# پاسخ فیتوشیمیایی و مرفولوژیکی آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) به محلول‌پاشی محرک‌های زیستی بر پایه اسیدهای آمینه و متانول

**حسنعلی نقدی‌بادی[1]، محمدرضا لبافی[1]، نسرین قوامی[1]، اردشیر قادری[1]، وحید عبدوسی[2]، محمودرضا اقارب‌پرست[3]، علی مهرآفرین[1*]**

۱- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج، ایران
۲- عضو هیأت علمی، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
۳- دانش‌آموخته رشته باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
*آدرس مکاتبه: مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج
صندوق‌پستی: ۱۳۶۹–۳۱۳۷۵، تلفن: ۳٤۷٦٤۰۱۰ (۰۲٦)، نمابر: ۳٤۷٦٤۰۲۱ (۰۲٦).
پست الکترونیک: A.Mehrafarin@gmail.com

**تاریخ دریافت:** ۹۳/۵/۱ **تاریخ تصویب:** ۹۳/۱۰/۱۰

## چکیده

**مقدمه:** امروزه استفاده از اسیدهای آمینه و متانول به عنوان محرک‌های زیستی و گیاهی جهت افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی بسیار مورد توجه می‌باشد.

**هدف:** بررسی اثر محرک‌های زیستی و متانول بر میزان و اجزای اسانس و صفات مرفولوژیک گیاه دارویی آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.).

**روش بررسی:** این تحقیق بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۹ تیمار و سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل محلول‌پاشی محرک‌های زیستی کادوستیم، فسنوترن، هیومی‌فورته و آمینول‌فورته هریک با دو سطح ۱۰ و ۲۰ درصد حجمی متانول و همچنین یک تیمار شاهد (بدون کاربرد محرک‌های زیستی و متانول) بود.

**نتایج:** نتایج نشان داد که اثر تیمارها بر تعداد ساقه‌های فرعی، قطر ساقه در محل طوقه، وزن خشک اندام هوایی بوته، میزان تیمول و کارواکرول اسانس در سطح آماری ۱ درصد و بر تعداد برگ ساقه، ارتفاع بوته، میزان اسانس و وزن خشک برگ بوته در سطح آماری ۵ درصد معنی‌دار بوده است. بیشترین ارتفاع بوته، تعداد ساقه‌های فرعی، تعداد برگ ساقه، وزن خشک ساقه بوته، وزن خشک برگ بوته، وزن خشک اندام هوایی بوته در تیمار کادوستیم و ۲۰ درصد حجمی متانول و بیشترین قطر ساقه در محل طوقه، میزان اسانس، میزان تیمول و کارواکرول در تیمار هیومی‌فورته و ۲۰ درصد حجمی متانول حاصل شد.

**نتیجه‌گیری:** نتایج بیانگر افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی آویشن باغی تحت تأثیر کاربرد محرک‌های زیستی کادوستیم و هیومی‌فورته به همراه ۲۰ درصد حجمی متانول بود. بنابراین با کاربرد توأم محرک‌های زیستی و متانول می‌توان همگام با کاهش مصرف کودهای شیمیایی در راستای کشاورزی پایدار و کاهش آلودگی‌های زیستی گام برداشت.

**گل‌واژگان:** *Thymus vulgaris* L.، اسانس، اسیدهای آمینه، تیمول، کارواکرول

## مقدمه

رویکرد روزافزون به استفاده از گیاهان دارویی و فرآورده‌های به دست آمده از آن نقش این گیاهان را در چرخه اقتصادی جهانی پررنگ‌تر کرده، به طوری که مصرف رو به افزایش آنها تنها به کشورهای در حال توسعه محدود نبوده بلکه در کشورهای پیشرفته نیز توسعه فراوانی یافته‌اند [۱]. صرف‌نظر از ارزش اقتصادی، گیاهان دارویی قابل تطابق با روش‌های کشت ارگانیک هستند که تمایل تولید کننده‌ها و مصرف‌کننده‌ها را به همراه دارد [۲]. در تولید گیاهان دارویی، علاوه‌بر شرایط آب و هوایی و عوامل خاک، نوع عناصر غذایی از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشند، زیرا عناصر غذایی با تأثیری که بر رشد رویشی و زایشی گیاهان دارند، نسبت اندام‌های زایشی به رویشی را تغییر داده و از این طریق بر کیفیت و کمیت اسانس محصول مؤثر می‌باشند [۱]. آویشن (*Thymus vulgaris* L.) یکی از گیاهان تیره نعناع است که در نواحی مختلف مدیترانه و برخی نواحی آسیا می‌روید و امروزه در مناطق مختلف جهان و از جمله در ایران کشت و تولید می‌شود [۳]. آویشن دارای حدود ۰/۸ تا ۲/٦ درصد اسانس از ماده خشک است که قسمت اعظم آن را فنول‌ها، هیدروکربن‌های مونوترپنی و الکل‌ها تشکیل می‌دهند. تیمول جزء اصلی ترکیبات فنولی در گیاه آویشن است. از برگ آویشن در فرآورده‌های غذایی و همچنین از اسانس گیاه در نوشیدنی‌ها و صنایع دارویی بهداشتی و آرایشی استفاده می‌شود. روغن آویشن دارای خواصی نظیر ضداسپاسم، بادشکن، ضدقارچی و ضدباکتریایی، ضدعفونی‌کننده، ضدکرم، خلط‌آور، آنتی‌اکسیدان و غیره می‌باشد. اسانس آویشن از جمله اسانس‌های معروف می‌باشد که جایگاه خاصی در تجارت جهانی دارد [٤]. سرشاخه‌ها و برگ‌های گیاه آویشن دارای مواد شیمیایی متعددی است که دو ایزومر به نام تیمول و کارواکرول از مهم‌ترین آنها می‌باشد.

محرک‌های زیستی، مجموعه ترکیباتی هستند که زیستن را تحریک می‌کنند. گروهی از آنها به عنوان ترکیبات مؤثر در واکنش و پاسخ مطلوب گیاهی به شرایط محیطی و گروهی دیگر به عنوان ترکیبات محرک افزایش رشد، می‌توانند عملکرد کمی و کیفی گیاه را تحریک کنند [٦، ۵]. به طور کلی، محرک‌های زیستی مواد بیولوژیکی هستند که باعث تحریک متابولیسم و فرآیندهای متابولیکی در جهت افزایش کارآیی گیاهان می‌شوند و از جمله این ترکیبات می‌توان به محرک زیستی آمینول‌فورته، هیومی‌فورته، کادوستیم و فسنوترن اشاره کرد که این ترکیبات دارای فرمول پایه اسیدهای آمینه بوده و رشد کمی و کیفی گیاهان را تحریک می‌کنند [۷]. در شرایط نامساعد محیطی عمل ساخت اسیدهای آمینه دشوار یا متوقف می‌شود که مصرف اسیدهای آمینه به صورت کود، نیاز ساخت آن را توسط گیاه برطرف می‌کند و این امکان را به گیاه می‌دهد که انرژی ذخیره شده خود را صرف رشد بیشتر و بالا بردن عملکرد و کیفیت محصول نماید [٦، ۵].

الکل‌ها یکی از مهم‌ترین گروه‌های ترکیبات را در شیمی آلی تشکیل می‌دهند. فراوانی گسترده‌ای در طبیعت دارند و در صنعت و آزمایشگاه نیز به راحتی قابل سنتز هستند [۸]. استفاده از ترکیبات الکلی برای تحریک رشد موجودات فتوسنتزکننده، برای اولین بار در سال ۱۹۵۱ توسط بنسون (Benson) گزارش شد. بنسون (۱۹۵۱) در مطالعه‌ای که بر روی جلبک‌های سبز انجام داد، بیان کرد که این جلبک‌ها می‌توانند از متانول به عنوان منبعی برای دی‌اکسیدکربن استفاده کرده و رشد خود را افزایش دهند [۹]. سپس کوسینز (Cossins) در سال ۱۹٦٤ نشان داد که گیاهان $C_3$ نیز قادر به متابولیز کردن متانول و افزایش فتوسنتز و در نتیجه افزایش رشد خود هستند [۱۰]. در گیاهان متانول ابتدا به فرمالدئید (که بعداً به قند فسفات تبدیل می‌شود) و دی‌اکسیدکربن اکسیده می‌شود [۱۱]. تحقیقات انجام شده بر روی گیاه چای (*Camellia* spp.) نشان داد که کاربرد محرک‌های زیستی در این گیاه باعث افزایش جذب $CO_2$ فتوسنتزی می‌شود [۱۲] و از سویی جذب $CO_2$ فتوسنتزی و کنترل روزنه‌ها نیز ارتباط مستقیم با یکدیگر دارند [۱۳]. هدف از انجام این تحقیق مطالعه و بررسی تأثیر محرک‌های زیستی بر پایه اسیدهای آمینه و متانول بر عملکرد ماده خشک، کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی آویشن باغی است.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۹ تیمار و ۳ تکرار در ۲۷ واحد آزمایشی گلدانی در گلخانه‌ی تحقیقاتی گیاهان دارویی اجرا شد. پس از کاشت بذر در بهمن‌ماه سال ۱۳۹۰ گیاهچه‌های همسان و هم‌اندازه آویشن باغی با ریشه مناسب و کیفیت مطلوب رشدی در اول مهرماه سال ۱۳۹۱ به گلدان‌ها انتقال داده شدند. برای حفظ وضعیت بوته‌ها در حد مطلوب نیز، عملیات زراعی بر اساس نیاز گیاهان به طور یکسان در هر تیمار اعمال شد. ترکیبات و محرک‌های زیستی دارای اسیدآمینه (آمینول فورته، فسنوترن، کادوستیم و هیومی‌فورته) از شرکت فرآورده‌های بیولوژیکی ایناگروپارس (Inagropars) که جهت مصرف در اقلیم ایران تهیه شده بود، استفاده شد (جدول شماره ۱).

مقدار و نوع اسیدهای آمینه آزاد در فرمولاسیون تمام محرک‌های زیستی مورد استفاده در این تحقیق بر اساس درصد از کل ترکیب اسیدهای آمینه عبارتند از گلایسین ۱۱/۲ درصد، والین ۵/۱ درصد، پرولین ۸/۳ درصد، آلانین ۱۳/۲ درصد، اسید آسپارتیک ٤/٤ درصد، آرژینین ۸/۳ درصد، اسید گلوتامیک ۰/۹ درصد، لیزین ۵/۱ درصد، لوسین ١٦/٤ درصد، ایزولوسین ٤/٤ درصد، فنیل آلانین ۵/۱ درصد، متیونین ٤/۲ درصد، سرین ۳/۹ درصد، ترئونین ۳ درصد، هیستیدین ۳ درصد، تیروزین ۱/۵ درصد، گلوتامین ۰/۹ درصد، سیستئین ۰/۳ درصد، آسپارژین ۰/٤ درصد و تریپتوفان ۰/٤ درصد [٦، ۵].

**روش تهیه، زمان و نحوه محلول‌پاشی**

مبنای تهیه تیمارهای محلول‌پاشی به طور جداگانه برای هر نوع محرک‌زیستی بر پایه اسید آمینه به میزان ۲ لیتر در هکتار در ۵۰۰ لیتر آب و همچنین مقدار متانول بر حسب درصد حجمی در فرمولاسیون محلول محاسبه شد [۱۰، ۹، ٦، ۵]. جهت افزایش بازده نفوذ محلول در گیاه، محلول‌پاشی محرک‌های زیستی در شرایط عدم وزش باد و باران انجام شد. محلول‌پاشی در چهار مرحله به فاصله زمانی ۱۵ روز یک‌بار انجام شد. اولین محلول‌پاشی در تاریخ ۳۰ فروردین ۱۳۹۲ انجام گرفت. دومین محلول‌پاشی ۱۵ روز پس از اولین محلول‌پاشی، سومین محلول‌پاشی در مرحله شروع گلدهی و ۳۰ روز پس از اولین محلول‌پاشی و آخرین مرحله محلول‌پاشی ٤۵ روز پس از اولین محلول‌پاشی انجام گرفت و ۱۵ روز پس از آن نمونه‌های گیاهی جهت آنالیز آماری برداشت شدند. مدت زمان محلول‌پاشی بوته‌ها تا هنگام جاری شدن قطره‌های محلول از روی سطح بوته‌ها ادامه یافت. به منظور ارزیابی میزان اسانس، تیمول و کارواکرول اسانس و همچنین اندازه‌گیری خصوصیات مورفولوژیکی آویشن، برداشت بوته‌ها در اوایل مرحله گل‌دهی به دلیل وجود حداکثر مقدار اسانس در این مرحله رشدی انجام شد [٤].

**جدول شماره ۱- تیمارهای محلول‌پاشی محرک‌های زیستی و متانول در آزمایش**

| ردیف | فرمولاسیون تیمارهای محلول‌پاشی |
|---|---|
| ۱ | محلول محرک زیستی آمینول فورته + ۱۰ درصدحجمی متانول |
| ۲ | محلول محرک زیستی آمینول فورته + ۲۰ درصدحجمی متانول |
| ۳ | محلول محرک زیستی فسنوترن + ۱۰ درصدحجمی متانول |
| ٤ | محلول محرک زیستی فسنوترن + ۲۰ درصدحجمی متانول |
| ۵ | محلول محرک زیستی کادوستیم + ۱۰ درصدحجمی متانول |
| ٦ | محلول محرک زیستی کادوستیم + ۲۰ درصدحجمی متانول |
| ۷ | محلول محرک زیستی هیومی‌فورته + ۱۰ درصدحجمی متانول |
| ۸ | محلول محرک زیستی هیومی‌فورته + ۲۰ درصدحجمی متانول |
| ۹ | تیمار شاهد (محلول‌پاشی با آب مقطر و بدون کاربرد هر گونه محرک‌زیستی) |

**استخراج اسانس و تعیین میزان تیمول و کارواکرول اسانس**

به منظور تعیین میزان اسانس در گیاه، نمونه‌بردای از کرت‌های آزمایشی با رعایت اثر حاشیه‌ای انجام شد. نمونه‌ها در سایه و هوای آزاد خشک شدند و سپس مقدار ۵۰ گرم از ماده خشک هر واحد آزمایشی برای اسانس‌گیری برداشته شد. هر نمونه بعد از آسیاب شدن، به درون یک بالن یک لیتری ریخته و مقدار ۳۰۰ میلی‌لیتر آب به آن اضافه شد. به مدت ٤ ساعت با استفاده از روش تقطیر با آب بوسیله دستگاه کلونجر (Clevenger)، اسانس‌گیری صورت گرفت و توسط سولفات سدیم آب‌زدایی شد و سپس درصد اسانس تعیین شد [١٤].

جهت آنالیز اسانس و شناسایی تیمول و کارواکرول آن از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) استفاده شد. دستگاه کارماتوگرافی استفاده شده از نوع Agilent 6890 با ستون به طول ۳۰ متر قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. برنامه دمایی آون به این صورت تنظیم شد که دمای ابتدایی آن ۵۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، دمای انتهایی ۲٤۰ درجه سانتی‌گراد و گرادیان حرارتی ۳ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه و سه دقیقه توقف در این دما بود. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان (فلو) ۰/۸ میلی‌متر در دقیقه استفاده شد. طیف‌نگار جرمی مورد استفاده مدل Aglent 5973 با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری آنها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع و مقالات و با استفاده از طیف‌های جرمی و ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری صورت گرفت [۱۵]. طیف‌های به دست آمده از طریق مقایسه با طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد شناسایی شدند و سپس با استفاده از محاسبه شاخص‌های بازداری (RI) و با تزریق هیدروکربن‌های نرمال مورد تأیید قرار گرفتند. درصد هریک از ترکیبات مهم تیمول و کارواکرول نیز با توجه به سطح زیر منحنی آن در طیف کروماتوگرام حاصل از GC با روش Area Normalization به دست آمد [۱۵].

**روش تحلیل آماری اطلاعات**

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی توسط نرم‌افزارهای SPSS (ver. 17) و Excel (2003) انجام و میانگین‌های صفات مورد سنجش بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح آماری ۵ درصد مقایسه شدند.

## نتایج

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تیمارهای مختلف بر صفات تعداد ساقه‌های فرعی، قطر ساقه در محل طوقه، میزان کارواکرول، مقدار تیمول و وزن خشک اندام هوایی بوته در سطح آماری یک درصد و بر دیگر خصوصیات شامل تعداد برگ ساقه، ارتفاع بوته، میزان اسانس و وزن خشک برگ بوته در سطح آماری پنج درصد دارای اثر معنی‌دار بودند (جدول شماره ۲).

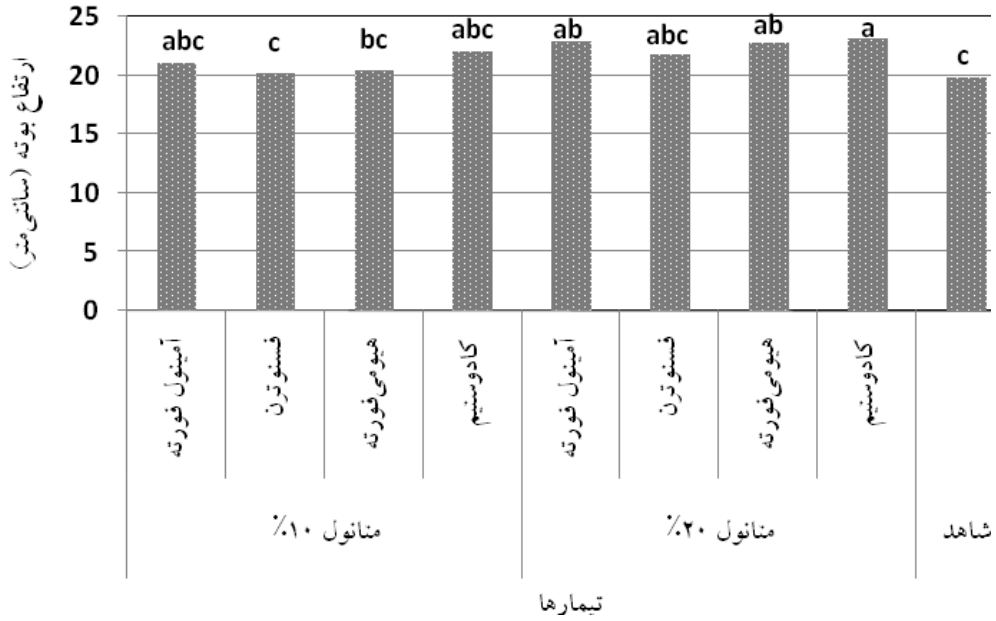
بیشترین ارتفاع بوته با ۲۳/۲ سانتی‌متر ارتفاع (شکل شماره ۱) در تیمار کادوستیم و ۲۰ درصد حجمی متانول و بیشترین قطر ساقه در محل طوقه با ۱/٤٦ سانتی‌متر قطر (شکل شماره ۲) در تیمار هیومی فورته و ۲۰ درصدحجمی متانول به دست آمد. بیشترین تعداد ساقه‌های فرعی با میانگین ۱۲/٦ (شکل شماره ۳)، تعداد برگ ساقه با میانگین ۲۰/۹ (شکل شماره ٤)، وزن خشک برگ بوته با میانگین ١٤/٥٧ گرم (شکل شماره ۵) و بیشترین وزن خشک اندام هوایی بوته با میانگین ۳۰ گرم (شکل شماره ٦) را تیمار کادوستیم و ۲۰ درصد حجمی متانول به خود اختصاص داد. بیشترین میزان اسانس با میانگین ۲/٤ درصد (شکل شماره ۷)، میزان تیمول با میانگین ٦٤/۸ درصد (شکل شماره ۸) و میزان کارواکرول با میانگین ۰/٥٤ درصد (شکل شماره ۹) در کاربرد تیمار هیومی‌فورته و ۲۰ درصد حجمی متانول مشاهده شد.

**جدول شماره ۲**- جدول تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف اسیدآمینه و متانول بر خصوصیات آویشن باغی

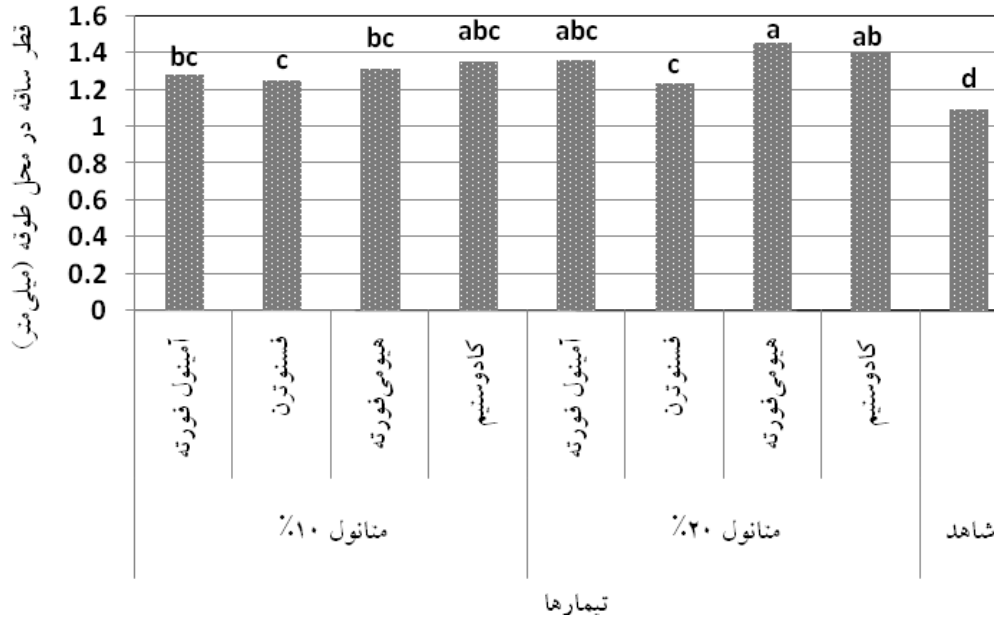
| منابع تغییرات | درجه آزادی | وزن خشک ساقه بوته | تعداد برگ ساقه | تعداد ساقه‌های فرعی | قطر ساقه در محل طوقه | ارتفاع بوته |
|---|---|---|---|---|---|---|
| تیمار | ۸ | ۱۰/۵۵ ns | ٤/٤٢* | ۸/۱۵** | ۰/۰۳٤** | ٤/۷* |
| بلوک | ۲ | ٦/۵ns | ۵/۲۸* | ۱/۵۲ ns | ۰/۰۰٤ ns | ۱/۲٦ ns |
| خطا | ۱٦ | ٤/۲ | ۱/۲۲ | ۰/۹۱ | ۰/۰۰۵ | ۱/۷۸ |
| ضریب تغییرات | - | ۱۵/٤ | ۵/۸ | ۱۰/۲۸ | ۵/٦۱ | ٦/۱۸ |

**ادامه جدول شماره ۲-**

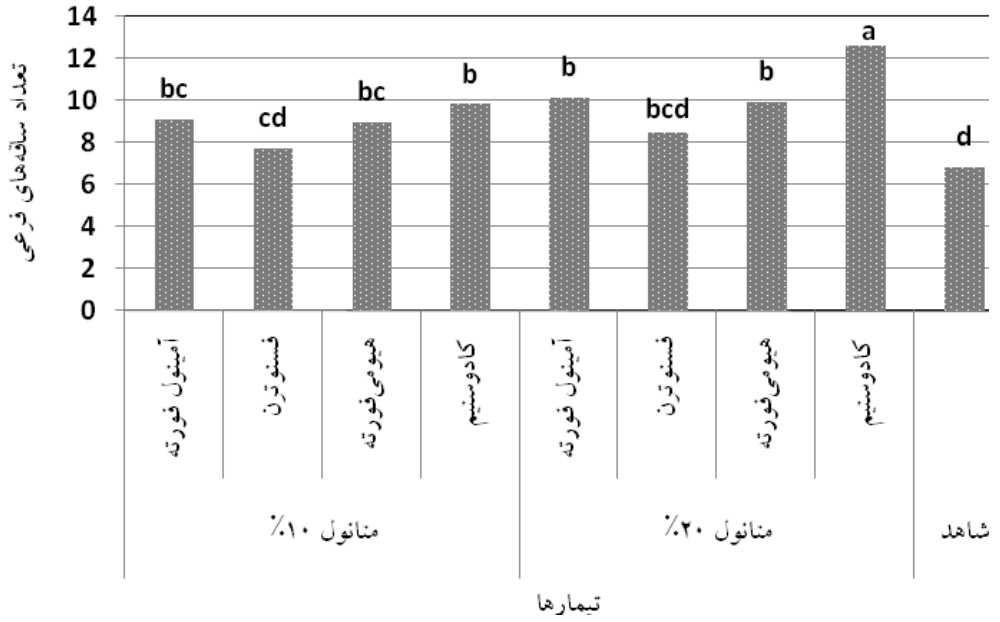
| منابع تغییرات | درجه آزادی | میزان کارواکرول | میزان تیمول | میزان اسانس | وزن خشک اندام هوایی بوته | وزن خشک برگ بوته |
|---|---|---|---|---|---|---|
| تیمار | ۸ | ۰/۰۰٦۳** | ۲۰٦/۳** | ۰/۱۱* | ۳۹/۱۸** | ۹/۳۵* |
| بلوک | ۲ | ۰/۰۰۰۰۱ ns | ٦/۰٤ ns | ۰/٤** | ۱۸/۳ ns | ۳/۰۲ ns |
| خطا | ۱٦ | ۰/۰۰۰۱ | ۲/۵ | ۰/۰٤ | ۷/۸ | ۲/٦ |
| ضریب تغییرات | - | ۲/۲٤ | ۳/۲۸ | ۹/۷۷ | ۱۱/۱۵ | ۱۳/۹۱ |



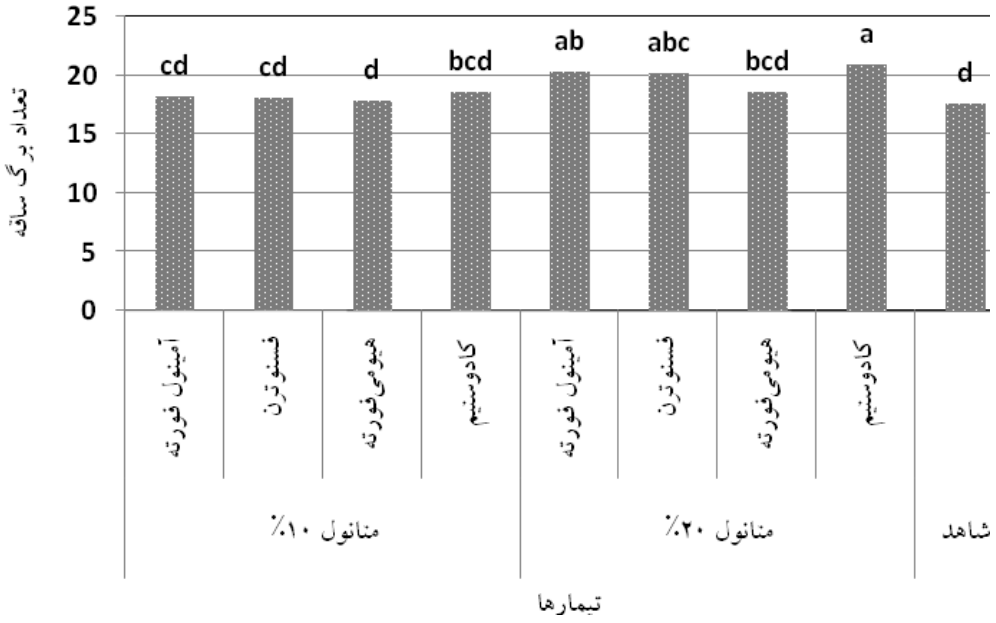

**شکل شماره ۱- تغییرات ارتفاع بوته آویشن باغی تحت تأثیر تیمارهای محلول‌پاشی محرک‌های زیستی و متانول بر اساس آزمون مقایسه میانگین چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد**



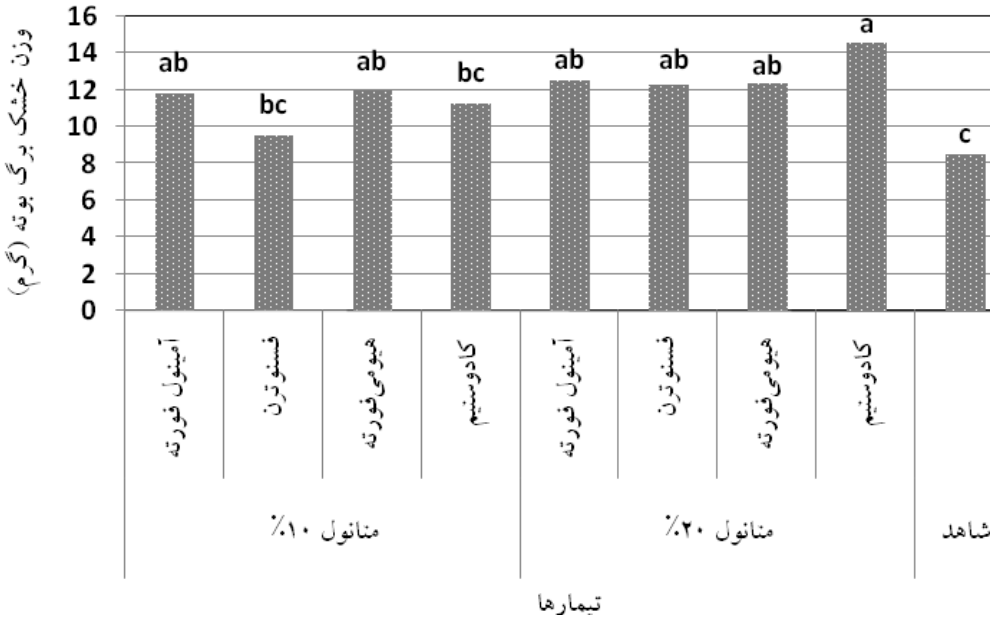

**شکل شماره ۲- تغییرات قطر ساقه در محل طوقه آویشن باغی تحت تأثیر تیمارهای محلول‌پاشی محرک‌های زیستی و متانول بر اساس آزمون مقایسه میانگین چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۱ درصد**



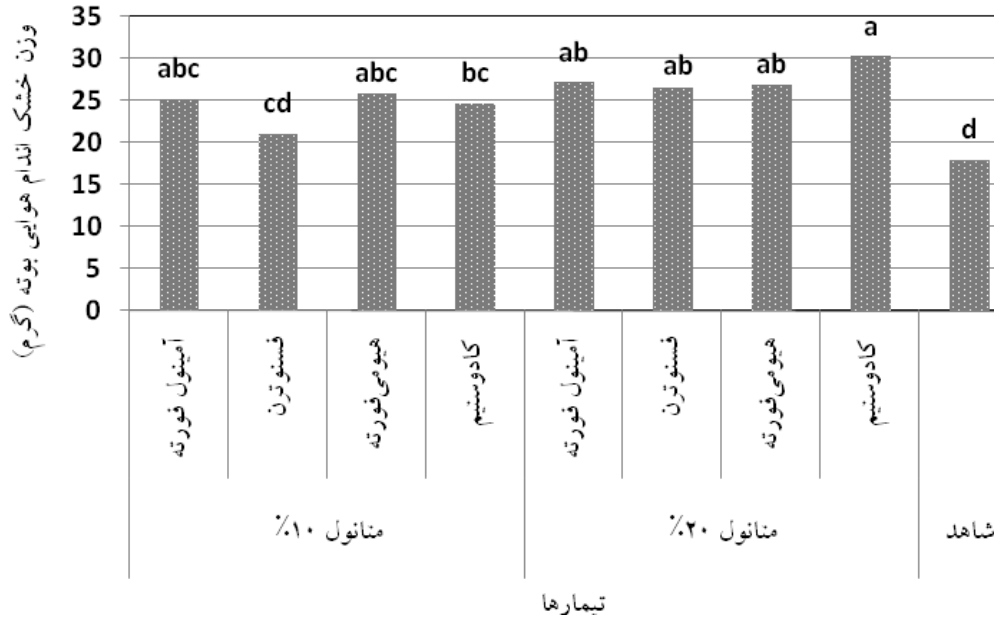

**شکل شماره ۳- تغییرات تعداد ساقه‌های فرعی آویشن باغی تحت تأثیر تیمارهای محلول‌پاشی محرک‌های زیستی و متانول بر اساس آزمون مقایسه میانگین چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱ درصد**



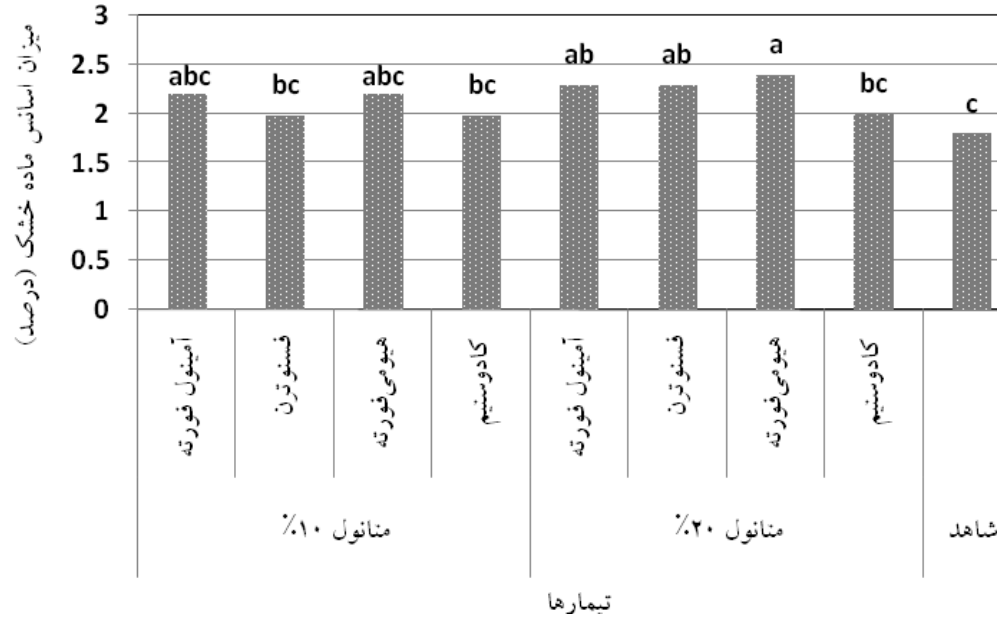

**شکل شماره ٤- تغییرات تعداد برگ ساقه آویشن باغی تحت تأثیر تیمارهای محلول‌پاشی محرک‌های زیستی و متانول بر اساس آزمون مقایسه میانگین چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد**



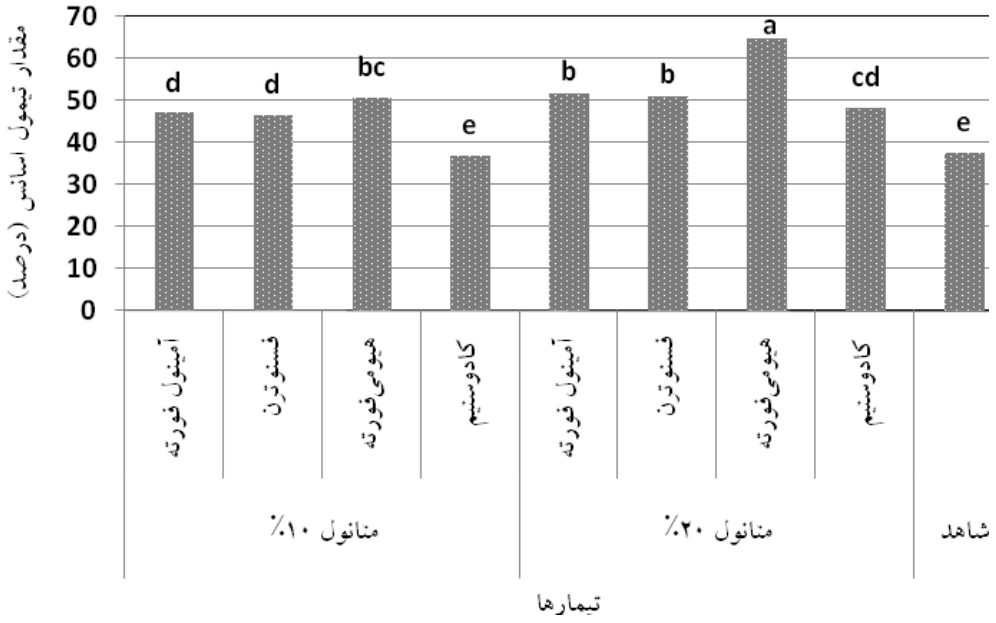

**شکل شماره ۵- تغییرات وزن خشک برگ بوته آویشن باغی تحت تأثیر تیمارهای محلول‌پاشی محرک‌های زیستی و متانول بر اساس آزمون مقایسه میانگین چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد**



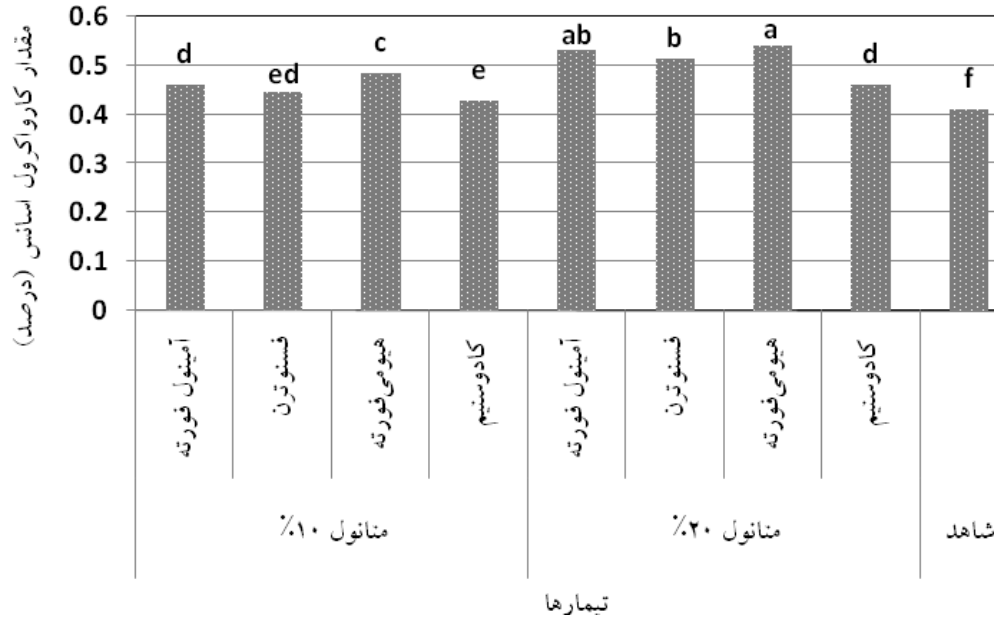

**شکل شماره ٦- تغییرات وزن خشک اندام هوایی بوته آویشن باغی تحت تأثیر تیمارهای محلول‌پاشی محرک‌های زیستی و متانول بر اساس آزمون مقایسه میانگین چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۱ درصد**




**شکل شماره ۷- تغییرات میزان اسانس آویشن باغی تحت تأثیر تیمارهای محلول‌پاشی محرک‌های زیستی و متانول بر اساس آزمون مقایسه میانگین چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد**




**شکل شماره ۸- تغییرات مقدار تیمول اسانس آویشن باغی تحت تأثیر تیمارهای محلول‌پاشی محرک‌های زیستی و متانول بر اساس آزمون مقایسه میانگین چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱ درصد**




**شکل شماره ۹- تغییرات مقدار کارواکرول اسانس آویشن باغی تحت تأثیر تیمارهای محلول‌پاشی محرک‌های زیستی و متانول بر اساس آزمون مقایسه میانگین چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱ درصد**

## بحث

به طورکلی کاربرد تیمار کادوستیم در آزمایش حاضر سبب افزایش رشد اندام هوایی نظیر ارتفاع بوته، تعداد ساقه‌های فرعی، تعداد برگ ساقه و نیز عملکرد خشک اندام هوایی شد. استفاده از این تیمار ضمن فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه، موجبات افزایش پیکره رویشی و تولید زیست توده

گیاهی را نیز فراهم کرد. به عبارتی، افزایش قابل توجهی که در اثر استفاده از محرک‌های زیستی و از طریق بهبود رشد و نمو در عملکرد رویشی آویشن مشاهده شد، حاصل تخصیص مواد فتوسنتزی بیشتر و به دنبال آن افزایش عملکرد خشک اندام هوایی است. برخی از مطالعات نشان داده که گیاهان می‌توانند نیتروژن را در قالب اسیدهای آمینه بدون تکیه بر کانی‌سازی معدنی جذب کنند [۱۶]. محلول کادوستیم شامل ترکیبات نیتروژن‌دار و انواع اسیدهای آمینه می‌باشد که امکان جذب نیتروژن توسط گیاه را افزایش می‌دهد و با افزایش نیتروژن فاکتورهای مربوط به رشد گیاه و از آن جمله ارتفاع افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد که محرک‌های زیستی از طریق افزایش جذب آب و عناصر غذایی، سبب افزایش فتوسنتز شده و این امر موجب تولید فرآورده بیشتر و بهبود ارتفاع گیاه شده است. به طور کلی می‌توان بیان کرد که فراهم بودن اسیدهای آمینه و نیتروژن در مراحل آغازین رشد، طویل شدن بخش‌های هوایی گیاه را افزایش می‌دهد. نتایج مشابهی نیز در همین خصوص نشان داد که اثر اسپری گیاهان با اسید آمینه باعث افزایش چشم‌گیر در ارتفاع گیاه کرفس وحشی شد [۱۷]. این تحقیق نشان داد که اسیدهای آمینه مقدار نیتروژن را در مقایسه با شاهد به طور قابل توجهی افزایش داد. نتیجه حاصل از قطر ساقه در محل طوقه با نتایج دیگر محققان [۱۸] در کاربرد اسیدهای آمینه تیروزین، تیامین و تریپتوفان بر روی گیاه *Thuja orientalis* L. مطابقت داشت و به این نتیجه رسیدند که تمام پارامترهای رشدی با افزایش غلظت اسیدهای آمینه افزایش نشان داده‌اند. اثر مثبت اسیدهای آمینه بر عملکرد ممکن است به دلیل اثر محرک این آنها بر رشد سلول‌های گیاهی باشد. به نظر می‌رسد که تیمار کادوستیم با فراهم نمودن و تسهیل جذب اسیدهای آمینه و عناصر ضروری رشد (بخصوص نیتروژن و پتاسیم) می‌تواند تعداد ساقه‌های فرعی و جانبی را در گیاهان را افزایش دهد و کمبود ترکیبات نیتروژن در فرمولاسیون هیومی‌فورته سبب کاهش تعداد ساقه‌های فرعی در استفاده از این تیمار باشد [۱۶]. در تفسیر این اثر می‌توان چنین اظهار نظر کرد که افزایش میزان عناصر غذایی در دسترس گیاه بخصوص نیتروژن، باعث تحریک رشد گیاه و افزایش تعداد ساقه‌های فرعی می‌شود و تیمار کادوستیم از طریق جذب بیشتر نیتروژن و افزایش میزان فتوسنتز موجب افزایش تعداد ساقه می‌شود. این تأثیر مثبت را می‌توان به قابلیت کادوستیم در تأمین عناصر غذایی و در نتیجه بهبود فتوسنتز و همچنین ارتباط نزدیک و مثبتی که اغلب میان میزان فتوسنتز خالص و میزان مواد غذایی کانی برگ‌ها مشاهده می‌شود، نسبت داد [۱۹]. تیمار کودی از طریق افزایش جذب آب، افزایش وزن تر را به همراه دارد در حالی که تیمار کادوستیم به دلیل وجود اسیدهای آمینه مؤثر در روند پروتئین‌سازی، افزایش وزن گیاه را به همراه دارد که در اثر از دست دادن آب تغییر قابل توجهی در وزن ایجاد نمی‌شود. نتایج این تحقیق با گزارشی از گیاه داتوره (*Datura* spp.) که حاکی از افزایش وزن تر و خشک گیاه با استفاده از اسیدهای آمینه بود، مطابقت دارد [۲۰]. در دیگر بررسی اثر اسیدهای آمینه و دوره‌های آبیاری بر بعضی از خصوصیات خاکشیر (*Descurainia sophia* L.) معلوم شد که تیمارهای آمینول-فورته، هیومی فورته، کادوستیم و فسنوترن محلول‌پاشی شده در سه مرحله ۲۵، ۵۰ و ۷۵ روز بعد از جوانه‌زنی و دوره‌های آبیاری اثر معنی‌داری بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی خاکشیر داشتند، به‌طوری‌که بیشترین قطر ساقه، نسبت شاخساره به ریشه، ارتفاع گیاه و میزان اسانس گیاه با کادوستیم و با آبیاری در مرحله پر کردن دانه به دست آمد [۲۱] که با نتایج حاصل مطابقت دارد. همچنین در آزمایشی که توسط گلزاده و همکاران (۱۳۹۰) صورت گرفت تأثیر محرک‌های زیستی آمینول- فورته، کادوستیم، فسنوترن و هیومی فورته (هر کدام با غلظت‌های ۰/۷۵ و ۱/۵ لیتر بر هکتار) بر گیاه بابونه آلمانی (*Matricaria recutita* L.) بررسی شد. نتایج نشان داد که تیمارهای اعمال شده دارای اثرات معنی‌دار بر ارتفاع بوته، قطر کاپیتول، تعداد کاپیتول بوته، وزن تر و خشک کاپیتول در هکتار، عملکرد اسانس در هکتار، مقدار کامازولن، مقدار فلاونوئید کل و شاخص برداشت بودند [۲۲].

اولین شرط جهت دستیابی به عملکرد بالا در واحد سطح، تولید ماده خشک زیاد است. زیرا حدود ۹۰ درصد وزن خشک گیاهان ناشی از آسیمیلاسیون $CO_2$ توسط فتوسنتز است. در

نتیجه افزایش سرعت تثبیت $CO_2$ برای بالابردن ظرفیت تولید گیاهان زراعی می‌تواند مفید باشد و برای دست‌یابی به این هدف می‌توان از الکل‌ها بخصوص متانول و اتانول استفاده نمود [۲۳]. یکی دیگر از علل تجمع ماده خشک در گیاهان تیمار شده با متانول، مختل شدن تنفس نوری و در نتیجه افزایش ماده خشک کل است [۲٤]. متابولیسم متانول می‌تواند بر مسیر بیوسنتزی متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی اثرات مختلفی داشته باشد. یکی از راه‌های تغییر بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی (مانند متابولیت‌های اجزای اسانس) مواجه شدن با تنش‌ها و یا هر محرکی است که بتواند مسیر بیوسنتز را تحت تأثیر قرار دهد. این تحقیق نشان داد که محلول‌پاشی متانول ممکن است با تأثیر بر مسیر بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه به عنوان یک عامل محرک تولید، سبب افزایش میزان (درصد) و یا عملکرد کارواکرول و تیمول در گیاه دارویی آویشن شده باشد. الکل‌ها با افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه، افزایش تولید سیتوکنین و تحریک رشد گیاه، افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و کاهش تنفس نوری، می‌توانند در رشد گیاهان و تغییر محتوای فیتوشیمیایی گیاهان تأثیر داشته باشد [۲۵]. مشاهدات نشان می‌دهد که افزایش رشد و عملکرد گیاهان در اثر کاربرد محلول‌های متانول بر روی قسمت‌های هوایی ناشی از اثر متانول به عنوان یک بازدارنده تنفس نوری است. همچنین متانول با تأخیر در پیری برگ‌ها سبب فعالیت فتوسنتزی بیشتر برگ‌ها می‌شود و این سبب افزایش عملکرد می‌شود [۲٦]. در تحقیقی که خسروی و همکاران (۱۳۹۱) روی محلول‌پاشی الکل‌ها بر گیاه دارویی سرخارگل انجام داد ارتفاع بوته در تیمارهای ۳۰ و ٤۰ درصد حجمی متانول بیشترین تأثیر را بر روی ارتفاع گیاه داشته است [۲۷]. در دیگر تحقیقی که خسروی و همکاران (۱۳۹۰) روی محلول‌پاشی الکل‌ها بر گیاه دارویی بادرنجبویه انجام داد، مشاهده کرد که تیمار ۳۰ درصد حجمی متانول بیشترین تأثیر را بر روی ارتفاع بادرنجبویه داشته است [۲۵]. همچنین مشخص شد که بیشترین تأثیر بر روی قطر طوقه مربوط به متانول ٤۰ درصد حجمی بوده است که با متانول ۳۰ درصد حجمی تفاوت معنی‌داری را نداشته است و کمترین آن نیز مربوط به تیمار شاهد بدون آب مقطر بوده است [۲۵]. اثر مثبت محلول‌پاشی متانول بر رشد گیاهان در مقایسه با افزایش رشد ناشی از محلول‌پاشی عناصر غذایی روی قسمت‌های هوایی آنها خیلی بعید به نظر می‌رسد. اما گزارش‌هایی وجود دارند که نشان می‌دهند افزایش رشد و عملکرد گیاهان در اثر کاربرد محلول‌های متانول بر روی قسمت‌های هوایی آنها ناشی از عمل متانول به عنوان یک بازدارنده تنفس نوری و محرک افزایش فتوسنتز می‌باشد [۲۸]. در اوایل دهه ۹۰ میلادی گزارش شد که کاربرد متانول روی قسمت‌های هوایی گیاهان زراعی باعث افزایش عملکرد، تسریع رسیدگی و کاهش اثر تنش خشکی و کاهش نیاز آبی در آنها می‌شود. سپس اعلام شد که اثرات متانول بر روی گیاهان، زمانی مشاهده می‌شود که گیاهان در شرایطی نظیر تنش خشکی، دمای بالای هوا و یا در معرض نور زیاد خورشید قرار داشته باشند [۲٤]. زیبک (Zbiec) و همکاران (۲۰۰۳) در بررسی اثر محلول‌پاشی الکل‌ها بر روی گیاهانی مانند ژرانیوم، گندم، منداب، شلغم، چغندرقند افزایش عملکرد کمی و کیفی در هر یک از گیاهان را گزارش کردند [۲۹]. ساجدی مقدم و همکاران (۱۳۹۱) نشان دادند که هر چند ماده خشک آویشن به واسطه اعمال تیمار ۵۰ درصد اتانول نسبت به ۲۰ درصد متانول بیشتر بوده است اما با توجه به میزان عملکرد اسانس گیاه در واحد سطح، اقتصادی‌ترین تیمار هیدروالکلی در تولید اسانس آویشن تیمار ۲۰ درصد متانول می‌باشد که با نتایج به دست آمده در این آزمایش همخوانی دارد [۳۰].

## نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج نشان داد که بیشترین ارتفاع بوته، تعداد ساقه‌های فرعی، تعداد برگ ساقه، وزن خشک برگ بوته، وزن خشک اندام هوایی بوته در تیمار کادوستیم و ۲۰ درصد حجمی متانول و نیز بیشترین قطر ساقه در محل طوقه، میزان اسانس، تیمول و کارواکرول در تیمار هیومی‌فورته و ۲۰ درصد حجمی متانول حاصل شده است. در مجموع نتایج حاصل از این آزمایش بیانگر افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی آویشن تحت تأثیر محرک‌های زیستی کادوستیم و هیومی‌فورته

با کاربرد ۲۰ درصد حجمی متانول بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که با کاربرد تنظیم‌کننده‌ها و محرک‌های زیستی بر پایه اسیدهای آمینه و متانول می‌توان توان تولید متابولیت‌های دارویی گیاهان را افزایش و در راستای کشاورزی پایدار و کاهش آلودگی‌های زیستی گامی مؤثر برداشت.

## منابع


**1.** Moradi R, Rezvani Moghaddam P, Nasiri Mahallati M and Lakzian A. The effect of application of organic and biological fertilizers on yield, yield components and essential oil of *Foeniculum vulgare* (Fennel). *Iranian Journal of Field Crops Res*. 2010; 7 (2): 625 - 35.

**2.** Mirjalili MH. World economic situation aromatic plants. *Journal of Zeitoun* 2003; 157: 26 - 29.

**3.** Koocheki A, Nasiri Mahallati M and Azizi G. The effect of water stress and defoliation on some of quantitative traits of *Zatatria multiflora, Ziziphora clinopodioides, Thymus vulgaris* and *Teucrium polium. Iranian Journal of Field Crops Res*. 2004; 2 (1): 89 - 105.

**4.** Naghdi badi H and Makkizadeh M. Review of common thyme. *J. Med. Plants* 2003; 2 (7): 1 - 12.

**5.** Thomas J, Mandal A and Raj Kumar R. Role of biologically active amino acid formulations on quality and crop productivity of tea (*Camellia* sp.). *Chordia A. Int. J. Agric. Res.* 2009; 4: 228 - 36.

**6.** Gawronska H. Biostimulators in modern agriculture (General aspects). Plant press Warsaw University of life sciences (WULS). 2008, pp: 89.

**7.** Starck Z. Growing assistant: Application of growth regulators and biostimulators in modern plant cultivation (in Polish). *Rolnik Dzier¿awca*. 2005; 2: 74 - 6.

**8.** Ehyaee H, Parsa M, Kafi M and Nasiri Mahallati M. Effect of foliar application of methanol and irrigation regimes on yield and yield components of chickpea cultivars. *Iranian Journal of Pulses Res*. 2011; 1 (2): 37 - 48.

**9.** Benson AA. Identification of ribulose in $^{14}CO_2$ photosynthetic products. *J. Am. Chem. Soc.* 1951; 73: 2971 - 2.

**10.** Cossins EA. The utilization of carbon-compounds by plants. I. The metabolism of methanol-$^{14}C$ and its role in amino acid biosynthesis. *Can. J. Biochem*. 1964; 42: 1793 - 802.

**11.** Haakana K, Sarkka L and Somersalo S. Gaseous ethanol penetration of plant tissues positively effects the growth and commercial quality of miniature roses and dill. *Scientia Horticulturae* 2001; 88: 71 - 84.

**12.** Manival L, Marimuthu S, Venkatesalu V and Kumar RR. Effect of potassium nutrition and growth regulators on photosynthesis and assimilate translocation in tea. International Seminar on Integrated Crop Management in Tea. 1994, pp: 217 - 23.

**13.** Kumar RR and Thomas J. Physiological basis of cultivar characterization in tea (*Camellia* spp.). *J. Plantn. Crops* 2004; 32: 54 - 7.

**14.** Akbarinia A and Sefidkon F. Identification of essential oil components of *Satureja sahendica* Bornm. in cultivated condition in Qazvin. *JQUMS*. 2009; 13 (2): 60 - 3.

**15.** Moradi R, Rezvani Moghaddam P, Nasiri Mahallati M and Nezhadali A. Effects of organic and biological fertilizers on fruit yield and essential oil of sweet fennel (*Foeniculum vulgare* var. dulce). *Spanish Journal of Agricultural Res*. 2011; 9 (2): 546 - 53.

**16.** Abou Dahab TAM and A NG. Physiological Effect of Diphenylamin and Tryptophan on the Growth and Chemical Constituents of Philodendron erubescens Plants. *World J. Agricultural Sci*. 2006; 2 (1): 75 - 81.

**17.** Shehata SM, Abdel-Azem HS, Abou El-Yazied A and El-Gizawy AM. Effect of Foliar Spraying with Amino Acids and Seaweed Extract on Growth Chemical Constitutes, Yield and its Quality of Celeriac Plant. *European J. Scientific Res*. 2011; 58 (2): 257 - 65.

**18.** Nahed G, Abdel Aziz A, Mazher AM and Farahat MM. Response of vegetative growth and chemical constituents of *Thuja orientalis* L. plant to foliar application of different amino acids at Nubaria. *J. American Sci*. 2010; 6 (3): 295 - 301.

**19.** Marschner H. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press. London 1995, pp: 912.

**20.** Youssef AA, El–Mergawi RA and Abd El–Wahed MSA. Effect of putrescine and phenylalanine on growth and alkaloid production of some Datura species. *J. Agric. Sci*. 2004; 29: 4037 - 53.

**21.** Sani B. Effects of amino acids and irrigation interrupted on some characteristics in flixweed (*Descurainia sophia* L.) in International Conference on Biology, Environment and Chemistry. 2010, p: 375 - 8.

**22.** Naghdi Badi HA, Golzadeh H, Mehrafarin A, Fazeli F, Qaderi A and Zarinpanjeh N. Effect of Bio-stimulators Compounds on Quantitative and Qualitative Yield of German Chamomile (*Matricaria recutita* L.). *J. Med. Plants* 2012; (41): 78 - 85.

**23.** Makhdum IM, Nawaz A, Shabab M, Ahmad F and Illahi F. Physiological response of cotton to methanol foliar application. *Journal of Research* (*Science*) 2002; 13 (1): 37 - 43.

**24.** Nonomura AM and Benson AA. The path of carbon in photosynthesis: Improved crop yields with methanol. *National Acad. Sci*. 1992; 89: 9794 - 98.

**25.** Khosravi E, Mehrafarin A, Naghdi Badi H, Khosravi MT and Hajiaghaee R. The phytochemical response of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) to methanol and ethanol hydroalcoholic solutions. New York City, International Congress on Natural Products Research (ICNPR). *Planta Med*. 2012; 11: 78 (P:12).

**26.** Ramirez I, Dorta F, Espinoza V, Jimenez E, Mercado A and Pen H. Effects of foliar and root applications of methanol on the growth of arabidopsis, tobacco, and tomato plants. *Plant and Soil*. 2006; 289: 30 - 44.

**27.** Khosravi MT, Mehrafarin A, Naghdi Badi H, Hadavi E, Hajiaghaee R, Khosravi E. Phytochemical and growth responses of purple coneflower (*Echinacea purpurea* L.) to hydro-alcoholic solutions. New York City, International Congress on Natural Products Research (ICNPR). *Planta Med*. 2012; 11: 78 (P:3).

**28.** Safarzade Vishekaei MN, Normohamadi GH, Majidi Haravan E and Rabiei B. Effect of methanol on peanut growth and yield (*Arachis hypogaea* L.). *J. Agric. Sci*. 2005; 103 - 88.

**29.** Zbiec I, karezmarczy KS and Podsiadlo C. Response of some cultivar plant to methanol as compared to supplemental irrigation. *Electronic J. Polish Agricultural Universities, Agronomy* 2003; 6 (1): 1 - 7.

**30.** Sajedi Moghadam S, Mehrafarin A, Naghdi Badi H, Pazoki AR and Qavami N. Evaluation of Phytochemical Yield of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) under Foliar Application of Hydroalcohols. *J. Medicinal Plants* 2012; 11 (44): 130 - 9.

# Responses of Quality and Quantity Yield of Garden Thyme (*Thymus vulgaris* L.) to Foliar Application of Bio-stimulator Based on Amino Acids and Methanol

**Naghdi Badi H (Ph.D.)[1], Labbafi MR (Ph.D.)[1], Qavami N (Ph.D. Student)[1], Qaderi A (Ph.D.)[1], Abdossi V(Ph.D.)[2], Agharebparast MR (M.Sc.)[2], Mehrafarin A (Ph.D.)[1*]**

1- Medicinal Plants Research Center, Institute of Medicinal Plants, ACECR, Karaj, Iran
2- Department of Horticulture, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
*Corresponding author: Medicinal Plants Research Center, Institute of Medicinal Plants, ACECR, P.O.Box: 31375/1369, Karaj, Iran
Tel: +98-26-34764010-18, Fax: +98-26-34764021
Email: A.Mehrafarin@gmail.com

## Abstract

**Background: Now, the use of amino acids and methanol as a plant biostimulant is very interested for the increased secondary metabolites in medicinal plants.**

**Objective: The aim was to evaluate the effect of biostimulants and methanol on the content and components of essential oil and morphological traits of thyme (*Thymus vulgaris* L.).**

**Methods: This experiment was conducted on the basis of randomized complete block design with nine treatments and three replications. The treatments of this study included foliar application of kadostim, fosnutren, humiforte, and aminolforte, each of them with two levels of methanol aqueous solution at 10 and 20 %v/v, and control treatment (without application of plant biostimulants and methanol).**

**Results: The results showed that were statistically significant the number of branches, stem diameter, shoot dry weight, thymol and carvacrol content at the 1% level, and the number of leaves per stem, plant height, essential oil content, and leaf dry weight at the 5% level. The maximum plant height, number of branches, number of leaves per stem, stem dry weight, leaf dry weight, and shoot dry weight in treatment of kadostim with 20% methanol, and the highest stem diameter, essential oil content, thymol, and carvacrol content in treatment of humiforte with 20% methanol were obtained.**

**Conclusion: Application of kadostim and humiforte with 20% methanol enhanced the quantitative and qualitative yield of thyme. Therefore, the integrated application of biostimulants and methanol can be synchronized with reduce the use of some chemical fertilizers to the extent that it was leading to sustainable agriculture and reduction of environmental pollution.**

**Keywords: *Thymus vulgaris* L., Essential oil, Amino acids, Thymol, Carvacrol**