اثر کاربرد محرک زیستی کیتوزان بر صفات رشدی و عملکرد اسانس بادرشبی (*Dracocephalium moldavica* L.) در شرایط آبیاری با آب شور

غلامرضا گوهری[۱*]، محمد کاظم بهرامی[۲]

تاریخ دریافت: ۹۸/۸/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۰/۱۲

۱-استادیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران.
۲-استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران.
*مسئول مکاتبه: Email: gholamreza.gohari@gmail.com

چکیده

یافتن روش‌های افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی می‌تواند گامی مؤثر در جهت نیل به تولید پایدار در بخش کشاورزی باشد. به منظور بررسی اثرات متقابل تنش شوری و محلول‌پاشی محرک زیستی کیتوزان در شرایط کشت گیاه دارویی بادرشبی (*Dracocephalium moldavica* L.) آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه سطح شوری صفر، ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولارکلریدسدیم و چهار سطح محلول‌پاشی محرک زیستی کیتوزان صفر، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد وزنی- حجمی و با سه تکرار در دانشگاه مراغه به اجرا درآمد. نتایج نشان داد که اعمال تنش شوری باعث کاهش معنی‌دار در تمامی صفات مورد اندازه‌گیری گردید. محلول‌پاشی کیتوزان باعث بالا رفتن میزان شاخص‌های رشدی همچون ارتفاع بوته، وزن تر و خشک برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی و طول گل آذین، رنگیزه‌های فتوسنتزی و فلورسنس کلروفیل گردید، اما اختلاف معنی‌داری بین دو تیمار ۰/۵ و ۱ درصد کیتوزان مشاهده نگردید. بطورکلی در این آزمایش تنش شوری باعث کاهش میزان کلروفیل*a*، کلروفیل*b*، کارتنوئید و شاخص‌های فلورسنس کلروفیل گردید، ولی کاربرد کیتوزان باعث افزایش معنی‌دار این صفات گردید. همچنین محلول‌پاشی کیتوزان باعث افزایش میزان درصد اسانس در همه گیاهان گردید ولی این افزایش در گیاهان تحت تنش بیشتر از گیاهان فاقد شوری بود. کاربرد کیتوزان به عنوان یک محرک زیستی باعث ایجاد تحمل گیاه به شرایط شوری و بهبود کشت پایدار گیاه بادرشبی گردید.

واژه‌های کلیدی: اسانس، تنش‌های زیستی، تولید پایدار، عملکرد، گیاه دارویی

Effects of Chitosan as Growth Elicitor on Some Growth Parameters and Essential Oils Yield of *Dracocephalium moldavica* L. Under Salinity Condition

Gholamreza Gohari[1*], Mohammad Kazem Bahrami[2]

Received: November 6, 2019 Accepted: January 2, 2020
1-Assist. Prof., Dept. of Horticulture, Faculty Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran.
2-Assist. Prof., Dept. of Biology, Faculty of Science, University of Maragheh, Maragheh, Iran.
*Corresponding Author Email: gholamreza.gohari@gmail.com

Abstract

Plant growth and development are adversely affected by salinity. In order to evaluate the effects of different salinity levels and application of chitosan on some growth parameters, photosynthesis pigments and essential oils content and yield of moldavian balm (*Dracocephalium moldavica* L.), a greenhouse experiment was carried out as a factorial based on the completely randomized design (CRD) and three replications. The first factor was three levels of salinity stress included 0, 25 and 50 Mm NaCl and the second factor was application of chitosan (0, 0.25, 0.5 and 1 % w/v). The studied traits include the morphological (plant height, shoot fresh and dry weight, leaf fresh and dry weight and inflorescence length), chlorophyll fluorescence (Variable fluorescence, maximum chlorophyll fluorescence yield, Water degradation complex), photosynthesis pigments (chlorophyll *a* and *b*, carotenoid) and also essential oil content and yield. The results demonstrated that all morphological traits and some of physiological characteristics including chlorophyll fluorescence indices, chlorophyll a, and chlorophyll b and carotenoid contents significantly decreased with increasing the salinity level. In addition, the results showed that with application of chitosan in the salinity conditions, all morphological traits, antioxidant enzymes activity, and chlorophyll fluorescence (Variable fluorescence, maximum chlorophyll fluorescence yield, Water degradation complex, Y (II)) parameters improved compared with control. Furthermore, foliar application of chitosan increased the essential oil and yield under salinity stress condition. It seems that chitosan has a positive effect to overcome effects of salinity stress and might be help to increasers essential oil yield on medicinal plants.

Keywords: Abiotic Stress, Essential Oils, Medicinal Plants, Sustainable Agriculture, Yield

مقدمه

یکی از بزرگترین خانواده گیاهان دارویی، خانواده نعناعیان می‌باشند که تنوع زیستی زیادی در سراسر جهان و مخصوصاً نواحی مدیترانه‌ای و مرطوب دارند و گیاهان متعلق به این خانواده اهمیت زیادی از لحاظ کاربرد در صنایع آرایشی، غذایی و دارویی دارند (زرگری ۲۰۱٤). بادرشبو (*Dracocephaliu mmoldavica* L.) متعلق به تیره نعناعیان، علفی، یکساله، دارای ساقه‌های چهار گوش و ارغوانی است گل‌ها و پیکر رویشی بادرشبو معطر و تمام اندام گیاه حاوی

اسانس است و میزان اسانس در گل‌ها بیشتر می‌باشد (سعید الاهل و همکاران ۲۰۱۵). مواد موثره پیکر رویشی این گیاه آرام‌بخش و اشتها آور بوده، همچنین از اسانس آن به دلیل خاصیت ضد باکتریایی برای مداوای دل درد و نفخ شکم استفاده می‌شود (یوسف زاده و همکاران ۲۰۱۳). در گیاهان دارویی عوامل متعددی از جمله تنش‌های محیطی موجب تغییراتی در مقدار و کیفیت مواد موثره مانند آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها، اسانس‌ها و درنهایت در عملکرد گیاهان می‌شوند (پترسون ۲۰۱۳).

تنش شوری یکی از تنش‌های عمده محیطی است که بر تولید محصولات کشاورزی در سراسر دنیا تاثیر منفی گذاشته، بطوری که سالانه هزینه‌ای بالای ۲۷ بیلیون دلار برای جبران خسارت‌های ناشی از آن برآورد شده است. بنابراین یافتن روش‌های افزایش تحمل گیاهان به اثرات آن می‌تواند گامی مؤثر در جهت نیل به تولید پایدار در بخش کشاورزی باشد (جایاکانان و همکاران ۲۰۱۵). تنش شوری زمانی شروع می‌شود که میزان انباشتگی نمک‌ها به خصوص کلرید سدیم، در ناحیه ریشه بیش از حد تحمل گیاه شده و در نتیجه باعث بروز اختلالاتی در فرایندهای حیاتی گیاه مثل جذب و انتقال موادغذایی، تعرق و فتوسنتز می‌شود (اسفندیاری و همکاران ۲۰۱۱). گیاهان دارویی نیز مانند سایر گیاهان معمولاً در معرض تنش‌های مختلف محیطی می‌باشند که رشد و قابلیت تولید آنها تحت تاثیر شرایط نامساعد محیطی از جمله شوری قرارمی‌گیرد. اگر چه تنش در گیاهان دارویی باعث افزایش متابولیت-های ثانویه می‌شود با این وجود، اگر این تنش بیش از تحمل گیاه (سلول) باشد باعث کاهش رشد و کارایی گیاه و در نتیجه کاهش تولید این گیاهان می‌شود (حسن زاده و احمدی ۲۰۱٤). کشور ایران به دلیل موقعیت جغرافیایی در محدوده‌ای از کره زمین واقع شده است که بیشتر مناطق آن خشک ونیمه خشک است، لذا شوری آببه عنوان یکی از چالش های تهدید کننده تولید پایدار در محصولات کشاورزی مورد توجه محققان قرار گرفته است (موحدی دهنوی و همکاران ۲۰۰۹).

اثرات شوری بر گیاهان شامل ممانعت از رشد و نمو، کاهش فتوسنتز و سنتز پروتئین‌ها در نهایت در غلظت‌های بالاتر باعث مرگ گیاهان می‌شود (کریمی و همکاران ۲۰۱٤). در حقیقت شوری خاک عمدتاً حاصل بالا بودن میزان عناصر سدیم و کلر در آب هستند که وجود مقادیر بالای این عناصر در خاک سبب بروز اختلالات یونی و تنش اسمزی در گیاه شده که نتیجه آن کاهش رشد و وقوع ناهنجاری‌های متابولیسمی از طریق تولید گونه‌های فعال کسیژن است که اجزای سلول‌های گیاهی نظیر غشاهای بیولوژیک، DNA و پروتئین‌ها را مورد هدف قرار می‌دهند (حسن اوزامان و همکاران ۲۰۱۳). تاکنون گزارشات متعددی از کاهش درصد اسانس در شرایط تنش شوری به ثبت رسیده است (عزیز و همکاران ۲۰۰۸). کاهش عملکرد اسانس تحت تنش شوری می‌تواند به علت مهار سوخت و ساز کلی گیاه باشد و تنش‌های خفیف شوری باعث افزایش درصد اسانس در اکثر گیاهان دارویی می‌شود، تولید متابولیت‌های ثانویه بیشتر باعث جلوگیری از عمل اکسیداسیون در سلول می‌شوند (سعید الاهل و همکاران ۲۰۱٦). افزایش میزان اسانس تحت تنش شوری متوسط در گیاهان دارویی مریم‌گلی (تاریت و همکاران ۲۰۰۹)، نعناع (کارای و همکاران ۲۰۰۹) و بادرنجبویه (پاریدا و داس ۲۰۰۵) گزارش شده است.

کیتوزان از ترکیبات اصلی دیواره سلولی بسیاری از گونه های قارچی، میگو، خرچنگ و غیره می‌باشد (جورج و رابرتس ۱۹۹۲). کیتوزان یک ماده غیرسمی، بیوپلیمر آلی و طبیعی، پلی ساکارید نیتروژن‌دار و قابل تجزیه زیستی است که می‌تواند تنش‌های محیطی حاصل از شوری آب و خاک را کاهش دهد و موجب بهبود روند رشد درگیاهان شود (ال هدرمی و همکاران ۲۰۱۵). تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی توسط ترکیبات البسیتور یا

محرک همچون کیتوزان افزایش پیدا میکند. (چنگ و همکاران ۲۰۰۶). همچنین آگراول و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که کیتوزان با افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و حفظ آنها تحت شرایط تنش شوری و فعال نمودن تعدادی از آنزیم‌ها نظیر فیتواکسینها و کیتینازها، مقاومت گیاه را در برابر شرایط نامساعد محیطی و تنش‌ها افزایش داده و صدمات ناشی از آنها را کاهش می‌دهد.

با توجه به گسترش زمین‌های شور به ویژه در نواحی خشک و نیمه خشک کشور، قابل پیش بینی است که گسترش شوری تاثیر منفی جدی بر تولید گیاهان بخصوص گیاهان باغی و دارویی داشته باشد. یکی از راهکارها برای غلبه بر اثرات نامطلوب شوری، کاربرد انواع محرک‌های زیستی از جمله کیتوزان است. لذا هدف از این تحقیق، بررسی اثرات کاربرد محرک زیستی کیتوزان روی گیاه بادرشبی در شرایط تنش شوری بر برخی شاخص‌های رشدی و نیز درصد و عملکرد اسانس به منظور توسعه استفاده از ترکیبات زیستی در راستای کشاورزی پایدار است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در بهار سال ۱۳۹۷در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم و مهندسی باغبانی در دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه و بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاتصادفی در سه تکرار اجرا گردید. جهت آماده‌سازی بستر کشت، از گلدان‌های۱۲ لیتری پلاستیکی به عنوان ظروف کاشت و از خاک زارعی تهیه شده از مزارح تحقیقاتی دانشگاه مراغه به عنوان بستر کاشت استفاده گردید. بذور بادرشبی از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری و بعد از انجام مراحل ضدعفونی در هر گلدان ۱۵ بذر کاشته شد و بعد از سبز شدن بذور در مرحله سه برگی به پنج بوته تنک گردید. عملیات آبیاری و نگهداری گیاهان بر اساس شرایط طبیعی برای تمام گیاهان انجام گردید. در مرحله شش برگی اعمال تنش شوری در سه سطح (صفر، ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار سدیم کلرید) از طریق آبیاری پای بوته و هر پنج روز یک‌بار و با در نظر گرفتن ضریب آبشویی تا زمان گلدهی کامل گیاهان صورت گرفت. اعمال تیمار محرک زیستی کیتوزان در چهار سطح با غلظت‌های (صفر، ۰/۲۵، ۰/۵ و یک درصد وزنی حجمی) در مرحله ۱۰ برگی به صورت محلول‌پاشی برگی در سه نوبت و با فاصله زمانی پنج روز انجام پذیرفت. به‌منظور جلوگیری از انباشت نمک‌ها در محیط کشت، هر پنج روز عملیات آبشویی با استفاده از آب آبیاری انجام گردید.

بررسی صفات رشدی

صفات عملکردی همچون ارتفاع بوته، وزن تر و خشک برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی و طول گل آذین در مرحله تمام گل اندازه‌گیری گردید. برای اندازه-گیری وزن خشک گیاهان، نمونه‌ها را در داخل آون در دمای ٦٠ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤٨ ساعت قرار داده سپس وزن خشک نمونه‌ها اندازه‌گیری شد.

اندازه گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی

از نمونه گیاهی به مقدار ۰/۲ وزن کرده و در هاون چینی با استفاده از نیتروزن مایع آن را خرد گردید سپس ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به نمونه اضافه و در دستگاه سانترفیوز با سرعت ٦٠٠٠ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد، سپس عصاره بدست آمده به داخل میکروتیوب ریخته شد. میزان جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج‌های ٦٦٣ نانومتر برای کلروفیل a، ٦٤٥ نانومتر برای کلروفیل b و٤٧٠نانومتر برای کارتنوئید توسط اسپکتروفتومتر قرائت شد. در نهایت با استفاده از فرمول‌های زیر میزان کلروفیل a، b و کارتنوئید بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه به دست می‌آید (آرنون ۱۹٦۷).

Chlorophyll a = (19/3 * A663 – 0/86 *A645) V/100W
Chlorophyll b = (19/3*A645-3/6*A663) V/100W
Carotenoids = 100 (A470)-3/27(mg chl. b) /227

V= حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوز)

A= جذب نور در طول موج‌های ٦٦٣و ٦٤٥ و ٤٧٠ نانومتر

W= وزن تر نمونه بر حسب گرم

اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل

پس از اعمال تنش شوری و تیمار با کیتوزان، اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل با استفاده از دستگاه فلورومتر مدل (PAM 2500-WALZ, Germany) از آخرین برگ‌های توسعه یافته در حالت روشنایی صورت گرفت. شاخص‌های حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II (Fv/Fm)، فعالیت کمپلکس تجزیه کننده آب به عنوان دهنده الکترون فتوسیستم II (Fv/Fo)، پراکندگی گرما در گیرنده‌های فتوسیستم II (Fo/Fm) مورد سنجش قرار گرفتند.

اندازه گیری درصد و عملکرد اسانس

برای تعیین درصد اسانس اندام های هوایی، گیاهان در هوای معمولی و شرایط سایه به مدت ۵ روز قرار داده شده و بعد از خشک شدن کامل و رسیدن به وزن ثابت، ۵۰ گرم از ماده خشک را آسیاب کرده و درصد اسانس به روش تقطیر با آب بر مبنای روش پیشنهادی فارماکوپه اروپا با استفاده از دستگاه کلونجر اندازه‌گیری شد (حسین و همکارن ۲۰۰۸). عملکرد اسانس از حاصلضرب درصد اسانس گیاهان به وزن خشک گیاه محاسبه شده و بر اساس میلی‌لیتر در متر مربع گزارش گردید.

آنالیز آماری

تجزیه واریانس داده‌ها در آزمایش حاضر با آزمون ANOVA انجام گرفته و مقایسه میانگین‌ها بر مبنای آزمون دانکن در سطوح احتمال ۵ درصد محاسبه گردیدند. برای رسم نمودارها و جداول از نرم افزارهای Word و Excel کمک گرفته شد. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۵ انجام گرفت.

نتایج و بحث

شاخص های رشدی

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میانگین ارتفاع بوته (٦٤/٥١ سانتی‌متر) مربوط به تیمار یک درصد کیتوزان سطح شوری صفر و کمترین میانگین ارتفاع بوته (۳۱/۳۰ سانتی‌متر) در سطح شوری ۵۰ میلی‌مولار و بدون محلولپاشی کیتوزان بدست آمد (جدول۱). بر اساس نتایج بدست آمده در این پژوهش کاربرد کیتوزان باعث جلوگیری از کاهش ارتفاع بوته-های در معرض تنش شوری گردید. بیشترین وزن تر و خشک برگ و همچنین اندام‌های هوایی در در شرایط بدون تنش شوری و محلول‌پاشی کیتوزان با غلظت یک درصد به‌دست آمد. از نکته نظر شاخص وزن تر، اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های ۰/۵ و ۱ درصد کیتوزان مشاهده نگردید. تنش شوری باعث کاهش طول گل آذین در گیاهان شده و کاربرد کیتوزان باعث افزایش معنی‌دار این شاخص شد، به طوری که بیشترین طول گل آذین (١٤/٨١ سانتی متر) در گیاهان محلول-پاشی شده با غلظت یک درصد کیتوزان و بدون تنش شوری تولید گردید. همچنین کاربرد کیتوزان با غلظت ۰/۵ و یک درصد بطور معنی داری از اثرات منفی تنش در کاهش طول گل‌آذین جلوگیری کرد، در گیاهان تحت تنش شوری ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار بیشترین طول گل‌آذین در تیمارهای ۰/۵ و یک درصد کیتوزان مشاهده گردید (جدول ۱). با افزایش شوری میزان شاخص‌های رشدی کاهش معنی‌داری نشان داد که بیانگر اثرات منفی تنش

شوری بر روی این صفات بود. در گیاهان تحت تنش شوری، به علت خشکی فیزیولوژیکی، تورژسانس سلول‌ها کاهش و به علت کوتاه شدن دوره رشد گیاه به علت تخصیص بیشتر مواد سنتزی جهت مقابله با تنش، توسعه عادی سلول‌ها کاهش و در نتیجه ارتفاع گیاه کم می‌شود و دلیل دیگر کاهش ارتفاع گیاه می‌تواند اختلال در جذب آب و عناصر، بسته شدن جزئی یا کلی روزنه-ها و کاهش کارایی فتوسنتز باشد (رزاقی و همکاران ۲۰۱۱). تاکنون نتایج متناقضی در مورد اثرات کیتوزان بر روی صفات رشدی گیاهان گزارش شده است. با این وجود گزارشات متعددی در مورد اثرات مثبت این محرک زیستی بر بهبود شاخص‌های رشدی گیاهان در برابر تنش‌های خشکی و شوری وجود دارد (آگراول و همکاران ۲۰۰۲). چگونگی تاثیر کیتوزان هنوز به طور کامل مشخص نشده است اما برخی محققین عقیده دارند که وجود عنصر نیتروژن در ساختار این پلیمر زیستی ، همچنین نقش کیتوزان در افزایش بیوسنتز اکسین می تواند دلایلی برای تحریک گیاه به رشد باشد. (یوتاراتانکیج و همکاران ۲۰۰۷).

نتایج مقایسه میانگین رنگیزه‌های فتوسنتزی نشان داده که تنش شوری باعث کاهش چشمگیر در میزان این رنگیزه‌ها گردید و کاربرد کیتوزان بطور معنی‌داری از کاهش این رنگیزه‌ها در اثر تنش شوری جلوگیری کرد. بر اساس نتایج بدست آمده کمترین میزان کلروفیل a، b و کارتنوئید به ترتیب ۲/۱۱، ۱/۱۷ و ۰/۳ میلی‌گرم در ۱۰۰گرم وزن تر در گیاهان تحت تنش با شوری ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مشاهده شد. محلول‌پاشی کیتوزان باعث افزایش میزان این رنگیزه‌ها گشته و در شرایط بدون تنش کاربرد این محرک زیستی باعث افزایش معنی دار در میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی شد. با این وجود تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های ۰/۵ و یک درصد کیتوزان در این صفات مشاهده نگردید. همچنین در شرایط تحت تنش شوری، با افزایش غلظت کیتوزان از ۰/۲۵ به ۰/۵ میزان کلروفیل a، b و کارتنوئید در گیاهان افزایش معنی‌داری نشان داد ولی بین غلظت‌های ۵/ ۰و یک درصد این افزایش معنی-دار نبود (جدول ۱). چنین به نظر می‌رسد که غلظت ۰/۵درصد کیتوزان جهت بهبود شاخص رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش شوری برای این گیاه کافی بوده و می‌توان از این غلظت به عنوان غلظت بهینه برای این منظور استفاده کرد. عموما مقدار کلروفیل با افزایش سطح شوری کاهش یافته و دلیل آن تشکیل آنزیم‌های پروتئینی همچون کلروفیلاز در واکنشی به کاهش کلروفیل و یا صدمه به دستگاه فتوسنتزی باشد (دوغان ۲۰۱۱). همچنین کاهش غلظت کلروفیل برگ تحت تنش شوری می‌تواند به علت تخریب و بی‌ثباتی کمپلکس پروتئینی رنگیزه‌ها، تداخل یون‌های نمک با بیوسنتز دوباره پروتئین‌ها و اجزای ساختاری کلروفیل باشد (جلیل و همکاران ۲۰۰۷). شوری از طریق تجمع یون-های سمی در کلروپلاست و تنش اکسیداتیو در گیاه باعث تخریب کلروفیل شده و دلیل دیگر کاهش کلروفیل می‌تواند به افزایش استفاده از نیتروژن برای سنتز پرولین باشد. از آنجایی که گلوتامات ترکیب اولیه پرولین و کلروفیل است احتمال می‌رود در شرایط تحت تنش شوری از طریق تحریک آنزیم لیگازگلوتامات و تبدیل گلوتامات بیشتر به تولید پرولین اختصاص یافته و به همین دلیل مقدار کلروفیل کاهش می‌یابد (راهدار و همکاران ۲۰۱۲). با توجه به اثرات مثبت کیتوزان در جلوگیری از کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی و نیز وجود عنصر نیتروژن در ساختار این محرک زیستی، چنین به نظر می‌رسد که کیتوزان می‌تواند کمبود نیتروژن حاصل از بیوسنتز پرولین در شرایط تنش را برای گیاه تامین نماید.

جدول ۱- مقایسه میانگین صفات رویشی و رنگیزه‌های فتوسنتزی بادرشبی در سطوح مختلف کیتوزان و تنش شوری

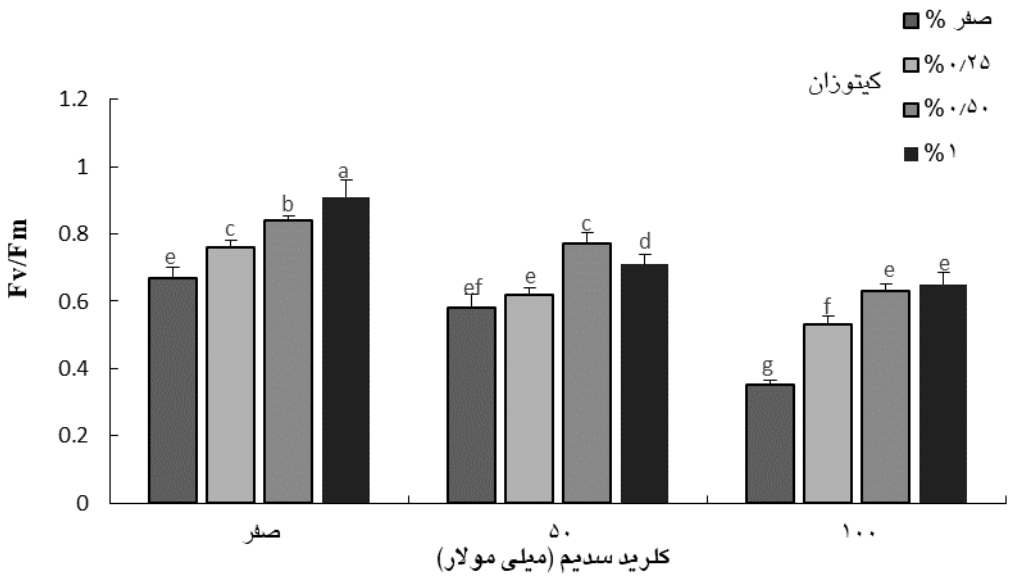
اثر متقابل تنش شوری و کیتوزان		ارتفاع بوته (cm)	وزن تر برگ (g)	وزن خشک برگ (g)	وزن تر ساقه (g)	وزن خشک ساقه (g)	طول گل آذین (cm)	کلروفیل a (mg.100 g^{-1} FW)	کلروفیل b (mg.100 g^{-1} FW)	کارتنوئید (mg.100 g^{-1} FW)
شاهد	صفر٪	۴۱/۰۶^{d}	۲۵/۱۵^{c}	۵/۱۴^{f}	۱۶۰/۱۴^{c}	۵۱/۱۴^{c}	۱۱/۱۵^{e}	۵/۲۵^{d}	۳/۰۳^{c}	۱/۰۵^{c}
	٪ ۰/۲۵	۵۰/۰۲^{c}	۲۶/۲۷^{b}	۶/۲۷^{c}	۱۷۰/۴۵^{b}	۵۲/۲۱^{b}	۱۲/۰۶^{d}	۵/۱۷^{c}	۳/۱۸^{b}	۱/۳۶^{b}
	٪ ۰/۵	۶۲/۱۳^{a}	۲۸/۲۱^{a}	۷/۸۱^{a}	۱۸۹/۲۱^{ab}	۵۸/۵۳^{b}	۱۳/۲۱^{b}	۶/۸۱^{b}	۳/۹۱^{a}	۱/۴۶^{a}
	٪ ۱	۶۴/۵۱^{a}	۲۷/۷۴^{ab}	۷/۷۲^{ab}	۱۹۱/۲۷^{a}	۵۷/۲۳^{a}	۱۴/۸۱^{a}	۷/۰۴^{a}	۴/۰۲^{a}	۱/۳۹^{ab}
کلرید سدیم (۲۵میلی-مولار)	صفر	۳۷/۶۴^{e}	۲۱/۲۲^{gh}	۳/۹۸^{h}	۱۱۱/۱۳^{f}	۳۶/۶۲^{d}	۹/۱۲^{fg}	۴/۱۲^{f}	۲/۳۷^{eg}	۰/۵۲^{f}
	٪ ۰/۲۵	۴۲/۱۶^{d}	۲۲/۵۲^{fg}	۴/۲۲^{g}	۱۲۴/۱۷^{e}	۳۹/۱۳^{e}	۱۱/۰۳^{e}	۴/۱۲^{fg}	۲/۴۱^{e}	۰/۶۱^{e}
	٪ ۰/۵	۴۸/۴۷^{cd}	۲۴/۱۸^{d}	۵/۳۸^{d}	۱۵۱/۰۸^{d}	۴۳/۰۲^{ef}	۱۲/۶۸^{c}	۵/۱۸^{f}	۲/۷۴^{de}	۰/۷۱^{de}
	٪ ۱	۵۳/۶۶^{b}	۲۳/۱۴^{e}	۵/۲۴^{de}	۱۶۲/۰۲^{c}	۴۸/۰۸^{ef}	۱۳/۰۴^{bc}	۵/۱۴^{g}	۲/۶۴^{d}	۰/۷۸^{d}
کلرید سدیم (۵۰ میلی-مولار)	صفر	۳۱/۳۰^{g}	۱۸/۱۱^{i}	۳/۰۱^{j}	۹۲/۵۳^{g}	۲۱/۲۳^{h}	۷/۳۲^{h}	۲/۱۱^{j}	۱/۱۷^{h}	۰/۳۰^{i}
	٪ ۰/۲۵	۳۴/۳۵^{f}	۲۰/۰۹^{h}	۳/۴۹^{i}	۱۰۳/۶۵^{g}	۲۷/۵۱^{g}	۸/۱۹^{g}	۳/۰۹^{h}	۱/۳۳^{g}	۰/۳۸^{h}
	٪ ۰/۵	۳۸/۳۹^{e}	۲۲/۹۱^{f}	۴/۱۱^{gh}	۱۳۳/۱۴^{f}	۳۴/۰۱^{f}	۹/۲۱^{fg}	۳/۹۱^{e}	۲/۳۳^{f}	۰/۴۳^{gh}
	٪ ۱	۳۹/۶۸^{de}	۲۱/۸۵^{g}	۴/۲۵^{g}	۱۴۳/۸۱^{de}	۳۷/۱۴^{e}	۹/۶۵^{f}	۳/۸۵^{i}	۲/۳۵^{ef}	۰/۴۵^{g}

حروف مختلف در ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بر مبنای آزمون دانکن می‌باشند ($P \leq ۰/۰۵$).

شاخص های کلروفیل فلورسانس

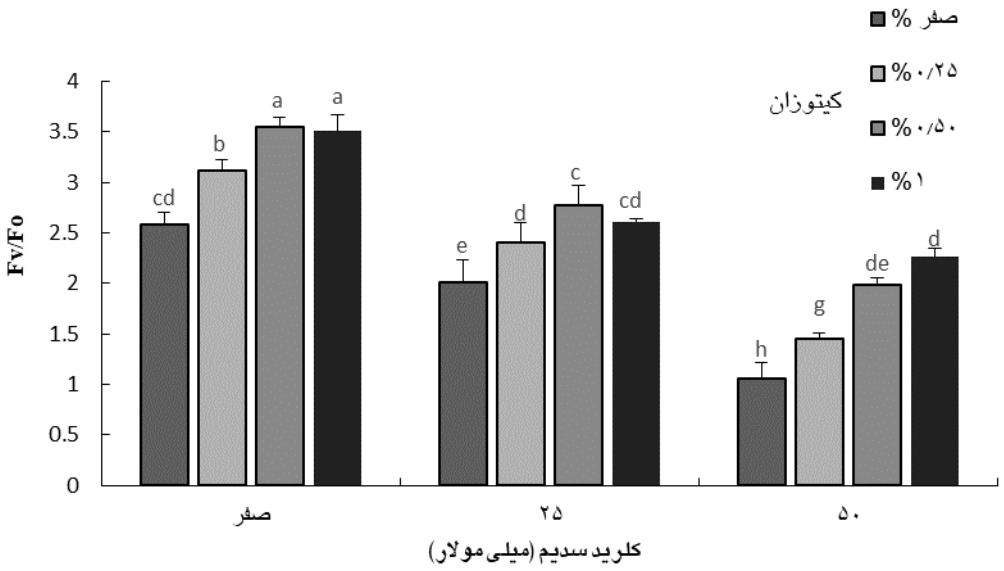
نتایج نشان داد که اثر متقابل محرک زیستی کیتوزان و تنش شوری بر میزان حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (شکل ۱). آزمایش حاضر نشان داد با افزایش سطح شوری میزان حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II در گیاه کاهش یافت که با نتایج تحقیقات عزیزپور و همکاران (عزیزپور و همکاران ۲۰۱۱) در گیاه جو همخوانی داشت. از آنجایی که نسبت Fv/Fm حداکثر کارایی کوآنتومی فتوسیستم II برای تبدیل انرژی نورانی به انرژی شیمیایی رانشان می‌دهد تنش-های محیطی با تأثیر برفتوسیستم II باعث کاهش این نسبت می‌شوند (باکر و روزنکویست، ۲۰۰۴). کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II به صورت نسبت فلورسانس متغیر به فلورسانس حداکثر (Fv/Fm)، نشان‌دهنده ظرفیت انتقال الکترون فتوسیستم II می‌باشد و اگر گیاهان درشرایط تنش خشکی، شوری، گرما و تشعشع زیاد قرار گیرند، این میزان کم‌تر خواهدشد و به عنوان شاخص معتبر برای نشان دادن اختلاف ناشی از تنش در مراکز فتوشیمیایی و بازدارندگی نوری استفاده می-شود (اموتو و همکاران ۲۰۰۹).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل محرک زیستی کیتوزان و شوری بر میزان فعالیت کمپلکس تجزیه کننده آب به عنوان دهنده الکترون فتوسیستم II در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (شکل ۲). با افزایش سطح شوری میزان فعالیت کمپلکس تجزیه کننده آب به عنوان دهنده الکترون فتوسیستم II در گیاه را کاهش داد، به طوری که بیشترین میزان فعالیت کمپلکس تجزیه کننده آب به عنوان دهنده الکترون فتوسیستم II مربوط به شاهد و کمترین میزان فعالیت کمپلکس تجزیه کننده آب به عنوان دهنده الکترون فتوسیستم II در شوری ۵۰ میلی‌مولار و کیتوزان یک درصد مشاهده شد. در تمامی تیمارها با افزایش غلظت شوری، تیمار با محرک زیستی کیتوزان



شکل ۱- میزان حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) بادرشبی در شرایط تنش شوری و محلول‌پاشی سطوح مختلف کیتوزان

*حروف مختلف در ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بر مبنای آزمون دانکن می‌باشند ($P \leq ۰/۰۵$).

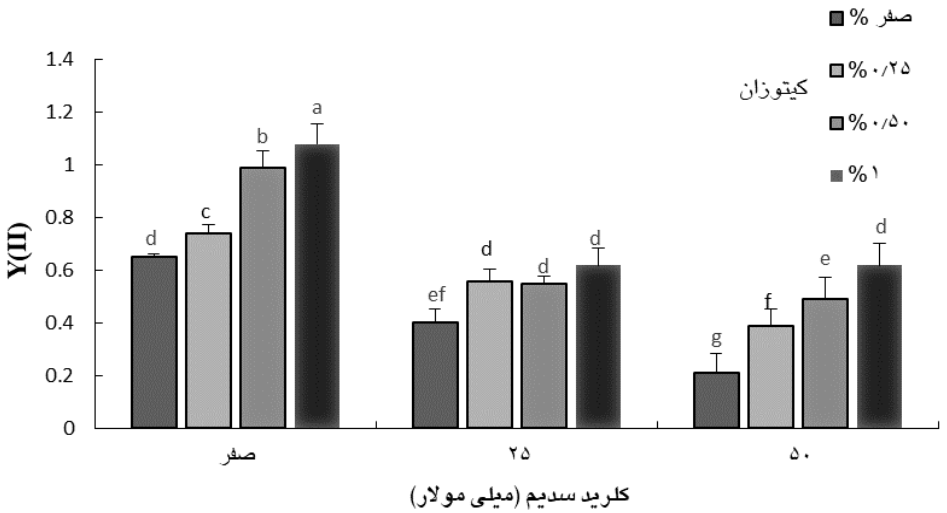


شکل ۲- اثرات محلول‌پاشی سطوح مختلف کیتوزان بر میزان فعالیت کمپلکس تجزیه کننده آب (Fv/Fo) بادرشبی در شرایط تنش شوری

*حروف مختلف در ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بر مبنای آزمون دانکن می‌باشند ($P \leq ۰/۰۵$).

تا حدودی باعث افزایش میزان فعالیت کمپلکس تجزیه کننده آب به عنوان دهنده الکترون فتوسیستم II گردید. مطالعات انجام شده توسط ویلیام برلیز و همکاران (۲۰۱۳) بر روی گونه‌ی از جلبک به نام Zygnema گزارش کردند که که غلظت‌های مختلف شوری میزان شاخص (Fv/Fo) را کاهش می‌دهد. شوری به علت غیر فعال‌سازی کمپلکس تجزیه کننده آب و جدا شدن منگنز از این کمپلکس در قسمت اهدای الکترون در فتوسیستم II سبب کاهش فعالیت کمپلکس تجزیه کننده آب می‌شود (فریرا و همکاران ۲۰۰۸). از آنجایی که میزان فلورسانس کلروفیل سلامت غشای تیلاکوئید و کارایی انتقال الکترون از فتوسیستم I به فتوسیستم II را مشخص می‌کند، تنش شوری باعث افزایش تجمع یون های کلر و سدیم در کلروپلاست‌های گیاهان آلی می‌شود، که سبب ممانعت از فعالیت فتوسیستم II و در نهایت کاهش فعالیت انتقال الکترون فتوسنتزی در فتوسنتز می‌شود (سودهیر و مورثی ۲۰۰٤).

مهم‌ترین پارامتر مورد ارزیابی فلورسانس کلروفیل درگیاهان تحت تنش، کارایی و عملکرد فتوسیستم II Y(II) می‌باشد، که معرف میزان کیفی تأثیر تنش محیطی در اختلال ترابری الکترونی، برای پیشبرد واکنش‌های فتوشیمیایی در مراحل مختلف فتوسیستم I و II می‌باشد (سلطانی ۲۰۰۵). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اثر متقابل محلول‌پاشی کیتوزان و شوری بر میزان فعالیت Y(II) در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد. همچنین با توجه به نتایج آزمایش با افزایش سطح شوری میزان فعالیت Y(II) در گیاه کاهش یافت بطوری که کمترین میزان Y(II) در سطح شوری ۵۰ میلی‌مولار بدون کاربرد کیتوزان مشاهده شد (شکل ۳). کارایی و عملکرد فتوسیستم II بیانگر میزان تحریک کلروفیل توسط فوتون‌های نوری است بنابراین، کاهش فتوسیستم II سبب فزونی انرژی نورانی و به دنبال آن افزایش تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن و در نتیجه باز دارنده‌گی نوری افزایش می‌یابد (اوموتو و همکاران ۲۰۰۹). همچنین درشرایط تنش فعالیت آنزیم روبیسکو و به دنبال آن عملکرد چرخه کالوین و تثبیت CO_2 و در نتیجه مصرف $NADPH$، H^+ به عنوان یکی از مرحله محصولات نوری فتوسنتز، کاهش می‌یابد که کاهش مصرف آنها باعث تجمع و کاهش نسبت $NADP^+$ به $NADPH$, H^+ می‌گردد (نتودو و همکاران ۲۰۰٤). در این حالت الکترون از فرودکسین به اکسیژن منتقل و رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید می‌شود که در نهایت منجر به آسیب اجزای زنجیره انتقال الکترون و ایجاد بازدارندگی نوری خواهد شد (آلن وهمکاران ۲۰۰۱). بیشترین میزان Y(II) مربوط به تیمار کیتوزان با غلظت یک درصد و سطح شوری صفر بود (شکل ۳). در تمامی تیمارها با افزایش سطح شوری، محلول‌پاشی محرک زیستی کیتوزان باعث افزایش Y(II) گردید.

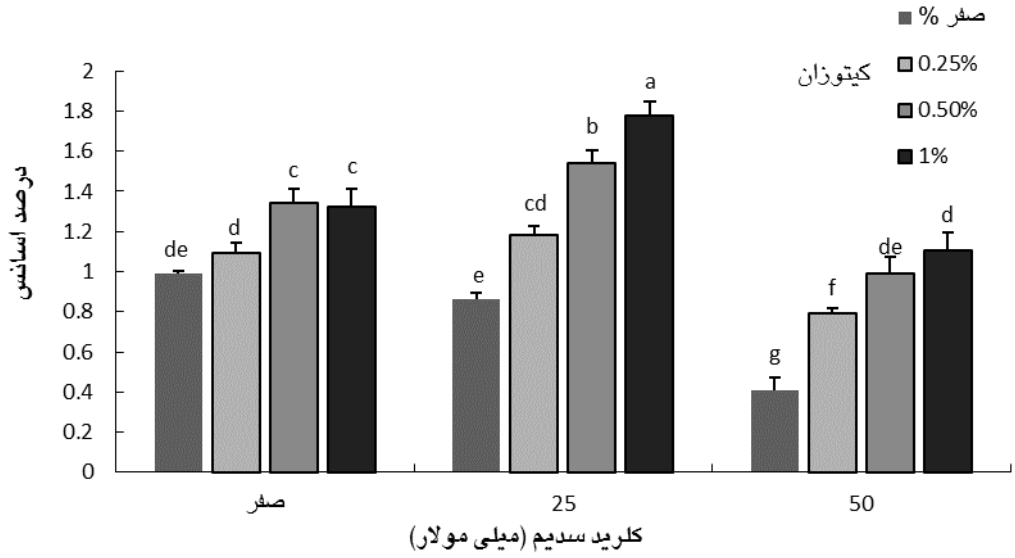


شکل ۳- اثرات محلول‌پاشی سطوح مختلف کیتوزان بر کارایی و عملکرد فتوسیستم II ((Y (II)) بادرشبی در شرایط تنش شوری

* حروف مختلف در ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بر مبنای آزمون دانکن می‌باشند (P ≤ ۰/۰۵).

درصد و عملکرد اسانس

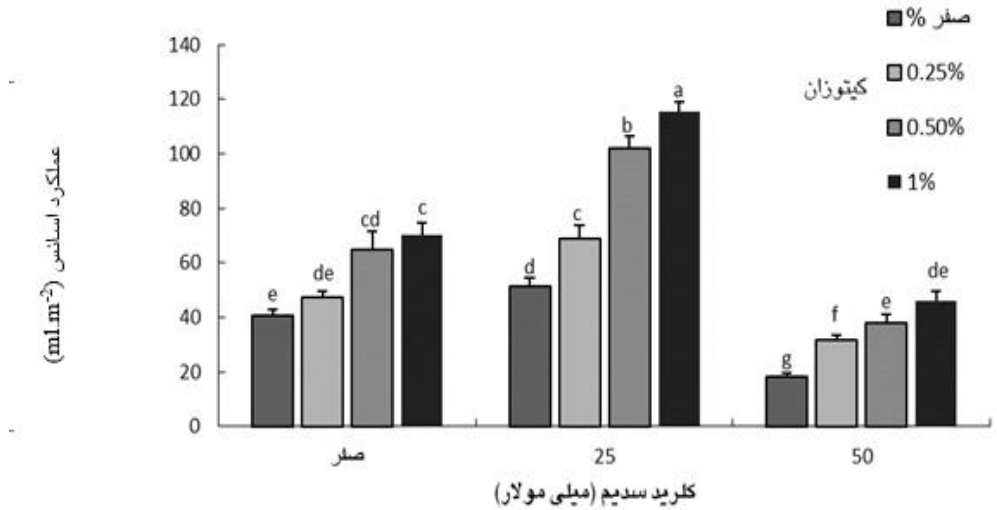
نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که افزایش سطوح تنش شوری باعث کاهش درصد اسانس در مقایسه با گیاهان شاهد بود، ولی با این وجود این کاهش در سطح ۲۵ میلی مولار کلرید سدیم معنی دار نبود. همچنین محلول‌پاشی کیتوزان باعث افزایش میزان درصد اسانس در همه گیاهان گردید ولی این افزایش در گیاهان تحت تنش بیشتر از گیاهان فاقد شوری بود. بطوری که بیشترین درصد اسانس در بین همه تیمارها مربوط به تیمار یک درصد کیتوزان و تنش شوری ۲۵ میلی‌مولار کلرید سدیم بود. کم‌ترین میزان اسانس در گیاهان تحت تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و بدون محلول‌پاشی کیتوزان مشاهده گردید (شکل ٤).



شکل ۴- اثرات محلول‌پاشی سطوح مختلف کیتوزان بر درصد اسانس بادرشبی در شرایط تنش شوری

*حروف مختلف در ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بر مبنای آزمون دانکن می‌باشند (P ≤ ۰/۰۵).

بر اساس نتایج بدست آمده در این پژوهش عملکرد اسانس نیز بطور معنی‌داری تحت تاثیر تنش شوری قرار گرفت. بیشترین عملکرد اسانس در گیاهان بدون تنش شوری و با محلول‌پاشی ۰/۵و یک درصد کیتوزان مشاهده گردید. کمترین عملکرد اسانس نیز از گیاهان تحت تنش شوری ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم به‌دست آمد که نشان از تاثیر منفی تنش شوری زیاد بر این شاخص است (شکل ۵). گیاهان دارویی تحت تأثیر تنش به شدت از خود واکنش نشان می‌دهند که برحسب شدت تغییراتی در تولید ترکیبات شیمیایی خود ازجمله آلکالوئیدها، فلاونوئیدها و اسانس‌ها ایجاد می‌کنند (پتروپولوس و همکاران ۲۰۰۸). بر اساس گزارش محققان پیشین و نیز نتایج آزمایش حاضر چنین به نظر می‌رسد که در شرایط تنش خفیف (۲۵ میلی‌مولار کلرید سدیم) میزان تولید متابولیت‌های اولیه در گیاه کاهش و چون تولید متابولیت‌های ثانویه نوعی سازوکار دفاعی در شرایط نامساعد محیطی هستند تولید آنها نیز در گیاه افزایش می‌یابد و باعث افزایش درصد و عملکرد اسانس می‌گردد (نفعتی و همکاران ۲۰۱٤). کاهش بازده اسانس در غلظت‌های بیشتر شوری ممکن است به علت تخریب آنها بواسطه بافت‌مردگی القاء شده با شوری در برگ‌ها باشد که منجر به تخریب تعدادی از غدد حاوی اسانس برگ‌ها و در نتیجه کاهش بازده اسانس می‌شود (تاریت وهمکاران ۲۰۱۱). برنستین و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که در گیاه ریحان با افزایش تنش شوری، بازده اسانس در بافت‌های گیاه افزایش یافت که می‌تواند یک همبستگی مثبت بین سطح تنش اعمال شده و میزان اسانس در بافت‌های گیاهی باشد. علاوه بر این افزایش درصد اسانس ممکن است به دلیل تغییر در بیوسنتز اسانس تحت تنش و محدود شدن سطح برگ‌ها و متراکم‌تر شدن غدد ترشحی اسانس در مقایسه با برگ‌های شاهد باشد. همچنین افزایش بازده اسانس در غلظت‌های متوسط شوری می‌تواند نوعی مکانیسم سازش به شوری باشد که ترکیب‌های آروماتیک آزاد، به صورت گلیکوزیله در واکوئل‌های سلول ذخیره می شوند و احتمالاً انبساط سلولی را افزایش و بدین طریق اثرات تنش اسمزی ناشی از تنش شوری را کاهش می دهند (پیکرسکی و همکاران ۲۰۰٦). یکی از راهکارهای افزایش متابولیت‌های ثانویه گیاهی استفاده از محرک-های (Elicitors) زنده و غیر زنده‌ای است که می‌توانند مسیرهای متابولیکی سنتز متابولیت‌های ثانویه را تحت تأثیر قرار داده و میزان تولید آنها را افزایش دهند (نفعتی و همکاران ۲۰۱٤). بکارگیری محرک‌ها که معمولاً یکی از موفق‌ترین راهکارها در افزایش متابولیت‌های ثانویه هستند در تولید متابولیت‌های ثانویه‌ای که در حالت معمولی در غلظت پایینی تولید شده و یا تولید نمی شوند، مورد استفاده قرار می‌گیرند، همچنین محرک‌ها به عنوان محرک‌های دفاعی و القاءکننده استرس در گیاه تعریف و محرک‌ها به صورت مستقیم و غیرمستقیم با فعال کردن ژن‌های مرتبط با بیوسنتز ترکیب‌های ثانویه سبب افزایش تولید این ترکیب‌ها می‌گردند (نیومن و همکاران ۲۰۰۹). همسو با نتایج این پژوهش، وثوقی و همکاران (۲۰۱۸) و بیستگانی و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که کاربرد کیتوزان در شرایط تنش نه تنها باعث بهبود شرایط رشدی گیاه گردید بلکه باعث افزایش درصد و درصدی گیاهان در شرایط بدون تنش نیز شد. از نتایج کنونی می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که کاربرد کیتوزان به عنوتان یک محرک زیستی باعث افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاه شده و این مکانیسم نه‌تنها باعث افزایش تحمل گیاه به شرایط تنش شوری می‌شود بلکه می‌تواند باعث افزایش میزان عملکرد و درصد اسانس در گیاه بادرشبی گردد.



شکل ۵- اثرات محلول‌پاشی سطوح مختلف کیتوزان بر عملکرد اسانس بادرشبی در شرایط تنش شوری

*حروف مختلف در ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بر مبنای آزمون دانکن می‌باشند ($P \leq ۰/۰۵$).

نتیجه گیری کلی

تمامی صفات اندازه‌گیری شده در این آزمایش تحت تاثیر اثرات منفی تنش شوری قرار گرفت. بطوری‌که برخی صفات رشدی از جمله وزن ترو خشک برگ و اندام های هوایی و ارتفاع گیاه و طول گل آذین و رنگیزه های فتوسنتزی در گیاهان تحت تنش شوری کاهش معنی‌داری در مقایسه با گیاهان بدون تنش داشت. اما کاربرد محلول پاشی کیتوزان به عنوان محرک رشد باعث بهبود برخی اثرات منفی تنش شوری گردید. علاوه بر این، تفاوت معنی داری بین غلظت‌های ۰/۵ و یک درصد کیتوزان مشاهده نگردید. لذا چنین به نظر می‌رسد که به منظور کاهش اثرات مخرب شوری کاربرد کیتوزان با غلظت ۰/۵ درصد به عنوان غلظت بهینه در نظر گرفته شود. با توجه به نتایج بدست آمده از این پژوهش، میتوان چنین نتیجه‌گیری کرد که کاربرد کیتوزان به عنوان یک محرک زیستی باعث افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاه گشته و این مکانیسیم نه تنها موجب افزایش تحمل گیاه به شرایط شوری و بهبود کشت پایدار گیاه بادرشبی شد، بلکه باعث افزایش میزان عملکرد و درصد اسانس در گیاه بادرشبی گردید.

سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری و مساعدت‌های مدیریت پژوهش و فناوری دانشگاه مراغه در طول اجرای پژوهش، صمیمانه قدردانی می گردد.

منابع مورد استفاده

Agrawal GK, Rakwal R, Tamogami S, Yonekura M, Kubo A and Saji H. 2002. Chitosan activates defense/stress response(s) in the leaves of *Oryza sativa* seedlings. Plant Physiology and Biochemistry, 40: 1061-1069.

Arnon AN. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal, 23(4): 112-121.

Aziz EE, Al-Amier H and Craker LE. 2008. Influence of salt stress on growth and essential oil production in peppermint, pennyroyal, and apple mint. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, 14(1-2): 77-87.

Azizpour K, Shakiba MR, Sima NKK, Alyari H, Mogaddam M, Esfandiari E and Pessarakli M. 2010. Physiological response of spring durum wheat genotypes to salinity. Journal of Plant Nutrition, 33(6): 859-873 .

Baker NR and Rosenqvist E. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. Journal of Experimental Botany, 55(403): 1607-1621.

Bernstein N, Kravchik M and Dudai N. 2010. Salinity-induced changes in essential oil, pigments and salts accumulation in sweet basil (*Ocimum basilicum*) in relation to alterations of morphological development. Annals of Applied Biology, 156(2): 167-177.

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

Cheng X, Zhou U and Cui X. 2006. Improvement of phenylethanoid glycosides biosynthesis in *Cistanche deserticola* cell suspension cultures by chitosan elicitor. Biotechnology Journal, 121: 253 - 60.

Dogan M. 2011. Antioxidative and proline potentials as a protective mechanism in soybean plants under salinity stress. African Journal of Biotechnology, 10(32): 5972-5978.

Dzung NA and Thang NT. 2002. Effects of oligoglucosamine prepared by enzyme degradation on the growth of soybean. pp. 463-467. In: Suchiva, V.K., S. Chandrkrachang, P. Methacanon and M.G. Peter (Eds.), Advanced Chitin Science, Bangkok.

El Hadrami A, Adam LR, El Hadrami I and Daayf F. 2010. Chitosan in plant protection. Marine drugs, 8(4): 968-987.

Esfandiari E, Enayati V and Abbasi A. 2011. Biochemical and physiological changes in response to salinity in two durum wheat (*Triticum turgidum* L.) genotypes. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 39(1): 165-170.

Ferreira-Silva SL, Silveira J. A, Voigt EL, Soares, LS and Viégas RA. 2008. Changes in physiological indicators associated with salt tolerance in two contrasting cashew rootstocks. Brazilian Journal of Plant Physiology, 20(1): 51-59.

Hasanuzzaman M, Nahar K and Fujita M. 2013. Plant response to salt stress and role of exogenous protectants to mitigate salt-induced damages. In Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress, 62(3):25-87 .

Hassanzadeh K, Ahmadi M and Shaban M. 2014. Effect of pre-treatment of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) seeds on seed germination and seedlings growth under salt stress. International Journal of Plant Animal Environmental Sciences, 4(3): 260-265.

Hussain, AI, Anwar F, Sherazi ST and Przybylski R. 2008. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depend on seasonal variations. Food Chemistry, 108(3): 986-995.

Jaleel CA, Gopi R, Kishorekumar A, Manivannan P, Sankar B and Panneerselvam R. 2008. Interactive effects of triadimefon and salt stress on antioxidative status and ajmalicine accumulation in *Catharanthus roseus*. Acta Physiologiae Plantarum, 30(3): 287-295 .

Jayakannan M, Bose J, Babourina O, Rengel Z and Shabala S. 2015. Salicylic acid in plant salinity stress signalling and tolerance. Plant Growth Regulation, 76(1): 25-40.

Karimi M, Ahmadi A, Hashemi J, Abbasi A and Angelini LG. 2014. Effect of two plant growth retardants on steviol glycosides content and antioxidant capacity in Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). Acta Physiologiae Plantarum, 36(5): 1211-1219.

Karray-Bouraoui N, Rabhi M, Neffati M, Baldan B, Ranieri A, Marzouk B and Smaoui A. 2009. Salt effect on yield and composition of shoot essential oil and trichome morphology and density on leaves of Mentha pulegium. Industrial Crops and Products, 30(3): 338-343.

Movahhedy-Dehnavy M, Modarres-Sanavy SAM and Mokhtassi-Bidgoli A. 2009. Foliar application of zinc and manganese improves seed yield and quality of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) grown under water deficit stress. Industrial Crops and Products, 30(1): 82-92.

Neffati M, Sriti J, Hamdaoui G and Kchouk ME. 2011. Salinity impact on fruit yield, essential oil composition and antioxidant activities of *Coriandrum sativum* fruit extracts. Food Chemistry, 124(1): 221-225.

Neumann KH, Kumar A and Imani J. 2009. Plant cell and tissue culture-A tool in Biotechnology: Basics and Application. Springer Science & Business Media.

Netondo GW, Onyango JC and Beck E. 2004. Sorghum and salinity: II. Gas exchange and chlorophyll fluorescence of sorghum under salt stress. Crop Science, 44, 806-814.

Omoto E, Kawasaki M, Taniguchi M and Miyake H. 2009. Salinity induces granal development in bundle sheath chloroplasts of NADP-malic enzyme type C4 plants. Plant Production Science, 12:199–207.

Parida A. K and Das A. B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicology and Environmental Safety, 60(3): 324-349.

Petersen M. 2013. Rosmarinic acid: new aspects. Phytochemistry Reviews, 12(1):207-227.

Petropoulos SA, Daferera D, Polissiou M. G and Passam HC. 2008. The effect of water deficit stress on the growth, yield and composition of essential oils of parsley. Scientia Horticulturae, 115(4): 393-397.

Pichersky E, Noel JP and Dudareva N. 2006. Biosynthesis of plant volatiles, nature's diversity and ingenuity. Science, 311(5762): 808-811.

Rahdari P, Tavakoli S and Hosseini S. M. 2012. Studying of salinity stress effect on germination, proline, sugar, protein, lipid and chlorophyll content in purslane (*Portulaca oleracea* L.) leaves. Journal of Stress Physiology & Biochemistry, 8(1): 182-193.

Razzaghi F, Ahmadi SH. Adolf VI, Jensen CR, Jacobsen SE and Andersen MN. 2011. Water relations and transpiration of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) under salinity and soil drying. Journal of Agronomy and Crop Science, 197(5): 348-360.

Said-Al Ahl HA, Sabra AS, El Gendy AG, Aziz EE and Tkachenko KG. 2015. Changes in content and chemical composition of *Dracocephalum moldavica* L. essential oil at different harvest dates. Journal of Medicinal Plants Studies, 3(2): 61-64.

Said-Al Ahl HAH, Abou-Ellail M and Omer EA. 2016. Harvest date and genotype influences growth characters and essential oil production and composition of *Petroselinum crispum* plants. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 8(5): 992-1003.

Sudhir P and Murthy SDS. 2004. Effects of salt stress on basic processes of photosynthesis. Photosynthetica, 42(2): 481-486.

Sultana R, Ravagna A, Mohmmad-Abdul H, Calabrese V and Butterfield DA. 2005. Ferulic acid ethyl ester protects neurons against amyloid β-peptide (1–42) -induced oxidative stress and neurotoxicity: relationship to antioxidant activity. Journal of Neurochemistry, 92(4): 749-758.

Taarit MB, Msaada K, Hosni K and Marzouk B. 2010. Changes in fatty acid and essential oil composition of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves under NaCl stress. Food Chemistry, 119(3): 951-956.

Uthairatanakij A, Teixeira da Silva J.A, Obsuwan K. 2007. Chitosan for improving orchid production and quality. Orchid Science and Biotechology, 1:1-5.

Vilumbrales DM, Skácelová, K and Barták M. 2013. Sensitivity of Antarctic freshwater algae to salt stress assessed by fast chlorophyll fluorescence transient. Czech Polar Reproduction, 3(1): 163-172.

Vosoughi N, Gomarian M, Ghasemi Pirbalouti 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(1): 366-374.

Yousefzadeh S, Modarres-Sanavy SAM, Sefidkon F, Asgarzadeh A, Ghalavand A, Roshdi M and Safaralizadeh A. 2013. Effect of biofertilizer, azocompost and nitrogen on morphologic traits and essential oil content of *Dracocephalum moldavica* L. in two regions of Iran. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 29(2): 59-61. (In Persian).

Zargari A. 2004. Medicinal plants. Tehran: Tehran University Publication, pp: 356-52.