

## اثرات کودهای زیستی نیتروکسین و سولفات آمونیوم بر برخی ویژگی‌ها و خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی فراسیون (*Marrubium vulgare* L.)

عزیزاله خیری\*، محدثه زراندود، افسون رضایی علولو، طاهر برزگر و میترا اعلایی

گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۲۷، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۹/۰۱/۲۰)

### چکیده

به منظور بررسی تأثیر کودهای زیستی نیتروکسین (صفر، ۳ و ۶ لیتر در هکتار) و کود سولفات آمونیوم (صفر، ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار) بر عملکرد، صفات زایشی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی فراسیون (*Marrubium vulgare* L.) آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشگاه زنجان در سال ۱۳۹۵ انجام شد. کودهای زیستی نیتروکسین و سولفات آمونیوم بر شاخص‌های عملکردی و کیفی گیاه فراسیون تأثیر معنی‌داری داشتند. بیشترین وزن تر اندام هوایی (۱۵۷ گرم)، تعداد گل آذین (۳۴۹ عدد)، ارتفاع گل آذین (۱۱/۵۳ سانتی‌متر)، کلروفیل کل (۱۲ میلی‌گرم بر گرم)، فنل (۱۱۲ میلی‌گرم بر گرم)، آنتی‌اکسیدان کل (۹۹/۲۶ بر حسب درصد مهار) و تانن (۳۵/۶۶ میلی‌گرم بر گرم) در تیمارهای تلفیقی ۳ لیتر در هکتار نیتروکسین به همراه ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار سولفات آمونیوم و تیمار ۶ لیتر در هکتار نیتروکسین به همراه ۷۵ کیلوگرم در هکتار سولفات آمونیوم به دست آمد و بیشترین میزان فلاونوئید (۱۲/۹۶ میلی‌گرم بر گرم) در تیمار ۶ لیتر در هکتار نیتروکسین به همراه ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار سولفات آمونیوم و بیشترین میزان آنتوسیانین (۱۱/۱۲ میلی‌گرم بر گرم) در تیمار ۶ لیتر در هکتار نیتروکسین حاصل شد. کمترین مقدار صفات مذکور در تیمار شاهد مشاهده گردید. به‌طور کلی نتایج نشان داد که مصرف توأم کود زیستی نیتروکسین و سولفات آمونیوم، می‌تواند در افزایش عملکرد اقتصادی و ویژگی‌های کیفی گیاه فراسیون مؤثرتر باشد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، تانن، فنل، گیاهان دارویی، نیتروکسین

### مقدمه

(قاسمی، ۱۳۹۰). گیاه دارویی فراسیون (*Marrubium vulgare* L.) گیاهی علفی، چند ساله و متعلق به تیره نعناعیان است. منشا این گیاه، آسیای مرکزی و نواحی مدیترانه گزارش شده است (امیدبیگی، ۱۳۸۹). این گیاه حاوی پلی‌فنول‌ها و فلاونوئیدهای متنوع و ترکیباتی مانند آپیزین، اسید اوروسیلک، بتاسیسترول، لیتئولین، ماروبیوم، پکتین و اسید آسکوربیک است (Herrera-Arellano, 2004). گیاه فراسیون،

افزایش قابل توجه گرایش به کاربرد گیاهان دارویی در جهان سبب ایجاد تغییراتی در استراتژی کشاورزی و توسعه آن در جوامع گردیده است. (Drangon et al., 1994; Galambosi, 1989). امروزه تخمین زده می‌شود که ۷۵ هزار گیاه دارویی در سراسر جهان وجود داشته باشد و تاکنون ۵۰۰۰ داروی گیاهی توسط صنایع دارویی جهان ساخته و به بازار عرضه شده است

\*نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: kheiry@znu.ac.ir

دارای درصد بالایی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از جمله فلاونوئیدها است (Karioti *et al.*, 2013) و در کاهش تنش‌های اکسیداتیو ناشی از اثر رادیکال‌های آزاد اکسیژن که در بیماری دیابت به علت افزایش قند خون اتفاق می‌افتد، مؤثر است (Kocak *et al.*, 2000). استرهای فنیل پروپانئید مستخرج از این گیاه، دارای خاصیت ضدالتهابی از طریق مهار آنزیم سیکلواکسیژناز است (Sahpaz *et al.*, 2002).

اما در راستای کشاورزی پایدار و تولید محصولات سالم و ایمن در کشاورزی و به‌ویژه گیاهان دارویی استفاده از کودهای زیستی به جای کودهای شیمیایی اخیراً خیلی مورد توجه قرار گرفته است. کشاورزی پایدار برای حصول تولید در دراز مدت و سازگار با محیط، بر نهاده‌های کم انرژی و مقادیر کم مواد شیمیایی متکی است که نتیجه آن تولید محصول و غذای سالم‌تر برای انسان است. از آنجا که رویکرد جهانی در تولید گیاهان دارویی به سمت بهبود کمیت و کیفیت و ایمنی ماده مؤثره است، بنابراین به نظر می‌رسد که تغذیه سالم گیاهان از طریق کاربرد کودهای بیولوژیک دارای بیشترین تطابق با هدف تولید گیاهان دارویی ایمن باشد (Kapoor, 2004; Ratti *et al.*, 2001). کودهای بیولوژیک شامل میکروارگانیسم‌ها و متابولیت آنها بوده که قادر به بالابردن حاصل‌خیزی خاک، افزایش رشد گیاه و عملکرد محصول هستند. همچنین این میکروارگانیسم‌ها قادر به آماده‌سازی عناصر مغذی از حالت غیرقابل جذب به قابل جذب در طی فرآیند بیولوژیکی هستند (Sharma, 2001).

از کودهای زیستی مهم در کشاورزی می‌توان به کود زیستی نیتروکسین اشاره کرد، نیتروکسین از جمله کودهای زیستی است که حاوی باکتری‌های محرک رشد و تثبیت‌کننده نیتروژن از جنس ازوتوباکتر و آزوسپریلیوم است. ازتوباکتر و آزوسپریلیوم در محیط ریشه گیاه توانایی ساخت و ترشح مواد بیولوژیکی فعال مانند اسید نیکوتینیک، اسید پنتوتینیک، بیوتین، ویتامین‌های B، اکسین‌ها، جیبرلین‌ها و غیره را داشته که در افزایش رشد ریشه نقش مفید و مؤثری دارند (اکبری و همکاران، ۱۳۸۹).

علاوه بر عنصر نیتروژن که مهم‌ترین عنصر مورد نیاز برای

رشد و نمو گیاهان محسوب می‌شود و در سنتز متابولیت‌های ثانویه نقش مهمی دارد عنصر گوگرد نیز از عناصر ضروری مورد نیاز گیاهان بوده و در تشکیل پیش‌ماده‌های سازنده طعم و بو در گیاهان به‌ویژه آلوم‌ها دخالت داشته و در ویژگی بو و تندی در گیاهانی مانند خردل، پیاز و سیر و نیز فعالسازی سیستم‌های آنزیمی مشخص و برخی ویتامین‌ها از جمله ویتامین A و اسیدآمین‌های گوگردی نقش دارد (Brewster, 1994). تحقیقات نشان داده، زمانی‌که تغذیه گوگردی افزایش می‌یابد، مقدار گوگرد کل ذخیره‌شده به‌صورت سولفات از ۱۰ درصد به حدود ۵۰ درصد می‌رسد (Mollafilabia *et al.*, 2013). گوگرد کل گیاه شامل سولفات و ترکیبات گوگردی آلی است. اکسایش گوگرد در خاک ضمن تأمین سولفات مورد نیاز گیاه باعث کاهش pH و آزادشدن عناصر غذایی می‌شود. گوگرد یکی از عناصر ضروری گیاهان هست که در ساختمان اسیدهای آمینه گوگردی مانند متیونین و سیستین نقش مهمی دارد. نقش گوگرد در تشکیل ساختار سوم پروتئین‌ها بسیار مهم است. علاوه بر این در بسیاری از گیاهان در سیم دفاعی گیاه با تولید ترکیبات گوگردی مانند گلیکوزینولات‌ها نقش حیاتی دارد. همچنین تولید متابولیت‌های ثانویه گوگردی مانند تیوگلیکوزیدها، ایزوتیوسیانات‌ها مانند دی‌آلیل سولفید و غیره بدون حضور گوگرد امکان‌پذیر نیست. گلوکاتیون نیز یکی از ترکیبات گوگردی مهم در گیاهان هست که نقش اصلی را در زدودن رادیکال‌های آزاد و خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان بر عهده دارد. علاوه بر اینها در خاک‌های قلیایی گوگرد با پایین آوردن pH خاک جذب سایر عناصر به‌ویژه عناصر ریزمغذی را بهبود بخشیده و باعث افزایش کمیت و کیفیت محصول می‌شود (Haneklaus *et al.*, 2015). هدف از انجام این پژوهش بررسی تأثیر کودهای زیستی نیتروکسین و سولفات آمونیوم بر کمیت و کیفیت گیاه دارویی فراسیون است.

#### مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان با ارتفاع ۱۶۶۳ متر از سطح دریا، عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۲۵

جدول ۱- مشخصات خاک محل آزمایش

هدایت الکتریکی (ds/m)	pH	ماده آلی	آهک	رس	سیلت (%)	شن	نیتروژن	گوگرد	فسفر (mg/kg)	پتاسیم
۲	۸/۱	۱/۱	۷/۱	۳۳	۲۶	۴۱	۰/۰۹	۷	۱۷	۲۷۰

**ظرفیت آنتی اکسیدانی:** اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی براساس روش (Miliauskas et al., 2004) و با استفاده از DPPH انجام گرفت. جذب نمونه‌ها در ۵۱۷ نانومتر در مقابل شاهد متانول خوانده شد. درصد مهار رادیکال آزاد (%I) هر عصاره به کمک معادله زیر محاسبه شد.

$$\%I = (A \text{ control} - A \text{ sample}) / A \text{ control} \times 100$$

**اندازه گیری محتوای فنل:** به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاه، ۲ میلی لیتر کربنات سدیم ۲ درصد، ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالچو ۵۰ درصد اضافه شد. پس از گذشت نیم ساعت جذب آنها در طول موج ۷۲۰ نانومتر نسبت به شاهد ثبت گردید. اسید گالیک به عنوان استاندارد برای رسم منحنی استاندارد بکار رفت. محتوای فنل کل عصاره‌ها براساس میلی گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد. (Meda et al., 2005).

**اندازه گیری فلاونوئید:** برای سنجش فلاونوئید کل، به ۵۰۰ میکرولیتر از هر عصاره ۱/۵ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر محلول استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط بعد از گذشت ۴۰ دقیقه در طول موج ۴۱۵ نانومتر نسبت به بلانک اندازه گیری شد. بلانک حاوی تمام ترکیبات ذکر شده در بالا بود اما به جای عصاره همان حجم متانول ۸۰٪ به آن اضافه شده بود. برای رسم منحنی استاندارد از کوئرستین استفاده شد. میزان فلاونوئید کل براساس میلی گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد (Chang et al., 2002).

**اندازه گیری آنتوسیانین:** برای سنجش میزان آنتوسیانین کل مقدار ۰/۰۲ گرم از بافت خشک گیاهی با ۴ میلی لیتر محلول اسید کلریدریک ۱٪ متانول در یک هاون چینی ساییده شد. محلول حاصل به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد.

دقیقه و طول جغرافیایی ۴۷ درجه و یک دقیقه در بهار و تابستان سال ۱۳۹۵ اجرا شد. ابتدا برای تهیه نشا مورد نیاز، بذور گیاه فراسیون از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری شد. سپس در تاریخ ۱۵ اسفند ماه سال ۱۳۹۴ بذور در سینی‌های نشا با بستر کشت پیت ماس در گلخانه (در شرایط دمایی ۲۷±۳ درجه سانتی گراد روز و ۱۸±۳ درجه سانتی گراد شب) کشت شدند. دو ماه پس از کاشت، نشاها در مرحله چهار برگی به زمین اصلی انتقال داده شدند. فاصله ردیف‌ها ۸۰ سانتی متر و فاصله بوته‌ها ۵۰ سانتی متر در نظر گرفته شد، هر واحد آزمایشی شامل ۹ بوته بود. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است.

پژوهش حاضر به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل سولفات آمونیوم در سه سطح  $s_1=0$ ،  $s_2=75$  و  $s_3=150$  کیلوگرم در هکتار و فاکتور دوم نیتروکسین در سه سطح  $n_1=0$ ،  $n_2=3$  و  $n_3=6$  لیتر در هکتار بود. در مرحله شش تا هشت برگی تیمارها اعمال گردید. ابتدا کود سولفات آمونیوم به صورت شیاری پای بوته‌ها داده شد و پس از ۱۰ روز، تیمار کود نیتروکسین همراه با آب آبیاری اعمال گردید. آبیاری مزرعه به روش نواری و با دور سه روز در میان انجام شد.

**صفات مورد ارزیابی:** در زمان برداشت بوته‌ها، تعداد گل آذین در هر بوته شمارش و ارتفاع گل آذین بر حسب میلی متر ثبت شد. وزن تر نیز از طریق ترازو اندازه گیری شد.

**اندازه گیری میزان کلروفیل برگ:** مقدار کلروفیل کل با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر SAFAS MONACO (RS 232) و روش Arnon (۱۹۶۷) تعیین شدند. در این رابطه، V حجم محلول سانتریفوژ شده، A جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر) و W وزن تر نمونه بر حسب گرم است.

در سطح احتمال پنج درصد معنی دار شد. شکل ۲ مقایسه میانگین مربوط به تعداد گل و ارتفاع گل آذین است که نتایج نشان می‌دهد در تیمار ۶ لیتر در هکتار نیتروکسین در تلفیق با ۷۵ کیلوگرم سولفات آمونیوم ( $N_3S_2$ ) بیشترین تعداد گل (۳۴۹ گل) و تیمار شاهد کمترین تعداد گل (۱۰۳ گل) حاصل شد که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری داشتند. همچنین بیشترین ارتفاع گل آذین (۱۱/۵۳ میلی‌متر) در گیاهان تیمار شده با ۶ لیتر در هکتار نیتروکسین در تلفیق با ۷۵ کیلوگرم سولفات آمونیوم ( $N_3S_2$ ) و کمترین ارتفاع گل آذین (۲/۱ میلی‌متر) در تیمار شاهد به دست آمد.

**محتوای کلروفیل:** براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها اثر متقابل نیتروکسین و سولفات آمونیوم بر کلروفیل کل در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد (جدول ۳). طبق نتایج مقایسه میانگین بیشترین غلظت کلروفیل کل در تیمار  $N_2S_3$  به دست آمد (شکل ۳).

**فعالیت آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی:** نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها گویای آن است که اثر متقابل نیتروکسین و سولفات آمونیوم بر خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه فراسیون تأثیر معنی‌داری داشت (جدول ۳).

براساس نتایج مقایسه میانگین بیشترین میزان فنل (۱/۱۲ میلی‌گرم بر گرم) در تیمار  $N_2S_3$  (۳ لیتر در هکتار نیتروکسین به همراه ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار سولفات آمونیوم) مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با  $N_2S_2$  (۳ لیتر در هکتار نیتروکسین به همراه ۷۵ کیلوگرم در هکتار سولفات آمونیوم) نداشت. بیشترین میزان فلاونوئید (۱/۲۹ میلی‌گرم بر گرم) در تیمار  $N_3S_3$  (۳ لیتر در هکتار نیتروکسین به همراه ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار سولفات آمونیوم) به دست آمد (جدول ۴).

همچنین تیمار  $N_3S_1$  (۳ لیتر در هکتار نیتروکسین صفر کیلوگرم در هکتار سولفات آمونیوم) بالاترین میزان آنتوسیانین (۱۱/۱۲) را داشت. بیشترین میزان آنتی‌اکسیدان (۹۹/۲۶) در تیمار  $N_3S_2$  (۶ لیتر در هکتار نیتروکسین به همراه ۷۵ کیلوگرم در هکتار سولفات آمونیوم) مشاهده شد که با تیمار  $N_2S_3$  (۳ لیتر در هکتار نیتروکسین به همراه ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار

سپس محلول به مدت ۱۰ دقیقه و در ۱۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. فاز رویی را برداشته و جذب محلول‌ها در طول موج ۵۳۰ و ۶۵۷ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد. از محلول اسید کلریدریک ۱٪ متانول به عنوان شاهد استفاده شد. میزان آنتوسیانین برای هر عصاره با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Mita et al., 1997).

$$A = A_{530} - (0.25 \times A_{657})$$

**اندازه‌گیری تانن:** برای سنجش میزان تانن ۱۳۹ میلی‌لیتر از عصاره اولیه با ۳ میلی‌لیتر از واینلین (۴ درصد در متانول) مخلوط شده و سپس با افزودن ۱/۵ میلی‌لیتر HCl ۳۷ درصد مخلوط تهیه شد. سپس در دمای اتاق به مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. سپس جذب در طول موج ۵۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای کالیبراسیون منحنی استاندارد از کاتشین (صفر، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰) میلی‌گرم بر لتر استفاده شد (Chew et al., 2011). معادله کالیبراسیون برای کاتشین طبق رابطه زیر بود.

$$Y = 0.00021X - 0.0143 \quad (R^2 = 0.997)$$

تجزیه داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) آنالیز و مقایسه میانگین از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن با نرم‌افزار MSTATc 2.1 انجام شد.

## نتایج

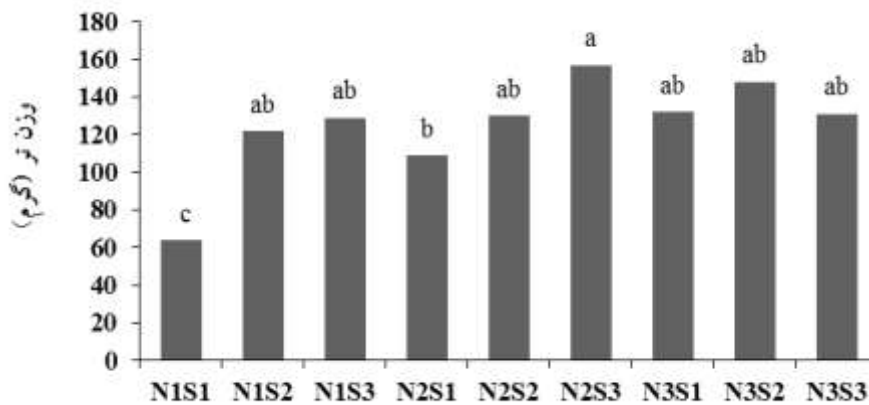
**وزن تر اندام هوایی:** براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) بین تیمارهای کودی از نظر وزن تر اندام هوایی بوته اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ وجود داشت. مقایسه میانگین بین تیمارها نشان داد که تیمار ۶ لیتر در هکتار نیتروکسین در تلفیق با ۷۵ کیلوگرم سولفات آمونیوم ( $N_2S_3$ ) با ۱۵۷ گرم بیشترین وزن تر اندام هوایی را موجب شد که این تیمار با شاهد (۶۴ گرم) و تیمار ۳ لیتر در هکتار نیتروکسین (۱۰۹ گرم) تفاوت معنی‌داری داشت و با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان نداد (شکل ۱).

**تعداد و ارتفاع گل آذین:** براساس نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) اثر نیتروکسین و سولفات آمونیوم بر تعداد گل آذین در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل آنها

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات زایشی و رویشی مورد بررسی در فراسیون

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		وزن تر اندام هوایی	ارتفاع گل آذین
بلوک	۲	۵۳۷۸/۱۰	۳/۰۳
نیتروکسین (N)	۲	۲۶۵۰/۲۹**	۷/۳۸*
سولفات آمونیوم S	۲	۳۶۰۶/۸۶**	۱۳/۵۲**
N × S	۴	۱۰۷۵/۳۸*	۵/۷۱*
خطا	۱۶	۲۷۱/۲۱	۱/۶۳
ضریب تغییرات	-	۱۳/۱۸	۱۴/۹۲

ns غیر معنی دار، \*\* معنی دار در سطح احتمال یک درصد، \* معنی دار در سطح احتمال پنج درصد



شکل ۱- تأثیر سطوح مختلف نیتروکسین (N) و سولفات آمونیوم (S) بر وزن تر گیاه فراسیون. ستون‌های دارای حرف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی دار بین تیمارهاست.

$N_1 = 0(L/ha)$ ,  $N_2 = 3(L/ha)$ ,  $N_3 = 6(L/ha)$ ,  $S_1 = 0(kg/ha)$ ,  $S_2 = 75(kg/ha)$ ,  $S_3 = 150(kg/ha)$

می‌شود و به‌طور همزمان فتوسنتز و سنتز کلروفیل را تحریک می‌کند، متابولیسم را افزایش می‌دهد و تراوش برخی از اسیدها از ریشه را تسهیل می‌کند. این وضعیت جذب دیگر عناصر را آسان می‌کند (Zarcami, 2006). عنصر نیتروژن علاوه بر شرکت در ساختار اسیدهای آمینه و آنزیم‌ها، یکی از عناصر اصلی تشکیل‌دهنده حلقه تتراپیرول کلروفیل است. به‌علاوه افزایش این عنصر در گیاه از یک‌سو سبب افزایش میزان آمونیوم و از سوی دیگر افزایش آنزیم‌های گلوتامات سنتتاز و گلوتامین سنتتاز دخیل در تولید کلروفیل شده و باعث افزایش میزان آن در گیاه می‌گردد (Harbone and Dey, 1997).

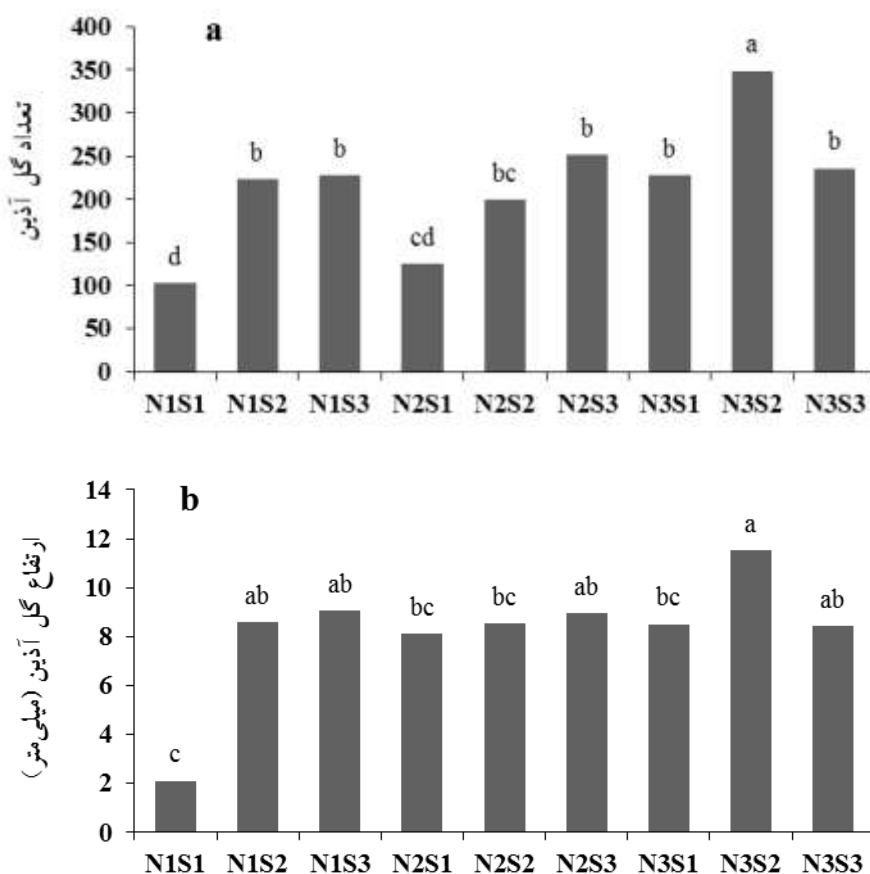
در این بررسی افزایش کود نیتروکسین و سولفات آمونیوم

سولفات آمونیوم) تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۴).

تانن: طبق نتایج جدول تجزیه واریانس اثرات متقابل نیتروکسین بر سولفات آمونیوم بر تانن برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین بین تیمارها نشان داد که تیمارهای  $N_2S_3$ ،  $N_2S_2$  و  $N_2S_1$  به‌ترتیب با  $۳۳/۴$ ،  $۳۵/۶۶$  و  $۳۴/۴$  بالاترین میزان تانن را موجب شدند که بین این تیمارها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ولی با دیگر تیمارها تفاوت معنی‌داری داشتند (شکل ۴).

#### بحث

در بین عناصر غذایی، نیتروژن بیشترین راندمان تولید را باعث



شکل ۲- تأثیر سطوح مختلف نیتروکسین (N) و سولفات آمونیوم (S) بر تعداد گل آذین (a) و ارتفاع گل آذین (b) گیاه فراسیون. ستون‌های دارای حرف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست.  
 $N_1 = 0(L/ha)$ ,  $N_2 = 3(L/ha)$ ,  $N_3 = 6(L/ha)$ ,  $S_1 = 0(kg/ha)$ ,  $S_2 = 75(kg/ha)$ ,  $S_3 = 150(kg/ha)$

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف سولفات آمونیوم و نیتروکسین بر صفات بیوشیمیایی گیاه فراسیون

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		کلروفیل کل	فنل	فلاونوئید	آنتی‌اکسیدان	آنتوسیانین
بلوک	۲	۰/۰۰۲۱	۰/۱۰۸۰	۰/۰۵۳۸	۴۸/۷۴	۴/۵۱
نیتروکسین N	۲	۰/۰۳۵	۰/۱۸۲۸**	۰/۱۰۴۳**	۱۱۴۵/۸۶**	۵/۴۹**
سولفات آمونیوم S	۲	۰/۰۰۴۱ <sup>ns</sup>	۰/۶۴۷۶*	۰/۱۵۳۷**	۲۴/۹۹ <sup>ns</sup>	۱/۴۷*
N × S	۴	۰/۲۲**	۰/۱۰۵۴**	۰/۰۴۹۷*	۹۷۴/۲۵**	۱۷/۴۳**
خطا	۱۶	۰/۰۲۱	۰/۲۳۶۱	۰/۰۱۲۲	۱۵/۱۷	۰/۳۹۷۶
ضریب تغییرات	-	۶/۲۱	۱۳/۲۵	۱۰/۹۲	۵/۳۷۵۹	۷/۹۸۵۱

<sup>ns</sup> غیر معنی‌دار، \*\* معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، \* معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد

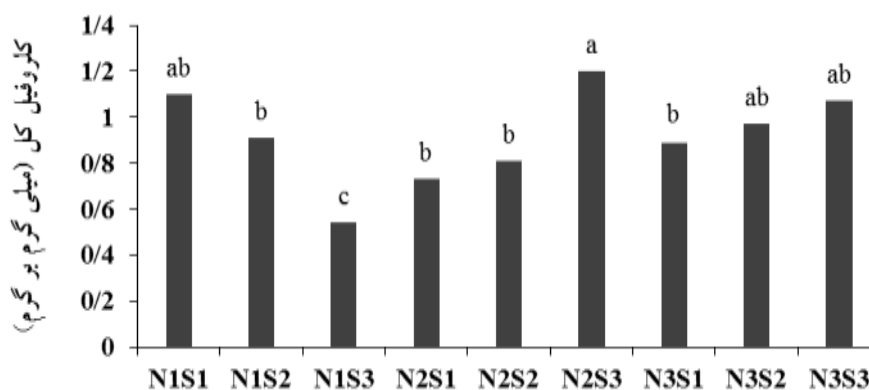
سبب افزایش میزان کلروفیل کل، وزن تر و وزن خشک گردید که دلیل آن را این‌گونه می‌توان توضیح داد که کود زیستی نیتروکسین حاوی دو باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن است. با کاربرد این کود توان تثبیت زیستی نیتروژن، سطح ریشه، میزان

جدول ۴- مقایسه میانگین فعالیت آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی گیاه فراسیون تحت تأثیر کودهای نیتروکسین و سولفات آمونیوم

تیمار	آنتی اکسیدان	آنتوسیانین	فلانوئید کل	فنل کل
N <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	۵۴/۲۷ <sup>d</sup>	۵/۱۷ <sup>e</sup>	۰/۶۹ <sup>d</sup>	۰/۶۴ <sup>c</sup>
N <sub>1</sub> S <sub>2</sub>	۶۴/۰۷ <sup>cd</sup>	۹/۴۷ <sup>b</sup>	۱/۰۴ <sup>bc</sup>	۰/۶۳ <sup>c</sup>
N <sub>1</sub> S <sub>3</sub>	۶۲/۲۹ <sup>d</sup>	۸/۷۵ <sup>bc</sup>	۰/۹۴ <sup>c</sup>	۰/۸۲ <sup>abc</sup>
N <sub>2</sub> S <sub>1</sub>	۷۳/۶۶ <sup>c</sup>	۷/۸۵ <sup>c</sup>	۰/۹۰ <sup>c</sup>	۰/۶۷ <sup>c</sup>
N <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	۵۷/۲۹ <sup>d</sup>	۵/۳۷ <sup>e</sup>	۱/۰۱ <sup>bc</sup>	۱/۱۱ <sup>a</sup>
N <sub>2</sub> S <sub>3</sub>	۹۳/۲۶ <sup>a</sup>	۸/۲۷ <sup>bc</sup>	۱/۱۹ <sup>ab</sup>	۱/۱۲ <sup>a</sup>
N <sub>3</sub> S <sub>1</sub>	۸۳/۷۰ <sup>b</sup>	۱۱/۱۲ <sup>a</sup>	۱/۰۶ <sup>bc</sup>	۱/۰۳ <sup>ab</sup>
N <sub>3</sub> S <sub>2</sub>	۹۹/۲۶ <sup>a</sup>	۷/۴۶ <sup>c</sup>	۰/۹۵ <sup>c</sup>	۰/۷۹ <sup>bc</sup>
N <sub>3</sub> S <sub>3</sub>	۶۴/۳۴ <sup>cd</sup>	۷/۵۷ <sup>c</sup>	۱/۲۹ <sup>a</sup>	۰/۹۱ <sup>abc</sup>

N<sub>1</sub> = 0(L/ha), N<sub>2</sub> = 3(L/ha), N<sub>3</sub> = 6(L/ha), S<sub>1</sub> = 0(kg/ha), S<sub>2</sub> = 75(kg/ha), S<sub>3</sub> = 150(kg/ha)

میانگین‌هایی که با حروف مشترک در هر ستون نشان داده شده‌اند، از نظر آماری معنی‌دار نیستند.

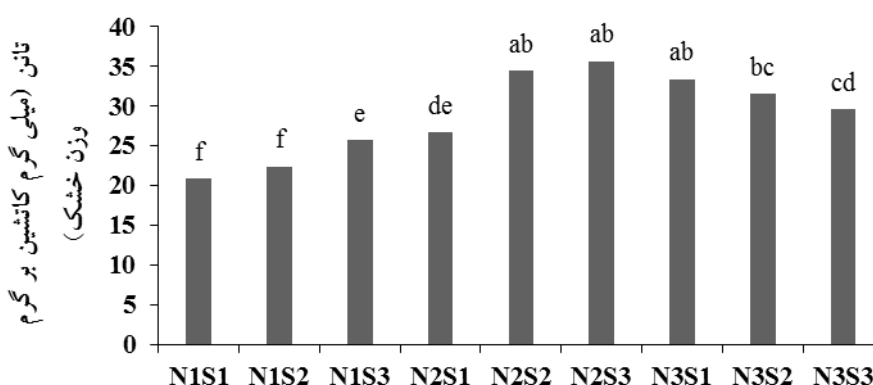


شکل ۳- تأثیر سطوح مختلف نیتروکسین (N) و سولفات آمونیوم (S) بر کلروفیل کل در گیاه فراسیون. ستون‌های دارای حرف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست.

N<sub>1</sub> = 0(L/ha), N<sub>2</sub> = 3(L/ha), N<sub>3</sub> = 6(L/ha), S<sub>1</sub> = 0(kg/ha), S<sub>2</sub> = 75(kg/ha), S<sub>3</sub> = 150(kg/ha)

1987). همچنین (Mahfouz and Sharaf Eldin, 2007) گزارش کرده‌اند که افزایش وزن تر و خشک رازیانه توسط باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپیریولوم به دلیل نقش آنها در تثبیت بیولوژیکی نیتروژن و نیز تولید مواد تسریع‌کننده رشد مانند اکسین و جیبرلین است. علاوه بر این که در گیاه دارویی مریم‌گلی کاربرد باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپیریولوم سبب افزایش وزن تر اندام هوایی گیاه گردیده است (Youssef *et al.*, 2004). با کاربرد کودهای زیستی نیتروژن‌دار رشد رویشی از جمله وزن تر ساقه در گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.)

جذب آب و عناصر غذایی، تولید برخی ویتامین‌ها و اسید آمینه‌ها افزایش یافته و در نتیجه رشد گیاه تقویت شده و عملکرد آن افزایش می‌یابد (shakeri *et al.*, 2012). از آنجایی که عنصر گوگرد نقش مهمی در سنتز کلروفیل دارد به نظر می‌رسد با کاربرد سولفات آمونیوم میزان سنتز کلروفیل افزایش و به دنبال آن فتوسنتز بهبود می‌یابد و این امر با تولید آسمیلات بیشتر، تقسیم سلولی و اندازه سلول‌ها را افزایش داده، که به دنبال آن مواردی مانند شاخص سطح برگ و وزن تر بوته افزایش می‌یابد (Yasari *et al.*, 2007; Kunelius *et al.*, )



شکل ۴- تأثیر سطوح مختلف نیتروکسین (N) و سولفات آمونیوم (S) بر تانن در گیاه فراسیون. ستون‌های دارای حروف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارهاست.

$$N_1 = 0(\text{L/ha}), N_2 = 3(\text{L/ha}), N_3 = 6(\text{L/ha}), S_1 = 0(\text{kg/ha}), S_2 = 75(\text{kg/ha}), S_3 = 150(\text{kg/ha})$$

در اثر تغذیه گیاه با کودهای نیتروژنه در تحقیق حاضر فعالیت آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی نیز نسبت به تیمار شاهد افزایش پیدا کرد و علت آن را این‌گونه می‌توان توضیح داد که کودهای زیستی در بیوسنتز مسیر استات شیکیمات نقش دارند و منجر به تولید بیشتر فنل و فلاونوئیدها می‌شوند و تجمع آنزیم‌هایی مانند پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز را افزایش می‌دهند که در متابولیسم فنل و فلاونوئیدها درگیر هستند (Babu *et al.*, 2015). در واقع کودهای زیستی نیتروژن‌دار علاوه بر تأثیر بر رشد، عملکرد و کیفیت گیاه، بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه مانند فلاونوئیدها، فنل، کارتنوئید و غیره را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Ibrahim *et al.*, 2010). در کل، افزایش غلظت ترکیبات فنلی به‌طور مستقیم میزان توانایی عصاره‌های مختلف را در مهارکردن رایکال‌های آزاد افزایش می‌دهد. غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنلی، به‌دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهدا هیدروژن به رایکال‌های آزاد و به‌دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد (Zhang *et al.*, 2009). همبستگی مثبتی بین فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برخی از سبزیجات و میوه‌جات گزارش شده است (Pyo *et al.*, 2014). از عواملی که سبب افزایش فلاونوئیدها می‌شود می‌توان به اسیدآمینو فنیل آلانین اشاره کرد. افزایش فنیل آلانین به‌صورت قابل‌توجهی فلاونوئیدها را افزایش می‌دهد چرا که پیش‌ماده‌ای برای تشکیل

به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (Shiboob, 2000). همچنین کاربرد سولفات آمونیوم موجب افزایش عملکرد پیکر رویشی، زیست توده برگ تر در ریحان شد. (Sifola and Barbieri, 2006). با توجه به نتایج حاصل چنین به‌نظر می‌رسد استفاده از باکتری‌های محرک رشد در تلفیق با سولفات آمونیوم توانسته است با تثبیت و فراهم‌آوری نیتروژن، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی را در مقایسه با تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش دهد و افزایش در میزان کلروفیل روی میزان فتوسنتز و تولید کربوهیدرات‌های لازم برای رشد و افزایش عملکرد تأثیر مثبت خواهد داشت.

تأثیر معنی‌دار تیمارهای نیتروکسین و سولفات آمونیوم بر ارتفاع و تعداد گل آذین را می‌توان به افزایش احتمالی جیبرلین‌ها و اکسین‌ها تحت تأثیر کودهای زیستی که موجب افزایش رشد طولی سلول و تقسیم سلولی می‌گردند نسبت داد. همچنین باکتری‌های موجود در کود نیتروکسین می‌توانند ارتفاع و تعداد بوته، تعداد برگ، وزن تر و خشک بخش‌های مختلف گیاه را افزایش داده و در نتیجه بر بیشترشدن عملکرد گیاه کمک کنند (Vessey, 2003). افزایش ارتفاع بوته، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی در گیاه مریم‌گلی با مصرف کودهای زیستی حاوی (آزوسپیریوم و ازتوباکتر) (Youssef *et al.*, 2004) و گیاه دارویی زوفا (Koocheki *et al.*, 2008) گزارش شده است.



آنتوسیانین و تانن گردید. گزارش شده است که محلول‌پاشی سولفات در زیتون منجر به افزایش ترکیبات فنلی می‌شود (Saadati et al., 2013). طبق نتایج تحقیقی کاربرد سولفات اثر معنی‌داری بر میزان آنتی‌اکسیدان کل داشت (نوجوان و حسن‌پور، ۱۳۹۵). در پژوهشی بر روی گیاه (*Borago officinalis* L. موسیلاژ در تیمار ۱۵۰ کیلوگرم کود نیتروژن به‌دست آمده (Javanzadeh and fallah, 2013) که نتایج بررسی حاضر با این تحقیق همسو است.

### نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش کاربرد توأم نیتروکسین و سولفات آمونیوم سبب بهبود رشد رویشی، زایشی و فیتوشیمایی گیاه دارویی فراسیون شد که در این میان تیمارهای تلفیقی ۳ لیتر در هکتار نیتروکسین به‌همراه ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار سولفات آمونیوم و تیمار ۶ لیتر در هکتار نیتروکسین به‌همراه ۷۵ کیلوگرم در هکتار سولفات آمونیوم باعث به‌دست آمدن بالاترین مقادیر صفات مورد ارزیابی شدند. با توجه به اینکه در اکثر زمین‌های کشاورزی با مشکل آهکی‌بودن خاک مواجه هستیم چنین به‌نظر می‌رسد که استفاده از کودهای بیولوژیک همراه با گوگرد از طریق کاهش pH خاک توانسته به افزایش جذب مواد غذایی کمک نماید. همچنین با مصرف کودهای زیستی می‌توان در راستای کاهش مصرف کودهای شیمیایی، کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی گام برداشت و این نتیجه می‌تواند تأمین‌کننده بخشی از اهداف کشاورزی پایدار باشد.

فلاونوئیدها است (Wang and Jiao, 2000). فلاونوئیدها گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که آنتوسیانین‌ها برجسته‌ترین آنها هستند که در واکوئل سلول‌های اپیدرمی گلبرگ تجمع می‌یابند (Janowska and Jerzy, 2003).

در حمایت از این تئوری، Edahiro و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که سطوح مناسب نیتروژن برگ، با بالارفتن فنیل آلانین منجر به افزایش قابل‌توجهی در تولید آنتوسیانین کل می‌شود. از عواملی دیگری که سبب افزایش میزان آنتوسیانین‌ها می‌شود تولید ریپوفلاوین در سطوح مناسب نیتروژن است (Mori and Sakurai, 1996). لازم به‌ذکر است که این باکتری‌ها علاوه بر نقشی که در تثبیت عناصر دارند سبب تولید هورمون‌های مختلف می‌شوند از جمله این هورمون‌ها جیبرلین است که تأثیر زیادی روی جلوگیری از تخریب زیستی آنتوسیانین‌ها و سایر رنگیزه‌های گیاهی دارند (Janowska and Jerzy, 2003).

سولفات آمونیوم نقش مهمی در افزایش میزان ترکیبات فنلی دارد. به این صورت که در مسیر سنتز ترکیبات فنلی، اولین واکنش در مسیر فنیل پروپانویید به‌وسیله آنزیم فنیل آلانیل آمونیا لایز (PAL) کاتالیز می‌شود که L- فنیل آلانیل را به ترنس سینامیک اسید تبدیل می‌کند. بیان ژن‌های PAL موجب سنتز ترکیبات فنلی در قسمت‌های مختلف سلول می‌گردد. آمونیوم سولفات نقش بسیار مؤثری در تنظیم بیان ژن PAL در بیوستت سلول‌های گیاهی دارد و موجب افزایش فعالیت آنزیم PAL و تجمع ترکیبات فنلی می‌گردد (Vahdatpour et al., 2009). تیمار سولفات در انگور منجر به افزایش انباشته‌شدن مواد جامد محلول کل، فنل کل، فلاونوئید کل، تانن‌ها و آنتوسیانین شده و غلظت اسیدپتیک قابل تیتراسیون را کاهش داد (song et al., 2015) که در این بررسی نیز سولفات آمونیوم موجب افزایش میزان ترکیبات فنلی،

### منابع

- اکبری، پ.، فلاوند، ا. و مدرس ثانوی، س. ع. م. (۱۳۸۹) تأثیر کاربرد سیستم‌های مختلف تغذیه‌های (آلی، شیمیایی و تلفیقی) و کود زیستی بر عملکرد دانه و سایر صفات زراعی آفتابگردان. مجله دانش کشاورزی پایدار ۱: ۸۳-۹۳.
- قاسمی، ع. (۱۳۹۰) گیاهان دارویی و معطر، شناخت و بررسی اثرات آنها. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی شهر کرد.

- نوجوان، ن. و حسن‌پور، ل. (۱۳۹۵) تأثیر محلول‌پاشی برگ‌گی سولفات پتاسیم و سولفات روی بر برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی انگور رقم بیدانه قرمز. دو فصلنامه فناوری تولیدات گیاهی ۸: ۲۱۳-۱۹۵.
- امیدبیگی، ر. (۱۳۸۶) رهیافت‌های تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد دوم، انتشارات آستان قدس رضوی.
- Herrera-Arellano, A., Aguilar-Santamaria, B., Garcia-Hernandez, B. P., Nicasio-Torres, P. and Tortoriello, J. (2004) Clinical trial of *Cecropia obtusifolia* and *Marrubium vulgare* leaf extracts on blood glucose and serum lipids in type 2 diabetics. *Science Direct* 11: 561-566.
- Arnon, A. N. (1967) Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal* 23: 112-121.
- Babu, A. N., Jogaiah, S., Itoc, S. I., Nagaraj, A. K. and Tran, L. S. P. (2015) Improvement of growth, fruit weight and early blight disease protection of tomato plants by rhizosphere bacteria is correlated with their beneficial traits and induced biosynthesis of antioxidant peroxidase and polyphenoloxidase. *Plant Science* 231: 62-73.
- Brewster, J. L. (1994) *Onion and other vegetable alliums*. CAB International.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis* 10: 178-182.
- Chew, K. K., Ng, S. Y., Thoo, Y. Y., Khoo, M. Z., Wan Aida, W. M. and Ho, C. W. (2011) Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Centella asiatica* extracts. *International Food Research Journal* 18: 571-578.
- Dragon, A., Cormery, F., Desoyer, T. and Halm, D. (1994) "Localized failure analysis using damage models". In: *Localization and Bifurcation Theory for Soils and Rocks*. (eds. Chambon, R. *et al.*) Pp. 127-140. Balkema.
- Edahiro, J. I., Nakamura, M., Seki, M. and Furusaki, S. (2005) Enhanced accumulation of anthocyanin in cultured strawberry cells by repetitive feeding of L-phenylalanine into the medium. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 99: 43-47.
- Galambosi, B. and Holm, Y. (1989) The effect of nitrogen fertilization on the herb yield of Dragonhead. *Journal of Agricultural Science in Finland* 61: 387-394.
- Haneklaus, S., Bloem, E., Hayfa, S. and Schnug, E. (2015) Influence of elemental sulphur and nitrogen fertilisation on the concentration of essential micronutrients and heavy metals in *Tropaeolum majus* L. *Federal Agricultural Research Centre (FAL)* 286: 25-35.
- Harbone, J. B. and Dey, P. M. (1997) *Plant Biochemistry*. Academic Press, New York.
- Ibrahim, M. H., Jaafar, H. Z., Rahmat, A. and Rahman, Z. A. (2010) The relationship between phenolics and flavonoids production with total nonstructural carbohydrate and photosynthetic rate in *Labisia pumila* Benth. under high CO<sub>2</sub> and nitrogen fertilization. *Molecules* 16: 162-174.
- Janowska, B. and Jerzy, M. (2003) Effect of gibberelic acid on postharvest leaf longevity of *Zantedeschia elliottiana* (W. Wats.) Engl. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* 11: 69-76.
- Javanzadeh, M., Fallah, S. R. (2013) Effect of planting method, nitrogen fertilizer and plant density on quality and quantity storage. *Scientia Agriculturae* 3: 16-18.
- Kapoor, R., Giri, B. and Mukerji, K. G. (2004) Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare* Mill on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. *Bioresource Technology* 93: 307-311.
- Karioti, A., Skaltsa, H., Heilmann, J. and Sticher, O. (2013) Acylated flavonoid and phenylethanoid glycosides from *Marrubium velutinum*. *Phytochemistry* 64: 655-60.
- Kocak, G., Aktan, F. and Canbolat, O. (2000) Alpha-lipoic acid treatment ameliorates metabolic parameters, blood pressure, vascular reactivity and morphology of vessels already damaged by streptozotocin-diabetes. *Diabetes, nutrition and metabolism* 13: 308-18.
- Koocheki, A., Tabrizi, L. and Ghorbani, R. (2008) Effect of biofertilizers on agronomic and quality criteria of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research* 6: 127-37.
- Kunelius, H. T., Macleod, J. A. and Mcrae, K. B. (1987) Effect of urea and ammonium nitrate on yields and nitrogen concentration of timothy and bromegrass and loss of ammonia from urea surface applications. *Canadian Journal of Plant Science* 67: 185-192.
- Mahfouz, S. A. and Sharaf Eldin, M. A. (2007) Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield, and essential oil content of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill). *International Agrophysics* 21: 361-366.
- Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J. and Nacoulma, O. G. (2005) Determination of the total phenolic, flavonoid and proanthocyanidin contents in Burkina Faso honey, as well as their scavenging activity. *Food Chemistry* 91: 571-577.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R. and Vanbeek, T. A. (2004) Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry* 85: 231-237.

- Mita, S., Murano, N., Akaike, M. and Nakamura, K. (1997) Mutants of *Arabidopsis thaliana* with pleiotropic effects on the expression of the gene for beta-amylase and on the accumulation of anthocyanin that are inducible by sugars. *Plant Journal* 11: 841-851.
- Mollafilabia, A., Khorramdel, S. and Shoorideh, H. (2013) Effect of different nitrogen fertilizers and various mulches rates on yield and yield components of garlic (*Allium sativum* L.). *Journal of Agroecology* 4: 316-326.
- Mori, T. and Sakurai, M. (1996) Riboflavin affects anthocyanin synthesis in nitrogen culture using strawberry suspended cells. *Journal of Food Science* 61: 698-702.
- Pyo, Y. H., Lee, T. C., Logendra, L. and Rosen, R. T. (2014) Antioxidant activity and phenolic compounds of Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cycla*) extracts. *Food Chemistry* 85: 19-26.
- Ratti, N., Kumar, S., Verma, H. N. and Goutam, S. P. (2001) Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to *Cymbopogon martinii* var. Motia by rhizobacteria, AMF and Azospirillum inoculation. *Microbiological Research* 156: 145-9.
- Saadati, S., Moallemi, N., Mortazavi, S. M. H. and Seyyednejad, S. M. (2013) Effects of zinc and boron foliar application on soluble carbohydrate and oil contents of three olive cultivars during fruit ripening. *Journal of Scientia Horticulturae* 164: 30-34.
- Sahpaz, S., Garbacki, N., Tits, M. and Bailleul, F. (2002) Isolation and pharmacological activity of phenylpropanoid esters from *Marrubium vulgare*. *Journal of Ethnopharmacol* 79: 389-92.
- Shakeri, H., Aminidehaghi, M., Tabatabaei, A. and Modaresmosavi, A. M. (2012) The effects of chemical and biological fertilizer on yield, yield components, oil and protein content of sesame varieties. *Journal of Agricultural and Sustainable Production* 22: 83-71.
- Sharma, A. K. (2001) A handbook of Organic Farming. Agrobios, Jodhpur (India).
- Shiboob, R. M. (2000) Effects of nitrogen fertilizer levels and biofertilizer types on growth, yield and quality of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). M S Thesis, Alexandria University, Egypt.
- Sifola, M. I. and Barbieri, G. (2006) Growth, yield and essential oil content of three cultivars of basil grown under different levels of nitrogen in the field. *Scientia Horticulturae* 108: 408-413.
- Song, C. Z., Liu, M. Y., Meng, J. F., Chi, M., Xi, Z. M. and Zhang, Z. W. (2015) Promoting effect of foliage sprayed zinc sulfate on accumulation of sugar and phenolics in berries of *Vitis vinifera* cv. Merlot growing on zinc deficient soil. *Journal of Molecules* 20: 2536-2554.
- Vahdatpour1, F., Mashayekhi, K. and zirkuhi, M. (2009) Investigation of ontioxidant effect turmeric in comparing with active coal and ascorbic acid in cultural medium of *Ulmas pavarifolia* Jasq. callus. *Journal of Plant Production* 16: 2.
- Vessey, J. K. (2003) Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer. *Plant and Soil* 255: 271-86.
- Wang, S. Y. and Jiao, H. (2000) Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals and singlet oxygen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 5677-5684.
- Yasari, E. and Patwardhan, A. M. (2007) Effects of Azotobacter and Azospirillum inoculations and chemical fertilizers on growth and productivity of canola. *Asian Journal Plant Sciences* 6: 77-82.
- Youssef, A. A., Edri, A. E. and Maa, A. M. (2004) A comparative study between some plant growth regulators and certain growth hormones producing microorganisms on growth and essential oil composition of *Salvia officinalis* L. *Plant Annal Agriculture Sciences* 49: 299-311.
- Zarcami, T. (2006) Tobacco Planting and harvesting. Tobacco Research Institute of Rasht.
- Zhang, Z., Liao, L., Moore, J., Wu, T. and Wang, Z. (2009) Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Juglans regia* L.). *Food Chemistry* 113: 160-5.

## Effects of nitroxin and ammonium sulfate on some of the traits of *Marrubium vulgare* L.

Azizollah Kheiry\*, Mohadseh Zarandood, Afsoon rezaie allolo, Taher Barzegar, Mitra Aelaei

Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran  
(Received: 18/03/2019, Accepted: 08/04/2020)

### Abstract

In order to study the effects of nitroxin bio-fertilizers (0, 3 and 6 liters per hectare) and ammonium sulfate fertilizer (0, 75 and 150 kg.ha<sup>-1</sup>) on yield, phytochemical, phenotypic and trace elements of *Marrubium vulgare* L., a factorial experiment based on completely randomized block design with three replications was conducted at Zanjan University in 2017. Nitroxin bio-fertilizer and ammonium sulfate had a significant effect on yield and mineral yield index. The highest weight of air part organs (157 g), inflorescence (349), inflorescence flowers (11.53 cm), total chlorophyll (12 mg.g<sup>-1</sup>), Phenol (112 mg.g<sup>-1</sup>), antioxidant (99.26) and tannin (35.66 mg.g<sup>-1</sup>) in combined treatments of 3 liters per hectare of nitroxin with 150 kg/ha of ammonium sulfate and 6 liters of nitroxin treatment with 75 kg/ha of ammonium Sulfate and the highest amount of flavonoid (12.96 mg.g<sup>-1</sup>) with 6 liters per hectare of nitroxin, with 150 kg ha<sup>-1</sup>, ammonium sulfate and anthocyanin (11.12 mg.g<sup>-1</sup>), were obtained in 6 liters/ha nitroxin. In conclusion, the results showed that biofertilizer consumption of nitroxin and ammonium sulfate, as compared to the control, could be effective in increasing economic performance and qualitative characteristics of plant growth.

**Keywords:** Nitroxin, Phenol, Tannin, Antioxidant, Medicinal plants

Corresponding author, Email: kheiry@znu.ac.ir