نشریه علمی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، جلد شانزدهم، شماره ۴(۶۴)، زمستان ۱۴۰۱، صفحه ۴۹۲-۴۷۵

مقاله پژوهشی DOI: 10.30495/JCEP.2021.1927610.1791

اثر محلول‌پاشی کیتوزان و سالیسیلیک اسید بر صفات مورفولوژیکی و کیفیت اسانس گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.)

نگین صفری کمال‌آبادی[۱]، ناصر محبعلی‌پور[۲*]، مهدی اورعی[۱]، حسن نورافکن[۱] و اسد اسدی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱/۲۱ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۴/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۵/۱۱

چکیده

بادرنجبویه گیاهی بوته‌ای معطر و چند ساله با خواص دارویی و بیولوژیکی است که پراکنش عمده آن مربوط به منطقه مدیترانه و آسیا می‌باشد. اثرات محلول‌پاشی در ابتدای دوره رشد با ترکیبات سالیسیلیک اسید (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و کیتوزان (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بر صفات رویشی، درصد اسانس و ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه بادرنجبویه در دو مرحله مختلف برداشت (رویشی و گلدهی) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بالاترین مقدار شاخص کلروفیل از تیمارهای محلول‌پاشی ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوزان به‌دست آمد. استفاده از کیتوزان در تمام غلظت‌ها به جز ۵۰ میلی‌گرم در لیتر به‌طور قابل توجهی ارتفاع گیاه بادرنجبویه را در مقایسه با تیمار عدم محلول‌پاشی بهبود بخشید. وزن خشک برگ و وزن خشک اندام‌های هوایی بوته با افزایش غلظت‌های سالیسیلیک اسید و کیتوزان افزایش یافت. میزان ترکیبات اسانس بادرنجبویه (citronellal, caryophyllene, linalool, carvacrol, α-pinene, geraniol) در مرحله برداشت گلدهی، به‌طور قابل توجهی بالاتر از مرحله برداشت رویشی بود. همچنین، محلول‌پاشی کیتوزان نسبت به سالیسیلیک اسید در افزایش میزان ترکیبات اسانس بادرنجبویه مؤثرتر بود. محتوای اسانس در مرحله برداشت رویشی بین ۰/۰۷ و ۰/۰۹ درصد و در مرحله برداشت گلدهی بین ۰/۳ و ۰/۵۲ درصد متغیر بود. بیشترین مقدار اسانس (۰/۵۲ درصد) از مرحله برداشت گلدهی با محلول‌پاشی ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوزان به‌دست آمد. یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که سالیسیلیک اسید و کیتوزان هر دو از پتانسیل بالایی در تولید زیست توده و افزایش ترکیبات شیمیایی اسانس در گیاه بادرنجبویه برخوردار می‌باشند.

واژگان کلیدی: اسانس، بادرنجبویه، تولید ماده خشک، شاخص کلروفیل، محرک‌های زیستی.

۱- گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، واحد میانه، دانشگاه آزاد اسلامی، میانه، ایران.

۲- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، واحد میانه، دانشگاه آزاد اسلامی، میانه، ایران.

۳- گروه دامپزشکی، واحد میانه، دانشگاه آزاد اسلامی، میانه، ایران.

نگارنده‌ی مسئول n.mohebalipour@gmail.com

مقدمه

مصرف خاکی، روشی مؤثر در استفاده از عناصر کم‌مصرف و پرمصرف، اسیدهای آمینه، اسیدهای هیومیک و فلویک، هورمون‌های رشد گیاه، عصاره جلبک دریایی و کربوهیدرات‌ها است. سالیسیلیک اسید و کیتوزان محرک‌های ایمنی سازگار با محیط زیست هستند که ویژگی‌های مورفو-فیزیولوژیکی گیاهان را بهبود می‌بخشند (Gharib, 2006; Boonlertnirun *et al.*, 2008).

سالیسیلیک اسید به‌عنوان یک ماده تحریک کننده می‌تواند متابولیت‌های ثانویه را در گیاه تولید کند (Pastírová *et al.*, 2004). اثر محرک سالیسیلیک اسید بر افزایش تولید متابولیت‌های coumarin و phenol در گیاه بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.) گزارش شده است (Pastírová *et al.*, 2004; Kováčik *et al.*, 2009).

کیتوزان یک پلیمر زیستی و یکی از مهم‌ترین مشتقات کیتین است. بر خلاف ترکیبات پلیمری مصنوعی، کیتوزان غیرسمی بوده و با بافت‌های زنده کاملاً سازگار است و همچنین در محیط تجزیه می‌شود (Roller and Covill, 2000). در مطالعات مختلف، نتایج بهینه استفاده از کیتوزان در کاهش تنش محیطی ناشی از خشک‌سالی و خاک، پوشش دانه، برگ و میوه و کود به اثبات رسیده است (Devlieghere *et al.*, 2004; Luan *et al.*, 2005). تأثیر کیتوزان بر افزایش میزان ترکیبات فنولیک، کلروفیل و کاروتنوئیدها در گیاهان سویا و قهوه گزارش شده است (Vasconsuelo and Boland, 2007).

بادرنجبویه (*Melissa Officinalis* L.) یک گیاه علفی و چند ساله از تیره‌ی Lamiaceae است (Capecka *et al.*, 2005). کشت این گیاه دارویی مهم به‌دلیل ترکیبات اسانس آن، به‌طور جدی مورد توجه قرار گرفته است. برگ‌ها، گل‌ها و اندام رویشی بادرنجبویه به‌طور گسترده در صنایع آرایشی و بهداشتی، دارویی و غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Burt, 2004; Bakkali *et al.*, 2008). بادرنجبویه در داروهای گیاهی سنتی ایران به‌عنوان ضد اسپاسم، ضد تشنج، ضد نفخ و غیره استفاده می‌شود. اسانس این گیاه به‌عنوان یک ماده ضد میکروبی و ضد قارچی شناخته می‌شود (Basta *et al.*, 2005).

ترکیبات اصلی شناسایی شده در اسانس گیاه بادرنجبویه شامل geraniol, limonene, citral, caryophylline, linalool, citronella می‌باشند (Devlieghere *et al.*, 2004; Boonlertnirun *et al.*, 2008). عواملی که ممکن است بر متابولیت‌های ثانویه این گیاه تأثیر بگذارد از جمله نوع گونه، محل رشد گیاه (نوع خاک، آب و هوا، ارتفاع و مقدار آب)، زمان برداشت، ساختار ژنتیکی گیاه، کوددهی و غیره می‌باشند (Bakkali *et al.*, 2008). با توجه به اینکه ترکیبات موجود در گیاه دارویی بادرنجبویه دارای خواص درمانی، بهداشتی و تغذیه‌ای بسیاری هستند و برخی از این ترکیبات به مقدار کم در گیاه تولید می‌شوند، تلاش بر این است تا مقدار تولید آنها در گیاه افزایش یابد. هدف از انجام این تحقیق تعیین تاثیر کاربرد محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید و کیتوزان بر رشد گیاه، درصد اسانس و ترکیبات شیمیایی بادرنجبویه و تغییر و تفاوت در مقدار اسانس و ترکیبات شیمیایی اسانس در دو مرحله برداشت رویشی و گلدهی است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کرمان در سال ۱۳۹۶

انجام شد. مشخصات خاک و آب محل آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است.

نشاء بادرنجبویه (Lemona F1) از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. هر سینی نشاء شامل ۱۰۰ سلول با عمق ۵۰ میلی‌متر، قطر ۴۰ میلی‌متر و حجم ۳۰ سانتی‌متر مکعب که با مخلوط کوکوپیت و شن و ماسه پر شده بودند. نشاها از اواسط اردیبهشت ماه از سینی‌های نشاء (قبل از مرحله چهار برگی) به گلدان‌ها منتقل شدند. در این مطالعه، از هیچ نوع کود معدنی و حشره‌کش‌های سیستمیک در کل آزمایش استفاده نشد و کنترل علف‌های هرز به‌صورت دستی انجام شد.

آزمایش ها در دو مرحله انجام شد. در آزمایش اول صفات مورفولوژیکی گیاه بادرنجبویه (ارتفاع بوته، طول برگ، عرض برگ، تعداد شاخه در بوته، تعداد شاخه جانبی در بوته، تعداد گره، تعداد برگ، وزن خشک برگ در بوته، وزن خشک شاخه در بوته، وزن خشک اندام هوایی بوته و شاخص کلروفیل) پس از محلول پاشی و در اواخر مرحله گلدهی مورد بررسی قرار گرفتند. آزمایش اول بر اساس طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر)، کیتوزان (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و آب (به‌عنوان شاهد) بودند.

آزمایش دوم به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۹ تیمار محلول‌پاشی (آب، سالیسیلیک اسید با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر و کیتوزان با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و دو مرحله مختلف برداشت رویشی (۸ برگی) و گلدهی (۱۰٪ گلدهی) با سه تکرار انجام شد. در این قسمت از آزمایش نیز درصد اسانس و نیز مقدار ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه بادرنجبویه مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

برای تعیین وزن خشک برگ، ساقه و وزن خشک کل، اندام هوایی بوته برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس (به‌منظور غیرفعال سازی آنزیم‌ها) و سپس در دمای ۸۰ درجه سلسیوس تا رسیدن به یک وزن ثابت خشک شدند. مقدار شاخص کلروفیل با استفاده از دستگاه کلروفیل‌متر (SPAD-502Plus) ساخت شرکت کونیکا مینولتا ژاپن اندازه‌گیری شد. بدین منظور از برگ‌های انتهایی هر بوته در هر گلدان پنج اندازه‌گیری انجام و سپس میانگین آنها به عنوان شاخص کلروفیل ثبت شد (Ghasemi *et al.*, 2011).

به‌منظور استخراج اسانس، اندام رویشی هر گیاه در دو مرحله رشد رویشی (۸ برگی) و گلدهی (۱۰٪ گلدهی) برداشت و در سایه در دمای ۲۷-۲۲ درجه سلسیوس خشک شدند. پس از خشک شدن، در هر تکرار عملیات اسانس‌گیری ۳۵ گرم از هر تیمار گیاه بادرنجبویه در حضور نیم لیتر آب مقطر به مدت ۲۱۰ دقیقه انجام شد. پس از پایان اسانس‌گیری، مایع روغنی به‌دست آمده با اضافه کردن مقداری اتر از فاز آبی جدا گردید و توسط مواد جاذب رطوبت (سولفات سدیم) خشک شد. بعد از تبخیر اتر توسط جریان گاز نیتروژن، اسانس به‌دست آمده از تیمارهای مختلف به‌دقت توزین و در ظروف شیشه‌ای تیره در دمای یخچال (۴ درجه سلسیوس) نگهداری شدند (Saglam *et al.*, 2004). ترکیبات اسانس گیاه بادرنجبویه با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی Agilent 6890N متصل به طیف سنجی جرمی Agilent 5973 (GC/MS) شناسایی شدند. این دستگاه دارای

ستونی به طول ۳۰ متر، قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه استاتیک ۰/۲۵ میکرومتر است. بر اساس برنامه ریزی انجام شده دمای ستون از ۵۰ به ۲۴۰ درجه درجه سلسیوس با سرعت ۵ درجه سلسیوس در دقیقه افزایش داده شد. گاز حامل، هلیوم (۹۹/۹۹۹٪) با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه و انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت بود. شناسایی ترکیبات با استفاده از پیشنهاد کتابخانه دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی، مقایسه ترکیبات با مقادیر منتشر شده در منابع مختلف و استفاده از اطلاعات کتابخانه NIST انجام شد.

جهت محاسبات آماری از نرم‌افزار SAS v. 9.1 استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام گرفت.

نتایج و بحث

شاخص کلروفیل

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که شاخص کلروفیل در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر تیمارهای محلول‌پاشی قرار گرفت (جدول ۲). نتایج ارایه شده در جدول ۳ نشان داد که شاخص کلروفیل در تمام تیمارهای محلول پاشی در مقایسه با تیمار شاهد به‌طور قابل توجهی افزایش یافته است. بالاترین مقادیر شاخص کلروفیل از تیمارهای محلول پاشی ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوزان به‌دست آمد. بررسی تاثیر کیتوزان بر روی گیاه زنیان نشان داد که کیتوزان باعث افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل در این گیاه شده است که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد (Khajeh and Naderi, 2014). کیتوزان باعث بهبود محتوای کلروفیل برگ شد که ممکن است به دلیل جذب بیشتر نیتروژن، فسفر و پتاسیم باشد و همچنین از طریق انتقال نیتروژن به برگ‌ها باعث افزایش رنگدانه‌های کلروفیل و در نهایت منجر به افزایش محتوای کلروفیل می‌شود (Abd EL-Gawad and Bondok, 2015). همچنین، افزایش کلروفیل در شرایط کاربرد کیتوزان، به اثرات مثبت ناشی از افزایش دسترسی به ترکیبات آمینو اسیدی آزاد شده توسط کیتوزان ارتباط داده شده است (Chibu and Shibayama, 2001). این نتایج با نتیجه تحقیقات صوفی و همکاران (Sofy *et al.*, 2020) مبنی بر تاثیر مثبت محلول‌پاشی کیتوزان بر محتوای کلروفیل برگ مطابقت دارد. در مطالعات انجام شده دیگر در بادام‌زمینی (*Arachis hypogea*) و قهوه (*Coffea arabica*) نیز کیتوزان منجر به افزایش مقدار کلروفیل شده است که با نتایج این آزمایش مطابقت داشت (Dzung and Thang, 2004; Dzung *et al.*, 2011). نورافکن (Nourafcan, 2019) نیز مشابه با یافته مطالعه حاضر، افزایش محتوای کلروفیل را در گیاه به لیمو (*Lippia citriodora* L.) در محلول‌پاشی با ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر کیتوزان گزارش نمود. برخی پژوهش‌گران بر این باور هستند که کاربرد کیتوزان با تأثیر روی ژن‌های مسئول سازنده کلروفیل، تولید کلروفیل را افزایش می‌دهد (Heng *et al.*, 2012). گروهی از محققان نیز دریافتند که کیتوزان در افزایش کلروفیل و فتوسنتز نقش دارد و علاوه بر این، اثبات کردند که کیتوزان بیان ژن کلروپلاست برگ (ycf2) را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Limpanavech *et al.*, 2008).

صفات مورفولوژیکی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمار محلول‌پاشی بر روی صفات ارتفاع بوته، عرض برگ و تعداد گره در سطح احتمال یک درصد و بر روی

صفات تعداد شاخه جانبی و تعداد برگ در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از کیتوزان (تمام غلظت‌ها به جزء غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر) به طور معنی‌داری باعث بهبود ارتفاع گیاه بادرنجبویه در مقایسه با تیمار شاهد شد (جدول ۳). نتایج ارایه شده در جدول ۳ نشان داد که اختلاف بین تیمارهای محلول‌پاشی از نظر عرض برگ معنی‌دار بود. در مقایسه با تیمار شاهد، عرض برگ در غلظت‌های کیتوزان ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌طور قابل توجهی بهبود یافت. محلول پاشی اثر معنی‌داری بر تعداد شاخه در بوته نداشت در حالی که تمام تیمارهای محلول پاشی بر تعداد شاخه‌های جانبی در مقایسه با شاهد تأثیر مثبت داشتند (جداول ۲ و ۳). تعداد گره در بوته، در غلظت‌های سالیسیلیک اسید ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر و غلظت‌های کیتوزان ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر، در مقایسه با تیمار شاهد بهبود یافت (جدول ۳). کمترین و بیشترین تعداد برگ در بوته به‌ترتیب مربوط به تیمار شاهد (۴۳/۱ برگ) و محلول‌پاشی ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوزان (۸۱/۶ برگ) بود (جدول ۳).

در این تحقیق محلول‌پاشی کیتوزان ارتفاع گیاه بادرنجبویه را بهبود بخشید، که ممکن است به این دلیل باشد که کیتوزان حاوی گروه‌های آمینه است که فتوسنتز را افزایش می‌دهد و در نهایت باعث افزایش ارتفاع گیاه می شود (Sofy *et al.*, 2020). افزایش رشد گیاه پس از تیمار با کیتوزان ممکن است به‌دلیل تأثیر آن در افزایش جذب و انتقال مواد معدنی مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم باشد. مطابق با نتایج این تحقیق کاربرد کیتوزان بر ارتفاع گیاه فلفل دلمه‌ای، خیار و تربچه نیز تأثیر مثبت داشت (Farouk *et al.*, 2008). همچنین، این نتایج با یافته‌های گان و همکاران (Guan *et al.*, 2009) همخوانی دارد که دریافت کاربرد کیتوزان بر ارتفاع گیاه ذرت تأثیر مثبت دارد. گیاهان تیمار شده با ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوزان در مقایسه با شاهد از عرض برگ و تعداد برگ بیشتری برخوردار بودند که با مطالعات قبلی مطابقت دارد (Chookhongkha *et al.*, 2012; Abdel-Mawgoud *et al.*, 2010).

ماده خشک

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که وزن خشک برگ در سطح احتمال یک درصد، وزن خشک شاخه و وزن خشک کل اندام‌های هوایی بوته در سطح احتمال پنج درصد تحت تأثیر تیمار محلول‌پاشی قرار گرفتند. وزن خشک برگ و وزن خشک کل اندام‌های هوایی بوته با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید و کیتوزان افزایش یافت (جدول ۳). بیشترین مقادیر وزن خشک برگ و کل اندام‌های هوایی بوته از تیمار محلول‌پاشی ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوزان به‌دست آمد. نتایج نشان داد که کمترین و بیشترین مقادیر وزن خشک شاخه به‌ترتیب مربوط به تیمار شاهد و محلول‌پاشی ۲۰۰ میلی گرم در لیتر کیتوزان بود (جدول ۳). گزارش شده است که کیتوژل، به‌عنوان یک مشتق کیتوزان، رشد رویشی گیاهچه‌ها را به‌طور قابل توجهی بهبود می‌بخشد (Barka *et al.*, 2004). کیم و همکاران (Kim *et al.*, 2005) گزارش کردند که زیست توده گیاه ریحان پس از تیمار کیتوزان افزایش یافته و در غلظت ۰/۱٪ کیتوزان به حداکثر رسیده است. مطالعات مشابه بر روی گیاه ریحان (Hawrylak-Nowak *et al.*, 2020) نشان داد که محلول‌پاشی ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوزان به‌طور قابل توجهی وزن تازه اندام هوایی

را افزایش می‌دهد. تاثیر افزاینده محلول‌پاشی کیتوزان بر رشد اندام هوایی گیاهان بامیه (*Hibiscus esculentus*)، سیر (*Allium sativum*) و گندم (*Triticum aestivum*) در غلظت‌های ۰/۱ تا ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر کیتوزان گزارش شده است (Gupta and Kaur, 2005; Mondal *et al.*, 2012; Zeng and Luo, 2012). شاید اثر تحریک کنندگی کیتوزان بر رشد گیاه به‌دلیل افزایش جذب آب و عناصر ضروری و کاهش انباشت رادیکال‌های آزاد اکسیژن از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت می‌باشد (Guan *et al.*, 2009). افزایش عملکرد تحت تاثیر کیتوزان به دلیل تاثیر آن بر تحریک فرآیندهای فیزیولوژیکی، بهبود رشد رویشی و افزایش تثبیت CO_2 می‌باشد. محققان در آزمایشی بر روی ذرت به این نتیجه رسیدند که کیتوزان باعث افزایش رشد، ارتفاع و عملکرد گیاه گردید (Guan *et al.*, 2009). همچنین، تحقیق دیگری نشان داد که محلول‌پاشی کیتوزان به‌طور معنی‌داری باعث افزایش تعداد، وزن و کیفیت میوه فلفل شد (Ghoname *et al.*, 2010). طی آزمایشی که روی بامیه انجام شد افزایش عملکرد بیولوژیک در اثر مصرف کیتوزان به‌میزان ۱۲۵ پی‌پی‌ام گزارش شد (Mondal *et al.*, 2012). افزایش ارتفاع، سطح برگ و عملکرد گیاه سیر (*Allium sativum*) تحت تاثیر سالیسیلیک اسید به‌میزان ۰/۵ میلی‌مولار گزارش شده است (Bideshki and Arvin, 2010). محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید احتمالاً از طریق بهبود تثبیت کربن، سنتز متابولیت‌ها و حفظ وضعیت آب بافت‌های گیاهی باعث افزایش رشد (Farooq *et al.*, 2010) و همچنین باعث حفظ محتوای آب نسبی و فتوسنتز شده و در نتیجه باعث افزایش شاخص سطح برگ می‌شود (Mathur and Vyas, 2007).

ترکیبات شیمیایی اسانس

اسانس استخراج شده از گیاه بادرنجبویه با استفاده از طیف سنج جرمی (GC-MS) مورد تجزیه قرار گرفت و بر طبق نتایج به‌دست آمده در مجموع ۹ ترکیب (citronellal, z-citral, e-citral, caryophyllene oxide, caryophyllene, linalool, carvacrol, α-pinene, geraniol) در نمونه‌های مورد مطالعه شناسایی شد که نمایانگر ۷۷-۸۶٪ از ترکیب کل اسانس است.

در این آزمایش ترکیب caryophyllene oxide تحت تأثیر مرحله برداشت قرار گرفت (جدول ۴). بالاترین مقادیر این ترکیب در مرحله برداشت رویشی مشاهده شد (جدول ۵). بر اساس نتایج به‌دست آمده، اختلاف معنی‌داری ($p<0.01$) در بین تیمارهای محلول‌پاشی و مراحل مختلف برداشت برای ترکیب linalool در گیاه بادرنجبویه مشاهده شد (جدول ۴). در مقایسه با مرحله برداشت رویشی، ترکیب linalool در مرحله برداشت گلدهی افزایش یافت (جدول ۵). همچنین، با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید و کیتوزان تمایل واضحی به افزایش ترکیب linalool وجود داشت (جدول ۵). اثرات محلول‌پاشی، مرحله برداشت و اثر متقابل (محلول‌پاشی در مرحله برداشت) بر روی citronellal، z-citral، e-citral، caryophyllene، carvacrol، α-Pinene و Geraniol در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). بالاترین مقادیر citronellal، caryophyllene، carvacrol، α-pinene و geraniol با استفاده از محلول‌پاشی کیتوزان ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر و در مرحله برداشت گلدهی مشاهده شد (جدول ۶). محلول‌پاشی سالیسیلیک

اسید ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر و کیتوزان ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر در هر دو مرحله برداشت چهار برگی و گلدهی باعث افزایش قابل توجه citronellal، z-citral، e-citral، caryophyllene، α-pinene و geraniol در مقایسه با تیمار شاهد شد (جدول ۶).

نتایج این مطالعه نشان داد که ترکیبات اسانس بادرنجبویه (به استثنای caryophyllene oxide، z-citral و e-citral) در مرحله برداشت گلدهی، به‌طور قابل توجهی بالاتر از مرحله برداشت رویشی بود. همچنین، محلول‌پاشی کیتوزان نسبت به سالیسیلیک اسید در افزایش ترکیبات اسانس بادرنجبویه مؤثرتر بود.

مفتاحی‌زاده و همکاران (Meftahizade *et al.*, 2010) گزارش کردند که ماده اصلی سازنده اسانس بادرنجبویه (۹۶٪) ترکیبات neral، geranial، geraniol، α-pinene، β-pinene، β-caryophyllene و citronellal می‌باشند. در مطالعه‌ای دیگر اجزای اسانس بادرنجبویه در مراحل قبل از گلدهی و گلدهی شامل ترکیبات geraniol، caryophyllene oxide، geranyl acetate، geranyl، caryophyllen، carvacrol و linalool بود (Saeb and Gholamrezaee, 2012). همچنین گزارش شده است که اجزای اصلی اسانس برگ و گل در بادرنجبویه شامل citral (۲۵/۲۲ درصد و ۲۱/۲۰ درصد)، caryophyllene oxide (۲۱/۹۵ درصد و ۱۸/۴۴ درصد) و z-citral (۱۹/۰۸ درصد و ۱۶/۰۳ درصد) می‌باشد (Uyanik and Gurbuz, 2014).

به گفته محققین ترکیب اسانس به‌شدت تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله ژنوتیپ گیاه، شدت نور، ماده مغذی، دما، زمان برداشت و غیره قرار دارد (Moradkhani *et al.*, 2010). در همین راستا گزارش شده است که مرحله برداشت بر روی محتوای اسانس بادرنجبویه تاثیرگذار است (Ayanoglu *et al.*, 2005). به‌طور مشابهی گزارش کرده‌اند که میزان اسانس بادرنجبویه از ۰/۰۲ درصد تا ۰/۳۰ درصد تغییر یافته و زمان برداشت بر عملکرد و ترکیبات اسانس مؤثر است (Saeb and Gholamrezaee, 2012). در تطابق با نتایج تحقیق حاضر بیان شده است که میزان caryophyllen بادرنجبویه در مرحله برداشت گلدهی افزایش یافت (Saeb and Gholamrezaee, 2012). همچنین، گزارش شده که استفاده از کیتوزان در کشت‌های سوسپانسیون سلولی باعث افزایش linalool می‌شود (Putalun *et al.*, 2007). کاربرد کیتوزان به‌عنوان یک محرک گیاهی می‌تواند موجب تحریک سنتز و افزایش قابل ملاحظه متابولیت‌های ثانویه در گیاهان گردد (Kang *et al.*, 2004; Sheikha and Al-Malki, 2009). گزارش شده است که کاربرد کیتوزان منجر به افزایش ۱۲ پلی‌فنول در گیاه پونه (*Mentha pulegium* L.) گردید و به نظر می‌رسد افزایش در پلی‌فنول‌ها به علت تحریک آنزیم‌های بیوسنتزی از قبیل فنیل آلانین آمونیالیاز و چالکون سنتتاز پلی‌فنل باشد (Heng *et al.*, 2012). آزمایش دیگری مشخص کرد که کاربرد کیتوزان منجر به افزایش ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه آویشن دنایی گردید (Emami Bistgani *et al.*, 2017).

قاسمی-پیربلوطی (Ghasemi-Pirbalouti, 2014) بیان داشت محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید اثرات قابل توجهی بر ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس آویشن دنایی (*Thymus daenensis*) مانند carvacrol، α-thujene، α-pinene و p-cymene دارد. تاثیر محلول‌پاشی

سالیسیلیک اسید (۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بر افزایش مقدار linalool توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (Rowshan *et al.*, 2010). بهبود محتوای اسانس با استفاده از محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید ممکن است به‌دلیل افزایش رشد چرخه، جذب عناصر غذایی یا تغییر در جمعیت غده روغن برگ و بیوسنتز مونوترپن‌ها باشد (Idrees *et al.*, 2010).

درصد اسانس

بادرنجبویه علی‌رغم رایحه مشخص آن، حاوی مقادیر نسبتاً کمی اسانس است. محتوای اسانس به‌طورکلی در مرحله برداشت گل بیشتر بود که در تحقیقات قبلی نیز گزارش شده است (Böttcher *et al.*, 2000). اثر متقابل مرحله برداشت و محلول‌پاشی از نظر آماری بر درصد اسانس معنی‌دار بود (جدول ۷). درصد اسانس در مرحله برداشت رویشی بین ۰/۰۷ تا ۰/۰۹ درصد و در مرحله برداشت گلدهی بین ۰/۳۰ و ۰/۵۲ درصد بود. بیشترین مقدار اسانس (۰/۵۲ درصد) از مرحله برداشت گلدهی با محلول‌پاشی ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوزان ثبت شد (جدول ۷). درصد اسانس به‌دست آمده از آزمایش حاضر با مقادیر گزارش شده در تحقیقات گذشته قابل مقایسه است (Avci and Giachino, 2016; Russo and Honermeier, 2017). در مرحله برداشت رویشی بین تیمارهای محلول‌پاشی از لحاظ درصد اسانس تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۷). کیتوزان و سالیسیلیک اسید منجر به افزایش درصد اسانس بادرنجبویه شدند. گزارش شده است که کیتوزان در تحریک تولید متابولیت‌های ثانویه مانند آلکالوئیدها، فلاونوئیدها و پارانوئید مؤثر است (Namdeo, 2007). کیتوزان در افزایش میزان کلروفیل و فتوسنتز گیاهان نقش دارد و با ایجاد کلروپلاست یک عنصر تحریک کننده در گیاه است (Limpanavech *et al.*, 2008). افزایش ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها در گیاه پونه کوهی (*Origanum vulgare*) که با کیتوزان تیمار شده‌اند نیز گزارش شده است (Yin *et al.*, 2012). همچنین، بیان شده است که با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید از صفر به ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر، درصد روغن ضروری گیاه*Salvia macrosiphon* از ۰/۲۳ درصد به ۰/۴۸ درصد افزایش یافته است.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که استفاده از محلول‌پاشی کیتوزان و سالیسیلیک اسید باعث بهبود صفات مورفولوژیک و تولید زیست توده در گیاه بادرنجبویه گردید. میزان ترکیبات اسانس بادرنجبویه (به جز caryophyllene oxide، z-citral و e-citral) در مرحله برداشت گلدهی، به طور قابل توجهی بالاتر از مرحله برداشت رویشی بود. همچنین، محلول‌پاشی کیتوزان نسبت به سالیسیلیک اسید در افزایش میزان ترکیبات اسانس بادرنجبویه مؤثرتر بود. محتوای اسانس در مرحله برداشت رویشی بین ۰/۰۷ و ۰/۰۹ درصد و در مرحله برداشت گلدهی بین ۰/۳ و ۰/۵۲ درصد متغیر بود. بیشترین مقدار اسانس (۰/۵۲ درصد) از مرحله برداشت گلدهی با محلول‌پاشی ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوزان به‌دست آمد. نتایج نشان داد که سالیسیلیک اسید و کیتوزان هر دو از پتانسیل بالایی در تولید زیست توده و افزایش ترکیبات شیمیایی اسانس در گیاه بادرنجبویه برخوردار هستند.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی-شیمیایی خاک و خصوصیات آب محل انجام آزمایش

Table 1- Soil physico-chemical properties and water characteristics of experimental site

مشخصات خاک Soil properties	مقادیر Values	مشخصات آب Water properties	مقادیر Values
هدایت الکتریکی EC ($dS.m^{-1}$)	2.65	هدایت الکتریکی EC ($dS.m^{-1}$)	2.8
اسیدیته اشباع خاک pH	7.2	اسیدیته اشباع خاک pH	7
ماده آلی Organic matter (%)	0.45	یون کلسیم Ca^{2+} ($mequiv.\ l^{-1}$)	11
نیتروژن Nitrogen (%)	0.07	یون منیزیم Mg^{2+} ($mequiv.l^{-1}$)	10
فسفر Phosphorus (ppm)	10.9	یون سدیم Na^{+} ($mequiv.l^{-1}$)	6.9
پتاسیم Potassium (ppm)	202	نسبت جذب سدیم Sodium adsorption ratio	3.2
بافت خاک *Soil texture*	Loam-clay	یون کلر Cl^{-} ($mequiv.l^{-1}$)	16

جدول ۲- تجزیه واریانس شاخص کلروفیل، پارامترهای مورفولوژیکی و تولید ماده خشک گیاه بادرنجبویه در پاسخ به تیمار محلول‌پاشی

Table 2- Variance analysis of chlorophyll index, morphological parameters and dry matter production of lemon balm in response to foliar application

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df	شاخص کلروفیل Chlorophyll index	ارتفاع بوته Plant height	طول برگ Leaf length	عرض برگ Leaf width	تعداد شاخه Number of branches	تعداد شاخه جانبی Number of lateral branches
محلول‌پاشی Foliar application	8	75.147^{**}	10.535^{**}	0.108^{ns}	0.166^{**}	0.446^{ns}	4.325^{*}
خطا Error	18	1.095	1.033	0.063	0.031	0.237	1.433
ضریب تغییرات C.V. (٪)		3.8	4.8	8.5	8.07	19.5	22.5

ns، ** و * به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

ns, ** and *: non significant and significant at the 1% and 5% probability levels, respectively

ادامه جدول ۲-

Table 2- Continued

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df	تعداد گره Number of nodes	تعداد برگ Number of leave	وزن خشک برگ Leaf dry weight	وزن خشک شاخه branches dry weight	وزن خشک اندام های هوایی بوته dry weight of aerial parts of plant
محلول‌پاشی Foliar application	8	2.08^{**}	547.63^{*}	0.421^{**}	0.019^{*}	0.435^{*}
خطا Error	18	0.419	167.5	0.096	0.0078	0.132
ضریب تغییرات C.V. (٪)		5.76	23.8	17.4	22.4	16.80

ns، ** و * به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

ns, ** and *: non significant and significant at the 1% and 5% probability levels, respectively

جدول ۳- شاخص کلروفیل، پارامترهای مورفولوژیکی و تولید ماده خشک گیاه بادرنجبویه تحت تأثیر تیمار محلول پاشی

Table 3- Chlorophyll index, morphological parameters and dry matter production of lemon balm as influenced by foliar application

محلول پاشی Foliar application		شاخص کلروفیل Chlorophyll index (Spad)	ارتفاع بوته Plant height (cm)	عرض برگ Leaf width (cm)	تعداد شاخه جانبی Number of lateral branches	تعداد گره Number of nodes	تعداد برگ Number of leave	وزن خشک برگ Leaf dry weight ($g.plant^{-1}$)	وزن خشک شاخه branches dry weight ($g.plant^{-1}$)	وزن خشک اندام های هوایی بوته dry weight of aerial parts ($g.plant^{-1}$)
شاهد Control		20.20^{e}	19.35^{d}	1.99^{d}	3.60^{b}	10.0^{d}	43.1^{b}	1.300^{d}	0.310^{c}	1.666^{d}
سالیسیلیک اسید Salicylic acid	50 $mg.L^{-1}$	22.00^{d}	19.83^{d}	2.03^{cd}	4.67^{ab}	10.6^{cd}	55.6^{b}	1.476^{cd}	0.366^{bc}	1.753^{cd}
	100 $mg.L^{-1}$	23.50^{cd}	19.56^{d}	1.98^{d}	6.40^{a}	11.6^{ab}	53.3^{b}	1.430^{cd}	0.333^{bc}	1.856^{bcd}
	150 $mg.L^{-1}$	24.11^{c}	20.12^{cd}	2.04^{cd}	6.30^{a}	11.4^{ab}	56.6^{b}	1.870^{bc}	0.390^{bc}	2.243^{bcd}
	200 $mg.L^{-1}$	28.00^{b}	20.95^{cd}	2.00^{d}	6.65^{a}	12.2^{a}	57.9^{b}	1.910^{bc}	0.323^{bc}	2.266^{bcd}
کیتوزان Chitosan	50 $mg.L^{-1}$	28.50^{b}	19.36^{d}	2.26^{bcd}	3.60^{b}	10.5^{cd}	48.4^{b}	1.580^{cd}	0.380^{bc}	2.046^{bcd}
	100 $mg.L^{-1}$	28.06^{b}	21.62^{bc}	2.33^{abc}	4.60^{ab}	10.6^{cd}	46.1^{b}	1.796^{bcd}	0.400^{bc}	2.270^{bcd}
	150 $mg.L^{-1}$	34.39^{a}	24.65^{a}	2.48^{ab}	5.75^{a}	12.0^{a}	45.0^{b}	2.113^{ab}	0.466^{ab}	2.423^{ab}
	200 $mg.L^{-1}$	34.03^{a}	23.19^{ab}	2.60^{a}	6.10^{a}	12.2^{a}	81.6^{a}	2.490^{a}	0.570^{a}	2.880^{a}

حروف مشترک بیان کننده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون دانکن است.

Means followed by the same letters are not significantly different using Duncan's test at (P≤%5).

جدول ۴- تجزیه واریانس ترکیبات اسانس گیاه بادرنجبویه در پاسخ به تیمارهای محلول‌پاشی و مرحله برداشت

Table 4- Variance analysis of essential oil compounds in lemon balm in response to foliar application and harvest stage

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df	Caryophyllene oxide	Linalool	Citronellal	Z-Citral	E-Citral	Caryophyllene	Carvacrol	α-Pinene	Geraniol
محلول پاشی Foliar application	8	0.321^{ns}	0.56^{**}	16.20^{**}	8.09^{**}	52.97^{**}	1.11^{**}	1.62^{**}	0.04^{**}	13.36^{**}
مرحله برداشت Harvest stage	1	22.52^{**}	0.48^{**}	3.94^{**}	208.66^{**}	400.44^{**}	200.76^{**}	155.82^{**}	0.09^{**}	17.42^{**}
اثر متقابل Interaction	8	0.186^{ns}	0.017^{ns}	60.06^{**}	3.69^{**}	24.98^{**}	0.384^{**}	0.92^{**}	0.01^{**}	1.55^{**}
خطا Error	36	0.10	0.03	0.10	0.16	0.70	0.06	0.14	0.001	0.22
ضریب تغییرات (٪) C.V.		17.5	20.3	11.7	21.8	13.4	18.4	14.8	17.5	19.6

** و * به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

ns, ** and *: non significant and significant at the 1% and 5% probability levels, respectively

جدول ۵- ترکیبات اسانس گیاه بادرنجبویه تحت تأثیر تیمارهای مرحله برداشت و محلول پاشی

Table 5- Essential oil compounds of lemon balm as influenced by harvest stage and foliar application

تیمارهای آزمایش Experimental treatments			Caryophyllene oxide	Linalool
			(%)	
مرحله برداشت Harvest stage	رویشی	Seedling	10.21[a]	0.67[b]
	گلدهی	Flowering	8.91[b]	0.86[a]
محلول پاشی Foliar application ($mg.L^{-1}$)	شاهد	Control	9.295[a]	0.51[e]
	سالیسلیک اسید Salicylic acid	50	9.485[a]	0.60[d]
		100	9.675[a]	0.61[d]
		150	9.79[a]	0.86[c]
		200	9.115[a]	1.04[b]
	کیتوزان Chitosan	50	9.565[a]	0.57[ed]
		100	9.625[a]	0.61[d]
		150	9.8[a]	0.83[c]
		200	9.73[a]	1.45[a]

حروف مشترک بیان کننده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون دانکن است.

Means followed by the same letters are not significantly different using Duncan's test at (P≤%5).

جدول ۶- ترکیبات اسانس گیاه بادرنجبویه تحت تأثیر اثر متقابل تیمارهای مرحله برداشت و محلول پاشی

Table 6- Essential oil compounds of lemon balm as influenced by harvest stage and foliar application interaction

مرحله برداشت Harvest stage	محلول پاشی Foliar application ($mg.L^{-1}$)		Citronellal	Z-Citral	E-Citral	Caryophyllene	Carvacrol	α-Pinene	Geraniol
			(%)						
رویشی Seedling	شاهد	Control	3.73 [e]	20.36 [b]	22.52 [c]	1.59 [f]	1.90 [d]	0.1 [f]	12.13 [i]
	سالیسلیک اسید Salicylic acid	50	3.75 [e]	20.46 [b]	29.12 [a]	1.62 [ef]	1.94 [d]	0.1 [f]	12.22 [i]
		100	3.43 [e]	20.50 [b]	29.16 [a]	1.64 [ef]	2.01 [d]	0.1 [f]	13.30 [gh]
		150	3.43 [e]	20.41 [b]	29.28 [a]	1.85 [def]	2.01 [d]	0.14 [def]	14.03 [fg]
		200	4.61 [d]	21.68 [a]	29.88 [a]	2.14 [d]	2.07 [d]	0.26 [b]	15.21 [cd]
	کیتوزان Chitosan	50	3.52 [e]	20.22[bc]	26.15 [b]	1.59 [f]	2.01 [d]	0.1 [f]	13.14 [h]
		100	3.83 [e]	21.78 [a]	28.97 [a]	1.62 [ef]	2.02 [d]	0.1 [f]	14.20 [ef]
		150	3.87 [e]	21.86 [a]	29.18 [a]	2.00 [de]	2.22 [d]	0.1 [f]	15.47 [bcd]
		200	5.93 [c]	21.56 [a]	29.46 [a]	2.18 [d]	2.34 [d]	0.15 [def]	15.72 [bc]
گلدهی Flowering	شاهد	Control	2.41 [f]	16.57 [f]	18.66 [d]	5.12 [c]	4.97 [c]	0.13 [ef]	13.75 [fgh]
	سالیسلیک اسید Salicylic acid	50	2.55 [f]	13.63 [h]	18.84 [d]	5.22 [c]	5.00 [c]	0.15 [def]	13.81 [fgh]
		100	2.59 [f]	16.70 [f]	26.41 [b]	5.34 [bc]	5.01 [c]	0.14 [def]	13.72 [fgh]
		150	5.60 [c]	17.82 [e]	26.43 [b]	5.63 [b]	5.05 [c]	0.23 [bc]	15.11 [cd]
		200	7.62 [b]	18.56 [d]	26.61 [b]	6.74 [a]	6.21 [b]	0.32 [a]	15.39 [bcd]
	کیتوزان Chitosan	50	2.57 [f]	15.27 [g]	16.87 [e]	5.22 [c]	4.95 [c]	0.16 [de]	13.72 [fgh]
		100	2.62 [f]	16.68 [f]	17.75 [de]	5.30 [bc]	5.11 [c]	0.17 [de]	14.92 [de]
		150	5.79 [c]	18.55 [d]	26.36 [b]	5.51 [bc]	5.16 [c]	0.19 [cd]	16.02 [b]
		200	9.23 [a]	19.67 [c]	26.75 [b]	6.84 [a]	7.64 [a]	0.33 [a]	19.22 [a]

حروف مشترک بیان کننده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون دانکن است.

Means followed by the same letters are not significantly different using Duncan's test at (P≤%5).

جدول ۷- درصد اسانس گیاه بادرنجبویه تحت تأثیر اثر متقابل تیمارهای مرحله برداشت و محلول‌پاشی

Table 7- Essential oil percentage of lemon balm as influenced by harvest stage and foliar application interaction

مرحله برداشت Harvest stage	محلول پاشی Foliar application ($mg.L^{-1}$)		درصد اسانس Essential Oil (%)
رویشی Seedling	شاهد Control		0.07 [d]
	سالیسلیک اسید Salicylic acid	50	0.07 [d]
		100	0.08 [d]
		150	0.09 [d]
		200	0.08 [d]
	کیتوزان Chitosan	50	0.09 [d]
		100	0.08 [d]
		150	0.09 [d]
		200	0.09 [d]
گلدهی Flowering	شاهد Control		0.30 [c]
	سالیسلیک اسید Salicylic acid	50	0.31 [c]
		100	0.29 [c]
		150	0.36 [c]
		200	0.43 [b]
	کیتوزان Chitosan	50	0.29 [c]
		100	0.31 [c]
		150	0.41 [b]
		200	0.52 [a]

حروف مشترک بیان کننده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون دانکن است.

Means followed by the same letters are not significantly different using Duncan's test at (P≤%5).

References منابع مورد استفاده

- Abd EL-Gawad, H.G., and A.M. Bondok. 2015. Response of tomato plants to salicylic acid and chitosan under infection with tomato mosaic virus. *Journal of Agriculture and Environmental Sciences*. 15: 1520-1529.
- Abdel-Mawgoud, A.M.R., A.S. Tantawy, M.A. El-Nemr, and Y.N. Sassine. 2010. Growth and yield responses of strawberry plants to chitosan application. *European Journal of Scientific Research*. 39(1): 170-171.
- Avci, A.B., and R.R.A. Giachino. 2016. Harvest stage effects on some yield and quality characteristics of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). *Industrial Crops and Products*. 88: 23-27.
- Ayanoglu, F., M. Arslan, and A. Hatay. 2005. Effects of harvesting stages, harvesting hours and drying methods on essential oil content of lemon balm grown in Eastern Mediterranean. *International Journal of Botany*. 1(2): 138-142.
- Bakkali, F., S. Averbeck, D. Averbeck, and M. Idaomar. 2008. Biological effects of essential oils–a review. *Food and Chemical Toxicology*. 46(2): 446-475.
- Barka, A.E., P. Eullaffroy, C. Clement, and G. Vernet. 2004. Chitosan improves development, and protects *Vitis vinifera* L. against Botrytis cinereal. *Plant Cell Reports*. 22(8): 608-614.
- Basta, A., O. Tzakou, and M. Couladis. 2005. Composition of the leaves essential oil of *Melissa officinalis* from Greece. *Flavour and Fragrance Journal*. 20(6): 642-644.
- Bideshki, A., and M.J. Arvin. 2010. Effect of salicylic acid (SA) and drought stress on growth, bulb yield and allicin content of garlic (*Allium sativum*) in field. *Journal of Plant Ecophysiology*. 2: 73-79. (In Persian).
- Boonlertnirun, S., C. Boonraung, and R. Suvanasara. 2008. Application of chitosan in rice production. *Journal of Metals, Materials and Minerals*. 18(2): 47-52.
- Böttcher, H., I. Günther, and R. Franke. 2000. Physiological postharvest response of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). *Journal of Medicinal and Spice Plants*. 5: 145-153.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- A Review. *International Journal of Food Microbiology*. 94(3): 223-253.
- Capecka, E., A. Mareczek, and M. Leja. 2005. Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some Lamiaceae species. *Food Chemistry*. 93(2): 223-226.
- Chibu, H., and H. Shibayama. 2001. Effects of chitosan applications on the growth of several crops. In: Uragami Kurita, K., Fukamizo, T. (eds.), Chitin and Chitosan in Life Science. Yamaguchi. Pp. 235–239.
- Chookhongkha, N., S. Miyagawa, Y. Jirakiattikul, and S. Photchanachai. 2012. Chili growth and seed productivity as affected by chitosan; Proceedings of the International Conference on Agriculture Technology and Food Sciences (ICATFS'2012); Manila, Philippines. 17–18 November; pp. 146-149.
- Devlieghere, F., A. Vermeulen, and J. Debevere. 2004. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology*. 21(6): 703-714.
- Dzung, N.A., and N.T. Thang. 2004. Effect of oligoglucosamine on the growth and development of peanut (*Arachis hypogea* L.). In Khor, E. Hutmacher, D. Yong,

L.L. (Eds.), Proceedings of the 6th Asia- Pacific on Chitin, Chitosan Symposium Singapore.

- Dzung, N.A., V.T. Phuong khanh, and T.T. Dzung. 2011. Research on impact of chitosan oligomers on biophysical characteristics, growth, development and drought resistance of coffee. *In Carbohydrate Polymers*. 84: 751-755.
- 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.
- Farooq, M, A. Wahid, D.J. Lee, S.A. Cheema, and T. Aziz. 2010. Comparative time course action of the foliar applied glycinebetaine, salicylic acid, nitrous oxide, brassinosteroids and spermine in improving drought resistance of rice. *Journal of Agriculture Crop Science*. 196: 336-345.
- Farouk, S., K.M. Ghoneem, and A.A. Abeer. 2008. Induction and expression of systematic resistance to downy mildew disease in cucumber plant by elicitors. *Egyptian Journal of Phytopathology*. 1: 95-111.
- Gharib, F.A.E. 2006. Effect of salicylic acid on the growth, metabolic activities and oil content of basil and marjoram. *International Journal of Agriculture and Biology*. 8(4): 485-492.
- Ghasemi, M., K. Arzani, A. Yadollahi, S. Ghasemi, and S. Sarikhani khorrami. 2011. Estimate of leaf chlorophyll and nitrogen content in Asian Pear (*Pyrus serotina* Rehd.) by CCM-200. *Notulae Scientia Biologica*. 3(1):91-94.
- Ghasemi-Pirbalouti, A., M. Rahmani-Samani, M. Hashemi, and H. Zeinali. 2014. Salicylic acid affects growth, essential oil and chemical compositions of thyme (*Thymus daenensis* Celak.) under reduced irrigation. *Plant Growth Regulation*. 72(3): 289-301.
- Ghoname, A.A., M.A. EL-Nemr, A.M.R. Abdel-Mawgoud, and W.A. El-Tohamy. 2010. Enhancement of sweet pepper crop growth and production by application of biological, organic and nutritional solutions. *Research Journal of Agriculture and Biological Science*. 6(7): 349- 355.
- Guan, Y.J., J. Hu, X.J. Wang, and C.X. Shao. 2009. Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. *Journal of Zheijang University Science B.* 10: 427-433.
- Gupta, A., and N. Kaur. 2005. Sugar signaling and gene expression in relation to carbohydrate metabolism under abiotic stress in plant. *Journal of Bioscience.* 30: 761-776.
- Hawrylak-Nowak, B., S. Dresler, K. Rubinowska, and R. Matraszek-Gawron. 2020. Eliciting effect of foliar application of chitosan lactate on the phytochemical properties of *Ocimum basilicum* L. and *Melissa officinalis* L. *Food Chemistry*. 342: 1-34.
- Heng, Y., C. Xavier, F. Lars, P. Chritensen, and G. Kai. 2012. Chitosan oligosaccharides promote the content of polyphenol in Greek Oregano (*Origanum vulgare* ssp. Hirtum). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 60: 136-143.

- Idrees, M., M.M.A. Khan, T. Aftab, M. Naeem, and N. Hashmi. 2010. Salicylic acid-induced physiological and biochemical changes in lemongrass varietiesunder water stress. *Journal of Plant Interactions*. 5(4): 293-303.
- Kang, S.M., H.Y. Jung, Y.M. Kang, D.J. Yun, J.D. Bahk, J.K. Yang, and M.S. Choi. 2004. Effects of methyl jasmonate and salicylic acid on the production of tropane alkaloids and the expression of PMT and H6H in adventitious root cultures of Scopolia parviflora. *Plant Science*. 166: 745-751.
- Khajeh. H., and S. Naderi. 2014. The effect of chitosan on some antioxidant enzymes activity and biochemictry characterization in melissa (*Melissa officinalis*). *Research Journal of Crop Science in Arid Area*. 1: 100-116. (In Persian).
- Kim, H.J., F. Chen, X. Wang, and N.C. Rajapakse. 2005. Effect of chitosan on the biological properties of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(9): 3696-3701.
- Kováčik, J., J. Grúz, M. Bačkor, M. Strnad, and M. Repčák. 2009. Salicylic acid-induced changes to growth and phenolic metabolism in *Matricaria chamomilla* plants. *Plant Cell Reports*. 28(1): 135-143.
- Limpanavech, P., S. Chaiyasuta, R. Vongpromek, R. Pichyangkura, C. Khunwasi, S. Chadchanwan, P. Lotrakul, R. Bunjongrat, A. Chaidee, and T. Bangyeekhun. 2008. Effect of chitosan on floral production, gene expression and anatomical changes in the Dendrobium orchid. *Science Horticulture*. 116: 65-72.
- Luan, L.Q., V.T.T. Ha, N. Nagasawa, T. Kume, F. Yoshii, and T.M. Nakanishi. 2005. Biological effect of irradiated chitosan on plants in vitro. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 41(1): 49-57.
- Mathur, N., and A. Vyas. 2007. Physiological effect of some bioregulators on vegetative growth, yield and chemical constituents of pearl millet (*Pennisetum typhoides* (Burm) Stapf. and Hubb). *International Journal of Agricultur Research*. 2(3): 238-245.
- Meftahizade, H., E. Sargsyan, and H. Moradkhani. 2010. Investigation of antioxidant capacity of *Melissa officinalis* L. essential oils. *Journal of Medicinal Plant Research*. 4(14): 1391-1395.
- Mondal, M.M., M.A. Malek, A.B. Puteh, M.R. Ismail, and M. Ashrafuzzaman. 2012. Effect of foliar application of chitosan on growth and yield in okra. *Australian Journal of Crop Science.* 6(5): 918-921.
- Moradkhani, H., E. Sargsyan, H. Bibak, B. Naseri, M. Sadat-Hosseini, Barjin, A. Fayazi, and H. Meftahizade. 2010. *Melissa officinalis* L., a valuable medicine plant: A Review. *Journal of Medicinal Plant Research*. 4(25): 2753-2759.
- Namdeo, A.G. 2007. Plant cell elicitation for production of secondary metabolites :A Review. *Pharmacognosy Reviews*. 1(1): 69-79.
- Nourafcan, H. 2019. Effect of chitosan on physiological and morphological traits of lemon verbena (*Lippia citriodora* L.) under *invitro* and field conditions. *Journal of Crop Ecophyslology.* 1(49): 73-86.
- Pastírová, A., M. Repčák, and A. Eliašová. 2004. Salicylic acid induces changes of coumarin metabolites in *Matricaria chamomilla* L. *Plant Science*. 167(4): 819-824.

- Putalun, W., W. Luealon, W. De-Eknamkul, H. Tanaka, and Y. Shoyama. 2007. Improvement of artemisinin production by chitosan in hairy root cultures of *Artemisia annua* L. *Biotechnology Letters*. 29(7): 1143-1146.
- Roller, S., and N. Covill. 2000. The antimicrobial properties of chitosan in mayonnaise and mayonnaise-based shrimp salads. *Journal of Food Protection*. 63(2): 202-209.
- Rowshan, V., M. Khosh-Khoi, and K. Javidnia. 2010. Effects of salicylic acid on quality and quantity of essential oil components in *Salvia macrosiphon*. *Journal of Biological and Environmental Sciences*. 4(11): 77-82.
- Russo, M., and B. Honermeier. 2017. Effect of shading on leaf yield, plant parameters, and essential oil content of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 7: 27-34.
- Saeb, K., and S. Gholamrezaee. 2012. Variation of essential oil composition of *Melissa officinalis* L. leaves during different stages of plant growth. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2(2): 547- 549.
- Saglam, C., I. Atakisi, H. Turhan, S. Kaba, F. Arslanoglu, and F. Onemli. 2004. Effect of authenaticity, production and pharmalogical activity. *International Journal of Aromatherapy.* 10: 7-15.
- Sheikha, S.A.A.K., and F.M. AL-Malki. 2009. Growth and chlorophyll responses of bean plants to the chitosan applications. *European Journal of Scientific Research*. 50: 124-134.
- Sofy, A.R., R.A. Dawoud, M.R. Sofy, H.I. Mohamed, A.A. Hmed, and N.K. El-Dougdoug. 2020. Improving regulation of enzymatic and non-enzymatic antioxidants and stress-related gene stimulation in cucumber mosaic cucumovirus-infected cucumber plants treated with glycine betaine, chitosan and combination. *Molecules*. 25: 2341.
- Uyanik, M., and B. Gurbuz. 2014. Chemical diversity in essential oil compositions of leaf, herb and flower in lemon balm (*Melissa officinalis* L.). *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences*. 1(2): 210-214.
- Vasconsuelo, A., and R. Boland. 2007. Molecular aspects of the early stages of elicitation of secondary metabolites in plants. *Plant Science*. 172(5): 861-875.
- Yin, H., X.C. Fretté, L.P. Christensen, and K. Grevsen. 2012. Chitosan oligosaccharides promote the content of polyphenols in Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. hirtum). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60(1): 136-143.
- Zeng, D., and X. Luo. 2012. Physiological effects of chitosan coating on wheat growth and activities of protective enzyme with drought tolerance. *Journal of Soil Science.* 2(3): 282-288.

Research Article DOI: 10.30495/JCEP.2021.1927610.1791

Effect of Foliar Application of Chitosan and Salicylic Acid on Morphological Traits and Essential Oil Quality of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.)

Negin Safari Kamal Abadi[1], Nasser Mohebalipour[2]*, Mehdi Oraei[1], Hasan Nourafcan[1] and Asad Asadi[3]

Received: April 2021 , Revised: 18 July 2021, Accepted: 2 August 2021

Abstract

Lemon balm is an aromatic and perennial bushy plant with interesting pharmacological and biological properties, which extensively distributed in the Mediterranean region and Asia. The effects of salicylic acid (50, 100, 150 and 200 $mg.L^{-1}$) and chitosan (50, 100, 150 and 200 $mg.L^{-1}$) foliar application on plant parameters, essential oil and chemical compositions of lemon balm at two different harvest stages (seedling and flowering) were evaluated. The results showed that the highest values of chlorophyll index obtained from foliar application of 150 and 200 mg/L chitosan. Application of chitosan (all concentration levels except 50 $mg.L^{-1}$) significantly improved the plant height of lemon balm compared with the control. Leaf and dry weight of aerial parts per plant increased with increasing in salicylic acid and chitosan concentrations. The essential oil compounds of lemon balm (citronellal, caryophyllene, linalool, carvacrol, α-pinene, geraniol) at flowering harvest stage were significantly higher than the seedling harvest stage. Foliar application of chitosan was more effective than salicylic acid in increasing essential oil compounds of lemon balm. The essential oil content ranged between 0.07% and 0.09% in the seedling harvest stage and between 0.30% and 0.52% in the flowering harvest stage. The highest value of essential oil (0.52%) was recorded from the flowering harvest stage with foliar application of 200 $mg.L^{-1}$ chitosan. The findings of the current study showed that both elicitors possess strong potential in biomass production and enhancement of essential oil compounds in lemon balm.

Key words: Biomass production, Biostimulants, Chlorophyll index, Essential oil, Lemon balm.

1- Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Miyaneh Branch, Islamic Azad University, Miyaneh, Iran.
2- Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Miyaneh Branch, Islamic Azad University, Miyaneh, Iran.
3- Department of Veterinary Medicine, Miyaneh Branch, Islamic Azad University, Miyaneh, Iran.
**Corresponding Author: n.mohebalipour@gmail.com*