مجله پژوهش‌های به زراعی
جلد۱۳، شماره ۲، پاییز ۱۴۰۰

مجله پژوهش‌های به زراعی

بررسی اثر محلول‌پاشی کیتوزان بر عملکرد و کیفیت اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.)

اعظم نعیمی فر[۱]، لیلا پور حسینی[۲]، محمد نبی ایلکایی[۳]*، روما کلهر منفرد[۴]

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد گروه باغبانی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران
۲-استادیار گروه باغبانی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران
۳-دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران
۴-دانشجوی دکتری گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۴/۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۸/۱۲

چکیده

محرک‌های زیستی می‌توانند نقش مهمی بر افزایش اسانس گیاهان دارویی، از طریق اثرات مثبت بر رشد و مواد مؤثره اعمال نمایند. در این پژوهش به بررسی اثر محلول‌پاشی کیتوزان به عنوان یک محرک زیستی بر صفات کمی و کیفی گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) پرداخته شد. این تحقیق در سال ۱۳۹۷ در گلخانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج در سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل: کیتوزان در ۴ سطح، صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ گرم در لیتر بود. نتایج حاصله بیانگر آن است که اثرات کیتوزان بر صفات مورفولوژیکی شامل طول ساقه اصلی، تعداد ساقه فرعی، قطر ساقه اصلی، طول ریشه اصلی، وزن خشک ساقه و ریشه و همچنین کلروفیل a، کلروفیل b معنی‌دار بود. حداکثر صفات مذکور در تیمار ۱/۵ گرم در لیتر کیتوزان حاصل شد. حداکثر درصد اسانس در تیمار ۲ گرم در لیتر و حداکثر درصد ژرانیول و ژرانیال در غلظت ۱ گرم در لیتر حاصل شد.

واژه‌های کلیدی: درصد اسانس، ژرانیال استات، ژرانیول، صفات مورفولوژیکی، کلروفیل

* نگارنده مسئول (mohammad.ilkaei@kiau.ac.ir)

مقدمه

امروزه اهمیت گیاهان دارویی و شناسایی نقش حیاتی آن‌ها در پیشبرد اهداف ملی، منطقه‌ای و جهانی برای تحقق سلامت، خودکفایی دارویی، ایجاد اشتغال و توسعه اقتصادی بر کسی پوشیده نیست. گیاهان دارویی به عنوان ذخائر و گنجینه‌های ژنتیکی می‌توانند بزرگ‌ترین ثروت ملی برای هر کشور و به عنوان یکی از تولیدات مهم و ضروری در بخش کشاورزی محسوب شوند. در سال‌های اخیر استفاده از گیاهان دارویی به دلیل اثبات اثرات مفید آن، ارزان بودن، نداشتن اثرات جانبی و همچنین سازگار بودن با محیط زیست روزبه روز در حال افزایش است. همچنین ایجاد فرصت‌های مناسب سرمایه‌گذاری جهت تولید بیشتر گیاهان دارویی در بخش کشاورزی حائز اهمیت می‌باشد (Naveed *et al*., 2020). گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) گیاهی علفی و چند ساله که توسط پزشکان مشرق زمین برای درمان مشکلات خلقی استفاده شده است. این گیاه دارای روغن و اسانس بوده با فعالیت ضد میکروبی بوده و عصاره‌های آبی با خواص آنتی‌اکسیدانی بر کاهش التهاب، کاهش تشکیل تومور و ضددرد موثر می‌باشد (Coskun *et al*., 2015). کیتوزان با فرمول شیمیایی ($C_6H_{11}O_4N$) از پلی‌ساکاریدهای نیتروژن‌دار است که تحمل گیاهان را در برابر پاتوژن‌های بیماری‌زا و تنش‌های محیطی افزایش داده و بر بهبود رشد تحت شرایط تنش موثر می‌باشد. کیتوزان در افزایش مقاوت روزنه‌ای و کاهش مقدار تعرق و بهبود فتوسنتز نقش داشته و باعث افزایش ارتفاع گیاه، زیست توده و طول ریشه می‌شود. کیتوزان از ترکیبات کیتینی سازنده بدن حشرات می‌باشد، لذا با منشاء طبیعی همراه بوده و بر رشد گیاه اثر منفی ندارد (Li *et al*., 2020; Xiaochen *et al*., 2020). در آزمایش Massimo *et al* (2018)، کیتوزان بر افزایش تحمل گیاه در برابر پاتوژن‌ها و بر ایمنی گیاه اثر داشته و در شرایط تنش در جلوگیری از کاهش رشد گیاه کمک می‌نماید (Coskun *et al*., 2015).

روش‌های متعددی برای افزایش متابولیت-های ثانویه وجود دارد (Boveiri Dehsheikh *et al.*, 2020) و کیتوزان به عنوان یک الیسیتور زیستی کارآمد بر بهبود تولید مواد متابولیت ثانویه در گیاه دارویی تأیید شده است. کیتوزان با کاهش هدایت روزنه‌ای در کاهش تعرق و صرفه‌جویی در مصرف آب و بهبود شرایط فتوسنتزی تحت تنش مانع کاهش ارتفاع بوته و مقدار زیست‌توده گیاهی می‌شود (Uthairatanakij *et al.*, 2015). بر اساس نتایج امامی و همکاران (۱۳۹۵)، اثرات الیسیتور کیتوزان بر کلروفیل a و b فعالیت آنتی‌اکسیدانی، شاخص سطح برگ و ماده خشک آویشن دنایی (*Thymus deanensis* Celak) مثبت و معنی‌دار شد.

کیتوزان توانست میزان مواد متابولیت ثانویه آلفاترپینن، پاراسیمن، گاماترپینن، تیمول، کارواکرول و بتاکاریوفیلن را در شرایط تنش، بهبود بخشد. مطابق حسنلو و همکاران (۱۳۹۴)، اعلام داشتند کیتوزان باعث افزایش تجمع سیلی مارین در گیاه خار مریم (*Silybum marianum*) شد. بنابر اهمیت استفاده از کیتوزان در افزایش رشد و کیفیت اسانس گیاهان دارویی، هدف از این پژوهش بررسی اثرات این ماده زیستی طبیعی و محرک رشد بر صفات مهم اقتصادی گیاه دارویی بادرنجبویه و معرفی بهترین غلظت کیتوزان بود.

مواد و روش‌ها

به منظور مطالعه پاسخ گیاه بادرنجبویه به محلول‌پاشی کیتوزان در شرایط گلخانه‌ای، آزمایشی در سال ۱۳۹۷ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج انجام شد. آزمایش به شکل یک عامل بر اساس طرح پایه کاملاً تصادفی با ۵ سطح کیتوزان شامل صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ گرم در لیتر در ۳ تکـرار اجرا شد. نشاء بادرنجبویه از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر استان البرز تهیه شد. نشاءها به طول ۲۰-۱۵ سانتی‌متر در نیمه اول اردیبهشت در گلدان‌هایی به قطر ۱۵ سانتی-متر و در بستر کشت شامل ۵۰٪ خاک زراعی، ۲۵ درصد کوکوپیت + ۲۵ درصد خاک برگ قرار گرفت. برای تهیه محلول

کیتوزان در آزمایشگاه در ابتدا مقدار وزن ماده توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد، سپس در بشر توسط محلول اسید استیک بر روی شیکر حل شد. پس از تهیه محلول اولیه، توسط آب مقطر به حجم ۱۰۰۰ میلی‌گرم رسانده شد. نشاءها در تابستان ۱۳۹۷ به گلخانه انتقال داده شدند. عملیات محلول‌پاشی بر نشاء ۳ هفته پس از استقرار کامل نشاءها در داخل گلدان انجام شد. محلول‌پاشی‌ها برای هر ۲ هفته یکبار و در ۳ دوره انجام گرفت. دو هفته پس از آخرین محلول‌پاشی، صفات مورفولوژیکی شامل: طول ساقه اصلی، تعداد ساقه فرعی، قطر ساقه اصلی، طول ریشه اصلی، وزن‌تر و خشک ساقه و ریشه، همچنین کلروفیلa، کلروفیل b و ترکیبات اسانس مورد سنجش قرار گرفت. اندازه‌گیری صفات ارتفاع بوته، طول ریشه توسط خط‌کش مدرج و قطر ساقه توسط کولیس صورت گرفت. همچنین تعداد شاخه اصلی و تعداد شاخه فرعی برای ۱۰ بوته به شکل تصادفی شمارش شده و میانگین آن در نظر گرفته شد. وزن تر اندام هوایی و ریشه پس از جداسازی بوته از گلدان و شستشوی ریشه و همچنین وزن خشک آن‌ها پس از خشک کردن نمونه‌ها در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) به مدت دو هفته توسط ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری کلروفیل a و b و کاروتنویید برگ با تهیه ۰/۵ گرم نمونه برگ توسط روش آرنون، (۱۹۶۷) صورت گرفت.

اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر طرح فارماکوپه بریتانیا انجام شد. اسانس توسط سدیم سولفات رطوبت‌زدایی و به منظور شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس به دستگاه طیف‌سنج کروماتوگرافی گازی - اسپکترومتر جرمی GC-MS تزریق شد. دستگاه طیف سنج جرمی ۵۹۷۷ B GC/MSD محصول کمپانی اجیلنت آمریکا، مجهز به یک quadrupole بوده و با تکنولوژی‌های پیشرفته، حساسیت، دقت و کارایی فوق العاده‌ای برای تجزیه و تحلیل‌های کمی و کیفی ارائه شد. جهت جداسازی و شناسایی

ترکیب اسانس از دستگاه کروماتوگرافی گازی فوق سریع (Ultra-Fast GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی انجام شد. به طوری که مقدار ۰/۲ میکرولیتر اسانس توسط سرنگ برداشته شد و به دستگاه GC منتقل شد. در این روش با تبدیل مخلوط مورد نظر به گاز و عبور آن از یک فاز ساکن اجزاء سازنده از یکدیگر جدا شدند. این دستگاه از یک سیلندر حاوی گاز نیتروژن، هلیم، آرگون و دی اکسید کربن، یک فلومتر برای تنظیم فشار گاز، دو محل برای تزریق نمونه، یک ستون به عنوان جداسازی اصلی به همراه دو ستون Packed و Capillary یک قسمت گرم کننده، دتکتور و رکوردر تشکیل شده است. در GC نمونه در فاز متحرک گازی از یک ستون حاوی فاز ساکن عبور می‌کند. تاخیر به درجه برهم کنش با فاز ساکن و فراریت آن بستگی دارد. جهت شناسایی مواد با GC از زمان تزریق نمونه تا زمان ظهور نقاط اوج روی دستگاه برای یک ماده تحت شرایط ثابت و پارامتر سطح زیر منحنی استفاده می‌شود.

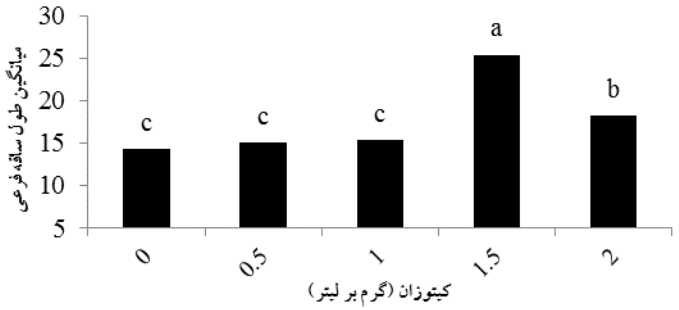
تجزیه واریانس داده‌ها در محیط نرم‌افزار SAS 9.2 انجام پذیرفت. پیش از ورود داده‌ها به محیط نرم افزار، از نرمال بودن توزیع داده‌ها به عنوان مهم‌ترین پیش فرض تجزیه واریانس اطمینان حاصل شد. همچنین مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده روش چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد صورت گرفت و رسم نمودارها با استفاده از Excel انجام شد.

نتایج و بحث

طول ساقه اصلی و فرعی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر سطوح مختلف کیتوزان بر طول ساقه اصلی معنی‌دار نشد و اثر تیمار کیتوزان بر طول ساقه فرعی با احتمال خطای یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). بر اساس نتایج مقایسه میانگین تیمار ۱/۵ گرم در لیتر کیتوزان، بیشترین میزان طول ساقه فرعی، ۲۵/۴ سانتی‌متر را به همراه داشت و کمترین میزان این صفت مربوط به تیمار شاهد ۱۴/۳ سانتی‌متر تعلق داشت که با تیمار ۰/۵ و ۱ گرم در لیتر در یک گروه آماری قرار گرفت (شکل ۱).

می‌توان گفت کیتوزان توسط بعضی مسیرهای انتقال پیام مربوط به بیوسنتز اکسین و از طریق مسیر وابسته به تریپتوفان، موجب افزایش رشد گیاه شده و همچنین کاربرد کیتوزان با افزایش و بهبود نقل و انتقالات نیتروژن در گیاه سبب افزایش طول گیاه بادرنجبویه شده است (Uthairatanakij *et al*., 2015). مطابق نتایج نادری و همکاران (۱۳۹۴) کیتوزان در گیاه شاهی باعث افزایش ارتفاع اصلی و فرعی در بوته شد. رحمانی و همکاران (۱۳۹۹)، اعلام کردند که کیتوزان در گیاه نعناع باعث اثرات مثبتی بر رشد بخش‌های رویشی به ویژه سطح برگ و ارتفاع بوته داشت که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کیتوزان بر طول ساقه فرعی

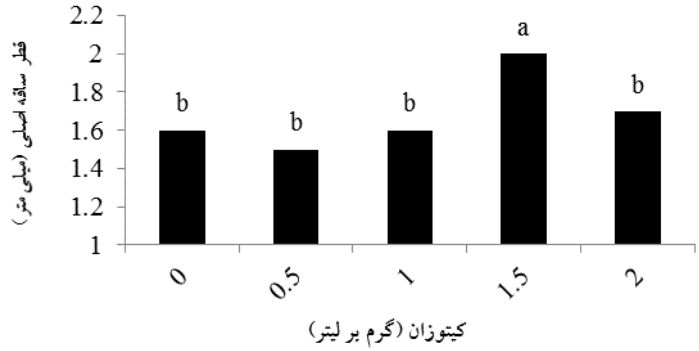
جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورفولوژیکی تحت تاثیر کیتوزان

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		طول ساقه اصلی	طول ساقه فرعی	قطر ساقه اصلی	طول ریشه اصلی	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه
کیتوزان	۴	۳۳/۹^{ns}	۱۲۶/۸**	۰/۸**	۲۰۴/۹**	۷۹/۲**	۸/۱**	۷۶/۴**	۳/۴*
خطا	۱۰	۳۰	۹/۷	۰/۰۴	۲۲/۲	۲۱/۵	۱/۱	۱۶/۹	۰/۹
ضریب تغییرات (درصد)		۱۹/۳	۱۷/۷	۱۱/۵	۱۷/۳	۲۰/۲	۲۳	۱۶/۷	۲۵

*و ** به ترتیب معنی‌دار با احتمال خطای یک و پنج درصد و ns غیر معنی‌دار.

قطر ساقه اصلی

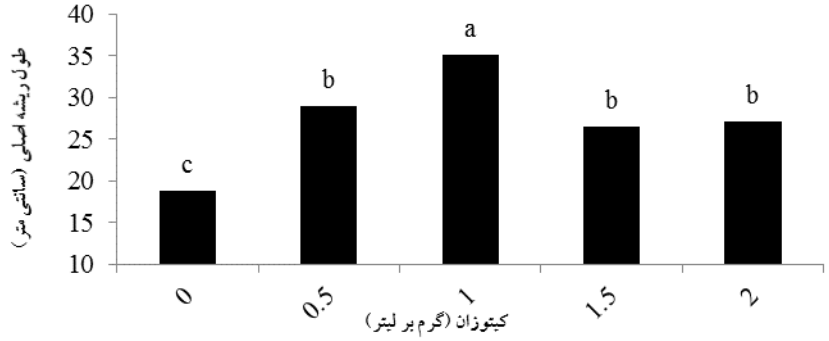
مطابق نتایج جدول ۱ اثر سطوح مختلف کیتوزان بر قطر ساقه اصلی با احتمال خطای یک درصد معنی‌دار شد. تیمار ۱/۵ گرم در لیتر کیتوزان با بالاترین مقدار قطر ساقه اصلی به مقدار ۲ میلی‌متر، همراه بود (شکل ۱). مطابق نتایج سایر پژوهشگران کیتوزان سبب افزایش قطر ساقه در گیاه ارزن مروارید شد. کیتوزان با افزایش سطح فتوسنتز کننده و توسعه بهتر ریشه با جذب عناصر غذایی بیشتر باعث افزایش قطر ساقه می‌شود (Sarathchandra & Jaj, 2004).



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کیتوزان بر قطر ساقه اصلی

طول ریشه اصلی

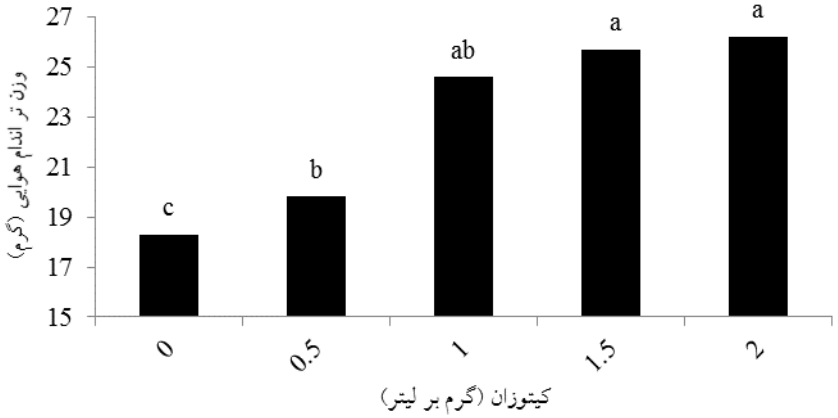
بر اساس نتایج جدول ۱ اثر سطوح مختلف کیتوزان بر طول ریشه اصلی با احتمال خطای یک درصد معنی‌دار شد. محلول‌پاشی کیتوزان با بیشترین میزان، ۳۵ سانتی‌متر، طول ریشه اصلی همراه شد. کمترین میزان طول ریشه اصلی ۱۸/۸ سانتی‌متر به تیمار عدم مصرف کیتوزان (شاهد) تعلق گرفت (شکل ۳). کیتوزان باعث افزایش ۸۶ درصد طول ریشه اصلی گیاه نسبت به شاهد شد. کیتوزان با بهبود جذب عناصر غذایی توسط گیاه و فراهمی عناصر غذایی برای گیاه سبب افزایش طول ریشه بادرنجبویه شد (Xiaochen *et al*., 2020). در همین راستا، یافته‌های ملک‌پور و همکاران (۱۳۹۴)، حاکی از آن است که کیتوزان باعث افزایش طول ریشه اصلی در گیاه ریحان بنفش شد.



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کیتوزان بر طول ریشه اصلی

وزن تر اندام هوایی

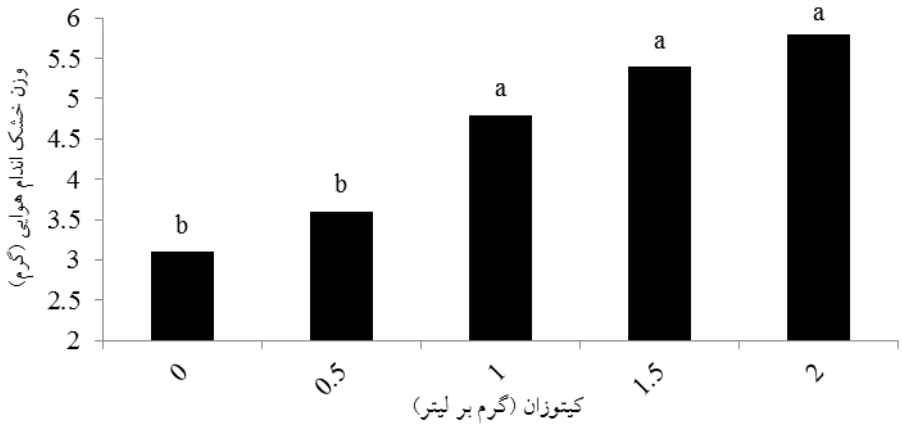
اثر سطوح مختلف تیمار کیتوزان بر وزن تر اندام هوایی با احتمال خطای یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). تیمارهای ۱/۵ و ۲ گرم در لیتر کیتوزان در مقایسه با تیمار شاهد ۱۸/۳گرم با بیشترین میزان وزن تر اندام هوایی ۲۶/۲ گرم همراه بود هرچند با تیمار ۱ گرم در لیتر کیتوزان در یک گروه آماری قرار گرفتند. در حقیقت تیمار ۱/۵ گرم در لیتر کیتوزان باعث افزایش ۴۳ درصد در وزن تر اندام هوایی شد. بنابراین تیمار ۱ گرم در لیتر کیتوزان از لحاظ اقتصادی جهت افزایش وزن هوایی گیاه قابل توصیه می‌باشد (شکل ۴). در همین راستا، نادری و همکاران (۱۳۹۴)، بیان داشتند که کیتوزان با افزایش تراکم کلروفیل در بخش‌های فتوسنتز کننده گیاه در افزایش طول و وزن‌تر و خشک اندام هوایی گیاه شاهی نسبت به شاهد موثر بود.



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کیتوزان بر وزن تر اندام هوایی

وزن خشک اندام هوایی

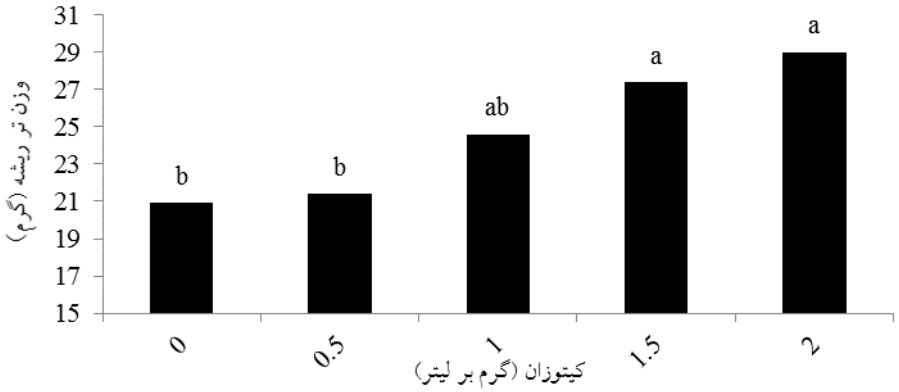
بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱)، اثرات کیتوزان بر وزن خشک اندام هوایی گیاه با احتمال خطای یک درصد معنی‌دار شد. سطوح مختلف کیتوزان تیمار ۲ گرم در لیتر کیتوزان با بیشترین وزن خشک اندام هوایی (۵/۸ گرم) نسبت به شاهد ۲/۷ گرم، همراه بود. به‌طور کلی تیمارهای ۱، ۱/۵ و ۲ گرم در لیتر کیتوزان از لحاظ وزن خشک اندام‌های هوایی در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل ۵).



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کیتوزان بر وزن خشک اندام هوایی

وزن تر ریشه

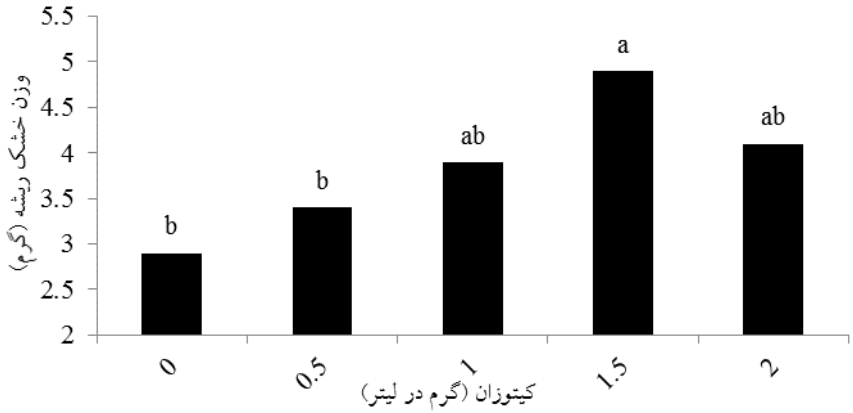
اثرات سطوح مختلف کیتوزان بر وزن تر ریشه با احتمال خطای یک درصد معنی‌دار شد. بیشترین وزن‌تر ریشه در سطوح ۲ و ۱/۵ گرم در لیتر کیتوزان به ترتیب با مقادیر ۲۹ و ۲۸ گرم حاصل شد. کمترین میزان وزن‌تر ریشه ۲۰/۹ گرم، به تیمار عدم مصرف کیتوزان تعلق داشت. تیمارهای ۱، ۱/۵ و ۲ گرم در لیتر کیتوزان در یک گروه آماری قرار گرفتند که بهترین تیمار اقتصادی جهت افزایش وزن‌تر ریشه در گیاه تیمار ۱ گرم در لیتر کیتوزان می‌باشد (شکل ۶). احتمالا کیتوزان از طریق افزایش کارایی فتوسنتزی در گیاه باعث توسعه ریشه و عمق نفوذ ریشه در خاک شده و از این طریق گیاه با افزایش فعالیت‌های متابولیکی باعث افزایش وزن خشک ریشه گردید. ملک‌پور و همکاران (۱۳۹۵) بیان کردند که محلول‌پاشی کیتوزان در گیاه ریحان بنفش باعث افزایش وزن تر ریشه و ساقه گردید.



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کیتوزان بر وزن تر ریشه

وزن خشک ریشه

اثرات سطوح مختلف کیتوزان بر وزن خشک ریشه با احتمال خطای یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). بیشترین وزن خشک ریشه ۴/۹ گرم مربوط به سطح ۱/۵ گرم در لیتر کیتوزان و کمترین میزان وزن خشک ریشه ۲/۹ گرم به تیمار عدم مصرف کیتوزان تعلق داشت و تیمار ۱/۵ گرم در لیتر کیتوزان با تیمارهای ۲ و ۱ گرم در لیتر این ماده در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل ۷). کیتوزان به عنوان یک منبع کربن ممکن است که با افزایش فعالیت و جمعیت میکروارگانیسم‌های مفید خاک در فرایند تبدیل مواد آلی به معدنی موثر بوده و در نتیجه ریشه با کارایی جذب بهتر باعث توسعه بخش ریشه گیاه شده که این امر در افزایش رشد بخش‌های هوایی گیاه نیز موثر می‌باشند (Xiaochen *et al*., 2020).

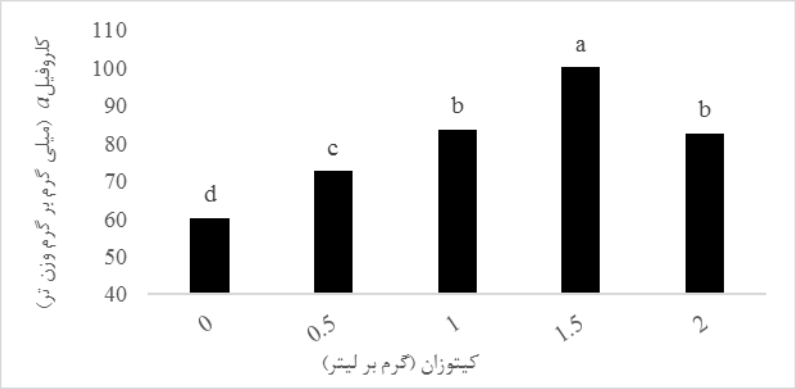


شکل ۷- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کیتوزان بر وزن خشک ریشه

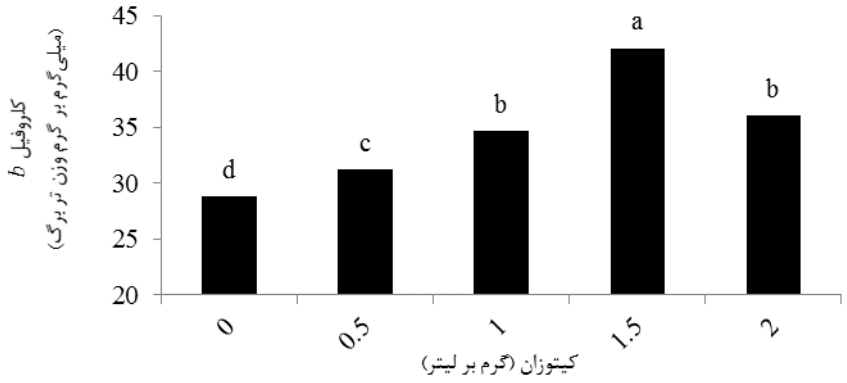
کلروفیل a و b

نتایج تجزیه واریانس (جدول۲)، نشان داد که اثر کیتوزان بر کلروفیل a و b با احتمال خطای یک درصد معنی‌دار شد. تیمار ۱/۵ گرم در لیتر کیتوزان با بیشترین میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر در بالاترین سطح قرار گرفت و تیمار عدم مصرف کیتوزان با کمترین میزان صفت ۶۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر همراه بود. تیمار کیتوزان ۱/۵ گرم در لیتر به مقدار ۴۰/۱ درصد، باعث افزایش میزان کلروفیلa شد. تیمار ۱/۵ گرم در لیتر کیتوزان با بالاترین مقدار ۳۶/۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ در سطوح برتر قرار گرفت. همچنین تیمار عدم مصرف کیتوزان در کمترین میزان ۲۸/۸ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر برگ در کمترین سطح قرار گرفت (شکل ۹). کلروفیل a و b رنگدانه‌های بسیار مهمی در فرآیند فتوسنتز هستند که در این فرآیند دو واکنش صورت می‌گیرد. یکی از این واکنش‌ها واکنش نوری است که در آن NADPH و ATP تولید می‌شود.

Dzung *et al* (2011) گزارش کردند که مصرف کیتوزان محتوای کلروفیل a و b و کاروتنوئید را در برگ گیاه قهوه افزایش داد. همچنین Shafiee-Masouleh et al (2014)، نیز دریافتند که کیتوزان در افزایش محتوای کلروفیل و مقدار فعالیت فتوسنتزی نقش داشته، همچنین کیتوزان باعث تغییرات اندازه کلروپلاست شده و از این طریق باعث تحریک رشد گیاه شد.



شکل ۸- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کیتوزان بر کلروفیل a



شکل ۹- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کیتوزان برکلروفیل b

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی تحت تاثیر کیتوزان

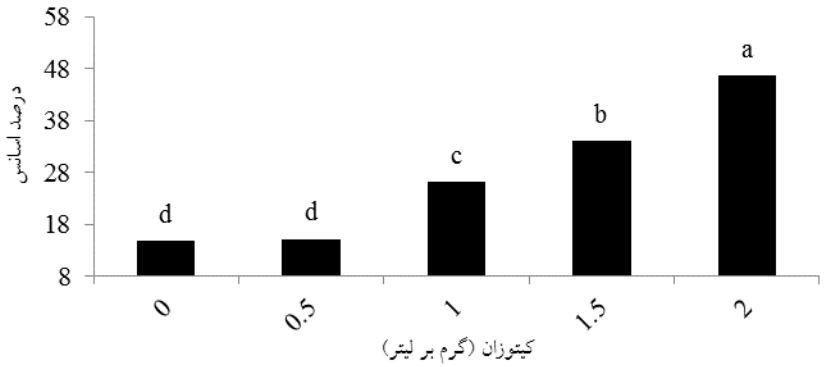
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		کلروفیل a	کلروفیل b	درصد اسانس	ژرانیول	ژرانیال	ژرانیل استات
کیتوزان	۴	۲۸۲۳/۵**	۱۵۵/۲**	۱۰۸۴/۲**	۲۴۱/۵**	۷۰۱/۱**	۵۳۷/۷**
خطا	۲۳	۳/۶	۲	۱۴/۷	۱۱/۶	۱۵	۷/۹
ضریب تغییرات (درصد)		۲/۴	۴/۱	۱۴	۱۰/۵	۸/۹	۸

*و ** به ترتیب معنی‌دار با احتمال خطای یک و پنج درصد و ns غیر معنی‌دار

درصد اسانس

سطوح مختلف کیتوزان بر درصد اسانس برگ با احتمال خطای یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). مصرف کیتوزان باعث افزایش درصد اسانس برگ شد و واکنش درصد اسانس نسبت به غلظت افزایشی بود به طوری که تیمار ۲ گرم در لیتر کیتوزان با بالاترین میزان درصد اسانس، ۴۶/۶ درصد همراه شد. درصد اسانس در تیمار عدم

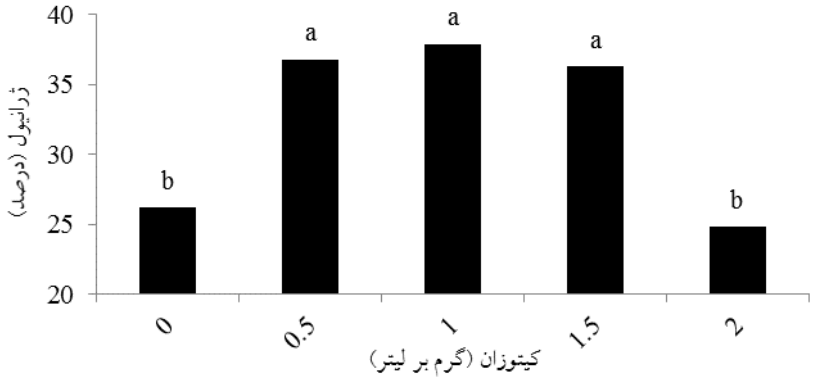
مصرف کیتوزان (شاهد)، با میزان ۱۴/۸ در پایین‌ترین سطح قرار گرفت که با تیمار ۰/۵ گرم در لیتر کیتوزان در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل ۱۰). کاربرد کیتوزان به دلیل افزایش در رشد چرخه، جذب موادغذایی و یا تغییر در تعداد غده‌های ترشحی برگ و یا بیوسنتز مونوترپن‌ها باعث افزایش مقدار اسانس شد (Emami Bistgani *et al.*, 2017).



شکل ۱۰- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کیتوزان بر درصد اسانس

درصد ژرانیول

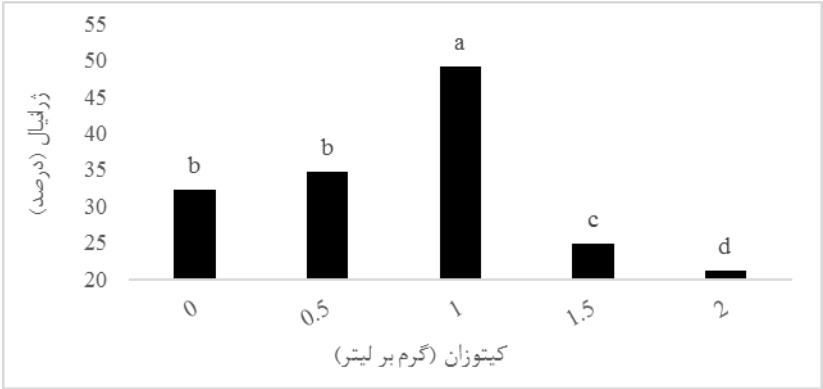
اثرات کیتوزان بر درصد ژرانیول با احتمال خطای یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشترین میزان درصد ژرانیول به ترتیب با میزان‌های ۳۶/۳، ۳۷/۹ و ۳۶/۸ درصد به تیمارهای ۱/۵، ۱ و ۰/۵ گرم درلیتر کیتوزان تعلق داشت. تیمار ۲ گرم در لیتر کیتوزان با اثر کاهشی ۲۴/۸ درصد بر درصد ژرانیول همراه بوده و با تیمار عدم مصرف در یک گروه آماری قرار گرفت. استفاده از کیتوزان به عنوان مولکول‌های سیگنال و یک محرک گیاهی می‌تواند سبب تحریک مسیرهای بیوسنتزی و افزایش ترکیبات ثانویه در گیاهان دارویی گردد. القا کننده‌هایی مانند کیتوزان موجب فعال شدن ژن‌های جدید شده که آنزیم‌ها و مسیرهای متابولیکی را برای تولید متابولیت‌های ثانویه تحریک می‌کنند (Emami Bistgani *et al.*, 2017).



شکل ۱۱- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کیتوزان بر درصد ژرانیول

درصد ژرانیال

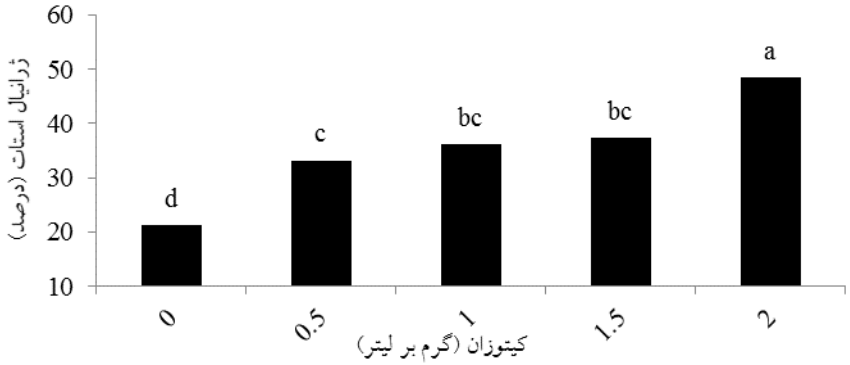
اثر سطوح مختلف کیتوزان بر درصد ژرانیال دارای اثر معنی داری با احتمال خطای یک درصد بود (جدول ۲). بیشترین میزان ژرانیال ۴۹/۱ درصد به تیمار ۱ گرم در لیتر کیتوزان تعلق داشت. همچنین کمترین مقدار درصد ژرانیال ۲۱/۲ به تیمار ۲ گرم در لیتر کیتوزان تعلق داشت که با تیمار ۱ گرم در لیتر کیتوزان در یک گروه آماری قرار گرفت. غلظت‌های ۱/۵ و ۲ گرم در لیتر کیتوزان با اثرات منفی بر درصد ژرانیال اسانس همراه شدند. Babaei *et al* (2021) در نتایج بررسی خود بیان کردند که میزان درصد ژرانیال به عوامل محیطی و شرایط مطلوب رشد گیاه وابسته می‌باشد.



شکل ۱۲- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کیتوزان بر درصد ژرانیال

درصد ژرانیال استات

اثرات کیتوزان بر درصد ژرانیال استات با احتمال خطای یک درصد معنی‌دار شد. بیشترین میزان صفت ۴۸/۵ درصد، به تیمار ۲ گرم در لیتر کیتوزان تعلق داشت. همچنین کمترین مقدار صفت ۲۱/۲ درصد، به تیمار عدم مصرف کیتوزان (شاهد)، تعلق داشت. به طور کلی روند پاسخ تغییرات ژرانیال استال نسبت به افزایش تدریجی غلظت کیتوزان با روند افزایشی همراه بود. در همین راستا، جامی و همکاران (۱۳۹۷)، اعلام کردند که تیمار محلول‌پاشی کیتوزان باعث افزایش درصد متابولیت‌های ثانویه اسانس در گیاه مریم گلی شد.



شکل ۱۳- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کیتوزان بر درصد ژرانیال استات

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی کیتوزان با افزایش دسترسی گیاه به مواد مغذی و همچنین افزایش فتوسنتز در گیاه دارویی بادرنجبویه موجب افزایش صفات مورفولوژی تعداد ساقه فرعی، قطر ساقه اصلی، طول ریشه اصلی، وزن ساقه تر، وزن ساقه خشک، وزن ریشه‌تر، وزن ریشه خشک، کلروفیل a، کلروفیل b شد و همچنین استفاده از کیتوزان به عنوان یک محرک گیاهی با تحریک مسیرهای بیوسنتزی و افزایش ترکیبات ثانویه صفات کیفی سبب افزایش مقدار اسانس و ترکیبات موثره اسانس مانند درصد ژرانیول، درصد ژرانیال، درصد ژرانیل استات، با اثرات مثبت و افزاینده در گیاه بادرنجبویه همراه بود. از لحاظ اقتصادی غلظت ۱/۵ گرم در لیتر کیتوزان برای کشاورزان قابل توصیه می‌باشد.

منابع

امامی، ز.، سیادت، و ع. قاسمی پیربلوطی. ۱۳۹۵. اثر تنش خشکی، الیسیتور کیتوزان و کودهای مختلف (شیمیایی و آلی) بر خصوصیات فیزیولوژیک و فیتوشیمی گیاه آویشن دنایی (*Thymus daenensis Celak.*) در شرایط آب و هوایی شهرکرد، مجله پژوهش‌های زراعی ایران، ۱۳ (۴): ۷۳۸-۷۲۷.

جامی، س.، ص. اسمعیل زاده بهابادی، وم. مدرس. ۱۳۹۷. تاثیر کیتوزان بر ریز ازدیادی متابولیت‌های ثانویه و فعالیت‌های آنتی اکسیدانی گیاه نوروزک در شرایط Invitro. مجله پژوهش‌های گیاهی. ۳۱ (۳): ۵۷۸-۵۶۸.

حسنلو، ط.، اسکندری، س. و نجفی، ف. ۱۳۹۴. نقش کیتوزان در افزایش تولید فلاونولیگنان‌ها در کشت ریشه‌های مویین خار مریم (*Silybum marianum*). مجله سلول و بافت. ۶ (۳): ۲۶۷-۲۵۷.

رحمانی، م.، خیری، ع.، ثانی خانی، م.، مرتضوی س. ن. و فرزین، ن. ۱۳۹۹. تاثیر محلول پاشی کیتوزان بر برخی ویژگی های فیزیولوژیک گیاه نعناع (*Mentha spicata* L.) تحت تنش کم آبیاری. مجله علوم باغبانی ایران. ۲ (۵۱): ۴۹۲-۴۷۹.

ملک‌پور، ف.، سلیمی، ا. و ع. قاسمی پیربلوطی. ۱۳۹۵. تأثیر محرک زیستی کیتوزان بر صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی ریحان بنفش (*Ocimum basilicum* L.) تحت تنش کم آبی. مجله اکوفیزیولوژی گیاهی. ۸ (۲۸): ۷۱-۵۶.

نادری، ص.، ح. خواجه. و ح. احمدی، ح. ۱۳۹۴. تأثیر کیتوزان بر برخی شاخص‌های مورفولوژیک در گیاه شاهی (*Lepidium sativum* L.). اولین همایش گیاهان دارویی و داروهای گیاهی.

agriculture in Vietnam. Journal of Chitin Chitosan. 10 (3): 109-113.

Emami Bistgani, Z., S.A. Siadat, A. Bakhshandeh, A. Ghasemi Pirbalouti, and M. Hashemi. 2017. Interactive effects of drought stress and chitosan application on physiological characteristics and essential oil yield of Thymus daenensis Celak. The Crop Journals. 5(5): 407- 415.

Li, K., R. Xing, S. Liu, and P. Li. 2020. Chitin and Chitosan Fragments Responsible for Plant Elicitor and Growth Stimulator. Agricultural and Food Chemistry. 68 (44): 12203-12211.

Massimo, M. and C. Raffaella. 2018. Recent Advances of Chitosan Applications in Plants, Polymers. 10(2): 1-10.

Naveed, M., F. Majeed, A. Taleb, H.M. Zubair, M. Shumzaid, M.A. Farooq, M.M.F. Baig, M. Abbas, M. Saeed, and C.H. Li. 2020. A Review of Medicinal Plants in Cardiovascular Disorders: Benefits and Risks. The American Journal of Chinese Medicine. 48(2): 259–286.

Babaei, K., M. Moghaddam, N. Farhadi, and A. Ghasemi Pirbalouti. 2021. Morphological, physiological and phytochemical responses of Mexican marigold (*Tagetes minuta* L.) to drought stress. Scientia Horticulturae. 284: 110116.

Boveiri Dehsheikh, A., M. Mahmoodi Sourestani, M. Zolfaghari, and N. Enayatizamir. 2020. Changes in soil microbial activity, essential oil quantity, and quality of Thai basil as response to biofertilizers and humic acid. Journal of Cleaner Production. 256: 120439.

Cho, M.H., H.K. No. and W. Prinyawiwatkul. 2008. Chitosan treatments affect growth and selected quality of sunflower sprouts. Journal of Food Science, 73: 570-577.

Coskun, Ezgi Duran, Ozgul, Turkmen. 2015. Chitosan Improves Plant Regeneration in Callus Culture of a Medicinal Herb Melissa officinalis L. Journal of Biotechnology. 208: 5-20.

Dzung, N.A. 2011. Appliccation of Chitin, Chitosan and their derives for

Uthairatanakij, A., J.A. Teixeira da Silva, and K. Obsuwan. 2015. Chitosan for Improving Orchid Production and Quality. Orchid Science and Biotechnol. 1 (1): 1-5.

Xiaochen, J., R. Mijanur, R. Rajib, and Y. Heng. 2020. Recognition Pattern, Functional Mechanism and Application of Chitin and Chitosan Oligosaccharides in Sustainable Agriculture. Current Pharmaceutical Design. 26 (29): 3508-3521.

Sarathchandra, R. G. and S.N. Jaj. 2004. A chitosan formulation Alexa induce Downy Mildew disease resistance and growth promotion in pearl millet. Crop Protection. 23: 881–888.

Shafiee-Masouleh, S.S., A. Hatamzadeh, H. Samizadeh, and K. Rad-Moghadam. 2014. Enlarging bulblet by magnetic and chelating structures of nano-chitosan as supplementary fertilizer in Lilium. Horticulture, Environment and Biotechnology. 55(6): 437-444.

Investigation the effect of chitosan foliar application on yield and qualitative traits of Lemon balm (*Melissa officinalis* L.)

A. Naeimi far[1], L. Pourhosseini[2], M.N. Ilkaee[3*], R. Kalhor Monfared[4]

1. Ms.c student of Department of Horticulture, Karaj branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.
2. Assistant Professor of Department of Horticulture, Karaj branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.
3. Associate Professor Department of Agronomy and Plant Breeding, Karaj branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.
4.Ph.D. Student of Department of Agronomy and Plant Breeding, Karaj branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

Abstract

Biological stimulants can play an important role in increasing the essential oil of medicinal plants, through positive effects on growth and effective substances. In this research, the effect of chitosan foliar application as a biological stimulus on the quantitative and qualitative traits of Lemon balm (*Melissa officinalis* L.) was investigated. This research was carried out in 2017 in the greenhouse of Islamic Azad University, Karaj branch, in three replications. The experimental treatments included: chitosan at 4 levels, zero (control), 0.5, 1, 1.5 and 2 grams per liter. The results show that the effects of chitosan on morphological traits including the length of the main stem, the number of secondary stems, the diameter of the main stem, the length of the main root, the dry weight of the stem and root, as well as chlorophyll a and chlorophyll b were significant. The maximum mentioned traits were obtained in the treatment of 1.5 grams per liter of chitosan. The maximum percentage of essential oil was obtained in the treatment of 2 g/l and the maximum percentage of geraniol and geranial were obtained in concentration of 1 g/L.

Keywords: Chlorophyll, Essential oil percentage, Geranial acetate, Geraniol, Morphological traits

* Corresponding author (mohammad.ilkaei@kiau.ac.ir)