

بررسی تاثیر کودهای اسید فولویک و اسید آمینه بر ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی، فعالیت آنتی اکسیدانی و رنگیزه‌های فتوستتزی گیاه دارویی *Coriandrum sativum* L.

محمدحسین امینی فرد^{۱*}، مزگان غلامی^۲، حسن بیات^۱، فرید مرادی نژاد^۳

استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.
 کارشناس ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.
 دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۳/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۵/۲۸

چکیده

مصرف نهاده های شیمیایی در کشاورزی موجب معضلات زیست محیطی، افت کیفیت محصولات و کاهش حاصلخیزی خاک گردیده است. کشاورزی پایدار بر پایه استفاده از کودهای بیولوژیک و آلی یک راه حل مناسب در جهت رفع این مشکلات به شمار می رود. گشنیز یکی از گیاهان دارویی مهم ایران است که نقش مهمی در صادرات غیرنفتی دارد. این تحقیق به منظور بررسی تاثیر کودهای اسید فولویک و اسید آمینه بر فعالیت آنتی اکسیدانی و صفات بیوشیمیایی گیاه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum* L.)، به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند در سال زراعی ۹۶ اجرا شد. فاکتورها شامل اسید فولویک بصورت مصرف خاکی در سه سطح (صفر، ۵ و ۱۰ کیلوگرم در هکتار) و اسید آمینه بصورت محلول پاشی در دو سطح (۰ و ۳ در هزار) با سه تکرار بودند. بعد از اعمال تیمارها، نمونه گیاهان در مرحله گلدهی برداشت گردید و از نظر صفات بیوشیمیایی مورد ارزیابی قرار گرفت. فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH، میزان فنل کل به روش فولین سیکالتو، میزان آنتوسیانین کل به روش pH افتراقی، میزان کربوهیدرات کل به روش آنترون و رنگیزه های فتوستتزی به روش آرنون اندازه گیری شدند. نتایج نشان داد که اسید فولویک تاثیر معنی داری بر فعالیت آنتی اکسیدانی، میزان فنل، فلاونوئید، آنتوسیانین، کربوهیدرات و رنگیزه های فتوستتزی (کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کارتنوئید) برگ گیاه داشت، به طوریکه بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی برگ گیاه (۷۷/۹ درصد) با کاربرد ۱۰ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک و کمترین میزان آن (۶۵/۱ درصد) از تیمار شاهد بدست آمد. اسید آمینه نیز بر میزان آنتوسیانین، فلاونوئید، فعالیت آنتی اکسیدانی و کلروفیل a و کلروفیل کل گیاه تاثیرگذار بود و ملاحظه شد که بیشترین میزان فلاونوئید از تیمار سه در هزار اسید آمینه (۸/۱۳ میلی گرم بر گرم) بدست آمد. اثرات متقابل اسید فولویک و اسید آمینه نیز بر فعالیت آنتی اکسیدانی، میزان آنتوسیانین، فلاونوئید، کلروفیل a و کلروفیل کل گیاه تاثیر معنی داری داشت، به طوریکه بیشترین میزان آنتوسیانین (۱/۸۴ میلی گرم بر گرم) از تیمار ۵ کیلوگرم اسید فولویک و اسید آمینه ۳ در هزار و کمترین میزان آنتوسیانین (۰/۸۷ میلی گرم بر گرم) از تیمار شاهد بدست آمد. به طور کلی، نتایج بیانگر تاثیر مثبت اسید فولویک و اسید آمینه بر صفات بیوشیمیایی و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه دارویی گشنیز بود.

واژه های کلیدی: آنتی اکسیدان، اسید آمینه، اسید فولویک، گشنیز، متابولیت های ثانویه.

* نویسنده مسئول: mh.aminifard@birjand.ac.ir

مقدمه

عنوان یکی از راهکارهای کاهش نهاده‌های شیمیایی اعلام می‌کنند (Salehi et al., 2014). از مهم‌ترین مسائل مؤثر بر سلامت محیط زیست و پایداری تولید غذا، کاربرد کودهای آلی به جای کودهای شیمیایی می‌باشد. در بین کودهای سازگار با طبیعت، اسید فولویک به عنوان یک اسید آلی بدون اثرات مخرب زیست محیطی باعث بهبود ساختار فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک شده و به دلیل دارا بودن ترکیبات هورمونی، اثرات مثبت قابل ملاحظه‌ای بر شاخص‌های کمی و کیفی محصولات کشاورزی دارد، همچنین اسید فولویک با وزن مولکولی کمتر از ۳۰۰۰۰ دالتون به ترتیب سبب تشکیل کمپلکس‌های پایدار و نامحلول و کمپلکس‌های محلول با عناصر میکرو می‌گردد. همچنین اسید فولویک با کلات کردن عناصر ضروری سبب افزایش جذب عناصر شده و باروری خاک و تولید در گیاهان را افزایش می‌دهد (Sabzevari et al., 2010). تور و همکاران (Toor et al., 2006) اظهار داشتند که به خاطر استفاده از کودهای آلی، میزان قند و کربن در گیاه افزایش می‌یابد. همچنین گزارش شده که اسید فولویک مانند جبریلین، آلفا آمیلاز و دیگر آنزیم‌های هیدرولیز کننده را تحریک می‌کند و در افزایش کربوهیدرات و سطوح آنتوسیانین اثر دارد (Remon et al., 2000).

یکی دیگر از کودهای آلی، اسید آمینه‌ها می‌باشند. آمینه اسید فرم ارگانیک نیتروژن است و محصولات با پایه آمینه اسید در دهه گذشته به وسیله پرورش دهندگان استفاده شده است و باعث بهبود عملکرد و رشد گیاهان مختلف گردیده است. گزارش شده است که افزودن این کودها به خاک باعث بهبود وضعیت میکروارگانیزم‌هایی در خاک می‌شود که فعالیتشان موجب تسهیل جذب برخی عناصر غذایی و در

گیاهان دارویی یکی از منابع غنی کشور هستند، که امکان صادرات آن‌ها نیز وجود دارد. ایران از نظر آب و هوا در زمینه رشد گیاهان دارویی یکی از بهترین مناطق جهان محسوب می‌شود (Sedghaslami et al., 2010). گشنیز با نام علمی (*Coriandrum sativum* L.)، گیاهی علفی، یکساله و از خانواده چتریان است (Mhemdi et al., 2011)، که به دلیل غنی بودن آن از انواع کاروتنوئیدها، ترکیبات فنلی و گلیکولپیدها به عنوان گیاهی دارویی و مهم معرفی شده است (Ghahreman, 1994). گزارش‌ها حاکی از این است که تمام اندام‌های این گیاه از جمله: دانه، برگ، ساقه و ریشه آن کاربردهای دارویی، خوراکی و آرایشی دارد (Gurrea et al., 2005). گزارش شده است که گشنیز دارای اثرات درمانی نظیر کاهش قند خون (Eidi et al., 2012)، کاهش چربی خون (Sunil et al., 2012) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی زیاد می‌باشد. ارزان بودن کودهای شیمیایی و سهولت تهیه و به کارگیری آنها در کشاورزی رایج، که هدف اصلی آن به حداکثر رساندن توان تولید و درآمد بدون توجه به جنبه‌های زیست محیطی است، موجب شده تا حفظ حاصلخیزی و افزایش باروری خاک در درازمدت و فرآیندهای کنترل کننده آن به فراموشی سپرده شود. همچنین در سال‌های اخیر افزایش مصرف نهاده‌های شیمیایی در اراضی کشاورزی، موجب معضلات زیست محیطی، از جمله آلودگی منابع آب، افت کیفیت محصولات کشاورزی و کاهش میزان حاصلخیزی خاکها گردیده است (Sharma, 2002). پایداری، حاصلخیزی خاک و سلامت محیط زیست در سیستم‌های کشاورزی متداول همواره موضوع بحث بوده و محققان مهم‌ترین روش‌های چیرگی براین مشکل را رو آوردن به کشاورزی پایدار و مصرف کودهای آلی و زیستی به

نهایت افزایش رشد و بهبود عملکرد گیاه می شود. همچنین محلولپاشی برگ با این کودها، کارایی میزان جذب نیتروژن توسط ریشه های گیاه از خاک را افزایش داده و تا حدی مانع آبشویی نیتروژن از خاک می شود (Liu et al., 2007). به طور کلی اسیدهای آمینه موادی هستند که باعث تحریک سوخت و ساز (متابولیسم) و فرآیندهای سوخت و سازی متابولیکی در جهت افزایش کارایی گیاهان می شوند (Faten et al., 2010). بسیاری از محققین افزایش کلروفیل کل را در برگ گیاه شیرین بیان (Soltani et al., 2017) را در نتیجه استفاده از اسیدهای آمینه گزارش کردند. نتایج مطالعات دیگری نشان داد که کاربرد اسید آمینه مقدار محتوای فنل در آویشن را افزایش داد (Reda et al., 2005). لذا با توجه به اهمیت گیاه گشنیز و مصارف آن در صنایع غذایی و دارویی و همچنین با توجه به اینکه تاکنون گزارشی در خصوص اثر متقابل کود اسیدفولویک و اسید آمینه بر متابولیت های ثانویه و خصوصیات بیوشیمیایی گشنیز نشده است، لذا هدف از اجرای این طرح بررسی کاربرد همزمان کودهای آلی بر فعالیت آنتی اکسیدانی و صفات بیوشیمیایی گیاه دارویی گشنیز در جهت تولید پایدار و افزایش کیفیت این گیاه مهم دارویی می باشد.

مواد و روش ها

این پژوهش در سال زراعی ۱۳۹۶ به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی و با سه تکرار در مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند اجرا شد. قبل از کشت جهت تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه، از عمق صفر تا ۳۰ سانتی متری نمونه برداری مرکب شد (جدول ۱). تیمارهای آزمایشی به صورت ترکیبی از

سه سطح اسید فولویک (صفر، ۵ و ۱۰ کیلوگرم در هکتار) و دو سطح اسید آمینه (۰ و ۳ در هزار) تعیین شدند. به منظور انجام آزمایش، پس از عملیات شخم، دیسک و مسطح کردن خاک اقدام به کرت بندی زمین نموده و کرت هایی به ابعاد ۲ × ۲ متر ایجاد گردید، فاصله بین کرت ها و بلوک ها از یکدیگر به ترتیب ۱ و ۲ متر (با احتساب جوی های آبیاری) در نظر گرفته شد. کشت به صورت خطی در ۵ اردیبهشت سال ۱۳۹۵ انجام گرفت. هر کرت دارای ۸ ردیف کاشت که فاصله کاشت بین ردیف ها ۲۰ سانتی متر و فاصله روی ردیف ها ۱۰ سانتی متر و در عمق کاشت ۱ تا ۱/۵ سانتی متر در نظر گرفته شد. آبیاری اول همزمان با کاشت (۵ اردیبهشت ۱۳۹۵ به صورت سطحی) و آبیاری دوم، ۵ روز بعد از آبیاری اول به منظور تسهیل در سبز شدن بذرها انجام شد. کود اسید فولویک (حاوی ۷۰ درصد اسید فولویک، ۱۵ درصد اسید هیومیک و درصد پتاسیم اکسید، ساخت شرکت Assist - آمریکا) همراه با آب آبیاری به خاک در مرحله ۶ برگی به گیاه داده شد. کود آمینواسید مورد استفاده در این پژوهش با نام تجاری تکامین مکس، بصورت مایع (حاوی ۱۴ درصد اسید آمینه، ۱۲ درصد اسید آمینه ایزومر، ۶۰ درصد ماده آلی و هفت درصد نیتروژن) بود. محلول پاشی کود اسید آمینه بر اساس سطوح مختلف از مرحله ۶ برگی تا مرحله گلدهی طی سه نوبت به فاصله ۱۴ روز اعمال گردید. در طی دوره رشد گیاه، آبیاری به طور مرتب هر پنج روز انجام شد. همچنین وجین علف های هرز و سله شکنی در چند مرحله انجام گردید. بعد از اعمال تیمارها و پس از ورود گیاهان به مرحله گلدهی، از هر کرت ۱۰ بوته با در نظر گرفتن اثرات حاشیه ای به طور تصادفی انتخاب شده و سپس ریز نمونه هایی از برگ های بوته، به طور تصادفی تهیه و صفات شامل فعالیت آنتی

اندازه‌گیری شدند. به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از آزمایش از نرم‌افزار SAS 9.1 استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و در سطح احتمال پنج درصد با یکدیگر مقایسه شدند.

اکسیدانی گیاه، میزان فنل کل، میزان فلاونوئیدها، میزان آنتوسیانین‌ها، میزان قند کل و رنگیزه‌های فتوستت شامل کلروفیل a، b، کلروفیل کل و میزان کارتنوئیدهای برگ‌های گیاه دارویی گشنیز

جدول ۱: خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل انجام آزمایش

سفر (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	پتاسیم (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	نیترژن کل (درصد)	مواد آلی (درصد)	هدایت الکتریکی (دسی‌زمینس بر متر)	شاخص واکنش	بافت لومی
۴۰	۲۲۰	۰/۰۶	۰/۶۸	۲/۳	۷/۷	Loam

روش تهیه عصاره گیاهی: ابتدا ۱ گرم از بافت تازه برگی به همراه ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۹۵٪ در داخل هاون چینی کوبیده و له شد. قسمت بالای محلول حاصله، جدا گشته و سپس محلول به دست آمده، در دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۵۰۰ قرار گرفت و بعد، فاز مایع رویی (قسمت روشن‌وار) برداشته شده و به عنوان عصاره گیاهی استفاده گردید. عصاره به دست آمده تا زمان اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی در داخل یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ: جهت تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل برگ گشنیز از روش اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی و با کمک ۲،۲-دی فنیل -۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) استفاده گردید (Turkmen et al., 2005). DPPH ترکیبی است بنفش رنگ که به دلیل حضور گروه‌های فنیل در ساختارش به راحتی به صورت رادیکال در آمده و در واقع منبع رادیکال آزاد می‌باشد. این ترکیب با گرفتن یک الکترون از ترکیب آنتی‌اکسیدان، از رنگ بنفش به زرد تغییر رنگ می‌دهد. رادیکال‌های آزاد موجود در DPPH در ۵۱۷ نانومتر جذب دارند که از قانون بیر لامبرت پیروی می‌کنند و کاهش جذب آن با میزان ماده آنتی‌اکسیدان رابطه خطی دارد. هر چه بر مقدار ماده آنتی‌اکسیدان افزوده شود، DPPH بیشتری مصرف شده و رنگ بنفش بیشتر به سمت زرد میل می‌کند

رابطه ۱:

$$100 * (\text{جذب قرائت شده} / \text{جذب نمونه شاهد}) - 1 =$$

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

ارزیابی میزان فنل کل برگ: عموماً برای اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی گیاه از روش Follin-Ciocalteu (فولین سیکالتو) استفاده می‌شود (Haghirossadat et al., 2010). در این روش، مقدار کل ترکیبات فنلی براساس یک ترکیب فنلی انتخاب شده، بیان می‌گردد و در اغلب مواقع این ترکیب اسیدگالیک است. معرف فولین در حضور ترکیبات فنولیک در محلول قلیایی احیا و رنگ آبی تولید می‌کند که شدت جذب آن در طول موج ۷۶۰ نانومتر بیانگر مقدار کل ترکیبات فنلی است (Rouhani et al., 2015). لذا جهت اندازه‌گیری ترکیبات کل فنولی برگ گشنیز از این روش استفاده شد. بدین منظور، ۰/۵

عصاره متانولی، ۰/۱ میلی لیتر از کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد افزوده سپس ۰/۱ میلی لیتر استات پتاسیم ۱ میلی مولار افزوده و در پایان ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. بعد از گذشت مدت زمان ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه، جذب آنها در ۴۱۵ نانومتر اندازه گیری شد. میزان فلاونوئید از روی منحنی استاندارد کوئرستین تعیین بر حسب میلی گرم در گرم عصاره بیان شد.

اندازه گیری میزان کربوهیدرات (قند کل): جهت اندازه گیری قند کل برگ گشنیز از روش آنترون استفاده شد و میزان جذب نور هر یک از نمونه ها در طول موج ۶۲۰ نانومتر اندازه گیری شد (Mocreadye et al., 1950).

نتیجه گیری

فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه: با توجه به نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲)، اسید فولویک و اسید آمینه و همچنین اثر متقابل این دو تیمار اثر معنی داری بر میزان آنتی اکسیدان گیاه داشت. نتایج مقایسه میانگین نشان داد، که با مصرف ۱۰ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک و ۳ در هزار اسید آمینه میزان آنتی اکسیدان گیاه به طور معنی داری افزایش یافت (جدول ۳). ملاحظه شد که بیشترین مقدار آن (۸۴/۴ درصد) مربوط به تیمار ۱۰ کیلوگرم اسید فولویک و ۳ در هزار اسید آمینه و کمترین آن (۵۹/۷ درصد) مربوط به تیمار شاهد بود، به طوری که تیمار ۱۰ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک و ۳ در هزار اسید آمینه ۴۱/۳ درصد نسبت به شاهد افزایش را نشان داد (جدول ۸).

میزان فنل: نتایج آزمایش، بیانگر اثر معنی دار اسید فولویک بود، گرچه اسید آمینه و اثر متقابل تیمارها تاثیر معنی داری بر میزان فنل نداشت (جدول ۲). مقایسه میانگین این صفت نشان داد که، با مصرف ۱۰

میلی لیتر از معرف فولین سیکالتو به ۰/۵ میلی لیتر عصاره برگ گشنیز و استانداردهای گالیگ اسید اضافه و سپس به محلول حاصل ۴ میلی لیتر سدیم کربنات یک مولار اضافه شد. پس از ۱۵ دقیقه نگهداری در دمای محیط، جذب نمونه ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر خوانده شد (Chuah et al., 2008). سپس مقدار کل ترکیبات فنولی نمونه ها با استفاده از منحنی استاندارد گالیگ اسید محاسبه شد پس از رسم منحنی کالیبراسیون گالیگ اسید، معادله خطی منحنی به دست می آید که با قراردادن مقادیر جذب به دست آمده از نمونه ها در این معادله، غلظت معادل گالیگ اسید از نمونه برگ به دست آمد و در نهایت غلظت بر حسب میلی گرم گالیگ اسید بر گرم عصاره برگ گزارش شد.

ارزیابی میزان آنتوسیانین کل: اندازه گیری آنتوسیانین برگ گشنیز به روش pH افتراقی انجام گرفت. برای این منظور از دو بافر شامل پتاسیم کلرید و کلریدریک اسید با pH = ۱ و سدیم استات و کلریدریک اسید با pH = ۴/۵ استفاده شد و سپس در دو طول موج ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر میزان جذب برای هر دو بافر قرائت شد میزان آنتوسیانین از رابطه شماره ۲ محاسبه گردید (Wrosotad, 1976).

رابطه ۲

$$A = (A_{max} - A_{700nm})pH1 - (A_{max} - A_{700})pH4.5$$

$$\frac{mg}{L} = \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{\epsilon \times d}$$

Antocyanin کل

A_{max} = جذب در طول موج ۵۱۰.

$$DF = \text{درجه رقت (۱۰)}. \quad \epsilon = 15600.$$

$$M_w = \text{وزن مولکولی پلارگونیدین ۳-گلیکوزاید:}$$

$$433/39 \text{ گرم بر مول.}$$

ارزیابی میزان فلاونوئید کل: میزان فلاونوئید کل با استفاده از معرف آلومینیوم کلرید انجام گرفت (Yoo et al., 2008). به این ترتیب که به ۰/۵ میلی لیتر از

کیلوگرم در هکتار اسید فولویک میزان فنل به طور معنی داری افزایش یافت. به طوری که بیشترین مقدار فنل (۳۱/۱۲ میلی گرم بر گرم) در اثر کاربرد ۱۰ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک بدست آمد (جدول ۳).

جدول ۲: تجزیه واریانس خصوصیات صفات بیوشیمیایی گشنیز تحت تیمارهای اسید فولویک و اسید آمینه.

منابع تغییرات	درجه آزادی	فعالیت آنتی اکسیدانی	فنل کل	فلاونوئید کل	آنتوسیانین کل	قند
بلوک	2	31.23ns	0.00002ns	0.0011ns	0.023ns	0.238ns
اسید فولویک	2	313.24**	0.0012**	0.031**	0.601**	2.09**
اسید آمینه	1	254.70**	0.00005ns	0.050**	0.144ns	0.731ns
اثر متقابل تیمار	2	89.59*	0.00003ns	0.021**	0.33**	0.009ns
خطا	10	16.31	0.00010	0.002	0.035	0.23
ضریب تغییرات		5.49	0.032	0.56	11.82	16.28

ns، ** و * به ترتیب غیر معنی داری و معنی داری در سطح احتمال یک و پنج درصد.

بدست آمد، هرچند بین تیمارهای ۵ و ۱۰ کیلوگرم اسید فولویک تفاوت آماری وجود نداشت (جدول ۳)، همچنین اثر متقابل اسید فولویک و اسید آمینه نشان داد که، بالاترین میزان آنتوسیانین (۱/۸۴ میلی گرم بر گرم) از تیمار ۵ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک و ۳ در هزار اسید آمینه و کمترین میزان این صفت (۰/۸۷ میلی گرم بر گرم) از تیمار شاهد بدست آمد، (جدول ۸).

میزان آنتوسیانین: نتایج آزمایش نشان داد، اثر ساده اسید فولویک و اثر متقابل اسید فولویک و اسید آمینه بر میزان آنتوسیانین معنی دار بود، اما اسید آمینه نتوانست این صفت را تحت تاثیر خود قرار دهد (جدول ۲). مقایسه میانگین این صفت نشان داد که، بیشترین میزان آنتوسیانین (۱/۸۱ میلی گرم بر گرم) از تیمار ۱۰ کیلوگرم اسید فولویک و کمترین میزان آنتوسیانین (۱/۲۳ میلی گرم بر گرم) از تیمار شاهد

جدول ۳: اثرات غلظت‌های مختلف اسید فولویک بر صفات بیوشیمیایی گشنیز.

اسید فولویک (کیلوگرم در هکتار)	فعالیت آنتی اکسیدانی (درصد)	فنل کل (میلی گرم بر گرم بافت تر)	فلاونوئید کل (میلی گرم بر گرم بافت تر)	آنتوسیانین کل (میلی گرم بر گرم بافت تر)	قند (میلی گرم بر گرم بافت تر)
0	65.15b	31.06c	8.000b	1.23b	2.26b
5	77.39a	31.10b	8.127a	1.75a	3.32a
10	77.92a	31.12a	8.128a	1.81a	3.25a

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، اختلاف آماری معنی داری در سطح ۵ درصد ندارند.

جدول ۴: اثرات غلظت‌های مختلف اسید آمینه بر صفات بیوشیمیایی گشنیز.

اسید آمینه (در هزار)	فعالیت آنتی اکسیدانی (درصد)	فنل کل (میلی گرم بر گرم بافت تر)	فلاونوئید کل (میلی گرم بر گرم بافت تر)	آنتوسیانین کل (میلی گرم بر گرم بافت تر)	قند (میلی گرم بر گرم بافت تر)
0	69.72b	31.105a	8.03b	1.51b	2.74a
3	77.25a	31.109a	8.13a	1.69a	3.14a

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، اختلاف آماری معنی داری در سطح ۵ درصد ندارند.

از تاثیر معنی دار اسید فولویک بر میزان کربوهیدرات گشنیز بود (جدول ۲). ملاحظه شد که بیشترین میزان قند (۳/۳۲ میلی گرم بر گرم) در نتیجه اعمال سطح ۵ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک و کمترین (۲/۲۶ میلی گرم بر گرم) از تیمار شاهد به دست آمد، هر چند از لحاظ آماری بین تیمار ۵ و ۱۰ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک تفاوتی مشاهده نشد (جدول ۳). ملاحظه شد که، میزان قند در تیمار ۵ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک نسبت به شاهد ۴۶ درصد افزایش یافت (جدول ۳).

میزان فلاونوئید: نتایج تجزیه واریانس بیانگر اثر معنی دار اسید فولویک و اسید آمینه و اثر متقابل این دو تیمار بر میزان فلاونوئید بود (جدول ۲). با توجه به نتایج مقایسه میانگین مشخص می شود که با مصرف ۵ و ۱۰ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک و ۳ در هزار اسید آمینه میزان فلاونوئید به طور معنی داری افزایش یافت. مشاهده شد که، بیشترین میزان فلاونوئید (۸/۲۱ میلی گرم بر گرم) به صورت مشترک از تیمار ۵ و ۱۰ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک و ۳ در هزار اسید آمینه و به دست آمد (جدول ۸).
میزان کربوهیدرات (قند): نتایج به دست آمده، حاکی

جدول ۵: تجزیه واریانس خصوصیات صفات بیوشیمیایی گشنیز تحت تیمارهای اسید فولویک و اسید آمینه.

منابع تغییرات	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل ک	کارتنوئید	عملکرد دان	عملکرد بوته
بلوک	0.492ns	0.233ns	0.090ns	0.088ns	150.00ns	838500.0ns
اسید فولویک	0.309ns	5.02**	4.42**	1.82**	81337.5**	29478.5**
اسید آمینه	2.42*	0.56ns	5.32*	0.29ns	46512.5**	5512.5ns
اثر متقابل تیمار	6.32**	0.23ns	8.23**	0.11ns	64137.5**	501637.5**
خطا	0.249	0.29	0.55	0.067	2865.00	45210.0
ضریب تغییرات	7.86	9.83	6.24	8.96	6.50	11.11

ns، ** و * به ترتیب غیر معنی داری و معنی داری در سطح احتمال یک و پنج درصد.

جدول ۶: اثرات غلظت های مختلف اسید فولویک بر صفات بیوشیمیایی گشنیز.

اسید فولویک (کیلوگرم در هکتار)	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم بافت تر)	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم بافت تر)	کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم بافت تر)	کارتنوئید (میلی گرم بر گرم بافت تر)	عملکرد دانه (کیلو گرم در هکتار)	عملکرد بوته (کیلو گرم در هکتار)
0	6.41a	4.49b	10.90b	2.34c	710.0c	1660.0b
5	6.08a	6.15a	12.24a	3.44a	815.0b	2002.5a
10	6.52a	5.98a	12.50a	2.91b	942.5a	2075.0a

در هر ستون میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک، اختلاف آماری معنی داری در سطح ۵ درصد ندارند.

جدول ۷: اثرات غلظت های مختلف اسید آمینه بر صفات بیوشیمیایی گشنیز.

اسید آمینه (در هزار)	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم بافت تر)	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم بافت تر)	کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم بافت تر)	کارتنوئید (میلی گرم بر گرم بافت تر)	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)	عملکرد بوته (کیلوگرم در هکتار)
0	5.97b	5.36a	11.34b	2.77a	771.6b	1895.0a
3	6.71a	5.72a	12.43a	3.03a	873.3a	1930.0a

در هر ستون میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک، اختلاف آماری معنی داری در سطح ۵ درصد ندارند.

و میزان کارتنوئید (۳/۴۴ میلی گرم بر گرم) از تیمار ۵ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک و کمترین میزان کلروفیل b و کارتنوئید (به ترتیب، ۴/۴۹ میلی گرم بر گرم و ۲/۳۴ میلی گرم بر گرم) از تیمار شاهد حاصل شد (جدول ۶). اثر متقابل تیمارها نیز اثر معنی داری بر کلروفیل a و کلروفیل کل داشت (جدول ۵)، بطوری که بالاترین میزان کلروفیل a و کل (۸ میلی گرم بر گرم و ۱۴/۲۴ میلی گرم بر گرم) از تیمار ۱۰ کیلوگرم اسید فولویک و ۳ در هزار اسید آمینه بدست آمد (جدول ۸).

رنگیزه‌های فتوسنتزی: نتایج آزمایش بیانگر تاثیر معنی دار اثر ساده اسید آمینه بر روی کلروفیل a و کلروفیل کل بود (جدول ۵)، به طوری که بیشترین میزان کلروفیل a (۶/۷۱ میلی گرم بر گرم) و کلروفیل کل (۱۲/۴۳ میلی گرم بر گرم) از تیمار ۳ در هزار اسید آمینه و کمترین میزان این صفات (به ترتیب، ۵/۹۷ میلی گرم بر گرم و ۱۱/۳۴ میلی گرم بر گرم) از تیمار شاهد بدست آمد (جدول ۷)، همچنین مشاهده شد که اثر ساده اسید فولویک بر روی کلروفیل b و کارتنوئید اثر معنی داری داشت (جدول ۵)، بطوری که ملاحظه شد بیشترین میزان کلروفیل b (۶/۱۵ میلی گرم بر گرم)

جدول ۸: بر همکنش سطوح مختلف اسید فولویک و اسید آمینه بر صفات بیوشیمیایی گشنیز.

اسید فولویک (کیلوگرم در هکتار)	اسید آمینه (در هزار)	فعالیت آنتی اکسیدانی (درصد)	آنتوسیانین (میلی گرم بر گرم بافت تر)	فلاونوئید (میلی گرم بر گرم بافت تر)	عملکرد دانه (کیلو گرم در هکتار)	عملکرد بوته (کیلو گرم در هکتار)	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم بافت تر)	کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم بافت تر)
0	0	59.71c	0.87b	8.01b	725.0b	1315.0b	6.23bc	10.41c
0	3	70.53b	1.59a	7.98b	695.0b	2005.0a	6.59b	11.40c
5	0	78.04ab	1.66a	8.04b	645.0b	2205.0a	6.64b	12.84b
5	3	76.74b	1.84a	8.21a	985.0a	1800.0a	5.53cd	11.64bc
10	0	71.37b	1.81a	8.03b	945.0a	2165.0a	5.05d	10.76c
10	3	84.47a	1.81a	8.21a	940.0a	1985.0a	8.00a	14.24a

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، اختلاف آماری معنی داری در سطح ۵ درصد ندارند.

۶)، به طوری که تیمار ۱۰ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک نسبت به تیمار شاهد ۲۵ درصد افزایش عملکرد را از خود نشان داد.

عملکرد دانه: همانطور که نتایج تجزیه واریانس نشان داد، اثر اسید فولویک و اسید آمینه و نیز اثر متقابل آنها بر میزان عملکرد دانه معنی دار بود (جدول ۵). با توجه به نتایج مقایسه میانگین مشخص می شود کاربرد اسید فولویک، اسید آمینه و اثر متقابل آنها باعث افزایش معنی دار عملکرد دانه در مقایسه با تیمار شاهد گردید (جدول ۶ و ۷). ملاحظه شد

عملکرد بوته: نتایج آزمایش، بیانگر تاثیر معنی دار اسید فولویک و همچنین بر همکنش اسید فولویک و اسید آمینه بر میزان عملکرد بوته بود، اما اسید آمینه تاثیر معنی داری بر این صفت نداشت (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین نشان داد، بیشترین عملکرد بوته (۲۰۷۵/۰ کیلوگرم در هکتار) از تیمار ۱۰ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک و کمترین میزان این صفت (۱۶۶۰/۰ کیلوگرم در هکتار) از تیمار شاهد بدست آمد، هر چند بین تیمار ۵ و ۱۰ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک تفاوت آماری وجود نداشت (جدول

بیشترین میزان عملکرد دانه ۹۸۵/۰ کیلوگرم در هکتار با کاربرد توام ۵ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک و ۳ در هزار اسید آمینه و کمترین میزان این صفت ۷۲۵/۰ کیلوگرم در هکتار مربوط به تیمار شاهد بود (جدول ۸)، بطوری که تیمار ۵ کیلوگرم اسید فولویک و ۳ در هزار اسید آمینه، ۳۵/۸ درصد عملکرد دانه را نسبت به تیمار شاهد افزایش داد.

بحث

همانطور که نتایج نشان داد (جدول ۳)، اسید فولویک توانست میزان آنتی اکسیدان گشنیز را تحت تاثیر قرار دهد. در این خصوص دیویس (Daivis, 1982)، در نتایجی مشابه بیان کرد که اسید فولویک تاثیر مثبتی بر فعالیت آنتی اکسیدانی میوه فلفل داشت. خان و همکاران (Khan et al., 2012) بیان نمودند که، ترکیبات هیومیک از جمله اسید فولویک با افزایش حاصلخیزی خاک و بهبود خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مانند نفوذپذیری، تهویه، دانه بندی، ظرفیت نگهداری آب در خاک، تحرک و در دسترس قرار دادن مواد غذایی از طریق فعالیت شبه هورمونی می تواند سبب افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه گردند. همچنین گزارش زنگ (Zang, 2000) مبین آن بود که مواد هیومیک عموماً مانند تنظیم کننده های رشد نظیر اکسین و سائیتوکین عمل می کند و سبب بهبود تحمل به تنش های مختلف و افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی در گیاه می شود. علاوه بر این فعالیت آنتی اکسیدان گیاه گشنیز به تیمار اسید آمینه واکنش مثبتی نشان داد (جدول ۴). بنابراین با افزایش میزان غلظت اسید آمینه، میزان آنتی اکسیدان افزایش یافت. نتایج بدست آمده در این آزمایش با نتایج فلاحی و همکاران (Fallhi et al., 2018) مطابقت دارد، آنها در پژوهش

خود بیان داشتند که، محلول پاشی اسید آمینه اثر مثبتی بر فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه ریحان داشت. تحقیقات نشان داده است که کودهای زیستی غنی از آنتی اکسیدان ها مانند کارتنوئیدها، اسید اسکوربیک، فلوروتانین و سایر ترکیبات می باشد. لذا افزایش خواص آنتی اکسیدانی آنها در گیاهان مربوط به یک ترکیب نیست و ممکن است سایر ترکیبات آلی موجود در این کودها نیز در افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی آنها نقش داشته باشند (Gupta and Abu-Ghannam, 2011). بررسی نتایج نشان داد که اسید فولویک بر میزان فنل کل گشنیز تاثیر معنی داری داشت (جدول ۳). نتایج مشابهی توسط مظفری و همکاران (Mozafari et al., 2017) گزارش شده است و نشان دادند که کاربرد ترکیبات هیومیک (اسید هیومیک) سبب افزایش محتوای فنل گیاه خرفه شد. نتایج مطالعه آقا علیخانی و همکاران (Agha Alikhani et al., 2013) در خصوص کاربرد کودهای آلی روی گیاه سرخارگل نشان داد کودهای آلی (اسید فولویک) اثر معنی داری بر میزان ترکیبات فنلی داشتند. بکری و همکاران (Bakry et al., 2013) نیز تاثیر محلول پاشی ترکیبات هیومیک از جمله اسید فولویک را روی گیاه کتان بررسی کردند و نتایج نشان داد اسید فولویک اثر معنی داری بر روی فنل ها و ترکیبات شیمیایی داشته است. ترکیبات آلی از جمله اسید فولویک به طور قابل توجهی بر محتوای فنلی کل تاثیر می گذارد. ترکیبات فنلی از اجزاء سیستم دفاعی غیر آنزیمی و آنتی اکسیدانی سلول های گیاهی می باشند که مهار اتوکسیداسیون لیپیدها، تجزیه رادیکال های آزاد اکسیژن و پراکسیدها را به عهده دارند. از طرفی افزایش ترکیبات فنلی با افزایش میزان کربوهیدراتها در گیاه ارتباط مستقیم دارد، از آنجا که هیدرات های کربن اسکلت مورد نیاز برای ساخت ترکیبات فنلی

شناخته شده اند لذا افزایش در مقدار آنها به عنوان افزایش سوستر برای ترکیبات فنلی می باشد (Nguyen and Niemeyer, 2010)، که در این آزمایش، چون میزان قند افزایش یافته است لذا با این دلیل بیان شده همخوانی دارد. طبق نتایج آزمایش (جدول ۳ و ۸) معین گردید که میزان آنتوسیانین تحت تاثیر تیمار اسید فولویک و برهمکنش اسید فولویک و اسید آمینه قرار گرفت، اما اسید آمینه نتوانست این صفت را تحت تاثیر خود قرار دهد. پژوهش صورت گرفته توسط امیری و همکاران (Amiri et al., 2017) نیز به نقش مثبت اسید فولویک بر میزان آنتوسیانین گیاه گاو زبان ایرانی داشته است. در مطالعه ای دیگر احمد و همکاران (Ahmad et al., 2011) نیز با کاربرد کمپوست به همراه کودهای هیومیکی روی چای ترش در شرایط مزرعه ای، افزایش میزان آنتوسیانین را گزارش کردند که این پژوهش با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. پیتون و همکاران (Piniton et al., 1999) در گزارشی بیان نمودند که، توسعه رنگدانه های سلول و ساخت آنتوسیانین با بالا رفتن میزان کربوهیدرات ها نسبت مستقیم داشته و هر عاملی که بتواند روی افزایش، جذب یا ساخته شدن قندها مؤثر باشد، باعث افزایش آنتوسیانین کل در گیاه می شود. همچنین نوری (Nori et al., 2007) در بررسی های خود نشان دادند که، کودهای زیستی توانایی ساخت و ترشح مواد بیولوژیک فعال مانند اسید نیکوتینیک، اسید پنتوتینیک، بیوتین، ویتامین های گروه اکسین ها، جیبرلین ها و غیره را دارند که این مواد موجب افزایش محتوای ماده آلی و هیدرات های کربن گیاه و در نتیجه افزایش آنتوسیانین می شوند. طبق نتایج به دست آمده (جدول ۲)، تیمارهای مورد استفاده (اسید فولویک و اسید آمینه) بر میزان فلاونوئید تاثیر معنی دار داشتند. هارگریوس و همکاران (Hargreaves et al.,

2009) در گیاه توت فرنگی نشان دادند، که میزان فلاونوئید میوه با کاربرد کودهای آلی افزایش یافت. نتایج دونگونگ و همکاران (Donghong et al., 2010) نیز در گیاه کلم چینی نشان داد که با کاربرد کودهای آلی، میزان فلاونوئید گیاهان در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت که این گزارشات، نتایج این تحقیق را تأیید می کند. گیاهان به شرایط محیطی پاسخ می دهند و متابولیت های ثانویه دارای نقش های کلیدی در برهمکنش بین گیاه و محیط هستند. مطابق نتایج بسیاری از محققان، فلاونوئیدها از جمله متابولیت های ثانویه ای هستند که مسیر بیوستزی آنها تحت تاثیر شرایط محیطی قرار می گیرد و در مراحل نمو گیاه و شرایط محیطی دارای نوسان هستند (Kutchan, 2001). همچنین مشخص شد که حاصلخیزی خاک و استفاده از کودهای آلی بر میزان فلاونوئیدها گیاه تاثیر مثبتی داشته است، (Kutchan, 2001) که گزارشات محققین، این موضوع را تأیید می کند. مشابه نتایج این آزمایش، صالحی و همکاران (Salehi et al., 2010)، در بررسی های خود به این نتیجه دست یافتند که، نهاده های اکولوژیک از طریق مکانیسم هایی نظیر انحلال ویتامین ها، ایزوآنزیم ها، هورمون ها و آنتی بیوتیک های طبیعی، سنتز آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز را فعال و در نتیجه منجر به افزایش میزان فلاونوئید در گیاهان می شود. در این آزمایش مشاهده گردید میزان کربوهیدرات تحت تاثیر اسید فولویک قرار گرفت (جدول ۳). در این خصوص های یانگ و همکاران (Hey young et al., 2014) در مطالعات خود نشان داد که کودهای هیومیک (نظیر اسید هیومیک و اسید فولویک) موجب افزایش انتقال گلوکز از بین غشاهای سلولی در گیاهان پياز، چغندر قند و آفتابگردان و موجب افزایش میزان کربوهیدرات در سیب زمینی، چغندر قند، هویج و گوجه فرنگی می شود. علت این امر را می توان این

گونه بیان کرد که مواد هیومیک و آلی باعث افزایش فتوسنتز در گیاه می‌شود و پیرو آن تنفس هم که یک رابطه مستقیم با فتوسنتز دارد افزایش می‌یابد، و در نتیجه، این عوامل فیزیولوژیکی باعث حفظ و ذخیره مواد جامد محلول مثل قندها در برگ می‌شوند. همچنین به گزارش آتیه و همکاران (Atiyeh et al., 2002)، مواد هیومیک دارای فعالیت شبه هورمونی است و جذب عناصر معدنی همانند فسفر و پتاسیم را در گیاهان افزایش می‌دهد. این امر خود سبب بهبود فتوسنتز و افزایش مقدار قند تولیدی خواهد شد. با توجه به نتایج آزمایش، اسید آمینه تاثیر مثبتی بر روی کلروفیل a و کلروفیل کل داشت (جدول ۵). براساس نتایج خطاب و همکاران (Khattab et al., 2016) مصرف اسید آمینه منجر به افزایش قابل توجهی در محتوای کلروفیل کل گل رز شد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. فاتن و همکاران (Faten et al., 2010) نیز بیان نمودند که، اسیدهای آمینه به‌عنوان منبع تأمین نیتروژن، در تولید پروتئین گیاهی و سبزینه (کلروفیل) گیاه مؤثرند. همچنین نیتروژن ساختار اصلی تمامی آمینواسیدها در پروتئین‌ها و چربی‌ها می‌باشد که به‌عنوان ترکیبات ساختاری کلروپلاست فعالیت می‌کنند که در نهایت باعث افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه می‌گردد. فاروک و همکاران (Farouk et al., 2012) در مورد اسیدهای آمینه گزارش کردند که کاربرد اسید آمینه، سنتز کاروتنوئیدها را فعال می‌کند که کلروفیل را از اکسیداسیون محافظت می‌کند و در نتیجه محتوای کلروفیل را افزایش می‌دهد. همچنین مشاهده شد اسید فولویک برروی کلروفیل b و کارتنوئید اثر معنی‌داری داشت (جدول ۵). اثر متقابل تیمارها نیز اثر معنی‌داری بر کلروفیل a و کلروفیل کل داشت (جدول ۸). نتایج این خان و همکاران (Khan et al., 2012) در تحقیقات خود مشاهده نمودند که کاربرد اسید فولویک باعث افزایش غلظت کلروفیل برگ زیره سبز گردید. اشنیتزر و همکاران (Schneitzer et al., 1997) نیز ضمن بیان تاثیر مثبت اسید فولویک بر میزان کلروفیل خیار، گزارش کردند که، کودهای آلی غنی از عناصر مغذی میکرو نظیر آهن و روی می‌باشد، این عناصر پیش ماده سنتز آمینو لئولینیک اسید می‌باشند و این ماده نیز پیش ماده سنتز کلروفیل است، بنابراین به نظر می‌رسد که با مصرف این کودها، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه افزایش یابد. با توجه به نتایج (جدول ۵ و ۸) اسید فولویک و همچنین برهمکنش تیمارها اثر معنی‌داری بر میزان عملکرد بوته داشت، اما اسید آمینه تاثیر نتوانست این صفت را تحت تاثیر خود قرار دهد. مشابیه تحقیق حاضر، در پژوهشی روز بهانی و همکاران (Roz bahani et al., 2013) اثر مواد هیومیک بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه سویا مطالعه و گزارش کردند که، بیشترین عملکرد بوته در مقایسه با شاهد به دست آمد. ناردی و همکاران (Nardi et al., 2002) نیز اظهار داشتند که، مصرف مواد هیومیک به‌دلیل وجود آهن و روی در ساختمان آن می‌تواند با تامین این عناصر از طریق برگ، عملکرد گیاه را تحت تاثیر قرار دهد. همچنین ترکیبات هیومیک سبب تداوم بافت‌های فتوسنتز کننده می‌شود و عملکرد گیاهان را افزایش می‌دهد و نیز از طریق تأثیرات مثبت فیزیولوژیکی از جمله اثر بر متابولیسم سلولهای گیاهی و افزایش غلظت کلروفیل برگ، افزایش عملکرد گیاهان را در پی دارد (Nardi et al., 2002). در این تحقیق مشاهده گردید، اسید فولویک و اسید آمینه و نیز اثر متقابل آنها بر میزان عملکرد دانه معنی دار بودند. در این خصوص یلدریم و همکاران (Yildirim et al., 2011) طی یک تحقیق مزرعه‌ای،

گونه بیان کرد که مواد هیومیک و آلی باعث افزایش فتوسنتز در گیاه می‌شود و پیرو آن تنفس هم که یک رابطه مستقیم با فتوسنتز دارد افزایش می‌یابد، و در نتیجه، این عوامل فیزیولوژیکی باعث حفظ و ذخیره مواد جامد محلول مثل قندها در برگ می‌شوند. همچنین به گزارش آتیه و همکاران (Atiyeh et al., 2002)، مواد هیومیک دارای فعالیت شبه هورمونی است و جذب عناصر معدنی همانند فسفر و پتاسیم را در گیاهان افزایش می‌دهد. این امر خود سبب بهبود فتوسنتز و افزایش مقدار قند تولیدی خواهد شد. با توجه به نتایج آزمایش، اسید آمینه تاثیر مثبتی بر روی کلروفیل a و کلروفیل کل داشت (جدول ۵). براساس نتایج خطاب و همکاران (Khattab et al., 2016) مصرف اسید آمینه منجر به افزایش قابل توجهی در محتوای کلروفیل کل گل رز شد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. فاتن و همکاران (Faten et al., 2010) نیز بیان نمودند که، اسیدهای آمینه به‌عنوان منبع تأمین نیتروژن، در تولید پروتئین گیاهی و سبزینه (کلروفیل) گیاه مؤثرند. همچنین نیتروژن ساختار اصلی تمامی آمینواسیدها در پروتئین‌ها و چربی‌ها می‌باشد که به‌عنوان ترکیبات ساختاری کلروپلاست فعالیت می‌کنند که در نهایت باعث افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه می‌گردد. فاروک و همکاران (Farouk et al., 2012) در مورد اسیدهای آمینه گزارش کردند که کاربرد اسید آمینه، سنتز کاروتنوئیدها را فعال می‌کند که کلروفیل را از اکسیداسیون محافظت می‌کند و در نتیجه محتوای کلروفیل را افزایش می‌دهد. همچنین مشاهده شد اسید فولویک برروی کلروفیل b و کارتنوئید اثر معنی‌داری داشت (جدول ۵). اثر متقابل تیمارها نیز اثر معنی‌داری بر کلروفیل a و کلروفیل کل داشت (جدول ۸). نتایج این خان و همکاران (Khan et al., 2012) در تحقیقات خود مشاهده نمودند که، کاربرد اسید فولویک باعث افزایش غلظت کلروفیل برگ زیره سبز گردید. اشنیتزر و همکاران (Schneitzer et al., 1997) نیز ضمن بیان تاثیر مثبت اسید فولویک بر میزان کلروفیل خیار، گزارش کردند که، کودهای آلی غنی از عناصر مغذی میکرو نظیر آهن و روی می‌باشد، این عناصر پیش ماده سنتز آمینو لئولینیک اسید می‌باشند و این ماده نیز پیش ماده سنتز کلروفیل است، بنابراین به نظر می‌رسد که با مصرف این کودها، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه افزایش یابد. با توجه به نتایج (جدول ۵ و ۸) اسید فولویک و همچنین برهمکنش تیمارها اثر معنی‌داری بر میزان عملکرد بوته داشت، اما اسید آمینه تاثیر نتوانست این صفت را تحت تاثیر خود قرار دهد. مشابیه تحقیق حاضر، در پژوهشی روز بهانی و همکاران (Roz bahani et al., 2013) اثر مواد هیومیک بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه سویا مطالعه و گزارش کردند که، بیشترین عملکرد بوته در مقایسه با شاهد به دست آمد. ناردی و همکاران (Nardi et al., 2002) نیز اظهار داشتند که، مصرف مواد هیومیک به‌دلیل وجود آهن و روی در ساختمان آن می‌تواند با تامین این عناصر از طریق برگ، عملکرد گیاه را تحت تاثیر قرار دهد. همچنین ترکیبات هیومیک سبب تداوم بافت‌های فتوسنتز کننده می‌شود و عملکرد گیاهان را افزایش می‌دهد و نیز از طریق تأثیرات مثبت فیزیولوژیکی از جمله اثر بر متابولیسم سلولهای گیاهی و افزایش غلظت کلروفیل برگ، افزایش عملکرد گیاهان را در پی دارد (Nardi et al., 2002). در این تحقیق مشاهده گردید، اسید فولویک و اسید آمینه و نیز اثر متقابل آنها بر میزان عملکرد دانه معنی دار بودند. در این خصوص یلدریم و همکاران (Yildirim et al., 2011) طی یک تحقیق مزرعه‌ای،

نتیجه گیری نهایی

نتایج به دست آمده از این آزمایش نشان داد، کاربرد اسید فولویک و اسیدهای آمینه تأثیر مثبت و معنی داری بر صفات فیزیکی و شیمیایی و فعالیت آنتی اکسیدانی گشنیز داشت. در بین سطوح اسید فولویک، کاربرد ۱۰ کیلوگرم در هکتار روی همه صفات (به جز کلروفیل a) بیشترین تأثیر را روی صفات بیوشیمیایی گشنیز داشته است، هر چند تیمار ۵ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک هم تأثیر بسیار خوبی بر روی خصوصیات بیوشیمیایی گشنیز داشته است. محلول پاشی اسید آمینه با غلظت ۳ در هزار نیز تأثیر مثبت و معنی داری بر همه صفات (به جز میزان فنل کل، قند، کلروفیل b و کارتنوئید) داشت. بطور کلی، با توجه به نتایج این مطالعه، به نظر می رسد که استفاده بهینه از نهاده های آلی از جمله اسید فولویک (البته با توجه به در نظر گرفتن شرایط خاک هر منطقه و قابل جذب بودن این کود در خاک) و محلول پاشی اسید آمینه می تواند برای بهبود بخشیدن به صفات کیفی و مواد موثره این گیاه ارزشمند مد نظر قرار گیرد.

نشان دادند که کاربرد بوته های گوجه فرنگی با مواد هیومیکی عملکرد دانه را به طور معنی داری افزایش داد. گزارش ناتسان و همکاران (Natesan et al., 2007) نیز مبین آن بود که، اسیدهای آلی مورد مطالعه از طریق بهبود خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک، شرایط مساعدی را برای رشد مطلوبتر گیاه فراهم کردند، لذا افزایش دانه در شرایط کاربرد این کودها منطقی به نظر می رسد. همچنین این افزایش عملکرد دانه می تواند حاصل افزایش فتوسنتز و رهاسازی عناصر معدنی در سطح برگ و ارتقاء جذب برگی و نیز زیاد شدن فعالیت های هورمونی و آنتی اکسیدانی گیاه باشد. مای نی ای (Minaee, 2013) نیز نتایج همسانی از تأثیر مثبت محلول پاشی اسیدهای آمینه بر عملکرد ماش گزارش کردند. همچنین قاضی و همکاران (Ghazi Manas et al., 2013) اظهار داشتند که، اسیدهای آمینه به عنوان منبع تأمین نیتروژن، در تولید پروتئین گیاهی و سبزینه (کلروفیل) و در نتیجه افزایش سطح برگ گیاه مؤثرند، در نتیجه افزایش رشد و عملکرد از محلول پاشی اسیدهای آمینه قابل انتظار است.

Reference

- Ahmad, Y.M., Shahlaby, E.A. and Shnan, N.T. 2011. The use of organic and inorganic cultures in improving vegetative growth, yield characters and antioxidant activity of roselle plants (*Hibiscus sabdariffa* L.). African Journal of Biotechnology, 10(11): 1988-1996.
- Agha Alikhani, M., Iranpour, A. and Wind turbine, M. 2013. Changes in the crop and phytochemical yield of the herb, infected with urea and biofertilizer. Phylum of herbs, 46(2):125-134.
- Amiri, M., Rezvani Moghaddam, P. and World, M. 2017. Effects of organic acids, *Mycorrhiza* and *Rhizobacteria* on the performance and some phytochemical characteristics of Iranian bullfighters in low farming system. Journal of Agricultural Knowledge and Sustainable Production, 1:47-61.
- Arnon, A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plant. Agronomy Journal, 23:112-121.
- Asami, D.K., Hong, Y.J., Barrett, D.M. and Mitchell, A.E. 2003. Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices. Journal Agriculture Food Chemistry, 51:1237-1241.
- Atiyeh, R.M., Lee S.S., Edwards, C.A., Arancon, N.Q. and Metzger, J. 2002. The influence of humic acid derived from earthworm processed organic

- waste on plant growth. Bioresource Technology, 8:7-14.
7. Bakry, A.B., Mervat, Sh., Sadak, H.T., Moamen, E.M. and Abd, E.L. 2013. Influence of humic acid and organic fertilizer on growth, chemical constituents, yield and quality of two flax seed cultivars grown under newly reclaimed sandy soils. International Journal of Academic Research, 5(5):125-134.
 8. Chuah, A.M., Lee, Y.C., Yamaguchi, T., Takamura, H., Yin, L.J. and Matoba, T. 2008. Effect of cooking on the antioxidant properties of colored peppers. Food Chemistry, 111: 20-28.
 9. Davies, D.D. 1982. Physiological aspect of protein turnover. Encyclopedia of Plant Physiology, Springer Publication, Berlin, 14p.
 10. Donghong, W., Qinghua, S., Xiufeng, W., Min, W., Jinyu, H., Jun, L. and Fengjuan, Y. 2010. Influence of cow manure vermicompost on the growth, metabolite contents, and antioxidant activities of Chinese cabbage (*Brassica campestris* ssp. *chinensis*). Biology and Fertility of Soils, 46:689-696.
 11. Eidi, M., Eidi, A., Saeidi, A., Molanaei, S., Sadeghipour, A., Bahar, M. and Bahar, K. 2012. Effect of coriander seed (*Coriandrum sativum* L.) ethanol extract on insulin release from pancreatic beta cells in streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of Phytotherapy Research, 23(3): 404-406.
 12. Fallahi, H.R., Aminifard, M.H. and Jorkesh, A. 2018. Effects of thiamine spraying on biochemical and morphological traits of basil plants under greenhouse conditions. Journal Horticulture and Postharvest, 1(1): 27-36.
 13. Farouk, S., Youssef, S.A. and Ali, A., 2012. Exploitation of bio stimulants and vitamins as an alternative strategy to control early blight of tomato plants. Asian Journal of Plant Science, 11(1), 36-43.
 14. Faten, S.A., Shaheen, A.M., Ahmed, A.A. and Mahmoud, A.R. 2010. Effect of foliar application of amino acids as antioxidants of growth, yield and characteristics of squash. Research Journal of Agriculture and Biological Science, 6(5): 583-588.
 15. Ghahreman, A. 1994. Iran chromophytes (systematic plant). Tehran University Publication Center. Tehran. 211p. (In Persian)
 16. Gurra, N.B., Melo, E.A. and Filho, J.M. 2005. Antioxidant compounds from coriander (*Coriandrum sativum*) etheric extract. Food Composition and Analysis, 18: 193-199.
 17. Ghazi Manas, M., Banj Shafiee, S., Haj Seyed Hadi, M.R. and Darzi, M.T. 2013. Effects of vermicompost and nitrogen on quantitative and qualitative yield of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 29(2): 269-280. (in Persian)
 18. Hye Young, S., Kil Sun, Y. and Sang Gon, S. 2014. Effect of foliar application of fulvic acid on plant growth and fruit quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). Search Results Horticulture, Environment, and Biotechnology, 55(6):455-461.
 19. Hargreaves, J.C., A.D.L, M.S. and Warman, P.R. 2009. The effects of municipal solid waste compost and compost tea on mineral element uptake and fruit quality of strawberries. Compost Science and Utilization, 17(2): 85-94.
 20. Hagherossadat, F., Bernard, F., Kalantar, M., Sheikhha, M. and Hokmollahi Azimzadeh, M. 2010. *Bunium Persicum* (Black Caraway) of Yazd province: chemical assessment and evaluation of its antioxidant effects. Journal of Shaheed Sadoughi University of Medical Sciences, 18(3): 284-291.
 21. Hagherossadat, F., Bernard, F., Kalantar, M., Sheikhha, M. and Hokmollahi Azimzadeh, M. 2010. *Bunium Persicum* (Black Caraway) of Yazd province: Chemical assessment and Evaluation of its antioxidant effects. Journal of Shaheed Sadoughi University of Medical Sciences, 18(3):284-291.
 22. Khan, A., Guramni, A.R., Khan, M.Z., Hussain, F., Akhtar, M. E. and Khan, S.

2012. Effect of humic acid on growth, yield, nutrient composition, photosynthetic pigment and total sugar contents of peas (*Pisum sativum* L.). Journal of Chemical Society of Pakistan, 6:56-63.
23. Kuntal, D., Raman, D., Thippenahalli, N.S. and Sekeroglu, N. 2007. Influence of bio-fertilizers on the biomass yield and nutrient content in *Stevia rebaudiana*. Journal of Medicinal Plants Research, 1(1): 5-8.
24. Kutchan, T.M. 2001. Ecological arsenal and development dispatcher, the paradigm of secondary metabolism. Plant Physiology, 125:58-60.
25. Liu, X.Q., Ko, K.Y., Kim, S.H. and Lee, K.S. 2007. Effect of amino acid fertilization on nitrate assimilation of leafy radish and soil chemical properties in high nitrate soil. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 39: 269-281.
26. Khattab, M., Shehata, A., Abou El - Saadate, E. and Al-Hasni, Kh. 2016. Effect of glycine, methionine and tryptophan on the vegetative growth, flowering and corms production of gladiolus plant. Alexandria Science Exchange Journal, 37(4):647-659.
27. Minaee, P., Haj Seyed Hadi, M.R., Darzi, M. T. and Shahsavari, A.M. 2013. Effects of nitrogen fixing bacteria and amino acids spraying on yield and yield components of mungbean (*Vigna Radiata*). Annals of Biological Research, 4(8): 265-269.
28. Mocreedy, M., Guggolz, J., Silviera, V. and Owens, H.S. 1950. Determination of starch and amylose in vegetables: application to peas. Analytical Chemistry, 22: 1156-1158.
29. Mhemdi, H., Rodier, E., Kechaou, N. and Fages, J. 2011. A supercritical tuneable process for the selective extraction of fats and essential oil from coriander seeds. Journal of Food Engineering, 105(4): 609-616.
30. Natesan, R., Kandasamy, S., Thiyageshwari, S. and Boopathy, P.M., 2007. Influence of lignite humic acid on the micronutrient availability and yield of blackgram in an alfisol. Scientific World Journal, 7:1198-1206.
31. Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A. and Vianello, A. 2002. Physiological effects of humic substances on higher plants. Soil Biology and Biochemistry, 34: 1527-1536.
32. Nguyen, P.H.M., Kwee, E.M. and Niemeyer, E.D. 2010. Potassium rate alters the antioxidant capacity and phenolic concentration of basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. Food Chemistry, 123(4): 1235-1241.
33. Reda, F., Abdel-Rahim, E.A., El-Baroty, G. S. A. and Ayad, H. S. 2005. Response of essential oils, phenolic components and polyphenol oxidase activity of Thyme (*Thymus vulgaris*, L.) to some bioregulators and vitamins. International Journal of Agriculture and Biology, 7(5): 735-739.
34. Pinton, R., Cesco, S., Lacoletti, G., Astolfi, S. and Varanini, Z. 1999. Modulation of NO₃-uptake by water extractable humic substances: involvement of root plasma membrane H⁺ ATPase. Plant and Soil, 215:155-161.
35. Remon, S., Ferrer, A., Marquina, P., Burgos, J. and Oria, R. 2000. Use of modified atmospheres to prolong the postharvest life of burlat cherries at two different degrees of ripeness. Journal of the Science of Food and Agriculture, 80(10):1552-1545.
36. Rozbahani, A., Ghorbani, P., Mirzaie M. and Aroijnia, S. 2013. Study of the effect of humic acid and fluox acid on yield and yield components of barley. Journal of Agronomy and Plant Breeding, 9 (2): 33-25.
37. Rouhani, R., Eynafshar, S. and Ahmadzadeh, R. 2015. Study of anthocyanin and antioxidant compounds derived ethanol extract saffron flag with the help of ultrasound technology. Iranian Food Science and Technology, 11(2): 161-170.
38. Sabzevari, S., Khazaie, H.R. and Kafi, M. 2010. Study on the effects of humic acid on germination of four wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). Journal of Iranian Field Crop Research, 8(3):473-480. (In Persian)

39. Sabzevari, S., Khazaie, H. R. and Kafi, M. 2009. Effect of humic acid on root and shoot growth of two wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). Journal of Water and Soil, 23(2): 87-94. (In Persian)
40. Salehi, B., Bagherzadeh, A.S. and Ghasemi, M. 2010. Effect of humic acid on growth, yield and yield components of three tomato cultivars (*Lycopersicon esculentum* L.). Journal of Agricultural Ecology, 2(4): 640-647.
41. Salehi, A., Fallahi, S., Iran Pour, R. and Abbasi Sorkhi, A. 2014. Effect of time of fertilizer use in combination with cow manure on growth, yield and yield components of (*Nigella sativa* L.) Agricultural Ecology, 6:495- 507.
42. Schnitzer, M. 1977. Recent undings of the characterization of humic substances extracted from soils from widely diuering climatic zones. Proceedings of the Symposium on Soil Organic Matter Studies. Facts Fertilizer, 32:117-131.
43. Sedghaslami, M. and Ahmadi Bonakdar, M. 2010. Effect of plant density and planting on yield and yield components of fenugreek. Research of medicinal plants and aromatic plants of Iran, 26 (2): 265-274.
44. Sharma, A.K. 2002. A handbook of organic farming .Agrobios Publication .India, New Dehli, 627p.
45. Soltani, F., Haddou, A. and Jahan Judge, N. J. 2017. Effect of glutamine, citric acid and malic acid on growth indices and *Glycyrrhiza glabra* morphology quality. Journal of Cellular and Molecular Biology, 14:5-15.
46. Sunil, C., Agastian, P., Kumarappan, C. and Ignacimuthu, S. 2012. In vitro antioxidant, antidiabetic and antilipidemic activities of *Symplocos cochinchinensis* (Lour.) S. Moore bark. Food and Chemical Toxicology, 50(5):1547-1553.
47. Toor, R.K., Geoffrey, P.S. and Anuschka, H. 2006. Influence of different types of fertilisers on the major antioxidant components of tomatoes. Journal Food Compost Analysis, 19: 20 - 27.
48. Turkmen, N., Sari, F. and Veliglu, Y.S. 2005. The effect of cooking methods on total phenolic and antioxidant activity of selected green vegetables. Food Chemistry, 93: 713- 718.
49. Ulukan, H. 2008. Effect of soil applied humic acid at different sowing times on some yield colponents in wheat hybrids. International Journaly of Botany, 4: 164-175.
50. Viti, R., Bartolini, S. and Vitagliano, C. 1989. Growth regulators on pollen germination in olive. Acta Horticulturae, 286: 227-230.
51. Wrosotad, R.E. 1976. Color and pigment analysis in fruit products. Oregon State University Publications Limited, Cornwalis, 23p.
52. Zhang, X. and Schmidt, R.E. 2000. Hormone-containing products impact on antioxidant status of tall fescue and creeping bent grass subjected to drought. Crop Science, 40:1344-1349.
53. Yildirim, E.M. and Unay, A. 2011. Effects of different fertilizations on *Liriomyza trifolii* in tomato. African Journal of. Agricultural Research, 6(17): 4104-4107.
54. Yoo, K.M., Lee, C., Lee, H., Moon, B. K. and Lee. C.Y. 2008. Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs. Food Chemistry, 106: 929-936.