

تأثیر کاربرد عناصر کم مصرف و مواد هیومیکی بر برخی صفات کمی و کیفی گیاه  
 دارویی و معطر مرزنجوش استانبولی (*Origanum vulgare ssp. hirtum* (Link) (Ietswaart)

سمیرا میخی<sup>۱</sup>، بهنام دولتی<sup>۲\*</sup> و امیر رحیمی<sup>۳</sup>

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه  
 ۲- استادیار گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه  
 ۳- استادیار گروه علوم زراعی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه

تاریخچه مقاله	چکیده
دریافت: ۱۳۹۷/۰۶/۲۶ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۱۱/۰۹	
<b>کلمات کلیدی:</b> آنتی اکسیدانی، اسانس، فنل، رادیکال آزاد، عناصر کم مصرف، مواد هیومیکی، مرزنجوش استانبولی	این تحقیق با هدف بررسی تأثیر عناصر کم مصرف و مواد هیومیکی بر خواص آنتی اکسیدانی مرزنجوش استانبولی انجام شد. برای این منظور محلول پاشی عناصر آهن (Fe)، روی (Zn)، مس (Cu) و مواد هیومیکی (HA) و تلفیق آنها با غلظت ۳ در هزار به صورت طرح بلوک کامل تصادفی در ۳ تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه ارومیه انجام گرفت. تعداد ۱۰ نمونه گیاهی از هر کرت در سال دوم با ۵۰ درصد گلدهی برداشت شد و خصوصیات آنتی اکسیدانی شامل محتوای فنل کل، محتوای فلاونوئیدی و سنجش درصد جمع آوری رادیکال DPPH <sup>۱</sup> ، نیتریک اکسید و شکستگی زنجیر اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که بیشترین و کمترین وزن خشک برگ به ترتیب مربوط به تیمار کودی Zn+Cu+HA+Fe و Cu بود. بیشترین درصد اسانس در تیمار Zn+Cu+HA (۳/۵۰ درصد) و کمترین آن در تیمار Fe+HA (۲/۲۸ درصد) مشاهده شد. بیشترین مقدار فنل کل (۷۲/۳ - گرم گالیک اسید در گرم ماده خشک) در تیمار با Zn، محتوای فلاونوئیدی (۷/۸۸ گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم ماده خشک) در تیمار با HA و جمع آوری رادیکال فعال DPPH (۷۴/۱٪) در تیمار با Zn+Cu+HA مشاهده گردید؛ همچنین حداکثر مقدار جمع-آوری رادیکال نیتریک اکسید (۵۰/۳٪) در محلول پاشی با Zn و سنجش شکستگی زنجیر (۷۰/۷ - Abs-3/min/mg extract) در تیمار با Fe+Zn ثبت شد. نتیجتاً می توان اذعان داشت که مصرف عناصر کم-مصرف و مواد هیومیکی می تواند صفات کیفی (درصد اسانس و خواص آنتی اکسیدانی) مربوط به عملکردهای بیوشیمیایی مرزنجوش استانبولی را تحت تأثیر قرار دهد لذا با توجه به هدف می بایستی به مصرف مستقل و تلفیقی عناصر کم مصرف و مواد هیومیکی توجه شود.

\* عهده دار مکاتبات

Email: b.dovlati@urmia.ac.ir

## مقدمه

گیاه دارویی مرزنجوش استانبولی از خانواده نعنائیان (*Lamiaceae*) به عنوان گیاه مورد استفاده در طب سنتی و نیز گیاه موثر در فارماکوپه‌های معتبر جهان به ثبت رسیده است (۵۳). این گونه دارویی و معطر بصورت پایا و چوبی بوده و از گیاهان چند ساله است (۱۷). گونه‌های مختلف مرزنجوش به صورت خودرو در مناطق مدیترانه یورو سبیری و مناطقی از ایران سبیری و در کشورهای با آب و هوای مدیترانه‌ای مثل یونان و ترکیه یافت می‌شود (۱۹). برخی زیر گونه‌های *Origanum Vulgar* به طور گسترده‌ای در سراسر کشور به ویژه گیلان، مازندران و استان آذربایجان غربی توزیع شده است (۵۱).

رادیکال‌های آزاد و مواد اکسیدکننده در بدن موجودات زنده تحت تاثیر واکنش‌های متابولیکی به‌طور مداوم تولید می‌شوند و با توجه به شناخت نقش رادیکال‌های آزاد و مواد اکسیداسیون در ایجاد و پیشرفت بسیاری از بیماری‌ها، اهمیت آنتی‌اکسیدان‌ها در رژیم غذایی به عنوان خنثی‌کننده اثرات تخریبی رادیکال‌های آزاد احساس می‌گردد (۱۲). تحقیقات متعدد نشان داده که اثرات آنتی‌اکسیدانی مرزنجوش ممکن است مربوط به اجزای غالب آن شامل کارواکرول و تیمول موجود در روغن اسانس باشد (۳۲). کیفیت پایه آن به طور عمده توسط محتوای اسانس و ترکیبات آن تعیین می‌شود؛ به‌طوری‌که هر دو ویژگی بسته به ژنوتیپ، شرایط آب و هوایی و عرضه مواد غذایی در طول کشت می‌تواند متفاوت باشند (۱۹). مرزنجوش دارای آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مانند ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی، رزمارینیک‌اسید و اورسالیکن اسید می‌باشد و به عنوان یک آنتی‌اکسیدان بسیار موثر گیاهی مطرح می‌باشد و ترکیبات فنلی و متابولیت‌های ثانویه آروماتیک آنها به طور گسترده در سراسر گیاه پخش شده و اثرات بیولوژیکی متعددی چون فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی از خود نشان می‌دهند (۳۰). نیتریک اکسید نقش مهمی در

عملکردهای فیزیولوژیکی ایفا می‌کند (۶۳) و با رادیکال‌های چربی واکنش داده و از طریق انتشار، اکسیداسیون را متوقف کرده و باعث فعال‌سازی آنزیم‌های ضد اکسایشی (کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز) می‌شود (۱۸)، از طرفی عصاره‌های طبیعی با جاروب رادیکال نیتریک اکسید می‌توانند اثر سمیت بیش از حد اکسید نیترو در بدن انسان را کنترل کنند (۵۸).

از طرف دیگر کمبود عناصر غذایی تقریباً در تمامی مزارع جهان متداول است و میزان آن در مناطق مختلف و از گیاهی به گیاه دیگر متغیر است (۵). محلول پاشی عناصر غذایی یکی از روش‌های معمول تأمین نیاز غذایی گیاهان عالی است که کارایی آن در وضعیت نامناسب خاک به لحاظ دسترسی عناصر غذایی، بیشتر از مصرف خاکی می‌باشد (۲۱). خاک‌های آهکی با pH زیاد، ماده آلی کم، شوری زیاد، رطوبت کم، زیاد بودن یون بی‌کربنات در آب آبیاری و نامتعادل بودن مصرف کودها منجر به کمبود عناصر غذایی کم مصرف می‌شود (۳۴). با وجود نیاز کم گیاهان به عناصر کم مصرف، نقش اساسی در تغذیه و واکنش‌های آنزیمی، فرآیندهای متابولیکی و مقاومت گیاهان در برابر بیماری‌ها و شرایط نامساعد محیطی ایفا می‌کنند. این عناصر شرایط عمومی گیاهان را بهبود می‌بخشند و به عنوان کاتالیزور در واکنش‌های شیمیایی که در گیاهان صورت می‌گیرند، شرکت می‌کنند (۴۵). عنصر آهن بخش کاتالیزوری بسیاری از آنزیم‌های اکسیداسیون و احیا بوده و جزء ساختمان پروتئینی نظیر سیتوکروم، فردوکسن است که در فتوسنتز و تنفس میتوکندری‌ها نقش فعال دارند و به عنوان کوفاکتور بیش از ۱۴۰ آنزیم و واکنش‌های بیوشیمیایی خاصی را کاتالیز می‌کنند (۶). عنصر روی به عنوان فعال‌کننده و کوفاکتور برخی آنزیم‌های حیاتی گیاه از جمله کربونیک آنهیدرازها، دهیدروژنازها، آلکالین فسفاتازها، پلیمرازها در متابولیسم پروتئین‌ها، قندها، RNA فسفولیپازها، اسیدهای نوکلئیک، چربی‌ها،

هدف بررسی تاثیر عناصر کم مصرف و مواد هیومیکی در بهینه کردن تغذیه و بهبود عملکرد ماده گیاهی، اسانس و خواص آنتی اکسیدانی آن در خاک‌های آهکی آذربایجان انجام شد.

### مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال زراعی ۹۴-۹۵ در مزرعه تحقیقاتی گروه زراعت دانشگاه ارومیه اجرا گردید. نشاءها از شرکت تعاونی زرین گیاه ارومیه تهیه شد. انتقال نشاءها به لیوان بلافاصله بعد از تهیه، در نیمه دوم تیر ماه صورت گرفت. پس از انجام شخم و دیسک، در اواخر مرداد ماه سال اول نشاءها در زمین اصلی و در کرت‌هایی به ابعاد ۲×۳ متر با فاصله ۵۰×۳۰ سانتی‌متر نشاءکاری شدند و بلافاصله پس از آن آبیاری انجام شد. آبیاری‌های بعدی بر حسب شرایط اقلیمی منطقه به فاصله هر هفت روز یکبار تا آخر فصل رشد انجام شد. این پژوهش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۶ تیمار شامل محلول-پاشی Fe، Zn، Cu، HA و اثرات تلفیقی آنها (دوتایی، سه تایی و چهارتایی) با غلظت ۳ در هزار با ۳ تکرار (۴۸ نمونه) اجرا شد. مواد هیومیکی مورد استفاده (هیومکس ۹۵- WSG (Humax) از شرکت JH (Biotech, Inc, USA) شامل ۱۵ درصد اسید فولویک و ۸۵ درصد هیومات پتاسیم بود. محلول‌پاشی در دو مرحله به فاصله دو هفته از هم در سال دوم انجام گرفت. برداشت کل اندام هوایی در سال دوم در ۵۰ درصد گلدهی صورت گرفت. وزن خشک برگ، درصد اسانس و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی شامل محتوای فنل کل، محتوای فلاونوئیدی و سنجش درصد جمع‌آوری رادیکال DPPH، ظرفیت جمع‌آوری رادیکال نیتریک اکسید و شکستگی زنجیر اندازه‌گیری شد. گیاهان در مرحله گلدهی کامل حاوی حداکثر میزان اسانس هستند لذا استخراج اسانس در این مرحله بترتیب زیر انجام‌شد: اسانس‌گیری با استفاده از دستگاه کلونجر (به روش تقطیر با آب) انجام گرفت. به این صورت که ۱۰

فتوستنز گیاه و بیوسنتز اکسین ایفای نقش می‌کنند (۴۸). همچنین مس بعنوان یک عنصر انتقالی در فرآیندهای ساخت پروتئین و کربوهیدرات‌ها ایفای نقش می‌کند و در تسریع واکنش‌های ردوکس درون میتوکندری و کلروپلاست شرکت می‌کند (۳).

مواد هیومیکی شامل ترکیبات فولویک و هومیک اسید بوده حاوی تعداد زیادی از گروه‌های عاملی و کربن فعال می‌باشد (۵۴). این ماده با گیاه سازگار بوده و هیچ گونه سمیتی برای گیاه ایجاد نمی‌نماید و به‌عنوان مکمل عالی کودی و بهبود دهنده جذب مواد غذایی استفاده می‌شود. مواد هیومیکی کلات‌کننده عناصر غذایی مختلف مانند پتاسیم، منیزیم، روی، کلسیم، آهن، مس و سایر عناصر در جهت غلبه بر کمبود عناصر غذایی عمل نموده و سبب افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاه می‌شود (۱ و ۵۵). محققان نشان دادند که کاربرد روی و آهن باعث افزایش عملکرد دانه، محتوای ذرت و عملکرد دانه می‌شود (۳۹). همچنین گزارش شده که روی و آهن نقش مهمی در فتوستنز در برگ ریحان (*Ocimum sanctum L.*) دارند (۳۷).

گزارش شده است که محلول‌پاشی توأم آهن و روی موجب افزایش عملکرد اسانس و رشد گیاه تحت تنش شوری نسبت به تیمار شاهد در گیاه ریحان شد (Said-Al Ahl and Abeer, 2010). نتایج تحقیقات اختر و همکاران (Akhtar et al., 2009) نشان داد که محلول‌پاشی روی به میزان ۳ در هزار باعث افزایش ۲۸/۲ درصدی اسانس نعنای نسبت به گیاهان شاهد شد.

اگر چه مطالعات زیادی در مورد تأثیر عناصر کم‌مصرف و مواد هیومیکی بر روی گیاهان مختلف انجام شده است (۶۰)، ولی مطالعات اندکی در مورد تأثیر این عناصر بر گیاه دارویی مرزنجوش استانبولی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن انجام گرفته است. با توجه به اهمیت کشت این گونه گیاهی به لحاظ تولید و عملکرد بالا و همچنین بسط و توسعه سطح کشت آن در ایران، این تحقیق با

**سنجش درصد جمع آوری رادیکال DPPH**

میزان جمع کنندگی رادیکال پایدار DPPH (۲،۲-دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل) طبق روش Burits و Bucar با کمی تغییر تعیین گردید (۱۵). حدود ۴۰ میکرولیتر از عصاره با ۲ میلی لیتر محلول متانولی DPPH (۰/۰۰۴ درصد) مخلوط و میزان جذب پس از گذشت ۳۰ دقیقه آنکوباسیون در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. با استفاده از رابطه (۱) درصد مها رادیکال DPPH محاسبه شد:

$$(1) \quad \text{DPPH} = (1 - A_{\text{sample}}/A_{\text{blank}}) \times 100 = \text{درصد مها رادیکال DPPH}$$

$A_{\text{sample}}$  جذب عصاره در  $t = 60 \text{ min}$  و  $A_{\text{blank}}$

جذب شاهد در  $t = 0 \text{ min}$  است.

**تعیین درصد جمع آوری رادیکال سوپراکسید**

برای سنجش رادیکال آنیون سوپراکسید، رادیکال-های آنیون سوپراکسید به وسیله یک سیستم اتواکسیداسیون پیروگالول ایجاد شدند (۳۳). لوله آزمایش حاوی ۹ میلی لیتر از محلول بافر تریس اسید کلریدریک (pH=۸/۲، ۵۰ میلی مول بر لیتر) به مدت ۲۰ دقیقه در بن ماری (۲۵ درجه سانتی گراد) آنکوبه گردید. سپس ۴۰ میکرولیتر از محلول پیروگالول آنکوبه شده را به قسمت بالایی لوله آزمایش تزریق و مخلوط گردید. نمونه مخلوط شده برای ۳ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد آنکوبه گردید و سپس بلافاصله ۱ قطره اسید آسکوربیک (۰/۰۳۵ درصد) برای پایان واکنش به داخل مخلوط چکانده شد. جذب مخلوط در ۴۲۰ نانومتر به عنوان  $A_0$  (سرعت اتواکسیداسیون پیروگالول) پس از ۵ دقیقه ثبت شد. سرعت اتواکسیداسیون  $A_1$  از همان روش بالا گرفته شد فقط به بافر تریس میزان مشخصی از عصاره (۱۰ میکرو لیتر) افزوده شد. همزمان یک بلانک کنترل از مواد واکنشی به عنوان  $A_2$  در نظر گرفته شد. درصد جمع آوری رادیکال با استفاده از رابطه (۲) محاسبه گردید:

$$(2) \quad \text{درصد جمع آوری رادیکال های سوپراکسید} = ((A_0 - A_1)/A_0) * 100 (\%)$$

گرم برگ های خشک شده را در بالن ۱۰۰۰ میلی لیتری ریخته و به آن حدود ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر افزوده و عمل استخراج و اسانس گیری انجام شد. زمان لازم برای استخراج در حدود ۳ ساعت در نظر گرفته شد. در این مدت ترکیبات فرار همراه با بخار آب خارج شده و پس از سرد شدن به صورت لایه ی متمایز بر روی سطح آب در لوله ی مدرج دستگاه کلونجر قابل مشاهده بود. برای عصاره گیری مقدار ۲ گرم از برگ مرزنجوش استانبولی در هاون چینی کوبیده شد و سپس با ۲۵ میلی لیتر محلول متانول در دمای اتاق بر روی تکان دهنده مغناطیسی به مدت ۳ ساعت عصاره گیری و صاف گردید.

**تعیین محتوای فنل کل**

۱ میلی لیتر از معرف Folin-Ciocalteu به ۵۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی افزوده شد. سپس محلول حاصل با ۱ میلی لیتر کربنات سدیم (۱۰ درصد) مخلوط شده و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی آنکوبه گردید. در نهایت جذب محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در ۷۵۰ نانومتر اندازه گیری شد (۴۲). محتوای فنل کل بر حسب میلی گرم اکی والان های گالیک اسید در گرم عصاره با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید بیان گردید.

**تعیین محتوای فلاونوئید**

۵۰ میکرولیتر عصاره با ۱ میلی لیتر آب مقطر مخلوط گردید و سپس ۰/۰۷۵ میلی لیتر نیتريت سدیم (۵ درصد) به آن اضافه شد و بعد از ۵ دقیقه ۰/۱۵ میلی لیتر محلول  $\text{AlCl}_3$  (۱۰ درصد) اضافه شد سپس ۰/۵ میلی لیتر NaOH (۱ مولار) اضافه گردید و شدت جذب با ظهور رنگ صورتی در طول موج ۵۱۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر قرائت شد (۲۷). محتوای فلاونوئیدی کل بر حسب میلی گرم اکی والان های کوئرستین موجود در ۱۰۰ گرم عصاره با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین بیان گردید.

### وزن خشک برگ در بوته

بر اساس نتایج به دست آمده بیشترین میانگین وزن خشک برگ در بوته (۴۴ گرم) در تیمار کودی تلفیقی Zn+Cu+HA+Fe و کمترین آن (۲۱/۸ گرم) در تیمار کودی Cu مشاهده شد. از نظر این صفت، تیمار کودی Zn+Cu+HA+Fe با تیمار کودی تیمار کودی Zn+Cu+HA دارای تفاوت معنی داری نبود. تیمار کودی Cu با همه تیمارهای تلفیقی به غیر از (Zn + Fe)، (Cu+ Fe)، (Zn + Cu) و (Zn + HA) دارای تفاوت معنی داری بود (شکل ۱). به نظر می رسد گیاه مرزنجوش استانبولی مستعد تغذیه با منابع کودی می باشد به ویژه تغذیه تلفیقی با عناصر کم مصرف و توام با مواد هیومیکی می تواند وزن خشک برگ را افزایش دهد. گزارش های متعددی در رابطه با اثرات محلول پاشی تلفیقی عناصر کم مصرف بر افزایش ویژگی های مورفولوژیکی گیاهان مختلف توسط محققان ارائه شده است (۲۴). در بررسی های انجام شده توسط یادگاری (۵۹)، گزارش شده که استفاده از تیمار ترکیبی Mn و Cu با غلظت ۲ در هزار به صورت محلول پاشی در گیاه آویشن باغی بر صفاتی چون تعداد شاخسارهای هوایی، وزن خشک اندام هوایی و میزان اسانس گیاهی، وزن خشک و تر ریشه و همچنین بر اجزای اسانس نظیر تیمول و کارواکرول تاثیر معنی داری داشت. محققان نشان دادند که محلول پاشی گشنینز با عناصر Zn و Fe در مراحل رشد رویشی و گلدهی و تشکیل میوه سبب افزایش معنی دار ارتفاع بوته، تعداد ساقه، وزن تر و خشک ساقه، درصد اسانس گیاه و عملکرد دانه گردید و کاربرد توام Zn و Fe نقش بیشتری بر این افزایش داشت (۵۰).

### تعیین درصد جمع آوری رادیکال نیتریک

اکسید مهار رادیکال نیتریک اکسید با استفاده از واکنش Griess Illosvoy محاسبه گردید. حدود ۳ میلی لیتر محلول واکنشی حاوی ۲ میلی لیتر سدیم نیترو پروسید (۱۰ میلی مولار)، ۰/۵ میلی لیتر بافر فسفات سالین و ۴۰ میکرو لیتر عصاره گیاهی به مدت ۱۵۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد انکوبه شد. سپس ۰/۵ میلی لیتر از محلول حاصل با ۱ میلی لیتر اسید سولفانلیک (۳۳/۰ درصد در اسید استیک گلاسیال ۱۰ درصد) مخلوط شده و به مدت ۵ دقیقه برای تکمیل دآزوتیزاسیون ثابت گذاشته شد. سپس ۱ میلی لیتر نفتیل اتیلن دی آمین دی هیدروکلراید به مخلوط اضافه گردید و اجازه داده شد مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد ثابت بماند. میزان جذب محلول (صورتی روشن) در ۵۴۰ نانومتر به همراه شاهد قرائت شد. درصد جمع آوری رادیکال نیتریک اکسید با استفاده فرمول زیر محاسبه گردید:

(۳) 
$$\text{رادیکال های نیتریک اکسید } (\%) = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} * 100$$

تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین ها آن از روش چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

### نتایج و بحث

برخی از ویژگی های فیزیکوشیمیایی خاک مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. خاک مورد مطالعه با بیش از ۴۰ درصد رس به عنوان خاک رسی کلاس بندی شد. این خاک به لحاظ تغذیه ای دارای فسفر، نیتروژن و آهن کمتر از حد بحرانی بوده ولی به لحاظ پتاسیم مناسب می باشد. مقدار روی و مس در حد متوسط ارزیابی شد (۱۱). مقادیر کمبود عناصر فسفر و نیتروژن بر اساس توصیه کودی به خاک اضافه شد. تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مرزنجوش استانبولی تحت تاثیر عناصر کم مصرف و مواد هیومیکی در جدول ۲ و ۳ نشان داده شده است.

جدول (۱) برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

Table (1) Some of the physicochemical properties of the studied soil

Zn	Fe	Cu	K	P	N	F.C	Clay	CaCO <sub>3</sub>	O.C	Texture	EC	pH
mg kg <sup>-1</sup>							%		dSm <sup>-1</sup>			
1.21	6.8	2.40	255	9.5	0.15	27	44	16.3	0.74	Clay	1.32	7.4

جدول (۲) تجزیه واریانس تأثیر محلول پاشی عناصر کم مصرف و مواد هیومیکی بر صفات فیزیولوژیکی و

بیوشیمیایی مرزنجوش استانبولی

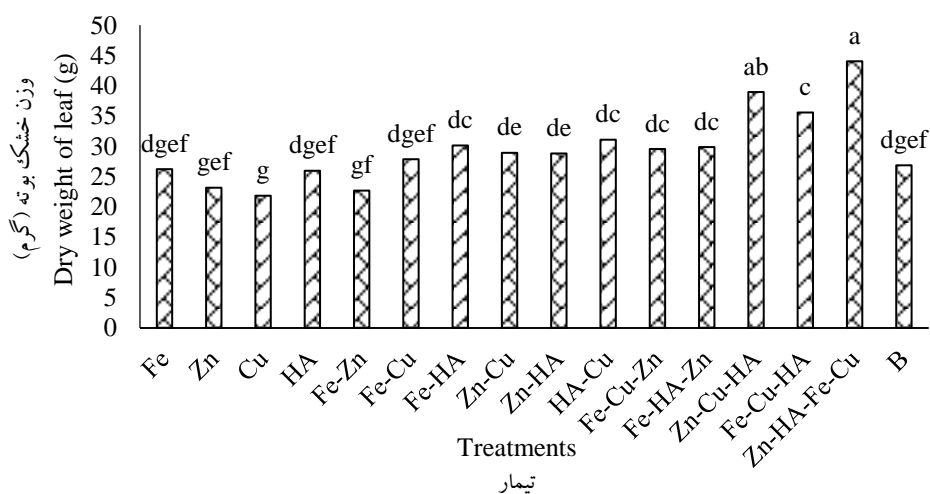
Table (2) The analysis of variance for the the foliar application effect of micronutrients and humic substance on physiological and biochemical parameters of *Istanbul Origanum vulgare*

(MS) میانگین مربعات

کستگی	زنجیر (chain-breaking activity)	نیتریک اکسید (Nitric Oxide)	DPPH	فلاونوئید (Flavonoid)	فنل کل (Total phenil)	درصد اسانس (Essential oil)	وزن خشک برگ (Dry weight of leaf)	درجه آزادی (Df)	منابع تغییر (Sources of variation)
8.776 <sup>ns</sup>	8.086 <sup>ns</sup>	228.20 <sup>ns</sup>	4.99 <sup>ns</sup>	7.39 <sup>ns</sup>	0.0315 <sup>ns</sup>	2.78 <sup>ns</sup>	2	بلوک (Block)	
736.75 <sup>**</sup>	258.96 <sup>*</sup>	495.22 <sup>**</sup>	3.61 <sup>*</sup>	27.519 <sup>**</sup>	0.334 <sup>*</sup>	103.93 <sup>**</sup>	15	تیمار (Treatment)	
6.023	12.16	43.04	0.064	18.12	0.0318	7.69	30	خطای آزمایش (St. Error)	
6.16	12.67	11.69	4.04	7.68	6.02	2.75	-	ضریب تغییرات (CV) (%)	

ns, \*\*, \*: به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد و معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد

وزن خشک برگ



شکل (۱) تأثیر محلول پاشی عناصر کم مصرف و مواد هیومیکی بر وزن خشک برگ

Figure (1) The effect of the foliar application of micronutrients and humic substance on the dry weight of leaf

## درصد اسانس

ریحان نشان داد که محلول پاشی توأم روی و آهن (۲۵۰ میلی گرم در لیتر) موجب افزایش رشد رویشی گیاه و همچنین عملکرد اسانس نسبت به تیمار شاهد شد. نتایج برخی از محققان حاکی از آن است که محلول پاشی گیاهان دارویی با عناصر کم مصرف باعث افزایش عملکرد گیاه (۳۷-۴۲ درصد) و اسانس (۸۲-۴۴/۶ درصد) نسبت به شاهد می شود (۴۷).

## ویژگی های آنتی اکسیدانی

گیاهان دارویی منابع مهم و غنی از آنتی اکسیدان های طبیعی هستند (۱۳). میزان فعالیت آنتی اکسیدانی یک گیاه ارتباط مستقیم با نوع و میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در آن گیاه، نظیر کاروتنوئیدها، فنل، فلاونوئید، تانن و اسیداسکوربیک دارد (۲۲). همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی گیاهان با نظر به اینکه مقدار و نوع ترکیبات دارای خواص آنتی اکسیدانی تحت تاثیر عوامل متعددی قرار میگیرند به ویژگی های مختلفی از جمله ژنوتیپ، اقلیم، فصل رشد، موقعیت جغرافیایی، نوع خاک، شرایط نگهداری و نحوه خشک کردن بستگی دارد (۷). طبق نتایج تجزیه واریانس داده ها تمام صفات آنتی اکسیدانی تحت تاثیر محلول پاشی عناصر کم مصرف و مواد هیومیکی قرار گرفتند (جدول ۲). نتایج برخی خصوصیات آنتی اکسیدانی گیاه مرزنجوش استانبولی تحت تاثیر محلول پاشی عناصر کم مصرف و مواد هیومیکی به شرح ذیل بررسی شد:

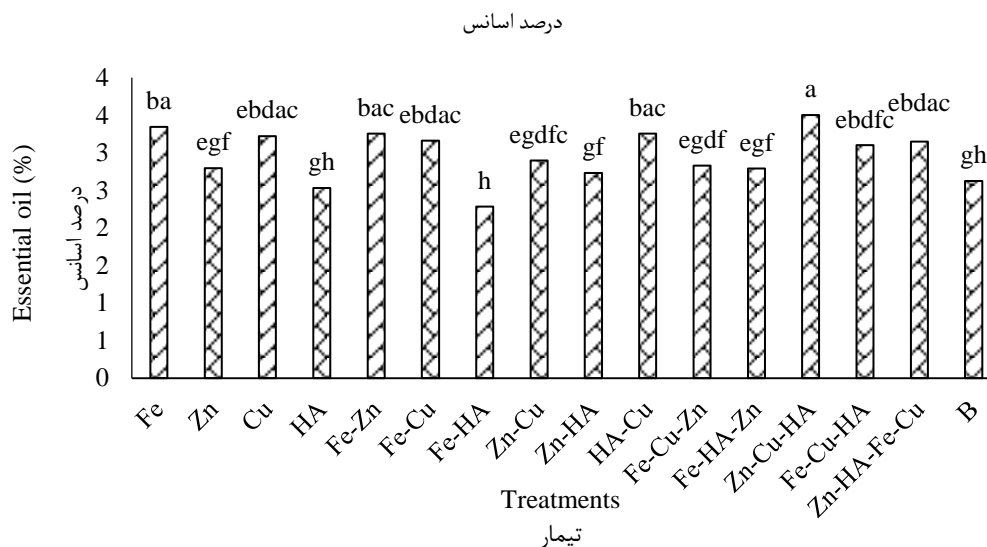
## محتوای فنل کل

ترکیبات فنلی با وزن مولکولی زیاد توانایی زیادی برای پاک سازی رادیکال های آزاد را دارند و این توانایی بیشتر به تعداد حلقه آروماتیک و ماهیت گروه های جایجا شونده هیدروکسیل بستگی دارد (۴۰). بیشترین مقدار فنل کل (۷۲/۳ میلی گرم گالیک اسید در گرم ماده خشک) در تیمار با Zn و کمترین مقدار آن (۳۵/۸ میلی گرم گالیک اسید در گرم ماده خشک) در تیمار با HA مشاهده گردید (شکل ۳).

نتایج نشان داد بیشترین میانگین درصد اسانس حاصله مربوط به تیمار Zn+Cu+HA (۳/۵۰ درصد) و کمترین آن مربوط به تیمار Fe+HA (۲/۲۸ درصد) بود. تیمار Zn+Cu+HA از نظر درصد اسانس با تیمارهای Cu، Fe+Zn، Fe+Cu، HA+Cu و Zn+Cu+HA+Fe تفاوت معنی داری نشان نداد. تیمار Fe+HA که کمترین درصد را نشان داد فقط با شاهد و تیمار HA دارای تفاوت معنی داری بود (شکل ۲). معمولاً محتوای اسانس تحت تاثیر تنش های محیطی و تغذیه با عناصر غذایی تغییر می کند؛ برخی از محققان نشان دادند که افزایش آهن قابل استفاده خاک سبب کاهش محتوای اسانس گیاه می شود (۴۳). در حالیکه میسرا و همکاران<sup>۱</sup> (۳۷)، گزارش کردند که درصد اسانس گیاه آیسون (*Pimpinella anisum*) تحت تاثیر محلول پاشی با Fe و Zn نسبت به تیمار شاهد افزایش می یابد. البته غلظت عناصر محلول پاشی شده می تواند میزان اسانس گیاه را تحت تاثیر قرار دهد به طوریکه تحقیقات محققان بر محلول پاشی گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.) نشان دادند که عملکرد اسانس در تیمار یک درصد سولفات روی نسبت به دو درصد بهتر است (۳۱). افزایش درصد اسانس در گل گاوزبان اروپایی را تحت تاثیر محلول پاشی تلفیقی با عناصر کم مصرف را گزارش شده است (۵۹). گزارش شده است که اسید هیومیکی از طریق اثرات مثبت فیزیولوژیکی از جمله اثر بر متابولیسم سلول های گیاهی و افزایش غلظت کلروفیل برگ باعث افزایش عملکرد گیاه می شود (۳۶). همچنین افزایش عملکرد محصول و کلروفیل تحت تاثیر محلول پاشی با اسید هومیک در منابع علمی مشاهده شده است (۲۹). لازم به ذکر است ترکیبات عمده اسانس عمدتاً به عوامل ژنتیکی، موفولوژی ریشه گیاه، وضعیت تغذیه ای و بخش های مختلف گیاه (ساقه، برگ و گل) بستگی دارد (۴۴). نتایج سعید الاهلی و آبیر<sup>۲</sup> (۴۹) در بررسی اثر محلول پاشی روی و آهن بر میزان عملکرد اسانس

1- Misra et al.

2- Al Ahl and Abeer



شکل (۲) تأثیر محلول پاشی عناصر کم مصرف و مواد هیومیکی بر میزان درصد اساس

Figure (2) The effect of foliar application of micronutrients and humic substance on essential oil

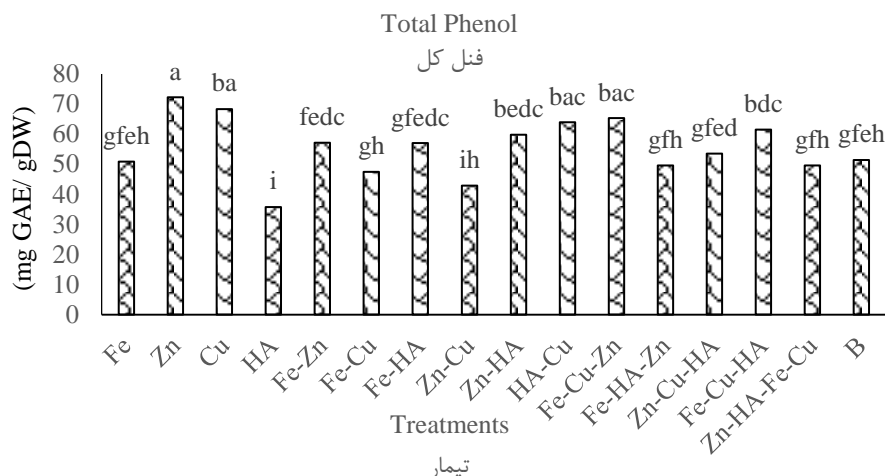
مستقیم دارد (۲۶). بر این اساس بیشترین محتوای فلاونوئید کل در تیمار HA (۷/۸) گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم ماده خشک) و کمترین مقدار آن در تیمار Fe+Cu (۴/۴۸) گرم کوئرستین بر ۱۰۰ گرم وزن خشک گیاه) مشاهده گردید. تیمار HA با تیمارهای Cu و Zn+Cu و تیمار Fe+Cu با تیمار شاهد به لحاظ آماری اثرات مشابهی نشان دادند؛ نکته قابل توجه اینک افزایش قابل توجهی از فلاونوئید در تیمار با Cu نسبت به شاهد نیز مشاهده می‌شود. اعمال تیمارهای تلفیقی افزایش قابل توجهی در میزان فلاونوئید مرزنجوش را نسبت به تیمارهای تکی باعث نشده‌اند (شکل ۴). محققان نشان دادند تیمار غلظت‌های ۱ و ۱۰ میکرومولار اکسید مس، میزان ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها و آنتوسیانین گیاه مرزه را به طور قابل توجهی افزایش می‌دهد در حالی که اکسید روی تأثیر قابل توجهی بر میزان این متابولیت‌ها نداشت (۲۶). گزارش دادند که در گیاه همیشه بهار *Calendula officinalis* محلول پاشی عناصر بر و منگنز محتوای فلاونوئید را افزایش داد (۵۹). محققان به این نتیجه رسیدند آویشن دارای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها مثل رزماریک اسید، آپیزین، لوتولین، مافنیک اسید، فرولیک اسید، کارنوزیک اسید و دیگر فنل‌ها و فلاونوئیدها هستند (۲۶).

مقدار فنل عمدتاً در تیمارهای مسی بیشتر می‌باشد چرا که مس نقش کلیدی در سنتز متابولیت‌های ثانویه از جمله ترکیبات فنلی داشته، کمبود آن می‌تواند باعث کاهش سطح ترکیبات فنلی در گیاهان شود (۲۰). معمولاً ترکیبات فنولیک توسط فاکتورهای ژنتیکی و عوامل محیطی از جمله مسائل تغذیه‌ای تحت تأثیر قرار می‌گیرند (۱۴). تحقیقات نشان داد که محلول پاشی گل گاوزبان با Zn و Fe و Mn باعث افزایش محتوای فنل کل می‌شود (۵۹). افزایش فنل کل در نتیجه کاربرد عنصر روی در برگ گندم گزارش شده است (۵۷) لازم به ذکر است واکنش گونه‌های گیاهی مختلف نسبت به کاربرد روی در میزان فنل کل می‌تواند متفاوت باشد. حتی نوع و میزان حلال (متانول، اتانول و ...) بر کمیت ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی موثر می‌باشد و ارتباط معنی‌داری بین میزان ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند (۲). تفاوت در محتوای فنلی می‌تواند فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه را تحت تأثیر قرار دهد زیرا بسیاری از ترکیبات فنولیک در گیاهان منبع خوبی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند (۴۶).

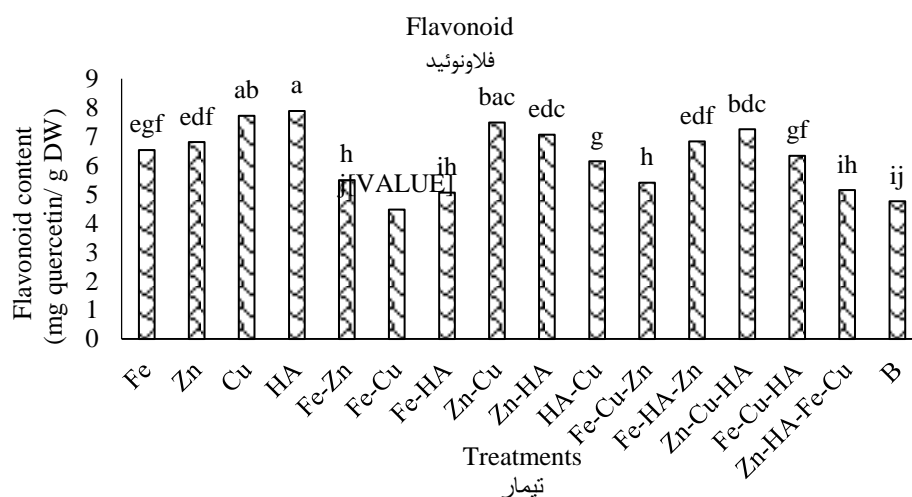
### محتوای فلاونوئید کل

فلاونوئیدها گروهی از ترکیبات فیتوشیمیایی هستند که به طور گسترده در گیاهان وجود دارد و فعالیت آنتی-اکسیدانی آنها با میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی رابطه





شکل (۳) تاثیر محلول پاشی عناصر کم مصرف و مواد هیومیکی بر فنل کل  
Figure (3) The effect of the foliar application of micronutrients and humic substance on total phenol



شکل (۴) تاثیر محلول پاشی عناصر کم مصرف و مواد هیومیکی بر محتوای فلاونوئید  
Figure (4) The effect of the foliar application of micronutrients and humic substance on the flavonoid content

مختلف، متفاوت بود؛ بیشترین درصد جمع آوری رادیکال فعال DPPH (۷۴/۱ درصد) در تیمار با Fe+Zn+Cu+HA و کمترین مقدار آن (۳۹/۹ درصد) در تیمار با Fe+Zn+Cu مشاهده گردید. تیمار Fe+Zn+Cu+HA که حائز بیشترین درصد شد با شاهد و همه تیمارهای تک، Fe+Zn و Fe+Cu دارای تفاوت معنی داری نبود. تیمار Fe+Zn+Cu با همه تیمارهای سه گانه و همه تیمارهای دو گانه به غیر از Fe+Zn و Fe+Cu اثرات مشابهی نشان داد (شکل ۵).

### جمع آوری رادیکال فعال DPPH (۲، ۲- دی فنیل - ۱- پیکریل هیدرازیل)

رادیکال DPPH یک رادیکال آزاد پایدار آلی و نیتروژن دار است که به طور وسیع برای آزمایش پاک کردن رادیکال های آزاد مورد استفاده قرار می گیرد (۵۲). استفاده از رادیکال آزاد DPPH برای بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره های گیاهی یکی از پرکاربردترین روش های سنجش قدرت آنتی اکسیدانی است. تغییرات درصد DPPH در اعمال تیمارهای

اکسیژن هدایت کننده رقابت می‌کنند تا تولید نیتريت اکسید را کاهش دهند (۳۵). در تحقیقی مشخص شد عصاره برگ گردو قدرت پاک‌سازی رادیکال‌های نیتريك اکسید بالایی را داراست (۴). طی تحقیقات به عمل آمده ظرفیت جمع‌آوری رادیکال نیتريك اکسید در عصاره شاه‌توت در غلظت‌های پایین بسیار ناچیز بوده و به تدریج با افزایش غلظت عصاره، قدرت آن بیشتر می‌شود (۶۲).

### سنجش فعالیت شکستگی زنجیر

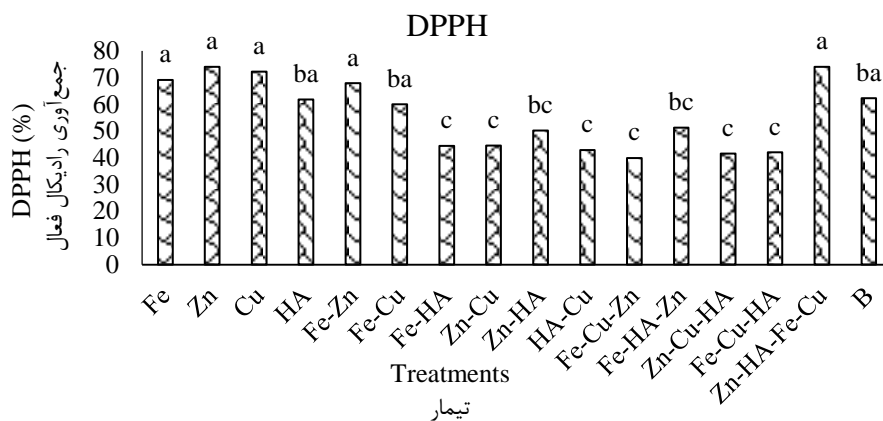
اندازه‌گیری فعالیت شکستگی زنجیر، سرعت نابودی رادیکال را تحت تأثیر ضداکساینده‌های انتقال دهنده الکترون و دهنده هیدروژن تعیین می‌کند. بنابراین اندازه‌گیری این شاخص‌ها در کنار هم، روش جالبی برای تخمین ظرفیت پاداکسایشی یک ترکیب به حساب می‌آید. بررسی رابطه بین پتانسیل احیا و فعالیت شکستگی زنجیر در مطالعات مختلفی که انجام شده است هم می‌تواند در تفسیر نتایج جالب توجه باشد (۴۱). بیشترین مقدار فعالیت شکستگی زنجیر در تیمار Fe+Zn-Abs- (۷۰/۷۳ 3/min/mg extract) و کمترین مقدار آن در تیمار HA (Abs-3/min/mg extract - ۱۶/۹)، Fe+HA و Fe+Zn+Cu+HA که در یک گروه آماری بودند مشاهده شد. شکستگی زنجیر در تیمار Fe+Zn و Fe+Cu قابل ملاحظه بود و نسبت به سایر تیمارها افزایش معنی‌داری داشت. (شکل ۷). نتایج حاصله حاکی از آن است که فعالیت شکستگی زنجیر در اغلب تیمارها نسبت به شاهد کاهش یافته است. مطالعات انجام شده بر روی ظرفیت جمع‌آوری رادیکال و همچنین فعالیت شکستگی زنجیر در عصاره چند گیاه نشان داد که سیر (Allium sativum) در میان گیاهان مطالعه شده بیشترین فعالیت شکستگی زنجیر را از خود نشان می‌دهد (۱۰).

ایستراتی و همکاران<sup>۱</sup> (۲۵) گزارش کرده‌اند که میزان سنجش درصد جمع‌آوری رادیکال DPPH در آویشن باغی در شرایط استخراج با آب ۷۵/۸۶ درصد بود. محققان (۴۰) در مطالعه‌ای بر روی قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره گل شویده در تست DPPH، مقدار ۵۰ درصد مهار رادیکالی برای بخش‌های اتیل استات، اتانول و هگزان به ترتیب ۲۸/۱۵، ۵۶/۸۳ و ۳۹۹/۷۰ درصد به دست آمد (۶۱). این نتایج نیز نشان دهنده قدرت بالای مهار رادیکالی عصاره‌های مورد مطالعه نسبت به اسانس می‌باشد.

### جمع‌آوری رادیکال نیتريك اکسید

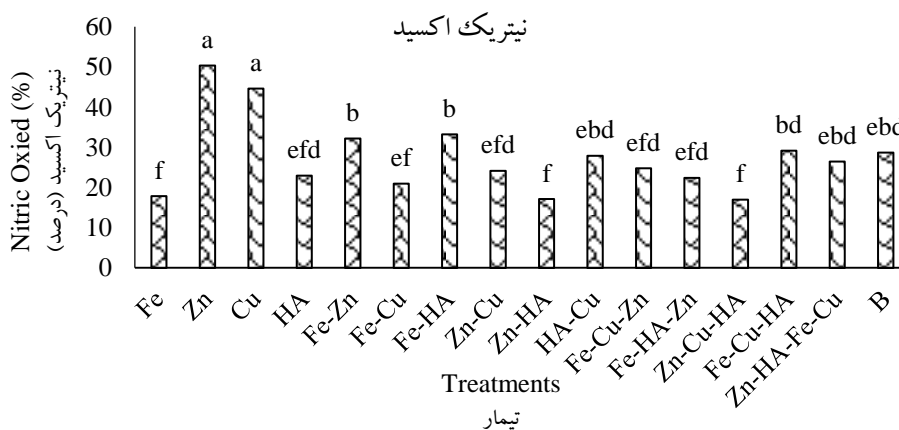
نیتريك اکسید نقش مهمی در عملکردهای فیزیولوژیکی ایفا می‌نماید؛ همچنین می‌تواند در بیماری‌های التهابی نیز نقش داشته باشد. نیتريك اکسید می‌تواند با رادیکال سوپراکسید واکنش داده و تولید پراکسی نیتريت نماید که یک عامل اکسیداسیون قوی بوده و موجب آسیب‌های اکسایشی مختلف می‌شود (۶۳). شواهد نشان داد که نیتريك اکسید به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد و نمو و همچنین دفاع گیاه در برابر امراض می‌باشد (۵۶). بیشترین درصد جمع‌آوری نیتريك اکسید مربوط به تیمار Zn (۵۰/۳ درصد) و کمترین درصد آن در تیمار تلفیقی Zn+Cu+Fu (۱۷٪) مشاهده شد. تیمار Zn فقط با تیمار Cu و تیمار Zn+Cu+Fu به عنوان تیماری که کمترین درصد جمع‌آوری رادیکال نیتريك اکسید را نشان داد با تیمارهای Fe، HA، Fe+Cu، Zn+Cu، Zn+HA، Fe+Zn+HA و Fe+Cu+Zn به لحاظ آماری اثرات مشابهی نشان داد (شکل ۶). محققان گزارش دادند که Zn برای سنتز ایندول استیک اسید (IAA) ضروری است و افزودن غلظت‌های پایین اکسید نیترو باعث افزایش غلظت Zn در گیاه چاودار تحت تنش Cd می‌شود (۱۶). برخی پژوهشگران (۳۵) به این نتیجه رسیدند که جمع‌کننده‌های رادیکال نیتريك اکسید نه تنها در گیاهان خانواده نعناعیان بلکه در گیاهان دیگر نیز با

1- Istrati et al.



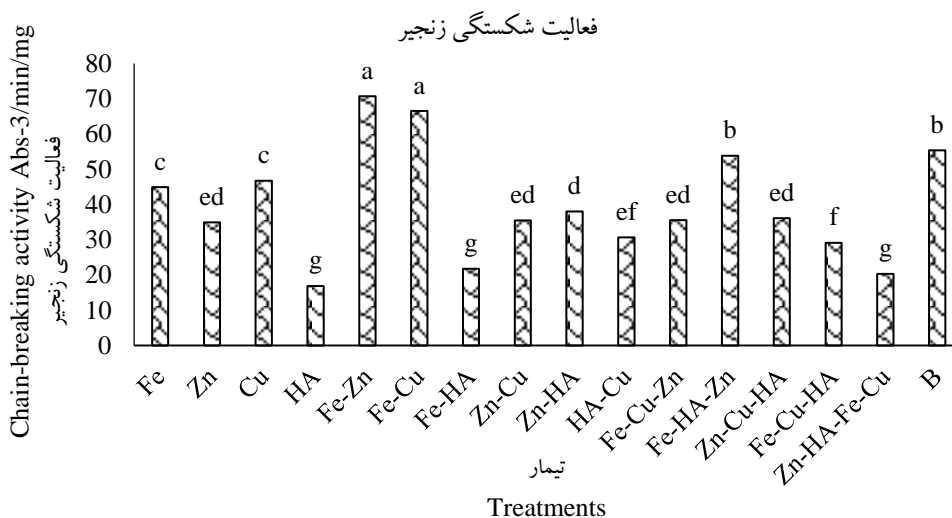
شکل (۵) تاثیر محلول پاشی عناصر کم مصرف و مواد هیومیکی بر DPPH

Figure (5) The effect of the foliar application of micronutrients and humic substance on DPPH



شکل (۶) تاثیر محلول پاشی عناصر کم مصرف و مواد هیومیکی بر نیتریک آکسید

Figure (6) The effect of the foliar application of micronutrients and humic substance on Nitric Oxide



شکل (۷) تاثیر محلول پاشی عناصر کم مصرف و مواد هیومیکی بر فعالیت شکستگی زنجیر

Figure (7) The effect of the foliar application of micronutrients and humic substance on the Chain-breaking activity

## نتیجه گیری

مقدار فنل کل، جمع آوری نیتریک اکسید، فعالیت شکستگی زنجیر و DPPH در شاهد در مقایسه با اکثر تیمارهای کودی اثرات مشابه یا بهتری نشان داد و این درحالی بود که مقدار فلاونوئید در اکثر تیمارها نسبت به شاهد افزایش داشت. لذا مصرف انواع عناصر کم مصرف و مواد هیومیکی می تواند خواص کیفی مرزنجوش استانبولی را تغییر دهد و بر اساس نوع هدف بایستی در مصرف مستقل و تلفیقی عناصر کم مصرف و مواد هیومیکی دقت لازم مبذول گردد.

نتایج بدست آمده در این تحقیق نشان داد که محلول پاشی مرزنجوش استانبولی با مواد هیومیکی و عناصر کم مصرف در مورد وزن خشک برگ در همه تیمارها به غیر از تیمارهای چهار گانه و Zn+Cu+HA در بقیه تیمارها، تاثیری مشابه شاهد داشت که نشان دهنده تاثیر ناچیز آنها بر روی این صفت است؛ در حالی که تاثیر این محلول پاشی ها بر افزایش درصد اسانس نسبت به شاهد به مراتب چشمگیرتر بود. مصرف Zn باعث افزایش فنل کل و جمع آوری نیتریک اکسید در مقایسه با شاهد شد.

## منابع

1. Abedi, T, and Pakniyat, H. 2010. Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oil seed rape (*Brassica napus* L.). Czech Journal of Genetics and Plant Breeding, 46(1): 27-34.
2. Afraza, Z., Bolandi, M., Khorshidi, M. and Mohammadi Nafghi, A.A. 2014. Evaluation of antioxidant activity of aqueous and alcoholic extracts (Methanol, Ethanol) of petals of saffron. Journal of Agriculture and Technology Saffron, 3: 231-236.
3. Alloway, B.J. 1995. Heavy Metals in Soils 2<sup>nd</sup> Ed. Blackie Academic and Professional, London.
4. Almedia, L., Fernandes, E., Lima, J.C., Caste, P., Bahia, M.F. 2008. Walnut (*Juglans regia*) leaf extracts are strong scavengers of pro-oxidant reactive species. Food Chemistry, 106: 1014-1020.
5. Alturkci, A., and Helal, M. 2004. Mobilization to Pb, Zn, Cu and Cd, in polluted soil. Soil Science Journal 7: 1972-1980.
6. Amuamuha, L., Pirzad, A. and Hadi, H. 2012. Effect of varying concentrations and time of nanoiron foliar application on the yield and essential oil of pot marigold. International Research Journal of Applied and Basic Sciences, 3: 2085-209.
7. Asekun, OT, Grierson, D.S, Afolayan, A.S. 2006. Influence of drying methods on the chemical composition and yield of the essential oil of *Leonotis Leonurus*. Journal of Scientific Research, 10: 61-64.
8. Bang, B., Lee, H.S., Park, J.G., Choang, M.G., and Lim, J.D. 2007. Antioxidant activities and phenolic compound composition of extract from mulberry fruit. Journal of Medicinal Crop Science. 15(2): 120-127.
9. Baydar, H., Sagdic, O., Ozkan, G., Karadogan, T. 2004. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. Food Control: 15(3):169-72.

10. Benkeblia, N. 2005. Free-Radical scavenging capacity and antioxidant properties of some selected onions and garlic extracts. *Brazilian of Biology and Technology*, 48(5): 753-759.
11. Benton J., and Jones J.R. 2012. *Plant Nutrition and Soil Fertility Manual*, (2<sup>th</sup> Ed.), By Taylor and Francis Group, LLC, 351pp.
12. Bergendi L, Benes L., Durackova Z, Ferencik M., 1999. Chemistry, physiology and pathology of free radical. *Life Sciences Journal*, 65:1865-1874.
13. Bonilla J, Atares L, Chiralt, A., and Vargas, M., 2011. Recent patents on the use of antioxidant agents in food. *Journal of Food, Nutrition and Agriculture*, 3(2): 123-132.
14. Bravo, L., 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56(11), pp.317-333.
15. Burits, M., and Bucar, F., 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, 14(5), 323-328.
16. Cakmak I., 2000. Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. *New Phytologist*, 146:185–205.
17. Chishti, S., Kaloo, Z.A. and Sultan, P. 2013. Medicinal importance of genus *Origanum*: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 5(10):170-177.
18. Cooper, R., Lavie, D., and Ctterman, Y., 1994. The distribution of rare phenolic type compound in wild and cultivated Wheats. *Journal of Environments*, 27: 331- 336.
19. D'Antuono, L. F., Galletti, G. C., and Bocchini, P., 2000. Variability of essential oil content and composition of *Origanum vulgare* L. populations from a North Mediterranean area (Liguria region, Northern Italy). *Annals of Botany*, 86(3): 471-478.
20. Dicko, H. M., Gruppen, H., Traore, A. S., Voragen, A. G. J. and Berkel, W. J. H. V. 2006. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of Sorghum for food use. *Biotechnology and Molecular Biology Review*, 1(1): 21-38.
21. Erdal, I., Kepenek, K., and Kizilgoz, I. 2004. Effect of foliar iron applications at different growth stages on iron and some nutrient concentrations in strawberry cultivars. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 28(6): 421-427.
22. Gorinstein, S., Cvikrova, M., Machackova, I., Haruenkit, R., Zachwieja, Z., and Katrich, E., 2004. Characterization of antioxidant compounds in Jaffa sweets and white grapefruits. *Food Chemistry*, 84: 503-510.
23. Gulchin, I., Oktay, M., Krecci, E., Kufrevioglu, I. 2003. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83: 371-382.
24. Hendawy, S., El-Sherbeny, S., Hossein, M., Khalid, Kh. and Ghazal, G. 2012. Response of two species of black cumin to foliar spray treatment. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 6: 636-642.

25. Istrati, D., Vizireanu, C., Iordachescu, G., Dima, F. and Garnai, M., 2013. Physico-chemical characteristics and antioxidant activity of goji fruits jam and jelly during storage. *Annals of the University Dunarea de Jos of Galati Fascicle VI-Food Technology*, 37(2).
26. Jamshidi, M., Ahmadi Ashtiani, H. R., Rezazadeh, SH. A., Fathi, Azad, F., Mazandarani, M., and Khaki, A. 2010. Investigation and comparison of phenolic compounds of antioxidant activity of native chest native of Mazandaran. *Quarterly Journal of Medicinal Plants*, (2): 177-.183.
27. Jia, Z., Tang, M., and Wu, J. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64: 555-559.
28. Jordán, M.J., Martínez, R.M., Martínez, C., Monino, I., and Sotomayor, J.A., 2009. Polyphenolic extract and essential oil quality of *Thymus zygis* ssp. *gracilis* shrubs cultivated under different watering levels. *Industrial Crops and Products*, 29(1): 145-153.
29. Karakurt, Y., Unlub, H., Unlub, H., and Pademb, H. 2009. The influence of foliar and soil fertilization of humic acid on yield and quality of pepper. *Acta Agriculture Scandinaviana, Section B, Soil and Plant Science*, 59: 233-237.
30. Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V. and Milos, M. 2004. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry*, 85(4): 633-640.
31. Kumar, R., Sharma, S., Kaundal, M., Sharma, S. and Thakur, M., 2016. Response of damask rose (*Rosa damascena* Mill.) to foliar application of magnesium (Mg), copper (Cu) and zinc (Zn) sulphate under western Himalayas. *Industrial Crops and Products*, 596-602.
32. Lagouri, V. and Boskou, D., 1996. Nutrient antioxidants in oregano. *International journal of food sciences and nutrition*, 47(6), pp: 493-497.
33. Ling, T.Y., and Zhao, X.Y. 1995. The improved pyrogallol method by using terminating agent for superoxide dismutase measurement. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 22: 84-86.
34. Malakouti, M.J., 2008. The effect of micronutrients in ensuring efficient use of macronutrients. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 32(3): 215-220.
35. Marcocci, L., Packer, L., Droy-Lefai, MT., Sekaki, A. and Gardes-Albert, M. 1994. Antioxidant action of *Ginkgo biloba* extracts EGb 761. *Methods of Enzymology*, 234:462-475.
36. Mehdi, S.S., Farzad, P., Hossein, H.D., Hamid, M., Majid, M., and Mohamad, R.T. 2013. Effect of intermittent furrow irrigation, humic acid and deficit irrigation on water use efficiency of sugar beet. *Annals of Biological Research*, 4 (3):187-193. (In Persian)
37. Misra A, Dwivedi S, Srivastava A.K., Tewari D.K., Khan A and Kumar R., 2006. Low iron stress nutrition for evaluation of Fe- efficient genotype physiology,

- photosynthesis, and essential monoterpene oil yield of *Ocimum sanctum*. *Photosynthetica*, 44: 474 -77.
38. Naczka, M., Wanasundara, P.K.J.P.D., and Shahidi, F. 1992. Facile spectrophotometric quantification method of sinapic acid in hexane-extracted and methanol-ammonia-water-treated mustard and rapeseed meals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(3):444-448.
  39. Nasiri, Y., Zehtab-Salmasi, S., Nasrullahzadeh, S., Najafi, S., Ghassemi-Golezani, K., 2010. Effects of foliar application of micronutrients (Fe and Zn) on flower yield and essential oil of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(17): 1733-1737.
  40. Nickavar, B., Mojab, F., and Dolat-Abadi, R. 2005. Analysis of the essential oils of two *Thymus species* from Iran. *Food Chemistry*, 90: 609-611.
  41. Nicoli, M.C., Calligaris, S., Mamzocco, L. 2000. Effect of enzymatic and chemical oxidation on the antioxidant capacity of catechin model systems and in apple derivatives. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48: 4576-4580.
  42. Oki, T., Masuda, M., Kobayashi, M., Nishiba, Y., Furuta, S., Suda, I., and Sat, T. 2002. Polymeric procyanidins as radical scavenging components in red-hulled rice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 7525-7529.
  43. Peyvandi, M., Kamali-Jamakani, Z., and Mirza, M. 2012. The effect of nano-iron with iron chelate on the growth and activity of antioxidant enzymes in *Satureja hortensis*. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*, 2 (5): 25 - 32.
  44. Rattanachaikunsopon, P., Phumkhachorn, P. 2010. Antimicrobial activity of basil (*Ocimum basilicum*) oil against *Salmonella enteritidis* in vitro and in food. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 74: 1200-1204.
  45. Ravi, S., Channal, H.T., Hebsur, N.S., Patil, B.N., and Dharmatti, P. 2008. Effect of sulphur, zinc and iron nutrition on growth, yield, nutrient uptake and quality of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Karnataka Journal Agriculture Science*, 32: 382-385.
  46. Rice-Evans, C., Miller, N. and Paganga, G., 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2(4): 152-159.
  47. Rao, B.R. and Rajput, D.K. (2011). Response of palmarosa (*Cymbopogon martinii* (Roxb.) Wats. var. motia Burk.) to foliar application of magnesium and micronutrients. *Industrial Crops and Products*, 33(2): 277-281.
  48. Rion, B., and Alloway, J. 2004. Fundamental aspects of zinc in soils and plants. *International Zinc Association*. 23: 1-128.
  49. Said-Al Ahl, H.A.H. and Abeer A. Mahmoud, Effect of zinc and / or iron foliar application on growth and essential oil of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) under salt stress. *Ocean Journal of Applied Sciences* 3(1), 2010

50. Said-Al Ahl, H.A.H., Omer, E.A., 2009. Effect of spraying with zinc and/or iron on growth and chemical composition of coriander (*Coriandrum sativum* L.) harvested at three stages of development. *Journal of Medicinal Food Plant*, 1 (2), 30–46.
51. Salehi Surmaghi, M.H. 2010. *Medicinal Plants and Phytotherapy*. Nutrition world publications, Tehran, Iran, 3: 368-371.
52. Shimoji, Y., Tamura, Y., Nakamura, Y., Nanda, K., Nishidai, S., Nishikawa, Y., Ishihara, N., Uenakai, K. and Ohigashi, H. 2002. Isolation and identification of DPPH radical scavenging compounds in Kurosu (Japanese unpolished rice vinegar). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(22): 6501-6503.
53. Sotiropoulou, D.E., and Karamanos, A.J. 2010. Field studies of nitrogen application on growth and yield of Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart). *Industrial Crops and Products* 32(3): 450-457.
54. Stott, D.E. and Martin, J.P., 1990. Synthesis and degradation of natural and synthetic humic material in soils. *Humic substances in soil and crop sciences*, pp.37-63.
55. Tan, K.H. 2003. *Humic Matter in Soil and Environment*. Marcel Dekker, New York, 408p.
56. Tian, X., and Li, Y., 2006. Nitric oxide treatment alleviates drought stress in wheat seedlings. *Plant Biology*, 50: 775-778.
57. Vinod, K., Awasthi, G., Chauchan, P.K. 2012. Cu and Zn tolerance and responses of the Biochemical and Physiochemical system of wheat. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 8: 3.
58. Wink, D.A., Miranda, K.M., Espey, M.G., Pluta, R.M., Hewett, S.J., Colton, C., Vitek, M., Feelisch, M. and Grisham, M.B. 2001. Mechanisms of the antioxidant effects of nitric oxide. *Antioxidants and Redox Signaling*, 3(2): 203-213.
59. Yadegari, M. 2015. Foliar application of micronutrients on essential oils of borago, thyme and marigold. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 15 (4): 949–964.
60. Yanez-Mansilla, E., Cartes, P; Reyes-Diaz, M., Ribera-Fonseca, A., Rengel, Z., Alberdi, M. 2015. Leaf nitrogen thresholds ensuring high antioxidant features of *Vaccinium corymbosum* cultivars. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 15(3):574-586.
61. Yung-Shin, S., Jau, T., Yuan-Tsung, C., Deng-Jue, Y. 2009. Evaluation of antioxidant ability of ethanolic extract from dill (*Anethum graveolens* L.) flower. *Food Chemistry*, 115(2): 515-521.
62. Zhang, Z., Pang, X., Duan, X., Ji, Z. L. and Jiang, Y. 2005. Role of peroxidase in anthocyanine degradation in litchi fruit pericarp. *Food Chemistry*, 90: 47-52.
63. Zhonggao, C., Felgines, O., Texier, C., Besson, D.J., Liu, J., Wang, S. 2005. Antioxidant activities of total pigment extract from blackberries. *Food Technology and Biotechnology*, 43 (1): 97-102.