# 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[۱]، بهنام دولتی[۲*] و امیر رحیمی[۳]

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**

دریافت: ۱۳۹۷/۰۶/۲۶

پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۱۱/۰۹

***کلمات کلیدی:***

***آنتی اکسیدانی،***

***اسانس، فنل،***

***رادیکال آزاد،***

***عناصر کم مصرف،***

***مواد هیومیکی،***

***مرزنجوش استانبولی***

* عهده دار مکاتبات

Email: b.dovlati@urmia.ac.ir

**چکیده**

**این تحقیق با هدف بررسی تاثیر عناصر کم مصرف و مواد هیومیکی بر خواص آنتی‌اکسیدانی مرزنجوش‌استانبولی انجام شد. برای این منظور محلول‌پاشی عناصر آهن (Fe)، روی (Zn)، مس (Cu) و مواد هیومیکی (HA) و تلفیق آنها با غلظت ۳ درهزار به‌صورت طرح بلوک کامل تصادفی در ۳ تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه ارومیه انجام گرفت. تعداد ۱۰ نمونه‌ی گیاهی از هر کرت در سال دوم با ۵۰ درصد گلدهی برداشت شد و خصوصیات آنتی‌اکسیدانی شامل محتوای فنل کل، محتوای فلاوونوئیدی و سنجش درصد جمع‌آوری رادیکال DPPH[1]، نیتریک اکسید و شکستگی زنجیر اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که بیشترین و کمترین وزن خشک برگ به ترتیب مربوط به تیمارکودی Zn+Cu+HA+Fe و Cu بود. بیشترین درصد اسانس در تیمار Zn+Cu+HA (۳/۵۰درصد) 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 در۱۰۰ گرم ماده خشک) در تیمار با HA و جمع‌آوری رادیکال فعال DPPH (۷٤/۱ ٪) در تیمار با Fe+Cu+Zn+HA مشاهده گردید؛ همچنین حداکثر مقدار جمع-آوری رادیکال نیتریک اکسید (۵۰/۳٪) در محلول‌پاشی با Zn و سنجش شکستگی زنجیر (۷۰/۷ -Abs-3/min/mg extract) در تیمار با Fe+Zn ثبت شد. نتیجتا می‌توان اذعان داشت که مصرف عناصر کم-مصرف و مواد هیومیکی می‌تواند صفات کیفی (درصد اسانس و خواص آنتی اکسیدانی) مربوط به عملکردهای بیوشیمیایی مرزنجوش استانبولی را تحت تاثیر قرار دهد لذا با توجه به هدف می بایستی به مصرف مستقل و تلفیقی عناصر کم‌مصرف و مواد هیومیکی توجه شود.**

1- 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

**مقدمه**

گیاه دارویی مرزنجوش‌استانبولی از خانواده نعناعیان (*Lamiacea*) 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 سیبری و مناطقی از ایران سیبری و در کشورهای با آب و هوای مدیترانه‌ایی مثل یونان و ترکیه یافت می-شود (۱۹). برخی زیر گونه‌های *Origanum Vulgar* به طور گسترده‌ای در سراسر کشور به ویژه گیلان، مازندران و استان آذربایجان غربی توزیع شده است (۵۱).

رادیکال‌های‌آزاد و مواد اکسیدکننده در بدن موجودات زنده تحت تاثیر واکنش‌های متابولیکی به‌طور مدوام 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؛ به-طوریکه هر دو ویژگی بسته به ژنوتیپ، شرایط آب و هوایی و عرضه مواد غذایی درطول کشت می‌تواند متفاوت باشند (۱۹). مرزنجوش دارای آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مانند ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی، رزمارینیک‌اسید و اورسالیک اسید می‌باشد و به عنوان یک آنتی‌اکسیدان بسیار موثر گیاهی مطرح می باشد 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 رادیکال های چربی واکنش داده و از طریق انتشار، اکسیداسیون را متوقف کرده و باعث فعال‌سازی آنزیم‌های ضداکسایشی (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 دیگرکمبود عناصر غذایی تقریبا در تمامی مزارع جهان متداول است و میزان آن در مناطق مختلف و از گیاهی به گیاه دیگر متغییر است (۵). محلول پاشی عناصر غذایی یکی از روش های 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 کم‌مصرف، نقش اساسی در تغذیه 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). عنصرآهن 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 پروتئین ها، قندها, RNA فسفولیپازها، اسیدهای نوکلئیک، چربی‌ها ،

فتوسنتز گیاه و بیوسنتز اکسین ایفای نقش می‌کنند (۴۸). همچنین مس بعنوان یک عنصر انتقالی در فرآیندهای ساخت پروتئین وکربوهیدرات‌ها 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 وآهن باعث افزایش عملکرد دانه، محتوای ذرت و عملکرد دانه می‌شود (۳۹)، همچنین گزارش شده که روی وآهن نقش مهمی در فتوسنتز 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 افزایش۲۸/۲ درصدی اسانس نعناع 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 آنتی اکسیدانی 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 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 ۳۰×۵۰ سانتی‌متر نشاءکاری شدند و بلافاصله پس از آن آبیاری انجام شد. آبیاری های 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 محلول‌پاشی Fe، Zn، Cu، HA و اثرات تلفیقی آنها (دوتایی، سه تایی و چهارتایی) با غلظت ۳ درهزار با ۳ تکرار (۴۸ نمونه) اجرا شد. مواد هیومیکی مورد استفاده (هیومکس۹۵- 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 درسال 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 فلاوونوئیدی 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 انجامزشد: اسانس‌گیری با استفاده از دستگاه کلونجر (به روش تقطیر با آب) انجام گرفت. به این صورت که ۱۰

گرم برگ‌های خشک شده را در بالن ۱۰۰۰ میلی‌لیتری ریخته و به آن حدود ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده و عمل استخراج و اسانس‌گیری انجام شد. زمان لازم برای استخراج در حدود ۳ ساعت درنظر گرفته شد. در این مدت ترکیبات فرار همراه با بخار آب خارج شده و پس از سرد شدن به صورت لایه‌ی متمایز بر روی سطح آب در لوله‌ی مدرج دستگاه کلونجر قابل مشاهده بود. برای عصاره‌گیری مقدار ۲ گرم از برگ مرزنجوش‌استانبولی در هاون چینی کوبیده شد و سپس با ۲۵ میلی‌لیتر محلول متانول در دمای اتاق بر روی تکان دهنده مغناطیسی به مدت ۳ ساعت عصاره گیری و صاف گردید.

## تعیین محتوای فنل کل

۱ میلی‌لیتر از معرف Folin-Ciocalteu به ۵۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی افزوده شد. سپس محلول حاصل با ۱ میلی‌لیتر کربنات سدیم (۱۰ درصد) مخلوط شده و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی انکوبه گردید. در نهایت جذب محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در ۷۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۴۲). محتوای فنل کل برحسب میلی‌گرم اکی والان‌های گالیک اسید در گرم عصاره با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید بیان گردید.

## تعیین محتوای فلاونوئید

۵۰ میکرولیتر عصاره با ۱ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید و سپس ۰/۰۷۵ میلی‌لیتر نیتریت سدیم (۵ درصد) به آن اضافه شد و بعد از ۵ دقیقه ۰/۱۵ میلی‌لیتر محلول $AlCl_3$ (۱۰ درصد) اضافه شد سپس ۰/۵ میلی‌لیتر NaOH (۱مولار) اضافه گردید و شدت جذب با ظهور رنگ صورتی در طول موج ۵۱۰ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر قرائت شد (۲۷). محتوای فلاونوئیدی کل بر حسب میلی‌گرم اکی والان‌های کوئرستین موجود در ۱۰۰ گرم عصاره با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین بیان گردید.

## سنجش درصد جمع آوری رادیکال DPPH

میزان جمع‌کنندگی 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 میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH (۰/۰۰۴ درصد) مخلوط و میزان جذب پس از گذشت ۳۰ دقیقه انکوباسیون در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. با استفاده از رابطه (۱) درصد مها رادیکال DPPH محاسبه شد:

درصدمهارادیکال DPPH $=(1-A_{sample}/A_{blank})\times 100$ (۱)

$A_{sample}$ جذب عصاره در $t = 60$ min و $A_{blank}$ جذب شاهد در $t = 0$ min است.

## تعیین درصد جمع‌آوری رادیکال سوپراکسید

برای سنجش رادیکال آنیون سوپراکسید، رادیکال-های آنیون سوپراکسید به وسیله یک سیستم اتواکسیداسیون پیروگالول ایجاد شدند (۳۳). لوله آزمایش حاوی ۹ میلی‌لیتر از محلول بافر تریس اسید کلریدریک (۵۰, pH=۸/۲ میلی‌مول بر لیتر) به مدت ۲۰ دقیقه در بن ماری (۲۵ درجه سانتی‌گراد) انکوبه گردید. سپس ۴۰ میکرولیتر از محلول پیروگالول انکوبه شده را به قسمت بالایی لوله آزمایش تزریق و مخلوط گردید. نمونه مخلوط شده برای ۳ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه 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:

جمع‌آوری رادیکال‌های سوپراکسید(٪) $=((A_0-A_1)/A_0)*100$ (۲)

**تعیین درصد جمع آوری رادیکال نیتریک اکسید** مهار رادیکال نیتریک اکسید با استفاده از واکنش Griess Illosvoy محاسبه گردید. حدود ۳ میلی‌لیتر محلول واکنشی حاوی ۲ میلی‌لیتر سدیم نیترو پروسید (۱۰ میلی مولار )، ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سالین و ۴۰ میکرولیتر عصاره گیاهی به مدت ۱۵۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول حاصل با ۱ میلی‌لیتر اسید سولفانیلیک (۰/۳۳درصد در اسید استیک گلاسیال ۱۰درصد) مخلوط شده و به مدت ۵ دقیقه برای تکمیل دآزوتیزاسیون ثابت گذاشته شد. سپس ۱ میلی‌لیتر نفتیل اتیلن دی آمین دی هیدروکلراید به مخلوط اضافه گردید و اجازه داده شد مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد 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) رادیکال‌های‌نیتریک‌اکسید (٪) $=(A_0-A1)/A0*100$

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین‌ها آن از روش چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

## نتایج و بحث

برخی از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده‌است. خاک مورد مطالعه با بیش از ۴۰ درصد رس به‌عنوان خاک رسی کلاس‌بندی شد. این خاک به لحاظ تغذیه‌ای دارای فسفر، نیتروژن و آهن کمتر از حد بحرانی بوده ولی به لحاظ پتاسیم مناسب می‌باشد. مقدار روی و مس در حد متوسط ارزیابی شد (۱۱). مقادر کمبود عناصر فسفر و نیتروژن بر اساس توصیه کودی به خاک اضافه شد.

تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مرزنجوش‌استانبولی تحت تاثیر عناصر کم مصرف و مواد هیومیکی در جدول ۲ و ۳ نشان داده شده است.

### 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 معنی‌داری 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 به‌ویژه تغذیه تلفیقی با عناصر کم مصرف و توام با مواد هیومیکی می‌تواند وزن خشک برگ را افزایش دهد. گزارش‌های متعددی در رابطه با اثرات محلول‌پاشی تلفیقی عناصر کم مصرف بر افزایش ویژگی‌های مورفولوژیگی گیاهان مختلف توسط محققان ارائه شده است (۲۴). در بررسی‌های انجام شده توسط یادگاری (۵۹)، گزارش شده که استفاده از تیمار ترکیبی Mn و Cu با غلظت ۲ در هزار به صورت محلول‌پاشی 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 معنی‌داری داشت. محققان نشان دادند که محلول‌پاشی گشنیز با عناصر Fe و Zn در مراحل رشد رویشی و گلدهی و تشکیل میوه سبب افزایش معنی‌دار ارتفاع بوته، تعداد ساقه، وزن تر و خشک ساقه، درصد اسانس گیاه و عملکرد دانه گردید و کاربرد توام Fe و Zn نقش بیشتری بر این افزایش داشت (۵۰).

**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 | $CaCO_3$ | O.C | Texture | EC | pH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | mg $kg^{-1}$ | | | | | ٪ | | | | $dSm^{-1}$ | |
| 1.21 | 6.8 | 2.40 | 255 | 9.5 | 0.15 | 27 | 44 | 16.3 | 0.74 | Clay | 1.32 | 7.4 |

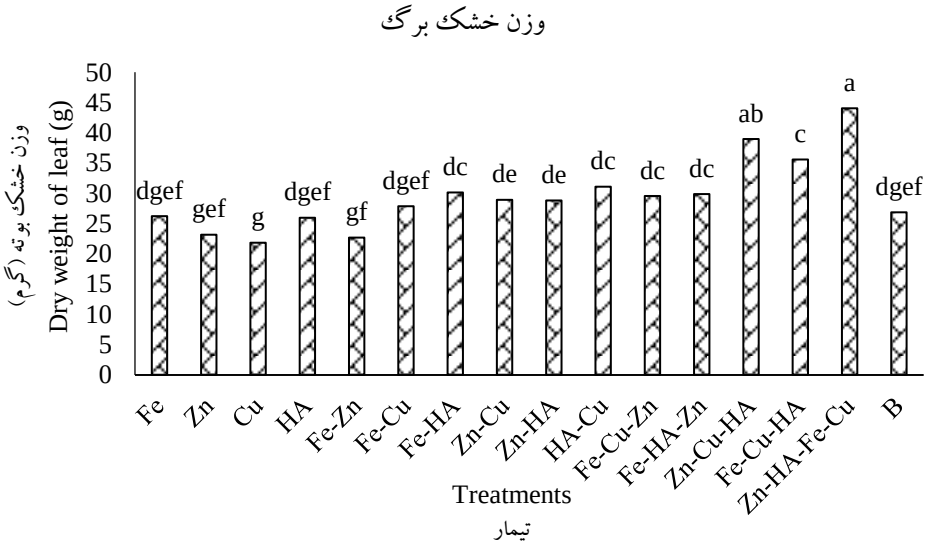
**جدول(۲) تجزیه واریانس تاثیر محلول پاشی عناصر کم مصرف و مواد هیومیکی بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مرزنجوش‌استانبولی**

**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***

میانگین مربعات (MS)

| کسستگی 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) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $8.776^{ns}$ | $8.086^{ns}$ | $228.20^{ns}$ | $4.99^{ns}$ | $7.39^{ns}$ | $0.0315^{ns}$ | $2.78^{ns}$ | 2 | بلوک (Block) |
| $736.75^{**}$ | $258.96^{*}$ | $495.22^{**}$ | $3.61^{*}$ | $27.519^{**}$ | $0.334^{*}$ | $103.93^{**}$ | 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 معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد




**شکل (۱) تاثیر 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

نتایج نشان داد بیشترین میانگین درصد اسانس حاصله مربوط به تیمار Zn+Cu+HA (۳/۵۰درصد) و کمترین آن مربوط به تیمار Fe+HA (۲/۲۸ درصد) بود. تیمار Zn+Cu+HA از نظر درصد اسانس با تیمارهای Fe، 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). معمولا محتوای اسانس تحت تاثیر تنش‌های 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[1] (۳۷)، گزارش کردند که درصد اسانس گیاه آنیسون (*Pimpinella anisum*) تحت تاثیر محلول‌پاشی با Fe و Zn نسبت به تیمار شاهد افزایش می یابد. البته غلظت عناصر محلول پاشی شده می‌تواند میزان اسانس گیاه را تحت تاثیر قرار دهد به‌طوریکه 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 هیومیک از طریق اثرات مثبت فیزیولوژیکی از جمله اثر بر متابولیسم سلول‌های 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 عمدتا به عوامل ژنتیکی، موفولوژی ریشه گیاه، وضعیت تغذیه‌ای و بخش‌های مختلف گیاه (ساقه، برگ و گل) بستگی دارد (۴۴). نتایج سعید الاهلی و آبیر[2] (۴۹) در بررسی اثر محلول‌پاشی روی و آهن بر میزان عملکرد اسانس ریحان نشان داد که محلول‌پاشی توأم روی و آهن (۲۵۰ میلی‌گرم 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 (۴۲-۳۷ درصد) و اسانس (۸۲-۴۴/۶ درصد) نسبت به شاهد می شود (۴۷).

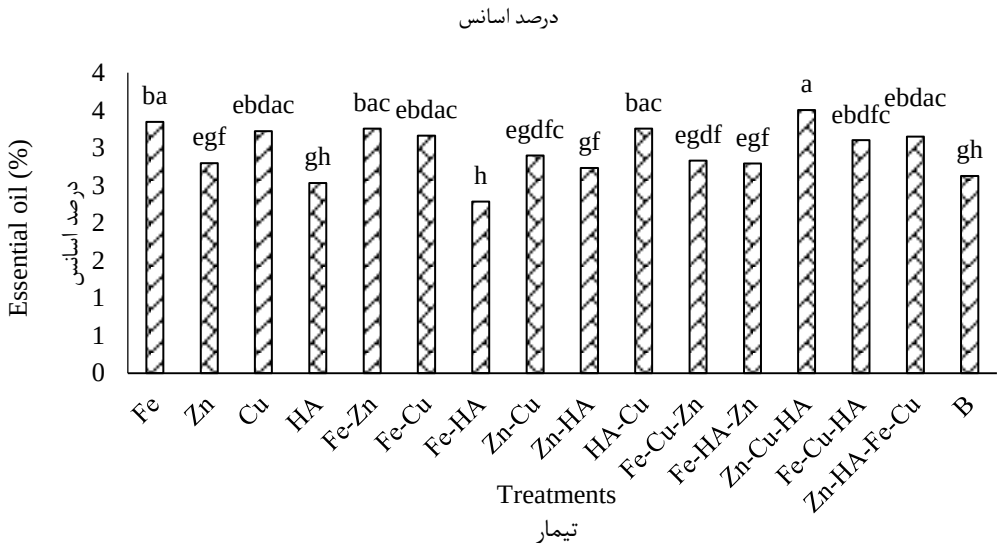
## ویژگی‌های آنتی اکسیدانی

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

## محتوای فنل کل

ترکیبات فنلی با وزن مولکولی زیاد توانایی زیادی برای پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد را دارند و این توانایی بیشتر به تعداد حلقه آروماتیک و ماهیت گره‌های جابجا 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).

1- Misra *et al*.
2- Al Ahl and Abeer



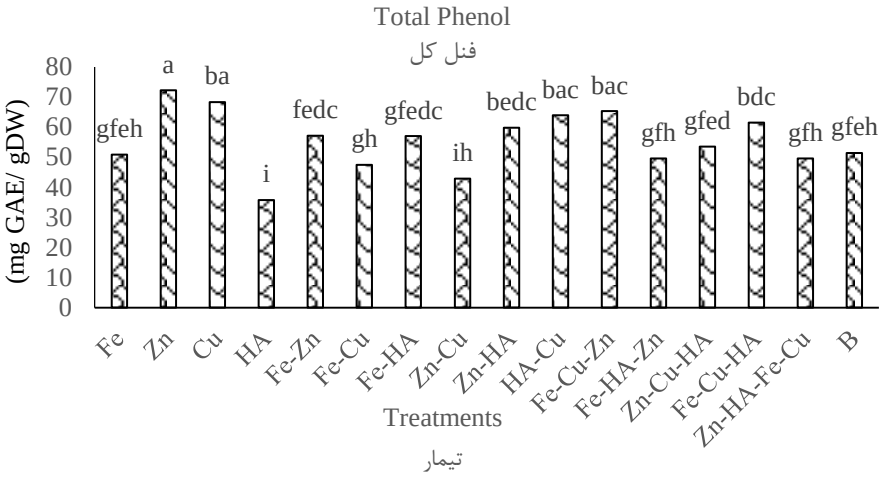

**شکل (۲) تاثیر محلول پاشی عناصر کم مصرف و مواد هیومیکی بر میزان درصد اسانس**

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

مقدار فنل عمدتا 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). معمولا ترکیبات فنولیک توسط فاکتورهای ژنتیکی و عوامل محیطی از جمله مسائل تغذیه‌ای تحت تاثیر قرار می‌گیرند (۱۴). تحقیقات نشان داد که محلول‌پاشی گل گاوزبان با Zn، 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 گونه های گیاهی مختلف نسبت به کاربرد روی در میزان فنل کل می تواند متفاوت باشد. حتی نوع و میزان حلال (متانول، اتانول و ...) بر کمیت ترکیبات فنلی و آنتی کسیدانی موثر می‌باشد و ارتباط معنی‌داری بین میزان ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی اکسیدانی دارند (۲). تفاوت در محتوای فنلی می‌تواند فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه را تحت تاثیر قرار دهد زیرا بسیاری از ترکیبات فنولیک در گیاهان منبع خوبی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند (۴۶).

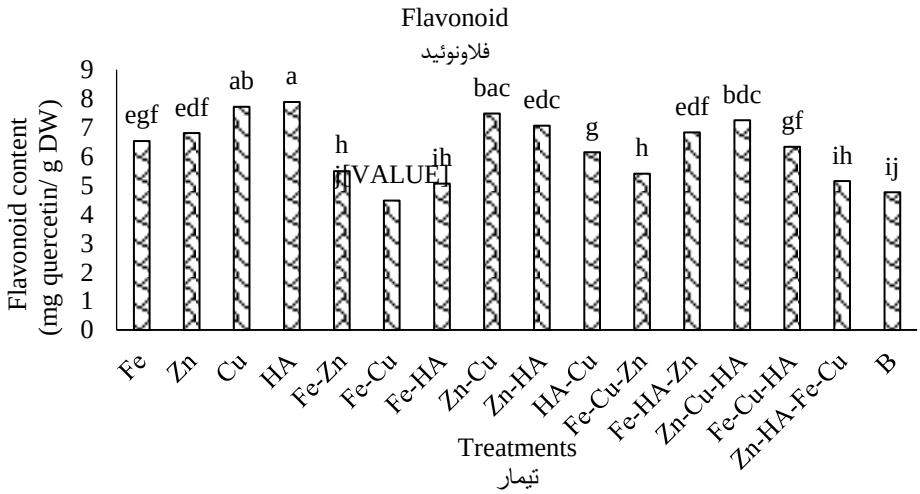
## محتوای فلاونوئید کل

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 مستقیم دارد (۲۶). بر این اساس بیشترین محتوای فلاونوئید کل در تیمار HA (۷/۸۸ گرم کوئرستین در۱۰۰ گرم ماده خشک) و کمترین مقدار آن در تیمار Fe+Cu (۴/۴۸ گرم کوئرستین بر ۱۰۰گرم 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 اینکه 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، فلاونوییدها 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* محلول‌پاشی عناصر بر و منگنز محتوای فلاونوئید را افزایش داد (۵۹). محققان به این نتیجه رسیدند آویشن دارای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها مثل رزماریک‌اسید، آپیژنین، لوتئولین، مافئیک‌اسید، فرولیک اسید، کارنوزیک‌اسید و دیگر فنل‌ها و فلاونوئیدها هستند (۲۶).




**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 (٤) 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**

**جمع‌آوری 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 رادیکال‌های آزاد مورد استفاده قرار می‌گیرد (۵۲). استفاده از رادیکال آزاد DPPH برای بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های گیاهی یکی از پرکاربردترین روش‌های سنجش قدرت آنتی اکسیدانی است. تغییرات درصد DPPH در اعمال تیمارهای مختلف، متفاوت بود؛ بیشترین درصد جمع‌آوری 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 تکی، Fe+Zn و Fe+Cu دارای تفاوت معنی‌داری نبود. تیمار Fe+Zn+Cu با همه تیمارهای سه‌گانه و همه تیمارهای دوگانه به غیر از Fe+Zn و Fe+Cu اثرات مشابهی نشان داد (شکل ۵).

ایستراتی و همکاران[1] (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 شوید 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.

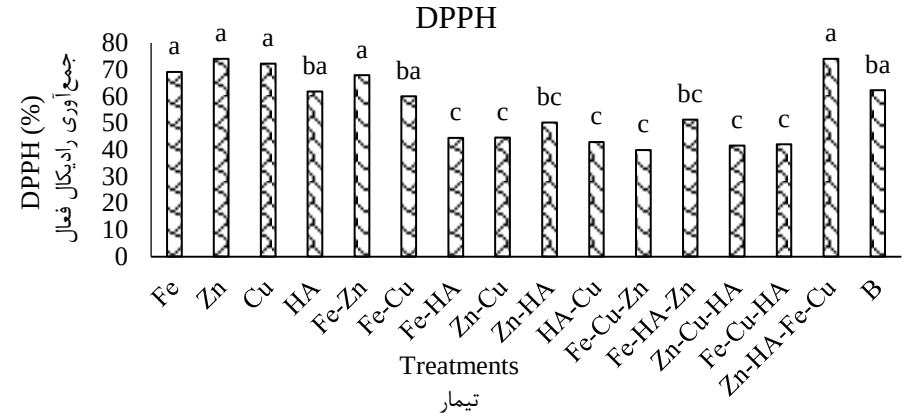
## جمع‌آوری رادیکال نیتریک اکسید

نیتریک‌اکسید نقش مهمی در عملکردهای فیزیولوژیکی ایفا می‌نماید؛ همچنین می‌تواند در بیماری-های التهابی نیز نقش داشته باشد. نیتریک اکسید می‌تواند با رادیکال سوپراکسید واکنش داده و تولید پراکسی نیتریت نماید که یک عامل اکسیداسیون قوی بوده و موجب آسیب‌های اکسایشی مختلف می‌شود (۶۳). شواهد نشان داد که نیتریک اکسید به‌عنوان تنظیم کننده رشد و نمو و همچنین دفاع گیاه در برابر امراض می‌باشد (۵۶). بیشترین درصد جمع‌آوری نیتریک 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 نیتریک اکسید را نشان داد با تیمارهای Fe، HA، Fe+Cu، Zn+Cu، Zn+HA، Fe+Cu+Zn و Fe+ Zn+HA 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 می شود (۱۶). برخی پژوهشگران (۳۵) به این نتیجه رسیدند که جمع‌کننده‌های رادیکال نیتریک اکسید نه تنها در گیاهان خانواده نعناعیان بلکه در گیاهان دیگر نیز با اکسیژن هدایت کننده رقابت می‌کنند تا تولید نیتریت اکسید را کاهش دهند (۳۵). در تحقیقی مشخص شد عصاره برگ گردو قدرت پاک‌سازی رادیکال‌های نیتریک‌اکسید بالایی را داراست (۴). طی تحقیقات به عمل آمده ظرفیت جمع‌آوری رادیکال نیتریک 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

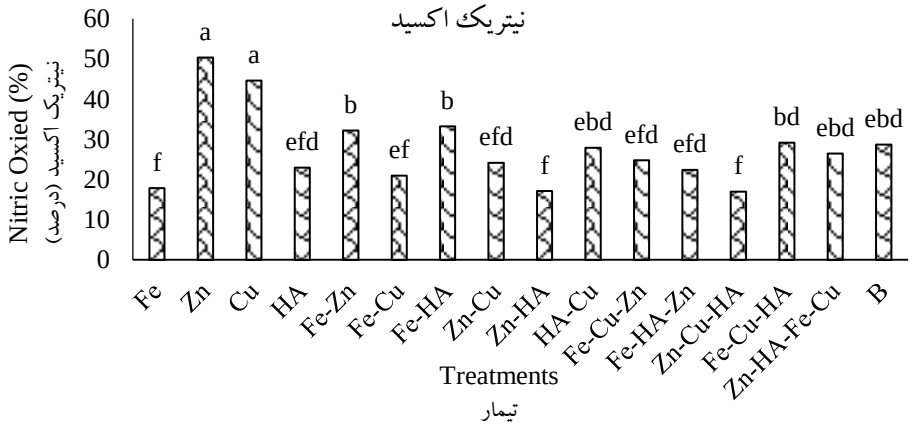
اندازه‌گیری فعالیت شکستگی زنجیر، سرعت نابودی رادیکال را تحت تأثیر ضداکسایندهای انتقال دهنده الکترون و دهنده هیدروژن تعیین می‌کند. بنابراین اندازه-گیری این شاخص‌ها در کنار هم، روش جالبی برای تخمین ظرفیت پاداکسایشی یک ترکیب به حساب می-آید. بررسی رابطه بین پتانسیل احیا و فعالیت شکستگی زنجیر در مطالعات مختلفی که انجام شده است هم می-تواند در تفسیر نتایج جالب توجه باشد (۴۱). بیشترین مقدار فعالیت شکستگی زنجیر در تیمار Fe+Zn (-Abs-3/min/mg extract) ۷۰/۷۳ 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. (شکل۷). 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).

1- Istrati *et al.*



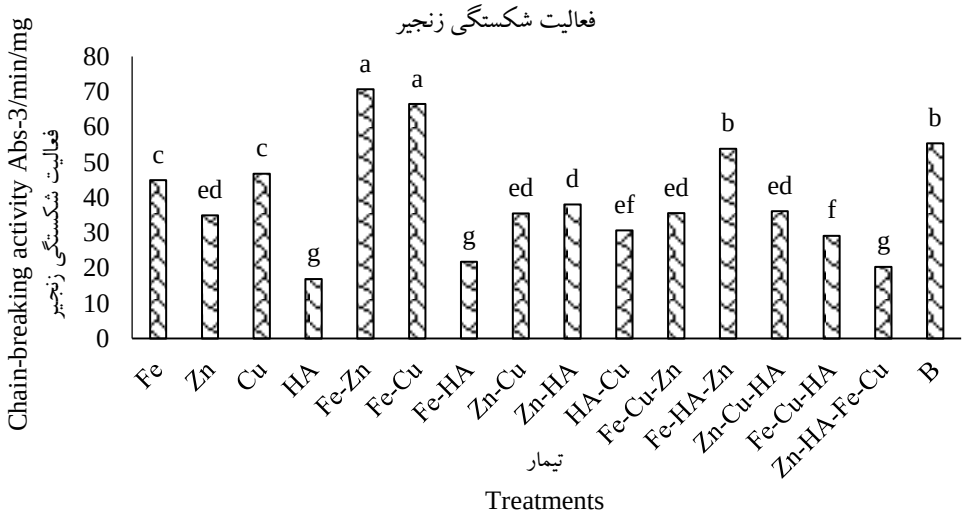

**شکل (۵) تاثیر محلول پاشی عناصر کم مصرف و مواد هیومیکی بر DPPH**

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




**شکل (٦) تاثیر محلول پاشی عناصر کم مصرف و مواد هیومیکی بر نیتریک اکسید**

**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**

## نتیجه‌گیری

نتایج بدست آمده در این تحقیق نشان داد که محلول-پاشی مرزنجوش استانبولی با مواد هیومیکی و عناصر کم‌مصرف 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 نشاندهنده تاثیر ناچیز آنها بر روی این صفت است؛ در حالی‌که تاثیر این محلول‌پاشی‌ها بر افزایش درصد اسانس نسبت به شاهد به مراتب چشمگیرتر بود. مصرف Zn باعث افزایش فنل کل و جمع‌آوری نیتریک اکسید در مقایسه با شاهد شد. مقدار فنل کل، جمع‌آوری 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 کم‌مصرف و مواد هیومیکی می‌تواند خواص کیفی مرزنجوش استانبولی را تغییر دهد و بر اساس نوع هدف بایستی در مصرف مستقل و تلفیقی عناصر کم‌مصرف و مواد هیومیکی دقت لازم مبذول گردد.

## 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 2nd 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, Grieron, 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, (2th 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 sweeties 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 Scandinavian, 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 *Ocmium sanctum*. Photosynthetica, 44: 474 -77.

38. Naczk, 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. Ozean 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.