نشریه علمی پژوهشی دانش کشاورزی و تولید پایدار
جلد ۳۲ شماره ۴ / سال ۱۴۰۱/ صفحات ۱۷۸-۱۶۵

Salicylic Acid and Fulvic Acid foliar Application Influence on Growth, Some Physiological Responses and Essential Oil Content of *Thymus Vulgaris* L.

Afsane Nasiri Kaleibar[1], Saeide Alizadeh Salteh[2*], Fariborz Zaare Nahandi[2], Mohammad Adlipour[3]

Received: 13 March 2021 Accepted: 09 August 2022
1- MSc., Dept. of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
2- Assoc. Prof., Dept. of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
3 PhD in Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
*Corresponding Author Email: s.alizadeh@tabrizu.ac.ir

Abstract

Background & Objective: This study aimed to investigate the effect of salicylic acid and fulvic acid foliar use on some growth responses and essential oil content of thyme.

Materials & Methods: A factorial experiment as completely randomized design with three replications was conducted. The first and second factors included: fulvic acid (0, 1, and 1.5,2 $mg.l^{-1}$) and salicylic acid (0, 10, 50,100 µM). After spraying and harvesting, the following factors were evaluated; fresh and dry weight, photosynthetic pigments, flavonoids, total antioxidants activity, and essential oil content of the aerial parts.

Results: Foliar treatments significantly influenced plant height, fresh and dry weight biomass as well as chlorophyll b content. Also, salicylic acid had a significant effect on yield traits such as fresh weight, total antioxidant activity, flavonoids and essential oil content. The interactions of salicylic acid and fulvic acid on fresh and dry weight also showed a significant effect. The highest total antioxidants activity and flavonoids were obtained at 100 µM salicylic acid. The highest essential oil content was obtained at of 50 µM salicylic acid.

Conclusion: In order to produce the highest yield, the application of 50 µM concentrations of salicylic acid and fulvic acid with a concentration of 1.5 $mg.l^{-1}$ seems appropriate. Also, to achieve the highest essential oil content of shoots and leaves, a concentration of 50 µM salicylic acid is recommended.

Keywords: Essential Oil, Salicylic Acid, Thyme, Yield, Fulvic Acid

تأثیر محلول‌پاشی اسید فولویک و اسید سالیسیلیک بر برخی ویژگی‌های رشدی و فیزیولوژیکی و محتوای اسانس آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.)

افسانه نصیری کلیبر[۱]، سعیده علیزاده سالطه[۲*]، فریبرز زارع نهندی[۲]، محمد عدلی پور[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۵/۱۸

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۲-دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۳-دکتری علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
*مسئول مکاتبه:Email: s.alizadeh@tabrizu.ac.ir

چکیده

اهداف: این پژوهش با هدف بررسی تأثیر اسیدسالیسیلیک و اسید فولویک بر تعدادی از شاخص‌های رشدی و محتوای اسانس در گیاه آویشن باغی در شرایط گلخانه در ایستگاه تحقیقاتی خلعت‌پوشان دانشگاه تبریز انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: آزمایش به‌صورت فاکتوریل، در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. فاکتور اول و دوم به ترتیب شامل اسیدفولویک در غلظت‌های (۰، ۱، ۱/۵، ۲ میلی‌گرم در لیتر) و اسیدسالیسیلیک در غلظت‌های (۰، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) بود. پس از انجام محلول‌پاشی و برداشت، وزن تر و خشک گیاه، رنگیزه‌های فتوسنتزی، غلظت فلاونوئید کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و مقدار اسانس اندام هوایی اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: غلظت‌های مختلف اسید فولویک بر خصوصیات رشدی از جمله ارتفاع گیاه، وزن تر و خشک اندام هوایی و درصد ماده خشک و همچنین غلظت کلروفیل اثر معنی‌دار داشت. همچنین اسیدسالیسیلیک تأثیر افزایشی معنی‌داری بر وزن، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل، فلاونوئید و محتوای اسانس داشت. در غلظت ۱٫۵ میلی‌گرم در لیتر اسیدفولویک، بالاترین میزان ارتفاع و عملکرد تر و خشک گیاه و بالاترین غلظت کلروفیل b مشاهده شد. همچنین اثر متقابل اسیدسالیسیلیک و اسیدفولویک بر عملکرد تر و خشک گیاه نیز تأثیر معنی‌داری نشان داد. بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل و فلاونوئید در غلظت ۱۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک به‌دست‌آمد. بیشترین محتوای اسانس، در غلظت ۵۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک به دست آمد.

نتیجه‌گیری: به‌منظور تولید بیشترین عملکرد گیاه، کاربرد غلظت ۵۰ میکرومولار اسیدسالیسیلیک و اسیدفولویک با غلظت ۱٫۵ میلی‌گرم بر لیترمناسب به نظر می‌رسد. همچنین برای دستیابی به بالاترین محتوای اسانس شاخساره و برگ، غلظت ۵۰ میکرومولار اسیدسالیسیلیک پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اسید فولویک، اسید سالیسیلیک، آویشن باغی، عملکرد

مقدمه

آویشن باغی با نام علمی *Thymus vulgaris* گونه‌ای گل‌دار از تیره نعناعیان[۱] است که بومی جنوب

[۱] Lamiaceae

اروپا به‌خصوص غرب مدیترانه تا جنوب ایتالیا است. آویشن حاوی ۰/۸ تا ۲/۶ درصد اسانس است که قسمت اعظم آن را ترکیبات فنولی (۲۰ تا ۸۰ درصد)، هیدروکربن‌های مونوترپنی (مثل p- cymene و y-terpinen) و الکل‌ها (مثل *a*- terpinene, linalool و thujan-4-ol) تشکیل می‌دهند (لونگ و فوستر ۱۹۹۶). اسانس آویشن باغی خاصیت ضد باکتریایی (بودکا و همکاران ۲۰۱۰) ضد قارچی (سوکویچ و همکاران ۲۰۰۹) و ضدویروسی دارد (فالریو و همکاران ۲۰۰۳). از این اسانس در صنایع داروسازی، غذایی، بهداشتی و آرایشی استفاده می‌شود.

بخش عمده‌ای از خاک‌های ایران جزو خاک‌های مناطق خشک و نیمه‌خشک محسوب شده و مقدار مواد آلی آن‌ها کمتر از یک درصد است. در سال‌های اخیر افزایش مصرف نهاده‌های شیمیایی در اراضی کشاورزی موجب معضلات زیست‌محیطی متعدد از جمله آلودگی منابع آب، افت کیفیت محصولات کشاورزی و کاهش حاصلخیزی خاک‌ها شده است (شارما و همکاران ۲۰۰۹). از سوی دیگر لزوم حفظ سلامت محصولات تولید شده در نظام‌های مختلف کشاورزی از نظر وجود بقایای سموم و مواد شیمیایی و تأثیر آن‌ها بر سلامت انسان و محیط‌زیست، سبب شده است تا روش‌های تولید و نهاده‌های به کار رفته مورد توجه خاص قرار گیرند. از مهم‌ترین مسائل مؤثر بر سلامت محیط‌زیست و پایداری تولید غذا، کاربرد کودهای آلی به‌جای کودهای شیمیایی است (نیسون ۲۰۰۴). استفاده از کودهای آلی نه تنها باعث افزایش تولیدات محصولات کشاورزی خواهد شد، بلکه از فرسایش و تخریب خاک جلوگیری نموده و نیل به کشاورزی پایدار را ممکن می‌سازد. یکی از منابع طبیعی مناسب برای حل این مشکل، استفاده از محرک‌های زیستی بر پایه مواد هیومیکی است (گومز و همکاران ۲۰۱۵). هوموس دارای سه جز اصلی؛ اسید هیومیک، هیومین و اسید فولویک است (میکلسون ۲۰۰۵). ترکیبات هیومیک در کشاورزی ارگانیک در دسته اصلاح‌کننده‌ها و محرک‌های طبیعی قرار می‌گیرند. این ترکیبات علاوه بر تأثیر مستقیم بر رشد گیاه، به‌عنوان محرک رشد (می‌بودی و همکاران ۲۰۱۵ و اولیوارس و همکاران ۲۰۱۵) با تأثیر بر برخی ویژگی‌های رویشی، نقشی مهم در افزایش رشد گیاهان و بهبود عملکرد دارند و به شیوه هورمون‌های گیاهی بر گیاهان تأثیر می‌گذارند (ارتانی و همکاران ۲۰۱۳). اسید فولویک یکی از ترکیبات هیومیکی با جرم مولکولی پایین بوده و در محلول‌های اسیدی و بازی حل می‌شود. اسید فولویک نوعی کلات کننده مناسب همراه با قدرت تبادل یونی بالا است که توانایی جذب عناصر معدنی را در گیاهان افزایش می‌دهد که درنتیجه آن، مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی نیز افزایش می‌یابد و نیز باعث افزایش کیفیت و کمیت محصول می‌شود (واغان و لینهان ۲۰۰۴). قدرت تبادل یونی بالا به علت وجود گروه‌های کربوکسیل در ساختار آن است که تعداد گروه‌های کربوکسیل موجود در اسید فولویک بین ۵۲۰ تا ۱۱۲۰cmol (H+)/kg است (روبرت ۲۰۱۰).

در بررسی اثر استفاده از ترکیب خاکی حاوی اسید هیومیک بر جذب مواد مغذی، ترکیبات اسانس و ترکیبات شیمیایی آویشن باغی در شرایط گلخانه‌ای مشاهده شد که محتوای اسانس با افزایش سطح اسید هیومیک افزایش پیدا کرد و محتوای آن از ۰/۸ درصد (شاهد) به ۲ درصد افزایش یافت. ضمن این‌که سی و دو ترکیب فرار شناسایی شد و این ترکیبات به‌طور قابل‌توجهی توسط اسید هیومیک تحت تأثیر قرار گرفتند. در مجموع استفاده از اسید هیومیک به‌طور مثبت، جذب مواد مغذی، محتوای اسانس و اجزای اصلی آن را در *T. vulgaris* تغییر داده‌است (نوروزی شرف و کاویانی ۲۰۱۸). در بررسی تأثیر کودهای اسید فولویک و اسیدآمینه بر گیاه دارویی *Coriandrum sativum* L نتایج نشان داد که اسید فولویک تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی، میزان فنول، فلاونوئید، آنتوسیانین، کربوهیدرات و رنگیزه‌های فتوسنتزی کلروفیل a و b، کلروفیل کل و کاروتنوئید برگ گیاه داشته است (امینی فرد و همکاران ۲۰۱۸). در بررسی اثرات کود گاوی و اسید فولویک بر زعفران، نشان داده شد اسید فولویک در دو سال آزمایش بر مواد مؤثره (کروسین و پیکروکروسین)، آنتوسیانین و

فنول و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اثر معنی‌داری داشته‌است (امینی فرد و احمدی ۲۰۱۷). نتایج مطالعات محققان نشان می‌دهد که کاربرد اسید هیومیک و اسید فولویک سبب تحریک رشد و بهبود عملکرد تر اندام هوایی جعفری، بنفشه، شمعدانی، و حنا شده است (لی و ایونس ۲۰۰۰).

اسید سالیسیلیک از جمله ترکیبات فنولیکی است که به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد نقش مهمی در جوانه‌زنی، استقرار نهال‌ها، رشد سلول، تنفس، هدایت روزنه‌ای، پیری، افزایش فعالیت آنزیم‌ها و فتوسنتز تحت شرایط تنش ایفاء می‌کند (راسکین ۱۹۹۲). نتایج تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که استفاده از اسید سالیسیلیک منجر به افزایش تثبیت CO_2 می‌شود که احتمالاً به علت تأثیر اسید سالیسیلیک در فرآیندهای مختلف فتوسنتز شامل افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی و کاروتنوئیدها، افزایش کارایی PS II، غلظت و فعالیت بیشتر آنزیم روبیسکو و درنهایت تأمین بیشتر ATP و NADPH برای تثبیت کربن و تولید بیشتر آسیمیلاتها است (خان و همکاران ۲۰۰۳)، همچنین در سطح سلولی باعث افزایش میزان RNA، میزان سنتز پروتئین و آنزیم‌های مربوط به رشد می‌گردد (کینگوا و ژوجان ۲۰۰۸). بر اساس نتایج به دست آمده، محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و اسید سیتریک بر آویشن باغی به‌طور معنی‌داری صفات رویشی، از جمله وزن‌تر و خشک و کلروفیل a و کاروتنوئید و همچنین تولید اسانس را (۱/۳ برابر نسبت به شاهد) افزایش داده است (میری و همکاران ۲۰۱۵). محمدی و همکاران (۲۰۱۹) مشاهده کردند که تیمار اکوتیپ‌های مختلف *T. kotschyanus* و *T. vulgaris* تحت تنش آبی با اسید سالیسیلیک منجر به بهبود خصوصیات رشدی، از جمله وزن خشک ریشه و ساقه، کلروفیل کل، کاروتنوئیدها، پرولین و محتوای کربوهیدرات کل شده است، ضمن این که استفاده از غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک باعث بهبود محتوا و ترکیبات اسانس در گونه *T. kotschyanus* شده است. گیاه آویشن باغی *T. vulgaris* با کاربرد اسید سالیسیلیک در غلظت ۳ میلی مولار، افزایش در مقادیر فلاونوئیدها را نشان داد. بیشترین عملکرد اسانس از گیاهان در معرض تنش خشکی با غلظت ۲ میلی مولار اسید سالیسیلیک، به دست آمد (خلیل و همکاران ۲۰۱۸).

با توجه به اینکه بیوسنتز متابولیت‌های ثانوی به‌صورت ژنتیکی کنترل می‌شود، ولی بیوسنتز آن‌ها به‌شدت توسط عوامل محیطی تحت تأثیر قرار می‌گیرد (جیمز و همکاران ۱۹۹۲)، به‌کارگیری عوامل مختلف مؤثر بر میزان ترکیبات مؤثره می‌تواند گامی سودمند جهت افزایش این ترکیبات باشد. لذا با در نظر گرفتن اهمیت فراوان گیاه دارویی آویشن در تأمین اسانس حاوی ترکیب‌های مناسب در زمینه تولید داروهای گیاهی و صنایع غذایی همچنین تأثیر قابل‌توجه تنظیم‌کننده‌های رشد و نبود اطلاعات کافی در مورد اثر سینرژیستی این دو ترکیب بر آویشن، این آزمایش جهت بررسی تأثیر محلول پاشی اسید سالیسیلیک و اسید فولویک بر برخی شاخص‌های رشدی و محتوای اسانس در گیاه آویشن انجام شد.

مواد و روش‌ها

عملیات کاشت در گلخانه‌ای در ایستگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز در اراضی خلعت پوشان با مشخصات جغرافیایی (عرض جغرافیایی 38^{o} و ۰۲ دقیقه شرقی، طول جغرافیایی 48^{o} درجه و ۲۸ دقیقه شمالی و با ارتفاع ۱۵۶۷ متر از سطح دریا) انجام گرفت. بررسی‌های آزمایشگاهی نیز در آزمایشگاه تولید و فرآوری گیاهان دارویی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انجام شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل، در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۶ ترکیب تیماری و سه تکرار انجام شد. فاکتور اول و دوم به ترتیب شامل اسید فولویک در غلظت‌های (۰، ۱، ۱/۵، ۲ میلی‌گرم در لیتر) و اسید سالیسیلیک در غلظت‌های (۰، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) بود. به‌منظور کاشت گیاهان، نشاهای آویشن باغی در ابتدای مراحل رشد رویشی از پژوهشکده گیاهان دارویی تهیه شد و در گلدان‌هایی به قطر و ارتفاع ۲۱ و ۱۷ سانتی‌متر و بستر کشت حاوی کوکوپیت و پرلیت کشت شدند. بلافاصله پس از کاشت، گیاهان آبیاری شدند و در طول رویش، آبیاری بسته به

شرایط آب و هوایی و نیاز گیاه انجام گرفت. تغذیه با کود کامل ۲۰-۲۰-۲۰ شرکت والگرو ایتالیا در طی دوران رشد رویشی گیاه و به صورت هفتگی انجام شد. محلول‌پاشی برگی اسید سالیسیلیک و اسید فولویک سه بار در مرحله رشد رویشی گیاه (اوایل تیرماه) و در سه هفته متوالی و به هنگام صبح انجام گرفت. برای نفوذ و پوشش بهتر محلول‌ها روی برگ‌های آویشن باغی در تمام محلول‌ها از توییین ۲۰ استفاده شد. درنهایت در انتهای فصل رشد (اواخر تابستان)، برداشت گیاهان جهت اندازه‌گیری پارامترهای مختلف انجام گرفت. ارتفاع گیاهان توسط خط‌کش و سطح برگ توسط دستگاه سطح برگ سنج Li-core اندازه‌گیری شد. بلافاصله پس از برداشت، عملکرد تر (شامل کل اندام هوایی) اندازه‌گیری شد. بخشی از اندام هوایی جهت برآورد ماده خشک در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعتقرار داده شد و قسمت دیگری از محصول به مدت دو هفته در سایه و در دمای اتاق (دمای تقریبی ۲۵ درجه سانتی‌گراد)، جهت اسانس‌گیری خشک شدند و پس از طی این دوره توزین شدند. وزن‌تر و خشک اندام هوایی به‌طور مجزا اندازه‌گیری شد.

غلظت کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها به ترتیب از طریق معادله زیر محاسبه شد (لیچتنتالر و بوچمن ۲۰۰۱).

$$Ca\ (\mu g/ml) = 11.24\ A661.6 - 2.04\ A644.8$$
$$Cb\ (\mu g/ml) = 20.13\ A644.8 - 4.19\ A661.6$$
$$C\ (X+C)\ (\mu g/ml) = (1000\ A470 - 1.90\ Ca - 63.14\ Cb) / 214$$

C_a= a کلروفیل C_b= b کلروفیل $C_{(X+C)}$ = کاروتنوئیدها (گزانتوفیل+کاروتن)

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از DPPH و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر انجام شد(شیمادا و همکاران ۱۹۹۲). درصد مهار رادیکال‌های DPPH توسط عصاره با فرمول زیر محاسبه شد که در این رابطه Ac و As به ترتیب جذب بلانک و جذب نمونه می‌باشند.

(Ac-As) /Ac×100 = درصد مهار رادیکال آزاد

اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل با ۱۰۰ میکرولیتر، از عصاره گیاهی همراه با متانول، و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، عمل سنجش در طول‌موج ۵۱۰ نانومتر صورت گرفت (کیرزک و همکاران ۱۹۹۳).

جهت استخراج اسانس از روش تقطیر با آب و دستگاه اسانس گیری میکروکلونجر استفاده شد. در این پژوهش گیاهان خشک خرد شده و همراه آب مقطر به بالن ۵۰۰ میلی‌لیتر منتقل شدند. عملیات اسانس گیری به مدت سه ساعت ادامه یافت.

تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ و مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد و با همان نرم‌افزار انجام شد و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، ارتفاع گیاه به‌طور معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد تحت تأثیر تیمار اسید فولویک قرار گرفته است. همچنین تیمار اسید سالیسیلیک و اثرات متقابل آن با اسید فولویک بر ارتفاع گیاه آویشن باغی معنی‌دار نبود.

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر اسید سالیسیلیک بر وزن تر، فعالیت آنتی اکسیدانی، میزان فلاونوئید و اسانس

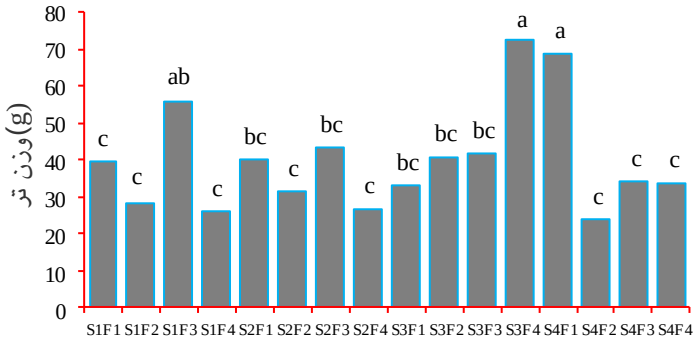
غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک (µM)	وزن‌تر (g)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (٪)	فلاونوئید (mg/g DW)	محتوای اسانس%
۰	۴۰/۹۱ab	۹۳/۷۶b	۸۶/۰۴b	۰/۱۲b
۱۰	۳۸/۱c	۹۴/۶۱b	۸۴/۹۵b	۰/۱۱b
۵۰	۵۰/۳۸a	۹۶/۵۷a	۸۲/۹۳b	۰/۲۱a
۱۰۰	۴۰/۳۳ab	۹۷/۰۰a	۱۱۱/۶۷a	۰/۰۸b

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر اسید فولویک بر وزن تر، وزن خشک،درصد ماده خشک، ارتفاع و میزان کلروفیل b

غلظت‌های مختلف اسید فولویک (mg/l)	ارتفاع (cm)	وزن‌تر (g)	وزن خشک (g)	درصد ماده خشک%	کلروفیل b (mg/g fw)
۰	۵۳/۳۲ b	۳۶/۲۷b	۵/۹۴b	۱۶/۰۸c	۱/۲۴c
۱	۵۳ b	۳۷/۴۳b	۶/۵۶b	۱۷/۶۶a	۱/۳۸ab
۱,۵	۵۰/۰۸ a	۵۶/۱۰a	۵/۵۹a	۱۷/۱۴b	۱/۸۹a
۲	۵۲/۷۸ b	۳۹/۹۰b	۶/۴۳b	۱۶/۰۲c	۱/۲۳c

بیشترین میزان ارتفاع بوته مربوط به تیمار سطح سوم اسید فولویک (یک و نیم میلی‌گرم بر لیتر) و کمترین مربوط به تیمار سطح دوم (یک میلی‌گرم بر لیتر) بود. به‌طوری‌که اثر تیمار اسید فولویک بر ارتفاع، زمانی که غلظت یک و نیم میلی‌گرم بر لیتر اسید فولویک استفاده شد به ترتیب به میزان ۱,۰۲ برابر در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت (جدول ۱). مکانیسم‌های محتمل در تحریک رشد گیاه شامل آسیمیلاسیون عناصر ماکرو و میکرو، اثرات بیوشیمیایی (مثل فعالیت آنزیمی و یا بازدارندگی، تغییر در نفوذپذیری غشاء و سنتز پروتئین‌ها) و تولید بیوماس است (بیدگین و همکاران ۲۰۰۰). افزایش طولی گیاه احتمالاً به دلیل خاصیت شبه‌اکسینی مواد هیومیکی است که روی تقسیم سلولی اثر دارد و باعث منبسط شدن دیواره سلولی ساقه و درنتیجه رشد و افزایش ارتفاع می‌شود (سینگاراول و همکاران ۱۹۹۸). نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تیمارهای مورد مطالعه بر سطح برگ اثر معنی‌داری نداشتند.

در بررسی مقایسه میانگین اثرات ترکیبی غلظت‌های اسید سالیسیلیک و اسید فولویک مشخص شد که تیمار ترکیبی غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر اسید فولویک و ۵۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک دارای بالاترین وزن‌تر به ترتیب ۷۲/۸۲ و ۶۸/۶۴ گرم بوده است (شکل ۱).

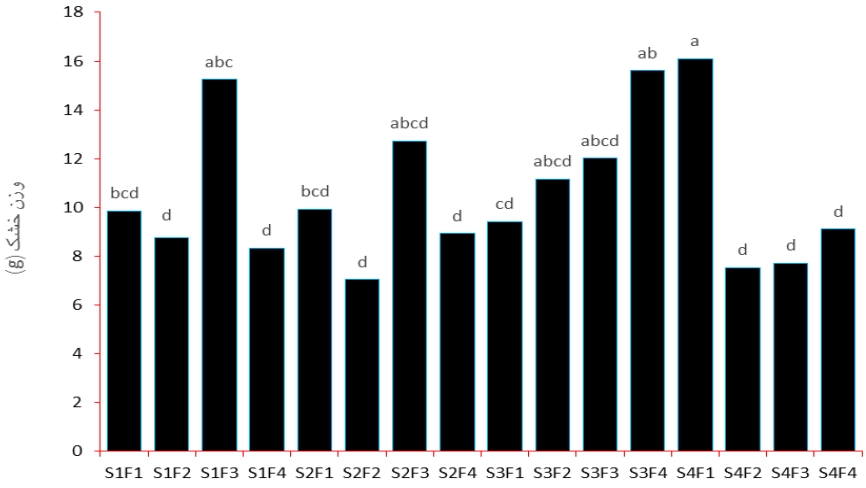


شکل ۱- برهم کنش غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و اسید فولویک برای وزن تر آویشن باغی

در مورد تأثیر تغذیه برگی اسید سالیسیلیک بر افزایش عملکرد باید گفت که از طریق افزایش تقسیم و رشد سلول‌ها، عملکرد را افزایش می‌دهد (حیات و همکاران ۲۰۰۵). طی مطالعات گذشته نیز افزایش عملکرد تر گیاه آویشن باغی تحت تأثیر غلظت‌های ۰/۵ و یک میلی مولار اسید سالیسیلیک مشاهده شده بود (میری و همکاران ۲۰۱۵). اسید سالیسیلیک در سطح سلولی باعث افزایش میزان RNA، میزان سنتز پروتئین و آنزیم‌های مربوط به رشد می‌گردد. اسید سالیسیلیک تأثیر خود را بر فتوسنتز از طریق عوامل روزنه‌ای،

رنگیزه و ساختار کلروپلاست و آنزیم‌های دخیل در مراحل فتوسنتز اعمال می‌کند (چای و همکاران ۲۰۰۲). بنابراین، فتوسنتز که اصلی‌ترین عامل رشد گیاه و عملکرد (پانچوا و همکاران ۱۹۹۶) است با کاربرد اسید سالیسیلیک افزایش می‌یابد. اسید فولویک با وزن مولکولی پایین‌تر از اسید هیومیک، موجب افزایش تقسیم سلولی و طویل شدن سلول می‌گردد. همچنین موجب افزایش ظرفیت تولید از طریق افزایش سنتز کلروفیل نیز می‌گردد (مطغی ۲۰۱۵). ترکیبات هوموسی با وزن مولکولی پایین می‌توانند با اثر بر نسخه‌برداری از ژن‌های خاص، روی بیوسنتز پروتئین‌ها اثر گذارند و همچنین با تحریک فعالیت ATPase و آزادسازی پروتون‌ها از سطح ریشه، جذب نیترات را افزایش دهند. این تغییرات در اثر مواد هوموسی بیشتر به رفتارهای اسید جیبرلیک شبیه است (ناردی و همکاران ۲۰۰۰). فعالیت‌های شبه‌هورمونی این ترکیبات در گزارش‌های دیگری نیز ذکر شده است. به‌عنوان‌مثال طی تحقیقات متعددی که توسط موسکولو و همکاران (۱۹۹۸) انجام گرفت، نشان داده شد که درون مواد هوموسی، IAA به‌طور فعال حضور دارد. به‌طورکلی اثرات مستقیم ترکیبات هوموسی با جذب مواد هوموسی و وارد شدن آن به بافت گیاهی اتفاق می‌افتد، از جملهاین موارد می‌توان به افزایش نفوذپذیری غشاهای سلولی، افزایش جذب یون‌ها و بیوسنتز اسیدهای نوکلئیک (ناردی و همکاران ۲۰۰۲) و فعالیت به‌عنوان ترکیبات آنزیمی و شبه هورمونی اشاره نمود (ژانگ و اسچمی ۲۰۰۰ و ناردی و همکاران ۲۰۰۰).

اثرات متقابل غلظت‌های اسید سالیسیلیک و اسید فولویک نشان داد که تیمار $۱۰^{-۱}$ میلی مولار دارای بالاترین وزن خشک بوده است.



شکل ۲- برهم کنش غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و اسید فولویک برای وزن خشک آویشن باغی

به‌طورکلی میزان تأثیر کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک به عوامل گوناگونی مانند نوع گونه، مرحله نمو گیاه، روش کاربرد و غلظت آن بستگی دارد (هورواث و همکاران ۲۰۰۷) طبق تحقیقات انجام گرفته مشخص‌شده است که اسید سالیسیلیک اثر مثبت بر رشد و توسعه، انتقال و نفوذپذیری غشا دارد (سیمایی و همکاران ۲۰۱۲).

به نظر می‌رسد افزایش عملکرد بیولوژیکی در اثر مصرف اسید سالیسیلیک به علت فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ماده در غشای سلولی باشد که باعث افزایش مقدار لیگنین در ساختار دیواره سلولی می‌شود که این خود می‌تواند عاملی در افزایش وزن ماده خشک گیاهان بخصوص در شرایط تنش خشکی باشد. کاربرد اسید سالیسیلیک منجر به افزایش سطح تقسیم سلولی در ناحیه مریستم انتهایی و رشد گیاه شده و درنتیجه وزن‌تر و خشک گیاه را بهبود می‌بخشد (هانگ و ویلانوا ۱۹۹۲). تیمار اسید سالیسیلیک ممکن است بر چندین عامل متابولیکی گیاه مانند جذب و تثبیت دی‌اکسید کربن

از جمله غلظت و فعالیت آنزیم روبیسکو یا چرخه کلوین اثر داشته باشد (اشرف و هریس ۲۰۰۴). اسید هیومیک با افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو، سبب افزایش فعالیت‌های فتوسنتزی و درنتیجه افزایش رشد گیاه می‌شود (دلفین و همکاران ۲۰۰۵). محققان بسیاری افزایش وزن خشک اندام هوایی گیاهان را در اثر کاربرد مواد هیومیکی تائید کرده‌اند (پادم و همکاران ۱۹۹۹). می‌توان گفت کاربرد اسید فولویک سبب آزادسازی آب و مواد غذایی در گیاه شده و درنهایت افزایش رشد گیاه را در پی دارد.

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که درصد ماده خشک گیاه به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمار اسید فولویک قرار گرفته است. همچنین تیمار اسید سالیسیلیک و اثرات متقابل اسید سالیسیلیک و اسید فولویک بر درصد ماده خشک معنی‌دار نبود. بیشترین میزان درصد ماده خشک مربوط به تیمار سطح دوم اسید فولویک (یک میلی‌گرم بر لیتر) و کمترین مربوط به تیمار سطح چهارم (دو میلی‌گرم بر لیتر) بود.

افزایش وزن خشک اندام هوایی و زیرزمینی گیاهان در صورت کاربرد مواد هیومیکی را به این دلیل باید دانست که این ماده آلی دارای اثرات شبه هورمونی از جمله فعالیت شبه‌اکسینی است که در رشد اندام هوایی تأثیر بسزایی دارد که موجب افزایش رشد ریشه شده و همچنین مواد هیومیکی با آزاد کردن آب و مواد مغذی، که گیاه برای رشد به آن‌ها احتیاج دارند، باعث افزایش کلروفیل و در پی آن افزایش فتوسنتز و ماده خشک تولیدی در گیاه می‌شود (ناردی و همکاران ۲۰۰۲). مواد هیومیکی می‌توانند عملکرد میتوکندری و کلروپلاست‌هایی که تنفس و فتوسنتز را انجام می‌دهند را تحت تأثیر قرار دهند (اورلو و همکاران ۲۰۰۵). بنابراین با تأثیرگذاری معنی‌دار اسید فولویک بر عملکرد تر و خشک آویشن باغی در این آزمایش، بهبود درصد ماده خشک گیاه را نیز به دنبال داشته است (جدول ۲).

طبق نتایج آنالیز داده‌ها، کاربرد اسید فولویک در سطح احتمال ۵ درصد بر کلروفیل b تأثیر معنی‌داری نشان داد. بالاترین فعالیت کلروفیل b، در تیمارهای ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر اسید فولویک مشاهده شد.

در صورتی که سایر رنگیزه‌های فتوسنتزی در غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و اسید فولویک اثر معنی‌داری نداشتند. همچنین اثرات متقابل غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و کاربرد اسید فولویک تأثیر معنی‌داری روی رنگیزه‌های فتوسنتزی نداشتند. مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اسید فولویک دارای اثر معنی‌داری بر کلروفیل b گیاه بوده است.

تأثیرات مثبت اسید هیومیک بر متابولیسم سلول‌های گیاهی و افزایش مقدار رنگیزه‌های کلروفیل تائید شده است. اسید هیومیک با قرار دادن آب و مواد غذایی بیشتر و مناسب‌تر در اختیار گیاه می‌تواند بیوسنتز کلروفیل را افزایش دهد و انتقال مواد فتوسنتزی را راحت‌تر کند (دلفین و همکاران ۲۰۰۵). ممکن است کاربرد بیش‌ازحد اسید هیومیک باعث کاهش رشد گیاه و رنگیزه‌های فتوسنتزی شود (چن و آویاد ۱۹۹۰). از جمله دلایل وقوع این امر، احتمال می‌رود افزایش غلظت اسید هیومیک باشد که منجر به بالا رفتن pH و افزایش کربن آلی خاک می‌شود و درنتیجه با کاهش میزان کلروفیل مواجه می‌شویم. سایر رنگیزه‌های فتوسنتزی در این آزمایش نسبت به محلول‌پاشی اسید فولویک اثر معنی‌داری نشان ندادند. به‌طورکلی علت افزایش میزان کلروفیل توسط اسید هیومیک و اسید فولویک می‌تواند به علت وجود ویژگی‌های شبه سایتوکینینی این مواد باشد که موجب تأخیر در پیری و کاهش تخریب کلروپلاست می‌گردد (جینگ-مین و همکاران ۲۰۱۰).

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که اثرات متقابل اسید سالیسیلیک و اسید فولویک بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل معنی‌دار نبود. در صورتی که اثرات ساده تیمار اسید سالیسیلیک بر روی این صفت اندازه‌گیری شده در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد. بیشترین میزان جاروبگری رادیکال DPPH مربوط به تیمار ۱-۱۰ میلی مولار اسید سالیسیلیک و کمترین مقدار در تیمار شاهد به دست آمد (جدول ۱). گزارش‌ها مؤید آن است که اسید سالیسیلیک از طریق تجمع موقتی ABA، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد (حیات و احمد ۲۰۰۷). هنگامی‌که اسید

سالیسیلیک در غلظت مناسب به‌صورت اسپری برگی به کار برده شود باعث افزایش راندمان سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاهان می‌شود (نورزر و همکاران ۱۹۹۹). به‌عنوان‌مثال، محمودی و همکاران (۲۰۱۹) مشاهده کردند پیش تیمار با اسید سالیسیلیک موجب افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان آنزیمی آنزیم‌های CAT،SOD،PPO و POD در گیاه آویشن باغی شده است. فعالیت این آنزیم‌ها در ارتباط با یکدیگر است، بنابراین افزایش فعالیت هم‌زمان آن‌ها در اثر تیمار منطقی به نظر می‌رسد. حضور تنش اکسایشی و آسیب غشایی گرچه با کاهش پارامترهای رشد در گروه تیمار همراه است ولی ممکن است منجر به القای پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی شود که سلول‌ها را از آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تنش محافظت می‌نماید. هنگامی‌که اسید سالیسیلیک در غلظت و زمان مناسب به کار برده می‌شود، با تغییر فعالیت آنزیم‌هایی نظیر سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز یا NADPH اکسیداز متصل به غشای سیتوپلاسمی (آنزیم‌های دخیل در تولید یا تجزیه H_2O_2) موجب افزایش موقت و جزئی در مقدار H_2O_2 شده که منجر به القای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول می‌شود (حیات و همکاران ۲۰۰۷). اسید سالیسیلیک در سنتز پروتئین‌های خاصی به نام پروتئین کیناز نقش دارد که این پروتئین‌ها نیز نقش مهمی در تنظیم تقسیم، تمایز و ریخت‌زایی سلول ایفا می‌کنند. کاروتنوئیدها قادرند انرژی زیاد طول‌موج‌های کوتاه را گرفته، اکسیژن منفرد را به ازن تبدیل کنند و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولید شده، نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا می‌کنند (کینکوا و ژوجام ۲۰۰۸). در این آزمایش محلول‌پاشی اسید فولویک تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه آویشن باغی نداشت.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس گویای آن است که اثرات ساده تیمار اسید سالیسیلیک بر میزان فلاونوئید کل در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شده در صورتی که اثرات متقابل اسید سالیسیلیک و اسید فولویک بر فلاونوئید کل معنی‌دار نبود. بیشترین میزان فلاونوئید کل مربوط به تیمار ۱۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک بود که ۱،۲۹ برابر نسبت به شاهد افزایش نشان داد. همچنین کمترین مقدار در تیمار ۵۰ میکرومولار به دست آمد. تیمار اسید فولویک اثرات معنی‌داری بر فلاونوئید نشان نداد. بررسی‌ها نشان می‌دهد که بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی ارتباط مثبتی وجود دارد (وانگ و لین ۲۰۰۰). بنابراین همان‌طور که در این آزمایش مشخص شد، کاربرد اسید سالیسیلیک تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل داشت و به‌تبع آن می‌توان احتمال داد در بهبود فلاونوئید گیاه آویشن باغی نقش داشته باشد. از آنجا که کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک سبب تنش اکسیداتیو در گیاه می‌شود که این فرآیند همانند سازگار کردن گیاه است، زیرا افزایش سریع ROS ها ناشی از تنش اکسیداتیو باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه و حفاظت گیاه در برابر خسارت‌های ناشی از تنش‌ها می‌شود (هورواث و همکاران ۲۰۰۷). می‌توان افزایش فلاونوئید را با افزایش ROS ها برای حفاظت از گیاه مرتبط دانست. در حالت کلی مطالعات متعدد نشان داده است که اسید سالیسیلیک در تحریک تولید بسیاری از متابولیت‌های ثانویه از جمله ترپنوئیدها، مشتقات کومارین، آلکالوئیدها و فلاونوئیدها مؤثر است (کانگو و همکاران ۲۰۰۴).

بر پایه نتایج جدول تجزیه واریانس تأثیر اسید سالیسیلیک، بر محتوای اسانس پیکر رویشی آویشن باغی معنی‌دار بود. بیشترین محتوای اسانس، در غلظت ۵۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک به دست آمد. همچنین کمترین محتوای در تیمار غلظت 10^{-1} میلی مولار مشاهده شد. کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک، می‌تواند بیان ژن‌های تدافعی زیادی را القا کند، که آنزیم‌های خاص مسیرهای متابولیک ثانویه، برای تشکیل ترکیبات زیستی فعال، مانند فنول‌ها را فعال می‌کنند (علی و همکاران ۲۰۰۷). بنابراین می‌توان گفت کاربرد اسید سالیسیلیک منجر به افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) شده، که در پی آن افزایش در تجمع ترکیبات فنولی محلول و لیگنین رخ می‌دهد (کوواجیک و همکاران ۲۰۰۹). افزایش عملکرد برخی از ترکیبات گیاهی تحت تأثیر محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک

می‌تواند در اثر تأثیرگذاری بر برخی از پروتئین‌ها و آنزیم‌ها در متابولیسم کربوهیدرات‌های گیاه در ارتباط باشد که ممکن است تعادل متابولیت‌های ثانوی را تحت تأثیر قرار دهد (سحرخیز و همکاران ۲۰۱۱). این هورمون سنتز مواد پلی فنولی جدید در گیاهان را نیز تحریک می‌کند که سبب تولید متابولیت‌های ثانوی در گیاهان می‌شود. یافته‌ها حاکی از آن است که مصرف اسید سالیسیلیک می‌تواند باعث بهبود اعمال فیزیولوژیکی برحسب تولید فتوسنتات‌ها (مواد حاصل از فتوسنتز) و عملکرد کل اسانس و ماده خشک شود که این امر می‌تواند به افزایش جذب عناصر غذایی توسط گیاهان تیمار شده با اسید سالیسیلیک مربوط باشد (چئول و همکاران ۲۰۰۱ و عبدفارق و میسرا ۱۹۹۳). افزایش مقدار اسانس در اثر محلول‌پاشی گیاهان با اسید سالیسیلیک ممکن است در اثر افزایش رشد رویشی، جذب مواد غذایی بیشتر توسط ریشه‌ها به دلیل افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه و همچنین تغییر در جمعیت غده‌های تولیدکننده اسانس برگ و گل‌ها باشد (غریب ۲۰۰۷). اسید سالیسیلیک از گیاهان در برابر گونه‌های فعال اکسیژن، آسیب‌های غشایی و تخریب کلروفیل محافظت می‌کند (جلال و همکاران ۲۰۱۲). به همین دلایل این هورمون سبب رشد متعادل گیاهان تیمار شده می‌شود که منجر به افزایش تولید ترکیبات اسانس می‌گردد. ادریس و همکاران (۲۰۱۰) به این نتیجه رسیدند که افزایش درصد اسانس توسط محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک ممکن است با رشد گیاه، جذب مواد مغذی یا تغییر در تعداد غده‌های روغنی و بیوسنتز مونوترپن ها مرتبط باشد این یافته‌ها با نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر مطابقت دارد.

کاربرد اسید سالیسیلیک موجب افزایش برخی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس می‌شود، به عنوان مثال، تیمار گیاهان مرزه با اسید سالیسیلیک موجب افزایش ترکیب کارواکرول گاما-ترپینن، آلفا-ترپینن، بتا-میرسن و پی‌سیمن در اسانس آن شده است (حیاتی و روشن ۲۰۱۳). به نظر می‌رسد افزایش برخی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس در تیمار با اسید سالیسیلیک برای تنظیم سازگاری این گیاهان نسبت به عوامل نامساعد و تنش‌های محیط زندگی صورت گرفته و می‌تواند به منزله بکار افتادن یک نوع جریان دفاعی همسو با اسید سالیسیلیک در جهت استمرار تعادل فعالیتهای حیاتی گیاه در شرایط تنش باشد. البته به‌نظر می‌رسد که سالیسیلیک‌اسید با تغییر در متابولیسم گیاه باعث تغییر در مواد ثانویه گیاه ازجمله ترکیبهای اسانس می شود، که این فرایند شرایطی مشابه نقش اسید سالیسیلیک در ایجاد مقاومت به تنش است. افزایش محتوای اسانس این گیاه در پی کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد راهکار مناسب در افزایش کیفیت گیاهان دارویی با صرف هزینه کمتری است.

نتیجه‌گیری کلی

بنا بر نتایج به دست آمده از این پژوهش کاربرد ۱۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک، بیشترین افزایش را بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل و فلاونوئید آویشن باغی داشته است، همچنین با افزایش غلظت اسید فولویک صفاتی مانند ارتفاع، وزن‌تر و خشک و کلروفیل b گیاه آویشن باغی افزایش یافت. افزون بر آن هم‌زمان فولویک اسید و سالیسیلیک اسید بر عملکرد تر و خشک آویشن باغی معنی‌دار بود. با توجه به افزایش روزافزون کاربرد گیاهان دارویی به‌ویژه آویشن باغی در صنایع مختلف و تقاضای زیاد این گیاه، به‌منظور تولید بیشترین عملکرد تر، کاربرد ۵۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک و اسید فولویک با غلظت ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر، همچنین برای دستیابی به بالاترین عملکرد اسانس شاخساره و برگ، غلظت ۵۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک پیشنهاد می‌شود. پیش‌بینی می‌شود استفاده از فولویک اسید بصورت ترکیب با خاک و محلول‌پاشی با توجه به قیمت مناسب آن و کاهش استفاده از کودهای شیمیایی در راستای تولید ارگانیک گیاهان دارویی مورد استقبال کشاورزان قرار بگیرد و با حفظ پایداری و سلامت محیط زیست و سیستم کشاورزی، عناصر غذایی مورد نیاز گیاه را تا حد زیادی برآورده ساخته و موجب افزایش عملکرد گیاه و ماده موثره در واحد سطح گردد. از سوی دیگر استفاده از سالیسیلیک اسید برای افزایش میزان اسانس آویشن باغی که با هزینه پایین می‌تواند در دسترس کشاورزان قرار بگیرد،

در سال‌های آتی جزو موارد پرکاربرد در تولید گیاهان دارویی مدنظر قرار گیرد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از دست اندرکاران دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، به‌ویژه ایستگاه تحقیقاتی خلعت‌پوشان جهت امکانات و حمایت از پژوهش حاضر کمال تشکر را دارد.

منابع مورد استفاده

Ali M, Hahn E and Paek K. 2007. Methyl jasmonat and salicylic acid induced oxidative stress and accumulation of phenolic in Panax ginseng Bioreactor root suspension culture. Journal of Molecular, 12(3): 607-621.

Aminifard M and Ahmadi F. 2017. Evaluation of The Effect of Folic Acid and Animal Manure on The Active Ingredients of Stigma and The Activity of Radical Permeation of Saffron Petals of *Crocus Sativus* L. Journal of Saffron Agriculture and Technology, 6(4): 415-428. (In Persian).

Aminifard M, Gholami M, Bayat H and Moradinejad F.2018. The Effect of Folic Acid and Amino Acid Fertilizers on Phenolic, Flavonoid Compounds, Antioxidant Activity and Photosynthetic Pigments of *Coriandrum Sativum* L. Journal of Medicinal Plants Ecophytochemistry, 7(1):22-25 (In Persian).

Asghari G, Ghasemi R, Yosefi M and Mehdinezhad N. 2015. Effect of hormones, salicylic acid, chitosan on phenolic compounds in *Artemisia aucheri* in *vitro*. Journal of Plant Process and Function, 3(10):93-100. (In Persian).

Ashraf M and Harris P. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Science, 166: 3-16.

Atiyeh R, Lee S, Edwards C, Arancon N and Metzger J. 2002. The influence of humic acids derived from earthworm-processed organic wastes on plant growth. Bioresource Technology, 84(1): 7–14.

Ayas H and Gulser F. 2005. The effect of sulfur and humic acid on yield components and macronutrient contents of spinach. Journal of biological sciences, 5 (6): 801-804.

Bidegain R, Kammerer M, Guiresse M, Hafidi M, Rey F, Morard P and Revel J. 2000. Effect of humic substances from composted or chemically decomposed poplar sawdust on mineral nutrition of ryegrass. The Journal of Agricultural Science, 134: 259-267

Budka D, and Khan N. 2010. The effect of *Ocimum basilicum*, *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare* essential oils on *Bacillus cereus* in rice-based foods. Electronic journal of Biology Science, 2(1): 17-20.

Defline S, Tognetti R, Desiderio E and Alvino A. 2005. Effect of foliar application of N and humic acids on growth and yield of durum wheat. Agronomy for Sustainable Development, 25(2): 183-191.

El-Bassiony A, Fawzy Z, Abd El-Baky M and Asmaa R. 2010. Response of Snap Bean Plants to Mineral Fertilizers and Humic Acid Application. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 6 (2): 169-175.

Ertani A, Pizzeghello D, Baglieri A, Cadili V, Tambone F, Gennari M and Nardi S. 2013. Humic-like substancesfrom agro-industrial residues affectgrowth and nitrogen assimilation in maize (*Zea Mays* L.) plantlets. Journal of Geochemical Exploration, 129:103-111.

Esringü A, Sezen I, Aytatli B and Ercişli S. 2015. Effect of humic and fulvic acid application on growth parameters in *Impatiens walleriana L*. Akademik Ziraat Dergisi, 4(1): 37-42.

Falerio M, Miguel M, Laderio F, Venâncio F, Tavares R, Brito J, Figueiredo A, Barroso J and Pedro L. 2003. Antimicrobial activity of essential oils isolated from Portuguese endemic species of *Thymus*. Letters in Applied Microbiology. 36:35–40.

Ghai N, Setia R and Setia N. 2002. Effect of paclobutrazol and salicylic acid on chlorophyll content, hill activity and yield components in (*Brescia napus L.*). Phytomorphology, 52: 83-87.

Gomes de Melo B, Lopes Motta F and Santana M. 2015. Humic acids Structural properties and multiple functionalities for novel technological developments. Materials Science and Engineering, 62: 967-974.

Haiati P and Rowshan V. 2013. Effects of exogenous salicylic acid on growth factors and quality and quantity of essential oil in *Satureja hortensis* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 29(4): 808-817. (In persian).

Hayat S, Ali B and Ahmad A. 2007. Salicylic acid Biosynthesis, metabolism and physiological role in plants. In: Hayat S, Ahmad A, editors. Salicylic acid: A plant hormone. 1st Edition. Dordrecht: Springer, 1-14.

Hayat S, and Ahmad A.2007. Salicylic Acid: A Plant Hormone. Springer, 97-99.

Hayat S, Fariduddin Q, Ali B and Ahmad A. 2005. Effect of salicylic acid on growth and enzyme activities of wheat seedlings. Acta Agronomica Hungarica, 53(4): 433–437.

Horvath E, Szalai G and Janda T. 2007. Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. Journal of Plant Growth Regulation, 26: 290-300.

Jalal R, Bafeel S and Moftah A. 2012. Effect of salicylic acid on growth, photosynthetic pigments and essential oil components of Shara (*Plectranthus tenuiflorus*) plants grown under drought stress conditions. International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science, 29(6): 252-260.

James T, Rahman A and Douglas J. 1992. Control of weeds in five herb crops. Horticulture, 62: 93-69.

Jing-min Z, Shang-jun X, Mao-peng S, Bing-yao M, Xiu-mei C and Chunsheng L. 2010. Effect of Humic Acid on Poplar Physiology and Biochemistry Properties and Growth under Different Water Level. Journal of Soil and Water Conservation, 24(6): 6-10.

Kang S, Jung H, Kang Y, Yun D, Bahk J, Yang J and Choi M. 2004. Effects of methyl jasmonate and salicylic acid on the production of tropane alkaloids and the expression of PMT and H6H in adventitious root cultures of Scopolia parviflora. Plant Science, 166(3): 745-751.

Khan W, Prithviraj B and Smith D. 2003. Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. Journal of Plant Physiology, 160: 485-492.

Knorzer O, Lederer B, Durner J and Boger P. 1999. Antioxidative Defense Activation in Soybean Cells. Physiologia Plantarum, 107(3): 294-302.

Kováčik J, Grúz J, Bačkor M, Strnad M and Repčák M.2009. Salicylic acid-induced changes to growth and phenolic metabolism in *Matricaria chamomilla* plants. Plant Cell Reports. 28:135–143.

Leung A and Foster S. 1996. Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs, and cosmetics. A Wiley Interscience Publication - John Wiley & Sons, p. 649.

Li G and Evens M. 2000. Humic acid substrate treatments and foliar spray application effects on root growth and development of seedlings. Horticulture Science, 35: 434.

Lichtenthaler K and Buschmann C. 2001. Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV.VIS Spectroscopy. Current protocolos in food analytical chemistry, 1(1): F4.3.1-F4.3.8.

MahmoodiTarkhorani S, Sanjarian Dehaghani F and Monsef Shokri M. 2019. The effect of salicylic acid treatment on the antioxidant enzyme activities in *Thymus vulgaris* seedlings; Modares Journal of Biotechnology, 10 (1):37-44. (In Persian).

Maibodi N, Kafi M, Mikbakht A and Rejali F. 2015. Effect of Foliar Applications of Humic Acid on Growth, Visual Quality, Nutrients Content and Root Parameters of Perennial Ryegrass (*Lolium Perenne L.*). Journal of Plant Nutrition, 38: 224–236. (In persian).

Mikkelsen R. 2005. Humic materials for agriculture. Better Crops, 3: 6-10.

Miri A, Sharifi-Rad j, Tabrizian k and Nasiri a. 2015. Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activities of *Teucrium persicum* Boiss. Extract in Mice. Scientifica. Article, 3: 8.

Motaghi S and Saki Nejad T. 2014. The effect of different levels of humic acid and potassium fertilizer on physiological indices of growth. International Journal of Biosciences, 5 (2): 99-10. (In Persian).

Muscolo A, Cutrupi S and Nardi S. 1998. IAA detection in humic substances. Soil Biology Biochemistery, 30: 1199-1201.

Nardi S, Pizzeghello D, Gessa C, Ferrarese L, Trainotti L and Casadoro G. 2000. A low molecular weight humic fraction on nitrate uptake and protein synthesis in maiz seedlings. Soil Biology Biochemistery, 32: 415-419.

Noroozisharaf A and Kaviani M. 2018. Effect of soil application of humic acid on nutrients uptake, essential oil and chemical compositions of garden thyme (*Thymus vulgaris* L.) under greenhouse conditions. Biology, Physiology and Molecular Biology of Plants an International Journal of Functional Plant Biology, 24(3): 423-431. (In Persian).

Olivares F, Aguiar N, Rosa R and Canellas L. 2015. Substrate biofortification in combination with foliar sprays of plant growth promoting bacteria and humic substances boosts production of organic tomatoes. Scientia Horticulturae, 183: 100–108.

Orlov D, Sadovnikova L. 2005. Soil organic matter and protective functions of humic subestances in the biosher. Springer. Use of Humic Substances to Remediate Polluted Environments, 37-52.

Padem H, Ocal A and Alan R. 1999. Effect of humic acid added foliar fertilizer on quality and nutrient content of eggplant and pepper seedling. International Society for Hourticulture Science, 491:241-246.

Pancheva T, Popova L and Uzunova A. 1996. Effects of salicylic acid on growth and photosynthesis in barley plants. Journal of Plant Physiology, 149: 57-63.

Qinghua S and Zhujun Z. 2008. Effect of exogenous salicylic acid on manganese toxicity, element contents and antioxidative system in cucumber. Environmental and Experimental Botany, 63: 317-326.

Raskin J. 1992. Salicylate, a new plant hormone. Plant Physiology, 99(3): 799-803.

Robert E. 2010. Organic Matter, Humus, Humate, Humic Acid, Fulvic Acid, and Humin. Emeritus Associate Professor, Texas A & M University. 10-12.

Saharkhiz M, Mohamadi S, Javanmardi J and Tafazoli E. 2011. Salicylic acid changes physio-morphological traits and essential oil content of catnip (*Nepeta cataria L.*). Z. Arznei-Gewurzpfl, 16: 75-77. (In Persian).

Samavat S and Malakouti M. 2005. Necessity of Production and Utilization of Organic Acids to Increase Quality and Quantity of Agricultural Products. Sana Publisher, Tehran. (In Persian).

Sharikova F, Sakhabutdinova A, Bezrukova M, Fatkhutdinova R and Fatkhudinova D. 2003. Changes in the hormonal status of wheat seedling induced by salicylic acid and salinity. Plant Science, 164: 317-322.

Shimada K, Fujikawa K, Yahara K and Nakamura T. 1992. Antioxidative properties of xanthone on the auto oxidation of soybean in cylcodextrin emulsion. Journal of Agrigulture and Food Chemistry, 40: 945–948.

Singaravel R, Govindasamy R and Subramanian B. 1998. Influence of humic, nitrogen and Azospirilum on the yield and nutrient uptake by sesame. Journal of the Indian Society of Soil Science, 49(1): 142 – 145.

Vaughan D and Linehan D. 2004. The growth of wheat plants in humic acid solutions under axenic conditions. Plant and Soil, 44: 445-449.

Wang Y, Combe C and Clark M. 2001. The effects of pH and calcium on the diffusion coefficient of humic acid. Journal of Membrane Science, 183: 49-60.

Yang C, Ming C, Lu Y, Chang, I and Chou C. 2004. Humic substances affect the activity of chlorophylls. Journal of Chemical Ecology, 30(5):1057-65.

Yao H and Tian S. 2005. Effects of pre- and post- harvest application of salicylic acid or methyl jasmonate on inducing disease resistance of sweet cherry fruit in storage. Postharvest Biology Technology, 35: 253-262.

Zhang X and Schmidt R. 2000. Hormon-containing products impact on antioxidant status of tall fescue and creeping bentgrass subjected to drought. Crop Science, 40:1344-1349.