

The effect of carrageenan, saffron extract containing silver nanoparticles and *Trichoderma harzanium* on some morphophysiological and phytochemical traits of lemon balm condition (*Melissa officinalis*)

Seyede Mahsa Hosseini¹, Dariush Ramezan^{*2}, Maryam Rahimi², Zaynab Mohkami³,
Tayebeh Hadadi⁴

1,2. Department of Horticulture and landscaping, Department of Horticulture and landscaping, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran. 3. Department of Agriculture and Plant Breeding, Agriculture Institute, Research Institute of Zabol, Zabol, Iran 4. Food Industry Group, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.
(Received: May 25, 2022 - Accepted: July 3, 2022)

ABSTRACT

The use of biological stimulants in order to produce environmentally friendly biological products in conjunction with modern agriculture can increase the qualitative and quantitative growth of plants and reduce the effects of environmental stresses on them. In order to investigate the effect of *Trichoderma harzanium*, carrageenan and saffron extract containing silver nanoparticles on the morphophysiological and phytochemical properties of *Melissa officinalis*, this experiment was performed in 2020 as a randomized complete block with three replications in Fereydunkenar. This study includes ten treatments that include: Carrageenan 100 ppm, carrageenan 300 ppm, carrageenan 600 ppm, saffron extract containing silver nanoparticles 125 ppm, saffron extract containing silver nanoparticles 250 ppm, saffron extract containing silver nanoparticles 500 ppm, *Trichoderma harzanium* 100 ppm, *Trichoderma harzanium* 200 ppm, *Trichoderma harzanium* 400 ppm and distilled water (control) were applied on stages 4, 8 and 12 leaves. Morphological and phytochemical characteristics were assessed at the beginning of flowering. The results showed that the highest (6.3 cm) length and maximum (4.3 cm) leaf width were obtained from the treatment of saffron extract containing silver nanoparticles with a concentration of 125 ppm, which is 61% higher than the control treatment. Also, the highest dry weight (59 g) was related to carrageenan treatment at a concentration of 600 ppm, which was 4.9 times higher than the control treatment. Moreover, the highest (78.1%) antioxidant activity and the highest (80.4 mg/g fresh weight) anthocyanin levels were related to *Trichoderma harzanium* treatment at 400 ppm.

Keywords: Elicitor, growth stimulating fungus, medicinal plant, saffron extract, stimulation.

بررسی اثر کاراگینان، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره و قارچ تریکودرما هارزانوم بر برخی صفات مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis*)

سیده مهسا حسینی^۱، داریوش رمضان^{۲*}، مریم رحیمی^۲، زینب محکمی^۳، طیبه حدادی^۴

۱-۲- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ۳- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، پژوهشکده کشاورزی، پژوهشگاه زابل، ۴- مربی، گروه علوم صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل.
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۳/۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۴/۱۲)

چکیده

کاربرد محرک‌های زیستی در راستای تولید فرآورده‌های بیولوژیکی سازگار با محیط زیست و در پیوند با کشاورزی نوین می‌تواند سبب افزایش رشد کیفی و کمی گیاهان و کاهش اثرات تنش‌های محیطی بر آنها شود. به منظور بررسی اثر محرک‌های زیستی تریکودرما هارزانوم، کاراگینان و عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی بادرنجبویه در سال ۱۳۹۹ به صورت بلوک کامل تصادفی در سه تکرار در شهرستان فريدونکنار اجرا شد. این پژوهش شامل ده تیمار شامل: کاراگینان ۱۰۰ پی‌پی‌ام، کاراگینان ۳۰۰ پی‌پی‌ام، کاراگینان ۶۰۰ پی‌پی‌ام، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۱۲۵ پی‌پی‌ام، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۲۵۰ پی‌پی‌ام، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۵۰۰ پی‌پی‌ام، تریکودرما هارزانوم ۱۰۰ پی‌پی‌ام، تریکودرما هارزانوم ۲۰۰ پی‌پی‌ام، تریکودرما هارزانوم ۴۰۰ پی‌پی‌ام و آب مقطر (شاهد) بودند که در مراحل ۴، ۸ و ۱۲ برگی استفاده شدند. ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی در مرحله شروع گلدهی ارزیابی شدند. نتایج پژوهش نشان داد که بیشترین طول برگ (۶/۳ سانتی‌متر) و عرض برگ (۴/۳ سانتی‌متر) از تیمار عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره با غلظت ۱۲۵ پی‌پی‌ام به دست آمد که نسبت به تیمار شاهد ۶۱ درصد افزایش داشت. همچنین بیشترین وزن خشک بوته از تیمار کاراگینان در غلظت ۶۰۰ پی‌پی‌ام (۵۹ گرم) حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد ۴/۹ برابر افزایش داشت. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۷۸/۱ درصد) و بیشترین مقادیر آنتوسیانین (۸۰/۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر) از تیمار تریکودرما هارزانوم در غلظت ۴۰۰ پی‌پی‌ام به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: الیسیتور، تحریک، عصاره زعفران، قارچ محرک رشد، گیاه دارویی.

مقدمه

گیاهان دارویی بخش ضروری مراقبت‌های بهداشتی هستند و اکثر مردم در سراسر جهان از آن‌ها جهت درمان مسائل مربوط به سلامت، تسکین درد و رنج بشر بهره می‌برند. تقریباً همه جوامع سطح بالایی از وابستگی به گیاهان دارویی دارند (Acharya, 2022). روند رو به افزایش مصرف گیاهان دارویی به‌عنوان مواد اولیه تولید داروهای گیاهی بدون توسعه روش‌های مناسب کاشت و مدیریت برنامه‌ریزی صحیح پیامدی نگران‌کننده، یعنی تخریب طبیعت را دربر خواهد داشت. بدین‌منظور تولید گیاهان دارویی چه به صورت خام و یا به شکل فرآوری‌شده با حفظ کیفیت و استاندارد بالا امری ضروری به نظر می‌رسد (Najafi, 2010). بادرنجبویه با نام علمی *Melissa officinalis* گیاهی داروئی چندساله از خانواده نعنائیان (*Lamiaceae*) است (Pressi, 2021). بادرنجبویه گیاهی بوته‌ای افراشته است که ارتفاع آن به حدود یک متر می‌رسد. برگ‌ها نرم، کرک‌دار و به طول ۲ تا ۸ سانتی‌متر و به شکل قلب هستند. سطح برگ درشت و دارای رگبرگ عمیق و لبه برگ دندانه‌دار است. گل‌ها به رنگ سفید یا صورتی کم‌رنگ متشکل از خوشه‌های کوچک ۴ تا ۱۲ شکوفه در فصل تابستان می‌باشند. معمولاً به دلیل عطر و طعم لیمو مانند آن به عنوان بادرنجبویه شناخته می‌شوند (Moradkhani, 2010). بادرنجبویه به طور گسترده در شرق آسیا جنوب اروپا و آمریکای شمالی رشد می‌کند که به دلیل وجود مقادیر بالای متابولیت‌های ثانویه مانند ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها و اسانس در اندام‌های هوایی گیاهی در صنایع مختلف دارویی، غذایی، آشامیدنی و آرایشی کاربرد فراوان دارد (Hatami et al., 2021).

ترکیب شاخص اسانس بادرنجبویه سیترونلال ترکیبی

از دسته ترپن‌هاست و یک مونوترپنوئید محسوب می‌شود. یکی دیگر از ترکیبات این گیاه سیترال است که متعلق به ترپنوئیدها است (Rahim Malek & Khorsandi, 2015). متابولیت‌های ثانویه دیگری نظیر اوژنول، اکتینول، اکتین، اکتینون، سیترال هگزنول و هارامین به فعالیت قدرتمند اسانس بادرنجبویه کمک می‌کنند (Hajlaoui et al., 2021). مطالعات بالینی کاربرد بادرنجبویه را جهت درمان تحریکات عصبی و بی‌خوابی، زونا، آکنه، بیش‌فعالی، اختلال تمرکز، رفتارهای تکانشی، تیخال عودکننده، دندان‌قورچه، بی‌قراری و اختلال خواب در کودکان، عفونت‌های پوستی، آرام‌بخش عصبی در میگرن و همچنین نفخ تایید کرده‌اند (Ghorbani Ghozhadi et al., 2021). بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه به‌صورت ژنتیکی کنترل می‌شود ولی ساخت آن‌ها به‌شدت توسط عوامل محیطی تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Omid Beigi, 2000). تولید متابولیت‌های ثانویه به‌طور طبیعی بسیار ناچیز است (Murthy et al., 2014). یکی از استراتژی‌های مهم برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه استفاده از تکنیک‌های ویژه نظیر محرک‌ها است (Expósito et al., 2009). محرک‌های زیستی محصولات ارگانیک یا معدنی حاوی مواد فعال زیستی و یا میکروارگانیسم‌ها هستند که وقتی روی گیاه یا ریزوسفر اعمال می‌شوند رشد و بهره‌وری گیاه را با بهبود راندمان جذب مواد مغذی، تحمل به تنش‌های غیر زیستی و یا کیفیت را تحریک می‌کنند (Franzoni et al., 2022). بر اساس مقررات اتحادیه اروپا محرک زیستی گیاه، محرکی است که فرآیندهای تغذیه را مستقل از محتوای مواد مغذی محصول تحریک می‌کند و اهداف آن شامل بهره‌وری از مواد مغذی، تحمل استرس غیر زنده، بهبود ویژگی‌های کیفی و در دسترس‌قراردادن مواد مغذی محدود در

رطوبت نسبی آب برگ (۵/۸ درصد) در سطح ۱۰ درصد قارچ تریکودرما هارزانیوم و در بقیه صفات بیشترین سطوح در سطح ۲۰ درصد قارچ تریکودرما مشاهده شد (Zekavati et al., 2021).

باتوجه به اهمیت تولید گیاهان دارویی سالم، توسعه کشاورزی پایدار و تمایل روزافزون جمعیت جهانی به استفاده از گیاهان دارویی، هدف از انجام این تحقیق بررسی تأثیر محرک‌های زیستی کاراگینان، تریکودرما هارزانیوم، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی بادرنجبویه در شرایط گلخانه‌ای است.

مواد و روش‌ها

مکان و زمان اجرای طرح و نحوه اعمال تیمارها

این آزمایش در سال زراعی ۱۴۰۰-۱۳۹۹ در شرایط گلخانه‌ای و در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ده تیمار و در سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای، در شهرستان فریدونکنار اجرا شد. این پژوهش شامل ده تیمار که شامل: کاراگینان ۱۰۰ پی‌پی‌ام، کاراگینان ۳۰۰ پی‌پی‌ام، کاراگینان ۶۰۰ پی‌پی‌ام، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۱۲۵ پی‌پی‌ام، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۲۵۰ پی‌پی‌ام، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۵۰۰ پی‌پی‌ام، تریکودرما هارزانیوم ۱۰۰ پی‌پی‌ام، تریکودرما هارزانیوم ۲۰۰ پی‌پی‌ام، تریکودرما هارزانیوم ۴۰۰ پی‌پی‌ام و آب مقطر (شاهد) بودند که روی گیاه بادرنجبویه اعمال شد. اندازه‌گیری پارامترهای مورفوفیزیولوژیکی (طول ساقه، وزن تر و خشک شاخساره، وزن تر و خشک ریشه، طول گل‌آذین و سطح برگ) و فیتوشیمیایی (رنگیزه های فتوسنتزی کلروفیل a، کلروفیل b، آنتوسیانین، کارتنوئید، فنول کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی) در مرحله شروع گلدهی انجام شد.

ارزیابی صفات مورفوفیزیولوژیکی

طول ساقه: پنج بوته به طور تصادفی از نزدیک سطح

ریزوسفر می باشد (Baltazar et al., 2021). محققان اظهار داشتند که محلول‌پاشی گیاه دارویی علف لیمو با کاراگینان تحت تابش گاما خصوصیات بیوشیمیایی، کیفی و ترکیبات فعال (سیترال و ژرانیول) را به میزان قابل توجهی بهبود می‌بخشد. استفاده از ۸۰ میلی‌گرم در لیتر کاراگینان باعث افزایش محتوای اسانس به میزان ۱۸/۹ و ۲/۵ درصد، محتوای سیترال ۷/۳ و ۸/۹ درصد و محتوای ژرانیول ۹/۲ و ۸/۹ درصد در ۹۰ و ۱۲۰ روز پس از کاشت شدند (Singh et al., 2017). کاراگینان جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی است و به‌طور قابل توجهی با افزایش جوانه‌زنی بذر، سرعت رشد، طول ساقه، تولید گل، رشد ریشه، سرکوب استرس فلزات سنگین و فعالیت ضد میکروبی در گیاهان مرتبط است (Hossain, 2022 & Shourove).

تیمار ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نانو ذره نقره سنتز سبز از ریشه دو گیاه ریشه طلایی (*Rhodiola imbricate*) و پنیرباد (*Withania somnifera*) به طور قابل توجهی باعث افزایش شاخص جوانه‌زنی، تعداد ریشه، طول ساقه، رنگدانه‌های فتوسنتزی، کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئید در گیاه جو در مقایسه با تیمار شاهد شد (Kapoor et al., 2022). مطالعه دیگری در رابطه با تنش خشکی در سه سطح ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و تریکودرما هارزانیوم در سه سطح ۵، ۱۰ و ۲۰ درصد روی گل مریم (*Polianthes taberrosel.cv. Doble*) نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش میزان آنتی‌اکسیدان و پرولین شده و بر وزن تر و خشک ریشه، پیازچه، محتوای نسبی آب، تعداد برگ و قطر گلچه‌های باز اثر منفی داشت. اما تریکودرما هارزانیوم تا حد زیادی این اثرات منفی را تعدیل کرد به‌طوری‌که بیشترین میزان

رابطه ۱:

$$\text{Chlorophyll } a = (12.25 \times A663 - 2.798) \times \left(\frac{v}{w \times 1000}\right)$$

رابطه ۲:

$$\text{Chlorophyll } b = (21.50 \times A645 - 5.10) \times \left(\frac{v}{w \times 1000}\right)$$

رابطه ۳:

$$\text{Total Chl} = (7.15 A663 + 18.71 A645) \times \left(\frac{v}{w \times 1000}\right)$$

رابطه ۴:

$$C = \frac{(1000 A470 - 1.82 \text{ Chl } a - 85.02 \text{ Chl } b)}{198} \times \left(\frac{v}{w \times 1000}\right)$$

در رابطه‌های فوق، A میزان جذب قرائت شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر، Chl a مقدار کلروفیل a، Chl b میزان کلروفیل b، Total Chl میزان کلروفیل کل، C میزان کارتنوئید، V حجم نهایی عصاره‌ی استون ۸۰٪ و W وزن تازه بافت برای عصاره‌گیری بر حسب میلی-گرم است.

سنجش میزان آنتوسیانین

جهت سنجش میزان آنتوسیانین یک گرم از وزن تر با ۱۰ میلی لیتر متانول اسیدی سائیده شد. عصاره‌ها به مدت ۲۴ ساعت در یخچال و در شرایط تاریکی انکوبه شدند. سپس جذب محلول در طول موج ۵۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. از محلول متانول اسیدی به‌عنوان شاهد استفاده شد (Khaleghnezhad *et al.*, 2019).

سنجش میزان فنل کل

ابتدا عصاره متانولی ۸۰ درصد از پودر خشک به روش خیساندن گیاه با نسبت ۱:۱۰ تهیه شد. مقادیر ترکیب‌های فنولی در عصاره متانولی گیاهی توسط روش Lee *et al.* (2017) اندازه‌گیری شد. بر طبق این روش مقدار ۰/۲ میلی لیتر از عصاره‌ها در لوله‌های آزمایش ریخته شدند و یک میلی لیتر معرف فولین سیوکالتو و ۰/۸ میلی لیتر کربنات سدیم ۷ درصد به مخلوط اضافه شد. بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای محیط جذب نوری آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. از غلظت‌های مختلف گالیک اسید به‌عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد. میزان فنول کل بر

خاک (طوقه گیاه) قطع شده و ارتفاع گیاه از سطح بریده شده تا انتهای گل‌آذین به وسیله متر اندازه‌گیری شد.

وزن تر و خشک شاخساره و ریشه: بعد از اینکه ۹۰ درصد بوته‌ها وارد فاز گلدهی شدند؛ بوته‌ها از روی طوقه قطع شده و به آزمایشگاه انتقال یافته به کمک ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم توزین شد. سپس بوته‌ها در شرایط سایه و دمای معمولی اتاق در جریان هوا خشک شده و وزن خشک بوته به کمک ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. **تعداد انشعابات جانبی شاخه:** تعداد شاخه‌های فرعی متصل به تنه اصلی در نمونه‌های برداشت شده (سه گیاه) شمارش شدند.

طول، عرض و سطح برگ: جهت اندازه‌گیری این پارامترها، ابتدا سطح برگ اسکن شده و سپس توسط نرم‌افزار دیجی‌مایزر (Digimizer ver. 793940) مقدار حقیقی سطح برگ سنجش شده و میانگین داده‌ها به عنوان سطح برگ گزارش شد.

ارزیابی صفات فیتوشیمیایی

سنجش میزان کلروفیل a، b و کارتنوئید

پس از ورود گیاهان به فاز گلدهی، گرم از بافت تازه برگ از هر تکرار با ۱۰ میلی لیتر استون ۸۰ درصد سائیده و سپس با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ده دقیقه سانتریفیوژ شد. برای عصاره فوقانی پس از سانتریفیوژ، میزان کلروفیل a در طیف جذبی ۶۶۳ نانومتر و کلروفیل b در طیف جذبی ۶۴۵ نانومتر و کارتنوئید در طیف جذبی ۴۷۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (مدل JENWAY 6300) قرائت شدند. ضمناً دستگاه اسپکتروفتومتر با استون ۸۰ درصد کالیبره شد. غلظت رنگیزه‌ها با استفاده از فرمول‌های ذیل و بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه شدند (Arnon, 1967).

LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. همچنین نمودارهای مورد نیاز با استفاده از نرم افزار اکسل ترسیم شد.

نتایج و بحث

طول، عرض و سطح برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر سطوح مختلف محلول پاشی کاراگینان، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره و تریکودرما هارزانیوم بر طول، عرض و سطح برگ در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین ها نشان داد که بیشترین طول برگ (۶/۳ سانتی متر) از تیمار محلول پاشی با عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره در غلظت ۱۲۵ پی پی ام به دست آمد. در مقابل کمترین طول برگ (۳/۹ سانتی متر) از تیمار شاهد به دست آمد (شکل ۱). همچنین بیشترین عرض برگ (۴/۳ سانتی متر) از تیمار محلول پاشی با ۱۲۵ میلی گرم بر لیتر عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره به دست آمد که نسبت به تیمار شاهد ۶۱ درصد افزایش نشان داد (شکل ۲). مقایسه میانگین های اثر محرک های زیستی مورد نظر نشان داد که بیشترین سطح برگ (۱۹/۴ سانتی متر مربع) از محلول پاشی با عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره در غلظت ۱۲۵ پی پی ام و کمترین سطح برگ (۷/۴ سانتی متر مربع) از تیمار شاهد به دست آمد (شکل ۳).

محققان بیان کردند که در برگ های گیاهان تیمار شده با نانو کلات آهن مقدار کلروفیل افزایش می یابد؛ که در نتیجه سبب تولید مواد فتوسنتزی و رشد بیشتر برگ ها می شوند. نانوذرات به دلیل اندازه کوچکشان به مولکول های فعال بیولوژیکی متصل می شوند و به راحتی از غشا سلولی عبور می کنند و به علت کوچک بودن و حلالیت بالا، به سرعت توسط گیاهان جذب شده و در نتیجه سبب افزایش رشد می شوند (Rasht, 2013).

اساس میزان معادل میلی گرم گالیک اسید در گرم ماده خشک گزارش شد.

سنجش میزان فلاونوئید کل

محتوی فلاونوئیدی عصاره ی متانولی بادرنجبویه به روش رنگ سنجی آلومینیوم کلراید اندازه گیری شد. در این روش به ۰/۵ میلی لیتر از عصاره متانولی، ۰/۱ میلی لیتر کلرید آلومینیوم (۱۰ درصد)، ۰/۱ میلی لیتر استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. نمونه ها به مدت ۴۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه و سپس جذب مخلوط در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر قرائت شدند. ضمناً بلانک محلول نیز به همین صورت و بدون عصاره آماده شد (Chang et al., 2002). منحنی استاندارد بر اساس محلول غلظت های متفاوت کوئرستین رسم شده و میزان فلاونوئید معادل میلی گرم کوئرستین در هر گرم وزن خشک گیاه محاسبه شد. تمامی سنجش ها در سه تکرار انجام شد.

سنجش میزان آنتی اکسیدان

سنجش فعالیت رادیکال های آزاد به روش باروس و همکاران صورت گرفت. ۲۵۰ میکرو لیتر از عصاره با ۷۵۰ میکرو لیتر از محلول DPPH (این محلول از انحلال ۲ میلی گرم DPPH در ۵۰ میلی لیتر متانول تهیه گردید) مخلوط شد. این نمونه ها به مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی و در دمای اتاق انکوبه و سپس میزان جذب آن ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شدند (Barros et al., 2007). درصد مهار رادیکال های آزاد با فرمول زیر محاسبه شد:

رابطه ۵:

$$\text{درصد مهار رادیکال آزاد} = \frac{Ac-As}{Ac} \times 100$$

تجزیه داده ها

داده های این پژوهش با استفاده از نرم افزار SAS تجزیه شده و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاه بادرنجبویه تحت تیمارهای مختلف محرک زیستی.

Table 1. Analysis of variance of morphophysiological traits of lemon balm under different biostimulants treatments.

Sources of variation	df	Mean Squares								
		Leaf length	Leaf Wide	Leaf area	Bush height	Wet weight	Dry weight	Lateral branch	Florescence length	Florescence number
Replication	2	0.29 ^{ns}	0.11 ^{ns}	5.99 ^{ns}	17.56 ^{ns}	737.43 ^{ns}	8.76 ^{ns}	7.03 ^{ns}	2.75 ^{ns}	5.2 ^{ns}
Elicitation	9	1.30*	0.56*	30.18*	306.37*	76027.20*	902.13*	15.21 ^{ns}	68.59*	48.87*
Error	18	0.078	0.025	2.043	1.18	458.07	5.55	8.1	0.27	1.94
C.V. (%)	-	5.46	4.53	11.46	1.18	8.33	8.20	13.32	1.56	11.23

*،**،***: به ترتیب به مفهوم تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و بدون اختلاف معنی دار می باشد.

*،**،ns: Significant differences at the 5 and 1% of probability levels, and non-significantly difference, respectively.

اکسینی و جبرلین دانستند که سبب تحریک مکانیسم‌های مقاومت، رشد و نمو و افزایش حلالیت عناصر معدنی برای جذب توسط گیاه می‌شود؛ که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت داشت (Salahi Ostad *et al.*, 2020).

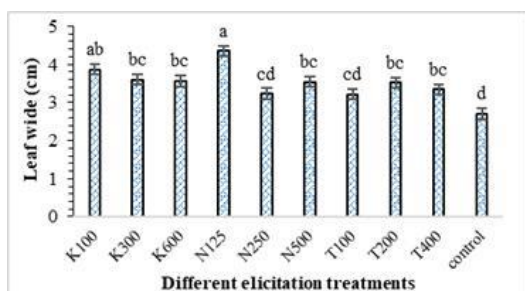
وزن تر و خشک بوته: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر این بود که اثر تیمار محرک‌های زیستی کاراگینان، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره و تریکودرما هارزانیوم بر وزن تر بوته در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بود (جدول ۱). بیشترین وزن تر بوته (۵۰۹/۳ گرم) در تیمار محلول‌پاشی با کاراگینان در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد که نسبت به تیمار شاهد (۸۲/۸ گرم) بیش از پنج برابر افزایش داشت (شکل ۵). همچنین بیشترین وزن خشک (۵۹ گرم) در محلول‌پاشی با تیمار کاراگینان در غلظت ۶۰۰ پی‌پی‌ام به دست آمد که نسبت به تیمار شاهد ۴/۹ برابر افزایش داشت (شکل ۶). محققان بیان کردند که کاراگینان جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی است و به‌طور قابل توجهی با جوانه‌زنی بذر، افزایش رشد، افزایش طول ساقه، تولید گل، رشد ریشه، سرکوب استرس فلزات سنگین و فعالیت ضد میکروبی در گیاهان مرتبط است. جلبک دریایی باعث بهبود کارایی مصرف آب و دریافت مواد مغذی شده در نتیجه باعث افزایش رشد گیاه می‌شود (Hossain & Shourove, 2022). تیمار

نتایج مطالعه‌ای نشان داد که کاربرد نانوذرات نقره سنتز شده با استفاده از صمغ عربی به‌طور قابل توجهی جوانه‌زنی بذر و سیستم آنتی‌اکسیدانی، طول ساقه، طول ریشه، وزن تر گیاهچه در غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام گیاه شنبلیله، پیاز و ذرت را افزایش داده است. همچنین نانونقره سنتز شده بیان آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی SOD، CAT و APX₂ را به‌طور قابل توجهی افزایش داد. نانوذرات از طریق ارائه ریز-مغذی‌ها و تنظیم بیان ژن می‌توانند در متابولیسم گیاه تأثیر بگذارند (Soliman *et al.*, 2020).

ارتفاع بوته: نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش نشان داد که اثر محرک‌های زیستی کاراگینان، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره و تریکودرما هارزانیوم بر ارتفاع بوته در سطح احتمال پنج درصد معنی دار بود (جدول ۱). به‌طوری‌که بیشترین ارتفاع بوته (۱۰۸ سانتی‌متر) در تیمار تریکودرما هارزانیوم در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین ارتفاع بوته در تیمار شاهد (۷۳ سانتی‌متر) مشاهده شد (شکل ۴). محققان اذعان کردند که همزیستی قارچ تریکودرما با گیاه ریحان منجر به افزایش ارتفاع بوته شد. آن‌ها علت این امر را کمک تریکودرما به جذب مواد غذایی و تولید ترکیبات شبه

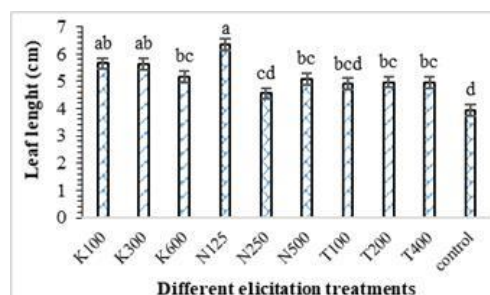
اکسین و محتوای متابولیت‌های ثانویه فعالیت‌های ضد-بیماری‌زایی و دارویی را در گیاهان تحریک می‌کند (Moenne & Gonzalez., 2021). تیمار ۸۰ میلی‌گرم در لیتر کاراگینان پرتو دیده‌شده روی گیاه خاراگوش چینی (*Artemisia annua*) پارامترهای رشدی نظیر وزن خشک، وزن تر، میزان کلروفیل کل و کارانوئید را افزایش داد (Naeem et al., 2020) که با نتایج این پژوهش مطابقت داشت.

کاراگینان در نهال‌های برنج (*Oryza sativa*) سبب افزایش زیست‌توده اندام هوایی و ریشه و افزایش بیان ژن‌های کدکننده کینازهای وابسته به سیکلین، آنزیم‌های دخیل در سنتز و انتقال اکسین ایندول ۳- استیک‌اسید شد. علاوه‌براین سطح رونوشت آنزیمی که تجزیه‌کردن اکسین را کد می‌کند کاهش یافت (Zhang et al., 2014). بنابراین کاراگینان با افزایش فتوسنتز، جذب کربن و نیتروژن، تقسیم سلولی، سطح



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر عرض برگ بادرنجبویه

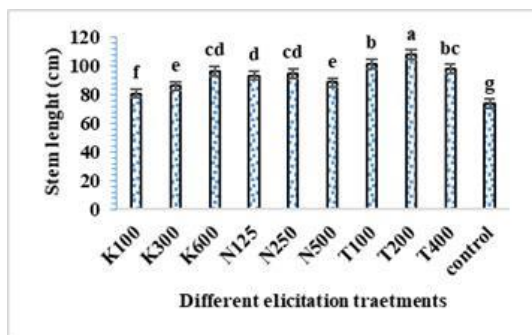
Figure 2. Comparison of mean effect of different treatments on leaf wide of lemon balm



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر طول برگ بادرنجبویه

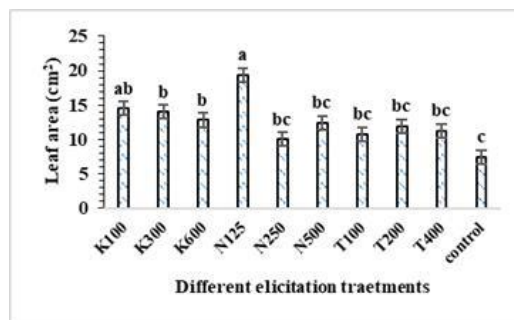
Figure 1. Comparison of mean effect of different treatments on leaf length of lemon balm

کاراگینان ۱۰۰ (k100)، کاراگینان ۳۰۰ (k300)، کاراگینان ۶۰۰ (k600)، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۱۲۵ (N125)، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۲۵۰ (N250) عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۵۰۰ (N500)، تریکودرما هارزانیوم ۱۰۰ (T100)، تریکودرما هارزانیوم ۲۰۰ (T200)، تریکودرما هارزانیوم ۴۰۰ (T400)، و آب مقطر (شاهد).



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر ارتفاع بوته بادرنجبویه

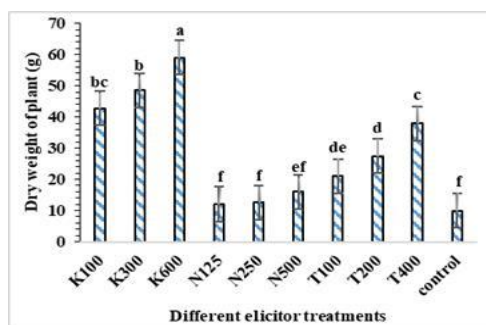
Figure 4. Comparison of mean effect of different treatments on bush height of lemon balm



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر سطح برگ بادرنجبویه

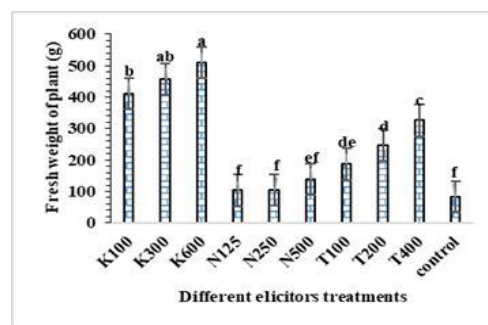
Figure 3. Comparison of mean effect of different treatments on leaf area of lemon balm

کاراگینان ۱۰۰ (k100)، کاراگینان ۳۰۰ (k300)، کاراگینان ۶۰۰ (k600)، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۱۲۵ (N125)، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۲۵۰ (N250) عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۵۰۰ (N500)، تریکودرما هارزانیوم ۱۰۰ (T100)، تریکودرما هارزانیوم ۲۰۰ (T200)، تریکودرما هارزانیوم ۴۰۰ (T400)، و آب مقطر (شاهد).



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر وزن خشک گیاه بادرنجبویه

Figure 6. Comparison of mean effect of different treatments on dry weight of lemon balm



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر وزن تر گیاه بادرنجبویه

Figure 5. Comparison of mean effect of different treatments on fresh weight of lemon balm

کاراگینان ۱۰۰ (k100)، کاراگینان ۳۰۰ (k300)، کاراگینان ۶۰۰ (k600)، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۱۲۵ (N125)، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۲۵۰ (N250)، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۵۰۰ (N500)، تریکودرما هارزانیوم ۱۰۰ (T100)، تریکودرما هارزانیوم ۲۰۰ (T200)، تریکودرما هارزانیوم ۴۰۰ (T400)، و آب مقطر (شاهد).

بهبود رفتار کلونیزاسیون ریشه و تولید متابولیت هایی مانند اکسین منجر به افزایش رشد و عملکرد گیاهان می شود (Vinale, 2008).

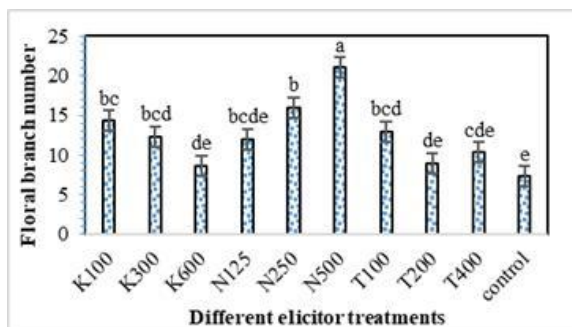
تعداد شاخه های گل دهنده: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که محرک های زیستی کاراگینان، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره و تریکودرما هارزانیوم بر تعداد شاخه گل دهنده گیاه بادرنجبویه در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین ها نشان داد که تیمار عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره با غلظت ۵۰۰ پی پی ام سبب ظهور بیشترین تعداد شاخه گل دهنده (۲۱ شاخه) شد که نسبت به تیمار شاهد (۷/۳ شاخه) افزایش سه برابری داشت (شکل ۸). محققان ادعان کردند که محلول- پاشی گل گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis* L.) با نانوذرات سبز آهن و نقره سنتز شده در عصاره چای سبز منجر به افزایش پارامترهای مورفولوژیکی نظیر تعداد برگ در بوته و تعداد انشعابات جانبی ساقه شد (Dahmardeh et al., 2018).

کلروفیل a، b و کل: بررسی تغییرات کلروفیل در تیمار محرک های زیستی کاراگینان، عصاره زعفران

طول گل آذین: نتایج تجزیه واریانس بیانگر این است که اثر محرک های زیستی کاراگینان، عصاره زعفران محتوی نانوذرات نقره و تریکودرما هارزانیوم بر طول گل آذین بادرنجبویه در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بود (جدول ۱). به طوری که بیشترین طول گل آذین (۴۴/۳ سانتی متر) در تیمار تریکودرما هارزانیوم با غلظت ۲۰۰ پی پی ام و کمترین طول گل آذین در تیمار شاهد (۲۷ سانتی متر) مشاهده شد (شکل ۷). محرک های زیستی با تنظیم فعالیت های متابولیکی مختلف مانند فتوسنتز همچنین مسیرهای متابولیکی در جذب نیتروژن و گوگرد رشد را بهبود می بخشند (Hatami, 2021; Shukla et al., 2016). گزارش شده است که محرک های زیستی به خودی خود مواد مغذی نیستند در عوض جذب مواد مغذی را تسهیل می کنند (Brown & Saa, 2015). تیمار بوته گوجه فرنگی با قارچ تریکودرما هارزانیوم به صورت محلول پاشی به طور معنی داری باعث افزایش کلیه پارامترهای رشدی نظیر ارتفاع و وزن خشک اندام هوایی و ریشه در مقایسه با شاهد شد (et al Mwangi., 2011). در مطالعه دیگری گزارش شد که تریکودرما در تعامل با ریشه گیاه و

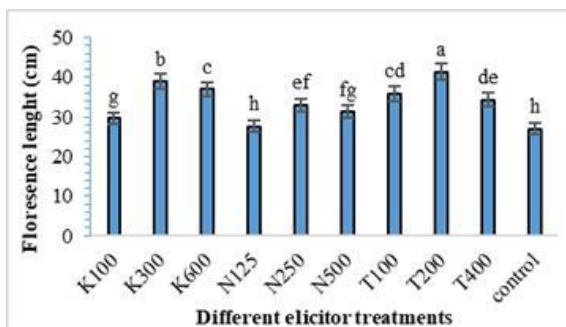
احتمال ۵ درصد معنی‌دار بودند (جدول ۲).

محتوی نانو ذرات نقره و تریکودرما هارزانیوم نشان داد که تغییرات میزان کلروفیل a, b و کل در سطح



شکل ۸- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر تعداد شاخه گل‌دهنده بادرنجبویه

Figure 8. Comparison of mean effect of different treatments on florescence number of lemon balm



شکل ۷- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر طول گل-آذین بادرنجبویه

Figure 7. Comparison of mean effect of different treatments on florescence length of lemon balm

کاراگینان ۱۰۰ (k100)، کاراگینان ۳۰۰ (k300)، کاراگینان ۶۰۰ (k600)، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۱۲۵ (N125)، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۲۵۰ (N250)، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۵۰۰ (N500)، تریکودرما هارزانیوم ۱۰۰ (T100)، تریکودرما هارزانیوم ۲۰۰ (T200)، تریکودرما هارزانیوم ۴۰۰ (T400)، و آب مقطر (شاهد).

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات فیتوشیمیایی گیاه بادرنجبویه تحت تیمارهای مختلف محرک زیستی.

Table 2. Analysis of variance of phytochemical traits of lemon balm under different biostimulants treatments.

Sources of variation	df	Mean Squares							
		Chlorophyll a	Chlorophyll b	Total Chlorophyll	Anthocyanin	Carotenoid	Total phenol	Total flavonoid	Antioxidant activity
Replication	2	10.19ns	10.05ns	40.23ns	97.37ns	0.34ns	19.09ns	0.04ns	10.34ns
Elicitation	9	260.55*	218.7*	854.32*	1023.9*	11.81*	96.76*	0.31*	142.62*
Error	18	2.18	0.75	2.22	26.20	0.33	8.7	0.0175	1.47
C.V. (%)	-	6.59	5.37	3.86	13.08	3.004	8.33	21.13	1.77

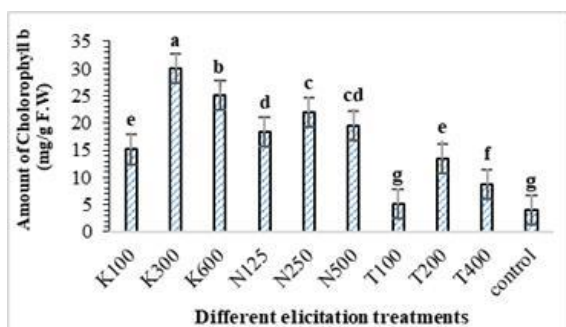
ns, ** و * به ترتیب به مفهوم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و بدون اختلاف معنی‌دار می باشد.

ns, ** و * Significant differences at the 5 and 1% of probability levels, and non-significantly difference, respectively.

(شکل ۱۰). همچنین تیمار با محرک زیستی کاراگینان در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر منجر به تجمع بیشترین میزان کلروفیل کل (۶۱/۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر) شد؛ در صورتی که در تیمار شاهد کمترین میزان کلروفیل کل (۱۰/۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر) مشاهده شد (شکل ۱۱). نتایج تحقیقی نشان داد کاراگینان با تأثیر بر محتوای کلروفیل گیاه میزان فتوسنتز را افزایش می‌دهد (Khan, 2009). محلول‌پاشی کاراگینان محتوی

به طوری که بیشترین میزان کلروفیل a (۳۱/۹۸ میلی‌گرم در گرم ماده تر) در تیمار با کاراگینان در غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام مشاهده شد. در حالی که کمترین میزان در تیمار شاهد (۶/۶ میلی‌گرم در گرم ماده تر) مشاهده شد (شکل ۹). در این آزمایش بیشترین میزان کلروفیل b (۳۰ میلی‌گرم در گرم وزن تر) در تیمار با کاراگینان در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد؛ در حالی که کمترین میزان کلروفیل b (۵/۱ میلی‌گرم در گرم وزن تر) در تیمار شاهد مشاهده شد

معنی دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بر اثر محلول‌پاشی محرک‌های زیستی مختلف بیشترین میزان کارتنوئید (۸/۶ میلی‌گرم در گرم بافت تر) از تیمار محلول‌پاشی با عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره در غلظت ۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر و در مقابل کمترین میزان کارتنوئید (۲/۹ میلی‌گرم در گرم وزن تر) در تیمار شاهد به‌دست آمد (شکل ۱۲). نتایج نشان داد که محلول‌پاشی بابونه کبیر (*Tanacetum parthenium*) با نانوذرات سبز نقره سنتز شده در عصاره رزماری منجر به افزایش میزان کارتنوئید شد (Mehdinejad et al., 2019).



شکل ۱۰- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر کلروفیل b بادرنجبویه

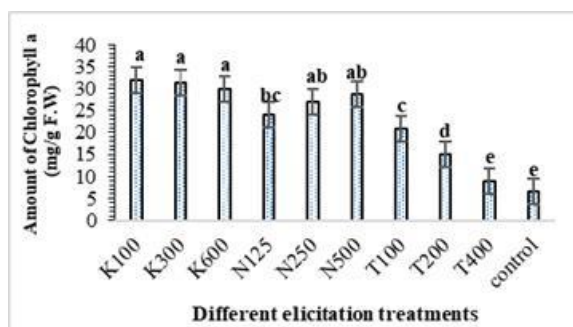
Figure 10. Comparison of mean effect of different treatments on chlorophyll b of lemon balm

کاراگینان ۱۰۰ (k100)، کاراگینان ۳۰۰ (k300)، کاراگینان ۶۰۰ (k600)، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۱۲۵ (N125)، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۲۵۰ (N250)، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۵۰۰ (N500)، تریکودرما هارزانیوم ۱۰۰ (T100)، تریکودرما هارزانیوم ۲۰۰ (T200)، تریکودرما هارزانیوم ۴۰۰ (T400)، و آب مقطر (شاهد).

۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر حاصل شد و کمترین میزان آنتوسیانین (۱۵/۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر) در تیمار شاهد مشاهده شد (شکل ۱۳). گروهی از محققین بیان کردند که محتوای رنگدانه‌ها در گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) در تمام تیمارهای همراه با الفاکتنده‌های شیمیایی (سالسیلیک‌اسید، اسیدآسبیزیک، سلیکات پتاسیم) همراه با قارچ تریکودرما هارزانیوم به طور معنی‌داری افزایش یافت

کلروفیل، زیست‌توده (بیوماس) و فتوسنتز را از طریق افزایش فعالیت فتوسیستم ۲ بهبود می‌بخشد و باعث افزایش آنزیم‌های روبیسکو و دیگر آنزیم‌های دخیل در متابولیسم پایه مانند گلوتمات‌دهیدروژناز، آنزیم‌های سنتزکننده NADP (H)، پیرووات‌دهیدروژناز، ایزوسیترات‌دهیدروژناز، گلوکوز ۶-فسفات‌دهیدروژناز می‌شود و از این طریق فتوسنتز را بهبود می‌بخشد (Castro, 2012).

کارتنوئید: نتایج تجزیه واریانس حاکی از آن است که تأثیر سطوح مختلف محرک‌های زیستی کاراگینان، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره و تریکودرما هارزانیوم بر مقدار کارتنوئید در سطح احتمال ۵ درصد

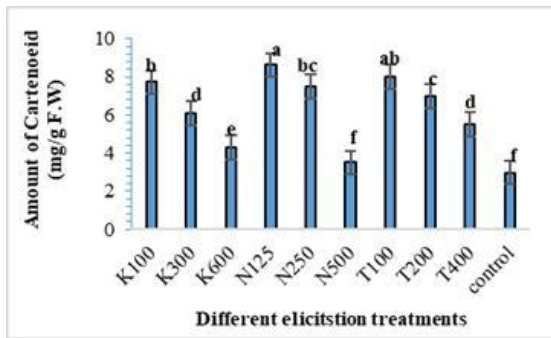


شکل ۹- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر کلروفیل a بادرنجبویه

Figure 9. Comparison of mean effect of different treatments on chlorophyll a of lemon balm

آنتوسیانین: نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش نشان داد که تأثیر سطوح مختلف محرک‌های زیستی کاراگینان، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره و تریکودرما هارزانیوم بر میزان آنتوسیانین در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). به طوری‌که بیشترین میزان آنتوسیانین (۸۰/۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر) در تیمار محلول‌پاشی تریکودرما هارزانیوم با غلظت

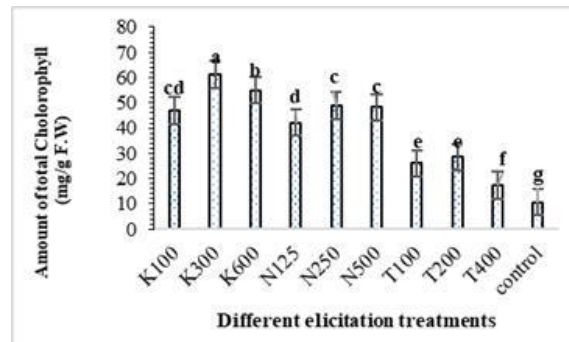
تریكودرما هارزانیوم در مقایسه با شاهد افزایش یافت (Sesan, 2020).



شکل ۱۲- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر کارتنوئید بادرنجبویه

Figure 12. Comparison of mean effect of different treatments on carotenoid of lemon balm

(Adass, 2021). در پژوهشی تجمع پلی فنل‌ها در گیاه گل ساعتی (*Passiflora caerulea*) در تیمار با



شکل ۱۱- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر کلروفیل کل بادرنجبویه

Figure 11. Comparison of mean effect of different treatments on total chlorophyll of lemon balm

کاراگینان ۱۰۰ (k100)، کاراگینان ۳۰۰ (k300)، کاراگینان ۶۰۰ (k600)، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۱۲۵ (N125)، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۲۵۰ (N250)، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۵۰۰ (N500)، تریكودرما هارزانیوم ۱۰۰ (T100)، تریكودرما هارزانیوم ۲۰۰ (T200)، تریكودرما هارزانیوم ۴۰۰ (T400)، و آب مقطر (شاهد).

هارزانیوم در مورد میزان فلاونوئید در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در اثر محلول‌پاشی محرک‌های زیستی مختلف بیشترین میزان فلاونوئید (۱/۴ معادل میلی‌گرم کوئرستین بر گرم ماده خشک) از تیمار محلول‌پاشی با عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر حاصل شد و در مقابل کمترین میزان فلاونوئید کل (۰/۲۷ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم ماده خشک) در تیمار شاهد به‌دست آمد (شکل ۱۵). پژوهشگران ادعان کردند که تأثیر نانو نقره سبز سنتز شده در عصاره گیاه رزماری (*Salvia rosmarinus*) بر صفاتی مانند کربوهیدرات، کلروفیل a، کلروفیل b، فلاونوئید، پرولین و کارتنوئید گیاه بایونه کبیر اثر معنی‌داری داشته و علت آن را افزایش فعالیت نیترات‌ردوکتاز و گلوتامات‌دهیدروژناز و در نتیجه افزایش رشد و میزان فتوسنتز دانستند (Mehdinejad et al., 2019).

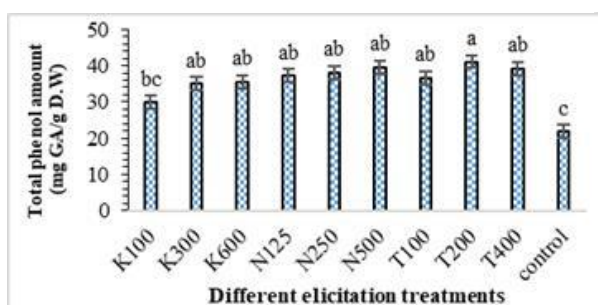
فعالیت آنتی‌اکسیدانی: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر آن است که تأثیر سطوح مختلف محرک‌های

فنل کل: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر سطوح مختلف محرک‌های زیستی کاراگینان، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره و تریكودرما هارزانیوم بر صفت فنل کل در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). به‌طوری‌که بیشترین میزان فنل (۴۱/۱ میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم وزن خشک) در محلول‌پاشی با تریكودرما هارزانیوم در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و کمترین میزان آن (۲۱/۸۸ میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم وزن خشک) در تیمار شاهد به‌دست آمد (شکل ۱۴). محرک‌های زیستی با تنظیم فعالیت‌های متابولیکی مختلف مانند فتوسنتز و مسیرهای جانبی، تقسیم سلولی، مسیرهای مصنوعی ساخت پورین و پیریمیدین و همچنین مسیرهای متابولیکی در جذب نیتروژن و گوگرد رشد را بهبود می‌بخشند (Hatami, 2021 & Shukla et al., 2016).

فلاونوئید: نتایج تجزیه واریانس حاکی از آن است که تأثیر سطوح مختلف محرک‌های زیستی کاراگینان، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره و تریكودرما

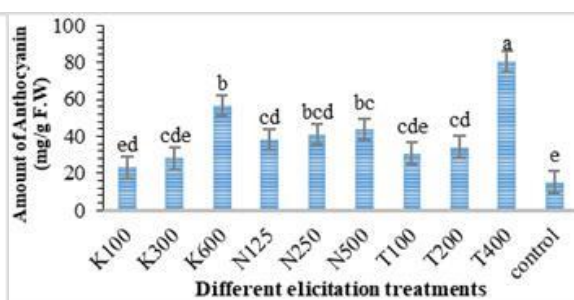
متابولیت‌های ثانویه در گیاهان سبب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خواهد شد. رشد ریشه از مزایای مشترک گونه‌های مختلف تریکودرماست که با تولید هورمون‌های گیاهی نظیر اکسین، اسیدها، زیانیک و هارزینونالید کنترل می‌شود (Caei *et al.*, 2013). عصاره‌های گوجه‌فرنگی که تحت تیمار تریکودرما قرار گرفتند فعالیت مهارکنندگی بالاتری بر رادیکال‌های آزاد DPPH نسبت به شاهد نشان دادند که بیان‌کننده فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر عصاره متانولی حاصل از گوجه‌فرنگی تیمار شده با تریکودرما در مقایسه با شاهد است (Singh, 2013).

زیستی کاراگینان، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره و تریکودرما هارزانیوم بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره بادرنجبویه در تیمارهای مختلف در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). به‌طوری‌که بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۷۸/۱) درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در محلول‌پاشی با تریکودرما هارزانیوم در غلظت ۴۰۰ پی‌پی‌ام و کمترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۵۶) درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در تیمار شاهد به‌دست آمد (شکل ۱۶). محرک‌های زیستی مختلف بر مسیرهای بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در سلول‌های گیاهی تأثیر می‌گذارند (Hatami, 2021) که وجود این



شکل ۱۴- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر فنل بادرنجبویه

Figure 14. Comparison of mean effect of different treatments on phenol of lemon balm



شکل ۱۳- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر آنتوسیانین بادرنجبویه

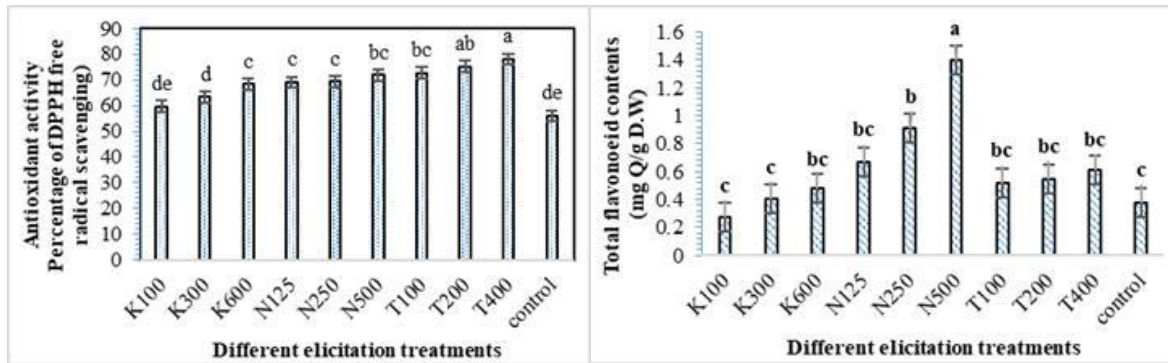
Figure 13. Comparison of mean effect of different treatments on anthocyanin of lemon balm

کاراگینان ۱۰۰ (k100)، کاراگینان ۳۰۰ (k300)، کاراگینان ۶۰۰ (k600)، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۱۲۵ (N125)، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۲۵۰ (N250)، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۵۰۰ (N500)، تریکودرما هارزانیوم ۱۰۰ (T100)، تریکودرما هارزانیوم ۲۰۰ (T200)، تریکودرما هارزانیوم ۴۰۰ (T400)، و آب مقطر (شاهد).

همچنین در تیمار کاراگینان ۶۰۰ پی‌پی‌ام افزایش ۴/۹ برابری در مقادیر وزن خشک بوته در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده شد. از لحاظ مقادیر آنتوسیانین و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برگ، تیمار تریکودرما هارزانیوم در غلظت ۴۰۰ پی‌پی‌ام بیشتر از سایر تیمارها مؤثر بود.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از محرک زیستی عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره با غلظت ۱۲۵ پی‌پی‌ام سبب بهبود ویژگی‌های مورفولوژیکی گیاه شد به‌طوری‌که افزایش ۶۱ درصدی در مقادیر عرض برگ در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده شد.



شکل ۱۵- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر فلاونوئید بادرنجبویه

شکل ۱۶- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بادرنجبویه

Figure 16. Comparison of mean effect of different treatments on antioxidant activity of lemon balm

Figure 15. Comparison of mean effect of different treatments on flavonoids of lemon balm

کاراگینان ۱۰۰ (k100)، کاراگینان ۳۰۰ (k300)، کاراگینان ۶۰۰ (k600)، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۱۲۵ (N125)، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۲۵۰ (N250)، عصاره زعفران محتوی نانو ذرات نقره ۵۰۰ (N500)، تریکودرما هارزانیوم ۱۰۰ (T100)، تریکودرما هارزانیوم ۲۰۰ (T200)، تریکودرما هارزانیوم ۴۰۰ (T400)، و آب مقطر (شاهد).

REFERENCES

- Acharya, S., Sigdel, S., Kandel, G. & Adhikari, P. (2022). Climate change: Threats on the medicinal plants in Nepal. *Asian Journal of Pharmacognosy*, 1(4), 41-48.
- Adass, I. A., Amer, G., Bayoumy, S. R. & Eid, R. (2021). Effect of abscisic acid, salicylic acid, potassium silicate, and *Trichoderma harzianum* as biocontrol agent to induce the tomato resistance against early blight disease caused by *Alternaria solani*. *Alexandria Science Exchange Journal*, 42(3), 773-787.
- Baltazar, M., Correia, S., Guinan, K. J., Sujeeth, N., Bragança, R. & Gonçalves, B. (2021). Recent advances in the molecular effects of biostimulants in plants: An overview. *Biomolecules*, 11(8), 1096.
- Brown, P. & Saa, S. (2015). Biostimulants in agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 6, 671.
- Cai, F., Yu, G., Wang, P., Wei, Z., Fu, L., Shen, Q. & Chen, W. (2013). Harzianolide, a novel plant growth regulator and systemic resistance elicitor from *Trichoderma harzianum*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 73, 106-113.
- Castro, J., Vera, J., González, A. & Moenne, A. (2012). Oligo-carrageenans stimulate growth by enhancing photosynthesis, basal metabolism, and cell cycle in tobacco plants (var. Burley). *Journal of Plant Growth Regulation*, 31(2), 173-185.
- Dahmardeh, M. T., Taji, R., Khammari, I. & Haddad, T. (2018). Synthesis of green iron and silver nanoparticles using green tea extract (*Camellia sinensis* L.) and its effect on quantitative and qualitative characteristics of European borage (*Borago officinalis* L.). *Iranian Medicinal and Aromatic Plants Research*, 330-345. (In Persian)
- Franzoni, G., Cocetta, G., Prinsi, B., Ferrante, A. & Espen, L. (2022). Biostimulants on crops: Their impact under abiotic stress conditions. *Horticulturae*, 8(3), 189.
- Ghorbani Ghozhadi, H. M., Mohkami, Z. & Estaji, A. (2021). *Medicinal herbal medicine in traditional the victim of Iranian medicine*. First Edition, Tehran: Marz Danesh Publications, page 152. (In Persian)
- Hajlaoui, H., Arraouadi, S., Noumi, E., Snoussi, M. & Kadri, A. (2021). *Melissa officinalis* L. essential oil: Chemical composition, antioxidant, antibacterial and antifungal activities-in vitro study. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 33(60B), 1529-1537.
- Hatami, M., Khanizadeh, P., Bovand, F. & Aghaee, A. (2021). Silicon nanoparticle-mediated seed priming and *Pseudomonas spp.* inoculation augment growth, physiology and antioxidant metabolic status in *Melissa officinalis* L. plants. *Industrial Crops and Products*, 162, 113-238.
- Hossain, M. A. & Shourove, J. H. (2022). *Prospects and probabilities of irradiated cellulose and carrageenan in food and agricultural industries*. In radiation-processed polysaccharides (pp. 155-177), Academic Press.
- Kapoor, S., Sood, H., Saxena, S. & Chaurasia, O. P. (2022). Green synthesis of silver nanoparticles using *Rhodiola imbricata* and *Withania somnifera* root extract and their potential catalytic, antioxidant, cytotoxic and growth-promoting activities. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 1-16.
- Khan, W., Rayirath, U. P., Subramanian, S., Jithesh, M. N., Rayorath, P., Hodges, D. M. & Prithiviraj, B. (2009). Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *Journal of Plant Growth Regulation*, 28(4), 386-399.

15. Lee, S. H., Jeong, Y. S., Song, J., Hwang, K. A., Noh, G. M. & Hwang, I. G. (2017). Phenolic acid, carotenoid composition, and antioxidant activity of bitter melon (*Momordica charantia* L.) at different maturation stages. *International Journal of Food Properties*, 20(sup3), S3078-S3087.
16. Mehdinejad, N., Mousavi, H., Fakhri, B. & Heidari, F. (2019). Evaluation of the effect of nanoparticles on changes in some physiological traits, photosynthetic pigments and the active ingredient of *chamomile parthenolide* under dehydration stress. *Plant Process and Function*, 219-227. (In Persian)
17. Moenne, A. & González, A. (2021). Chitosan-, alginate-carrageenan-derived oligosaccharides stimulate defense against biotic and abiotic stresses, and growth in plants: A historical perspective. *Carbohydrate Research*, 503, 108298.
18. Moradkhani, H., Sargsyan, E., Bibak, H., Naseri, B., Sadat-Hosseini, M., Fayazi-Barjin, A. & Meftahizade, H. (2010). *Melissa officinalis* L., a valuable medicine plant: A review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(25), 2753-2759.
19. Mwangi, M. W., Monda, E. O., Okoth, S. A. & Jefwa, J. M. (2011). Inoculation of tomato seedlings with *Trichoderma harzianum* and arbuscular mycorrhizal fungi and their effect on growth and control of wilt in tomato seedlings. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42(2), 508-513.
20. Murthy, H. N., Lee, E. J. & Paek, K. Y. (2014). Production of secondary metabolites from cell and organ cultures: strategies and approaches for biomass improvement and metabolite accumulation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 118(1), 1-16.
21. Naeem, M., Nabi, A., Aftab, T. & Khan, M. (2020). Oligomers of carrageenan regulate functional activities and artemisinin production in *Artemisia annua* L. exposed to arsenic stress. *Protoplasma*, 257(3), 871-887.
22. Najafi, Sh. (2010). Medicinal plants. Marandiz Publications. Mashhad, Iran. 390 p. (In Persian)
23. Omid Beigi, R. (2000). *Approaches to the production of medicinal plants*. First Edition, Tehran: Publishing Designers Publications, 37-38. (In Persian)
24. Pressi, G., Bertaiola, O., Guarnerio, C., Barbieri, E., Guzzo, F., Durand, C., Peno-Mazzarino, L., Cocetta, V., Giacomini, I. & Semenzato, A. (2021). In vitro cultured *Melissa officinalis* cells as effective ingredient to protect skin against oxidative stress, blue light, and infrared irradiations damages. *Cosmetics*, 8(1), 23.
25. Rahim Malek, M. & Khorsandi, D. (2015). *Knowledge of compounds and biotechnology of medicinal plants*. Isfahan: Academic Center for Education, University of Isfahan, Isfahan, Iran. 176 p. (In Persian)
26. Rasht, I. (2013). Effect of application of iron fertilizers in two methods' foliar and soil application on growth characteristics of *Spathyphyllum illusion*. *European Journal of Experimental Biology*, 3, 232-242.
27. Salahi Ostad, M., Abedi, B. & Selahverzi, Y. (2020). The effect of *Trichoderma harzianum* on the coexistence of basil populations. *The 7th National Congress of Biology and Natural Sciences of Iran*. Mashhad. Iran.
28. Singh, S. P., Singh, H. B., & Singh, D. K. (2013). Effect of *Trichoderma harzianum* on mineral component and antioxidant activity of tomato fruits. *Vegetos*, 26(2), 237-244.
29. Singh, M., Khan, M. M. A., Uddin, M., Naeem, M. & Qureshi, M. I. (2017). Proliferating effect of radiolytically depolymerized carrageenan on physiological attributes, plant water relation parameters, essential oil production and active constituents of *Cymbopogon flexuosus* Steud. under drought stress. *PLoS One*, 12(7), e0180129.
30. Şesan, T. E., Oancea, A. O., Ştefan, L. M., Mănoiu, V. S., Ghiurea, M., Răut, I. & Oancea, F. (2020). Effects of foliar treatment with a *Trichoderma* plant biostimulant consortium on *Passiflora caerulea* L. yield and quality. *Microorganisms*, 8(1), 123.
31. Soliman, M., Qari, S. H., Abu-Elsaoud, A., El-Esawi, M., Alhaithloul, H. & Elkelish, A. (2020). Rapid green synthesis of silver nanoparticles from blue gum augment growth and performance of maize, fenugreek, and onion by modulating plants cellular antioxidant machinery and genes expression. *Acta Physiologiae Plantarum*, 42(9), 1-16.
32. Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Barbetti, M. J., Li, H. & Lorito, M. (2008). A novel role for trichoderma secondary metabolites in the interactions with plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 72(1-3), 80-86.
33. Zekavati, H. R., Mansouri, N. & Fatemi, S. R. (2021). Effect of *Trichoderma harzianum* fungus on the physiology traits and some vegetative and reproductive characteristics of tuberose (*Polianthes tuberosa* L. cv. Double) under drought stress conditions. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 51(4), 1017-1026.
34. Zhang, Y., Yin, H., Zhao, X., Wang, W., Du, Y., He, A. & Sun, K. (2014). The promoting effects of alginate oligosaccharides on root development in *Oryza sativa* L. mediated by auxin signaling. *Carbohydrate Polymers*, 113, 446-454.