

بهبود ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و فیتوشیمیایی آویشن باغی با محلول‌پاشی

کیتوزان و جلبک دریایی *Ascophyllum nodosum*

Improving the Morphophysiological and Phytochemical Traits of Garden Thyme Sprayed by Chitosan and *Ascophyllum nodosum*

عطیه رضائی^۱، وحید اکبرپور^{۲*}، محمدعلی بهمنیار^۳، محبوبه آشناور^۴

۱. مؤسسه آموزش عالی سنا، ساری

۲. گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۳. گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۴. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (v.akbarpour@sanru.ac.ir) و (v_akbarpour60@yahoo.com)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۴/۲۰، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۲/۳

چکیده

امروزه یکی از روش‌های سازگار با محیط زیست جهت افزایش بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی، استفاده از الیسیستورهای زیستی است. به همین دلیل پژوهش حاضر به منظور بررسی اثر کودهای زیستی کیتوزان و جلبک دریایی بر خصوصیات کمی و کیفی آویشن باغی صورت گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو فاکتور کود مایع کیتوزان (صفر، ۳، ۶ و ۹ میلی‌لیتر در لیتر) و عصاره جلبک دریایی (صفر، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌لیتر در لیتر) با سه تکرار اجرا شد. نتایج نشان داد که تمامی تیمارهای آزمایشی سبب افزایش معنی‌دار برخی صفات مورد مطالعه گردید؛ به طوری که بالاترین میزان ارتفاع بوته، رنگدانه‌های فتوسنتزی و کاروتنوئید با کاربرد همزمان ۶ میلی‌لیتر در لیتر کیتوزان و ۱۰ میلی‌لیتر در لیتر جلبک دریایی به دست آمد. همچنین کاربرد بالاترین سطح کودی (۹ میلی‌لیتر در لیتر کیتوزان و ۱۰ میلی‌لیتر در لیتر جلبک دریایی) سبب تولید بیشترین قطر ساقه اصلی (۱/۶۷ برابر تیمار شاهد)، وزن تر و خشک اندام هوایی (افزایش ۹۸ درصدی نسبت به شاهد)، عملکرد بیولوژیک، فنول کل (۷۵ درصد افزایش نسبت به شاهد)، و فلاونوئید کل (۳/۸۱ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) گردید. حداکثر تولید اسانس در گیاه آویشن باغی نیز در نتیجه‌ی محلول‌پاشی توأم ۳ میلی‌لیتر در لیتر کیتوزان به همراه ۱۰ میلی‌لیتر در لیتر جلبک دریایی مشاهده شد که حدود ۳/۲۵ برابر نسبت به تیمار شاهد افزایش داشت. بنابراین استفاده از کودهای زیستی می‌تواند روشی مؤثر در بهبود کمیت و کیفیت آویشن باغی و همچنین حفظ محیط زیست و افزایش امنیت غذایی و دارویی گیاهان به دلیل کاهش مصرف کودهای شیمیایی باشد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، الیسیستور، فتوسنتز، فلاونوئید، کودهای زیستی.

مقدمه

راه‌های مختلفی برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان وجود دارد. یکی از این روش‌ها استفاده از الیسیستورها است. الیسیستورها ترکیباتی با منشأ زیستی یا غیرزیستی هستند که از طریق القای سیستم دفاعی، موجب تولید و ذخیره متابولیت‌های ثانویه می‌شوند (Zhao et al., 2005). در گیاهان دارویی و معطر، بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه مانند اسانس تحت تأثیر عوامل ژنتیکی، عوامل محیطی و اثرات متقابل آنها می‌باشد. از طرف دیگر استفاده از الیسیستورها یکی از روش‌های مدیریتی

است که می‌تواند تغییرات فیزیولوژیکی را در گیاهان القا کند. در همین راستا، القاکننده‌های زیستی نقش مؤثری در افزایش کمیت و کیفیت مواد مؤثره گیاهان دارویی دارند (Goudarzian *et al.*, 2020). کاربرد محرک‌های زیستی یا غیرزیستی به میزان محدود و در غلظت‌های پایین، بیوسنتز ترکیبات خاصی را در سیستم سلولی زنده تحریک می‌کند و زمان دستیابی به مقادیر بیشتر متابولیت‌ها را کاهش می‌دهد. این محرک‌های زیستی با افزایش نسخه‌برداری mRNA تا ۲/۵ برابر، فعال‌سازی هورمون‌های مؤثر در رشد زایشی، افزایش متابولیسم کربوهیدرات‌ها، افزایش جذب و انتقال عناصر غذایی و افزایش میزان ترکیبات پروتئینی در گیاهان، سبب بهبود خصوصیات کمی و کیفی گیاهان به‌ویژه در شرایط تنش می‌شوند (Babaei *et al.*, 2018).

کیتوزان یک پلیمر زیستی است که از کیتین سخت‌پوستان، قارچ‌ها و بندپایان بدست می‌آید و بعد از سلولز فراوان‌ترین پلی‌ساکارید در سطح زمین است. کیتوزان ماده‌ای غیرسمی، آب‌دوست، زیست تخریب‌پذیر، ضدباکتری و سازگار با محیط زیست است که در سال‌های اخیر کاربرد زیادی یافته است. علاوه بر این، کیتوزان دارای خاصیت منعکس‌کنندگی نور و ضدتغرق می‌باشد که سبب کاهش هدررفت آب از گیاه و در نتیجه خنک شدن گیاه در شرایط تنش خواهد شد (Muchate *et al.*, 2016). همچنین به‌عنوان یک پلی‌ساکارید پلی‌کاتیونی، می‌تواند به‌عنوان الیسیتور زیستی برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی مفید واقع شود. همچنین در سال‌های اخیر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کیتوزان توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود جلب کرده است. مطالعات نشان داده که کیتوزان از طریق بهبود سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه به‌ویژه افزایش فعالیت اکسیدانت‌ها به‌عنوان جاروب‌کننده انواع اکسیرن فعال عمل می‌کند (Akakuru *et al.*, 2018). همچنین کیتوزان به‌عنوان یک محرک رشد با افزایش جوانه‌زنی، ریشه‌زایی، رشد برگ، بازدهی دانه و نگهداری رطوبت خاک، رشد گیاه را افزایش داده و سبب کاهش ابتلا به عفونت‌های قارچی و سایر آفات گیاهی می‌شود (Taheri, 2016). پژوهش‌ها نشان داده که با افزایش میزان کیتوزان تا ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، فنول کل و رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a و b) در گیاه زنیان^۱ نسبت به شاهد به ترتیب ۹۲، ۸۶ و ۷۳ درصد افزایش نشان داد (Naderi, 2017). در مطالعه‌ای بیشترین میزان اسانس (۱/۵۲ گرم در بوته) در آویشن دنبایی با کاربرد ۴۰۰ میکرولیتر در لیتر کیتوزان به‌صورت محلول‌پاشی و در شرایط تنش ملایم بدست آمد (Emami Bistgani *et al.*, 2017).

یکی دیگر از منابع جدید تولید کودهای آلی، جلبک‌های دریایی می‌باشند که دارای تنوع و فراوانی بسیار زیادی هستند. جلبک‌های دریایی عموماً در آب‌های کم‌عمق دریاها و آب‌های زیرزمینی وجود دارند و عصاره آنها حاوی هورمون‌هایی از قبیل اکسین‌ها، جیبرلین‌ها و سیتوکینین‌ها، براسینواستروئیدها، جاسمونات‌ها و سالیسیلیک اسید است. به‌علاوه جلبک‌های دریایی حاوی عناصر ریزمغذی مانند آهن، کبالت، منیزیم، مولیبدن، روی و نیکل بوده و دارای ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه نیز می‌باشند (Erulan *et al.*, 2009). پژوهش‌ها نشان داده که عصاره جلبک‌های دریایی سبب تحریک رشد و عملکرد گیاهان شده و باعث افزایش مقاومت آنها به انواع تنش‌های محیطی می‌گردد (Pramanick *et al.*, 2013). در سال‌های اخیر استفاده از عصاره جلبک دریایی قهوه‌ای/آسکوفیلوم نودوسوم^۲ با توجه به قابلیت آن برای استفاده در کشاورزی ارگانیک و تولید مواد غذایی به خوبی شناخته شده است و به صورت تجاری در کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Ordog *et al.*, 2004). محلول‌پاشی عصاره جلبک دریایی باعث بهبود رشد گیاه ریحان در شرایط تنش خشکی شد که این امر را می‌توان به افزایش توان گیاه برای مقابله با تنش از طریق افزایش رشد ریشه، افزایش میزان فتوسنتز، جذب بیشتر عناصر غذایی مانند پتاسیم و فسفر و همچنین افزایش عناصر کم‌مصرف و هورمون‌های گیاهی مانند اکسین، سیتوکینین و اسید آسزیک نسبت داد (Esmailpour *et al.*, 2020).

آویشن باغی با نام علمی *Thymus vulgaris* L. گیاهی از تیره نعنائیان^۳ است که به صورت بوته‌های پرپشت رشد می‌کند. از آویشن در صنایع غذایی، دارویی و آرایشی و بهداشتی استفاده‌های متنوعی می‌شود. ماده مؤثره اصلی این گیاه اسانس است. اسانس آویشن مایعی زرد رنگ یا قهوه‌ای مایل به قرمز تیره با بوی مطبوع قوی می‌باشد که از تقطیر برگ‌ها و سرشاخه‌های

گلداری آن استخراج می‌شود و ترکیبی از مواد شیمیایی مختلف و ارزشمند است (Omidbaigi, 2008). با توجه به اهمیت گیاه دارویی آویشن باغی و به دنبال استفاده از کودهای زیستی جهت افزایش کمیت و کیفیت مواد مؤثره گیاهان دارویی و همچنین حفظ سلامت گیاه و محیط زیست، پژوهش حاضر با هدف بررسی کاربرد کودهای زیستی کیتوزان و جلبک دریایی در راستای بهبود ویژگی‌های کمی و کیفی گیاه دارویی آویشن باغی صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در مزرعه‌ای به مساحت ۳۰۰ متر مربع واقع در شهرستان بهشهر استان مازندران، اجرا شد. در این مطالعه اثر کاربرد کود بیولوژیک کیتوزان و جلبک دریایی بر برخی خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی (ارتفاع بوته، قطر ساقه اصلی، وزن تر اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی، عملکرد بیولوژیک، کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل) و فیتوشیمیایی (کاروتنوئید، فنول کل، فلاونوئید کل و درصد اسانس) گیاه دارویی آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) رقم افسینال بررسی گردید. به این منظور بذر از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه و در اسفندماه سال قبل در خزانه هوای آزاد کشت و پس از رشد نشاء، اواسط اردیبهشت‌ماه به زمین اصلی منتقل گردید. سپس آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار طراحی و اجرا شد. فاکتور اول، سطوح مختلف کود مایع کیتوزان (صفر، ۳، ۶ و ۹ میلی‌لیتر در لیتر) (شرکت Sigma Aldrich آمریکا) و فاکتور دوم شامل عصاره جلبک دریایی (صفر، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌لیتر در لیتر) بر اساس نمونه تجاری تهیه شده از فروشگاه بود. عصاره جلبک دریایی مورد استفاده، آلگاسیفو^۱ ۳۰۰۰ بود که حاوی عصاره جلبک قهوه‌ای/آسکوفیلوم نودوسوم می‌باشد. آلگاسیفو ۳۰۰۰ دارای ازت آلی کاملاً ارگانیک به میزان ۲ درصد وزنی، ماده آلی به میزان ۵۰ درصد وزنی و کربن آلی به میزان ۱۰ درصد وزنی است. برای تهیه محلول کیتوزان (شرکت Sigma Aldrich آمریکا) با وزن مولکولی پایین از روش Khan و همکاران (۲۰۰۳) استفاده شد. برای این منظور ابتدا محلول اسید استیک یک درصد تهیه شده و سپس محلول کیتوزان در اسید ذکر شده آماده شد. محلول پاشی‌ها در دوره رشد با فاصله هر دو هفته یک‌بار و در چهار مرحله انجام شد. به‌طوری‌که اولین مرحله محلول پاشی سه هفته بعد از انتقال نشاء به زمین اصلی انجام شد. جهت آماده‌سازی بستر کشت ابتدا قطعه‌بندی انجام شده و سپس نشاهای آویشن باغی با فاصله ۷۰ × ۳۰ سانتی‌متر کشت شدند. قبل از کشت نمونه‌برداری از خاک صورت گرفت و پس از آنالیز خاک، بر اساس توصیه کودی، تغذیه بستر انجام شد. آبیاری گیاهان نیز بصورت قطره‌ای صورت پذیرفت.

صفات مورد ارزیابی در این پژوهش شامل: ارتفاع بوته (سانتی‌متر)، قطر ساقه اصلی (میلی‌متر)، وزن تر و خشک اندام هوایی (گرم)، عملکرد بیولوژیک (گرم)، کلروفیل a (میلی‌گرم در گرم وزن تر)، کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، کاروتنوئید (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) (Arnon, 1967)، فنول کل (میلی‌گرم اسیدگالیک بر گرم وزن خشک) (Singleton et al., 1999)، فلاونوئید کل (میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) (Singleton et al., 1999) و درصد اسانس بود. اندازه‌گیری صفات زمانی انجام شد که ۵۰ درصد بوته‌های آویشن به گل رفتند.

اندازه‌گیری ارتفاع بوته و قطر ساقه اصلی

ارتفاع گیاه توسط متر به صورت دقیق و برحسب سانتی‌متر اندازه‌گیری و ثبت شد. قطر ساقه اصلی نیز با استفاده از کولیس به صورت دقیق و برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری و ثبت گردید.

اندازه‌گیری وزن تر و خشک اندام هوایی و عملکرد بیولوژیک

در پایان دوره رشد رویشی و زمانی که ۹۰ درصد بوته‌ها در فاز زایشی قرار داشتند، بخش هوایی گیاه از محل طوقه برداشت شد و پس از تعیین وزن تر اندام هوایی، به آزمایشگاه منتقل گردید. نمونه‌های گیاهی به مدت ۴۸ ساعت در دمای معمولی اتاق و سایه خشک و توسط ترازوی دیجیتال آزمایشگاهی^۲ و با دقت ۰/۰۱، توزین و ثبت شدند.

اندازه‌گیری کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید

برای اندازه‌گیری رنگدانه‌های فتوسنتزی، ابتدا ۰/۵ گرم از بافت نمونه گیاهی (برگ) را با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد خرد نموده و به مدت ۱۰ دقیقه در ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی جدا شده و مقدار جذب نمونه با دستگاه اسپکتروفتومتر (6405.UV/Vis-Jenway-England) در طول موج‌های ۴۸۰، ۵۱۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر قرائت شده و مقادیر آنها با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (Arnon, 1967).

$$\text{Chl.a mg/g FW} = [12.7(\text{A}663) - 2.69(\text{A}645)] \times V/W$$

$$\text{Chl.b mg/g FW} = [22.9(\text{A}645) - 4.68(\text{A}663)] \times V/W$$

$$\text{Chl. total mg/g FW} = [20.2(\text{A}645) + 8.02(\text{A}663)] \times V/W$$

$$\text{Carotenoid mg/g FW} = [7.6(\text{A}480) - 1.49(\text{A}510)] \times V/W$$

اندازه‌گیری فنول کل

برای اندازه‌گیری فنول کل، مقدار ۲۰ میکرولیتر از عصاره متانولی (۰/۵ گرم در ۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪) با ۱۰۰ میکرولیتر فولین سیوکالتیو و ۱/۱۶ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شده و پس از ۵ الی ۸ دقیقه استراحت، ۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم یک مولار (۱۰/۶ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) به آن اضافه شد. محلول فوق پس از ۳۰ دقیقه استراحت در حمام بخار ۴۰ درجه سانتی‌گراد در طول موج ۷۶ نانومتر قرائت شد (Singleton *et al.*, 1999).

اندازه‌گیری فلاونوئید کل

برای محاسبه محتوای فلاونوئیدی ابتدا ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره متانولی تهیه شده با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰٪ در اتانول (۱۰ گرم آلومینیوم کلرید در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول و آب مقطر)، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار (۲/۴۱ گرم در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر) و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. مخلوط پس از نیم ساعت استراحت در تاریکی بلافاصله در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت شد. برای رسم منحنی استاندارد نیز از غلظت‌های مختلف کوئرستین استفاده شد (Singleton *et al.*, 1999).

اندازه‌گیری درصد اسانس

به منظور تعیین مقدار اسانس اندام هوایی، گیاهان پس از برداشت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در شرایط سایه خشک شدند. اسانس‌گیری به وسیله دستگاه کلونجر و با استفاده از روش تقطیر با آب انجام شد. به این صورت که ابتدا به نسبت ۱:۲۰ نمونه خشک برگ در بالن دستگاه ریخته و پس از زمان حدود ۳ ساعت، اسانس تجمع یافته در قسمت مدرج دستگاه، جمع‌آوری شد. میزان درصد اسانس با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (Omidbaigi, 2008).

$$\text{وزن خشک ماده اولیه (گرم) / وزن اسانس (گرم)} = \text{درصد اسانس}$$

داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS (ver 9.1) تجزیه و تحلیل شده و میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ مقایسه شد.

نتایج

مطابق جدول تجزیه واریانس (جدول ۱)، اثر ساده محلول‌پاشی کیتوزان بر وزن تر و خشک اندام هوایی و عملکرد بیولوژیک در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد. بر اساس این جدول، صفاتی نظیر وزن تر در سطح احتمال ۱ درصد و عملکرد بیولوژیک در سطح احتمال ۵ درصد به صورت معنی‌داری تحت تأثیر اثر ساده کاربرد جلبک دریایی قرار گرفتند. همچنین برهمکنش تیمارهای مورد بررسی (کیتوزان و جلبک دریایی) بر ارتفاع بوته در سطح احتمال ۵ درصد و بر صفاتی نظیر قطر ساقه، کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود.

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر محلول پاشی کیتوزان و جلبک دریایی بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی آویشن باغی.

Table 1. Analysis of variance (mean square) effect of chitosan and seaweed foliar application on some morphophysiological characteristics of *Thymus vulgaris* L.

منابع تغییرات Sources of Variations	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Mean square							
		ارتفاع بوته Plant height	قطر ساقه اصلی Main stem diameter	وزن تر اندام هوایی Aerial part fresh weight	وزن خشک اندام هوایی Aerial part dry weight	عملکرد بیولوژیک Biological yield	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll
تکرار Replication	2	0.17 ^{ns}	0.00 ^{ns}	0.16 ^{ns}	0.25 ^{ns}	0.18 ^{ns}	0.00 ^{ns}	0.00 ^{ns}	0.00 ^{ns}
کیتوزان Chitosan	3	3.47 ^{ns}	0.34 ^{**}	73.82 ^{**}	12.04 ^{**}	28.47 ^{**}	0.00 [*]	0.00 [*]	0.00 ^{**}
جلبک دریایی Seaweed	3	6.82 [*]	0.10 ^{**}	9.63 ^{**}	0.12 ^{ns}	7.11 [*]	0.00 [*]	0.00 ^{ns}	0.00 ^{**}
کیتوزان × جلبک دریایی Chitosan × Seaweed	9	5.09 [*]	0.12 ^{**}	4.19 ^{ns}	0.11 ^{ns}	4.07 ^{ns}	0.02 ^{**}	0.01 ^{**}	0.04 ^{**}
خطای آزمایش Error	35	1.79	0.01	2.17	0.48	2.06	0.00	0.00	0.00
ضریب تغییرات Coefficient of variation (%)	-	6.45	2.52	6.75	10.00	9.51	1.13	3.01	1.12

^{*}, ^{**} و ^{ns} به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و غیرمعنی‌دار

^{*}, ^{**} and ^{ns} are significant at 5% and 1% probability level and non-significant, respectively

خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی

ارتفاع بوته

بر اساس جدول مقایسه میانگین (جدول ۲)، کاربرد ۶ میلی‌لیتر در لیتر کیتوزان به همراه ۱۰ میلی‌لیتر در لیتر کود مایع جلبک دریایی به صورت محلول پاشی، بالاترین ارتفاع بوته (۲۳/۳۳ سانتی‌متر) در گیاه دارویی آویشن باغی را سبب شده است؛ که با تیمارهای ۶ میلی‌لیتر در لیتر کیتوزان + ۲/۵ میلی‌لیتر در لیتر جلبک دریایی، ۶ میلی‌لیتر در لیتر کیتوزان + ۵ میلی‌لیتر در لیتر جلبک دریایی، ۹ میلی‌لیتر در لیتر کیتوزان بدون مصرف جلبک دریایی و تیمار ۹ میلی‌لیتر در لیتر کیتوزان + ۲/۵ میلی‌لیتر در لیتر جلبک دریایی در یک سطح آماری قرار دارد.

جدول ۲- مقایسه میانگین برهمکنش محلول پاشی کیتوزان و جلبک دریایی بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی آویشن باغی.

Table 2. Mean comparison of the interaction effect of foliar application of chitosan and seaweed on some morphophysiological traits of *Thymus vulgaris* L.

کیتوزان Chitosan (ml.l ⁻¹)	جلبک دریایی Seaweed (ml.l ⁻¹)	ارتفاع بوته Plant height (cm)	قطر ساقه اصلی Main stem diameter (mm)	کلروفیل a Chlorophyll a mg.g ⁻¹ fresh) (weight	کلروفیل b Chlorophyll b mg.g ⁻¹ fresh) (weight	کلروفیل کل Total chlorophyll mg.g ⁻¹ fresh) (weight
0	0	17.83 ^e	2.90 ^m	0.633 ^h	0.213 ^h	0.846 ^k
	2.5	18.83 ^{de}	3.31 ^k	0.663 ^g	0.222 ^h	0.885 ^j
	5	20.17 ^{bcd}	3.36 ^j	0.670 ^g	0.237 ^g	0.907 ⁱ
	10	21.67 ^{abc}	3.52 ^h	0.687 ^f	0.247 ^g	0.934 ^h
3	0	20.67 ^{bcd}	3.15 ^l	0.663 ^g	0.217 ^h	0.880 ^j
	2.5	20.50 ^{bcd}	3.44 ⁱ	0.673 ^{fg}	0.240 ^g	0.913 ⁱ
	5	20.17 ^{bcd}	3.89 ^f	0.717 ^e	0.287 ^e	1.004 ^g
	10	20.87 ^{bcd}	4.03 ^d	0.730 ^e	0.293 ^{de}	1.023 ^f
6	0	20.67 ^{bcd}	3.66 ^g	0.667 ^g	0.240 ^g	0.907 ⁱ
	2.5	21.33 ^{abc}	3.50 ^h	0.730 ^e	0.260 ^f	0.990 ^g
	5	21.67 ^{abc}	4.02 ^d	0.793 ^c	0.290 ^{de}	1.083 ^d
	10	23.33 ^a	4.61 ^b	0.920 ^a	0.387 ^a	1.307 ^a
9	0	22.33 ^{ab}	3.87 ^f	0.673 ^{fg}	0.263 ^f	0.936 ^h
	2.5	21.33 ^{abc}	3.95 ^e	0.760 ^d	0.300 ^{cd}	1.060 ^e
	5	20.83 ^{bcd}	4.23 ^c	0.890 ^b	0.373 ^b	1.263 ^b
	10	19.67 ^{cde}	4.67 ^a	0.797 ^c	0.310 ^c	1.107 ^c

در هر ستون اعدادی با حرف مشابه تفاوت معنی داری با هم در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن ندارند.

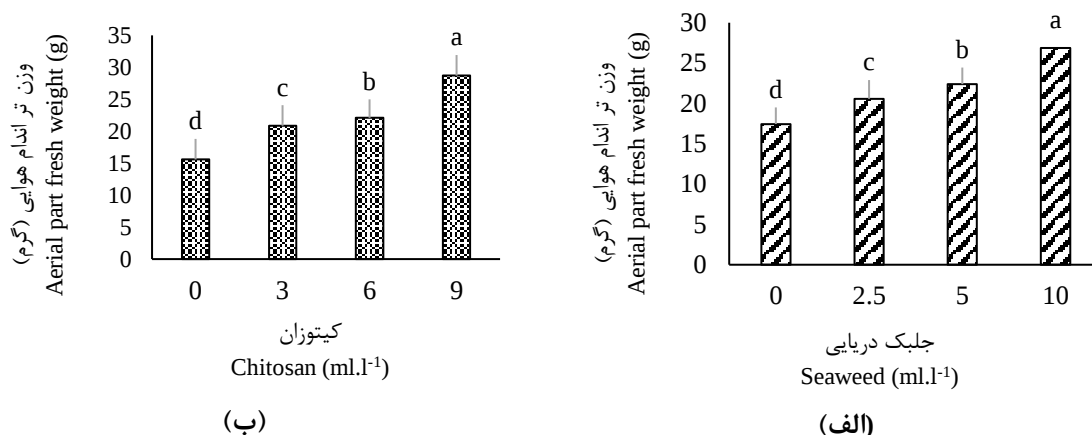
In each column, numbers with the same letter do not have a significant difference at the 5% probability level of Duncan's test.

قطر ساقه اصلی

بیشترین قطر ساقه اصلی (۴/۶۷ میلی‌متر) با کاربرد بیشترین سطح محلول پاشی (۹ میلی‌لیتر در لیتر کیتوزان به همراه ۱۰ میلی‌لیتر در لیتر جلبک دریایی) بدست آمد که ۱/۶۷ برابر تیمار شاهد ارزیابی شد. همچنین کمترین قطر ساقه اصلی (۲/۹۰ میلی‌متر) نیز مربوط به تیمار شاهد (عدم مصرف کیتوزان و جلبک دریایی) بود (جدول ۲).

وزن تر و خشک اندام هوایی

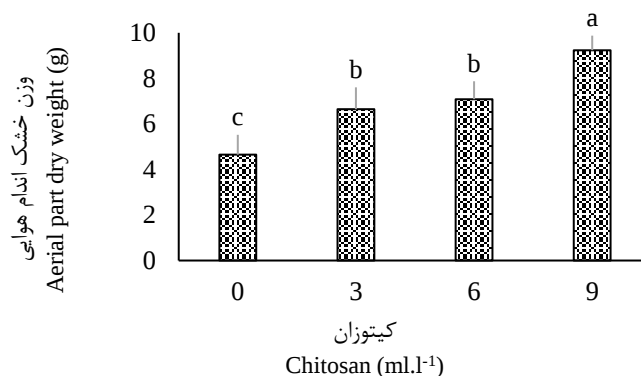
یافته‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که برهمکنش تیمارهای کودی بر وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه آویشن باغی معنی دار نبود؛ اما اثرات ساده هر یک از تیمارهای کودی (کیتوزان و جلبک دریایی) بر میزان وزن تر اندام هوایی و اثر ساده محلول پاشی کیتوزان بر وزن خشک اندام هوایی معنی دار شد (جدول ۱). به طوری که بیشترین وزن تر اندام هوایی مربوط به تیمار ۹ میلی‌لیتر در لیتر کیتوزان (۲۸/۷۰ گرم) و تیمار ۱۰ میلی‌لیتر در لیتر جلبک دریایی (۲۶/۸۵ گرم) بود. در واقع با افزایش میزان مصرف کیتوزان و جلبک دریایی، مقدار وزن تر آویشن باغی نیز افزایش یافت. همچنین کمترین مقدار این صفت نیز مربوط به تیمار شاهد می‌باشد (شکل ۱).



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر ساده محلول پاشی (الف) کود جلبک دریایی و (ب) کیتوزان بر وزن تر اندام هوایی آویشن باغی. (در هر ستون اعدادی با حروف مشابه تفاوت معنی‌داری با هم در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن ندارند).

Fig. 1. Mean comparison of simple effect foliar application of (a) seaweed fertilizer and (b) chitosan on aerial part fresh weight of *Thymus vulgaris* L. (In each column, numbers with the same letter do not have a significant difference at the 5% probability level of Duncan's test.)

بر اساس نمودار مقایسه میانگین (شکل ۲)، حداکثر وزن خشک اندام هوایی آویشن باغی (۹/۲۳ گرم) با کاربرد بالاترین مقدار کیتوزان (۹ میلی‌لیتر در لیتر) حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد ۹۸ درصد افزایش داشت. کمترین مقدار وزن خشک اندام هوایی نیز در تیمار شاهد (عدم مصرف کود) با مقدار عددی ۴/۶۵ گرم مشاهده شد.

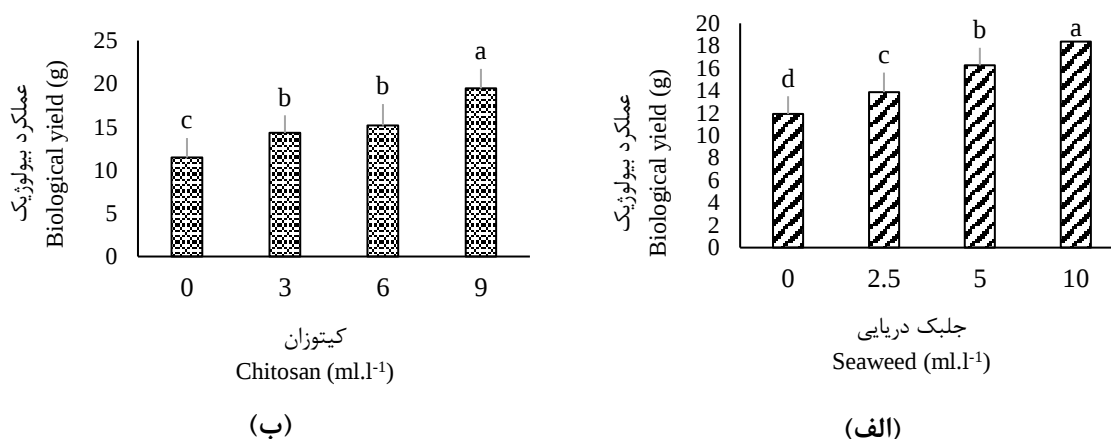


شکل ۲- مقایسه میانگین اثر ساده محلول پاشی کیتوزان بر وزن خشک اندام هوایی آویشن باغی. (در هر ستون اعدادی با حروف مشابه تفاوت معنی‌داری با هم در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن ندارند).

Fig. 2. Mean comparison of simple effect foliar application of chitosan on aerial part dry weight of *Thymus vulgaris* L. (In each column, numbers with the same letter do not have a significant difference at the 5% probability level of Duncan's test.).

عملکرد بیولوژیک

نتایج مقایسه میانگین اثر تیمارهای مورد استفاده (کیتوزان و عصاره جلبک دریایی) نشان داد که استفاده از بالاترین میزان مصرف کیتوزان (۹ میلی‌لیتر در لیتر) و جلبک دریایی (۱۰ میلی‌لیتر در لیتر) سبب بیشترین میزان عملکرد بیولوژیک در گیاه آویشن باغی شد. همچنین عدم کاربرد مواد غذایی ذکر شده، کمترین مقدار عملکرد بیولوژیک را نشان داد (شکل ۳).



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر ساده محلول پاشی (الف) کود جلبک دریایی و (ب) کیتوزان بر عملکرد بیولوژیک آویشن باغی. (در هر ستون عددی با حروف مشابه تفاوت معنی داری با هم در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن ندارند).

Fig. 3. Mean comparison of simple effect foliar application of (a) seaweed fertilizer and (b) chitosan on biological yield of *Thymus vulgaris* L. (In each column, numbers with the same letter do not have a significant difference at the 5% probability level of Duncan's test.)

کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل

مطابق جدول تجزیه واریانس (جدول ۱)، برهمکنش محلول پاشی کود مایع کیتوزان و جلبک دریایی آسکوفیلوم نودوسوم بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شد. به طوری که حداکثر میزان تمام رنگدانه های فتوسنتزی با کاربرد ۶ میلی لیتر در لیتر کیتوزان به همراه ۱۰ میلی لیتر در لیتر عصاره جلبک دریایی به دست آمد. کمترین مقدار صفات مذکور نیز در تیمار شاهد (عدم استفاده از منابع کودی) مشاهده شد (جدول ۲).

خصوصیات فیتوشیمیایی

تجزیه واریانس اثر محلول پاشی کیتوزان و جلبک دریایی بر خصوصیات فیتوشیمیایی آویشن باغی (جدول ۳) نشان داد که اثر ساده کیتوزان بر میزان فنول کل در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شد. همچنین میزان کاروتنوئید، فلاونوئید کل و درصد اسانس تحت تأثیر برهمکنش تیمارهای کودی در سطح احتمال ۱ درصد قرار گرفت.

کاروتنوئید

بر اساس جدول تجزیه واریانس (جدول ۳)، برهمکنش محلول پاشی کود مایع کیتوزان و جلبک دریایی آسکوفیلوم نودوسوم بر میزان کاروتنوئید در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شد. نتایج جدول مقایسه میانگین حاکی از این است که بیشترین مقدار کاروتنوئید در تیمار کاربرد ۶ میلی لیتر در لیتر کیتوزان به همراه ۱۰ میلی لیتر در لیتر عصاره جلبک دریایی مشاهده شد. کمترین مقدار صفات مذکور نیز در تیمار شاهد (عدم استفاده از منابع کودی) بدست آمد (شکل ۴).

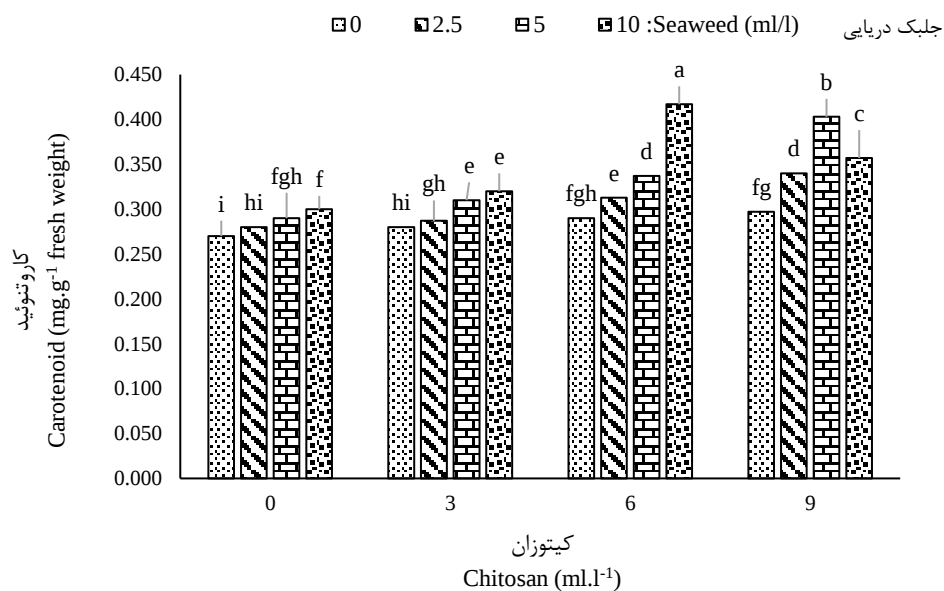
جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر محلول‌پاشی کیتوزان و جلبک دریایی بر برخی ویژگی‌های فیتوشیمیایی آویشن باغی.

Table 3. Analysis of variance (mean square) effect of chitosan and seaweed foliar application on some phytochemical traits of *Thymus vulgaris* L.

منابع تغییرات Sources of Variations	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات (Mean square)			
		کاروتنوئید Carotenoid	فنول کل Total phenol	فلاونوئید کل Total flavonoid	درصد اسانس Essential oil percentage
تکرار Replication	2	0.00 ^{ns}	0.01 ^{ns}	0.04 ^{ns}	0.92 ^{ns}
کیتوزان Chitosan	3	0.00 ^{ns}	2.50 ^{**}	2.95 ^{**}	0.28 ^{**}
جلبک دریایی Seaweed	3	0.00 ^{ns}	0.01 ^{ns}	0.26 ^{**}	0.11 ^{**}
کیتوزان × جلبک دریایی Chitosan × Seaweed	9	0.01 ^{**}	0.01 ^{ns}	0.37 ^{**}	0.07 ^{**}
خطای آزمایش Error	35	0.00	0.01	0.03	0.01
ضریب تغییرات Coefficient of variation (%)	-	2.28	1.47	10.00	10.00

*, ** و ^{ns} به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و غیرمعنی‌دار

*, ** and ns are significant at 5% and 1% probability level and non-significant, respectively

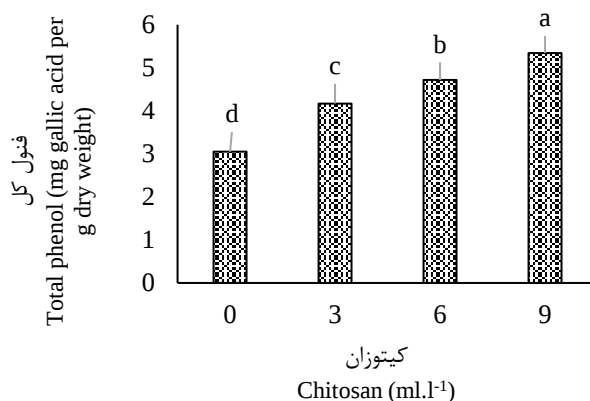


شکل ۴- مقایسه میانگین برهمکنش محلول‌پاشی کیتوزان و جلبک دریایی بر میزان کاروتنوئید آویشن باغی. (در هر ستون اعدادی با حروف مشابه تفاوت معنی‌داری با هم در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن ندارند.)

Fig. 4. Mean comparison of the interaction effect of foliar application of chitosan and seaweed on carotenoid content of *Thymus vulgaris* L. (In each column, numbers with the same letter do not have a significant difference at the 5% probability level of Duncan's test.)

فنول کل

نتایج پژوهش حاکی از این است که اثر ساده محلول پاشی کیتوزان بر میزان فنول کل در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شد (جدول ۳). بر اساس نمودار مقایسه میانگین (شکل ۵) بیشترین میزان فنول کل در گیاه آویشن باغی (۵/۳۴ میلی گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک) با کاربرد ۹ میلی لیتر بر لیتر کیتوزان به صورت محلول پاشی به دست آمد که نسبت به تیمار شاهد ۷۵ درصد افزایش داشت. به طور کلی با افزایش سطوح محلول پاشی کیتوزان، میزان فنول کل نیز افزایش می یابد.



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر ساده محلول پاشی کیتوزان بر میزان فنول کل آویشن باغی. (در هر ستون اعدادی با حروف مشابه تفاوت معنی داری با هم در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن ندارند.)

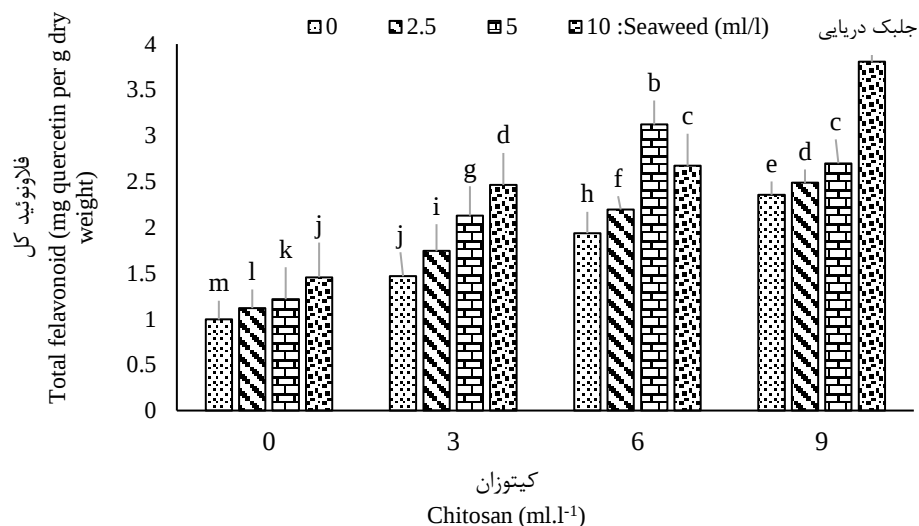
Fig. 5. Mean comparison of simple effect foliar application of chitosan on total phenol content of *Thymus vulgaris* L. (In each column, numbers with the same letter do not have a significant difference at the 5% probability level of Duncan's test.)

فلاونوئید کل

میزان فلاونوئید کل در آویشن باغی تحت تأثیر برهمکنش کیتوزان و جلبک دریایی قرار گرفت (جدول ۳). به گونه ای که بالاترین میزان فلاونوئید (۳/۸۰۷ میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) با کاربرد توأم تیمارهای ۹ میلی لیتر در لیتر کیتوزان و ۱۰ میلی لیتر در لیتر عصاره جلبک دریایی بدست آمد. پس از آن نیز تیمار ۶ میلی لیتر در لیتر کیتوزان به همراه ۵ میلی لیتر در لیتر جلبک دریایی بیشترین مقدار فلاونوئید کل را به خود اختصاص داد. کمترین مقدار این متابولیت (۰/۹۹۵ میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) نیز مربوط به عدم کاربرد منابع کودی بود (شکل ۶).

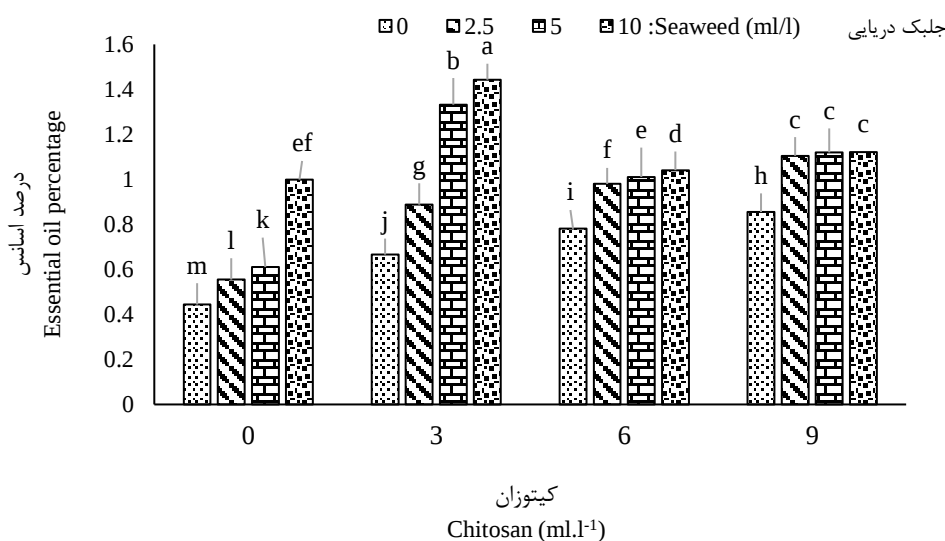
درصد اسانس

یافته های حاصل از این پژوهش نشان داد که استفاده از ۳ میلی لیتر در لیتر کیتوزان به همراه ۱۰ میلی لیتر در لیتر جلبک دریایی به صورت محلول پاشی می تواند درصد اسانس را در آویشن باغی حدود ۳/۲۵ برابر نسبت به عدم کاربرد کودهای ذکر شده، افزایش دهد. بنابراین کاربرد سطوح متوسط از کیتوزان به همراه بالاترین سطح جلبک دریایی در این تحقیق سبب حصول بالاترین میزان اسانس در آویشن باغی شده است (شکل ۷).



شکل ۶- مقایسه میانگین برهمکنش محلول‌پاشی کیتوزان و جلبک دریایی بر میزان فلاونوئید کل آویشن باغی. (در هر ستون اعدادی با حروف مشابه تفاوت معنی‌داری با هم در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن ندارند).

Fig. 6. Mean comparison of the interaction effect of foliar application of chitosan and seaweed on total flavonoid content of *Thymus vulgaris* L. (In each column, numbers with the same letter do not have a significant difference at the 5% probability level of Duncan's test.).



شکل ۷- مقایسه میانگین برهمکنش محلول‌پاشی کیتوزان و جلبک دریایی بر درصد اسانس آویشن باغی. (در هر ستون اعدادی با حروف مشابه تفاوت معنی‌داری با هم در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن ندارند).

Fig. 7. Mean comparison of the interaction effect of foliar application of chitosan and seaweed on essential oil percentage of *Thymus vulgaris* L. (In each column, numbers with the same letter do not have a significant difference at the 5% probability level of Duncan's test.).

بحث

با توجه به نتایج پژوهش حاضر مشخص شد که کاربرد کودهای زیستی کیتوزان و جلبک دریایی به صورت محلول‌پاشی سبب بهبود ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی آویشن باغی شد. و در اغلب صفات، کاربرد بالاترین سطوح کودی سبب

حصول بهترین نتیجه گردید. در آزمایشی با محلول پاشی نانوکیتوزان، اثرات منفی تنش بر ارتفاع گیاه سیاهدانه^۱ جبران شده و علاوه بر این، افزایش ارتفاع نیز مشاهده شد. سازوکار عمل کیتوزان بر رشد گیاهان ناشناخته مانده است؛ در عین حال ممکن است کاربرد این الیسیستور زیستی، رشد و نمو گیاه را توسط برخی مسیرهای انتقال پیام مربوط به بیوسنتز اکسین و از طریق مسیر وابسته به تریپتوفان افزایش دهد (۳). در پژوهشی بیشترین ارتفاع بوته در گیاه رازیانه^۲ با میانگین ۲۴ سانتی متر در تیمار ۱/۵ میلی مولار اسیدسالیسیلیک و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر کیتوزان بدست آمد و کمترین مقدار آن با ۴۵ درصد کاهش مربوط به شاهد بود (Forouzandeh et al., 2019). کیتوزان با تنظیم فشار اسمزی سبب افزایش میزان جذب مواد غذایی و آب به وسیله گیاه شده و رشد گیاه را افزایش می دهد. در همین راستا گزارش شده که کاربرد کیتوزان، طول ساقه و ریشه شنبلیله^۳ (Mosapour Yahyaabadi et al., 2016) و کاربرد همزمان کیتوزان و سالیسیلیک اسید، ارتفاع گیاه گلرنگ^۴ (Amiri et al., 2015) را افزایش داده است. تحقیقات نشان داده که افزایش غلظت جلبک دریایی سبب افزایش معنی دار ارتفاع در گیاه مرزه^۵ (Rezaei et al., 2020) و همیشه بهار^۶ (Heydari et al., 2017) گردید.

در این آزمایش قطر ساقه آویشن باغی تحت تأثیر بالاترین میزان تیمارهای کودی (کیتوزان و جلبک دریایی) افزایش یافت. در آزمایشی، بیشترین قطر ساقه گیاه دارویی *گالگا* در بوته های تحت تیمار با کیتوزان با غلظت ۰/۲ و ۰/۴ گرم بر لیتر بدست آمد (Angouti et al., 2022). استفاده از کود آلی جلبک دریایی بر قطر ساقه مرزه در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود، به طوری که بیشترین قطر ساقه در تیمار ۱۰ میلی لیتر در لیتر کود جلبک دریایی و کمترین میزان در تیمار شاهد مشاهده شد (Rezaei et al., 2020). یافته ها روی گیاه فلفل قرمز^۷ نیز حاکی از این است که استفاده از جلبک دریایی سبب افزایش قطر ساقه در این گیاه گردیده است (Vijayakumar et al., 2019).

افزایش غلظت کیتوزان و جلبک دریایی موجب افزایش وزن تر و خشک آویشن باغی شد. در پژوهشی بیشترین وزن تر و خشک اندام هوایی در آویشن دنایی با کاربرد همزمان کیتوزان و اسید سالیسیلیک به غلظت ۱/۵ میلی مولار حاصل شد (Mohkami, and Bidarnamani, 2023). در بررسی اثر تحریک محیط کشت بر گیاه گلرنگ، بیشترین سرعت رشد بیوماس کالوس از تیمار کاربرد توأم اسید سالیسیلیک و کیتوزان در شرایط غیرتنش بدست آمد (Golkar et al., 2019). همچنین کاربرد محرک کیتوزان در گیاه شنبلیله منجر به افزایش صفات رشدی مانند طول ساقه و وزن تر و خشک گردید (Mosapour Yahyaabadi et al., 2016). پژوهشگران بیان کردند که کاربرد کیتوزان با تحریک رشد ساقه و ریشه و در نتیجه افزایش جذب آب و مواد غذایی و انتقال بهتر این مواد در اندام های گیاهی، منجر به افزایش وزن تر و خشک گیاه می گردند (Shafeek et al., 2016). در بررسی محلول پاشی کیتوزان بر عملکرد گیاه دارویی مرزنجوش در شرایط تنش مشخص شد که تنش کم آبی سبب کاهش درصد ماده خشک اندام هوایی این گیاه گردید ولی کاربرد کیتوزان، میزان ماده خشک را در شرایط تنش بهبود بخشید (Aghaee Dizaj et al., 2022). پژوهشگران بیان کردند که گیاهان تیمار شده با کیتوزان با مکانیسم فیزیولوژیکی ذاتی، ضمن اجازه به بازیابی جذب سریع کربن، با حفظ زیست توده باعث افزایش عملکرد می شوند (Bittelli et al., 2011). استفاده از محرک زیستی کیتوزان سبب افزایش وزن تر و خشک ساقه و ریشه گیاه دارویی *گالگا* شد (Angouti et al., 2022). در پژوهشی استفاده از عصاره جلبک دریایی در گیاه شنبلیله در شرایط تنش باعث افزایش وزن تر بوته، عملکرد دانه، تعداد غلاف و تعداد دانه در غلاف در مقایسه با عدم استفاده از کود زیستی در این شرایط شد (Rezazadeh Roghani et al., 2019). جلبک دریایی با افزایش تراوایی غشای سلول های گیاهی و در نتیجه جذب بیشتر عناصر ماکرو و میکرو، باعث افزایش وزن تر و خشک میوه و تعداد آنها می شود. تأثیر مثبت جلبک دریایی احتمالاً به دلیل داشتن هورمون های محرک رشد و مواد معدنی و مغذی می باشد که علاوه بر افزایش تقسیم سلولی و افزایش اندازه سلول ها، سبب افزایش میزان کلروفیل برگ و فعالیت فتوسنتزی گیاه شده و در نتیجه با افزایش سنتز و ساخت کربوهیدرات ها، باعث تولید میوه های بزرگتر نسبت به شاهد شده است (Latique et al., 2013).

۱- *Nigella sativa* L. ۲- *Foeniculum vulgare* ۳- *Trigonella foenum-graecum* L. ۴- *Carthamus tinctorius* L. ۵- *Satureja hortensis* L. ۶- *Calendula officinalis* L. ۷- *Capsicum annum* L.

براساس نتایج پژوهش حاضر، استفاده از بیشترین میزان کیتوزان و جلبک دریایی بصورت محلول‌پاشی توانست بالاترین عملکرد بیولوژیک را در آویشن باغی سبب شود. نتایج پژوهش‌ها نشان داد که با افزایش سطح کیتوزان و اسید سالیسیلیک، عملکرد بیولوژیک در گیاه رازیانه به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافت (Forouzandeh *et al.*, 2019). افزایش عملکرد زیستی می‌تواند به دلیل مصرف کیتوزان و تحریک رشد ساقه و ریشه و در نتیجه افزایش جذب آب و مواد غذایی و انتقال بهتر این مواد در اندام گیاهی باشد. کاربرد کیتوزان و جلبک دریایی به دلیل تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه توانسته با افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی، میزان فتوسنتز را در گیاه افزایش دهد و از این طریق قدرت منبع و فراهمی فتواسیمیلات‌ها را نیز افزایش داده؛ که این امر در نهایت منجر به بهبود عملکرد زیستی در گیاه خواهد شد (Farooq *et al.*, 2010). در پژوهشی مشخص شد که افزایش غلظت عصاره جلبک دریایی سبب افزایش عملکرد بیولوژیک در گیاه گلرنگ شد (Sibi *et al.*, 2016). وزن گیاه در دوران رشد و نمو تحت تأثیر غلظت مواد مغذی و محصولات فتوسنتزی تولیدشده در گیاه می‌باشد. از این‌رو استفاده از جلبک دریایی به علت وجود هورمون‌های رشد و اثر مثبت بر جذب و حرکت مواد مغذی در گیاه موجب افزایش غلظت این ترکیبات مغذی و در نهایت افزایش عملکرد زیستی گیاه خواهد شد (Sunarpi *et al.*, 2010).

رنگدانه‌های فتوسنتزی با کاربرد ۶ میلی‌لیتر در لیتر کیتوزان به همراه ۱۰ میلی‌لیتر در لیتر جلبک دریایی بالاترین مقدار را به خود اختصاص دادند. استفاده از کیتوزان سبب افزایش معنی‌دار میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a و b) و کاروتنوئید در گیاه دارویی زنیان شد (Naderi *et al.*, 2017). در پژوهشی افزایش ۸۹ درصدی میزان کلروفیل a، ۷۲ درصدی میزان کلروفیل b و ۸۷ درصدی در میزان کاروتنوئید در تیمار محلول‌پاشی توأم اسید سالیسیلیک و کیتوزان با غلظت‌های ۱/۵ میلی‌مولار مشاهده گردید که مؤید تأثیر مثبت محرک‌های زیستی بر تجمع رنگدانه‌های فتوسنتزی است (Mohkami and Bidarnamani, 2023). برخی از پژوهشگران گزارش نمودند که محلول‌پاشی کیتوزان بر گیاه شنبلیله تحت تنش شوری، منجر به افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی گردید. آنها اذعان داشتند که استفاده از کیتوزان بیان ژن کلروپلاست را در برگ تحت تأثیر قرار داده و سبب افزایش کلروفیل می‌گردد (Mosapour Yahyaabadi *et al.*, 2016). در پژوهشی دیگر، استفاده از کیتوزان به صورت محلول‌پاشی در تمامی سطوح کاربرد سبب افزایش محتوای کلروفیل بابونه آلمانی شد (Naeemi *et al.*, 2019). افزایش کلروفیل در شرایط کاربرد کیتوزان، به اثرات مثبت ناشی از افزایش دسترسی به ترکیبات آمینواسیدی آزادشده توسط این کود زیستی ارتباط داده شده است. همچنین گزارش شده که کیتوزان قادر است از طریق تقویت سطوح داخلی سایتوکینین در گیاه که محرک سنتز و تولید کلروفیل است، منجر به افزایش کلروفیل گردد (Chibu and Shibayama, 2001). طی پژوهشی مشخص شد که کاربرد کیتوزان، محتوای کلروفیل a را در برگ‌های گیاه قهوه افزایش داد (Dzung *et al.*, 2011). کاربرد کیتوزان توانست سبب بهبود محتوای کلروفیل کل در گیاه مرزنجوش نیز شود. علت این امر آن است که کیتوزان موجب افزایش محتوای نیتروژن و پتاسیم در شاخه‌های گیاهی شده و به افزایش تعداد کلروپلاست و در نتیجه سنتز بیشتر کلروفیل کمک می‌کند (Aghaee, 2022). با توجه به اینکه کیتوزان در افزایش پاسخ دفاعی به رادیکال‌های آزاد در شرایط تنش نقش دارد؛ لذا تیمار با کیتوزان سبب افزایش محتوای کاروتنوئید به عنوان رنگیزه کمکی و مولکول آنتی‌اکسیدانی شده است. همچنین به دلیل وجود عنصر نیتروژن در محرک کیتوزان و نقش ساختاری این عنصر در حلقه‌های تتراپیرولی کلروفیل، چنین افزایشی توجیه‌پذیر می‌باشد. از طرف دیگر احتمالاً مصرف کیتوزان با تأثیر بر ژن‌های مسئول سازنده کلروفیل، تولید کلروفیل را افزایش داده است (Malekpoor *et al.*, 2017). غلظت کلروفیل برگ شاخص مستقیم سلامتی گیاه و وضعیت رشد آن است و می‌تواند شاخصی از وضعیت فتوسنتزی گیاه باشد. افزایش میزان کلروفیل در گیاه گوار^۱ تحت محلول‌پاشی با عصاره جلبک دریایی گزارش شده است (Thambiraj *et al.*, 2012). از علل تأثیر مثبت عصاره جلبک بر افزایش میزان کلروفیل می‌توان به وجود هورمون‌های رشد اکسین و جیبرلیک اسید در این کود زیستی اشاره کرد. وجود بتائین در عصاره جلبک نیز بر کاهش تخریب کلروفیل تأثیر مثبت

دارد. افزایش کلروفیل می‌تواند به دلیل تغییر سوخت و ساز نیتروژن و سایر عناصر غذایی باشد (Shahbazi et al., 2015). Latique و همکاران (Latique et al., 2013) بیان کردند که شاید دلیل افزایش کلروفیل در گیاهان لوبیای محلول‌پاشی شده با عصاره جلبک دریایی به دلیل ماندگاری و کاهش تجزیه مولکول کلروفیل به دلیل وجود گلاسیسین بتائین در عصاره جلبک دریایی باشد.

در این آزمایش، حداکثر مقدار فنول کل در گیاه آویشن باغی با کاربرد ۹ میلی‌لیتر در لیتر کیتوزان بدست آمد. اهمیت ترکیبات فنولی مربوط به خواص اکسیداسیون و احیاء آنهاست که نقش مهمی در جذب و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد دارند. تحقیقات نشان داده که کیتوزان سبب افزایش ترکیبات فنلی در گیاه کتان^۲ شده است (Esmailzadeh et al., 2012). در پژوهشی دیگر مشاهده شد که تیمار کیتوزان سبب افزایش معنی‌دار ترکیبات فنولی در گیاه زنیان شد. پژوهشگران دلیل این افزایش را، نقش آنتی‌اکسیدانی کیتوزان در برابر ROSها عنوان کردند (Naderi et al., 2017). نتایج پژوهشی نشان داده که استفاده از کیتوزان بر میزان فنول کل در عصاره هیدروالکلی آویشن دناپی معنی‌دار بود (Mohkami and Bidarnamani, 2023). همچنین در کشت تهیج شده درمنه کوهی با انواع هورمون‌ها و محرک‌های زیستی، بیشترین مقادیر فنولیک‌ها، تانن تام، ترکیبات فنولی غیرتاننی در تیمار کیتوزان تجمع یافت. پژوهشگران بیان کردند که در شرایط تهیج، افزایش سنتز و فعالیت آنزیم‌های فیل آلانین آمونیاپاز و چالکون سنتتاز در افزایش سنتز ترکیبات فنولی مؤثر است (Asghari et al., 2015). محلول‌پاشی کیتوزان با تحریک آنزیم‌های بیوسنتزی سبب افزایش ترکیبات پلی‌فنولی در گیاه پونه^۳ (Heng et al., 2012) و رازیانه (Forouzandeh et al., 2019) نیز شد.

استفاده از بالاترین غلظت تیمارهای کودی بصورت محلول‌پاشی (کیتوزان و جلبک دریایی) سبب افزایش میزان فلاونوئید کل در گیاه آویشن باغی گردید. بر اساس پژوهش‌های صورت گرفته، بیشترین میزان فلاونوئید کل آویشن دناپی (۴/۷۹ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) در تیمار کاربرد همزمان اسید سالیسیلیک و کیتوزان ۱/۵ میلی‌گرم بدست آمد. همچنین کمترین میزان فلاونوئید کل نیز مربوط به تیمار ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و عدم کاربرد کیتوزان بود (Mohkami and Bidarnamani, 2023). در شرایط تنش شوری نیز بیشترین میزان فلاونوئیدها در کشت‌های تیمار شده با اسید سالیسیلیک و کیتوزان بدست آمد که پژوهشگران علت این امر را فعال شدن ژن‌های دخیل در مسیر بیوسنتزی ترکیبات فلاونوئیدی (نظیر فیل پروپانوئید) بیان کردند (Golkar et al., 2019). در مطالعات مختلف مشخص شد که عصاره جلبک دریایی حاوی ترکیبات مختلفی از جمله آمینواسیدها، آلکالوئیدها، گالیک اسید، ترکیبات استروئیدی، اسیدهای چرب، فنل‌ها، ترکیبات آروماتیک نظیر آلکان‌ها و کتون‌های هالوژن و نهایتاً پلی‌سولفات‌های مختلف می‌باشد (Hunang et al., 2014). میزان فنل و فلاونوئید در گیاه همیشه‌بهار تحت تأثیر کودهای آلی و عصاره جلبک دریایی قرار گرفت (Vojodi Mehrabani et al., 2019). تحقیقات انجام شده در کلم بروکلی نشان داد که استفاده از عصاره جلبک دریایی موجب افزایش در محتوای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در گیاهان مورد بررسی به دلیل افزایش دسترسی به واسطه‌های مورد نیاز در بیوسنتز ترکیبات فنولی و افزایش فعالیت آنزیم‌های دخیل در این امر (فنیل آلانین آمونیاپاز و چالکون سنتتاز) شد (Lola-Luz et al., 2014).

در تحقیق حاضر کاربرد ۳ میلی‌لیتر در لیتر کیتوزان به همراه ۱۰ میلی‌لیتر در لیتر جلبک دریایی سبب حصول بالاترین درصد اسانس در گیاه آویشن باغی شد. در سال‌های اخیر استفاده از مولکول‌های علامت‌دهنده به‌عنوان البیستور، یک استراتژی مؤثر برای تولید متابولیت‌های ثانویه خاص در گیاه افزایش یافته است. بهبود در عملکرد اسانس با استفاده از کیتوزان ممکن است به دلیل افزایش در رشد چرخه، جذب مواد غذایی و یا تغییر در تعداد غده‌های ترشحی برگ و یا بیوسنتز مونوترپن‌ها باشد (Ghorbanli et al., 2011). در بررسی اثر ساده کیتوزان بر میزان اسانس گیاه آویشن دناپی مشخص شد که بیشترین میزان اسانس در تیمار محلول‌پاشی با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار بدست آمد که نسبت به تیمار شاهد ۲۳ درصد افزایش یافته بود (Mohkami and Bidarnamani, 2023). همچنین محلول‌پاشی بوته‌های مرزنجوش با کیتوزان منجر به افزایش غلظت ترکیبات ترپنی و در نتیجه افزایش درصد اسانس شد (Yin et al., 2012). نتایج بدست‌آمده از تجزیه واریانس اثرات سطوح مختلف

کیتوزان بر عملکرد اسانس گیاه زوفا نشان داد که کیتوزان اثر معنی‌داری بر میزان عملکرد اسانس این گیاه داشت. بر اساس نتایج مقایسه میانگین، با افزایش سطوح کیتوزان، عملکرد اسانس نیز افزایش یافت و بالاترین عملکرد اسانس (۱/۳ درصد حجم به وزن) از تیمار ۰/۵ گرم در لیتر کیتوزان حاصل شد (Alavi Samani et al., 2021). کاربرد محلول پاشی کیتوزان در گیاه بابونه آلمانی نیز منجر به افزایش معنی‌دار درصد اسانس گردید (Naeemi et al., 2019). استفاده از کیتوزان سبب افزایش درصد اسانس در گیاه رازیانه (Forouzandeh et al., 2019) و بادرنجبویه (Hassanzadeh et al., 2016) شد. پژوهشگران بیان کردند که بیشترین درصد اسانس مرزه با کاربرد ۵ میلی‌لیتر در لیتر عصاره جلبک دریایی بدست آمد (Rezaei et al., 2020). نتایج این پژوهش با نتایج سایر پژوهشگران بر روی گیاه مرزنجوش (Karagiannidis et al., 2018) و ریحان (Andrea et al., 2007) مطابقت دارد. کود جلبک دریایی می‌تواند سبب بهبود بیوسنتز پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، پلی‌فنول‌ها و سایر متابولیت‌ها در گیاهان شود. این ترکیبات دارای تأثیر مثبت بر متابولیسم سلولی بوده و موجب افزایش رشد گیاه و تعداد غدد اسانس در برگ‌ها می‌شوند (Chojnacka et al., 2012).

نتیجه‌گیری

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که الیسیستورهای زیستی نظیر کیتوزان و عصاره جلبک دریایی می‌توانند تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی مثبتی را در گیاه دارویی آویشن باغی القا کنند. این محرک‌های زیستی به‌دلیل داشتن عناصر غذایی مفید، فعال‌سازی هورمون‌های مؤثر در رشد، افزایش فتوسنتز، افزایش متابولیسم و بهبود جذب و انتقال مواد غذایی سبب افزایش رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه خواهند شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده بالاترین میزان ارتفاع بوته و رنگدانه‌های فتوسنتزی با کاربرد همزمان ۶ میلی‌لیتر در لیتر کیتوزان و ۱۰ میلی‌لیتر در لیتر جلبک دریایی به دست آمد. همچنین کاربرد بالاترین سطح کودی (۹ میلی‌لیتر در لیتر کیتوزان و ۱۰ میلی‌لیتر در لیتر جلبک دریایی) سبب تولید بیشترین قطر ساقه اصلی، وزن تر و خشک اندام هوایی، عملکرد بیولوژیک، فنول کل و فلاونوئید کل گردید. حداکثر تولید اسانس در گیاه آویشن باغی نیز در نتیجه‌ی محلول پاشی توأم ۳ میلی‌لیتر در لیتر کیتوزان به همراه ۱۰ میلی‌لیتر در لیتر جلبک دریایی مشاهده شد که افزایش قابل توجهی نسبت به تیمار شاهد داشت. بنابراین استفاده از کودهای زیستی می‌تواند روشی مؤثر در بهبود کمیت و کیفیت آویشن باغی باشد.

References

منابع

- Aghaee Dizaj, L., H. Mohammadi and A. Aghaee. (2022). Physiological response of two oregano species medicinal plant to foliar spraying of chitosan under water deficit stress conditions. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 15(1), 185-197. (In Persian)
- Akakuru, O.U., H. Louis, P. I. Amos, O.C. Akakuru, E.I. Nosike and E.F. Ogulewe. (2018). The chemistry of chitin and chitosan justifying their nanomedical utilities. *Biochemical Pharmacology*, 7(1), 241- 247.
- Alaghemand, A., Sh. Khaghani, M.R. Bihamta, M. Gomarian and M. Ghorbanpour. (2019). Effect of chitosan and nano-chitosan on agronomic properties and omega-3, 6 and 9 fatty acids in some cultivars of *Nigella sativa* L. under drought stress condition. *Eco-phytochem. Journal of Medicinal Plants*, 7(4), 83-96. (In Persian)
- Alavi Samani, S.M., A. Ghasemi Pirbalouti and F. Malekpoor. (2021). Effect of foliar application of chitosan on the quantity and quality of *Hyssopus officinalis* L. subsp. *angustifolius* Bieb. Essential oil under different irrigation regimes. *Ecophytochemistry journal of Medicinal Plants*, 9(3), 69-81. (In Persian)
- Amiri, A., P. Yadolahi, A. Siroosmehr and S. Esmaeilzadeh. (2015). Effect of drought stress and chitosan and salicylic spray on morphological parameters of *Carthamus tinctorius* L. in Sistan. *Journal of Oil Plant Production*, 2, 43-56. (In Persian)
- Andrea, C., G. Lingua, L. Bardi, G. Masoero and G. Berta. (2007). Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and essential oil composition in *Ocimum basilicum* var. Genovese. *Caryologia*, 60(1-2), 106-110.

- Angouti, F., H. Nourafcan, S. Saeedi Sar, A. Asadi and R. Ebrahimi. (2022). The effect of different levels of chitosan and salicylic acid on morphological traits of the medicinal plant *Galega* (*Galega officinalis* L.). *Journal of Crop Improvement*, 24(4), 1341-1358. (In Persian)
- Arnon, A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23, 112-121.
- Asghari, G.R., R. Ghasemi, M. Yosefi and N. Mehdinezhad. (2015). Effect of hormones, salicylic acid, chitosan on phenolic compounds in *Artemisia aucheri* in vitro. *Journal of Plant Process and Function*, 10(3), 93-100. (In Persian)
- Babaei, Z., M. Seleucid and B. Fazelinasab. (2018). Investigation of the effect of biotic and abiotic elicitors on the expression of Hyp-1 gene in *Hypericum perforatum*. *New Genetics*, 13(4), 543-549. (In Persian)
- Bittelli, M., M. Flury, G.S. Campbell and E.J. Nichols. 2001. Reduction of transpiration through foliar application of chitosan. *Agricultural and Forest Meteorology*, 107, 167-175.
- Chibu, H. and H. Shibayama. (2001). Effects of chitosan applications on the growth of several crops. In: Uragami Kurita, K. and T. Fukamizo (eds.), Chitin and Chitosan in Life Science. *Yamaguchi*. Pp. 235-239.
- Chojnacka, K., A. Saeid, Z. Witkowska and L. Tuhy. (2012). Biologically active compounds in seaweed extracts—the prospects for the application. *Open Conference Proceedings Journal*, 3(1), 20-28.
- Dzung, N.A., V.T.P. Khanh and T.T. Dzung. (2011). Research on impact of chitosan oligomers on biophysical characteristics, growth, development and drought resistance of coffee. *Carbohydrate Polymers*, 84, 751-755.
- Emami Bistgani, Z., S.A. Siadat, A. Bakhshandeh, A. Ghasemi Pirbaloti and M. Hashemi. (2017). Interactive effects of drought stress and chitosan application on physiological characteristics and essential oil yield of *Thymus daenensis* Celak. *Crop Journal*, 5, 407415.
- Erulan, V., P. Soundarapandian, G. Thirumaran and G. Ananthan. (2009). Studies on the effect of *Sargassum polycystum* extract on the growth and biochemical composition of *Cajanus cajan* (L.). *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental*, 6(4), 392-399.
- Esmailpour, B., H. Fatemi and M. Moradi. (2020). Effect of seaweed extract on physiological and biochemical characteristics of basil (*Ocimum basilicum* L.) under water-deficit stress conditions. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*, 11(1), 59-69. (In Persian)
- Esmailzadeh Bahabadi, S., M. Sharifi, N. Safaie and M. Behmanesh. (2012). Enhancement of lignin and phenylpropanoid compounds production by chitosan in *Linum album* cell culture. *Journal of Plant Biology*, 11, 13-26. (In Persian)
- 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 Agronomy and Crop Science*, 196, 336-345.
- Forouzandeh, M., Z. Mohkami and B. Fazeli Nasab. (2019). Evaluation of Biotic Elicitors Foliar Application on Functional Changes, Physiological and Biochemical Parameters of Fennel (*Foeniculum vulgare*). *Journal of Plant Production*, 25(40), 49-65. (In Persian)
- Ghorbanli, M., G.R. Bakhshi Khaniki, S. Salimi Elizei and M. Hedayati. (2011). Effect of water deficit and its interaction with ascorbate on proline, soluble sugars, catalase and glutathione peroxidase amounts in *Nigella sativa* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 26(4), 466-476. (In Persian)
- Golkar, P., M. Taghizadeh and Z. Yousefian. (2019). The effects of chitosan and salicylic acid on elicitation of secondary metabolites and antioxidant activity of safflower under in vitro salinity stress. *Journal of Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 137(3), 575-585. (In Persian)
- Goudarzian, A., A. Ghasemi Pirbalouti and M. Hossaynzadeh. (2020). Menthol, balance of menthol / menthone, and essential oil contents of *Mentha piperita* L. under foliar-applied chitosan and inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 23(5), 1012-1021.

- Hassanzadeh, K., Kh. Hemmati and M. Alizadeh. (2016). Effect of organic fertilizers and salicylic acid on the yield and some secondary metabolites of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). *Journal of Plant Production Research*, 23, 107-130. (In Persian)
- 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 Agricultural and Food Chemistry*, 60, 136-143.
- Heydari, M., A.M. Daneshian Mogaddam and H. Nourafcan. (2017). Effect of vermicompost and liquid seaweed fertilizer on morpho-physiological properties of marigold (*Calendula officinalis* L.). *Journal of Crop Ecophysiology*, 10 (4), 891-906. (In Persian)
- Hunang, C., W. Lyu, J. Lu and G. Liu. (2014). Optimizing adsorption of Cu (II) using carboxyl methyl chitosan bentonite compound adsorbent by response surface methodological approach. *Journal of Anhui Agricultural University*, 41(3), 479-484.
- Karagiannidis, N., T. Thomidis, D. Lazari, E. Panou-Filotheou and C. Karagiannidou. (2011). Effect of three Greek arbuscular mycorrhizal fungi in improving the growth, nutrient concentration, and production of essential oils of oregano and mint plants. *Scientia Horticulture*, 129(2), 329-334.
- Latique, A., H. Chernane and M. El-Kaoua. (2013). Seaweed liquid fertilizer effect on physiological and biochemical parameters of bean plant under hydroponic system. *European Scientific Journal*, 9(30), 174-191.
- Lola-Luz, T., F. Hennequart and M. Gaffney. (2014). Effects on yield, total phenolic, total flavonoids and total isothiocyanate content of two broccoli cultivars (*Brassica oleraceae*) following the application of a commercial brown seaweed extracts (*Ascophyllum nodosum*). *Agricultural and Food Science*, 23, 28-37.
- Malekpoor, F., A. Salimi and A. Ghasemi Pirbalouti. (2017). Effect of bioelicitor of chitosan on physiological and morphological properties in purple basil (*Ocimum basilicum* L.) under water deficit. *Journal of Plant EcoPhysiology*, 8(27), 56-71. (In Persian)
- Mohkami, Z. and F. Bidarnamani. (2023). The effect of chitosan and salicylic acid elicitors on morphological and phytochemical properties of *Theymus daenensis* Celak. *Journal of Crop Science and Research, Arid Region*. 4(2), 503-517. (In Persian)
- Mosapour Yahyaabadi, H., M. Asgharipour and M. Basiri. (2016). Role of chitosan in improving salinity resistance through some morphological and physiological characteristics in fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*, 7(1), 165-175. (In Persian)
- Muchate, N.S., G.C. Nikalje, N.S. Rajurkar, P. Suprasanna and T.D. Nikam. (2016). Plant salt stress: adaptive responses, tolerance mechanism and bioengineering for salt tolerance. *Botanical Review*, 82(4), 371-406.
- Naderi, S., B.A. Fakheri and M. Seraji. (2017). The effect of chitosan on some physiological and biochemical characteristics of Ajowan (*Carum copticum* L.). *Journal of Crop Science and Research, Arid Region*. 1(1), 51-64. (In Persian)
- Naeemi, M., M.S. Dehghani, E. Gholamalipour Alamdari and H. Jabbari. (2019). Effects of different irrigation regimes and foliar application of chitosan on qualitative and physiological characteristics of German chamomile (*Matricaria chamomilla*). *Journal of Environmental Stresses in Crop Sciences*, 12(2), 471-480. (In Persian)
- Omidbaigi, R. (2008). Production and Processing of Medicinal Plants. *Astan Quds Razavi Publications, Volume III*, 5th Edition, 397pp. (In Persian)
- Ordog, V., W.A. Stirk, J. Van Staden, O. Novak and M. Strnad. (2004). Endogenous cytokinins in the three genera of microalgae from the Chlorophyta. *Journal of Phycology*, 40, 88-95.
- Pramanick, B., K. Brahmachari and A. Ghosh. (2013). Effect of seaweed saps on growth and yield improvement of green gram. *African Journal of Agricultural Research*, 8(13), 1180-1186.

- Rezaei, A., M.T. Ebadi and H. Pirani. (2020). Effect of different levels of seaweed fertilizer on growth parameters, yield and essential oil content of summer savory (*Satureja hortensis* L.). *Journal of Horticultural Science*, 33(4), 685-696. (In Persian)
- Rezazadeh Roghani, Sh., R. Aminian, S. Mafakheri and B. Asghari. (2019). Effect of biological fertilizers on morpho-physiological traits of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) in different moisture conditions. *Horticultural Plants Nutrition*, 2(1), 145-163. (In Persian)
- Shafeek, M.R., Y.I. Helmy, A.A. Ahmed and A.A. Ghoname. (2016). Effect of foliar application of growth regulators (GA3 and Ethereal) on growth, sex expression and yield of summer squash plants (*Cucurbita pepo* L.) under plastic house condition. *International Journal of ChemTech Research*, 9(6), 70-76.
- Shahbazi, F., F. Seyyed Nejad, M. Salimi and A. Gilani. (2015). Effect of seaweed extracts on the growth and biochemical constituents of wheat. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 8(3), 283-287.
- Sibi, M., A. Nezami and H. Khazaie. (2016). The effect of concentration, time and applying instruction of seaweed extract on some morphological characteristics of root extract on some morphological characteristics of root and shoots of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Crop Physiology Journal* 8(29), 5-21. (In Persian)
- Singleton, V.L., R. Orthofer and R.M. Lamuela-Raventós. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Sunarpi., J.A., R. Kurnianingsih, N.I. Julisaniah and A. Nikmatullah. (2010). Effect of seaweed extracts on growth and yield of rice plants. *Nusantara Bioscience*, 2(2), 73-77.
- Taheri, Gh. (2016). Effects of chitosan spraying on physiological characteristics of *Ferula flabelliloba* (Apiaceae) under drought stress. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 13(4), 728-737. (In Persian)
- Thambiraj, J., K. Lingakumar and S. Paulsamy. (2012). Effect of seaweed liquid fertilizer (SLF) prepared from *Sargassum wightii* and *Hypnea musciformis* on the growth and biochemical constituents of the pulse, *Cyamopsis tetragonoloba* (L.). *Journal of Research in Agricultural Sciences*, 1, 65-70.
- Vijayakumar, S., S. Durgadevi, P. Arulmozhi, S. Rajalakshmi, T. Gopalakrishnan and N. Parameswari. (2019). Effect of seaweed liquid fertilizer on yield and quality of *Capsicum annum*. *Acta Ecologica Sinica*, 39(5), 406-410.
- Vojodi Mehrabani, L., M.B. Hassanpour Aghdam, A. Ebrahimzadeh and R. Valizadeh Kamran. (2019). The effect of organic fertilizers and cover beds on yield and some physiological traits of *Calendula officinalis* L. treated with brown algae extract foliar application. *Journal of Plant EcoPhysiology*, 10(35), 212-220. (In Persian)
- Yin, H., X.C. Fretté, L.P. Chrestensen and K. Grevsen. (2012). Chitosan oligosaccharides promote the content of polyphenols in Greek oregano (*Oreganum vulgare* ssp. *Hirtum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(1), 136-143.
- Zhao, J., L.C. Davis and R. Verpoorte. (2005). Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances* 23, 283-333.

Improving the Morphophysiological and Phytochemical Traits of Garden Thyme Sprayed by Chitosan and *Ascophyllum nodosum*

Atie Rezaei¹, Vahid Akbarpour^{2*}, Mohammad Ali Bahmanyar³, Mahboubeh Ashnavar⁴

1. Sana Institute of Higher Education, Sari, Iran

2. Department of Horticultural Sciences and Engineering, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

3. Department of Soil Sciences and Engineering, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

4. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

* Corresponding Author, Email: (v_akbarpour60@yahoo.com, v.akbarpour@sanru.ac.ir)

Nowadays, one of the environmentally friendly methods to increase the biosynthesis of secondary metabolites in medicinal plants is the use of biological elicitors. For this reason, the present study was conducted to investigate the effect of chitosan and seaweed biofertilizers on the quantitative and qualitative traits of garden thyme. This experiment was factorial in the form of a randomized complete block design with two factors: chitosan liquid fertilizer (0, 3, 6 and 9 ml.l⁻¹) and seaweed extract (0, 2.5, 5 and 10 ml.l⁻¹) was performed with three replications. The results showed that all the experimental treatments caused a significant increase in the studied traits; So that the highest amount of plant height, photosynthetic pigments and carotenoid were obtained with the simultaneous application of 6 ml.l⁻¹ of chitosan and 10 ml.l⁻¹ of seaweed. Also, the application of the highest level of fertilizer (9 ml.l⁻¹ of chitosan and 10 ml.l⁻¹ of seaweed) resulted in the production of the largest diameter of the main stem (1.67 times the control), fresh and dry weight of aerial parts (98% increase compared to control), biological yield, total phenol (75% increase compared to control), and total flavonoid (3.81 mg of quercetin per gram of dry weight). The maximum production of essential oil in garden thyme was also observed as a result of foliar spraying of 3 ml.l⁻¹ of chitosan along with 10 ml.l⁻¹ of seaweed, which was about 3.25 times higher than the control. Therefore, the use of biofertilizers can be an effective way to improve the quantity and quality of garden thyme, as well as preserve the environment and increase the food and medicinal safety of plants due to the reduction in the use of chemical fertilizers.

Keywords: Essential oil, Elicitor, Photosynthesis, Flavonoid, Biofertilizers.