Eco–phytochemical
Journal of Medicinal Plants
Print ISSN: 2322-3235
Online ISSN: 2783-4697
Islamic Azad University
Gorgan Branch
Iranian Society
of Medical Plants

The effect of foliar application of chitosan and shrimp shell powder on photosynthetic pigments, some growth parameters and essential oil of the medicinal plant *Hyssopus officinalis*

Fatemeh Khosheghbal Ghorabaee[*1], Abdollah Ghasemi Pirbalouti[2], Shekoofeh Enteshari[1], Seyed Javad Davarpanah[3]

[1] Dearptment of Biology, Faculty of Science, Payame Noor University, Tehran, Iran, Email: khosheghbalf@yahoo.com,
[2] Research Center for Medicinal Plants, Shahr-e- Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[3] Applied Biotechnology Research Center, Baqiyatullah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Article type:
Research article

Article history
Received: 20-8-2023
Revised: 17-9-2023
Accepted: 24-10-2023

Keywords
Chitosan
Essential oil
Hyssopus officinalis
Shrimp shell

Abstract

One of the methods to increase the secondary metabolites production in plants is to use elicitors and chitosan is a biotic elicitor obtained from the deacetylation of chitin in the outer shell of crustaceans such as shrimp. Shrimp shell is part of shrimp solid waste discarded in large amount every year. This research was carried out to investigate the effect of foliar application of chitosan elicitor (0.25 and 0.5 g/l) and shrimp shell powder (2.5 and 5 g/L) on medicinal plant *Hyssopus officinalis* in potted form at the Experimental Farm of Islamic Azad University, Shahre-kord Branch during spring to fall in 2017. The essential oils were obtained from aerial part of hyssop by Clevenger device. The essential oils were analyzed by GC-FID and GC/MS. Totally, 33 compounds وrepresenting more than 89-95% of the oil composition, were identified. The predominant components of the essential oil in all treatments were cis-pinocamphon (43.19-55.09%) and beta-pinene (8.31-15.04%). Foliar application of chitosan, shrimp shell, and shrimp shell × chitosan increased the percentage of essential oil and cis-pinocamphon, but only the effect of chitosan 0.5 was statistically significant. Chitosan treatments decreased plant height, shoot fresh and dry weight, chlorophyll *a,* chlorophyll *b* and total chlorophyll of hyssop but shrimp shell and chitosan × shrimp shell solutions increased them, although no one was significant. According to the results of this study, it seems that in addition to chitosan, shrimp shell with higher concentrations can be used to increase effective substances of the medicinal plant *Hyssop*us *officinalis*.

Cite this article as: Khosheghbal Ghorabaee, F., Ghasemi Pirbalouti, A., Enteshari, Sh., Davarpanah, S.J. (2023). The effect of foliar application of chitosan and shrimp shell powder on photosynthetic pigments, some growth parameters and essential oil of the medicinal plant *Hyssopus officinalis*. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants.,* 11(4): 16-29.

©The author(s)
Doi:
Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch
Dor:

اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی
شاپا چاپی: ۲۳۲۲-۳۲۳۵
شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳-۴۶۹۷
دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان
انجمن گیاهان دارویی ایران ثبت ۱۸۹۶۳

اثر محلول پاشی برگی کیتوزان و پودر پوست میگو بر رنگدانه‌های فتوسنتزی، برخی شاخص‌های رشد و اسانس گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis*)

فاطمه خوش اقبال قرابایی[۱*]، عبداله قاسمی پیربلوطی[۲]، شکوفه انتشاری[۱]، سیدجواد داورپناه[۳]

[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران، رایانامه: khosheghbalf@yahoo.com,
[۲] مرکز پژوهش‌های تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، واحد شهر قدس، ایران
[۳] مرکز تحقیقات زیست فناوری کاربردی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌اله(عج)، تهران، ایران

نوع مقاله:
مقاله پژوهشی

تاریخ ارسال: ۱۴۰۲/۵/۲۹
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۶/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۸/۲

واژه‌های کلیدی:
اسانس
پوست میگو
زوفا
کیتوزان

چکیده

یکی از راه‌های افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان استفاده از الیسیتورها است. کیتوزان یک الیسیتور زیستی است که از استیل زدایی کیتین موجود در پوسته خارجی سخت پوستانی مثل میگو به دست می‌آید. پوست میگو بخشی از ضایعات جامد میگو را تشکیل داده و سالانه مقدار زیادی از آن دور ریخته می‌شود. این پژوهش به منظور بررسی اثر محلول پاشی کیتوزان با غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم در لیتر و پودر پوست میگو با غلظت‌های ۲/۵ و ۵ گرم در لیتر بر زوفا (*Hyssopus officinalis*) به‌صورت گلدانی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد، طی بهار تا پاییز ۱۳۹۶ انجام شد. اسانس گیری از اندام‌های هوایی از شروع گلدهی تا ۵۰٪ گلدهی، با استفاده از دستگاه کلونجر و شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس توسط GC-FID و GC/MS صورت گرفت. در کل ۳۳ ترکیب از اسانس زوفا در همه تیمارها شناسایی شد که ۸۹ تا ۹۵ درصد از ترکیب اسانس را تشکیل می داد. ترکیبات غالب اسانس در همه تیمارها سیس پینوکامفون (۵۵/۰۹–۴۳/۱۹ درصد) و بتا پینن (۱۵/۰۴ – ۸/۳۱ درصد) بود. محلول پاشی‌های کیتوزان، پوست میگو و محلول‌های توام پوست میگو و کیتوزان موجب افزایش درصد اسانس و سیس پینوکامفون شدند ولی از نظر آماری تنها اثر کیتوزان ۰/۵ گرم در لیتر معنی دار بود. تیمارهای کیتوزان موجب کاهش ولی پوست میگو و محلول‌های توام کیتوزان × پوست میگو باعث افزایش ارتفاع گیاه، وزن تر و خشک اندام هوایی، کلروفیل a و b و کلروفیل کل شد. با این حال، هیچ کدام به لحاظ آماری معنی دار نبود. با توجه به نتایج این مطالعه، به نظر می‌رسد که علاوه بر کیتوزان از پوست میگو با غلظت‌های بیشتر هم می‌توان برای افزایش مواد موثره گیاه دارویی زوفا استفاده کرد.

استناد: خوش اقبال قرابایی، فاطمه؛ قاسمی پیربلوطی، عبداله؛ انتشاری، شکوفه؛ داورپناه، سیدجواد. (۱۴۰۲). اثر محلول پاشی برگی کیتوزان و پودر پوست میگو بر رنگدانه‌های فتوسنتزی، برخی شاخص‌های رشد و اسانس گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis*). *فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی*، ۱۱ (۴)، ۲۹-۱۶.

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان
© نویسندگان.
Doi:
Dor:

مقدمه

زوفا با نام علمی *Hyssopus officinalis* یکی از پرمصرف ترین گیاهان دارویی در طب سنتی ایران بوده و برای معالجه بسیاری از بیماری ها از جمله برونشیت، سرفه مزمن، آسم و کولیک مورد استفاده قرار میگرفته است (Hamedi, 2016). همچنین در بسیاری از نقاط جهان از آن به عنوان خلط‌آور، بادشکن، ماده ضد التهاب، ضد زکام و ضد اسپاسم در طب سنتی استفاده می‌شود. چای تهیه شده از این گیاه برای اختلالات عصبی و درد دندان موثر است. روغن آن فعالیت ضدمیکروبی، ضداسپاسم ملایم و فعالیت ضدویروسی قوی در برابر HIV نشان می‌دهد. اثرات ضدمیکروبی، ضدقارچی، ضدپروتوزوایی و ضدسرطانی عصاره آن نیز گزارش شده است (Hical and Said-Al Ahl, 2017). زوفا طعم و بویی کاملاً تند و تیز دار دارد، به همین دلیل از آن به عنوان چاشنی و نگهداری مواد غذایی، فراورده‌های گوشتی، سس‌ها، سوپ‌ها، چاشنی‌ها و نوشیدنی‌های الکلی استفاده می‌شود. اسانس آن در صنایع دارویی، عطرسازی، لوازم آرایشی (صابون) و همچنین در رایحه درمانی کاربرد دارد همچنین گیاهی زینتی و جذب کننده زنبور عسل است(Acimovic et al., 2021).

مدیریت کشت و تولید گیاهان دارویی و معطر در بسیاری از موارد با سایر گیاهان زراعی متفاوت است، زیرا هدف اصلی تولید بیشترین میزان ماده مؤثره یا اسانس است (Reddy et al., 2004). یکی از راه‌های افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان استفاده از الیسیتورهای زیستی و غیرزیستی است (Katiyar et al., 2015). کیتوزان یک الیسیتور زیستی است و پلی‌ساکاریدی است که از استیل زدایی کیتین که از ترکیبات اصلی دیواره سلولی برخی از جانوران مانند میگو، خرچنگ، حشرات، پاتوژن‌های گیاهی و میکروارگانیسم‌ها است، به‌دست می‌آید (Akakuru et al., 2018). کیتوزان به‌دلیل زیست تخریب پذیری، غیر سمی بودن و زیست سازگاری، منبعی ایده آل برای کشاورزی پایدار است. این ماده با تاثیر بر فرایندهای فیزیولوژی گیاه مانند جذب مواد مغذی، تقسیم سلولی، افزایش طول سلول، فعال شدن آنزیمی و سنتز پروتیین باعث القای رشد گیاه شده و در نهایت می تواند منجر به افزایش عملکرد شود. مطالعات زیاد نشان داده که محلول پاشی کیتوزان در گیاهان باعث بهبود رشد، عملکرد و سنتز متابولیت‌های ثانویه مانند پلی فنل‌ها، فلاوونوییدها، لیگنین و فیتوآلکسین‌ها در آنها می‌شود. همچنین به عنوان یک محرک پاسخ دفاعی گیاهان ثبت شده و برای مبارزه با بیماری‌های پاتوژنی، قبل و بعد از برداشت مورد استفاده قرار می گیرد(Chakraborty et al., 2020).

در طی فرآوری میگو، تقریبا ٥٠ تا ٦٠ درصد ضایعات جامد به عنوان محصولات جانبی شامل سر، احشاء ، پوست و باقیمانده‌های گوشتی تولید می‌شود. سالانه مقدار زیادی از ضایعات میگو در سراسر جهان تولید می‌شود. ضایعات میگو حاوی گروهی از ترکیبات فعال زیستی مانند کیتین/کیتوزان، پروتئین، کاروتنوییدها، اسیدهای چرب اشباع نشده، α-توکوفرول و مواد معدنی است. مقادیر زیادی از این فراورده‌های جانبی دور ریخته و هدر می رود و در نتیجه باعث از بین رفتن ترکیبات فعال زیستی ارزشمند و افزایش آلودگی محیط زیست می‌شود. در حال حاضر، از ضایعات میگو بیشتر به عنوان خوراک دام استفاده می‌شود و بخشی از ضایعات به ترکیبات زیستی فعال با ارزش مانند کیتین، کیتوزان، کاروتنویید و پروتیین تبدیل می‌شود. هر چند ترکیبات زیستی فعال استخراج شده دارای فعالیت‌های زیستی مختلف و خواص غذایی و دارویی هستند ولی فرایند

استخراج آنها به مواد شیمیایی خطرناک از جمله اسیدها و بازهای قوی نیاز دارد که این فرایند، باز هم زباله‌ها و پساب‌های خطرناکی را به جا می گذارد (Nirmal et al., 2020). استفاده هر چه بیشتر از ضایعات میگو می‌تواند هم از نظر اقتصادی مفید باشد و هم به کاهش آلودگی محیط زیست کمک کند. در مورد اثر محلول پاشی پوست میگو بر گیاهان تاکنون تحقیقی صورت نگرفته و تنها پژوهش‌های بسیار اندکی در مورد کاربرد ضایعات میگو به صورت کود وجود دارد. در این پژوهش، اثر الیسیتور زیستی کیتوزان و پوست میگو بر رشد و خصوصیات فیتوشیمیایی گیاه دارویی زوفا بررسی می‌شود، ممکن است ترکیبات موجود در پوست میگو برای گیاه سودمند بوده یا موجب تقویت اثر کیتوزان گردد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به‌منظور بررسی اثر محلول پاشی کیتوزان و پودر پوست میگو بر روی گیاه دارویی زوفا در بهار ١٣٩٦ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد (اقلیم سرد و نیمه خشک بر اساس روش آمبرژه) انجام شد. این تحقیق به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی، با سه تکرار طراحی و اجرا شد. بذرهای زوفا از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه و در گلدان‌هایی حاوی خاک مزرعه همراه با کود حیوانی پوسیده با نسبت ٣/١ کشت شدند. خصوصیات خاک مورد استفاده در جدول ١ آورده شده است.

جدول ١- مشخصات خاک مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد

بافت خاک	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Zn (mg/kg)	P (mg/kg)	K (mg/kg)	%N	%OC	pH	EC(dS/m)
رس- لومی	٣/٨٢	٩/٢٥	٠/٤٨	٦/٥	٢١٤	٢٣/٥	٠/١١٧	٧/٩٦	١/١٤٣

پس از آماده سازی گلدانها در داخل هر گلدان تعدادی بذر کاشته و بعد از رشد گیاهچه‌ها، طی چند مرحله تنک کردن آنها انجام شد. تا یک ماه پس از کاشت بذرها، گلدان‌ها به طور مساوی آبیاری می‌شدند و بعد از آن تیمارهای محلول پاشی به مدت سه ماه هر ١٥ روز تا زمان ٥٠٪ گلدهی در گلدان‌ها اعمال شد که شامل محلول پاشی کیتوزان با غلظت‌های ٠/٢٥ و ٠/٥ گرم در لیتر و جوشانده پودر پوست میگو با غلظت‌های ٢/٥ و ٥ گرم در لیتر بود. در این پژوهش فقط از پوست میگو بدون باقیمانده‌های گوشتی، دم و بخش سر آن استفاده شد. پوست میگو پس از شستشو با آب مقطر خشک و سپس آسیاب شد. اندام‌های هوایی گیاه یک هفته پس از اعمال آخرین تیمار محلول پاشی برداشت شده و در دمای اتاق به مدت ٢ هفته دور از نور مستقیم آفتاب خشک شدند.

اندازه‌گیری صفات: صفات مختلف مورد نظر، نظیر ارتفاع بوته، وزن تر و خشک در پایان مرحله گل دهی با سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. ارتفاع گیاه با خط کش و وزن تر و خشک اندام هوایی به کمک ترازو با دقت ٠/٠٠١ اندازه‌گیری شد (Malekpoor et al., 2016).

اندازه گیری رنگدانه های فتوسنتزی: برای سنجش میزان کلروفیل و کاروتنویید از روش Porra و همکاران (١٩٨٩) استفاده شد. بر اساس این روش ٠/١ گرم بافت برگ ساییده شده توسط ازت مایع با ١٠ میلی لیتر استون ٨٠ درصد مخلوط و به خوبی همگن شدند. سپس نمونه‌ها به‌مدت ٥ دقیقه با دور ١٥٠٠ گرم سانترفیوژ شد. پس از این مرحله، فاز بالایی را برداشته و شدت جذب آن در طول موج‌های ٤٤٠/٥، ٦٤٦/٦ و ٦٦٣/٦ نانومتر که بالاترین جذب کلروفیل *a*، *b* و کاروتنویید می‌باشد، با استفاده از

اسپکتروفتومتر UV-visible مدل ١٦٠١ خوانده شد. غلظت رنگیزه‌های مورد نظر با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید:

Chl a (µg/ml) = 12.25 A663.6 - 2.55 A646.6
Chl b (µg/ml) = 20.31 A646.6 - 4.91 A663.6
Chl Total (µg/ml) = 17.76 A646.6 + 7.34 A663.6
Car (µg/ml) = 4.69 A440.5 - 0.267 Chl Total

اسانس گیری: برای استخراج اسانس زوفا از روش تقطیر با آب و دستگاه کلونجر استفاده شد (Chang et al., 2002). بدین ترتیب که مقدار ١٠٠ گرم از گیاه خشک زوفا را در بالن ریخته و به آن آب مقطر افزوده شد تا به طور کامل گیاه را بپوشاند. پس از سوار کردن دستگاه کلونجر، به مدت ٣ ساعت اجازه داده شد که گیاه در آب بجوشد. اسانس به دست آمده در ظرفهای مخصوص تا زمان آنالیز در دمای ٢٠- درجه سانتی‌گراد در فریزر نگهداری شد.

تجزیه اسانس: اسانس‌های بدست آمده با دستگاه‌های کروماتوگراف گازی (GC) و گاز کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) ساخت شرکت Agilent آمریکا شناسایی شد.

ستون HP-5MS (پنج درصد قطبی) به طول ٣٠ متر، قطر داخلی ٠/٢٥ میلی متر و ضخامت لایه ساکن ٠/٢٥ میکرومتر برای جداسازی استفاده شد. دمای آون با ٣ دقیقه توقف در ٤٠ درجه سانتی‌گراد، تا ٧٠ درجه سانتی‌گراد با سرعت ٣ درجه سانتی‌گراد در دقیقه با ٥ دقیقه توقف، تا ٢١٠ درجه سانتی‌گراد با سرعت ٧ درجه سانتی‌گراد در دقیقه و در نهایت تا ٢٩٠ درجه سانتی‌گراد با سرعت ٤٠ درجه سانتی‌گراد در دقیقه با ١٠ دقیقه توقف برنامه ریزی شد. دمای دتکتور دستگاه ٣٠٠ درجه سانتی‌گراد و از گاز هلیم با سرعت جریان ١/٢ میلی‌لیتر بر دقیقه به‌عنوان گاز حامل استفاده شد. ولتاژ منبع یونیزاسیون طیف سنج جرمی ٧٠ الکترون ولت، دمای منبع یونیزاسیون ٢٣٠ درجه سانتی‌گراد و دمای چهار قطبی ١٥٠ درجه سانتی‌گراد تنظیم و روش یونیزاسیون EI انتخاب شد. محدوده اسکن طیف‌ها از ٥٠ تا ٥٥٠ دالتون تنظیم شد. جهت شناسایی و تایید طیف‌ها، شاخص بازداری (RI) آنها با استفاده از طیف‌های جرمی مخلوط آلکان‌های نرمال محاسبه شد (Kovats, 1958) و شاخص‌های موجود در کتب مرجع (Adams, 2007) و اطلاعات موجود در کتابخانه‌های Weilly و NIST مورد استفاده قرار گرفت. درصد هر یک از ترکیب‌ها با توجه به سطح زیر منحنی طیف کروماتوگرام دستگاه GC/MS به دست آمد.

محاسبه آماری: کلیه داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS ver. 26، مورد تجزیه آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال ٥٪ با استفاده از آزمون دانکن انجام گرفت.

نتایج

شاخص‌های رشد و رنگدانه‌های فتوسنتزی: تجزیه واریانس و میانگین اثر محلول پاشی کیتوزان، پوست میگو و محلول‌های توام کیتوزان و پوست میگو بر طول ساقه، وزن تر و خشک اندام هوایی و رنگدانه‌های فتوسنتزی زوفا در به‌ترتیب در جدول شماره ٢ و ٣ نشان داده شده است. مقایسه میانگین داده‌ها نشان می‌دهد که محلول پاشی کیتوزان به‌ویژه با غلظت ٠/٥ گرم در لیتر موجب کاهش طول ساقه، وزن تر و خشک اندام هوایی، کلروفیل *a* و *b*، کلروفیل کل و افزایش کاروتنوییدها نسبت به گروه شاهد شد. محلول پاشی پوست میگو و تیمارهای توام کیتوزان و پوست میگو بر همه شاخص‌های مزبور اثر مثبت داشت. با این حال بر اساس آزمون دانکن اثر هیچ یک از تیمارها نسبت به گروه شاهد معنی دار نبود ($P\geq$ ٠/٠٥).

جدول ٢: تجزیه واریانس شاخص‌های رشد و رنگدانه‌های فتوسنتزی زوفا

منابع تغییر (S.O.V)	درجه آزادی (d.f)	میانگین مربعات (M.S)						
		طول ساقه	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	کلروفیل *a*	کلروفیل *b*	کلروفیل کل	کاروتنوییدها
کیتوزان (C)	٢	٠/٥٣٤ n.s	٣/٩٤٤ n.s	٠/٢٧٦ n.s	٠/٠٠١ n.s	٠/١٨٤ n.s	٠/٥٣٨ n.s	٠/١٨٤ n.s
میگو (S)	٢	١٥/٤٣٨ *	٢١/٦٢٧ n.s	١/٢٥٥ n.s	٠/٥٠٤ n.s	٠/٢٠٢ n.s	٠/٩٤٨ n.s	٠/٠١٢ n.s
S × C	٤	٣/٨٠٦ n.s	٣/٥٩١ n.s	٠/٢١٣ n.s	٠/٠٦٠ n.s	٠/٠٦٨ n.s	٠/٤٤٠ n.s	٠/٠٣١ n.s
خطا	١٩٢	٣/٤٢٧	٧/٧٢٦	٠/٥٤٥	٠/٤٢٦	٠/٤٩٥	١/٢٨٨	٠/٢٤٨
ضریب تغییرات (CV%)		٠/٠٥٠	٠/٠٥٧	٠/٠٧٠	٠/٠٧١	٠/١٧٤	٠/٠٨٨	٠/٢٢٩

ns: عدم اختلاف معنی‌دار، *: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ٥ درصد، **: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ١ درصد

جدول ٣: اثر محلول پاشی کیتوزان و پوست میگو و برهمکنش آنها بر شاخص‌های رشد و رنگدانه‌های فتوسنتزی زوفا

شاخص‌ها / سطوح محلول پاشی	طول ساقه (cm)	وزن تر اندام هوایی(g)	وزن خشک اندام هوایی(g)	کلروفیل a (µg/ml)	کلروفیل b (µg/ml)	کلروفیل کل (µg/ml)	کاروتنوییدها (µg/ml)
آب مقطر(شاهد)	٤٠/٥٦ ab	٤٩/٧٤a	١٠/٣٦a	٨/٢٠a	٣/٤٤a	١١/٦٤a	١/٨١a
کیتوزان ٠/٢٥	٣٨/٩١ ab	٤٧/٢٦a	٩/٨٥a	٧/٩٥a	٣/٣٦a	١١/٣٢a	١/٩٠a
کیتوزان ٠/٥	٣٧/٨٢ b	٤٦/٢٩a	٩/٤٣a	٧/٩٠a	٣/٣٨a	١١/٢٨a	٢/٠٤a
میگو ٢/٥	٤٠/٦٢ ab	٥٠/٠٣a	١٠/٤٣a	٨/٣٢a	٣/٤٢a	١١/٧٤a	١/٨٢a
میگو ٠/٥	٤٠/٦٧ab	٥٠/٥٦a	١٠/٥٤a	٨/٣٨a	٣/٤٥a	١١/٨٣a	١/٨٥a
C1×S1	٤١/٩٩a	٥٠/٨٢a	١٠/٦٢a	٨/٤٧a	٣/٦٧a	١٢/١٤a	١/٨٧a
C1×S2	٤١/٦٣a	٥١/١١a	١٠/٦٥a	٨/٤٥a	٣/٥٣a	١١/٩٨a	٢/٠٤a
C2×S1	٤١/٥٧a	٤٩/٨٧a	١٠/٣٩a	٨/٥٤a	٣/٩٤a	١٢/٤٩a	٢/٠٨a
C2×S2	٤١/٦٨a	٥٠/٢٩a	١٠/٥١a	٨/٤٠a	٣/٨٣a	١٢/٢٣a	١/٩١a

* بر اساس آزمون دانکن حروف غیر مشابه بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ٥ درصد می باشد

C1 : کیتوزان ٠/٢٥ گرم در لیتر، C2 : کیتوزان ٠/٥ گرم در لیتر، S1: میگوی ٢/٥ گرم در لیتر، S2 : میگوی ٥ گرم در لیتر

جدول ٤: تجزیه واریانس درصد اسانس و ترکیبات شیمیایی مهم اسانس زوفا

منابع تغییر (S.O.V)	درجه آزادی (d.f)	میانگین مربعات (M.S)													
		درصد اسانس	Sabinene	β-Pinene	β-Myrcene	β-Phellandrene	γ-Terpinene	Linalool	trans-Pinocamphone	*trans*-Pinocarvone	*cis*-Pinocamphone	Myrtenol	β-Caryophyllene	Germacrene- D	Bicyclogermacrene	Elemol
کیتوزان (C)	٢	٠/٠٠٩ ns	٠/٢٩٤ ns	٢٣/٦٤٩ **	٠/٦٤٧ *	١/٧٧٠ ns	٠/٥٠٣ **	٠/١٥٥ *	١/٢٧٧ ns	٢/٨٦١ ns	٢٧/٧٦٦ ns	١/٣٤٨ *	٠/٠٨٨ ns	٠/٦٢١ ns	١/٦٧٩ ns	٠/١٥٧ ns
میگو (S)	٢	٠/٠٠١ ns	١/٢٥٣ *	١٨/٠٧٥ **	٠/٤١٤ ns	٠/٠٩٣ ns	٠/٩١٥ **	٠/٠٨٦ ns	٠/٠٧٧ ns	٥/٢٧٧ *	٣٥/١٣٠ ns	٠/٥٤١ ns	٠/١٠٥ ns	٢/٦٤٢ *	٣/٥١٥ *	٣/٨٢٦ ns

S×C	٤	٠/٠٠٣ ns	٠/٢٤٩ ns	٠/١٤٧ ns	٥/٩٦٠ ns	٠/٢٤٩ ns	٠/٠٠٤ ns	٠/٠٠٣ ns	٠/٠٠٣ ns	٠/٠٠٣ ns	٠/٠٠٣ ns	٠/٠٠٣ ns	٠/٠٠٣ ns	٠/٠٠٣ ns	٠/٠٠٣ ns	٠/٠٠٣ ns
خطا	١٨	٠/٠٠٤	٠/٢١٦	٠/١٢٢	٢/٧٥٩	٠/٢٩٤	٠/٠٠٤	٠/٠٠٤	٠/٠٠٤	٠/٠٠٤	٠/٠٠٤	٠/٠٠٤	٠/٠٠٤	٠/٠٠٤	٠/٠٠٤	٠/٠٠٤
(CV%)		٠/٢٥١	٠/٢٩٤	٠/٢٧٧	٠/٢٣٢	٠/٢٩٤	٠/٢٥١	٠/٢٥١	٠/٢٥١	٠/٢٥١	٠/٢٥١	٠/٢٥١	٠/٢٥١	٠/٢٥١	٠/٢٥١	٠/٢٥١

ns: عدم اختلاف معنی‌دار، *: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، **: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

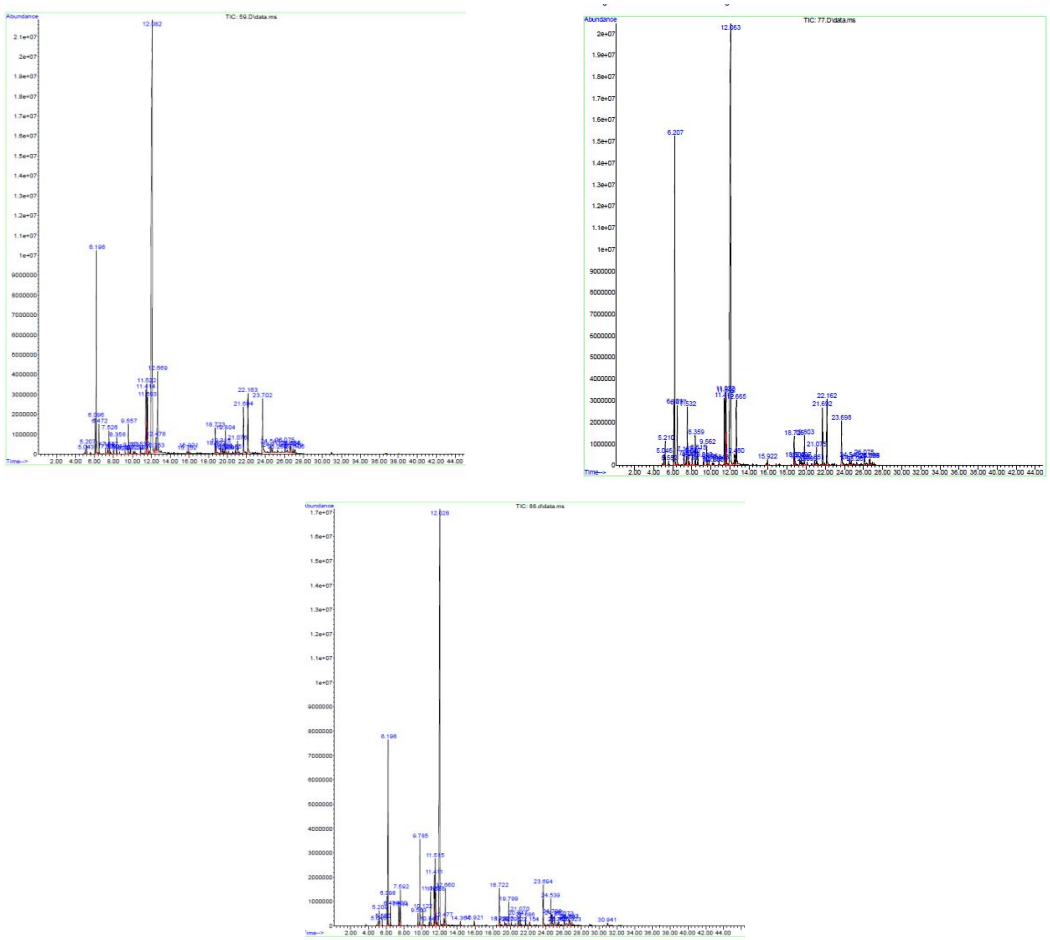
جدول ۵: اثر محلول پاشی کیتوزان و پوست میگو و برهمکنش آنها بر درصد اسانس و ترکیبات شیمیایی مهم زوفا

ترکیبات / سطوح محلول پاشی	آب مقطر	کیتوزان ۰/۲۵	کیتوزان ۰/۵	میگو ۲/۵	میگو ۵	C1×S1	C1×S2	C2×S1	C2×S2
Essential oil percentage	٠/١٧٧b	٠/٢٧٩ab	٠/٢٩٩a	٠/٢٢٠ab	٠/٢٢٤ab	٠/٣٣٠ab	٠/٢٥٣ab	٠/٢٥٢ab	٠/٢٤٦ab
Sabinene	١/٩١ab	١/٤١b	١/٤٢b	١/٦١b	٢/٢٢a	١/٨٥ab	١/٩١ab	١/٨٤ab	٢/٣٧ab
β-Pinene	١١/٨٨b	٨/٣١c	٨/٥٦c	١٠/٢٨bc	١٥/٠٤a	١٠/٠٤bc	٩/٤٧bc	٩/٦٣bc	١٢/١٣b
β-Myrcene	١/٨٦ab	١/٠٥c	١/٦٥abc	١/٣١bc	٢/١٥a	١/٢٧bc	١/٤٧bc	١/٥٦abc	١/٧٩ab
β-Phellandrene	٢/٨٠a	١/٦٧ab	١/٠٥b	٢/١٩ab	٢/١٠ab	٢/٠٥ab	١/٨٧b	١/٣٠ab	٢/٠٩ab
γ-Terpinene	١/١٤abc	٠/٣٣e	٠/٤٨de	١/١٢bc	١/٢٩ab	٠/٧٩cd	١/٠٤bc	١/٠٢bc	١/٥٤a
Linalool	٠/٩٣a	١/٠٣a	١/٠٥a	٠/٤٣b	٠/٩٦a	٠/٩٩a	٠/٩١a	١/٠٣a	٠/٩٨a
trans-Pinocamphone	٣/١٢ab	١/٧٨b	٣/٥٤ab	٢/٦٧ab	١/٣٩b	٣/٢١ab	٤/٤٥a	٢/٠٥b	٢/٥٥ab
trans-Pinocarvone	٣/٢٤ab	٣/٨٣ab	٣/٨٧ab	٣/١٣ab	١/٨٤b	٣/٩٧ab	٢/٩١ab	٤/٧٩a	٢/٧٧ab
cis-Pinocamphone	٤٣/١٩b	٥١/٩٦ab	٥٥/٠٩a	٤٨/٢٢ab	٤٧/٧٢ab	٤٣/٩٧b	٤٥/٨٧ab	٤٦/٥٨ab	٤٧/٧٩ab
Myrtenol	٢/٧٩ab	٣/٥٦a	٣/٦٥a	٣/٠٧ab	٢/٢٤b	٣/٢٤a	٣/٣٤a	٣/٣٩a	٣/٠٢ab
β-Caryophyllene	١/٣٥a	١/٢١a	١/٤٠a	١/٤٩a	١/١٧a	١/١٠a	١/١١a	١/٣٧a	١/٠٧a
Germacrene D	٢/٤٤a	٢/٧٠a	٢/٩٠a	٢/٨٩a	٢/١٤ab	٢/٦٢a	٠/٩٩b	٢/٧٣a	٢/٢٠ab
Bicyclogermacrene	٣/٠١a	٣/٦٠a	٣/٩٩a	٤/٣٠a	٢/٨٧ab	٢/٠٧a	١/٥٦b	٣/٥٨a	٣/١٢a
Elemol	١/٨٦c	٤/٨٠ab	٤/٠٠abc	٥/٢٢a	٢/١٥bc	٢/٩١abc	٢/٢٧bc	٢/٨٢abc	٣/٠٠abc

* بر اساس آزمون دانکن حروف غیر مشابه بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد

C1 : کیتوزان ۰/۲۵ گرم در لیتر، C2 : کیتوزان ۰/۵ گرم در لیتر، S1: میگوی ۲/۵ گرم در لیتر، S2 : میگوی ۵ گرم در لیتر

اســـانس: در جـــدول ٤ و ٥ تجزیـــه واریـــانس و میانگین‌های درصد اسانس و ترکیبات شـیمیایی مهـم زوفا در سطوح مختلف محلول پاشی کیتوزان، پوست میگو و محلول‌های توام کیتوزان و پوست میگو نشـان داده شده است. اسانس به دست آمده از روش تقطیـر با آب اندام هوایی زوفا در همه تیمارها به رنگ زرد و شفاف بود و سیس پینوکامفون و پس از آن بتا - پینن بـالاترین درصـد ترکیـب شـیمیایی اسـانس زوفـا را تشکیل مـی دادنـد. در تجزیـه اسـانس زوفـا توسـط دستگاه GC/MS، ۳۳ ترکیب شیمیایی شناسـایی شـد که ۲۲ ترکیب از گروه منوترپن‌هـا، ۱۰ ترکیـب جـزو سزکویی ترپن‌ها و یک ترکیب فنیل پروپانویید بود که در گیاهـان شـاهد در مجمـوع ۸۹/۱۵ درصـد از کـل اسانس را تشکیل می داد. مطابق جدول ٥، تیمارهـای مختلف محلول پاشی باعث افزایش درصد اسانس و سیس پینوکامفون نسبت به گروه شاهد شـد ولـی بـه لحاظ آماری تنها اثر محلول پاشی کیتـوزان ۰/۵ گـرم در لیتر معنی دار بود($P \leq ۰/۰۵$). اثر افزایشـی پوسـت میگو نسبت به کیتوزان بر مقدار اسـانس بسـیار کمتـر بود. دومین ترکیب غالب اسانس زوفا یعنی بتا- پیـنن تحت تیمارهای کیتوزان به طور معنی داری نسبت بـه گروه شاهد کاهش و با محلول پاشی پوست میگوی ٥ گرم در لیتر افـزایش پیـدا کـرد ($P \leq ۰/۰۵$). در کـل کیتوزان و پوست میگو باعث ایجاد یک ترکیب جدید و یا از بین رفتن یک ترکیب نشدند ولی موجب تغییر درصد اجزای تشکیل دهنده اسانس شدند.



شکل ۱: نمونه از کروماتوگرام اسانس‌های زوفا (*Hyssopus officinalis*) تحت تیمارهای محلول پاشی کیتوزان و پوست میگو (تصویر اول ، وسط و آخر به‌ترتیب مربوط به یکی از تکرارهای شاهد، محلول پاشی‌های کیتوزان و پوست میگو است)

بحث

در این پژوهش همان طور که در جدول شماره ۳ نشان داده شد، شاخص‌های رشدی طول ساقه، وزن تر و خشک اندام هوایی زوفا نسبت به گروه شاهد کاهش پیدا کرد، البته این اثرات به لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($P \geq ۰/۰۵$). Bittelli و همکاران (۲۰۰۱) گزارش دادند که وزن تر و خشک گیاهان فلفل تیمار شده با کیتوزان اختلاف معنی داری با گیاهان شاهد نداشته است (Bittelli et al., 2001). همچنین Limpanavech و همکاران(۲۰۰۸) گزارش دادند که کیتوزان هیچ تاثیر قابل توجهی بر وزن تر و خشک و سطح برگ در ارکیده دندروبیوم نداشت و تنها موجب افزایش تولید گل در آن شد (Limpanavek et al., 2008). بنا بر گزارش Hanafy Ahmed و همکاران (۲۰۱٦) محلول پاشی کیتوزان با غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ ppm بر درختان پرتقال واشنگتون ناول در دو فصل متوالی و دو باغ مختلف اثر معنی داری بر شاخص‌های رشد(ارتفاع گیاه، تعداد برگ و سطح برگ) نداشت. همچنین محلول پاشی برگی ذرت و سویا با کیتوزان نیز هیچ تاثیری بر ارتفاع گیاه، طول ریشه، سطح برگ و کل توده خشک نداشت (et al., 2010, Hanafy Ahmed et al., El Hadrami 2016).

کیتوزان به‌عنوان ضد تعرق عمل می‌کند. این ماده فعالیت آبسیزیک اسید را القا نموده و موجب بسته شدن روزنه‌ها می‌شود (Hidangmayum et al., 2019). گزارش شده که محلول پاشی کیتوزان موجب کاهش گشودگی روزنه در گوجه فرنگی و *communis Commelina* می‌شود. کاهش گشودگی روزنه‌ها توسط کیتوزان باید منجر به مهار رشد به دلیل کاهش تثبیت دی اکسید کربن شود (Limpanavek et al., 2008). با این حال، گزارش‌های زیادی افزایش رشد در گیاهان تحت تیمار با کیتوزان را نشان می‌دهد. به‌عنوان مثال کیتوزان به عنوان محرک رشد در گیاهان زراعی مختلف مانند لوبیا، سیب زمینی، تربچه، ژربرا، سویا کلم و سایر محصولات گزارش شده است. گزارش‌ها حاکی است که کیتوزان تاثیر زیادی بر سرعت رشد اندام هوایی، ریشه، گلدهی و تعداد گلها دارد (Chakraborty et al., 2020). برای افزایش رشد گیاه، کاربرد کیتوزان باید در غلظت‌های مناسب و دفعات مناسب صورت گیرد. استفاده درست از کیتوزان، در دسترس بودن مواد غذایی مورد نیاز گیاه در خاک را برای حمایت از رشد گیاه تقویت می‌کند. بنا بر گزارش Irawati و همکاران (۲۰۱۹) تیمار کمیری سانان با کیتوزان ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر و تعداد دفعات ٤ مرتبه، اثر بهتری بر بیشتر پارامترهای رشد این گیاه داشت (Irawati et al., 2019). همچنین Nurliana و همکاران (۲۰۲۲) گزارش دادند که کاربرد کیتوزان با غلظت ۰/۲ گرم در لیتر موجب کاهش اثر تنش خشکی و حفظ رشد کاهو می‌شود ولی با غلظت بالاتر (۰/٤ و ۰/٦ گرم در لیتر) رشد آن را کاهش می‌دهد (Nurliana et al., 2022).

کیتوزان رشد گیاه را با افزایش جذب و فراهمی آب و مواد مغذی مهم از طریق تنظیم فشار اسمزی در سلول‌ها تسهیل می کند. در دهه گذشته، مکانیسم‌های سیگنال دهی کیتوزان و مشتقات آن برای کنترل فرایندهای رشد و نمو گیاه مورد مطالعه قرارگرفت. یافته‌های اولیه نشان داد که کیتوزان به فعال کردن آنزیم‌های هیدرولیز کننده مورد نیاز برای تجزیه و به حرکت در آوردن مواد غذایی اندوخته مانند نشاسته و پروتئین کمک می کند. همچنین می تواند با فعال کردن هورمون‌های گیاهی از جمله اکسین و سیتوکینین که منجر به افزایش جذب مواد مغذی می شوند، تقسیم سلول‌های ریشه را تقویت کند. نقش‌های دیگر آن شامل کمک به جوانه زنی بیشتر

بذر، افزایش رشد و نمو گیاهچه و فعال کردن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برای جلوگیری از آسیب احتمالی گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در زمان جوانه زنی بذر است (Chakraborty et al., 2020). Amin و همکاران (۲۰۰۷) گزارش دادند که فعالیت‌های‌ی افزایش دهنده رشد گیاه توسط کیتوزان می تواند مستقیما با تأثیر آن بر روی مکانیسم‌های فیزیولوژی گیاه شامل جذب مواد مغذی، تقسیم سلولی، طویل شدن سلول، فعال‌سازی آنزیمی و سنتز پروتئین مرتبط باشد (Chakraborty et al., 2020, Amin et al., 2007).

یافته‌های این پژوهش(جدول شماره ۲ و ۳) نشان داد که محلول پاشی‌های کیتوزان موجب کاهش میزان کلروفیل *a*، *b* و کلروفیل کل و افزایش میزان کاروتنوییدها نسبت به گروه شاهد شد. در مقابل، محلول پاشی میگو و محلول‌های توام کیتوزان و میگو موجب افزایش کلروفیل *a*، *b*، کلروفیل کل و کاروتنوییدها شدند. با این وجود، هیچ کدام از این اثرات به لحاظ آماری معنی‌دار نبود. بنا بر گزارش Acemi و همکاران (۲۰۲۱) استفاده از کیتوزان با وزن‌های مولکولی مختلف (۱، ۵ و ۱۰ کیلودالتون) در تولید کلروفیل *a* در برگ آروگولا اثر معنی‌داری نداشت ولی باعث افزایش قابل توجه در مقدار کلروفیل *b* و کاروتنوئیدها شد (Acemi et al., 2021). در یک مطالعه دیگر اثر الیگومرها و پلیمر کیتوزان بر نیلوفر پیچ مورد بررسی قرار گرفت و پژوهشگران دریافتند که هر دو نوع کیتوزان به طور قابل توجه‌ی باعث القای تولید کلروفیل *a*، *b* و کاروتنوئیدها می‌شود (Kıran and Acemi, 2019 Acemi). در گوجه فرنگی با محلول پاشی کیتوزان میزان کلروفیل *a*، *b*، کلروفیل کل و کاروتنوییدها افزایش پیدا کرد (El-Tantawy, 2009, Hussain et al., 2019).

افزایش میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاهان پس از تیمار کیتوزان ممکن است به دلیل افزایش هدایت روزنه، سرعت تعرق و اندازه و تعداد سلول باشد. کارایی بالای فتوسنتزی ممکن است به‌طور غیرمستقیم به تجمع مواد آلی در گیاهان کمک کند. Muley و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که کیتوزان ممکن است در افزایش تعداد کلروپلاست در هر سلول و سنتز کلروفیل به علت فراهم کردن یک گروه آمین اضافی نقش داشته باشد (Acemi et al., 2021; Muley et al., 2019). پژوهش‌ها نشان داده که کیتوزان مقدار نی‌تروژن، پتاس‌یم و فسفر را در برگ‌ها بالا می برد. نی‌تروژن در سنتز کلروفیل و افزایش فرای‌ند فتوسنتز و آس‌یم‌ی‌لاس‌یون دی اکس‌ید کربن نقش دارد. بنا بر برخی گزارش‌ها استفاده از کیتوزان باعث افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی در نتی‌جه افزایش مقدار فسفر می‌شود (Hussain et al., 2019).

در این پژوهش همان‌طور که در جدول ۵ نشان داده شد، محلول پاشی کیتوزان، پوست میگو و محلول‌های توام پوست میگو و کیتوزان باعث افزایش درصد اسانس زوفا شد و اثر محلول پاشی کیتوزان ۰/۵ به لحاظ آماری معنی‌دار بود. همچنین بیشترین ترکیب شیمیایی اسانس زوفا در همه تیمارها مربوط به سیس پینوکامفون و بتا پینن بود. همه تیمارهای محلول پاشی موجب افزایش درصد سیس پینوکامفون ترکیب اصلی اسانس زوفا نسبت به گروه شاهد شدند. بیشترین میزان سیس پینوکامفون مربوط به تیمارهای کیتوزان با هر دو غلظت ۰/۲۵ و ۰/۵ (۵۱/۹۶ و ۵۵/۰۹ درصد)، گرم در لیتر بود. بتا پینن دومین ترکیب غالب اسانس زوفا با محلول پاشی کیتوزان به طور معنی داری کاهش و با تیمار پوست میگوی ۵ گرم در لیتر افزایش پیدا کرد($P\leq$ ۰/۰۵).

افزایش درصد اسانس زوفا در اثر محلول پاشی کیتوزان می‌تواند به علت نقش آن در افزایش بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه باشد. همچنین کیتوزان یک الیسیتور است و الیسیتورها احتمال دارد با فعال کردن ژن‌های جدید، آنزیم‌ها و در نتیجه راه اندازی مسیرهای بیوسنتزی مختلف، منجر به تشکیل متابولیت‌های ثانویه در گیاهان شوند (Mehregan et al., 2017). برخی گزارش‌ها حاکی است که کیتوزان ۰/۵ درصد موجب افزایش اوژنول و L – لینالول در *Ocimum basilicum* L. (Kim et al., 2005) و کیتوزان ۰/۱ درصد موجب افزایش کارواکرول در مرزنجوش استانبولی[1] شده است (Yin et al., 2012). به طور مشابه، نتایج سایر پژوهشگران هم حاکی است که استفاده از کیتوزان موجب افزایش ۱و۸ سینئول در مریم گلی (Vosoughi et al., 2018) تیمول در آویشن دنایی (Emami Bistgani *et al.,* 2017) و متیل چاویکول در ریحان (Malekpoor et al., 2017) می‌شود.

ممکن است کیتوزان نقش سی‌گنال دهی مهمی در فعال سازی پاسخ‌های مختلف دفاعی گیاه مانند بی‌وسنتز برخی از متابولی‌ت‌های ثانویه داشته باشد (Alavi Samany et al., 2022; et al., 2021 Babaei). الیسیتورهایی مانند کیتوزان ممکن است بر تنظیم بیان ژن و فعالیت آنزیم‌های مربوط به مسیرهای بیوسنتزی ترکیبات فعال گیاهان دارویی و معطر اثر داشته باشند (Kim et al., 2005, Alavi Samany et al., 2022). به طور کلی الیسیتورها با تحریک پیام‌های سلولی و برهمکنش مولکولی در بین گیرنده‌های گیاهی موجود در سطح غشای سلولی یا سیتوپلاسمی موجب تشخیص آنها شده، در نتیجه پیام دریافتی توسط سلول‌های گیاهی، بیان ژنهای مرتبط در مسیر را تحریک نموده و منجر به سنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان می‌شود (Zhao and Sakai, 2003). کیتوزان باعث تولید فی‌توآلکسی‌ن‌ها مانند استیلبن‌ها و بسیاری از ترکیبات فنلی و ترپنی می‌شود. بیشتر مقالات منتشر شده در زمینه افزودن کیتوزان به کشت‌های سلول گیاهای در این ویترو، اطلاعات مربوط به مکانیسم‌های دفاعی گیاه را گزارش داده است. با این حال، برخی از نویسندگان کیتوزان را به‌عنوان الیسیتور برای بهبود تولید ترکیبات با کاربردهای دارویی، پزشکی و صنعتی مورد آزمایش قرار داده اند. به‌ویژه سوسپانسیون‌های سلولی Plumbago rosea تحت تیمار با کیتوزان که برای تولید پلمباژین (یک ترکیب ضدسرطانی، ضدجهش‌زایی، ضدمیکروبی، ضدباروری و حشره کش) مورد استفاده قرار می‌گیرد. در ریحان کیتوزان مقدار کل ترکیبات فنلی و ترپنی را افزایش داده، به‌ویژه رزمارینیک اسید و اوژنول که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی قوی، ضدویروسی، ضدباکتریایی، ضدالتهابی، ضدعفونی کننده و بیهوشی هستند (Ferri and Tassoni, 2011). همچنین کیتوزان باعث تجمع ترکیبات فنلی در بسیاری از گونه‌های گیاهی مانند زردآلو، گیلاس و میوه اژدها (Cereus enneacanthus) شده است (Pongprayoon et al., 2022).

گزارش شده که ضایعات میگو علاوه بر کیتین، پروتیین و لیپید، حاوی مقدار زیادی املاح معدنی شامل نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم است (Mansyur et al., 2021) در مورد اثر محلول پاشی پوست میگو بر گیاهان تا کنون تحقیقی صورت نگرفته و تنها گزارش‌های کمی در مورد کاربرد ضایعات میگو به صورت کود وجود دارد. به عنوان مثال Salehi و (۲۰۱۹) Safaee گزارش دادند که ضایعات پوست میگو و ماهی به صورت کود بر کلیه صفات کمی و کیفی گلرنگ تاثیر مثبت داشته و کود

1 *Origanum vulgare* ssp. hirtum

میگو به دلیل دارا بودن درصد نیتروژن، فسفر، منیزیم و مواد آلی بیشتر نسبت به کود ماهی نتایج بهتری داشته است (Salehi and Safaee, 2019). ممکن است اثرات مثبت پوست میگو بر ترکیبات شیمیایی اسانس و شاخص‌های رشد زوفا در این پژوهش هم مربوط به مواد آلی و املاح موجود در آن باشد.

نتیجه‌گیری نهایی

به‌طورکلی یافته‌های این پژوهش نشان داد که محلول پاشی‌های کیتوزان، پوست میگو و محلول‌های توام پوست میگو و کیتوزان موجب افزایش درصد اسانس و میزان سیس پینوکامفون مهمترین ترکیب غالب اسانس زوفا شدند ولی از نظر آماری تنها اثر تیمار کیتوزان ۵/ گرم در لیتر معنی دار بود. در مقابل، کیتوزان برخلاف پوست میگو و محلول‌های توام پوست میگو و کیتوزان باعث کاهش نسبی شاخص‌های رشد، کلروفیل *a*، کاروفیل *b* و کلروفیل کل شد. در این پژوهش فقط از پوست میگو استفاده شد در صورتی که ضایعات میگو علاوه بر پوست، حاوی سر، دم، احشا و باقیمانده‌های گوشتی است. با توجه به نتایج این پژوهش به نظر می رسد، استفاده از کل ضایعات میگو به صورت محلول پاشی و یا با غلظت‌های بیشتر هم می تواند باعث افزایش معنی دار رشد، همچنین کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی زوفا شود که در این صورت هم از نظر اقتصادی به صرفه خواهد بود و هم می تواند به کاهش آلودگی محیط زیست کمک کند.

References

Acemi, A., Gun Polat, E., Cakir, M., Demiryurek, E., Yavuz, B., and Ozen, F. 2021. Molecular weight and concentration of chitosan effect plant development and phenolic substance pattern in arugula. Notulae Botanicae Horticulture Agrobotanici Cluj-Napoca. 49(2):12296.

Acimovic, M., Varga, A., Cvetkovic, M., Lato, P., Loncar, B., Ignjatov, M., and Zeremski, T. 2021. Chemical composition of Hyssop cv. *"Domaci ljubicasti"* essential oil and its antimicrobial activity. Ratar. Povrt. 58(1): 23-30.

Adams, R.P., 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Illinois: Allured Publishing Corporation, Carol Stream.

Akakuru, O.U., Louis, H., Amos, P., Akakuru, O.C., Nosike, E. and Ogulewe, E. 2018. The chemistry of chitin and chitosan justifying their nanomedical utilities. Biochemistry and Pharmacology. 7:1.

Alavi Samany, S. M., Ghasemi Pirbalouti, A., and Malekpoor, F. 2022. Phytochemical and morpho-physiological changes of hyssop in response to chitosan-spraying under different levels of irrigation. Industrial Crops and Products. 176, 114330.

Amin, A.A., Rashad EL-Sh, M., and EL-Abagy, H.M.H. 2007. Physiological effect of indole-3-butyric acid and salicylic acid on growth, yield and chemical constituents of onion plants. Applied Sciences Research. 3(11):1554–1563.

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

Bittelli, M., Flury, M., Campbell, G.S., and Nichols, E.J. 2001. Reduction of transpiration through foliar application of chitosan. Agriculture for Meteorol. 107: 167–175.

Chakraborty, M., Hasanuzzaman, M., Rahman, M., Rahman Khan, A., Bhowmik, P., Mahmud, N.U., Tanveer, M., and Slam, T. 2020. Mechanism of plant growth promotion and disease suppression by chitosan biopolymer. Agriculture. 10 (624): 1-30.

Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., and Chern, J.C. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary calorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis. 10(3).

El Hadrami, A., Adam, L.R., El Hadrami, I., and Daayf, F. 2010. Chitosan in plant protection. Marine Drugs. 8: 968-987.

El-Tantawy, EM, 2009. Behavior of tomato plants as affected by spraying with chitosan and aminofort as natural stimulator substances under application of soil organic amendments. Pakistan journal of Biology Sciences. 12: 1164-1173.

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

Ferri, M., and Tassoni, A. 2011. Chitosan as elicitor of health beneficial cell secondary metabolites in in vitro plant cultures. Handbook of Chitosan Research and Applications. Nova Science Publishers, Inc. Chapter 22.

Hamedi, S. 2016. Determination of the Scientific Name of *Zoufa*: A Traditional persian medicinal plant. Traditional and Integrative Medicine. 1(2): 79-81.

Hanafy Ahmed, A.H., Aboul-Ella Nesiem, M.R., Allam, H.A., and El-Wakil, A.F. 2016. Effect of preharvest chitosan foliar application on growth, yield and chemical composition of Washington navel orange trees grown in two different regions. African Journal of Biochemistry Research. 10(7): 59-69.

Hidangmayum, A., Dwivedi, P., Katiyar, D., and Hemantaranjan, A. 2019. Application of chitosan on plant responses with special reference to abiotic stress. Physiology and Molecular Biology of Plants. 25(2):313–326.

Hikal, W. M., and Said-Al Ahl, H.A.H. 2017. Anti-leishmanial activity of *Hyssopus officinalis*: A Review. International Journal of Environmental Planning and Management. 3(2): 10-15.

Hussain, I., Ahmad, S., Ullah, I., Ahmad, I., Alam, M., Khan, S., and Ayaz, S. 2019. Foliar application of chitosan modulates the morphological and biochemical characteristics of tomato. Asian Journal Agriculture and Biology. 7(3):365-372.

Irawati, E.B., Sasmita, E.R., and Suryawati, A. 2019. Application of chitosan for vegetative growth of kemiri sunan plant in marginal land. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. 250, 012089.

Katiyar, D., Hemantaranjan, A., and Singh, B. 2015. Chitosan as a promising natural compound to enhance potential physiological responses in plant. Indian Journal Plant Physiology. 20(1):1–9.

Kim, H.J., Chen, F., Wang, X., and Rajapakse, N.C. 2005. Effect of chitosan on the biological properties of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). Journal Agriculture Food Chemistry. 53: 3696–3701.

Kıran Acemi, R., and Acemi, A 2019. Polymerization degree-dependent changes in the effects of in vitro chitosan treatments on photosynthetic pigment, protein, and dry matter contents of Ipomoea purpurea. EuroBiotech Journal. 3(4):197-202.

Kovats, E. 1958. Gaz-chromatographische charakterisierung organishcher verbindungen. Teil 1: Retentionsindices aliphatischer halogenide, alkohole, aldehyde und ketone. Helvetica Chimica Acta. 41(7): 1915–1932.

Limpanavech, P., Chaiyasuta, S., Vongpromek, R., Pichyangkura, R., Khunwasi, C., Chadchawan, S., Lotrakul, P., Bunjongrat, R., Chaidee, A., and Bangyeekhun, T. 2008. Chitosan effects on floral production, gene expression, and anatomical changes in the Dendrobium orchid. Scientia Horticulturae. 116: 65–72.

Mansyur, N.I., Hanudin, E., Purwanto, B.H., and Utami S.N.H. 2021. The nutritional value of shrimp waste and its response to growth and N uptake efficiency by Corn. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. 748, 012013

Malekpoor, F., Ghasemi Pirbalouti, A., and Salimi, A. 2016. Effect of foliar application of chitosan on morphological and physiological characteristics of basil under reduced irrigation. Research on Crops. 17 (2): 354-359.

Malekpoor, F., Ghasemi Pirbalouti, A., Salimi, A., and Momtaz, H. 2017. Effects of chitosan on gene expression of chavicol-O-methyl transferase and phenylpropanoid components of *Ocimum basilicum* (purple cultivar) under water deficit. Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology). 30(3): 294-282.

Mehregan, M., Mehrafarin, A., Labbafi, M.R., and Naghdi Badi H. 2017. Effect of different concentrations of chitosan biostimulant on biochemical and morpho physiological traits of stevia plant (*Stevia rebaudiana* Bertoni). Journal of Medicinal Plants. 16 (62): 169-181.

Muley, A.B., Shingote, P.R., Patil, A.P., Dalvi, S.G., and Suprasanna, P. 2019. Gamma radiation degradation of chitosan for application in growth promotion and induction of stress tolerance in potato (*Solanum tuberosum* L.). Carbohydrate Polymers. 210:289-301.

Nirmal, N.P., Santivarangkna, C., Rajput, M.S., and Benjakul, S. 2020. Trends in shrimp processing waste utilization: An industrial prospective. Trends in Food Science and Technology. 103: 20-35

Nurliana, S., Fachriza, S., Hemelda, M.N., and Yuniati, R. 2022. Chitosan application for maintaining the growth of lettuce (*Lactuca sativa*) under drought condition. The 4th International Conference on Food and Agriculture. Series: Earth and Environmental Science. 980.

Pongprayoon, W., Siringam, T., Panya, A., and Roytrakul, S. 2022. Application of chitosan in plant defense responses to biotic and abiotic stresses. Applied Science and Engineering Progress. 15(1): 3865.

Porra, R.G., Thompson, A., and Kriedelman, P.E. 1989. Determination of accurate extraction and simultaneously equation for assaying chlorophyll *a* and *b* extracted with different solvent: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. Biochimica Biophysica Acta. 975(3): 384-394.

Reddy, A.R., Chaitanya, K.V., and Vivekanandan, M. 2004. Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Journal of Plant Physiology. 161:1189-1202.

Salehi, M., and Safaee, M. 2019. The effect of applying organic fertilizer with fish and shrimp origin on some quantitative and qualitative traits of *Carthamus tinctorious* L. Electronic Journal of Crop Production, 11(4): 135-145.

Vosoughi, N., Gomarian, M., Ghasemi Pirbaloutic, A., Khaghani, S., and Malekpoor, F. 2018. Essential oil composition and total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* L.) extract under chitosan application and irrigation frequencies. Industrial Crops and Products. 117: 366–374.

Yin, H., Frette, X.C., Christensen, L.P., and Grevsen, K. 2012. Chitosan oligosaccharides promote the content of polyphenols in Greek oregano (*Origanum vulgare ssp.* hirtum). Journal Agriculture Food Chemistry. 60: 136–143.

Zhao, J., and Sakai, K. 2003. Multiple signaling pathways mediate fungal elicitor induced betathujaplicin biosynthesis in *Cupressus lusitanica*. Cell Cultures. 4: 647-656.

Zhao, J., Davis, L.C., and Verpoorte, R. 2005. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. Biotechnology Advances. 23: 283 - 333.

Zhu, L.W., Zhung, J.J., and Tang, Y.J. 2008. Significance of fungal elicitors on the production of ganoderic acid and Ganoderma polysaccharides by the submerged culture of medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*. Process Biochemistry. 43: 1359 -1370.