اکسیژنه و با استفاده از دستگاه کج‌دال مورد سنجش قرار گرفتند (Mulvaney, 1996).

استخراج و اندازه‌گیری کمی اسانس

برای اندازه‌گیری کمی اسانس، گیاهان مریم‌گلی در انتهای دوره آزمایش، از ارتفاع یک سانتی‌متری سطح خاک برداشت شده و در سایه و دمای اتاق (۲۵ درجه سلسیوس) خشک گردیدند. استخراج اسانس به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۲/۵ ساعت انجام گرفت.

به‌منظور ارزیابی تأثیر تنش خشکی و تیمار پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی بر برخی ویژگی‌های رویش گیاه مریم‌گلی در پایان دوره آزمایش، از هر واحد آزمایشی سه بوته به‌صورت تصادفی انتخاب شده و ویژگی‌های مختلف رشدی شامل ارتفاع بوته (با استفاده از خط‌کش) و قطر ساقه (با کولیس دیجیتالی) اندازه‌گیری شدند. همچنین، برای سنجش وزن تر و خشک برگ و ساقه از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم استفاده شد. علاوه بر این، به‌منظور محاسبه وزن خشک، برگ‌ها و ساقه‌ها به‌طور جداگانه در آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار گرفته و به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند.

کلروفیل a، b و کلروفیل کل

برای اندازه‌گیری مقادیر کلروفیل‌های a، b و کل، ابتدا ۰/۵ گرم از بافت تر برگ برداشت شده و در هاون چینی با استون ۸۰ درصد به‌طور تدریجی خرد گردید تا عصاره‌ای یکنواخت حاصل شود. عصاره‌ها در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند. میزان جذب این عصاره‌ها در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر ثبت گردید. برای تهیه شاهد آزمایش، از استون ۸۰ درصد استفاده شد. در نهایت، مقادیر کلروفیل‌های a، b و کل با استفاده از فرمول‌های مربوطه بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن تر گیاه محاسبه گردید (Lichtenthaler, 1987).

$$a \text{ کلروفیل} = ((12.7 \times A663) - (2.69 \times A645)) \times V/1000 \times W$$

$$b \text{ کلروفیل} = ((22.9 \times A645) - (4.68 \times A663)) \times V/1000 \times W$$

$$\text{کلروفیل کل} = ((20.2 \times A645) - (8.02 \times A663)) \times V/1000 \times W$$

خشکی شدید (۴۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) و بدون کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی بدست آمد (جدول ۲). نتایج این پژوهش نشان داد که با کاهش میزان رطوبت خاک، تمام مؤلفه‌های رشدی گیاه مریم‌گلی کاهش یافت. یکی از اولین نشانه‌های تنش خشکی در گیاهان، تغییر کمی و کیفی در رشد است. در اثر کمبود آب، تورژسانس سلولی و در نتیجه رشد و توسعه‌ی سلول به‌ویژه در ساقه و برگ‌ها دچار کاهش می‌گردد. اثرات منفی خشکی بر رشد و عملکرد گیاه می‌تواند ناشی از عوامل مختلفی از جمله: کاهش دسترسی به آب و مواد مغذی، کاهش فتوسنتز به دلیل بسته شدن روزنه‌ها و تخریب رنگدانه‌های برگ، اختلال در تعادل بین هورمون‌های محرک رشد و مهارکننده‌های رشد و آسیب سلولی ناشی از تنش اکسیداتیو باشد (Jaleel *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2009). طبق گزارش سینگ و همکاران (Singh *et al.*, 1997)، برخی از گیاهان در شرایط تداوم کمبود آب در ناحیه ریزوسفر، با محدود کردن رشد خود با تنش کم‌آبی سازش می‌یابند. به‌طور مشابه، تاترای و همکاران (Tatrai *et al.*, 2016) نیز گزارش نمودند که گیاه آویشن (*Thymus citriodorus*) به بهای کاهش رشد، شانس بقای دراز مدت در شرایط تنش خشکی را پیدا می‌کند. کاهش صفات رشدی در اثر تنش خشکی که در پژوهش حاضر مشاهده گردید با نتایج مطالعات قبلی در گیاهان بابونه آلمانی (Farhodi 2017)، مرزنجوش بخارایی (Minaei *et al.*, 2019) و مریم‌گلی (Aslani *et al.*, 2023) مطابقت دارد. نتایج این پژوهش همچنین نشان داد که تیمار گیاهان مریم‌گلی با پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی، اثرات نامطلوب تنش خشکی بر شاخص‌های رشدی را به‌ویژه در روش کود آبیاری کاهش داد. این نتایج با یافته‌های چوی و همکاران (Choi *et al.*, 2022) که نشان دادند کاربرد ریشه‌ای این پروتئین‌ها در افزایش شاخص‌های رشدی در کاهو (*Lactuca sativa*) و گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) مؤثرتر از کاربرد برگ‌گی آنها بوده است مطابقت دارد. همچنین در تحقیق مشابهی، تیمار گیاهان فلفل (*Capsicum annum*) با پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی باعث افزایش سرعت رشد نسبی اندام‌های هوایی و عملکرد میوه در شرایط تنش خشکی شده است (Agliassa *et al.*, 2021). بهبود تحمل به تنش خشکی و رشد و عملکرد بهتر گیاه در اثر کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده را می‌توان به تحریک متابولیسم کربن و

پس از استخراج، اسانس‌های بدست آمده آبیگری شده و در ظروف شیشه‌ای و دور از نور در یخچال (۴ درجه سلسیوس) نگهداری شدند. سپس محتوای (درصد) اسانس بر اساس میلی‌لیتر در ۱۰۰ گرم ماده خشک گیاهی و عملکرد اسانس بر حسب میلی‌لیتر در گلدان محاسبه گردید (Aslani *et al.*, 2023).

تجزیه آماری داده‌ها و نرم‌افزارهای مورد استفاده

داده‌های بدست آمده از این آزمایش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده گردید. رسم نمودارها نیز با استفاده از برنامه Excel انجام گرفت.

نتایج و بحث

صفات زراعی

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، کلیه صفات رشدی اندازه‌گیری شده به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی و کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی قرار گرفتند. همچنین اثرات متقابل این دو عامل بر کلیه شاخص‌های رشدی به جز وزن تر برگ معنی‌دار (در سطح احتمال ۱ درصد) بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی تمامی صفات رشدی مورد بررسی کاهش یافتند، در حالی که کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی به‌ویژه در روش کود آبیاری باعث بهبود ویژگی‌های رشدی نسبت به گیاهان بدون کاربرد پروتئین گردید (جدول ۲). بیشترین ارتفاع بوته (۴۷ سانتی‌متر)، قطر ساقه (۲/۳۶ میلی‌متر)، تعداد برگ (۲۰) و وزن تر و خشک برگ‌ها (به ترتیب ۱۲/۲۷ و ۴ گرم در بوته) در شرایط بدون تنش و کاربرد ۳ میلی‌لیتر در لیتر پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی به‌صورت کود آبیاری بدست آمد. همچنین بیشترین مقدار وزن تر و خشک ساقه گیاه (به ترتیب ۶/۸ و ۲/۹ گرم در بوته) در شرایط بدون تنش و کاربرد ۱/۵ میلی‌لیتر در لیتر پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی به‌صورت کود آبیاری مشاهده گردید. کمترین ارتفاع بوته (۱۷/۲۲ سانتی‌متر)، قطر ساقه (۱/۸۸ میلی‌متر)، تعداد برگ (۱۲/۶۷)، وزن تر و خشک برگ (به ترتیب ۶/۳۵ و ۱/۹۷ گرم) و وزن تر و خشک ساقه (به ترتیب ۱/۹۸ و ۰/۹۶ گرم در بوته) نیز در شرایط تنش

تنظیم پاسخ‌های مرتبط با تنش مانند تقویت سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی و تجمع اسمولیت‌هایی مانند پرولین نسبت داد (Ertani *et al.*, 2013; Colla & Rouphael, 2015; Halpern *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2022; Choi *et al.*, 2025).

نیتروژن، تعدیل فعالیت هورمونی به دلیل وجود پپتیدهای زیست‌فعال، افزایش کارایی استفاده از آب، تقویت هدایت روزنه‌ای و بهبود جذب CO_2 ، بهبود جذب آب و مواد مغذی به دلیل تقویت سیستم ریشه‌ای قوی‌تر، بهبود فتوسنتز به واسطه افزایش نیتروژن و محتوای رنگدانه‌های برگ، افزایش

جدول ۲- اثر پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی بر برخی ویژگی‌های رشدی گیاه مریم‌گلی در سطوح مختلف تنش خشکی

Table 2. Effect of vegetal protein hydrolysates on some growth parameters of sage (*S. officinalis*) under different drought stress levels

Drought stress (%FC)	VPHs treatment	Plant Height (cm)	Stem diameter (mm)	Leaf No.	Leaf fresh weight (g plant ⁻¹)	Leaf dry weight (g plant ⁻¹)	Stem fresh weight (g plant ⁻¹)	Stem dry weight (g plant ⁻¹)
100		30.67g	2.19bc	14.11de	7.92	2.67c	3.95def	1.93d
70	Control	22.22n	1.99e	13.44efg	7.43	2.49cd	2.16g	1.22fg
40		17.22o	1.88f	12.67g	6.35	1.97ef	1.98g	0.96g
100		43.33b	2.26b	19.67ab	11.96	3.7ab	6.8a	2.9a
70	Fe1.5	35.11e	2.19bc	15.56cd	10	3.24bc	5.01c	2.4c
40		27.87i	2.02e	13.67efg	8.25	2.6c	2.45g	1.45ef
100		47a	2.36a	20a	12.27	4a	6.4ab	2.72ab
70	Fe3	30.89f	2.26b	16.44c	10.22	3.54ab	5.15c	2.44bc
40		28.89h	2.19bc	15.67c	8.94	2.42cde	3.3f	1.7de
100		36.78c	2.21bc	18.11b	10.85	3.53ab	6b	2.46bc
70	Fo2	27.11j	2.13c	14ef	8.8	2.67c	4.69cd	2.29c
40		25.56k	2.05de	13.33gf	7.55	2.12de	3.85ef	1.73bc
100		36.5d	2.21bc	17.8b	11.78	3.79ab	6.56ab	2.88a
70	Fo4	24.56l	2.19bc	16.11c	9.95	3.48b	4.63cd	2.46bc
40		23.78m	2.09d	14ef	8.17	2.5cd	4.12de	1.93d
FC								
100		38.86	2.24	17.93	10.95a	3.54	5.94	2.58
70		27.98	2.15	15.11	9.28b	3.08	4.33	2.16
40		24.65	2.04	13.86	7.85c	2.32	3.14	1.55
VPHs								
0		23.37	2.02	13.44	7.23c	2.37	2.69	1.37
Fe1.5		35.41	2.15	16.3	10.06a	3.18	4.75	2.25
Fe3		35.59	2.27	17.33	10.47a	3.31	4.95	2.28
Fo2		29.82	2.13	15.14	9.06b	2.77	4.84	2.16
Fo4		28.28	2.16	16	9.96b	3.25	5.1	2.42
FC		**	**	**	**	**	**	**
VPHs		**	**	**	**	**	**	**
FC×VPHs		**	**	**	ns	**	**	**

VPHs: Vegetal protein hydrolysates, Fe1.5 and Fe3: Fertigation at concentrations of 1.5 and 3 ml L⁻¹; Fo2 and Fo4: Foliar application at concentrations of 2 and 4 ml L⁻¹.

ns and ** are non-significant and significant at $p \leq 0.01$, respectively.

The means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different using Duncan's test ($p < 0.05$)

وزن تر) در تیمار کود آبیاری با غلظت ۳ میلی لیتر در لیتر پروتئین هیدرولیز شده و کمترین میزان کلروفیل a، b و کل (به ترتیب ۱/۹۳، ۰/۶۸ و ۲/۸ میلی گرم بر گرم وزن تر) در تیمار شاهد بدون کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده بدست آمد. به دلیل نقش مهم کلروفیل در تعیین فعالیت فتوسنتزی، محتوای این رنگدانه به عنوان یک شاخص فیزیولوژیکی مهم برای ارزیابی تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این مطالعه، غلظت کلروفیل گیاه مریم‌گلی در پاسخ به کاهش رطوبت خاک، روند کاهشی را نشان داد.

غلظت کلروفیل

طبق نتایج تجزیه واریانس، فقط اثرات ساده تنش خشکی و تیمار با پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی بر مقادیر کلروفیل a، b و کل معنی‌دار (در سطح احتمال ۱ درصد) گردید (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با تشدید تنش خشکی مقادیر کلروفیل a، b و کل کاهش یافتند در حالی که کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی باعث افزایش غلظت کلروفیل نسبت به گیاهان بدون کاربرد پروتئین گردید (جدول ۳). بیشترین میزان کلروفیل a، b و کل (به ترتیب ۲/۳۷، ۱/۰۴ و ۳/۴۱ میلی گرم بر گرم

جدول ۳- اثر پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی بر میزان کلروفیل و شاخص‌های فتوسنتزی گیاه مریم‌گلی در سطوح مختلف تنش خشکی
 Table 3. Effect of vegetal protein hydrolysates on chlorophyll content and photosynthesis parameters of sage (*S. officinalis*) under different drought stress levels

Drought stress (%FC)	VPHs treatment	Chl a (mg g ⁻¹ FW)	Chl b (mg g ⁻¹ FW)	Total Chl (mg g ⁻¹ FW)	P _n (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	g _s (mmol m ⁻² S ⁻¹)	E (mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)
100	C	2.19	1.06	3.25	10.58e	42.8l	3.02cd
70		1.93	0.85	2.78	6.79j	29.3m	2.07e
40		1.69	0.69	2.38	5.03o	20.6n	0.24i
100	Fe1.5	2.46	1.10	3.56	11.31b	77.5c	6.02a
70		2.36	0.98	3.34	8.83h	73.8f	4.53b
40		2.03	0.89	2.92	5.23n	51.6i	1.12f
100	Fe3	2.58	1.15	3.73	10.73c	80.5b	4.63b
70		2.37	1.05	3.42	10.65d	76.56d	3.70c
40		2.16	0.92	3.08	5.50m	52i	0.70g
100	Fo2	2.28	1.07	3.35	11.99a	76.5e	3.01cd
70		2.17	0.95	3.12	8.50i	68g	3.01cd
40		2.02	0.90	2.92	5.57l	48.76j	0.34hi
100	Fo4	2.35	1.11	3.46	10.10f	84.8a	3.11cd
70		2.23	1.03	3.26	9.56g	65.7h	2.28de
40		2.08	0.95	3.03	5.83k	47.9k	0.37hi
FC							
100		2.37a	1.09a	3.46a	10.94	72.42	3.95
70		2.21b	0.97b	3.18b	8.87	62.67	3.11
40		1.99c	0.87c	2.86c	5.43	44.16	0.55
VPHs							
0		1.93d	0.86b	2.8d	7.46	30.9	1.77
Fe1.5		2.28b	0.99a	3.27b	8.45	67.63	3.89
Fe3		2.37a	1.04a	3.41a	8.96	69.69	3.01
Fo2		2.15c	0.97a	3.13c	8.68	64.42	2.12
Fo4		2.22bc	1.03a	3.25b	8.49	66.13	1.92
FC		**	**	**	**	**	**
VPHs		**	**	**	**	**	**
FC×VPHs		ns	ns	ns	**	**	**

VPHs: Vegetal protein hydrolysates, Fe1.5 and Fe3: Fertigation at concentrations of 1.5 and 3 ml L⁻¹; Fo2 and Fo4: Foliar application at concentrations of 2 and 4 ml L⁻¹.

ns and ** are non-significant and significant at $p \leq 0.01$, respectively.

The means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different using Duncan's test ($p < 0.05$).

خشکی شد. به‌طور مشابه، چوی و همکاران (Choi *et al.*, 2022) ضمن بررسی اثرات کاربرد ریشه‌ای و برگ‌ی پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی در گوجه‌فرنگی و کاهو گزارش نمودند که تأثیر روش کاربرد ریشه‌ای در افزایش غلظت کلروفیل بیشتر از کاربرد برگ‌ی بود. در یک تحقیق دیگر، گیاهان فلفل تیمار شده با پروتئین، در شرایط تنش خشکی از میزان کلروفیل مشابه با شرایط بدون تنش برخوردار بودند (Agliassa *et al.*, 2021). طبق گزارش وانگ و همکاران (Wang *et al.*, 2022) نیز محلول‌پاشی پروتئین‌های هیدرولیز شده تهیه شده از منبع حیوانی با محافظت از ساختار کلروپلاست و بهبود غلظت کلروفیل، ظرفیت فتوسنتزی گوجه‌فرنگی را در شرایط تنش خشکی به‌طور قابل توجهی بهبود بخشید. آن‌ها اظهار داشتند که پروتئین‌های هیدرولیز شده ممکن است منبع خوبی از اسیدهای آمینه مفید مانند آلانین، گلیسین و لیزین برای بیوسنتز

مشابه نتایج این پژوهش، کاهش غلظت کلروفیل در اثر تنش خشکی در گیاهان رازیانه (*Foeniculum vulgare*) (Askari & Ehsanzadeh, 2015)، بابونه آلمانی (Farhoudi, 2017)، مرزنجوش بخارایی (Minaei *et al.*, 2019) و مریم‌گلی (Aslani *et al.*, 2023) نیز گزارش گردیده است. این کاهش از یک سو به ممانعت از بیوسنتز کلروفیل‌های جدید و از سوی دیگر به تخریب کلروفیل در اثر افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز، حمله گونه‌های فعال اکسیژن و آسیب اکسیداتیو به ساختار کلروفیل، فتواکسیداسیون کلروفیل و کاهش جذب عناصر ضروری برای سنتز کلروفیل نسبت داده می‌شود (Askari & Ehsanzadeh, 2015; Minaei *et al.*, 2019; Aslani *et al.*, 2023). نتایج پژوهش حاضر همچنین نشان داد که کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی به‌ویژه در روش کود آبیاری موجب بهبود غلظت کلروفیل در شرایط تنش

باعث کاهش بازده کلی فتوسنتز نیز می‌شود (Farooq *et al.*, 2024). تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی، گونه‌های فعال اکسیژن را تولید می‌کند که به ساختارهای سلولی، از جمله کلروپلاست‌ها، آسیب می‌رساند و بهره‌وری فتوسنتز را بیشتر مختل می‌کند (Qiao *et al.*, 2024). اینکه دلیل اصلی کاهش فتوسنتز در شرایط تنش خشکی ناشی از بسته‌شدن روزنه‌ها یا اختلالات متابولیکی است جای ابهام دارد. به‌طور کلی بسته‌شدن روزنه‌ها و کاهش هدایت روزنه‌ای به عنوان عامل اصلی کاهش فتوسنتز در تنش‌های خشکی خفیف تا متوسط پذیرفته شده‌اند (Farooq *et al.*, 2009). با این حال، تزارا و همکاران (Tezara *et al.*, 1999) اختلال در فسفوریلاسیون نوری و سنتز آدنوزین تری فسفات را به عنوان عوامل اصلی محدود کننده فتوسنتز حتی در خشکی‌های خفیف گزارش نموده‌اند. همچنین طبق گزارش بوتا و همکاران (Bota *et al.*, 2004)، در شرایط خشکی بسیار شدید به دلیل کاهش فعالیت آنزیم روبیسکو، فتوسنتز محدود می‌شود. کم‌آبی باعث کوچک‌شدن سلول و در نتیجه کاهش حجم سلولی می‌شود که می‌تواند منجر به افزایش غلظت املاح و در نتیجه افزایش ویسکوزیته سیتوپلاسم گردد. چنین وضعیتی باعث تجمع و اسرشت شدن پروتئین‌ها می‌شود که به‌نوبه خود می‌تواند برای عملکرد آنزیم‌ها، از جمله آنزیم‌های دستگاه فتوسنتزی مضر باشد (Hoekstra *et al.*, 2001). کاهش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی، کاهش گسترش برگ، پیری زودرس برگ‌ها و اختلال در دستگاه فتوسنتزی از دیگر دلایل کاهش فتوسنتز در شرایط کم‌آبی ذکر شده‌اند (Farooq *et al.*, 2009). طبق گزارش فرهودی (Farhoudi, 2017)، تنش خشکی از طریق کاهش غلظت کلروفیل باعث کاهش فتوسنتز در گیاهان بابونه آلمانی و کاسنی (*Cichorium intybus*) شده است. در پژوهش حاضر، شاخص‌های فتوسنتزی در گیاهان مریم‌گلی تیمار شده با پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی در تمام سطوح تنش خشکی بهبود یافتند. طبق گزارش فرانچسکا و همکاران (Francesca *et al.*, 2021) نیز گوجه‌فرنگی‌های تیمار شده با پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی، در شرایط تنش خشکی (۵۰ درصد آبیاری کامل) از پتانسیل آب برگ و هدایت روزنه‌ای بالاتری نسبت به گیاهان تیمار نشده برخوردار بودند. در واقع، پروتئین‌های هیدرولیز شده می‌توانند تبادلات گازی برگ و راندمان مصرف آب را تعدیل

کلروفیل باشند و بنابراین حضور آن‌ها فتوسنتز را در شرایط تنش خشکی افزایش می‌دهد. به‌طور مشابهی بوناسیا و همکاران (Bonasia *et al.*, 2022) نیز گزارش نمودند که اثرات مفید پروتئین‌های هیدرولیز شده ممکن است با سطوح بالای اسیدهای آمینه مانند گلوتامات که به عنوان پیش‌سازهایی برای تولید کلروفیل عمل می‌کنند، مرتبط باشد. تقویت سیستم ریشه‌ای گیاه و در نتیجه افزایش جذب عناصر مؤثر در سنتز کلروفیل نظیر آهن، منیزیم و نیتروژن از دیگر دلایل بهبود غلظت کلروفیل تحت تأثیر کاربرد پروتئین‌ها ذکر شده است (Rouphael *et al.*, 2021).

شاخص‌های فتوسنتزی

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳)، اثر سطوح مختلف تنش خشکی و کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی و نیز اثرات متقابل این دو عامل بر شاخص‌های فتوسنتزی شامل نرخ فتوسنتز خالص، میزان تعرق و هدایت روزنه‌ای معنی‌دار (در سطح احتمال ۱ درصد) بوده است. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که اگرچه با افزایش شدت تنش خشکی شاخص‌های فتوسنتزی مورد بررسی کاهش یافتند، اما مقدار این کاهش در گیاهان تیمار شده با پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی کمتر بود به‌طوری که گیاهان تیمار شده با این پروتئین‌ها در تمام سطوح خشکی از نرخ فتوسنتز خالص، میزان هدایت روزنه‌ای و تعرق بالاتری نسبت به گیاهان بدون کاربرد پروتئین برخوردار بودند (جدول ۳). بالاترین نرخ فتوسنتز خالص، میزان هدایت روزنه‌ای و تعرق در شرایط بدون تنش و به ترتیب در تیمارهای محلول پاشی با ۲ میلی‌لیتر در لیتر، محلول پاشی با ۴ میلی‌لیتر در لیتر و کود آبیاری با ۱/۵ میلی‌لیتر در لیتر مشاهده گردید. کمترین میزان شاخص‌های یاد شده نیز در تنش ۴۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و در گیاهان بدون کاربرد پروتئین بدست آمد (جدول ۳).

مه‌ار فتوسنتز، اختلال فیزیولوژیکی اصلی ناشی از تنش‌های غیرزیستی، از جمله خشکی است. در شرایط تنش خشکی، فتوسنتز تحت تأثیر ترکیبی از عوامل مختلف قرار می‌گیرد. گیاهان در شرایط کم‌آبی با تغییرات فیزیولوژیکی متعددی نظیر بستن روزنه‌ها و کاهش هدایت روزنه‌ای سعی در به-حداقل رساندن اتلاف آب از طریق تعرق دارند. کمبود CO₂ ناشی از بسته‌شدن روزنه‌ها باعث تنفس نوری می‌شود و این امر نه تنها راندمان تثبیت کربن را کاهش می‌دهد، بلکه

و برای فسفر و پتاسیم معنی‌دار نبود. نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش خشکی و کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی بر میزان نیتروژن برگ (شکل ۱) نشان می‌دهد که صرف‌نظر از کاربرد پروتئین‌ها، با افزایش شدت تنش خشکی از ۱۰۰ به ۴۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای، محتوای نیتروژن برگ‌ها کاهش یافت. این در حالی است که گیاهان تیمار شده با پروتئین‌ها در تمام سطوح خشکی از غلظت نیتروژن بیشتری نسبت به گیاهان تیمار نشده برخوردار بودند. بیشترین میزان نیتروژن برگ (۲/۸۵ درصد) در شرایط بدون تنش خشکی و تیمار محلول‌پاشی پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی با غلظت ۴ میلی‌لیتر در لیتر و کمترین میزان نیتروژن برگ (۰/۸۶ درصد) در شرایط خشکی ۴۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و تیمار بدون کاربرد پروتئین مشاهده شد. نتایج مقایسه میانگین اثرات ساده تنش خشکی بر میزان فسفر برگ (شکل ۲) نیز نشان دهنده کاهش غلظت این عنصر در پاسخ به تشدید تنش می‌باشد. همچنین طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها، کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی باعث افزایش معنی‌دار غلظت فسفر در غلظت ۳ میلی‌لیتر در لیتر روش کود آبیاری و هر دو غلظت روش محلول‌پاشی نسبت به گیاهان شاهد گردید (شکل ۲). در روندی مشابه با فسفر، محتوای پتاسیم برگ نیز با تشدید تنش خشکی کاهش نشان داد. همچنین کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی در غلظت ۳ میلی‌لیتر در لیتر روش کود آبیاری و هر دو غلظت روش محلول‌پاشی باعث افزایش معنی‌دار غلظت پتاسیم برگ نسبت به گیاهان شاهد گردید (شکل ۳).

نیتروژن، فسفر و پتاسیم به‌واسطه داشتن نقش کلیدی در سنتز اسیدهای آمینه، اسیدهای نوکلئیک، کلروفیل، ذخیره و انتقال انرژی، تنظیم فعالیت آنزیم‌ها، فتوسنتز، تعادل اسمزی و متابولیسم کربوهیدرات‌ها، از عناصر حیاتی برای رشد و عملکرد گیاهان هستند (Hu & Schmidhalter, 2005; Jiaying et al., 2022). نتایج این پژوهش نشان داد که غلظت هر سه عنصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ در پاسخ به تشدید تنش خشکی کاهش یافته است. خشکی می‌تواند بر جذب مواد مغذی تأثیر بگذارد و انتقال برخی از عناصر غذایی را در ریشه‌ها مختل کند. بر همین مبنا اختلالات تغذیه‌ای ناشی از خشکی، با تأثیر بر فراهمی، انتقال و توزیع مواد مغذی در نهایت باعث کاهش رشد گیاه می‌شود (Hu & Schmidhalter, 2005). در شرایط تنش

کنند و معمولاً با افزایش شاخص کلروفیل کل، راندمان فتوسنتزی بیشتری را فراهم نمایند (Van Oosten et al., 2017). در تحقیق مشابهی، هدایت روزنه‌ای، تعرق و کارایی مصرف آب گیاهان گوجه‌فرنگی تحت تأثیر منفی تنش خشکی قرار گرفت. در حالی که کاربرد برگی پروتئین‌های هیدرولیز شده با مهار تخریب کلروفیل، حفظ ساختار کلروپلاست و افزایش بازشدگی روزنه‌ها منجر به بهبود سرعت فتوسنتز و کاهش مهار رشد ناشی از تنش خشکی گردید (Wang et al., 2022). مشابه نتایج این پژوهش، کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی به دو روش مصرف ریشه‌ای و برگی، باعث افزایش هدایت روزنه‌ای و نرخ فتوسنتز خالص به‌ویژه در کاربرد ریشه‌ای در گیاهان گوجه‌فرنگی و کاهو گردید (Choi et al., 2022). حفظ راندمان بالای فتوسنتزی در تنش خشکی در گیاهان مریم‌گلی تیمار شده با پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی ممکن است ناشی از افزایش جذب مواد مغذی مانند نیتروژن، پتاسیم و منیزیم نیز باشد. پتاسیم و منیزیم نقش مهمی در فعال کردن آنزیم‌ها، تنظیم تعادل کاتیون-آنیون، افزایش غلظت کلروفیل، بهبود راندمان فتوسنتزی و تسهیل انتقال فرآورده‌های فتوسنتزی در مسافت‌های طولانی دارند (Tränkner et al., 2018). رافائل و همکاران (Rouphael et al., 2021) افزایش زیست توده در گیاهان ریحان تیمار شده با پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی را با اثرات مفید این پروتئین‌ها بر راندمان مصرف آب، هدایت روزنه‌ای و در نتیجه نرخ آسیمیلایون خالص CO₂ مرتبط دانستند. افزایش در دسترس بودن نیتروژن به‌واسطه کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده به نوبه خود می‌تواند منجر به افزایش غلظت کلروفیل برگ‌ها شود که در نهایت جذب نور و در نتیجه توانایی فتوسنتزی را بهبود می‌بخشد (Nurdiawati et al., 2019). به علاوه گزارش شده که برخی از این ترکیبات با عملکردی شبه‌هورمونی، موجب بهبود تنظیم تعرق و هدایت روزنه‌ای می‌شوند (Agliassa et al., 2021).

غلظت عناصر غذایی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۴) نشان داد که تنش خشکی و کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی تأثیر معنی‌داری (در سطح احتمال ۱ درصد) بر غلظت عناصر غذایی نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ گیاه مریم‌گلی داشتند، در حالی که اثر متقابل این دو عامل برای نیتروژن معنی‌دار

طبق گزارش وو و همکاران (Wu *et al.*, 2008)، تأمین نیتروژن کافی از طریق افزایش سطح برگ و محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی باعث افزایش راندمان فتوسنتزی در شرایط تنش خشکی گردید. بر اساس تحقیقات مختلف، اثرات مثبت فسفر بر رشد گیاه در شرایط خشکی به تأثیر بر روابط آبی و افزایش راندمان مصرف آب، هدایت روزنه‌ای، فتوسنتز و پایداری بیشتر غشای سلولی نسبت داده شده است (Hu & Schmidhalter, 2005). همچنین پتاسیم از طریق عملکردهای خود در تنظیم روزنه‌ها، تنظیم اسمزی، وضعیت انرژی، تعادل بار الکتریکی، سنتز پروتئین و هموستازی یونی، مقاومت گیاه را در برابر خشکی افزایش می‌دهد (Hu & Schmidhalter, 2005; Marschner, 2023).

درصد و عملکرد اسانس

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴)، اثرات ساده تنش خشکی و کاربرد پروتئین‌های هیدرولیزشده گیاهی (در سطح احتمال ۱ درصد) و نیز اثرات متقابل آن‌ها (در سطح احتمال ۵ درصد) بر درصد و عملکرد اسانس گیاه مریم‌گلی معنی‌دار گردید. نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش خشکی و کاربرد پروتئین‌های هیدرولیزشده گیاهی (شکل ۴ و ۵) نشان می‌دهد که با افزایش شدت تنش خشکی از ۱۰۰ به ۴۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای، درصد و عملکرد اسانس کاهش یافته است. با این حال، کاربرد پروتئین‌های هیدرولیزشده به‌ویژه در تیمارهای کود آبیاری، در تمام سطوح تنش خشکی موجب افزایش درصد و عملکرد اسانس نسبت به تیمارهای بدون پروتئین شد. به‌طوری که بالاترین درصد و عملکرد اسانس در شرایط بدون تنش و تیمار کود آبیاری با غلظت ۳ میلی‌لیتر در لیتر و پایین‌ترین درصد و عملکرد اسانس نیز در شرایط تنش شدید و بدون کاربرد پروتئین مشاهده گردید. در گیاهان دارویی و معطر، رشد، عملکرد و بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه تحت تأثیر عوامل محیطی مختلفی مانند خشکی قرار می‌گیرد. اسانس‌ها دسته مهمی از متابولیت‌های ثانویه هستند که کمیت و کیفیت آنها ممکن است در شرایط خشکی، بسته به گونه، کاهش یا افزایش یابد و یا بدون تغییر باقی بماند (García-Caparrós *et al.*, 2019). با کاهش آب در دسترس در هر مرحله از رشد گیاه، میزان جذب، انتقال و مصرف عناصر غذایی کاهش می‌یابد و در نتیجه میزان ذخیره کربن و

خشکی جذب و انتقال مواد مغذی از ریشه‌ها به اندام‌های هوایی به دلیل کاهش جریان توده‌ای و انتشار عناصر غذایی از محلول خاک به سمت ریشه‌ها، کاهش نفوذپذیری و قابلیت تحرک عناصر در خاک، کاهش رشد و گسترش ریشه‌ها، کاهش فعالیت متابولیکی ریشه‌ها، تغییر در نسبت و رقابت عناصر غذایی، بسته شدن روزنه‌ها و کاهش تعرق و همچنین عدم تعادل در انتقال فعال و نفوذپذیری غشاء کاهش می‌یابد (Da Silva *et al.*, 2011; Bista *et al.*, 2018; Kang *et al.*, 2022). به‌علاوه فرآیند معدنی شدن به وجود میکروارگانیسم‌ها و فعالیت آنزیم‌ها بستگی دارد که ممکن است تحت تأثیر منفی خشکی قرار گیرند (Da Silva *et al.*, 2011; Bista *et al.*, 2018). مشابه نتایج این تحقیق، سودابی‌زاده و منصوری (Sodaiezhadeh & Mansouri, 2014) در مریم‌گلی لوله‌ای (*Salvia macrosiphon*) و اصلانی و همکاران (Aslani *et al.*, 2023) در مریم‌گلی باغی کاهش جذب عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم را در اثر اعمال تنش خشکی گزارش نمودند. نتایج این پژوهش همچنین نشان داد که کاربرد پروتئین‌های هیدرولیزشده گیاهی موجب کاهش اثرات منفی تنش خشکی بر جذب عناصر غذایی گردید. طبق گزارش چوی و همکاران (Choi *et al.*, 2025) استفاده از این ترکیبات باعث تحریک رشد ریشه، افزایش کارایی استفاده از نیتروژن و بهبود جذب فسفر و پتاسیم، در شرایط کشت هیدروپونیک شد. همچنین گزارش شده است که پپتیدها و اسیدهای آمینه موجود در پروتئین‌های هیدرولیزشده گیاهی با تشکیل کمپلکس‌های معدنی و افزایش فعالیت میکروبی در ریزوسفر، دسترسی و جذب عناصر مغذی توسط ریشه‌ها را افزایش می‌دهند (Colla *et al.*, 2015; Du Jardin, 2015). به‌علاوه نتایج تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که پروتئین‌های هیدرولیزشده با تحریک فعالیت شبه هورمونی و در نتیجه تقویت سیستم ریشه‌ای گیاه، تغییر بیان ژن‌های مرتبط با ناقلین مواد مغذی در سلول‌های گیاهی و بهبود متابولیسم کربن و نیتروژن می‌توانند به گیاهان در جذب آب و مواد غذایی کمک نمایند (Colla & Rouphael, 2015; Colla *et al.*, 2017; Du Jardin, 2015; Sestili *et al.*, 2018). افزایش جذب عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم در اثر کاربرد پروتئین‌های هیدرولیزشده گیاهی که در پژوهش حاضر مشاهده گردید می‌تواند به تعدیل اثرات منفی تنش خشکی بر گیاه مریم‌گلی و بهبود رشد و عملکرد آن کمک نماید.

تولید اسانس در شرایط تنش خشکی بسته به نوع گونه و ژنوتیپ گیاه و نیز شدت و مدت تنش خشکی می‌تواند متفاوت باشد. نتایج این پژوهش همچنین نشان داد که با کاهش محتوی رطوبت خاک، عملکرد اسانس نیز دچار کاهش گردید. عملکرد اسانس تابعی از درصد اسانس و زیست توده تولید شده توسط گیاه است؛ بنابراین به دلیل اثرات زیان‌آور تنش کم‌آبی بر رشد و عملکرد پیکر رویشی از یک سو و درصد اسانس از سوی دیگر، در مجموع عملکرد اسانس گیاه مریم‌گلی در پاسخ به تنش خشکی کاهش نشان داد. مشابه نتایج این پژوهش، عملکرد اسانس در گیاهان رازنا (Askari & Ehsanzadeh, 2015)، مرزنجوش بخارایی (Minaei et al., 2019) و مریم‌گلی (Aslani et al., 2023) در پاسخ به تنش خشکی کاهش یافت. نتایج پژوهش حاضر همچنین نشان داد که کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی به‌ویژه در تیمارهای کود آبیاری، اثرات منفی تنش خشکی بر سنتز اسانس را کاهش داد. اگرچه تاکنون گزارشات بسیار کمی در مورد تأثیر پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی بر تولید اسانس در گیاهان وجود دارد اما با این حال نقش این پروتئین‌ها در تحریک فعالیت‌های شبه هورمونی، بهبود متابولیسم کربن و نیتروژن، افزایش کارایی سیستم فتوسنتزی، بهبود جذب و انتقال عناصر غذایی و تحریک متابولیسم ثانویه می‌تواند دلایل اصلی افزایش تولید اسانس در اثر کاربرد آن‌ها باشد (Colla et al., 2014; Du Jardin, 2015; Ertani et al., 2017). تأیید نتایج این پژوهش، بهبود عملکرد اسانس در اثر کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده در گیاهان دارویی مختلفی از جمله اسطوخودوس (Truzzi et al., 2021)، مریم‌گلی (Farruggia, et al., 2024) و مرزنجوش (Amato et al., 2024) نیز گزارش شده است.

درصد اسانس کاهش پیدا خواهد کرد (Mohammadpour et al., 2015). از آن جایی که دی‌اکسید کربن و گلوکز به عنوان پیش‌ماده‌های سنتز اسانس به‌ویژه ترکیبات ترپنی محسوب می‌شوند، لذا فتوسنتز و فرآورده‌های فتوسنتزی ارتباط مستقیمی با تولید اسانس دارند (Niakan et al., 2004). بر همین مبنا کاهش نرخ فتوسنتز مشاهده شده در شرایط تنش خشکی را می‌توان به‌عنوان یکی از دلایل اصلی کاهش تولید اسانس در گیاهان مریم‌گلی قرار گرفته در معرض خشکی شدید (۴۰ درصد ظرفیت مزرعه-ای) به حساب آورد. در تحقیقات مختلف گزارش شده است که محتوای اسانس برخی گیاهان در شرایط تنش خشکی ملایم تا متوسط ممکن است افزایش یابد اما در پاسخ به تنش شدید، کاهش قطعی را تجربه خواهد کرد (Askari & Ehsanzadeh, 2015; Morshedloo et al., 2017; Aslani et al., 2023). چنین استنباط می‌شود که در شرایط تنش شدید، گیاه مقدار زیادی از مواد فتوسنتزی خود را برای تولید ترکیبات تنظیم‌کننده اسمزی مانند پرولین، گلیسین بتائین و ترکیبات قندی مانند ساکارز و فروکتوز مصرف می‌کند تا شرایط لازم را برای بقاء فراهم کند و همین مسئله به کاهش بیشتر تولید اسانس منجر می‌گردد (Khorasaninejad et al., 2011; Aslani et al., 2023). بررسی اثرات تنش خشکی بر تعدادی از گیاهان تیره نعناع نشان داد که تنش تأثیر متفاوتی بر درصد اسانس در گیاهان مختلف دارد. بر این اساس با افزایش سطوح تنش، درصد اسانس در گیاهان اسطوخودوس (*Lavandula latifolia*)، نعناع لعلی (*Mentha piperita*)، مریم‌گلی کبیر (*Salvia sclarea*) و گونه‌ای از آویشن (*Thymus capitatus*) کاهش و در گیاهان *Salvia lavandulifolia* و *Thymus mastichina* افزایش یافت (García-Caparrós et al., 2019). این تحقیقات به‌خوبی نشان می‌دهند که میزان

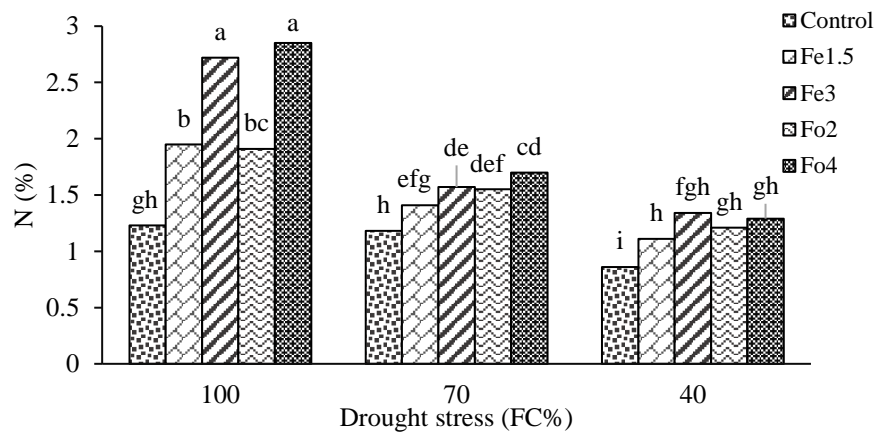
جدول ۴- تجزیه واریانس تأثیر خشکی بر میزان عناصر غذایی، درصد و عملکرد اسانس گیاه مریم‌گلی تیمار شده با پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی

Table 4. Variance analysis of drought stress effect on mineral content and essential oil content and yield of sage (*S. officinalis*) treated by vegetal protein hydrolysate

Sources of variations	df	N	Mean square			
			P	K	EO content	EO yield
Drought (D)	2	3.66**	0.18**	8.87**	0.44**	0.14**
Protein (P)	4	1.06**	0.027**	2.42**	0.055**	0.02**
P×D	8	0.24**	0.005 ^{ns}	0.19 ^{ns}	0.009*	0.002*
Experimental error	30	0.018	0.003	0.4	0.005	0.001
C.V (%)		8.65	18.58	19.64	4.82	11.4

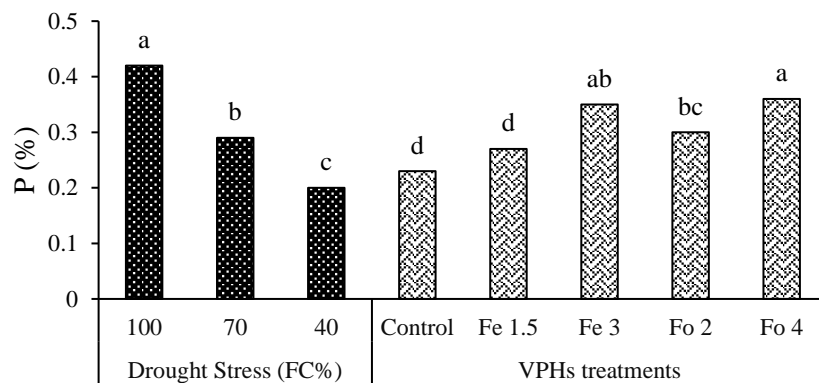
EO: Essential oil

ns, * and ** are non-significant and significant at $p \leq 0.05$ and $p \leq 0.01$, respectively.



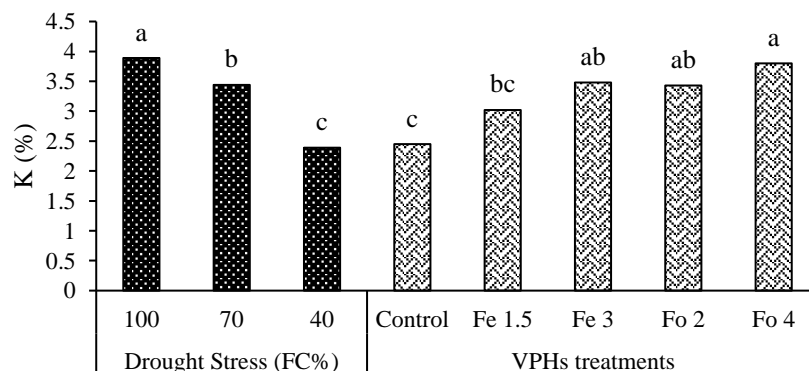
شکل ۱- اثرات متقابل تنش خشکی و پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی بر میزان نیتروژن برگ

Figure 1. Interaction effects of drought stress and vegetal protein hydrolysates on leaf nitrogen content Fe1.5 and Fe3: Fertigation of Vegetal protein hydrolysates at concentrations of 1.5 and 3 ml L⁻¹; Fo2 and Fo4: Foliar application of Vegetal protein hydrolysates at concentrations of 2 and 4 ml L⁻¹.



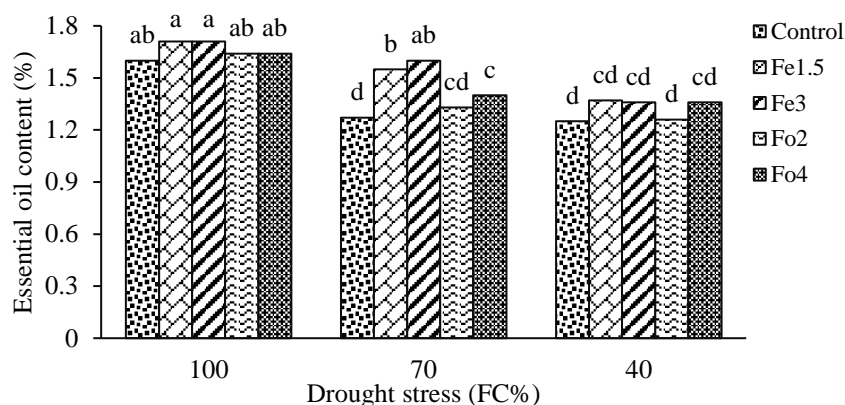
شکل ۲- تأثیر تنش خشکی و پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی بر میزان فسفر برگ

Figure 2. Effects of drought stress and vegetal protein hydrolysates (VPHs) on leaf phosphorus content Fe1.5 and Fe3: Fertigation of VPHs at concentrations of 1.5 and 3 ml L⁻¹; Fo2 and Fo4: Foliar application of VPHs at concentrations of 2 and 4 ml L⁻¹.



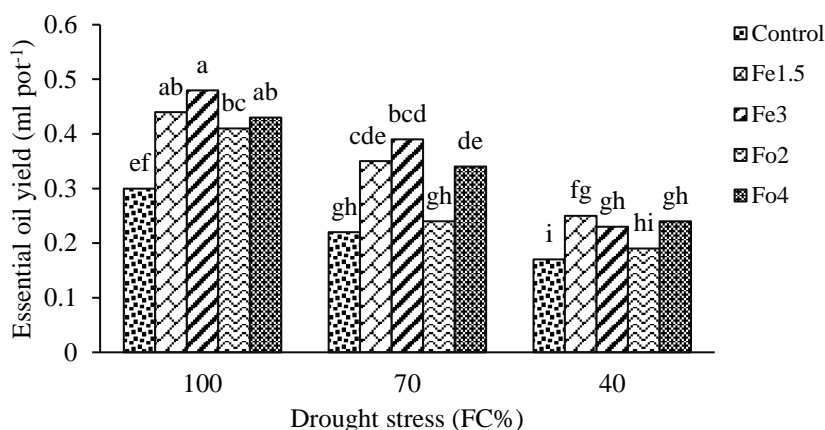
شکل ۳- تأثیر تنش خشکی و پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی بر میزان پتاسیم برگ

Figure 3. Effects of drought stress and vegetal protein hydrolysates (VPHs) on leaf potassium content Fe1.5 and Fe3: Fertigation of VPHs at concentrations of 1.5 and 3 ml L⁻¹; Fo2 and Fo4: Foliar application of VPHs at concentrations of 2 and 4 ml L⁻¹.



شکل ۴- اثرات متقابل تنش خشکی و پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی بر درصد اسانس

Figure 4. Interaction effects of drought stress and vegetal protein hydrolysates on essential oil percentage
 Fe1.5 and Fe3: Fertigation of Vegetal protein hydrolysates at concentrations of 1.5 and 3 ml L⁻¹; Fo2 and Fo4:
 Foliar application of Vegetal protein hydrolysates at concentrations of 2 and 4 ml L⁻¹



شکل ۵- اثرات متقابل تنش خشکی و پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی بر عملکرد اسانس

Figure 5. Interaction effects of drought stress and vegetal protein hydrolysates on essential oil yield
 Fe1.5 and Fe3: Fertigation of Vegetal protein hydrolysates at concentrations of 1.5 and 3 ml L⁻¹; Fo2 and Fo4:
 Foliar application of Vegetal protein hydrolysates at concentrations of 2 and 4 ml L⁻¹

ثانویه و افزایش بهره‌وری گیاهان دارویی و معطر در شرایط تنش‌های محیطی از جمله خشکی مورد توجه قرار گیرد. با این حال تحقیقات بیشتری برای درک بهتر مکانیسم‌های عملکرد این محرک‌های زیستی در تعدیل اثرات تنش‌های محیطی و نیز نحوه تأثیر آن‌ها بر متابولیسم اولیه و ثانویه گیاهان دارویی و معطر مورد نیاز است.

نتیجه‌گیری کلی

طبق یافته‌های این پژوهش، تنش خشکی تأثیر منفی قابل توجهی بر ویژگی‌های رشدی، رنگیزه‌ها و شاخص‌های فتوسنتزی، جذب عناصر غذایی و تولید اسانس در گیاه مریم‌گلی داشت. با این حال، کاربرد پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی، به ویژه به صورت کود آبیاری، با بهبود شاخص‌های فتوسنتزی و جذب عناصر غذایی توانست اثرات مخرب خشکی را بر رشد و میزان تولید اسانس گیاه مریم-گلی کاهش دهد. بنابراین، بهره‌گیری از پروتئین‌های هیدرولیز شده گیاهی به عنوان یکی از محرک‌های زیستی مهم می‌تواند برای بهبود رشد، تغذیه، تولید متابولیت‌های

References

- Agliassa, C., Mannino, G., Molino, D., Cavalletto, S., Contartese, V., Berteà, C. M., & Secchi, F. (2021). A new protein hydrolysate-based biostimulant applied by fertigation promotes relief from drought stress in *Capsicum annuum* L. *Plant Physiology and Biochemistry*, 166(4), 1076–1086.
- Amato, G., Cardone, L., Cicco, N., Denora, M., Perniola, M., Casiello, D., De Martino, L., De Feo, V., & Candido, V. (2024). Morphological traits, yield, antioxidant activity and essential oil composition of oregano as affected by biostimulant foliar applications. *Industrial Crops and Products*, 222, 119702.
- Askari, E., & Ehsanzadeh, P. (2015). Osmoregulation-mediated differential responses of field-grown fennel genotypes to drought. *Industrial Crops and Products*, 76, 494–508.
- Aslani, Z., Hassani, A., Abdollahi Mandoulakani, B., Barin, M., & Maleki, R. (2023). Effect of drought stress and inoculation treatments on nutrient uptake, essential oil and expression of genes related to monoterpenes in sage (*Salvia officinalis*). *Scientia Horticulturae*, 309, 111610.
- 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. *Scientia Horticulturae*, 120(2), 271–275.
- Bista, D. R., Heckathorn, S. A., Jayawardena, D. M., Mishra, S., & Boldt, J. K. (2018). Effects of drought on nutrient uptake and the levels of nutrient-uptake proteins in roots of drought-sensitive and -tolerant grasses. *Plants*, 7(2), 28.
- Bonasia, A., Conversa, G., Lazzizzera, C., & Elia, A. (2022). Foliar application of protein hydrolysates on baby-leaf spinach grown at different N levels. *Agronomy*, 12(1), 36.
- Bota, J., Medrano, H., & Flexas, J. (2004). Is photosynthesis limited by decreased Rubisco activity and RuBP content under progressive water stress? *New Phytologist*, 162, 671–681.
- Bulgari, R., Franzoni, G., & Ferrante, A. (2019). Biostimulants application in horticultural crops under abiotic stress conditions. *Agronomy*, 9(6), 306.
- Carillo, P., Colla, G., Fusco, G. M., Dell'Aversana, E., El-Nakhel, C., Giordano, M., Pannico, A., Cozzolino, E., Mori, M., Reynaud, H., Kyriacou, M. C., Cardarelli, M., & Rouphael, Y. (2019). Morphological and physiological responses induced by protein hydrolysate-based biostimulant and nitrogen rates in greenhouse spinach. *Agronomy*, 9(8), 450.
- Choi, S., Colla, G., Cardarelli, M., & Kim, H. J. (2022). Effects of plant-derived protein hydrolysates on yield, quality, and nitrogen use efficiency of greenhouse grown lettuce and tomato. *Agronomy*, 12, 1018.
- Choi, S., Colla, G., Cardarelli, M., & Kim, H. J. (2025). Effects of vegetal protein hydrolysate application method, nitrogen level, and nitrate-to-ammonium ratio on growth and composition of hydroponic lettuce. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 105(1), 599–610.
- Colla, G., Rouphael, Y., Canaguier, R., Svecova, E., & Cardarelli, M. (2014). Biostimulant action of a plant-derived protein hydrolysate produced through enzymatic hydrolysis. *Frontiers in Plant Science*, 5, 448.
- Colla, G., & Rouphael, Y. (2015). Biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 1–134.
- Colla, G., Nardi, S., Cardarelli, M., Ertani, A., Lucini, L., Canaguier, R., & Rouphael, Y. (2015). Protein hydrolysates as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 28–38.
- Colla, G., Hoagland, L., Ruzzi, M., Cardarelli, M., Bonini, P., Canaguier, R., & Rouphael, Y. (2017). Biostimulant action of protein hydrolysates: Unraveling their effects on plant physiology and microbiome. *Frontiers in Plant Science*, 8, 2202.
- Cotteni, A. (1980). Methods of plant analysis. In R. L. Westerman (Ed.), *Soil and plant testing* (pp. 64–100). *FAO Soil Bulletin*.
- Da Silva, E. C., Nogueira, R. J. M. C., da Silva, M. A., & de Albuquerque, M. B. (2011). Drought stress and plant nutrition. *Plant Stress*, 5(1), 32–41.
- Du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, 196, 3–14.
- El-Nakhel, C., Cozzolino, E., Ottaiano, L., Petropoulos, S. A., Nocerino, S., Pelosi, M. E., Rouphael, Y., Mori, M., & Di Mola, I. (2022). Effect of biostimulant application on plant growth, chlorophylls and hydrophilic antioxidant activity of spinach (*Spinacia oleracea* L.) grown under saline stress. *Horticulturae*, 8(10), 971.

- Emami, A. (1996). Plant analysis methods (No. 982, Vol. 1). Soil and Water Research Institute Publication. (in Persian)
- Ertani, A., Schiavon, M., Muscolo, A., & Nardi, S. (2013). Alfalfa plant-derived biostimulant stimulate short-term growth of salt stressed *Zea mays* L. plants. *Plant and Soil*, 364, 145–158.
- Ertani, A., Schiavon, M., & Nardi, S. (2017). Transcriptome-wide identification of differentially expressed genes in *Solanum lycopersicon* L. in response to an alfalfa-protein hydrolysate using microarrays. *Frontiers in Plant Science*, 8, 260167.
- Farhoudi, R. (2017). Evaluation of drought stress effect on growth, essential oil percentage and essential oil yield of chamomile (*Matricaria recutita* L. Presov cultivar) and chicory (*Cichorium intybus* L. local cultivar) in the north of Khuzestan. *Journal of Horticultural Science*, 31(1), 122–130. (in Persian)
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. M. A. (2009). Plant drought stress: Effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, 29(1), 185–212.
- Farruggia, D., Di Miceli, G., Licata, M., Leto, C., Salamone, F., & Novak, J. (2024). Foliar application of various biostimulants produces contrasting response on yield, essential oil and chemical properties of organically grown sage (*Salvia officinalis* L.). *Frontiers in Plant Science*, 15, 1397489.
- Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G., & Scheffer, J. J. C. (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants: Volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 23(4), 213–226.
- Francesca, S., Cirillo, V., Raimondi, G., Maggio, A., Barone, A., & Rigano, M. M. (2021). A novel protein hydrolysate-based biostimulant improves tomato performances under drought stress. *Plants*, 10(4), 783.
- García-Caparrós, P., Romero, M. J., Llanderal, A., Cermeño, P., Lao, M., & Segura, M. L. (2019). Effects of drought stress on biomass, essential oil content, nutritional parameters, and costs of production in six Lamiaceae species. *Water*, 11(3), 573.
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12), 909–930.
- Halpern, M., Bar-Tal, A., Ofek, M., Minz, D., Müller, T., & Yermiyahu, U. (2015). The use of biostimulants for enhancing nutrient uptake. *Advances in Agronomy*, 130, 141–174.
- Hoekstra, F. A., Golovina, E. A., & Buitink, J. (2001). Mechanisms of plant desiccation tolerance. *Trends in Plant Science*, 6, 431–438.
- Hu, Y., & Schmidhalter, U. (2005). Drought and salinity: A comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168, 541–549.
- Jaleel, C. A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, H. J., Somasundaram, R., & Panneerselvam, R. (2009). Drought stress in plants: A review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11, 100–105.
- Jasicka-Misiak, I., Poliwoda, A., Petecka, M., Buslovych, O., Shlyapnikov, V. A., & Wiczorek, P. P. (2018). Antioxidant phenolic compounds in *Salvia officinalis* L. and *Salvia sclarea* L. *Ecological Chemistry and Engineering*, 25(1), 133–142.
- Ji, Y., Yue, L., Cao, X., Chen, F., Li, J., Zhang, J., Wang, C., Wang, Z., & Xing, B. (2023). Carbon dots promoted soybean photosynthesis and amino acid biosynthesis under drought stress: Reactive oxygen species scavenging and nitrogen metabolism. *Science of the Total Environment*, 856, 159125.
- Jiaying, M. A., Tingting, C., Jie, L., Weimeng, F. U., Baohua, F., Guangyan, L., Hubo, L., Juncai, L., Zhihai, W., Longxing, T., & Guanfu, F. (2022). Functions of nitrogen, phosphorus and potassium in energy status and their influences on rice growth and development. *Rice Science*, 29(2), 166.
- Kang, J., Peng, Y., & Xu, W. (2022). Crop root responses to drought stress: Molecular mechanisms, nutrient regulations, and interactions with microorganisms in the rhizosphere. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 9310.
- Khorasaninejad, S., Mousavi, A., Soltanloo, H., Hemmati, K., & Khalighi, A. (2011). The effect of drought stress on growth parameters, essential oil yield and constituent of peppermint (*Mentha piperita* L.). *Journal of Medicinal Plant Research*, 5(22), 5360–5365.
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350–382.
- Mamatha, B. C., Rudresh, K., Karthikeyan, N., Kumar, M., Das, R., Taware, P. B., Khapte, P. S., Soren, K. R., Rane, J., & Gurumurthy, S. (2023). Vegetal protein hydrolysates reduce the yield losses in off-

- season crops under combined heat and drought stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 29(7), 1049–1059.
- Marschner, P. (2023). *Mineral nutrition of higher plants* (4th ed.). Academic Press.
- Minaei, A., Hassani, A., Nazemieh, H., & Besharat, S. (2019). Effect of drought stress on some morphophysiological and phytochemical characteristics of oregano (*Origanum vulgare* L. ssp. *gracile*). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 35(2), 252–265. (in Persian)
- Mohammadpour Vashvaei, R., Galavi, M., Ramroudi, M., & Fakheri, B. A. (2015). Effects of drought stress and bio-fertilizers inoculation on growth, essential oil yield and constituents of thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Journal of Agroecology*, 7(2), 237–253. (in Persian)
- Morshedloo, M. R., Craker, L. E., Salami, A., Nazeri, V., Sang, H., & Maggi, F. (2017). Effect of prolonged water stress on essential oil content, compositions and gene expression patterns of mono- and sesquiterpene synthesis in two oregano (*Origanum vulgare* L.) subspecies. *Plant Physiology and Biochemistry*, 111, 119–128.
- Mulvaney, R. L. (1996). Nitrogen—inorganic forms. In D. L. Sparks (Ed.), *Methods of soil analysis—Part 3: Chemical methods* (SSSA Book Series No. 5, pp. 1123–1184). Soil Science Society of America and American Society of Agronomy.
- Niakan, M., Khavarynejad, R. A., & Rezaee, M. B. (2004). Effect of different rates of N/P/K fertilizer on leaf fresh weight, dry weight, leaf area and oil content in *Mentha piperita* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 20(2), 131–148. (in Persian)
- Nurdiawati, A., Suherman, C., Maxiselly, Y., Akbar, M. A., Purwoko, B. A., Prawisudha, P., & Yoshikawa, K. (2019). Liquid feather protein hydrolysate as a potential fertilizer to increase growth and yield of patchouli (*Pogostemon cablin* Benth) and mung bean (*Vigna radiata*). *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 8, 221–232.
- Qiao, M., Hong, C., Jiao, Y., Hou, S., & Gao, H. (2024). Impacts of drought on photosynthesis in major food crops and the related mechanisms of plant responses to drought. *Plants*, 13(13), 1808.
- Rouphael, Y., Carillo, P., Cristofano, F., Cardarelli, M., & Colla, G. (2021). Effects of vegetal-versus animal-derived protein hydrolysate on sweet basil morpho-physiological and metabolic traits. *Scientia Horticulturae*, 284, 110123.
- Sestili, F., Rouphael, Y., Cardarelli, M., Pucci, A., Bonini, P., Canaguier, R., & Colla, G. (2018). Protein hydrolysate stimulates growth in tomato coupled with N-dependent gene expression involved in N assimilation. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1233.
- Silva, E. N., Ribeiro, R. V., Ferreira-Silva, S. L., Viegas, R. A., & Silveira, J. A. G. (2010). Comparative effects of salinity and water stress on photosynthesis, water relations and growth of *Jatropha curcas* plants. *Journal of Arid Environments*, 74(10), 1130–1137.
- Singh, M., Ganesh-Rao, R. S., & Ramesh, S. (1997). Irrigation and nitrogen requirement of lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* (Sleud) Wats) on a red sandy loam soil under semiarid tropical conditions. *Journal of Essential Oil Research*, 9(5), 569–574.
- Sodaeizadeh, H., & Mansouri, F. (2014). Effects of drought stress on dry matter accumulation, nutrient concentration and soluble carbohydrate of *Salvia macrosiphon* as a medicinal plant. *Arid Biome Scientific and Research Journal*, 4(1), 1–9. (in Persian)
- Tátrai, Z. A., Sanoubar, R., Pluhár, Z., Mancarella, S., Orsini, F., & Gianquinto, G. (2016). Morphological and physiological plant responses to drought stress in *Thymus citriodorus*. *International Journal of Agronomy*, 20(16), 1–8.
- Tezara, W., Mitchell, V. J., Driscoll, S. D., & Lawlor, D. W. (1999). Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP. *Nature*, 401, 914–917.
- Tränkner, M., Tavakol, E., & Jakli, B. (2018). Functioning of potassium and magnesium in photosynthesis, photosynthate translocation and photoprotection. *Physiologia Plantarum*, 163, 414–431.
- Truzzi, E., Benvenuti, S., Bertelli, D., Francia, E., & Ronga, D. (2021). Effects of biostimulants on the chemical composition of essential oil and hydrosol of lavandin (*Lavandula × intermedia* Emeric ex Loisel.) cultivated in Tuscan-Emilian Apennines. *Molecules*, 26(20), 6157.
- Van Oosten, M. J., Pepe, O., De Pascale, S., Silletti, S., & Maggio, A. (2017). The role of biostimulants and bioeffectors as alleviators of abiotic stress in crop plants. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 4(1), 1–12.

- Wang, W., Zheng, W., Lv, H., Liang, B., Jin, S., Li, J., & Zhou, W. (2022). Animal-derived plant biostimulant alleviates drought stress by regulating photosynthesis, osmotic adjustment, and antioxidant systems in tomato plants. *Scientia Horticulturae*, 305, 111365.
- Wu, F. Z., Bao, W. K., Li, F. L., & Wu, N. (2008). Effects of water stress and nitrogen supply on leaf gas exchange and fluorescence parameters of *Sophora davidii* seedlings. *Photosynthetica*, 46, 40–48.
- Zhang, J., Zhang, S., Cheng, M., Jiang, H., Zhang, X., Peng, C., Lu, X., Zhang, M., & Jin, J. (2018). Effect of drought on agronomic traits of rice and wheat: A meta-analysis. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(5), 839.
- Zhou, S., Duursma, R. A., Medlyn, B. E., Kelly, J. W., & Prentice, I. C. (2013). How should we model plant responses to drought? An analysis of stomatal and non-stomatal responses to water stress. *Agricultural and Forest Meteorology*, 182, 2.