مجله پژوهش‌های به زراعی
جلد ۷، شماره ۱، بهار ۱۳۹۴

مجله پژوهش‌های به زراعی

تأثیر کودهای شیمیایی، آلی و کیتوزان بر خصوصیات فیزیولوژیکی و میزان ترکیبات فنلی گیاه دارویی آویشن دنایی (*Thymus deanensis* Celak) در منطقه شهرکرد

زهره امامی بیستگانی[1*]، سید عطاءالله سیادت[2]، عبدالمهدی بخشنده[2]، عبدالله قاسمی پیربلوطی[3]

۱-دانشجوی دکتری، گروه زراعت، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، ایران
۲-گروه زراعت، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، ایران
۳-گروه گیاهان دارویی، واحد شهر کرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت : ۹۳/۱۲/۹ تاریخ پذیرش: ۹۴/۴/۲۵

چکیده

به منظور بررسی تأثیر کودهای شیمیایی، آلی، تلفیقی و الیسیتور زیستی کیتوزان بر محتوای فنل، فعالیت آنتی اکسیدانی و خصوصیات فیزیولوژیک گیاه دارویی آویشن دنایی (*Thymus deanensis* Celak) در شرایط آب و هوایی شهرکرد، آزمایشی در سال زراعی ۱۳۹۳ به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار در مزرعه تحقیقاتی گیاهان دارویی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد اجرا شد. عامل اصلی کود در ۵ سطح شاهد (عدم مصرف)، ۱۰۰٪ کود شیمیایی NPK (۱۰۰-۱۵۰-۱۰۰ کیلوگرم در هکتار)، ۱۰۰٪ کود دامی (۲۰ تن کود دامی در هکتار) ،۱۰تن ورمی کمپوست، تلفیقی (شیمیایی+ دامی+ ورمی کمپوست) و کیتوزان در ۴ سطح (۰، ۰/۲ و ۰/۴درصد) انجام گردید. نتایج بدست آمده نشان داد، که اثر تیمارهای کودی بر محتوای فلاونوئید، فعالیت آنتی اکسیدانی، شاخص سطح برگ و ماده خشک کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. همچنین کیتوزان بر کلروفیل a، کلروفیل b، فنل، فعالیت آنتی اکسیدانی، شاخص سطح برگ و ماده خشک کل اثر معنی‌داری داشت. در این پژوهش، برهمکنش سطوح کودی و کیتوزان بر شاخص سطح برگ و ماده خشک کل معنی‌دار شد. همچنین بیشترین میزان فنل و فعالیت آنتی اکسیدانی از تیمار کودی ۱۰۰ درصد کود دامی و کیتوزان با غلظت ۰/۴ درصد و اسید استیک به‌دست آمد.

واژه‌های کلیدی: آویشن دنایی، صفات فیزیولوژیکی، فعالیت آنتی اکسیدانی، کیتوزان، کودهای شیمیایی و آلی

* نگارنده مسئول (zohreemami66@gmail.com)

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

آویشن یکی از گیاهان مهم دارویی ایران می‌باشد که به لحاظ کاربرد فراوان در صنایع دارویی و غذایی، جایگاه ویژه‌ای را در بین گیاهان دارویی در سطح تجارت بین الملل دارا است. این امر ناشی از افزایش تمایل به کشت و همچنین مصرف فرآورده‌های طبیعی در دنیا می‌باشد (Baghalian and Naghdibadi, 2000). اسانس فـنلی آویشن جزء ده اسانس مهم گزارش شده است که دارای خاصیت ضد باکتریایی، ضدقارچی، آنتی اکسیـــدانی و نگهدارنده طبیعی غذا می‌باشد (Letchamo and Gosselin, 1995). جنس آویشن در ایران دارای ۴ گونه انحصاری می‌باشد که آویشن دنایی (*Thymus deanensis* Celak) از جمله‌ی آنهاست (Shahnazi *et al*., 2006) و دارای فرم‌های رویشی و زایشی و ترکیبات اسانس متفاوت می‌باشند.

Sajjadi and Khatamsaz (2003) اصلی‌ترین ترکیب‌های موجود در اسانس سرشاخه‌های گلدار گیاه *T. daenensis* را تیمول (۷۳/۹ درصد)، کارواکرول (۶/۷ درصد)، پاراسیمن (۴/۶ درصد)، بتا - بیزابولن (۱/۵ درصد)، ترپینن-۴-ال (۱/۴ درصد)، بورنئول (۱/۱ درصد) و اسپاچولنول (یک درصد) گزارش نموده‌اند. عملکرد اندام هوایی و اسانس این گیاه به مقدار زیادی تحت تأثیر حاصلخیزکنندگان خاک، زمان برداشت، گونه و مسائل به زراعی متعددی است (Safayie and Afuni, 2011). یکی از نیازهای مهم در برنامه ریزی زراعی به منظور حصول عملکرد بالا با کیفیت مطلوب مخصوصاً در مورد گیاهان دارویی، ارزیابی سیستم‌های مختلف تغذیه گیاه است. با بکارگیری روش صحیح حاصلخیزی خاک و تغذیه گیاه می توان ضمن حفظ محیط زیست، باعث کاهش فرسایش و تنوع زیستی گردید و کیفیت آب و کارایی نهاده‌ها را افزایش داد. همچنین با اجتناب از کاربرد غیر ضروری و بی رویه کودهای شیمیایی، به سمت توسعه کشاورزی پایدار حرکت نمود (Ebadi *et al*., 2011).

با توجه به این‌که امروزه، مفاهیمی چون کشاورزی پایدار و زیستی مورد توجه بوده و هزینه‌ی تولید کودهای آلی وزیستی نیز بالا می‌باشد، باید به دنبال سیستمی بود که در بلند مدت بتواند علاوه بر حفظ عملکرد، پایداری سیستم را نیز به دنبال داشته باشد. مطالعات بلند مدت نشان می‌دهند که استفاده‌ی بیش از حد کودهای شیمیایی، عملکرد گیاهان زراعی را کاهش می‌دهد، این کاهش به دلیل اسیدی شدن خاک، کاهش فعالیت‌های بیولوژیکی خاک، افت خصوصیات فیزیکی خاک و عدم وجود ریزمغذی‌ها در کودهای NPK می‌باشد (Adediran *et al*, 2004). کود دامی یکی دیگر از منابع کود آلی است که استفاده از آن در نظام های مدیریت پایدار خاک مرسوم می‌باشد. صفایی و همکاران (Safayie *et al*., 2014) در مطالعه‌ای بر روی گیاه دارویی آویشن دنایی نشان داد، ند که مصرف ۳۵ تن در هکتار کود دامی سبب بهبود وزن خشک اندام هوایی و میزان اسانس شد. آن‌ها اظهار نمودند که اصلاح خواص فیزیکی خاک و قابلیت دسترسی گیاه آویشن به عناصر غذایی بیشتر به دلیل عمده افزایش عملکرد و رشد گیاه در سیستم زیستی بوده است.

راه حل دیگر برای افزایش مقدار مواد آلی خاک‌های زراعی کشور، استفاده از کودهای آلی از قبیل ورمی کمپوست می‌باشد. ورمی کمپوست منبع غنی از عناصر پرمصرف، کم مصرف، ویتامین ها، آنزیم‌ها و هورمون‌های محرک رشد گیاه است. از این رو، استفاده از آن در کشاورزی پایدار

Archive of SID

www.SID.ir

علاوه بر افزایش جمعیت و فعالیت میکروارگانیسم های مفید خاک، سبب رشد زیاد و سریع گیاهان از جمله گیاهان دارویی می‌گردد (Darzi *et al*., 2006). در همین رابطه در پژوهشی که با استفاده از مقادیر مختلف ورمی کمپوست در گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) صورت گرفت، نتایج نشان داد، که مصرف ورمی کمپوست باعث افزایش کمیت و کیفیت اسانس، عملکرد اسانس و عملکرد بیولوژیک نسبت به تیمار شاهد شد (Anwar *et al*., 2005).

استفاده از الیسیتورها یکی از مهم‌ترین روش‌ها برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه است. الیسیتورها مواد شیمیایی یا عوامل زیستی مختلفی هستند که می‌توانند تغییرات فیزیولوژیکی را القا کنند. الیسیتورهای زیستی به طور کارآمدی برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در کشت سلول گیاهان دارویی زیادی به کار رفته‌اند (Zhao *et al*., 2005).

کیتین و کیتوزان ترکیبی مشابه کیتین بدون بنیان‌های استیل از ترکیبات اصلی دیواره سلول بسیاری از گونه‌های قارچی می‌باشند. کیتوزان، یک پلی ساکارید پلی کاتیونی، به عنوان یکی از الیسیتورهای زیستی کارآمد برای بهبود بخشیدن تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی زیادی تأیید شده است (Cheng *et al*., 2006).

Naderi *et al* (2014) در بررسی تأثیر الیسیتور کیتوزان بر بیان ژن چاویکول-o- متیل ترانسفراز گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) گزارش کردند که مصرف کیتوزان منجر به افزایش بیان ژن *CVOMT* شد که افزایش ترکیبات فنل پروپانوئیدی همچون متیل چاویکول در مراحل مختلف برداشت را به همراه داشت، همچنین اظهار نمودند، استفاده از کیتوزان به عنوان الیسیتور زیستی کارآمد، از طریق القای سیستم دفاعی، باعث بهبود بخشیدن بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه می‌شود.

Kaya (2008) نشان داد، که کیتوزان باعث افزایش تولید آرتمیزین با فعال کردن مسیر بیوسنتزی در گیاه دارویی درمنه (*Atemisia annua*) شد. میزان آرتمیزین پس از اضافه کردن مقدار ۷۹۹ میلی‌گرم بر لیتر کیتوزان، ۵۲ درصد افزایش یافت. تیمارکردن گل لیزمانیوس (*Eustoma grandiflorum*) با کیتوزان سبب افزایش رشد غنچه‌ها و پیگمنت‌های گلبرگ شد. کیتوزان توسعه غنچه‌های گل را در این گیاه تحریک کرد و میزان آنتوسیانین را در گلبرگ افزایش داد. بنابراین در افزایش کیفیت گل مؤثر بود (Uddin *et al*., 2004).

با توجه به اهمیت اقتصادی متابولیت‌های گیاهی و افزایش تقاضا، محققین به دنبال روش‌هایی به منظور تولید هر چه بیشتر این ترکیبات با استفاده از الیسیتورهای زیستی مناسب هستند، با توجه به این که پژوهش‌های انجام شده در مورد گیاهان دارویی گویای آن است که استفاده از کشاورزی پایدار به علت تطابق با شرایط طبیعی و بهبود کیفیت محصول بهترین شرایط را برای تولید این گیاهان فراهم می‌آورد و حداکثر بازده اسانس در چنین شرایطی تولید می‌گردد، به همین دلیل تحقیق و پژوهش درزمینه گیاهان دارویی به سمت سیستم های کشاورزی پایدار و بکارگیری روش‌های مدیریتی آنها ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها

آزمایش در سال زراعی ۹۴-۱۳۹۳ در مزرعه تحقیقاتی گیاهان دارویی دانشگاه آزاد اسلامی واقع در منطقه رحمتیه شهرکرد دارای عرض

Archive of SID

www.SID.ir

جغرافیایی ۲۰ دقیقه و ۳۲ درجه و طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۱ دقیقه و ارتفاع ۲۰۶۱ متر از سطح دریا، اجرا شد. قبل از شروع آزمایش به منظور بررسی ویژگی‌های شیمیایی خاک محل آزمایش، نمونه برداری از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متر انجام گردید که نتایج آن در جدول ۱ درج شده است. آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. در این تحقیق عامل اصلی کود در ۵ سطح F_1 (شاهد-عدم مصرف کود)، F_2 (۱۰۰٪ کود شیمیایی NPK (۱۰۰-۱۵۰-۱۰۰ کیلوگرم در هکتار)، F_3 (۱۰۰٪ کود دامی، معادل ۲۰ تن کود دامی در هکتار)، F_4 (۱۰ تن ورمی کمپوست)، F_5 (شیمیایی + دامی + ورمی کمپوست) و کیتوزان در ۴ سطح (۰، ۰/۲درصد و ۰/۴درصد) و اسید استیک و به همرا حلال استیک اسید به عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند.

زمین مورد آزمایش را در بهار سال ۱۳۹۳ به عمق ۳۰ سانتی‌متر شخم و دو روز بعد دیسک زده شد و زمین به حالت جوی و پشته در آمد و هر تکرار دارای نهر جداگانه بود. طول هر کرت ۴ متر در نظر گرفته شد که هر کرت دارای ۶ ردیف با فاصله ۵۰ سانتیمتر بود. فاصله کرت‌ها از یکدیگر ۷۵ سانتیمتر و فاصله تکرارها از یکدیگر ۲ متر بود. فاصله بوته‌ها روی پشته ۲۰ سانتیمتر در نظر گرفته شد. بذر آویشن دنایی (توده اصفهان) از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. برای تهیه نشا، بذرهای آویشن دنایی در ۲۱ فروردین در گلخانه با دمای روزانه حداقل ۱۰ و حداکثر ۱۵ درجه سانتی‌گراد در گلدان و خزانه کشت و به طور روزانه آبیاری شدند. در اواخر خرداد تعداد ۲ نشا به گلدان‌هایی به زمین مورد نظر منتقل شدند. برای مبارزه با علف هرز از وجین دستی استفاده گردید. آبیاری با استفاده از سیفون انجام شد. و نمونه گیری با حذف ردیف‌های حاشیه و نیم‌متر از ابتدا و انتهای کرت‌ها صورت گرفت. صفات مورد بررسی شامل: سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوای ترکیبات فنلی، تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی، میزان شاخص سطح برگ و ماده خشک کل در گیاه آویشن دنایی بود.

جدول ۱- خصوصیات شیمیای و فیزیکی خاک محل آزمایش

	pH	کربن آلی (درصد)	هدایت الکتریکی(ds/m)	نیتروژن کل (ppm)	فسفر قابل جذب mg/kg	پتاس قابل جذب mg/kg
خاک	۷/۶۲	۰/۴۲۱	۰/۴۳۱	۲۰	۵/۱	۱۸۹
کود دامی	۸/۳۵	۵۱/۴۶	۱۰/۳۹	۱/۰۳۴	۰/۳۲۴	۰/۵۴۱
ورمی کمپوست	۷/۹۶	۲۹/۸۷	۰/۹۱۱	۱/۱۴۱	۰/۳۲۵۰	۱/۶۱۴

Archive of SID

www.SID.ir

سنجش رنگیزه های گیاهی

سنجش کلروفیل a، b و کارتنوئید

مقدار یک گرم از برگ‌های آویشن دنایی از هر تیمار با سه تکرار توزین شد، و با ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد اضافه شده به نمونه ساییده و با کاغذ صافی و قیف صاف شد. بعد حجم نهایی، عصاره را به ۲۰ میلی لیتر رسانده و در طول موج‌های ر طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ توسط اسپکترفتومتر مقدار جذب قرائت شد. در نهایت با استفاده از فرمول زیر میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه به دست آمد.

$$\text{Chlorophyll a} = (19.3 \times A_{663} - 0.86 \times A_{645}) V / 100W$$

$$\text{Chlorophyll b} = (19.3 \times A_{645} - 3.6 \times A_{663}) V / 100W$$

$$\text{Carotenoides} = 100(A_{470}) - 3.27(\text{mg chl. a}) - 104(\text{mg chl. b}) / 227$$

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

A= جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر

W= وزن تر نمونه بر حسب گرم

تهیه عصاره

به گیاه مورد نظر، میزان ۲۵۰ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد اضافه شد و در نهایت پس از گذشت ۴۸ ساعت و قرار دادن در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد داخل آون عمل فیلتراسیون روی عصاره صورت گرفت و سپس با استفاده از دستگاه روتاری اقدام به تغلیظ عصاره گردید.

اندازه‌گیری میزان فنل

مقادیر فنل کل در نمونه‌های عصاره گیاهی توسط روش فولین سیکالتو اندازه گیری شد (McDonald *et al*., 2001). بر طبق این روش در لوله آزمایش به ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره اتانولی با غلظت یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر یا محلول اتانولی استاندارد اسید گالیک (غلظت ۳۰۰-۲۵ میکروگرم و ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین سیوکالتو رقیق شده با آب مقطر به نسبت ۱ به ۱۰)، ۰/۴ میلی لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد اضافه و مخلوط شد. بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای محیط آزمایشگاه، جذب نوری آن توسط اسپکتروفتومتر ۷۶۰ نانومتر قرائت شد. مقادیر فنل تام در نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره بیان گردید.

اندازه‌گیری فلاونوئید کل

مقدار فلاونوئیدها در نمونه عصاره‌های گیاهی با اندکی تغییر توسط روش Zishen *et al* (1988) اندازه‌گیری شد. بر طبق این روش، فلاونوئیدها با اتصال به آلومینیوم کمپلکس زرد رنگی را تشکیل می‌دهند. به یک میلی لیتر نمونه عصاره غلظت (۱ میلی گرم بر میلی لیتر) یا محلول استاندارد روتین (۵۰-۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) یک میلی لیتر آب مقطر و ۰/۱ نیتریت سدیم ۵ درصد اضافه شد. پس از مخلوط نمودن به مدت ۶ دقیقه در دمای آزمایشگاه ۰/۲ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم۱۰ درصد اضافه کرده و پس ار ۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه ۰/۲ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد اضافه کرده و پس از ۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه یک میلی لیتر هیدراکسید سدیم یک مولار افزوده و بلافاصله جذب نوری در طول موج ۵۱۰ نانومتر قرائت شد. مقادیر فلاونوئید کل در نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میلی گرم روتین به ازای میلی گرم عصاره در گرم محاسبه شد.

Archive of SID

www.SID.ir

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدان

روش انجام تست DPPH

۳/۹ میلی لیتر از DPPH استوک ساخته شده را داخل کوت ریخته و جذب آن توسط دستگاه UV در طول موج ۵۱۵ نانومتر قرائت شد (دستگاه قبلاً توسط اتانول صفر گردید)، سپس ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره به آن اضافه و جذب آن در همین طول موج هر دقیقه یک بار به مدت ۳۰ دقیقه خوانده شد. این عمل برای هر نمونه ۳ بار تکرار گردید.

محاسبهٔ IC50

برای مقایسه‌ی عصاره‌ها از نظر قدرت آنتی اکسیدانی از IC50 (1- half-Inhibit Concentration) استفاده شد. بدین منظور ابتدا درصد مهار DPPH توسط رابطهٔ زیر محاسبه شده و نمودار آن در مقابل غلظت عصاره رسم گردید و IC50 که همان غلظتی از عصاره است که باعث مهار ۵۰ درصد رادیکال DPPH می شود، محاسبه شد.

$$\text{درصد مهار DPPH} = \left[1 - \frac{A_A}{A_B}\right] \times 100$$

A_A = جذب نمونه

A_B = جذب شاهد = جذب اولیه DPPH به تنهایی

سطح برگ با استفاده از روش شطرنجی و جهت تعیین ماده خشک گیاه آویشن دنایی با رعایت ۰/۵ متر از ابتدا و انتهای هر کرت، نمونه برداری صورت گرفت. تجزیه آماری و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) با استفاده از نرم افزارهای SAS و MSTATC در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت و نمودارها با نرم افزار Excel رسم شد.

نتایج و بحث

نتایج آزمایش نشان داد، ، اثر تیمارهای مختلف کودی بر محتوای فلاونوئید، فعالیت آنتی اکسیدانی، شاخص سطح برگ و ماده خشک کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. همچنین الیستور کیتوزان محتوای کلروفیل a، کلروفیل b، فنل، فعالیت آنتی اکسیدانی، شاخص سطح برگ و ماده خشک کل را در سطح یک درصد تحت تأثیر قرار داد. در این پژوهش، به جز صفت شاخص سطح برگ و ماده خشک کل، برهمکنش سطوح کودی و الیسیتور کیتوزان بر هیچ‌یک از صفات مورد مطالعه معنی‌دار نبود (جدول ۲).

رنگیزه‌های فتوسنتزی

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد، که اثر سطوح کودی و برهمکنش تیمار کودی و کیتوزان بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی معنی-دار نشد. اثر الیسیتور کیتوزان بر محتوای کلروفیل a و کلروفیل b در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. بیشترین میزان کلروفیل a به میزان ۴۷/۳ میلی‌گرم در گرم از تیمار شاهد بدون مصرف کیتوزان به‌دست آمد و کلروفیل b نیز از تیمار الیستور کیتوزان ۰/۴ درصد حاصل گردید. به نظر می‌رسد، الیسیتور کیتوزان با فعال کردن و افزایش بیان ژن‌ها در مسیر بیوسنتزی تولید کلروفیل به خوبی عمل کرده و میزان کلروفیل را افزایش داده است. Khaje Naderi (2014) در بررسی اثر الیسیتور کیتوزان بر روی گیاه بادرنجبویه گزارش نمودند که میزان رنگیزه‌های کلروفیلی و کارتنوئید تحت تأثیر کیتوزان افزایش نشان داد، ه است. در مطالعات انجام شده دیگر درسویا، بادام زمینی و قهوه نیز کیتوزان منجر به افزایش مقدار کلروفیل و کاروتنوئید شده (Dzung *et al*., 2004).

Archive of SID

www.SID.ir

محتوای فنل

نتایج تجزیه واریانس (جدول۲) نشان داد، که اثر تیمارهای کودی و اثر برهمکنش تیمار کودی و کیتوزان بر محتوای فنل معنی‌دار نشد. در حالی‌که صفت فوق تحت تأثیر کیتوزان قرار گرفت. جدول ۳ نشان می‌دهد که با افزایش غلظت کیتوزان محتوای فنل افزایش یافت. به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار فنول از تیمار ۰/۴ درصد کیتوزان به میزان ۹۸/۹ میلی‌گرم بر گرم و شاهد (عدم مصرف کیتوزان) به میزان ۹۶/۶۲ میلی‌گرم بر گرم به دست آمد. جدول ۳ نشان می‌دهد که با افزایش غلظت کیتوزان محتوای فنل افزایش می‌یابد. در بین الیسیتورهای زیستی، کیتوزان، به طور گسترده به منظور تولید متابولیت‌های ثانویه در کشت سلول گیاهان به کار می رود (Vasconsuelo *et al*., 2007). به نظر می‌رسد، این ترکیبات در القای متابولیت‌های ثانویه نقش داشته باشند. این الیسیتورها با تعیین مسیرهای بیوسنتزی منجر به تشکیل و تنظیم متابولیت‌های ثانویه می‌شوند و در تحریک تولید بسیاری از متابولیت‌های ثانویه مانند ترپنوئیدها، مشتقات کومار ین، آلکالوئیدها، فلاونوئیدها مؤثر می‌باشند (Namdeo, 2007 , Ionkova, 2007,).

محتوای فلاونوئید

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد، که اثر تیمارهای کودی و الیسیتور کیتوزان بر محتوای فلاونوئید معنی‌دار بود. در حالی‌که برهمکنش تیمار کودی و کیتوزان بر محتوای فنل معنی‌دار نشد. بیشترین میزان فلاونوئید از تیمار کود شیمیایی به میزان ۴۰/۱ میلی‌گرم بر گرم به دست آمد، همچنین بیشترین میزان فلاونوئید از تیمار الیسیتور کیتوزان ۰/۴ درصد به میزان ۳۸/۷۷ میلی‌گرم بر گرم به دست آمد. دلیل بالاتر بودن محتوای فلاونوئید در تیمار کود دامی ممکن است، به دلیل تأثیر مثبت کود دامی بر ویژگی‌های فیزیکی وشیمیایی خاک به وسیله افز ایش ماده آلی خاک باشد Safaei *et al* (2014) در بررسی خود بر روی گیاه آویشن دنایی گزارش کردند که اصلاح خواص فیزیکی خاک و قابلیت دسترسی گیاه آویشن به عناصر غذایی بیشتر احتمالاً دلیل عمده افزایش عملکرد و رشد گیاه در سیستم زیستی بوده است. در خصوص الیستور کیتوزان می‌توان گفت که الیسیتورها ممکن است، ژن های جدیدی را فعال کنند که آنزیم‌ها و در نهایت مسیرهای بیوسنتزی مختلفی را راه اندازی کنند و باعث تشکیل متابولیت‌های ثانویه شوند (Zhang *et al*., 2006). شروع پاسخ‌های دفاعی در گیاه شبکه‌هایی از ترارسانی علامت (Signal transduction) را القا می‌کند که با تشخیص مولکول‌های الیسیتور توسط پذیرنده ها شروع می‌شود. Heng *et al* (2012) در بررسی تأثیر کیتوزان بر محتوای پلی فنلی گیاه پونه گزارش کردند که محتوای ۱۲ پلی‌فنول (۴ فنولیک اسید، و ۸ فلاونوئید) با مصرف کیتوزان افزایش پیدا کرد. به‌نظر می‌رسد، افزایش پلی‌فنول‌ها به علت تحریک آنزیم‌های بیوسنتزی از قبیل فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) و چالکون سینتتاز پلی فنول باشد، همچنین در کشت سلولی انگور (*Vitis vinifera*)، کیتوزان سطوح پلی فنول، رونویسی ژن و سطح پروتئینی برخی پلی فنول سینتتاز مرتبط شده با آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) و چالکون سینتتاز را افزایش داد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- میانگین مربعات رنگیزه های فتوسنتزی، محتوای فنل، فلاونوئید، فعالیت آنتی اکسیدان، شاخص سطح برگ و ماده خشک کل تحت تأثیر عامل‌های آزمایشی در آویشن دنایی

منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کارتنوئید	فنل	فلاونوئید	فعالیت آنتی اکسیدان	شاخص سطح برگ	ماده خشک کل
تکرار	۲	۰/۰۰۰۲۰۱^{ns}	۰/۰۷۳۴^{ns}	۳۳/۷۶**	۵/۰۲۴**	۱/۵۲^{ns}	۳۹۹۰۴/۶۴*	۰/۰۳۰۱**	۳۲۵۱۵/۸۶ ^{ns}
سطوح کود	۴	۰/۰۰۰۲۷۴ ^{ns}	۰/۰۰۲۱۷^{ns}	۰/۰۳۳۴^{ns}	۰/۲۲۲۷۵^{ns}	۲۰/۶۴**	۲۳۶۱۳۸/۵۲**	۰/۰۴۷۹**	۵۵۵۱۵۰۶/۴۱**
خطای اصلی	۸	۰/۰۰۰۵۷۸^{ns}	۰/۰۰۲۶۹^{ns}	۰/۰۲۰۷^{ns}	۰/۰۰۴۲۵^{ns}۰	۲/۶۹*	۱۹۱۷۵/۴۴۸^{ns}	۰/۰۰۰۸۲۳ ^{ns}	۲۶۵۹۸/۳۷^{ns}
کیتوزان	۳	۰/۰۳۸۸ ^{ns}	۰/۲۷۲**	۰/۰۶۱۰^{ns}	۱۸/۸۲**	۰/۷۶۴^{ns}	۱۸۴۴۰۱۰۹/^{ns}	۰/۰۳۱۷**	۸۷۰۸۱۰/۵۶**
سطوح کود × کیتوزان	۱۲	۰/۰۰۰۴۵۶ ^{ns}	۰/۰۰۴۳۳^{ns}	۰/۰۵۶۲^{ns}	۰/۲۸۱^{ns}	۲/۲۱۹^{ns}	۲۱۵۱۸/۳۸۸^{ns}	۰/۰۰۵۳۴**	۷۲۳۲۷/۴۹**
خطای فرعی	۳۰	۰/۰۰۰۳۴۶	۰/۱۳	۰/۰۸۶۲	۰/۵۹	۱/۷۱	۱۱۲/۷۱۱	۰/۰۲۷۶	۱۶۰۸۲/۲۶
ضریب تغییرات (درصد)		۰/۵	۱/۹۱	۶/۲۳	۰/۶۰۷	۲/۸	۱/۷۴	۳/۷۷	۷/۳۳

**، * و ^{ns} به ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۱درصد، ۵ درصد و بدون اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۳- مقایسه میانگین رنگیزه های فتوسنتزی، محتوای فنل، فلاونوئید، فعالیت آنتی اکسیدانی، شاخص سطح برگ و ماده خشک کل تحت تأثیر عامل‌های آزمایشی در گیاه آویشن دنایی

تیمارهای آزمایش	کلروفیل a (mg/g fw)	کلروفیلb (mg/g fw)	کارتنوئید (mg/g fw)	محتوای فنل (mg/g)	فلاونوئید (mg/g)	فعالیت آنتی اکسیدانی (درصد)	شاخص سطح برگ	ماده خشک کل (کیلوگرم در هکتار)
F1 (شاهد)	۳۶۱/۳a	۸۰۵/۶ a	۷۴/۴a	۹۷/۳۵a	۳۹/۶۹a	۶۱/۷۳c	۰/۶۳۷c	۱۳۵۵/۴۲d
F2 (۱۰۰ درصد شیمیایی)	۳۵۱/۳a	۷/۶a	۷۲/۴a	۹۷/۰۷c	۳۷/۷۸b	۶۰/۱۶d	۰/۸۰۱a	۲۳۵۶/۱۶a
F3 (۱۰۰ درصد کود دامی)	۳۶/۳a	a۷/۶	۷۱/۴a	۹۷/۳۷a	۴۰/۱a	۷۰/۲۴a	۰/۷۷۸a	۷۰۲۴/۱۷c
F4 (۱۰۰درصد ورمی کمپوست)	۳۵۲/۳a	۸۱۲/۶a	۶۹/۴a	۹۷/۲۳b	۳۶/۹b	۶۸/۳۴b	۰/۷۲۵b	۸۳۵/۱۷e
F5 (تلفیقی)	۳۵/۳a	۸۰۲/۶a	۶۸/۴a	۹۷/۱۰۸c	۳۹/۶۹b	۶۲/۵۸c	۰/۷۲۸b	۲۰۲۳/۳۳b
۰ (شاهد)	۴۷/۳a	۷۵۰/۶ a	۷۱/۴a	۹۶/۶۲b	۳۸/۲۵c	۶۰/۴۴b	۰/۶۹۳b	۱۵۵۲/۶۷c
۰/۲ درصد	۳۶/۳c	۸۶۱/۶a	۷۲/۴a	۹۶/۷۴b	۳۸/۶۳b	۶۰/۱b	۰/۷۶۶a	۱۸۴۲/۸۰b
۰/۴ درصد	۴۱/۳b	۹۶۶/۶a	۷۳/۴a	۹۸/۹a	۳۸/۷۷a	۶۱/۸۷a	۰/۷۸۰a	۲۰۱۲/۷۹a
اسید استیک	۲۹/۳d	۶۵/۶a	۶۷/۴a	۹۶/۶۳b	۳۸/۴d	۶۰/۱۶b	/۶۹۶b۰	۱۵۰۶/۳۲c

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد می باشند.

Archive of SID

www.SID.ir

فعالیت آنتی اکسیدانی

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد، ، اثر کود و الیسیتور کیتوران بر صفت فعالیت آنتی اکسیدانی در سطح آماری یک درصد معنی دار بود، اما بر هم کنش آن‌ها معنی‌دار نگردید. بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی نیز از تیمار کود دامی (۷۰/۲۴ درصد) و همچنین ۰/۴ درصد کیتوزان (۶۱/۸۷ درصد) به دست آمد. به طور کلی نتایج این آزمایش بیانگر تأ ثیر مثبت کود دامی در افزایش میزان فعالیت آنتی اکسیدانی آویشن بود. در این رابطه Abdolah zareh *et al* (2013) بر روی گیاه خار مریم اظهار داشت که مصرف کودهای آلی منجر به افزایش میزان سیلی‌مارین در گیاه خارمریم گردید. فاتح (۱۳۸۷) بیان کرد که در روش تغذیه آلی با افزایش مقدار کود دامی، مقدار اسید کلروژنیک غنچه کنگر فرنگی افز ایش یافت. همچنین در تیمارهای تلفیقی و آلی نیز با افزایش مقدار کود دامی مقدار اسید کلروژنیک برگ افزایش یافت. با افزایش مصرف الیسیتور کیتوزان میزان فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش یافت. به طوری‌که بیشترین فعالیت آنتی اکسیدان به میزان ۶۱/۷۸ از غلظت ۰/۴ درصد به دست آمد. مطالعات متعدد نشان داد، ه است که کیتوزان به عنوان یک الیسیتور زیستی ممکن است، دارای پتانسیلی برای از بین بردن رادیکال-های آزاد باشد (*et al*., 2007 ,Yen *et al*., 2008 Kim). خاصیت آنتی میکروبی کیتوزان در گیاه ریحان نیز گزارش شده است که این خاصیت بستگی به نوع کیتوزان (طبیعی یا تغییر یافته) درجه پلیمرازیسیون آن، میزبان، و یا ترکیب غذایی سوبسترا و شرایط محیطی دارد (2006 ، .(Kulikov *et al*

شاخص سطح برگ

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد، که اثر کود، الیسیتور کیتوزان و بر همکنش آن‌ها بر صفت شاخص سطح برگ در سطح آماری یک درصد معنی‌دار بود. بیشترین و کمترین میزان شاخص سطح برگ به ترتیب از تیمارهای کودی شیمیایی (۰/۸۰۱) و عدم مصرف کود (۰/۶۳۷) به دست آمد. در ارتباط با تیمار الیسیتور کیتوزان نیز به ترتیب بیشترین و کمترین میزان شاخص سطح برگ از تیمار کیتوزان ۰/۴ درصد (۰/۷۸۰) و شاهد (۰/۶۹۳) به‌دست آمد (جدول ۳). به نظر می‌رسد در این پژوهش، کود نیتروژن در کنار الیسیتور کیتوزان سبب افزایش توان بالقوه برگ در امر فتوسنتز می‌شود، زیرا حضور الیسیتور کیتوزان به تشدید اثر نیتروژن، فسفر و پتاس کمک نموده و منجر به افزایش سطح برگ شده است. کاربرد کود شیمیایی به ویژه نیتروژن از طریق فراهم نمودن زمینه مناسب جهت دریافت انرژی و نیز شرکت در ساختار کلروفیل و آنزیم‌های درگیر در متابولیسم کربن فتوسنتزی موجب افزایش سطح برگ می‌شود (شکل ۲).

Delfin *et al* (2005) گزارش نمودند که نیتروژن یک عنصر تعیین کننده در تغذیه، رشد و عملکرد گیاه محسوب می‌شود، به طوری که میزان نیتروژن قابل دسترس برای گیاه می‌تواند میزان پروتئین دانه، محتوای کلروفیل برگ و اندازه و حجم پروتوپلاسم سلولی را افزایش دهد و همچنین سطح برگ، فعالیت فتوسنتزی را تحت تأثیر قرار دهد. بالا بودن شاخص سطح برگ در تیمار کود شیمیایی به احتمال زیاد می‌تواند به دلیل بهبود شرایط جذب عناصر غذایی در خاک (Pouryousef *et al*., 2010) و تأثیر این عناصر به خصوص نیتروژن بر افزایش رشد رویشی گیاه باشد که منتج به افزایش تعداد

Archive of SID

www.SID.ir

و سطح برگ‌های گیاه شده است (Sifola, 2006 & Barbieri).

با افزایش مصرف الیسیتور کیتوزان، شاخص سطح برگ نیز افزایش یافت، همچنین الیسیتور کیتوزان محتوای کلروفیل برگ را به طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار داده و موجب افزایش آن گردید (جدول ۳). با توجه به وجود نیتروژن در الیسیتور کیتوزان و نقش ساختاری این عنصر در حلقه های تتراپیرولی کلروفیل، چنین افزایشی توجیه پذیر می‌باشد. مصرف احتمالاً کیتوزان با تأثیر بر روی ژن‌های مسئول سازنده کلروفیل تولید کلروفیل را زیاد نموده و در نتیجه موجب افزایش سطح برگ می شود (Heng *et al*., 2012).

شکل ۱- اثر تیمارهای مختلف کودی و الیسیتور کیتوزان بر شاخص سطح برگ

ماده خشک کل

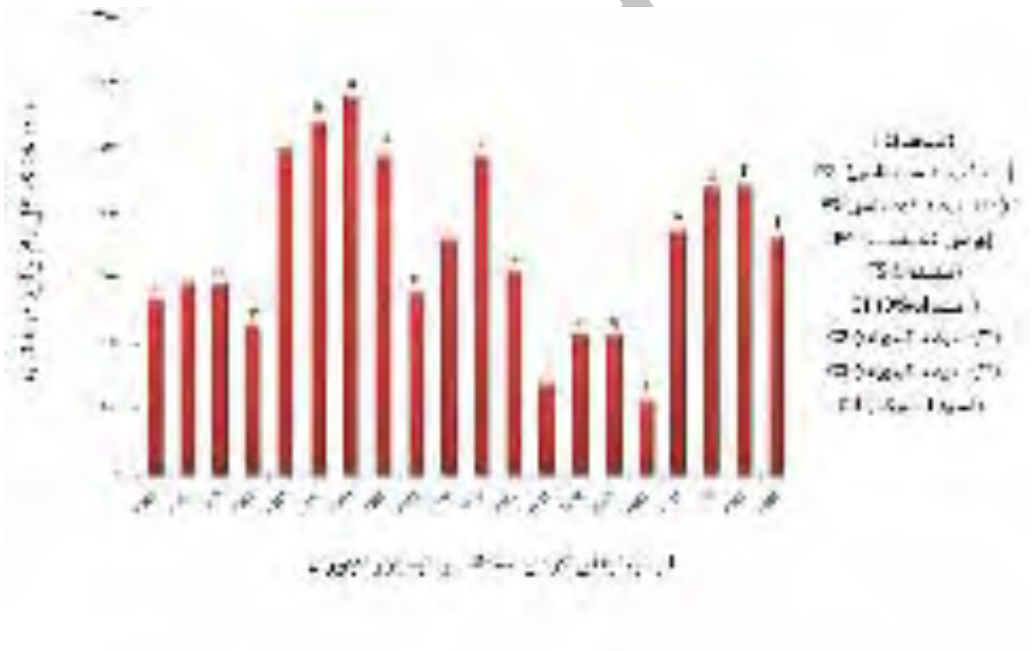
نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد، که اثر کود، کیتوزان و بر همکنش آن‌ها بر صفت ماده خشک کل در سطح آماری یک درصد معنی‌دار بود. نتایج حاکی از آن است که در روش تغذیه شیمیایی، بیشترین ماده خشک در گیاه آویشن دنایی (۲۳۵۶/۱۶ کیلوگرم در هکتار) مشاهده شد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که کودهای شیمیایی تأثیر مثبتی بر عملکرد ماده خشک آویشن دنایی داشته‌اند، اما مطابق با قانون بازده نزولی، افزایش مقدار کودهای شیمیایی تا حد مشخصی می‌تواند بر افزایش تولید، مؤثر باشد که البته این میزان باتوجه به نوع گیاه، خاصیت کودپذیری، رطوبت خاک و سایرعامل‌های اقلیمی و خاکی تفاوت دارد (شریفی عاشورآبادی و همکاران، ۱۳۸۵). این افزایش صفات احتمالاً به دلیل افزایش در حجم کانوپی گیاه، افزایش سطح برگ و در نتیجه جذب بهتر نور بوده است و افزایش در حجم کانوپی می‌تواند به دلیل جذب بهتر و یکنواخت‌تر مواد غذایی در طول دوره رشد باشد (ملکوتی، ۱۳۷۸).

مطالعات متعدد نشان داد، ه است که کود نیتروژن باعث افزایش دوام سطح برگ و تولید ماده خشک

www.SID.ir

می‌گردد (Hay and Walker, 1989). همچنین Gelder *et al* (1988) نیتروژن را به عنوان محرک رشد رویشی (از جمله افزایش تعداد و سطح برگ) در گیاه نعناع فلفلی گزارش کرد. همچنین بیشترین میزان ماده خشک کل از تیمار الیسیتور کیتوزان به میزان ۰/۴ درصد به دست آمد (جدول ۳). در ارتباط با بر همکنش کودهای مختلف و الیسیتور، بیشترین میزان عملکرد از تیمار مصرف کود شیمیایی و کیتوزان ۰/۴ درصد به دست آمد (شکل ۲).

با افزایش مصرف الیسیتور کیتوزان، میزان ماده خشک کل نیز افزایش پیدا کرد، به نظر می‌رسد کاربرد این ماده از طریق افزایش سطح برگ و فراهم نمودن زمینه مناسب جهت دریافت انرژی و همچنین شرکت در ساختار کلروفیل و آنزیم‌های درگیر در متابولیسم کربن فتوسنتزی، موجب افزایش بازده فتوسنتزی می‌شود Heng *et al* (2012) در بررسی اثر کیتوزان بر محتوای ترکیبات پلی فنلی گیاه دارویی پونه گزارش نمودند که ارتفاع بوته و وزن تر و خشک گیاه با مصرف این ماده افزایش یافت، آن‌ها همچنین اظهار نمودند که عملکرد ماده خشک یک عامل مهم در ارتباط با تولید متابولیت ثانویه می‌باشد. Dzung (2010) گزارش نمود که کابرد ۶۰ ppm کیتوزان ارتفاع و عملکرد ماده خشک قهوه را افزایش داد.



شکل ۲- اثر تیمارهای مختلف کودی و الیسیتور کیتوزان بر ماده خشک کل

www.SID.ir

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد، که اثر تیمارهای کودی مختلف و الیسیتور کیتوزان بر صفات ماده خشک کل، محتوای پلی فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی معنی‌دار بود و بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوای پلی فنلی از تیمار کود دامی به دست آمد که ممکن است، همه این عوامل به دلیل تأثیر مثبت کود دامی بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک از طریق افز ایش ماده آلی خاک باشد. همچنین می‌توان از کیتوزان به عنوان الیسیتور زیستی کارآمد که از طریق القای سیستم دفاعی، باعث بهبود بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه شد که به نظر می رسد این امر این گامی با ارزش در جهت مهندسی متابولیت و تولید داروهای گیاهی باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات مسئولین مرکز پژوهش گیاهان دارویی و دامپزشکی سنتی و مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

بقالیان، ک. و ح. نقدی بادی. ۱۳۷۹. گیاهان اسانس دار، نشر اندرز تهران. ۲۴۸ ص.

حبیبی ح. و م. ح. فتوکیان. ۱۳۹۱. اثر کود شیمیایی نیتروژنه بر صفات مورفولوژیک، درصد اسانس و عملکرد گونه وحشی و زراعی آویشن (*Thymus kotschaynus* and *vulgaris*) در شرایط مزرعه. مجله پژوهش‌های به زراعی. ۴ (۱) : ۱۰-۱.

خواجه، ح. و ص. نادری. ۱۳۹۳. تأثیر کیتوزان بر برخی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و شاخص‌های بیوشیمیایی در گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.). نشریه تحقیقات علوم زراعی در مناطق خشک. ۱: ۱۱۷-۱۰۰.

درزی، م.ت.، ا. قلاوند، و ف. رجالی. ۱۳۸۸. تأثیر مصرف کودهای بیولوژیک بر روی جذب عناصر N ، P، K و عملکرد دانه در گیاه دارویی رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.).مجله تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۵ (۱): ۱۹-۱.

شریفی عاشورآبادی، ا.، ا. متین و م. ح. لباسچی. ۱۳۸۵. بررسی شاخص‌های رشد فیزیولوژیکی در روش‌های مختلف تغذیه خاک در گیاه دارویی رازیانه (*Foeniculum vulgaris*). مجله تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. جلد ۱۹۱ (۲) ۲: ۱۸۲-۱۵۷.

شهنازی، س.، ف .خلیقی سیگارودی، ی. اجنی، د. یزدانی، م. اهوازی، و ر .تقی زاد فرید. ۱۳۸۶. بررسی ترکیب‌های شیمیایی و خواص ضدمیکروبی اسانس حاصل از گیاه آویشن تالشی *Thymus trautvetteri Klokov & Desj.* مجله گیاهان دارویی. ۶: ۸۸-۸۰.

صفایی، ل. و د. افیونی. ۱۳۹۱. گیاه دارویی آویشن زراعت و کاربردها. نشر نسوج. ۱۰۳ ص.

صفایی، ل.، ا. شریفی عاشورآبادی، س. دوازده امامی، ع. ا. شعاعی. ۱۳۹۳. تأثیر سیستم‌های مختلف تغذیه ای بر عملکرد اندام هوایی و اسانس گیاه دارویی (*Thymus daenensis Celak*) آویشن دنایی. مجله تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۳۰ (۵): ۷۱۳-۷۰۲.

عبادی، م.، ج. فلاحی، م. عزیزی، و پ. رضوانی مقدم. ۱۳۸۷. بررسی تأثیر استفاده از کودهی آلی بر فاکتورهای رشد و میزان عملکرد دو رقم اصلاح

Archive of SID

www.SID.ir

شده بابونه آلمانی (*Maticaria chamomile* L.). اولین همایش ملی مدیریت و توسعه کشاورزی پایدار در ایران. ص ۱۱۷-۱۱۲.

عبداله زارع، س.، ا. فاتح، و ا. آینه بند. ۱۳۹۲. بررسی تأثیر تاریخ‌های مختلف کاشت و کودهای شیمیایی، دامی و تلفیقی بر میزان ماده مؤثره دانه گیاه دارویی خارمریم (*Silybum marianum* L.). فصلنامهٔ تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. جلد ۲۹ (۲): ۵۰۱-۴۸۶.

فاتح، ا.۱۳۸۷ . بررسی تأ ثیر نظام‌های حاصلخیزی خاک (آلی و شیمیایی) بر عملکرد علوفه ای و خصوصیات گیاه دارویی کنگر فرنگی (*Cynara scolymus*). پایان نامه دکتر ی رشته زراعت، گرایش اکولوژی گیاهان زراعی.

فاتح، ا. ۱۳۸۷. اثر سیستم های حاصلخیزی شیمیایی و ارگانیک خاک بر عملکرد گیاه دارویی. پایان نامه دکتری زراعت ـ اکولوژی کشاورزی. دانشگاه تهران.

ملکوتی، م .ج. ۱۳۷۸. کشاورزی پایدار و افزایش عملکرد با بهینه سازی مصرف کود در ایران. انتشارات تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. ۴۶۰ ص.

نادری، ص.، ب. فاخری، و ص. اسمعیل زاده بهابادی. ۱۳۹۳. افزایش بیان ژن چاویکول o- متیل ترانسفراز و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز گیاه *Ocimum basilicum* L. تحت تأثیر کیتوزان. مجله زیست فناوری گیاهان زراعی. ۳ (۶): ۱-۹.

Adediran, J.A., L.B. Taiwo, M.O. Akande, R.A. Sobulo, and O.J. Idowu. 2004. Application of organic and inorganic fertilizer for sustainable maize and cowpea yields. Nigeria. J. Plant Nutrition. 27:1163-1181.

Anwar, M., D.D. Patra, S. Chand, K. Alpesh, A.A. Naqvi, and S.P.S. Khanuja. 2005. Effect of organic manures and inorganic fertilizer on growth, herb and oil yield, nutrient accumulation, and oil quality of French basil: Communications in Soil Science and Plant Analysis. 36(13-14):1737-1746.

Arnon, A.N.1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants: Agronomy Journal, 23: 112-121.

Cheng, X., Zhou, U. Cui, X. 2006. Improvement of phenylethanoid glycosides biosynthesis in *Cistanche deserticola* cell suspension cultures by chitosan elicitor. Bio. J. 121: 253–260.

Delfin, S., R. Tognetti, E. Dsiderio, and A. Alvino. 2005. Effect of foliar application of N and humic acids on growth and yield of durum wheat. Agronomy of Sustainable Development. 25:183-191.

Dzung, N.A. and N.T. Thang. 2004. Effect of oligoglucosamine on the growth and development of peanut (*Arachis hypogea* L.). PP: 422-438. *Proceedings of the 6th Asia-Pacific on chitin, chitosan symposium Singapore*.

Dzung, N. A. 2010. Enhancing crop production with chitosan and its derivatives. In Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives: Biological Activities and Applications. 42:619−631.

Gelder, H. V. and H. H. M., VanGelder. 1988. Influence of nitrogen fertilizer application level on oil production and quality in *Meta piperita* L. Applied. Plant Sci. 2:(2): 68-71.

Archive of SID

www.SID.ir

McDonald, S., P.D. Prenzler, M. Autolovich, K. Robards. 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. FOOD CHEM. 73:73-84.

Namdeo, A. 2007. Plant cell elicitation for production of secondary metabolites Pharmacognosy Reviews. 1:320-345.

Pouryousef, M., D. Mazaheri, M.R. Chaiechi, A. Rahimi, and A. Tavakoli. 2010. Effect of different soil fertilizing treatments on some of agro morphological traits and mucilage of isabgol (*Plantago ovata Forsk*). ESci. J. Crop Production 3:193-213.

Sajjadi S. E. and M. Khatamsaz. 2003. Composition of the essential oil of *Thymus daenensis* Celak. ssp. lan cifolius (Celak.) Jalas: J. Essent. Oil Res. 15: 34-35.

Sheikha, S.A.K. and F.M. AL-Malki. 2009. Growth and chlorophyll Responses of Bean Plants to the Chitosan Applications. Eur. J. Sci. Res. 50:124-134.

Sifola, M.I. and G. Barbieri. 2006 .Growth, yield and essential oil content of three cultivars of basil grown under different levels of nitrogen in the field. Sci. Hort. 108:408-413.

Tourian, N., J.M. Sinaki, N. Hasani, and H. Madani. 2013. Change in photosynthetic pigment concentration of wheat grass (*Agropyron repens*) cultivars response to drought stress and foliar application with Chitosan, Intl .J. Agron Plant Prod. 4 (5):1084-1091.

Uddin, A.F.M.J., F. Hashimoto, K. Shimizu, and Y. Sakata. 2004. Monosaccharides and chitosan sensing in bud growth and pental pigmentation in *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn. Sci. Hort.100:127–138.

Vasconsuelo, A. and R. Boland. 2007. Molecular aspects of the early stages of elicitation of secondary metabolites in plants. Plant Sci. 172:861-875

Yen, M.T., J.H. Yangand, and J.L. Mau. 2008. Antioxidant properties of chitosan

Hay, R. K. M. and A. J. Walker.1989. An Introduction to the physiology of crop yield. John Willey &Sons Inc., publication of New York.

Hendawy, S.F., A.E. Azza, E. Aziz, and E.A. Omer. 2010. Productivity and oil quality of *Thymus vulgaris* L. under organic fertilization conditions. Ozean .j. of Applied Sci. 3(2): 203-216.

Heng, Y., C. Xavier, F. Lars, P. Christensen, and G. Kai. 2012. Chitosan Oligosaccharides Promote the Content of Polyphenols in Greek Oregano *(Origanum vulgare ssp. hirtum*). J. Agric. Food Chem. 60:136−143

Huang, D., B. Ou, and R.L. Prior. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays: J. Agric. Food Chem. 53(6):1841-1856.

Howlett, B. 2006. Secondary metabolite toxins and nutrition of plant pathogenic Fungi. Current Opinion.Plant Biology. 9: 371–375.

Ionkova, I. 2007. Biotechnological Approaches for the Production of Lignans. Pharmacognosy Reviews.1: 427-438.

Kaya, Z. 2008. Effect of varing nitrogen doses on yield, yield components and artemisinin content of (*Artemisia annua* L.). IND CROP PROD. 27:60-64.

Kim, K.W. and R. L. Thomas. 2007. Antioxidative activity of chitosans with varying molecular weights). J. Agric. Food Chem. 101: 308–315.

Kulikov, S.N., S.N. ChirkovIl'ina, S.A. Lopatin, V.P. Varlamov. 2006. Effect of the molecular weight of chitosan on its antiviral activity in plants. Prikl. Biokhim. Mikrobiol. 42 (2) 224–228.

Letchamo, W. and A. Gosselin. 1995. Effects of HPS supplemental lighting and soil water levels on growth, essential oil content and composition of two thyme (*Thymus vulgaris* L.) clonal selections. Can. J. P.S. 75:231-238.

Archive of SID

www.SID.ir

production of plant secondary metabolites. Biotechnol. Adv. 23:283-333.

Zhishen, J., T. Mengcheng, and W. Jianming. 1999.The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. . Food Chem. 64:555–559.

from crab shells. Carbohydrat, Food Analysis and perseveration, 74:840-844.

Zhang, Y., M.R. Mian, J.H. Bouton. 2006. Recent Molecular and Genomic Studies on Stress Tolerance of Forage and Turf Grasses: Crop Sci. 46:497–511.

Zhao, J., L.C. Davis, and R. Verpoorte. 2005. Elicitor signal transduction leading to

.

Archive of SID

www.SID.ir