Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Plant Production Research

Print ISSN: 2322-2050
Online ISSN: 2322-2778

Evaluation of changes in photosynthetic parameters, mucilage content and yield components of *Viola ignobilis* Rupr. in response to bio-stimulants application and light intensity

Roshanak Ansari[1], Khodayar Hemmati[*2], Sara Khorasaninejad[3], Nahid Niari Khamsi[4]

1. Ph.D. Student of Medicinal Plant Physiology, Dept. of Horticultural Sciences, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: roshanakansari11@gmail.com
2. Corresponding Author, Associate Prof., Dept. of Horticultural Sciences, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: kh_hemmati@gau.ac.ir
3. Associate Prof., Dept. of Horticultural Sciences, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: khorasaninejad@gau.ac.ir
4. Assistant Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran. E-mail: khamssi@gmail.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 07.14.2023
Revised: 08.28.2023
Accepted: 09.23.2023

Keywords:
Mucilage,
Protein Hydrolysate,
Seaweed Extract,
Violaceae

ABSTRACT

Background and Objectives: During the last decades, excessive application of chemicals in conventional agriculture has contaminated the environment due to contaminants, and harmful residues. Hence, sustainable agricultural practices such as nature-based solutions can be helpful to increase production and alleviate harmful effects on the ecosystem. Also, optimization of environmental conditions influences the physiological process and metabolism in plants and induces better growth and enhance crop yield. The experiments were conducted in a research field in Iran (Roudsar in Gulian province) to investigate the photosynthetic parameters, yield components, and mucilage content of *Viola ignobilis* Rupr. during 2021-2022.

Materials and Methods: The study was set up in a split plot arranged in a randomized complete block design with 3 replications. In this work, two light regimes consisting of 50 and 100% full natural irradiance as the main factor and the biostimulant application including vegetal-protein hydrolysate (V-PH), animal-protein hydrolysate (V-PH), seaweed extract (SE), and the combination of V-PH + SE and A-PH + SE as sub-factors and untreated plants (control) were assessed. A foliar spray of the above-quoted protein hydrolysate was used on the leaves at (0.2 g L^{-1}, 0) and the seaweed extract was applied directly to the soil (2 g L^{-1}, 0).

Results: The obtained results indicated that the fresh and dry weight increased at 100% light intensity by 11.66% and 29.39% respectively compared with shade condition. Also, the soluble carbohydrate and total protein showed higher amount in 100% light intensity by 14.18% and 19.29% respectively compared with shaded plants. The mucilage contents of leaf and flower was higher in 100% light intensity by 12.77% and 25.85% respectively. In this work, the root fresh and dry weight did not influence by the light intensity. The results showed that the highest fresh and dry weight of aerial parts, the number of flowers, total soluble carbohydrates, total protein, and mucilage contents of leaves and flowers obtained in plants were grown in full sunlight, whereas, the highest leaf area was recorded in 50% light intensity. Moreover, all kinds of bio-

stimulant applications had positive significant impact on investigated traits. The highest means of yield components were related to A-PH + SE, but in many cases didn't show any significant differences with V-PH + SE. In terms of mucilage content, the highest concentration of leaf and flower mucilage were connected to V-PH + SE, nevertheless, didn't reveal any significant differences with other bio-stimulant, except the SE. The interaction between light intensity and bio-stimulants just impacted on the leaf area and the number of flowers. The light intensity did not show any significant effect on total chlorophyll and carotenoids, but, the biostimulant application increased considerably these photosynthetic pigments compared to the control. Moreover, the investigation of photosynthetic traits showed that transpiration rate, stomatal conductance and assimilation rate increased in full irradiance by 13%, 16.95% and 10.95% respectively in comparison with shade condition, Also, the biostimulant application highly increased photosynthetic traits compared with untreated plants.

Conclusion: Overall, the results of this work exhibited that the optimizination and changes in the growth conditions of medicinal plants can be improved growth parameters and increased primary and secondary metabolites. The bio-stimulants application was caused to promote the growth parameters, photosynthetic efficiency, and mucilage production in violet. However, applications of seaweed extract in addition to protein hydrolysate had synergistic effects on all assessed growth parameters.

Cite this article: Ansari, Roshanak, Hemmati, Khodayar, Khorasaninejad, Sara, Niari Khamsi, Nahid. 2024. Evaluation of changes in photosynthetic parameters, mucilage content and yield components of *Viola ignobilis* Rupr. in response to bio-stimulants application and light intensity. *Journal of Plant Production Research*, 31 (3), 17-41.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/JOPP.2023.21477.3055
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی

شاپا چاپی: ۲۰۵۰-۲۳۲۲
شاپا آنلاین: ۲۷۷۸-۲۳۲۲

بررسی تغییرات ویژگی‌های فتوسنتزی، محتوای موسیلاژی و اجزای عملکرد بنفشه ارسبارانی (*Viola ignobilis* Rupr.) در پاسخ به محرک‌های زیستی و شدت نور

روشنک انصاری[۱]، خدایار همتی*[۲]، سارا خراسانی‌نژاد[۳]، ناهید نیاری خمسی[٤]

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان دارویی، گروه باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: roshanakansari11@gmail.com

۲. نویسنده مسئول، دانشیار گروه باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: kh_hemmati@gau.ac.ir

۳. دانشیار گروه باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: khorasaninejad@gau.ac.ir

٤. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران، رایانامه: khamssi@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۲/۰٤/۲۳
تاریخ ویرایش: ۱٤۰۲/۰٦/۰٦
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۲/۰۷/۰۱

واژه‌های کلیدی:
بنفشه‌سانان،
پروتئین هیدرولیز،
عصاره جلبک،
موسیلاژ

چکیده

سابقه و هدف: در طول دهه‌های گذشته مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی در کشاورزی به واسطه وجود آلاینده‌ها و بقایای خطرناک موجب آلودگی محیط زیست شده است. بنابراین راه‌کارهای کشاورزی پایدار به‌عنوان روش‌های سازگار با طبیعت می‌توانند در افزایش تولید محصولات و کاهش اثرات سوء بر اکوسیستم مفید واقع شوند. هم‌چنین، بهینه‌سازی شرایط محیطی با تأثیر بر فرایندهای فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاهان دارویی به رشد بهتر و افزایش عملکرد در آن‌ها منجر می‌گردد. در همین راستا پژوهش حاضر طی سال زراعی ۱٤۰۱-۱٤۰۰ به‌منظور ارزیابی صفات مورفوفیزیولوژیکی و محتوای موسیلاژی بنفشه ارسبارانی (*Viola ignobilis* Rupr.) انجام شد.

مواد و روش‌ها: این آزمایش بر اساس طرح اسپلیت‌پلات بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل فاکتورهای اصلی با دو شدت نور (۵۰ و ۱۰۰ درصد نور طبیعی) و محرک‌های زیستی به‌عنوان فاکتورهای فرعی شامل پروتئین هیدرولیز گیاهی، پروتئین هیدرولیز جانوری، عصاره جلبک قهوه‌ای آکادین، پروتئین هیدرولیز گیاهی + جلبک قهوه‌ای آکادین، پروتئین هیدرولیز جانوری + جلبک قهوه‌ای آکادین و گیاهان شاهد (عدم کاربرد محرک‌های زیستی) بودند. پروتئین‌های هیدرولیز ذکر شده به‌صورت محلول‌پاشی برگی در غلظت (صفر و ۰/۲ گرم در لیتر) و عصاره جلبک به‌صورت مستقیم بر روی خاک در غلظت (صفر و ۲ گرم در لیتر) استفاده شدند.

یافته‌ها: نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که وزن‌تر و خشک اندام هوایی به‌ترتیب ۱۱/٦٦ درصد و ۲۹/۳۹ در شدت نور ۱۰۰ درصد نسبت به شرایط سایه افزایش یافت. هم‌چنین میزان کربوهیدرات‌های محلول و پروتئین کل به‌ترتیب ۱٤/۱۸ درصد و ۱۹/۲۹ درصد در شدت نور ۱۰۰ درصد نسبت به شرایط سایه مقادیر بیش‌تری را نشان داد. مقادیر موسیلاژی در برگ و گل به‌ترتیب به میزان ۱۲/۷۷ درصد و ۲۵/۸۵ درصد در شدت نور ۱۰۰ درصد بیش‌تر از شرایط ۵۰ درصد سایه بود. در این پژوهش وزن‌تر و خشک ریشه تحت‌تأثیر شدت نور قرار نگرفت. هم‌چنین کاربرد همه انواع محرک‌های زیستی دارای اثرات مثبت معنی‌دار بر تمامی صفات مورد ارزیابی در این آزمایش بودند، به‌طوری‌که بیش‌ترین میانگین اجزای عملکرد در کاربرد پروتئین هیدرولیز جانوری + عصاره جلبک حاصل شد، هرچند تفاوت معنی‌داری با مصرف پروتئین هیدرولیز گیاهی + عصاره جلبک نشان ندادند. از نظر محتوای موسیلاژی نیز بیش‌ترین مقادیر موسیلاژ در استفاده از پروتئین هیدرولیز گیاهی + عصاره جلبک به‌دست آمد هر چند تفاوت معنی‌داری با کاربرد محرک‌های زیستی مختلف به استثنای جلبک آکادین مشاهده نشد. برهم‌کنش متقابل بین دو فاکتور نور و محرک‌های زیستی فقط بر صفات سطح برگ و تعداد گل معنی‌دار شد. در این پژوهش، اثر نور بر کلروفیل‌کل و کاروتنوئید معنی‌دار نشد اما کاربرد محرک‌های زیستی به افزایش قابل‌ملاحظه این رنگدانه‌ها نسبت به گیاهان شاهد منجر شد. هم‌چنین بررسی صفات فتوسنتزی نشان داد که نرخ تعرق، هدایت روزنه‌ای و نرخ جذب و تحلیل خالص CO_2 به‌ترتیب به‌میزان ۱۳ درصد، ۱٦/۹۵ درصد و ۱۰/۹۵ درصد در شدت نور ۱۰۰ درصد بیشتر از شرایط سایه بود، ضمن این‌که گیاهان تیمار شده با محرک‌های زیستی در مقایسه با گیاهان تیمار نشده در صفات مرتبط با تبادلات گازی مقادیر بالاتری را نشان دادند.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تغییر و بهینه‌سازی شرایط رشد گیاهان دارویی به بهبود رشد و افزایش تولید متابولیت‌های اولیه و ثانویه در آن‌ها منجر می‌شود. در این پژوهش کاربرد همه انواع محرک‌های زیستی سبب افزایش قابل‌توجهی در صفات رویشی، کارایی فتوسنتزی و محتوای موسیلاژی بنفشه گردیدند اما کاربرد توأم پروتئین هیدرولیز و عصاره جلبک آکادین به نتایج مطلوب‌تری منجر گشت که احتمالاً به‌دلیل اثرات هم‌افزایی کاربرد این دسته از محرک‌های زیستی در این آزمایش می‌باشد.

استناد: انصاری، روشنک، همتی، خدایار، خراسانی‌نژاد، سارا، نیاری خمسی، ناهید (۱۴۰۳). بررسی تغییرات ویژگی‌های فتوسنتزی، محتوای موسیلاژی و اجزای عملکرد بنفشه ارسبارانی (*Viola ignobilis* Rupr.) در پاسخ به محرک‌های زیستی و شدت نور. *نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی*، ۳۱ (۳)، ۴۱-۱۷.

DOI: 10.22069/JOPP.2023.21477.3055

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

جمعیت‌های مختلفی از بنفشه در نواحی غربی و شمالی ایران وجود دارد (۱). بنفشه ارسبارانی یکی از گونه‌های بنفشه است که در منطقه حفاظت شده ارسباران در شمال‌غربی ایران توده‌های زیادی از آن مشاهده شده است (۲). این جنس متعلق به تیره بنفشه‌سانان[1] بوده و کل پیکره این گیاه به‌دلیل دارا بودن ترکیبات فیتوشیمیایی مانند آلکالوئید، گلیکوزیدها، اسیدآسکوربیک، موسیلاژ، کومارین، فلاونوئیدها، ساپونین، متیل‌سالیسیلات و هم‌چنین انواع مختلفی از ترکیبات سیکلوتیدی، دارویی محسوب می‌شود (۳). استفاده از گیاهان دارویی حاوی موسیلاژ در طب سنتی ایرانی به گذشته‌های باستانی باز می‌گردد. با بررسی کتبی مانند قانون، الحاوی، دخیره خوارزمشاهی و مخزن الادویه تعداد ۲۰ گونه از گیاهان دارویی از جمله گونه‌های بنفشه به‌عنوان گیاهان حاوی موسیلاژ، شناسایی و معرفی شده‌اند (٤). بهینه‌سازی شرایط محیطی و مدیریت کشت از جمله اقداماتی هستند که به افزایش رشد و عملکرد گیاهان دارویی منجر می‌گردد.

در بین عوامل اکولوژیکی، نور به‌عنوان یکی از مهم‌ترین فاکتورهای محیطی نقش بسیار مهمی در ریخت‌زایی، فتوسنتز، تنوع ترکیبات بیوشیمیایی، آناتومی و متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارد (۵). هم‌چنین، کاربرد محرک‌های زیستی به‌عنوان ابزارهایی نوین در کشاورزی پایدار، با تأثیر بر گیاه و نیز محیط ریزوسفر، نقش مهمی را در بهبود رشد و عملکرد گیاهان ایفاء می‌کند (٦). پروتئین‌های هیدرولیز گروهی از محرک‌های زیستی هستند که از منابع گیاهی و جانوری به‌دست آمده و در غلظت‌های بسیار اندک مورد استفاده قرار می‌گیرند (۷). پپتیدهای شبه‌هورمونی و پیش‌سازهای هورمون‌های گیاهی که در ترکیب پروتئین‌های هیدرولیز وجود دارند با تأثیر بر تعادل هورمونی گیاه، افزایش جذب عناصر غذایی و کاهش عوارض ناشی از تنش مسئول بروز تغییراتی در روند رشد و نمو گیاهان هستند (۸). یکی دیگر از انواع محرک‌های زیستی، جلبک قهوه‌ای (*Ascophyllum nodosum* L.) می‌باشد که به‌واسطه دارا بودن ترکیباتی مانند پلی‌ساکاریدها، آلجینات‌ها[2]، پلی‌فنل‌ها، بتائین، آمینواسیدها و ویتامین‌ها اثرات مثبتی در روند رشد و فرایندهای فیزیولوژیکی گیاهان دارند (۹). نتایج به‌دست آمده از پژوهش‌های پیشین مبنی‌بر نقش مواد زیستی و نیز عوامل محیطی در افزایش عملکرد کمی و کیفی ترکیباتی موسیلاژی، اهمیت کاربرد این دسته از ترکیبات و نیز بهینه‌سازی شرایط رشد گیاه به‌منظور افزایش رشد و عملکرد را آشکار می‌سازد. در یکی از این مطالعات Shekofteh و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که کاربرد برون‌زای سالیسلیک اسید در شرایط تنش خشکی به افزایش عملکرد کمی و کیفی موسیلاژ در اسفرزه (*Plantago ovata* Fors) منجر گردید (۱۰). در پژوهش انجام شده توسط Xie و همکاران (۲۰۱۸) تأثیر عوامل محیطی بر انباشته شدن موسیلاژ در گیاه براسنیا (*Brasenia schreberi*) مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش اثر فاکتورهایی مانند میزان آب در دسترس، درجه حرارت، نیتروژن، اکسیژن محلول، هدایت الکتریکی و کربن آلی از جمله عوامل مؤثر بر تجمع موسیلاژ در این گیاه گزارش شدند. به‌طورکلی دسترسی به رطوبت کافی و منبع غذایی مناسب به سنتز قابل‌توجه متابولیت‌هایی مانند ترکیبات موسیلاژی منجر خواهد شد (۱۱). در بسیاری از مطالعات صورت گرفته در گذشته، محرک‌های زیستی مانند عصاره جلبک و پروتئین‌های هیدرولیز به دلیل توسعه جذب آب و عناصر غذایی و کمک به فراهمی

1- Violaceae

2- Alginates

آن‌ها در محیط ریزوسفر به افزایش تولید متابولیت‌های ثانوی در گیاهان دارویی منجر شده‌اند (۱۲). بنابراین هدف از این پژوهش بررسی اثر این دسته از محرک‌های زیستی بر میزان رشد و نمو و تولید ترکیبات موسیلاژی بنفشه ارسبارانی می‌باشد.

تاکنون مطالعه‌ای مبنی بر نقش عوامل محیطی در افزایش محتوای موسیلاژی و نیز اثربخشی پروتئین‌های هیدرولیز در پارامترهای رویشی و فتوسنتزی بنفشه صورت نگرفته است، بنابراین این پژوهش در جهت بررسی تأثیر شدت‌های مختلف نور و هم‌چنین محرک‌های زیستی با منبع پروتئین هیدرولیز گیاهی و جانوری و عصاره جلبک قهوه‌ای آکادین بر اجزای عملکرد، صفات فتوسنتزی و میزان موسیلاژ گل و برگ در بنفشه (*Viola ignobilis* Rupr.) انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در طی سال‌های ۱۴۰۱-۱۴۰۰ انجام گرفت. ریزوم‌های بنفشه ارسبارانی از منطقه ارسباران-کلیبر در استان آذربایجان شرقی (با عرض جغرافیایی ۳۸ درجه و ۵۲ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۴۷ درجه و ۲ دقیقه شرقی و ارتفاع ۱۱۴۴ متر از سطح دریا) جمع‌آوری و پس از شناسایی و دریافت کد هرباریومی به شماره ۶۳۵۰ توسط مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی گیلان، در رودسر واقع در استان گیلان (با عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۱۳ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۲۸ دقیقه شرقی و ارتفاع ۲ متر از سطح دریا) کشت گردید. تیمارها شامل نور به‌عنوان عامل اصلی در دو سطح ۵۰ و ۱۰۰ درصد نور طبیعی و عامل فرعی یعنی پروتئین هیدرولیز گیاهی و جانوری با غلظت صفر و ۰/۲ گرم در لیتر و عصاره جلبک آکادین با غلظت صفر و ۲ گرم در لیتر مطابق جدول ۱ اعمال شدند. پروتئین‌های هیدرولیز گیاهی با منشاء سویا و پروتئین هیدرولیز جانوری با منشاء کلاژن ماهی در شرکت دانش‌بنیان کیان شیمی رایکا واقع در پارک علم و فناوری گچساران تأمین گردید. هم‌چنین عصاره جلبک دریایی محصول شرکت کانادایی آکادین در بسته‌بندی یک کیلوگرمی تهیه شد.

جدول ۱- محرک‌های زیستی.

Table 1. The Biostimulants.

محرک‌های زیستی Biostimulants	غلظت Concentration	پروتئین هیدرولیز جانوری Animal Protein Hydrolysate (A-PH)	پروتئین هیدرولیز گیاهی Vegetal Protein Hydrolysate (V-PH)	عصاره جلبک Seaweed Extract (SE)	آب Water
		0.2 g/l	0.2 g/l	2 g/l	150 cc
A-PH		+	-	-	-
V-PH		-	+	-	-
SE		-	-	+	-
A-PH + SE		+	-	+	-
V-PH + SE		-	+	+	-
Control		-	-	-	+

این پژوهش بر اساس طرح اسپلیت‌پلات بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. هر تکرار این آزمایش مشتمل بر ١٦ گلدان و در هر پلات اصلی (نور و سایه ٥٠ درصد) تعداد ٢٨٨ گلدان مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای کاشت ریزوم‌های بنفشه از مخلوط خاکی با نسبت مساوی خاک برگ پوسیده و خاک باغچه استفاده شد. آنالیز ترکیب بستر نهایی در جدول ٣ آمده است. به‌منظور تأمین سایه ٥٠ درصد از شیدهای آماده پلی‌اتیلنی با ظرفیت سایه‌اندازی ٥٠ درصد در ارتفاع ٣ متر استفاده شد (١٣). میانگین شدت نور با استفاده از دستگاه نورسنج دستی (Habotest Model HT620) در سطح تاج گیاه اندازه‌گیری شد که مقدار آن به‌طور میانگین در شدت نور ٥٠ درصد ٤٢٥ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه و در شرایط نور ١٠٠ درصد٨٧٠ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه بود.

تیمار پروتئین‌های هیدرولیز ٣ هفته پس از کاشت و استقرار کامل نشاءها در خاک در تاریخ ٢٥ دی‌ماه آغاز و به‌صورت هفتگی ١٢ بار تا مرحله گل‌دهی در ٢٦ فروردین ادامه داشت. پروتئین هیدرولیز جانوری با استفاده از هیدرولیز آنزیمی ماهی در شرایط قلیایی به‌دست آمد و متشکل از ٧٥ درصد آمینو اسید آزاد بود. پروتئین هیدرولیز گیاهی نیز حاصل هیدرولیز آنزیمی دانه‌های سویا بوده و مشتمل بر ٤٨ درصد آمینو اسید و پپتیدهای محلول بود. نحوه مصرف محرک‌های زیستی ذکر شده به‌صورت محلول‌پاشی برگی و در غلظت ٠/٢ گرم در لیتر محلول با آب مقطر (١٥٠ میلی‌لیتر برای هر گلدان) صورت گرفت (١٤). هم‌چنین عصاره جلبک به‌کار رفته در این پژوهش، جلبک قهوه‌ای آکادین (*Ascophyllum nodosum*) بود که مشتمل بر ترکیبات ارگانیک و مواد معدنی (٦٥-٧٠ درصد)، آلژینیک اسید (١٠ درصد)، مانیتول (٤ درصد)، نیتروژن (٠/٠٧ درصد)، فسفر (٠/٢ درصد) و پتاسیم (١٧ درصد) بود. عصاره جلبک به‌صورت محلول‌پاشی مستقیم بر روی خاک (٥٠٠ میلی‌لیتر در هر گلدان) هر دو هفته از هفته سوم کشت نشاءها و در غلظت ٢ گرم در لیتر به‌مدت ٣ ماه استفاده شد. مقدار نسبی عصاره جلبک مصرفی براساس توصیه کارخانه سازنده بود. هیچ نوع کودی در این آزمایش مورد استفاده قرار نگرفت و همه اعمال زراعی مطابق روش‌های استاندارد و متداول انجام گرفت.

جدول ٢- نتایج آنالیز بستر کشت.

Table 2. Analysis results of growth medium.

نیتروژن N (%)	فسفر P (mg/kg)	پتاسیم K (mg/kg)	روی Zn (mg/kg)	آهن Fe (mg/kg)	منیزیوم Mg (mg/kg)	مواد آلی Organic Materials (%)	اسیدیته خاک pH	هدایت الکتریکی EC ($ds.m^{-1}$)
3.1	10.1	145.21	1.3	10	85	10	7.35	1.08

اندازه‌گیری صفات ریخت‌شناسی و اجزای عملکرد: به‌منظور اندازه‌گیری وزن‌تر بخش هوایی و ریشه، پس از برداشت، گیاهان از محل طوقه قطع و با استفاده از ترازوی دیجیتال آزمایشگاهی با دقت ٠/٠٠١ گرم وزن شدند. پس از آن، نمونه‌های ریشه و اندام هوایی به‌مدت ٤٨ ساعت در آون با دمای ٧٢ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و پس از خشک شدن و رسیدن به وزن ثابت با استفاده از ترازوی دیجیتال توزین شدند (١٥ و ١٦). برای اندازه‌گیری سطح برگ از دستگاه سطح‌سنج (leaf area meter, Delta T)

استفاده شد. هم‌چنین تعداد گل‌های تشکیل شده در طول دوره زایشی (اوایل فروردین تا اوایل اردیبهشت) شمارش و تعداد آن‌ها ثبت گردید.

سنجش قندهای محلول: به‌منظور اندازه‌گیری قندهای محلول‌کل، پس از کوبیدن ۰/۵ گرم بافت برگی در هاون چینی، ۵ سی‌سی اتانول ۹۵ درصد به آن اضافه شد، پس از ورتکس محلول حاصل، مایع رویی جدا و به لوله آزمایش منتقل گردید. با استفاده از اتانول ۷۰ درصد باقی‌مانده جامد شستشو شد. در نهایت پس از اضافه کردن ۱۵۰ میلی‌گرم انترون به اضافه ۱۰۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۷۲ درصد، به مدت ۱۰ دقیقه لوله‌های آزمایش در حمام آب‌جوش قرار گرفت و پس از رنگی شدن محلول و خنک شدن، با استفاده از اسپکتروفتومتر جذب نمونه‌ها در طول موج ٦٢٥ نانومتر خوانده شد. از گلوکز به‌عنوان محلول استاندارد استفاده شد (۱۷).

سنجش پروتئین‌کل: به‌منظور تهیه عصاره پروتئینی از بافر فسفات‌سدیم (pH=۸/٦) استفاده شد. عصاره استخراج شده به‌مدت ۲۰ دقیقه در ۱۵۰۰۰g سانتریفوژ شد. به‌منظور تهیه معرف بردفورد، مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم کوماسی برلیانت بلو در ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹٦ درصد حل گردید و سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۸۵ درصد به آن اضافه شد. با استفاده از آب دوبار تقطیر حجم محلول به ۱ لیتر رسانده شد و پس از عبور از کاغذ صافی تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد. برای اندازه‌گیری پروتئین‌کل، به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره پروتئینی، ۱۵۰ میکرولیتر آب دوبار تقطیر اضافه شد و در نهایت ۷۵۰ میکرولیتر از معرف که پیش‌تر آماده شده بود به محلول حاصله اضافه گردید. پس از مدت زمان ۱۵ دقیقه، جذب محلول در اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. از سرم آلبومین گاوی برای تهیه محلول‌های استاندارد پروتئین استفاده شد. غلظت پروتئین‌کل بر اساس مقایسه میلی‌گرم در گرم وزن تازه محاسبه گردید (۱۸).

اندازه‌گیری ویژگی‌های فتوسنتزی: پارامترهای فتوسنتزی شامل نرخ جذب و تحلیل CO_2 ($\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$)، سرعت تعرق ($mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$)، و هدایت روزنه‌ای ($H_2O\ mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$) به وسیله فتوسنتزمتر قابل‌حمل (GFS-3000, Heinz Walz Effeltrich, Germany) اندازه‌گیری شدند. ارزیابی‌ها روی برگ‌های توسعه یافته و درفاصله ۱۰ صبح تا ۲ عصر انجام شدند. درجه حرارت، تابش فعال فتوسنتزی و غلظت CO_2 به‌ترتیب در ۷۰۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه، ۲۸/٤ درجه سانتی‌گراد و ۵۷۸/٤۸ ppm نگهداری شدند. برای هر تکرار ۵ گیاه به‌طور تصادفی انتخاب و آنالیز صفات مورد اشاره انجام گرفت.

اندازه‌گیری کلروفیل کل و کاروتنوئید: به‌منظور اندازه‌گیری کلروفیل کل و کاروتنوئید، پس از تهیه عصاره‌های متانولی از بافت تازه برگی، نمونه‌ها به‌مدت ٢٤ ساعت در تاریکی و دمای اتاق قرار گرفتند و سپس میزان جذب محلول‌ها در طول موج‌های ٦٦٥/٢، ٦٥٢/٤ و ٤٧٠ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. مقدار کلروفیل و کاروتنوئید بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تازه گزارش شدند (۱۹).

استخراج و اندازه‌گیری موسیلاژ: به‌منظور استخراج موسیلاژ از بافت برگ و گل، از روش استخراج گرم[1] استفاده شد، به‌این منظور ۱ گرم از هر نمونه به ۱۰ سی‌سی اسیدکلریدریک ۰/۱ نرمالی که در حال جوش بود اضافه گردید تا زمانی که تغییر رنگ در محلول‌ها مشاهده شد. پس از جداسازی محلول موسیلاژی حاصل و شستشوی آن با ۵ سی‌سی آب جوش، ٦۰ میلی‌لیتر اتانول ۹٦ درصد به محلول مذکور اضافه و

1- Warm extraction method

سپس به‌مدت ۵ ساعت در یخچال نگهداری شد. با استفاده از کاغذ صافی موسیلاژ به‌دست آمده جدا شد و به‌مدت ۱۲ ساعت در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از خشک شدن رطوبت اضافه، مقدار موسیلاژ به‌دست آمده وزن شد و به‌صورت درصد گزارش گردید (۲۰).

تجزیه تحلیل داده‌ها: تجزیه تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

خصوصیات ریخت‌شناسی

وزن‌تر و خشک اندام هوایی: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که وزن‌تر و خشک اندام هوایی به‌طور معنی‌داری تحت‌تأثیر شدت‌های مختلف نور و کاربرد محرک‌های زیستی قرار گرفت ($P\leq ۰/۰۱$)، هر چند برهم‌کنش متقابل فاکتورهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر این صفت نشان نداد (جدول ۳). بر اساس نتایج مقایسه میانگین وزن‌تر و خشک اندام هوایی در گیاه دارویی بنفشه ارسبارانی در حضور نور کامل افزایش چشم‌گیری داشته است به‌طوری‌که گیاهان رشد یافته در شدت نور بیش‌تر (۱۰۰ درصد نور طبیعی) ۱۱/٦٦ درصد وزن‌تر بیش‌تری نسبت به گیاهانی که در شرایط ۵۰ درصد نور طبیعی روییدند، داشتند (جدول ٤). این افزایش در صفت وزن‌خشک اندام هوایی به ۲۹/۳۹ درصد رسیده است. بر اساس نتایج مقایسه میانگین، در بین محرک‌های مختلف بیش‌ترین وزن‌تر و خشک اندام هوایی به‌ترتیب با ٤۲/٦۵ گرم و ۹/۱۸ گرم به کاربرد توأم A-PH + SE اختصاص یافت، هرچند تفاوت معنی‌داری با کاربرد V-PH +SE نشان نداد. کم‌ترین وزن‌تر و خشک نیز به ترتیب با ۱۹/۱۸گرم و ۲/٦۵ گرم به گیاهان شاهد که فقط آب دریافت نمودند اختصاص یافت. برهم‌کنش متقابل فاکتورهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر صفات وزن‌تر و خشک اندام هوایی نشان نداد (جدول ۳). در این پژوهش وزن‌تر اندام هوایی در شرایط نور کامل از میانگین بالاتری نسبت به گیاهان رشد یافته در سایه برخوردار بود. تولدی و همکاران (۲۰۱۹) با بررسی رشد گندم در سه شدت نور کم، متوسط و زیاد دریافتند که شاخص‌های فتوسنتزی و وزن‌تر در شدت‌های بالاتر نور افزایش چشم‌گیری داشته است. نتایج این بررسی نشان داد که تغییرات نور در مراحل مختلف رشد گیاه با تأثیر بر کارایی فتوسنتزی گیاهان، پارامترهای رشدی آن‌ها را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد (۲۱). در حقیقت اولین اثرات بیوشمیایی ناشی از ویژگی‌های کمی و کیفی نور با تغییرات فتوسنتزی در گیاه انعکاس می‌یابد (۲۲). در یک مطالعه بررسی دو گیاه ریحان و کاهو در شرایط نوری و تغذیه‌ای مختلف نشان داد که بیش‌ترین وزن‌تر و خشک این گیاهان در بالاترین شدت نور مورد ارزیابی حاصل شد (۲۳). بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش کاربرد محرک‌های زیستی به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای موجب افزایش رشد رویشی گیاهان تیمار شده در مقایسه با گیاهان شاهد گردید. این افزایش رشد در تمامی تیمارهای اعمال شده به وضوح قابل مشاهده است. در میان محرک‌های زیستی به‌کار رفته در این پژوهش، بیش‌ترین وزن‌تر و خشک اندام هوایی و ریشه با کاربرد A-PH + SE حاصل شد اما در هیچ‌کدام از صفات مذکور تفاوت معنی‌داری با تیمار V-PH + SE مشاهده نشد. نتایج مشابهی در سایر مطالعات از این دست حاصل شده است. تیمار اسفناج گلخانه‌ای با پروتئین هیدرولیز به افزایش و بهبود پارامترهای رویشی گیاهان منجر شد (٢٤). هم‌چنین در پژوهشی مشابه، افزایش قابل‌توجهی در وزن تازه کرفس پس از کاربرد پروتئین هیدرولیز مشاهده شد

(۲۵). پپتیدها، آمینواسیدها و ترکیبات شبه‌هورمونی موجود در پروتئین‌های هیدرولیز و عصاره جلبک، عامل تغییرات مثبت رشد و نموی در گیاهان است. افزایش سطح جذب عناصر غذایی و تأثیر در متابولیسم نیتروژن و کربن یکی از سازوکارهای اثبات شده پروتئین‌های هیدرولیز است که با بهبود رشد و نمو گیاهان در ارتباط مستقیم است (۲۶).

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر نور، محرک‌های زیستی و اثرات متقابل آن‌ها پارامترهای فیزیولوژیکی و اجزای عملکرد در بنفشه ارسبارانی (*Viola ignobilis* Rupr.).

Table 3. Variance analysis of light intensity, bio-stimulant and their interaction (mean of squares) on physiological parameters, and yield components of *Viola ignobilis* Rupr.

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS							
		وزن‌تر اندام هوایی Aerial fresh weight	وزن‌تر ریشه Root fresh weight	وزن‌خشک اندام هوایی Aerial dry weight	وزن‌خشک ریشه Root dry weight	سطح‌برگ Leaf area	تعداد گل Number of flower	کربوهیدارت کل Total carbohydrate	پروتئین کل Total protein
بلوک Block	2	5.595^{ns}	9.3188^{ns}	0.3238^{ns}	1.98257*	1.9680^{ns}	0.00527^{ns}	0.0814^{ns}	0.3836^{**}
نور Light	1	47.909^{**}	14.72^{ns}	0.88046^{**}	1.3148^{ns}	24.30^{**}	26.6944^{**}	748.84^{**}	0.1444^{*}
نور × بلوک Block × Light	2	4.402^{ns}	16.726^{ns}	0.97645^{ns}	0.2644^{ns}	0.264^{ns}	0.0719^{ns}	6.1286^{ns}	0.0599^{ns}
محرک‌های زیستی Biostimulants	5	2.948^{ns}	290.40^{**}	47.2563^{**}	26.443^{**}	153.876^{**}	6.02044^{**}	2112.27^{**}	0.4451^{**}
محرک‌های زیستی × نور Biostimulants × Light	5	2.948^{ns}	0.3192^{ns}	0.1447^{ns}	0.2890^{ns}	3.48541^{*}	0.09977^{**}	8.7344^{ns}	0.0188^{ns}
خطای آزمایشی Experimental error	20	62.562	166.432	23.42921	12.6315	24.8825	0.5122	72.915	0.7865
کل Total	35	–	–	–	–	–	–	–	–
ضریب تغییرات (درصد) C.V.		5.15	9.90	19.14	10.47	4.92	3.92	15.20	2.77

علامت (*)نمایانگر سطح معنی‌داری برای هر یک از فاکتورهای (نور و محرک‌های زیستی) و اثرات متقابل آن‌ها (نور × محرک‌های زیستی) می‌باشد

^{ns} عدم معنی‌داری، * معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد (P≤۰/۰۵)، ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد (P≤۰/۰۱)

Asterisks (*) represent the level of significance for each factors (Light and Biostimulants) and their interaction (Light × Biostimulants)

^{ns} not significant, * P<0.05, ** P<0.01

جدول ٤- مقایسه میانگین اثر محرک‌های زیستی بر پارامترهای فیزیولوژیکی و اجزای عملکرد در بنفشه ارسبارانی (*Viola ignobilis* Rupr.).

Table 4. Mean comparison of biostimulants application on physiogical parameters, and yield components of *Viola ignobilis* Rupr.

پارامترها	وزن‌تر اندام هوایی (گرم) Aerial frsh weight (g)	وزن‌خشک اندام هوایی (گرم) Aerial dry weight (g)	وزن‌تر ریشه (گرم) Root fresh weight (g)	وزن‌خشک ریشه (گرم) Root dry weight (g)	سطح برگ (سانتی‌مترمربع) Leaf area (cm^2)	تعداد گل (در هر گیاه) Flower number (per plant)	پروتئین کل (میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) Total protein ($mg.g^{-1}FW$)	کربوهیدرات‌های محلول کل (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) Total soluble carbohydrate ($mg.g^{-1}DW$)
شدت نور Light intensity								
100%	36.86^{a}	5.81^{a}	29.77^{a}	7.77^{a}	21.83^{b}	4.9^{a}	1.36^{a}	73.42^{a}
50%	33^{b}	4.49^{b}	28.49^{a}	7.39^{a}	23.47^{a}	3.2^{b}	1.14^{b}	64.30^{b}
محرک‌های زیستی Biostimulants								
A-PH	35.16^{b}	4.5 b	31.33^{bc}	8.49^{a}	23.36^{c}	4.2^{b}	1.4^{a}	77.15^{b}
V-PH	34.8^{bc}	4.2^{b}	29.91^{c}	8.32^{a}	22.37^{c}	4.2^{b}	1.38^{a}	74.73^{c}
SE	32.79^{c}	3.82^{bc}	28.44^{c}	7.16^{b}	22.22^{c}	4.1^{b}	1.10^{b}	66.76^{d}
A-PH + SE	42.65^{a}	9.18^{a}	35.19^{a}	9.1^{a}	28.23^{a}	4.8^{a}	1.56^{a}	81.18^{a}
V-PH + SE	41.27^{a}	9.13^{a}	34^{ab}	8.89^{a}	26.22^{b}	4.9^{a}	1.51^{a}	80.88^{a}
H_2O	19.18^{d}	2.65^{c}	15.88^{d}	3.52^{c}	13.51^{d}	2.1^{c}	0.85^{c}	32.18^{e}

محرک‌های زیستی شامل پروتئین هیدرولیز جانوری (A-PH)، پروتئین هیدرولیز گیاهی (V-PH)، عصاره جلبک (SE)، کاربرد توأم پروتئین هیدرولیز جانوری و عصاره جلبک (A-PH + SE) و کاربرد توأم پروتئین هیدرولیز گیاهی و عصاره جلبک (V-PH + SE). گیاهانی که با H_2O تیمار شدند به‌عنوان شاهد درنظر گرفته شدند. حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ می‌باشند

The biostimulant are consisting of animal-protein hydrolysate (A-PH), vegetal-protein hydrolysate (V-PH), seaweed extract (SE), co-applications of animal-protein hydrolysate + seaweed extract (A-PH + SE), and vegetal-protein hydrolysate + seaweed extract (V-PH + SE). Plants treated with H_2O served as a control. Similar letter in each column denote non-significance at P<0.05

جدول ۵- مقایسه میانگین اثرات متقابل شدت نور و محرک‌های زیستی بر سطح برگ و تعداد گل در بنفشه ارسبارانی (*Viola ignobilis* Rupr.).

Table 5. Comparison of means for the interaction effect of light density and biostimulants on the leaf area and number of flower of *Viola ignobilis* Rupr.

سطح برگ برای ۱ برگ (سانتی‌مترمربع) Leaf Area for one leaf (cm^2)	تعداد گل Number of flower	محرک‌های زیستی Bio-Stimulant	شدت نور Light Intensity
23.09^{bc}	5^{b}	A-PH	100%
22.39^{c}	5^{b}	V-PH	
21.54^{c}	4.8^{b}	SE	
26.06^{a}	6^{a}	A-PH + SE	
24.42^{ab}	5.8^{a}	V-PH + SW	
12.47^{d}	2.9^{c}	H_2O	
23.62^{c}	3.4^{b}	A-PH	50%
23.07^{c}	3.5^{b}	V-PH	
22.91^{c}	3^{c}	SE	
30.40^{a}	3.8^{a}	A-PH + SE	
27.02^{b}	3.8^{a}	V-PH + SW	
14.55^{d}	1.4^{d}	H_2O	

محرک‌های زیستی شامل پروتئین هیدرولیز جانوری (A-PH)، پروتئین هیدرولیز گیاهی (V-PH)، عصاره جلبک (SE)، کاربرد توأم پروتئین هیدرولیز جانوری و عصاره جلبک (A-PH + SE) و کاربرد توأم پروتئین هیدرولیز گیاهی و عصاره جلبک (V-PH + SE). گیاهانی که با H_2O تیمار شدند به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ می‌باشند

The biostimulant are consisting of animal-protein hydrolysate (A.PH), vegetal-protein hydrolysate (V.PH), seaweed extract (SE), co-applications of animal-protein hydrolysate + seaweed extract (A.PH + SE), and vegetal-protein hydrolysate + seaweed extract (V.PH + SE). Plants treated with H_2O served as a control. Similar letter in each column denote non-significance at P<0.05

وزن‌تر و خشک ریشه: با توجه به نتایج جدول آنالیز واریانس (جدول ۳) فاکتور نور بر وزن‌تر و خشک ریشه بنفشه ارسبارانی اثر معنی‌داری نداشت، اما کاربرد محرک‌های زیستی تأثیر قابل‌توجهی بر این صفات در مقایسه با شاهد نشان داد (P≤۰/۰۱). بر اساس مقایسه میانگین صورت گرفته بیش‌ترین وزن‌تر و خشک ریشه به‌ترتیب با مقادیر ۳۵/۱۹ گرم و ۹/۱ گرم به مصرف محرک‌های زیستی A-PH + SE اختصاص یافت هر چند تفاوت معنی‌داری با V-PH + SE نشان نداد. کم‌ترین مقادیر وزن تر و خشک ریشه نیز به گیاهان شاهد به‌ترتیب با مقادیر ۱۵/۸۸ گرم و ۳/۵۲ گرم مربوط شد (جدول ٤). در این آزمایش برهم‌کنش متقابل بین نور و کاربرد محرک‌های زیستی بر وزن‌تر و خشک ریشه معنی‌داری نشد (جدول ۳). در مطالعه‌ای که توسط کیم و همکاران (۲۰۱۹) انجام پذیرفت رشد و توسعه ریشه در گیاهانی مانند ریحان، گوجه‌فرنگی، و گل داوودی پس از تیمار با پروتئین هیدرولیز به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافت (۲۷). هم‌چنین کاربرد پروتئین هیدرولیز کلاژن موجب افزایش قابل‌توجهی

در رشد ریشه گیاهچه ذرت در شرایط تنش خشکی شده است (۲۸). تغییر الگوی ساختمانی ریشه که با تغییر در زیست‌توده، حجم، طول ریشه و تعداد ریشه‌های جانبی همراه است یکی از اثرات مفید و سازنده مصرف پروتئین‌های هیدرولیز است. چنین تغییر ساختاری در ریشه به افزایش سطح جذب عناصر غذایی توسط ریشه و میزان دسترسی گیاه به عناصر غذایی خاک کمک شایانی می‌کند (۲۹).

سطح برگ: بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) برهم‌کنش متقابل نور و کاربرد محرک‌های زیستی تأثیر معنی‌داری به لحاظ آماری بر پارامتر سطح برگ در بنفشه ارسبارانی نشان داد ($P\leq$۰/۰۵). بر این اساس، بیش‌ترین سطح برگ (۳۰/٤ cm^2) در شرایط سایه و در گیاهانی مشاهده شد که تیمار A-PH + SE را دریافت کرده بودند. کم‌ترین میزان سطح برگ (۱۲/٤ cm^2) نیز در گیاهانی مشاهده شد که هیچ‌گونه محرک زیستی دریافت نکرده و تحت شرایط نور کامل رشد یافته بودند (جدول ۵). سطح برگ در برخی گیاهان با قرارگیری در معرض شدت‌های کم‌تر نور افزایش می‌یابد که دلیل این امر افزایش سطح جذب نور و حفظ کارایی فتوسنتزی است (۳۰). بروز چنین واکنش‌هایی معمولاً با کاهش ضخامت برگ و یا کاهش وزن‌تر گیاه همراه است، چنان‌چه در این آزمایش نیز افزایش سطح برگ گیاهان در سایه با کاهش وزن‌تر در گیاه همراه بود (۳۱). در اصطلاح فیزیولوژی چنین رویدادی در گیاهان نوعی اجتناب از سایه محسوب می‌شود که با گستردن سطح برگ نسبت به زیست‌توده[1] در گیاهان به وقوع می‌پیوندد (۳۲). نتایج مشابهی در مطالعات صورت گرفته توسط رضایی و همکاران (۲۰۱۸) بر روی مریم‌گلی معمولی (*Salvia officinalis* L.) (۳۳) و کومار و همکاران (۲۰۱۳) بر روی مریم‌گلی کبیر (*Salvia sclarea* L.) به‌دست آمد که طی آن، بیش‌ترین سطح برگ در شرایط سایه ۵۰ درصد حاصل شد (۱۳). نتایج حاصل از مطالعات مختلف نشان داده است که کاربرد محرک‌های زیستی با افزایش تقسیم سلولی و نیز تحریک طویل شدن سلول، موجب افزایش سطح برگ در گیاهان شده است (۳٤ و ۳۵).

تعداد گل: مطابق نتایج به‌دست آمده از آنالیز واریانس (جدول ۳) تعداد گل‌های تشکیل شده در بنفشه ارسبارانی تحت‌تأثیر معنی‌دار برهم‌کنش متقابل فاکتورهای نور و محرک‌های زیستی قرار گرفت ($P\leq$۰/۰۱). در این آزمایش بیش‌ترین تعداد گل (٦ عدد) در گیاهانی که در نور کامل رشد کرده و محرک‌های زیستی A-PH + SE را دریافت کردند، مشاهده شد، هر چند تفاوت معنی‌داری بین این گروه و گروهی که تیمار V-PH + SE را دریافت نموده بودند دیده نشد. هم‌چنین کم‌ترین تعداد گل در شرایط سایه و بدون مصرف محرک‌های زیستی با میانگین ۱/٤ گل در هر بوته حاصل شد (جدول ۵). با توجه به این‌که کل پیکره بنفشه دارویی محسوب می‌شود علاوه بر اندام‌های ریشه و برگ، گل‌ها نیز از متالبولیت‌های دارویی متنوعی برخوردارند. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که نور کامل برای تشکیل تعداد بیش‌تر گل در بنفشه یک ضرورت محسوب می‌شود. در حقیقت برخی گونه‌های گیاهی به‌منظور تمایز جوانه‌های گل به نور بیش‌تری نیاز دارند. این نیاز نوری با افزایش کارایی فتوسنتزی به‌منظور تولید ماده خشک بیش‌تر در گیاهان مطابقت دارد (۳٦). در یک مطالعه، پژوهش‌گران با بررسی

1- Biomass

شدت نور و درجه حرارت بر روی گونه‌ای تاج خروس زینتی (*Odontonema strictum* L.) پی بردند که بیش‌ترین تعداد گل در تیمار نور کامل حاصل شد (۳۷). در مطالعه‌ای دیگر ایجاد شرایط سایه بر گیاه گاردنیا (*Garedenia sp.*) با کاهش ۳۰ درصدی تعداد جوانه‌های گل همراه بوده است (۳۸). بر اساس نتایج حاصل از پژوهش‌های مختلف، کاربرد محرک‌های زیستی از عوامل تأثیرگذار در نمو جوانه‌های گل است. در مطالعه‌ای کاربرد پروتئین هیدرولیز با منشاء جانوری موجب افزایش ۵۹ درصدی تعداد گل در گل میمون (*Anthrrinum Majus* L.) نسبت به گیاهان شاهد گردید (۱٤). در پژوهشی دیگر، نتیجه مقایسه کاربرد عصاره جلبک دریایی و پروتئین هیدرولیز با منشاء گیاهی و جانوری بر روی گل سوسن نشان داد که پروتئین هیدرولیز با منشاء جانوری تأثیر بیش‌تری نسبت به سایر محرک‌های زیستی در افزایش تعداد جوانه‌های گل در این گیاه داشته است. توسعه سطح جذب عناصر غذایی و افزایش فعالیت هورمون‌های اثرگذار در رشد زایشی گیاه تحت‌تأثیر مصرف محرک‌های زیستی از دلایل عمده افزایش تعداد جوانه‌های گل محسوب می‌شوند (۳۹).

کربوهیدرات‌های محلول: بر اساس نتایج به دست آمده ار آنالیز واریانس (جدول ۳) اثرات ساده نور و محرک‌های زیستی بر میزان کربوهیدرات‌های محلول در بنفشه ارسبارانی دارای اثر معنی‌دار بود ($P\leq$۰/۰۱)، اما برهم‌کنش متقابل این دو فاکتور تأثیر معنی‌داری بر این صفت نشان نداد. بر اساس نتایج مقایسه میانگین با افزایش شدت نور، مقادیر کربوهیدرت‌های محلول نیز افزایش یافت، به‌طوری‌که میزان این ترکیبات در گیاهانی که در شرایط ۱۰۰ درصد نور طبیعی رشد کرده بودند ۱٤/۱۸ درصد بیش‌تر از گیاهان رشد یافته در شدت نور ۵۰ درصد بود (جدول ٤). هم‌چنین نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیش‌ترین مقدار کربوهیدرت‌های محلول (۸۱/۱۸ mg g^{-1} DW) به کاربرد توأم A-PH +SE اختصاص یافت، هر چند تفاوت معنی‌داری به‌لحاظ آماری با تیمار V-PH +SE نشان نداد. کم‌ترین میزان کربوهیدرات‌های محلول (۳۲/۱۸ mg g^{-1} DW) نیز در گیاهان شاهد ثبت گردید. افزایش غلظت قندهای محلول در حضور نور معمولا به‌دلیل فعالیت بیش‌تر آنزیم‌های تجزیه‌کننده نشاسته است که در حضور نور صورت می‌گیرد. هم‌چنین ارتباط مستقیمی در ظرفیت فتوسنتزی گیاه و سنتز قندها وجود دارد. به‌طورکلی سازگاری گیاهان در هر شرایطی که با افزایش توان فتوسنتزی گیاه همراه باشد با افزایش تثبیت CO_2 و در نتیجه تولید بیش‌تر قندها همراه است (٤۰). در مطالعه‌ای که توسط پروئیتی و همکاران (۲۰۲۳) با بررسی اثرات شدت‌های مختلف نور بر شرایط رشدی و فتوشنتزی اسفناج انجام گرفت، بیش‌ترین میزان کربوهیدرت‌های محلول در بالاترین شدت نور حاصل شد (٤۱). هم‌چنین کاربرد محرک‌های زیستی می‌توانند با تأثیر مثبت بر ظرفیت فتوسنتزی گیاهان به افزایش میزان قندهای محلول منجر شود. نتایج حاصل از یک مطالعه نشان داد که کاربرد اسیدهیومیک با افزایش تولید کربوهیدرت‌های محلول در گیاه دارویی خرفه (*Portulca oleracea* L.) همراه بوده است (۱٦). در پژوهش حاضر ارتباط مستقیمی در ظرفیت فتوسنتزی گیاه و تولید قندهای محلول در شرایط نوری کامل و هم‌چنین کاربرد محرک‌های زیستی قابل‌مشاهده است.

پروتئین کل: بر اساس نتایج به‌دست آمده از آنالیز واریانس اثرات ساده فاکتورهای نور و محرک‌های زیستی بر مقادیر پروتئین‌کل در بنفشه ارسبارانی دارای اثر معنی‌دار بود ($P\leq$۰/۰۱)، اما برهم‌کنش متقابل این دو فاکتور تأثیر معنی‌داری بر این صفت نشان نداد (جدول ۳). بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، مقادیر پروتئین‌کل در گیاهانی که در شرایط ۱۰۰ درصد نور طبیعی رشد کردند ۱۹/۲۹ درصد بیش‌تر از گیاهانی بود که در شرایط ۵۰ درصد نور طبیعی رشد کردند (جدول ٤). هم‌چنین بیش‌ترین مقدار پروتئین‌کل (۱/٥٦ mg g^{-1} FW) در گیاهانی ثبت شد که تیمارهای A-PH +SE را دریافت نمودند، البته در این خصوص تفاوت معنی‌داری بین این تیمار و تیمارهای V-PH +SE، A-PH و V-PH مشاهده نگردید. کم‌ترین میزان پروتئین‌کل (mg g^{-1} FW ۰/۸۵) نیز در گیاهان شاهد دیده شد (جدول ٤). بین مجموعه عوامل اکولوژیکی و محیطی، شدت نوری که گیاه دریافت می‌کند مهم‌ترین اثر را در بر متابولیسم اولیه و ثانویه سلولی دارد (٤٢). بنابراین، بهینه‌سازی شرایط محیطی مانند شدت نور به رشد و بیوسنتز بیش‌تر متابولیت‌های گیاهی منجر می‌شود. سیف‌آبادی و همکاران (۲۰۱۱) ثابت کردند که محتوای پروتئینی درجلبک کلرولا (*Clorella vulgaris*) در میان رژیم‌های نوری مختلف، در بالاترین شدت نور حاصل شد (٤٣). از طرفی، بالا بودن میزان آمینواسیدها و افزایش فعالیت‌های آنزیم‌هایی مانند گلوتامین‌سینتاز در محرک‌های زیستی و نیز افزایش جذب عناصر غذایی به افزایش پروتئین کل منجر می‌گردد (٤٤ و ٤٥). در پژوهشی که توسط رسولی و همکاران (۲۰۲۲) انجام پذیرفت، بیش‌ترین میزان پروتئین کل در کاهو، در گیاهانی مشاهده شد که تیمارهای عصاره جلبک و قارچ مایکوریزا را دریافت داشتند (٤٦).

خصوصیات فتوسنتزی

نرخ جذب و تحلیل خالص CO_2: نتایج آنالیز واریانس نشان داد که نرخ جذب و تحلیل خالص CO_2 در بنفشه ارسبارانی در شدت‌های بالای نور و نیز کاربرد محرک‌های زیستی افزایش معنی‌داری نشان داده است ($P\leq$۰/۰۱) هر چند که اثرات متقابل این دو فاکتور بر این پارامتر معنی‌دار نشد (جدول ٦). یافته‌های این پژوهش نشان داد که نرخ جذب و تحلیل خالص CO_2 در شرایط نور ۱۰۰ درصد به میزان ۱۰/۹۵ درصد بیش‌تر از گیاهانی بود که در سایه قرار داشتند. هم‌چنین بیش‌ترین میزان نرخ جذب و تحلیل خالص CO_2 (۸/٤۱ µmol m^{-2} s^{-1}) در تیمار A-PH + SWE دیده شد و کم‌ترین میزان (۳/۳٦ µmol m^{-2} s^{-1}) نیز در گیاهانی که هیچ‌یک از محرک‌های زیستی را دریافت نکرده بودند ثبت شد (جدول ۷).

جدول ٦- تجزیه واریانس اثر نور، محرک‌های زیستی و اثرات متقابل آن‌ها بر پارامترهای فتوسنتزی و محتوای موسیلاژی بنفشه ارسبارانی.

Table 6. Variance analysis of light intensity, bio-stimulant and their interaction (mean of squares) on photosynthetc parameters and mucilage content of *Viola ignobilis* Rupr.

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS						
		کلروفیل کل Total chlorophyll	کاروتنوئید Carotenoid	نرخ جذب و تحلیل خالص CO_2 Assimilation rate	نرخ تعرق Transpiration rate	هدایت روزنه‌ای Stomatal conductance	موسیلاژ برگ Leaf musilage	موسیلاژ گل Flower Mucilage
بلوک Block	2	0.21790^{*}	0.00030^{ns}	0.01757^{ns}	0.02235^{ns}	1.56067^{ns}	12.421^{ns}	0.8536^{*}
نور Light	1	0.0738^{ns}	0.00694^{**}	4.34027^{**}	1.11654^{**}	189.2458^{**}	60.580^{**}	7.562^{**}
نور × بلوک Light × Block	2	0.0052^{ns}	0.00380^{ns}	0.01035^{ns}	0.00713^{ns}	1.1311^{ns}	21.564^{*}	0.0175^{ns}
محرک‌های زیستی Biostimulants	5	1.1155^{**}	0.13652^{**}	20.0454^{**}	0.80371^{**}	60.67582^{**}	223.24^{**}	10.123^{**}
محرک‌های زیستی × نور Biostimulants × Light	5	0.0130^{ns}	0.000077^{ns}	0.08186^{ns}	0.045144^{ns}	0.26257^{ns}	1.4236^{ns}	0.0258^{ns}
خطای آزمایشی Experimental error	20	1.056211	0.0158444	0.060170	0.010397	1.606102	77.842	2245.892
کل Total	35	-	-	-	-	-	-	-
ضریب تغییرات (درصد) C.V.	2	7.73	7.30	6.68	3.29	4.31	9.14	8.56

علامت (*)نمایانگر سطح معنی‌داری برای هر یک از فاکتورهای (نور و محرک‌های زیستی) و اثرات متقابل آن‌ها (نور × محرک‌های زیستی) می‌باشد

^{ns} عدم معنی‌داری، * معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد (P≤۰/۰۵)، ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد (P≤۰/۰۱)

Asterisks (*) represent the level of significance for each factors (Light and Biostimulants) and their interaction (Light × Biostimulants)

^{ns} not significant, * P<0.05, ** P<0.01

جدول ۷- مقایسه میانگین اثر محرک‌های زیستی بر پارامترهای فتوسنتزی و محتوای موسیلاژی دربنفشه ارسبارانی.

Table 7. Mean comparison of biostimulants application on photosynthetic parameters and mucilage contents of *Viola ignobilis* Rupr.

پارامترها	موسیلاژ برگ (درصد) Leaf mucilage (%)	موسیلاژ گل (درصد) Petal mucilage (%)	کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم وزن‌تر) Total chlorophyll (mg g^{-1} FW)	کاروتنوئید (میلی گرم بر گرم وزن‌تر) Carotenoid (mg g^{-1} FW)	نرخ جذب و تحلیل خالص CO_2 Assimilation rate (µmol m^{-2} s^{-1})	نرخ تعرق Transpiration rate (mmol H_2O m^{-2} s^{-1})	هدایت روزنه‌ای Stomatal conductance (mmol m^{-2} s^{-1})
شدت نور Light intensity							
100%	22.87^{a}	4.53^{a}	2.92^{a}	0.77^{a}	6.99^{a}	3.26^{a}	31.66^{a}
50%	20.28^{b}	3.62^{b}	3.02^{a}	0.74^{a}	6.3^{b}	2.91^{b}	27.07^{b}
محرک‌های زیستی Biostimulants							
A-PH	24.88^{a}	4.8^{a}	3.07^{ab}	0.82^{a}	7.22^{c}	3.05^{b}	29.18^{b}
V-PH	25.06^{a}	4.9^{a}	3.13^{ab}	0.82^{a}	6.95^{c}	3.19^{b}	30.24^{b}
SE	17.06^{b}	3.01^{b}	2.89^{b}	0.77^{b}	5.94^{d}	2.82^{c}	26.64^{c}
A-PH + SE	25.48^{a}	4.86^{a}	3.29^{a}	0.82^{a}	8.41^{a}	3.42^{a}	32.56^{a}
V-PH + SE	25.85^{a}	4.98^{a}	3.27^{a}	0.83^{a}	8^{b}	3.5^{a}	32.76^{a}
H_2O	11.13^{c}	1.91^{c}	2.14^{c}	0.45^{c}	3.36^{e}	2.53^{d}	24.82^{d}

محرک‌های زیستی شامل پروتئین هیدرولیز جانوری (A-PH)، پروتئین هیدرولیز گیاهی (V-PH)، عصاره جلبک (SE)، کاربرد توأم پروتئین هیدرولیز جانوری و عصاره جلبک (A-PH + SE) و کاربرد توأم پروتئین هیدرولیز گیاهی و عصاره جلبک (V-PH + SE). گیاهانی که با H_2O تیمار شدند به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ می‌باشند

The biostimulant are consisting of animal-protein hydrolysate (A.PH), vegetal-protein hydrolysate (V.PH), seaweed extract (SE), co-applications of animal-protein hydrolysate + seaweed extract (A.PH + SE), and vegetal-protein hydrolysate + seaweed extract (V.PH + SE). Plants treated with H_2O served as a control. Similar letter in each column denote non-significance at P<0.05

نرخ تعرق: بر اساس نتایج آنالیز واریانس (جدول ٦) اثرات ساده فاکتورهای نور و کاربرد محرک‌های زیستی بر نرخ تعرق در بنفشه معنی‌دار شد (P≤۰/۰۱)، هرچند برهم‌کنش متقابل این دو فاکتور اثر معنی‌داری بر این صفت نداشت. همان‌طور که از جدول ۷ استنباط می‌شود، نرخ تعرق در گیاهانی که در شدت نور ۱۰۰ درصد قرار داشتند ۱۳ درصد بیش‌تر از نرخ تعرق گیاهان در شرایط شدت نور ۵۰ درصد بود. براساس نتایج مقایسه میانگین، بیش‌ترین نرخ تعرق (۳/۷۵ mmol H_2O m^{-2} s^{-1}) در کاربرد محرک‌های زیستی A-PH + SWE حاصل شد، هر چند به‌لحاظ آماری تفاوتی با گیاهان دریافت‌کننده تیمار V-PH + SWE نداشتند. کم‌ترین میزان نرخ تعرق (۲/٤٦ mmol H_2O m^{-2} s^{-1}) در گیاهان شاهد و در شرایط نور ۵۰ درصد به ثبت رسید.

هدایت روزنه‌ای: بر اساس نتایج آنالیز واریانس هدایت روزنه‌ای در بنفشه ارسبارانی تحت‌تأثیر زیاد شدت نور و کاربرد محرک‌های زیستی قرار گرفت ($P\leq ۰/۰۱$). اما برهم‌کنش متقابل این دو فاکتور اثر معنی‌داری بر این پارامتر نشان ندادند (جدول ٦). مطابق نتایج جدول ۷، هدایت روزنه‌ای بنفشه ارسبارانی در شدت نور ۱۰۰ درصد به میزان ۱٦/۹۵ درصد بیش‌تر از گیاهانی بود که در سایه قرار داشتند. هم‌چنین کاربرد محرک‌های زیستی سبب افزایش هدایت روزنه‌ای در مقایسه با گیاهان شاهد شد. بر این اساس، بیش‌ترین میزان هدایت روزنه‌ای (۳۵/۷۵ $mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$) در گیاهانی بود که محرک‌های زیستی V-PH + SWE را دریافت نمودند، البته تفاوت معنی‌داری بین این تیمار و تیمار A-PH + SWE مشاهده نشد. هم‌چنین کم‌ترین میزان هدایت روزنه‌ای (۲٤/۸۲ $mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$) در گیاهان شاهد به ثبت رسید. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که بنفشه ارسبارانی در شرایط نور کامل از کارایی فتوسنتزی بیش‌تری برخوردار است. شدت نور به میزان زیادی بر فرایندهای فتوسنتزی و انتقال فراورده‌های فتوسنتزی گیاهان از برگ‌های بالغ به‌عنوان منبع به‌سوی سایر اندام‌های گیاه به‌عنوان مخزن تأثیر گذاشته و در نتیجه رشد، عملکرد و کیفیت محصولات را افزایش می‌دهد (٤۷). به بیانی دیگر، عملکرد و تجمع ماده خشک در برخی گیاهان در شرایط سایه به‌دلیل کاهش قابل‌ملاحظه کارایی فتوسنتزی کاهش می‌یابد. البته رفتار تنفسی گیاهان در گونه‌های مختلف متفاوت است. بر اساس یافته‌های آیشا و همکاران (۲۰۱۹)، نرخ جذب و تحلیل CO_2 در گیاه میکانیا (*Mikania micrantha*) و نیز تعدادی از گیاهان بومی مالزی در شدت نور بالاتر در مقایسه با شرایط سایه بیش‌تر بود. بنابراین، بر اساس این نتایج، افزایش دریافت دی‌اکسیدکربن توسط گیاه موجب افزایش کارایی فتوسنتزی خواهد شد (٤۸).

علاوه بر این پروئیتی و همکاران (۲۰۲۳) نشان دادند که نرخ جذب و تحلیل CO_2 در برگ‌های اسفناج در شدت‌های بالاتر نور، سه برابر بیش‌تر از گیاهانی بود که در سایه رشد کردند (٤۱). اهمیت هدایت روزنه‌ای به تبادلات آب و دی‌اکسیدکربن میان برگ‌ها و اتمسفر مرتبط می‌شود که می‌تواند به افزایش کارایی فتوسنتزی منجر شود. در مجموع گیاهانی که در شدت‌های بالاتری از نور رشد می‌کنند به‌عنوان گیاهانی با هدایت روزنه‌ای بیش‌تر شناخته می‌شوند (٤۹). علاوه‌بر نور به‌عنوان مهم‌ترین عامل محیطی در فرایند فتوسنتز، یافته‌های این پژوهش نشان داد که ارتباط مثبتی میان کاربرد محرک‌های زیستی و رفتار فتوسنتزی گیاهان وجود دارد. بر اساس مطالعات پیشین، پروتئین هیدرولیز سبب افزایش سرعت فتوسنتز و تأمین انرژی برای فرایندهای متابولیکی در گیاهان می‌شود که علت این امر به واسطه افزایش جذب و مصرف نیتروژن و بیوسنتز آمینواسیدها در سلول‌های گیاهی است (۵۰). به بیانی دیگر، افزایش در سطوح نیتروژن می‌تواند فعالیت‌های فتوسنتزی و و انتقال متابولیت‌های فتوسنتزی را به اندام‌های مخزن در گیاه افزایش دهد (۵۱). علاوه بر این محرک‌های زیستی که دربرگیرنده پروتئین‌های هیدرولیزهستند به آسانی به وسیله بافت‌های گیاهی جذب می‌شوند و با تنظیم مسیرهای فیزیولوژیکی به‌تنظیم هدایت روزنه‌ای در گیاه منجر می‌شوند (۵۲). کالوزویک و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که ترکیب آمینواسید و عصاره جلبک *Ascophyllum nodosum* L.، نرخ فتوسنتز، هدایت روزنه و غلظت دی‌اکسیدکربن درونی در کلم بروکلی را تحت شرایط تنش خشکی افزایش داد (۵۳). هم‌چنین کریستیانو و همکاران (۲۰۱۸) طی یک مطالعه ثابت نمودند که کاربرد محرک‌های زیستی نرخ جذب و تحلیل CO_2 و هدایت روزنه‌ای و در نتیجه کارایی فتوسنتزی را در گل میمون افزایش داد (۱٤).

رنگدانه‌های فتوسنتزی: بر اساس نتایج آنالیز واریانس، شدت نور اثر معنی‌داری بر محتوای کلروفیل کل و کاروتنوئید در بنفشه ارسبارانی نشان نداد اما کاربرد محرک‌های زیستی اثر قابل‌توجهی به لحاظ آماری بر رنگدانه‌های فتوسنتزی داشت، هم‌چنین اثر متقابل بین شدت نور و کاربرد محرک‌های زیستی بر این صفات معنی‌دار نشد (جدول ٦). بالاترین محتوای کلروفیل کل (۳/۲۹ mg g^{-1} FW) در این آزمایش در گیاهانی مشاهده شد که تیمار A-PH + SWE را دریافت نموده بودند، هرچند که اختلاف معنی‌داری با تیمار V-PH + SWE مشاهده نشد. کم‌ترین میزان کلروفیل کل (۲/۱٤ mg g^{-1} FW) هم درگیاهان شاهد ثبت شد (جدول ۷). نتایج این پژوهش نشان داد که بالاترین میزان کاروتنوئید (۰/۸۳ mg g^{-1} FW) در گیاهانی که تیمار V-PH + SWE را دریافت کرده بودند مشاهده شد، هرچند به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با سایر محرک‌های زیستی به‌استثنای عصاره جلبک مشاهده نشد. گیاهان شاهد نیز کم‌ترین میزان کاروتنوئید (۰/٤٤ mg g^{-1} FW) را نشان دادند. محتوای کلروفیل یک شاخص پراهمیت است که بیانگر میزان سازگاری گیاهان با شرایط محیطی می‌باشد (٥٤). کاریلو و همکاران (۲۰۱۹) بیان کردند که افزایش محتوای کلروفیل در گیاهان تیمار شده با پروتئین‌های هیدرولیز می‌تواند ناشی از سطوح بالای آمینواسید باشد (٢٤). علاوه‌براین، عصاره جلبک نیز یک منبع غنی از سیتوکینین محسوب می‌شود (٥٥) که قادر به حفاظت از ساختار کلروپلاستی و افزایش محتوای کلروفیلی آن است (٥٦). ارتانی و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کرده‌اند که کاربرد پروتئین هیدرولیز سبب افزایش محتوای کلروفیلی در ذرت شده است (٥٧). هم‌چنین دیمولا و همکاران (۲۰۱۹) و ساباتینو و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که تیمار کاهو با پروتئین هیدرولیز منجربه افزایش کلروفیل کل شده است (٥٨ و ٥٩). در مطالعه‌ای دیگر، پژوهش‌گران نشان دادند که کاربرد پروتئین هیدرولیز در نعنا سبب افزایش قابل‌توجه مقادیر کاروتنوئید کل شده است (٦٠).

محتوای موسیلاژی بافت برگ: نتایج جدول آنالیز واریانس (جدول ٦) نشان می‌دهد که فاکتورهای نور و محرک‌های زیستی دارای اثر معنی‌دار بر محتوای موسیلاژی بافت برگ در بنفشه ارسبارانی بود ($P\leq$۰/۰۱)، اما برهم‌کنش متقابل این دو فاکتور تأثیر معنی‌داری بر این صفت نشان نداد. مطابق جدول ۷ محتوای موسیلاژی برگ گیاهانی که در نور کامل رشد کرده بودند ۱۲/۷۷ درصد بیش‌تر از برگ‌های رشد کرده در سایه بود. هم‌چنین بر اساس نتایج مقایسه میانگین، بیش‌ترین مقدار موسیلاژ بافت برگی با مقدار ۲۵/۸۵ درصد در کاربرد V-PH +SE حاصل شد اما تفاوت معنی‌داری با سایر محرک‌های زیستی به‌کار رفته در این آزمایش نشان نداد. کم‌ترین میزان موسیلاژ برگ با ۱۱/۱۳ درصد به گیاهانی که هیچ‌یک ار محرک‌های زیستی را دریافت نکرده بودند اختصاص یافت (جدول ۷).

محتوای موسیلاژی گل: بر اساس نتایج به‌دست آمده ار آنالیز واریانس (جدول ٦) فاکتورهای نور و محرک‌های زیستی بر مقادیر موسیلاژ گل در بنفشه ارسبارانی دارای اثر معنی‌دار بود ($P\leq$۰/۰۱)، اما برهم‌کنش متقابل این دو فاکتور تأثیر معنی‌داری بر این صفت نشان نداد. در این آزمایش بیش‌ترین مقادیر موسیلاژ موجود در بافت گل، در گیاهانی حاصل شد که در نور کامل رشد کرده بودند، به‌طوری‌که این دسته از گیاهان رشد ۲۵/۱۳ درصدی موسیلاژ را نسبت به گیاهان یافته در سایه نشان دادند (جدول ۷). هم‌چنین کاربرد محرک‌های زیستی تأثیر قابل‌توجهی در افزایش موسیلاژ در گل بنفشه نشان داد. در این

آزمایش بیش‌ترین محتوای موسیلاژ با مقدار ٤/٩٨ درصد به کاربرد تیمار V-PH + SE اختصاص یافت، هر چند تفاوت معنی‌داری با کاربرد سایر محرک‌های زیستی به‌استثنای SE دیده نشد. کم‌ترین میزان موسیلاژ با مقدار ۱/۹۱ درصد به گیاهان شاهد اختصاص یافت (جدول ۷). نتایج این پژوهش نشان داد که تولید ترکیبات موسیلاژی که یکی از ترکیبات مهم دارویی در این گیاه است به‌دنبال رشد گیاهان در شدت‌های بالاتر نور افزایش قابل‌ملاحظه‌ای نشان داده است. بر اساس مطالعه صورت گرفته توسط شفقت و زرین‌کمر (۲۰۱۸) مقدار ترکیبات موسیلاژی در برگ بنفشه در مرحله رشد زایشی به‌بیش از ۹ درصد بالغ می‌گردد (٦١). درصورتی‌که نتایج مطالعه فعلی نشان داد که بهینه‌سازی شرایط نوری و کاربرد محرک‌های زیستی به افزایش قابل‌توجه ترکیبات موسیلاژی بنفشه منجر شده است. نور به‌عنوان یک عامل اکولوژیکی مهم با تأثیر بر فرایندهای متابولیکی گیاهان بر تولید متابولیت‌های دارویی آن‌ها اثر می‌گذارد، البته میزان بروز این تغییرات به فاکتورهای ژنتیکی و سایر عوامل محیطی بستگی دارد (٦٢). به‌این‌ترتیب می‌توان با بهینه‌سازی شرایط نوری به افزایش کمی و کیفی متابولیت‌های دارویی کمک نمود. کاربرد محرک‌های زیستی نیز با نفوذی که بر متابولیسم اولیه و ثانویه گیاهان دارند سبب بروز تغییرات مثبت در فراورده‌های متابولیکی آن‌ها می‌شوند. در یک مطالعه محلول‌پاشی گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) با متانول به‌عنوان یک محرک زیستی توانست صفات رویشی و عملکرد موسیلاژی این گیاه را نسبت به گیاهان شاهد تا ۱۰ درصد افزایش دهد (٦٣). هم‌چنین نقی‌زاده و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که کاربرد اسیدآسکوربیک و ملاتونین باعث افزایش موسیلاژ و بهبود صفات کمی و کیفی در اسفرزه (*Plantago ovata* Forssk.) شد (٦٤). در این پژوهش اگر چه کاربرد تکی تیمارها موجب افزایش درصد موسیلاژ گردید اما کاربرد هر دو نوع محرک زیستی به‌دلیل دارا بودن اثرات هم‌افزایی به عملکرد بالاتر موسیلاژ منجر گردید.

نتیجه‌گیری کلی

بهینه‌سازی شرایط رشد گیاهان دارویی با راه‌کارهایی مانند انتخاب شرایط نوری مناسب و کاربرد محرک‌های زیستی، روش‌هایی مناسب در جهت افزایش عملکرد بر اساس استانداردهای کشاورزی پایدار است. بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، کارایی فتوسنتزی و عملکرد بنفشه ارسبارانی در شرایط نور کامل افزایش قابل‌ملاحظه‌ای داشت. هم‌چنین با در نظر گرفتن نتایج می‌توان گفت اگرچه تمامی تیمارهای استفاده شده موجب بهبود پارامترهای رشدی در گیاه شدند اما کاربرد توأم پروتئین هیدرولیز و عصاره جلبک دریایی آکادین با عملکرد مطلوب‌تری همراه بود. در واقع اثر هم‌افزایی[1] پروتئین هیدرولیز و عصاره جلبک عامل اصلی و اساسی در بهبود پارامترهای مورد بررسی است. این هم‌افزایی، کارایی فتوسنتزی، پارامترهای رویشی و فراورده‌های متابولیکی بنفشه ارسبارانی را به‌طور قابل‌توجهی بهبود بخشیده است. در این پژوهش کاربرد پروتئین هیدرولیز جانوری به‌نتایج بهتری منجر شد، اگرچه در بسیاری موارد تفاوت‌های ایجاد شده با پروتئین هیدرولیز گیاهی ازنظر آماری معنی‌دار نبودند، دلیل احتمالی این مسأله تفاوت در طیف اسیدهای آمینه در هر یک از پروتئین‌های هیدرولیز با منبع جانوری و گیاهی است. در هرحال با توجه به‌نتایج به‌دست آمده، کاربرد هم‌زمان پروتئین‌های هیدرولیز و عصاره جلبک دریایی به‌منظور بهبود پارامترهای رشدی، کارایی فتوسنتزی و افزایش سنتز متابولیت‌های ثانوی پیشنهاد

1- Synergistic effect

می‌شود. هم‌چنین مطالعه کاربرد سایر منابع گیاهی و جانوری ارزان‌قیمت و در دسترس به‌عنوان منابع پروتئین‌های هیدرولیز راه‌کاری مناسب در جهت جایگزینی این دسته از ترکیبات با کودهای شیمیایی و کمک به کشاورزی پایدار خواهد بود.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند مراتب تشکر صمیمانه را از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان که با تأمین هزینه‌های این پژوهش ما را در به‌ثمر رساندن هرچه بهتر آن یاری نمودند به‌عمل آورند.

منابع

1. Ghorbani, M., Khorasaninejad, S., Hemmati, K., & Ghorbani, K. (2022). Feasibility study on some native Iranian *Viola* spp. domestication. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 38 (4), 632-650. [In Persian]
2. Donyadoust Chalan, M., Abbasi, M., & Rezaei, S. (2009). The rust mycobiota of arasbaran protected area, NW of Iran. *Botanical Journal of Iran*, 10 (36), 178-192. [In Persian]
3. Payal, M., Vikas, G., Manish, G., Nishant, T., & Parveen, B. (2015). Phytochemical and pharmacological potential of *Viola odorata*. *Iranian Journal of Pathology*, 2 (5), 215-20.
4. Ameri, A., Heydarirad, G., Mahdavi Jafari, J., Ghobadi, A., Rezaeizadeh, H., & Choopani, R. (2015). Medicinal plants contain mucilage used in traditional Persian medicine (TPM). *Pharmaceutical Biolology*, 53 (4), 615-623.
5. Pan, J., & Guo, B. (2016). Effects of Light Intensity on the Growth, Photosynthetic Characteristics, & Flavonoid Content of Epimedium pseudowushanense. *Molecules*, 21 (11), 1475. P12.
6. Colla, G., Cardarelli, M., Bonini, P., & Rouphael, Y. (2017). Foliar applications of protein hydrolysate, plant and seaweed extracts increase yield but differentially modulate fruit quality of greenhouse tomato. *HortScience*. 52 (9), 1214-20.
7. Baroccio, F., Barilaro, N., & Tolomei, P. (2017). Classification of biostimulants origin using amino acids composition of hydrolyzed proteins. *Journal of Horticultural Science and Research*, 1 (2), 30-35.
8. Ciriello, M., Formisano, L., El-Nakhel, C., Corrado, G., & Rouphael, Y. (2022). Biostimulatory Action of a Plant-Derived Protein Hydrolysate on Morphological Traits, Photosynthetic Parameters, and Mineral Composition of Two Basil Cultivars Grown Hydroponically under Variable Electrical Conductivity., *Horticultrae*, 8 (5), 409-415.
9. Ali, O., Ramsubhag, A., & Jayaraman, J. (2021). Biostimulant Properties of Seaweed Extracts in Plants: Implications towards Sustainable Crop Production. *Plants*, 10 (3), 531-537.
10. Shekofteh, H., Shahrokhi, H., & Solimani, E. (2015). Effect of drought stress and salicylic acid on yield and mucilage content of the medicinal herb *Plantago ovata* Forssk'. *Desert*, 20 (2), 245-252.
11. Xie, C., Li, J., Pan, F., Fu, J., Zhou, W., Lu, S., Li, P., & Zhou, C. (2018). Environmental factors influencing mucilage accumulation of the endangered *Brasenia schreberi* in China. *Scientific Reports*, 8 (1), 17955.
12. 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, 971. **https://doi.org/ 10.3390/ horticulturae 8100971.**
13. Kumar, R., Sharma, S., & Pathania, V. (2013). Effect of shading and plant density on growth, yield and oil

composition of clary sage (*Salvia sclarea* L.) in north western Himalaya. *Journal of Essential Oil Research*, 25 (1), 23-32.

14. Cristiano, G., Pallozzi, E., Conversa, G., Tufarelli, V., & De Lucia, B. (2018). Effects of an Animal-Derived Biostimulant on the Growth and Physiological Parameters of Potted Snapdragon (*Antirrhinum majus* L.). *Frontiers in Plant Science*, 9, 861.
15. Gorgini Shabankareh, H., Khorasaninejad, S., Sadeghi, M., & Tabasi, A. R. (2018). The effects of irrigation periods and humic acid on morpho- physiological and biochemical traits of Thyme (*Thymus vulgaris*). *Journal of Plant Environmental Physiology*, 13 (51), 67-82. [In Persian]
16. Mozaffari, S., Khorasaninejad, S., & Gorgini Shabankareh, H. (2017). The effects of irrigation regimes and humic acid on some of physiological and biochemical traits of Common Purslane in greenhouse. *Journal of Crop Improvement* (*Journal of Agriculture*). 19 (2), 401-416. [In Persian]
17. Irigoyen, J. J., Emerich, D. W., & Sanchez Diaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Journal of Plant Physiology*, 84 (1), 55-60.
18. Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
19. Porra, R. J. (2002). The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. *Photosynthesis Research*, 73 (1), 149-156.
20. Kalayasundram, N. K., Pateb, P. B., & Dalat, K. C. (1982). Nitrogen need of *Plantago ovata* in reaction to the available nitrogen in soil. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 52 (4), 240-242.
21. Toldi, D., Gyugos, M., Darko, E., Szalai, G., Gulyas, Z., Gierczik, K., Székely, A., Boldizsar, A., Galiba, G., Muller, M., Simon-Sarkadi, L., & Kocsy G. (2019) Light intensity and spectrum affect metabolism of glutathione and amino acids at transcriptional level. *PloS one*, 14 (12), 18.
22. Biswal, B., Joshi, P. N., Raval, M. K., & Biswal, U. C. (2011). Photosynthesis, a global sensor of environmental stress in green plants: Stress signaling and adaptation. *Current Science*, 101(1), 47-56.
23. Sutuliene, R., Lauzike, K., Pukas, T., & Samuoliene, G. (2022). Effect of Light Intensity on the Growth and Antioxidant Activity of Sweet Basil and Lettuce. *Plants*, 11 (13), 1709-1714.
24. 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. (2019). Morphological and physiological responses induced by protein hydrolysate-based biostimulant and nitrogen rates in greenhouse spinach. *Agronomy*, 9 (8), 450, P22.
25. Consentino, B. B., Virga, G., La Placa, G. G., Sabatino, L., Rouphael, Y., Ntatsi, G., Iapichino, G., La Bella, S., Mauro, R.P., D'Anna, F., & Tuttolomondo, T. (2020). Celery (*Apium graveolens* L.) Performances as Subjected to Different Sources of Protein Hydrolysates. *Plants*, 9(12), 1633.
26. 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.
27. Kim, H. J., Ku, K. M., Choi, S., & Cardarelli, M. (2019). Vegetal-Derived Biostimulant Enhances Adventitious Rooting in Cuttings of Basil, Tomato, and Chrysanthemum via Brassinosteroid-Mediated Processes. *Agronomy*, 9 (2), 74.
28. Ambrosini, S., Sega, D., Santi, C., Zamboni, A., Varanini, Z., & Pandolfini, T. (2021). Evaluation of the Potential Use of a Collagen-Based Protein Hydrolysate as a Plant Multi-Stress Protectant. *Frontiers in Plant Science*, 9 (12), 600623.

29. Ertani, A., Nardi, S., Francioso, O., Sanchez-Cortes, S., Di Foggia, M., & Schiavon, M. (2019). Effects of Two Protein Hydrolysates Obtained from Chickpea (*Cicer arietinum* L.) and *Spirulina platensis* on *Zea mays* (L.) Plants. *Frontiers in Plant Science*, 10, 954.
30. Cai, Z. Q., Chen, Y. J., & Bongers, F. (2007). Seasonal changes in photosynthesis and growth of Zizyphus attopensis seedlings in three contrasting microhabitats in a tropical seasonal rain forest. *Tree Physiology*, 27 (6), 827-36.
31. Asaeda, T., Hai, D., Manatunge, J., Williams, D., & Roberts, J. (2005). Latitudinal Characteristics of Below- and Above-ground Biomass of Typha: a Modelling Approach. *Annals of Botany*, 96 (2), 299-312.
32. Tao, L., Yu-Qi, Z., Yi, Z., Rui-Feng, C., & Qi-Chang, Y. (2017). Light distribution in Chinese solar greenhouse and its effect on plant growth. *International Journal of Horticultural Science*, 3 (2), 99-111.
33. Rezai, S., Etemadi, N., Nikbakht, A., Yousefi, M., & Majidi, M. M. (2018). Effect of Light Intensity on Leaf Morphology, Photosynthetic Capacity, and Chlorophyll Content in Sage (*Salvia officinalis* L.). *Korean Journal of Horticultural Science and Technology*, 36 (1), 46-57.
34. Rouphael, Y., & Colla, G. (2018). Synergistic Biostimulatory Action: Designing the Next Generation of Plant Biostimulants for Sustainable Agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 13 (9), 1-7.
35. Caruso, G., De Pascale, S., Cozzolino, E., Giordano, M., El-Nakhel, C., Cuciniello, A., Cenvinzo, V., Colla, G., & Rouphael, Y. (2019). Protein hydrolysate or plant extract-based biostimulants enhanced yield and quality performances of greenhouse perennial wall rocket grown in different seasons. *Plants*, 8 (7), 208-218.
36. Guo, Y. P., Guo, D. P., Zhou, H. F., Hu, M. J., & Shen, Y. G. (2006). Photoinhibition and xanthophyll cycle activity in bayberry (*myrica rubra*) leaves induced by high irradiance. *Photosynthetica*, 44, 439-446.
37. Rezazadeh, A., Harkess, R. L., & Telmadarrehei, T. (2018). The Effect of Light Intensity and Temperature on Flowering and Morphology of Potted Red Firespike. *Horticulturae*, 4 (4), 36. p7.
38. Kamoutsis, A. P., Chronopoulou-Sereli, A. G., & Paspatis, E. A. (1999). Paclobutrazol affects growth and flower bud production in gardenia under different light regimes. *HortScience*, 34, 674-675.
39. De Lucia, B., & Vecchietti, L. (2012). Type of Bio-Stimulant and Application Method Effects on Stem Quality and Root System Growth in L.A. Lily. *European Journal of Horticultural Science*, 77 (1), 10-15.
40. Dela Mata, L., Cabello, P., Dela Haba, P., & Aguera, E. (2013). Study of the senescence process in primary leaves of sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants under two different light intensities. *Photosynthetica*, 51 (1), 85-94.
41. Proietti, S., Paradiso, R., Moscatello, S., Saccardo, F., & Battistelli, A. (2023). Light Intensity Affects the Assimilation Rate and Carbohydrates Partitioning in Spinach Grown in a Controlled Environment. *Plants*, 12, 804.
42. Tang, W., Guo, H., Baskin, C. C., Xiong, W., Yang, C., Li, Z., & Sun, J. (2022). Effect of light intensity on morphology, photosynthesis and carbon metabolism of alfalfa (*Medicago sativa*) seedlings. *Plants*, 11 (13), 1688-18.
43. Seyfabadi, J., Ramezanpour, Z., & Amini Khoeyi, Z. (2011). Protein, fatty acid, and pigment content of *Chlorella vulgaris* under different light regimes. *Journal of Applied Phycology*, 23, 721-726.
44. Chrysargyris, A., Xylia, P., Anastasiou, M., Pantelides, I., & Tzortzakis, N. (2018). Effects of Ascophyllum nodosum seaweed extracts on lettuce growth, physiology and fresh-cut salad storage under potassium deficiency. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98, 5861-5872.

45.Calvo, P., Nelson, L., & Kloepper, J. W. (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. *International Journal of Plant & Soil Science*, 383, 3-41.
46.Rasouli, F., Amini, T., Asadi, M., Hassanpouraghdam, M. B., Aazami, M. A., Ercisli, S., Skrovankova, S., & Mlcek, J. (2022). Growth and antioxidant responses of lettuce (*Lactuca sativa* L.) to arbuscular mycorrhiza inoculation and seaweed extract foliar application. *Agronomy*, 12 (2), 401.
47.Long, S. P., & Bernacchi, C. J. (2003). Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. *Journal of Experimental Botany*, 54, 2393-2401.
48.Aisha, I., Linatoc, A. C., & Bin Abu Bakar, M. F. (2019). Effect of light intensity on the photosynthesis and stomatal density of selected plant species of gunung ledang, johor. *Malaysian Applied Biology*, 48 (3), 133-140.
49.Warren, C. R., Low, M., Matyssek, R., & Tausz, M. (2007) Internal conductance to CO_2 transfer of adult Fagus sylvatica: variation between sun and shade leaves and due to free-air ozone fumigation *Environmental and Experimental Botany*, 59, 130-138.
50.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.
51.Sitohy, M., Desoky, E.S., Osman, A., & Rady, M. (2020). Pumpkin seed protein hydrolysate treatment alleviates salt stress effects on Phaseolus vulgaris by elevating antioxidant capacity and recovering ion homeostasis. *Scientia Horticulturae*, 271, 10.1016.
52.Yakhin, O. I., Lubyanov, A. A., Yakhin, I. A., & Brown, P. H. (2017). Biostimulants in Plant Science: A Global Perspective. *Frontiers in Plant Science*, 7, 2049.
53.Ka1uzewicz, A., Krzesinski, W., Spiżewski, T., & Zaworska, A. (2017). Effect of biostimulants on several physiological characteristics and chlorophyll content in broccoli under drought stress and re-watering. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici*, 45 (1), 197-202.
54.Liu, Y. Q., Sun, X. Y., Wang, Y., & Liu, Y. (2007). Effects of shades on the photosynthetic characteristics and chlorophyll fluorescence parameters of Urtica dioica. *Acta Ecolologica Sinica*, 27, 3457-3464.
55.Al-Juthery, W. A., Drebee, H. A., Al-Khafaji, B. M. K., & Hadi, R. F. (2020). Plant Biostimulants, Seaweeds Extract as a Model (Article Review). IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science*, 553(1), 012015.
56.Cortleven, A., & Schmülling, T. (2015). Regulation of chloroplast development and function by cytokinin. *Journal of Experimental Botany*, 66 (16), 4999-5013.
57.Ertani, A., Nardi, S., Francioso, O., Sanchez-Cortes. S., Di Foggia, M., & Schiavon M. (2019). Effects of Two Protein Hydrolysates Obtained from Chickpea (*Cicer arietinum* L.) and *Spirulina platensis* on *Zea mays* (L.) Plants. *Frontiers in Plant Science*, 25 (10), 954.
58.Sabatino, L., Consentino, B. B., Rouphael, Y., De Pasquale, C., Iapichino, G., D'Anna, F., & La Bella, S. (2021). Protein Hydrolysates and Mo-Biofortification Interactively Modulate Plant Performance and Quality of 'Canasta' Lettuce Grown in a Protected Environment. *Agronomy*, 11 (6), 1023.
59.Di Mola, I., Cozzolino, E., Ottaiano, L., Giordano, M., Rouphael, Y., Colla, G., & Mori, M. (2019). Effect of Vegetal- and Seaweed Extract-Based Biostimulants on Agronomical and Leaf Quality Traits of Plastic Tunnel-Grown Baby Lettuce under Four Regimes of Nitrogen Fertilization. *Agronomy*, 9, 1-15.
60.Aktsoglou, D. C., Kasampalis, D. S., Sarrou, E., Tsouvaltzis, P., Chatzopoulou, P., Martens, S., & Siomos, A. S. (2021). Protein hydrolysates supplement in the nutrient solution of soilless grown fresh peppermint and spearmint as a tool for improving product quality. *Agronomy*, 11, 317.

61. Shafaghat, Z., & Zarinkamar, F. (2018). Tracing mucilage compounds in different stage of development of viola odorata L. leaf. *Journal of Plant Research*, 31 (2), 359-369. [In Persian]
62. Hashim, M., Ahmad, B., Drouet, S., Hano, C., Abbasi, B. H., & Anjum, S. (2021). Comparative Effects of Different Light Sources on the Production of Key Secondary Metabolites in Plants *in Vitro* Cultures. *Plants*, 10 (8), 1521, p18.
63. Mehrafarin, A., Naghdi Badi, H., Qaderi, A., Labbafi, M., Zand, E., & Noormohammadi, G. (2015). Changes in Seed Yield and Mucilage of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) in Response to Foliar Application of Methanol as a Bio-stimulant. *Journal of Medicinal Plants Research*, 14 (54), 86-100. [In Persian)
64. Naghizadeh, M., Kabiri, R., & Maghsoudi, K. (2022). Effects of melatonin and ascorbic acid foliar application on grain yield and mucilage of *Plantago ovata* Forssk. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plant Research*, 37 (6), 908-919. [In Persian]