

تغییرهای ریخت‌شناسی و ترکیب‌های بیوشیمیایی اسانس آویشن دناپی زیر تاثیر محلول‌پاشی با نانوکمپلکس روی-سالیسیلیک اسید و مدت انبارمانی^۱ Changes in Morphology and Biochemical Compounds in Essential Oil of Thyme (*Thymus daenensis* Celak.) under Foliar Application of Zinc- Salicylic Acid Nano-complex and Storage Duration

امیررضا توکلی، عبدالحسین ابوطالبی جهرمی*، وحید روشن و عبدالرسول ذاکرین^۲

چکیده

به منظور بررسی اثر نانوکمپلکس روی-اسیدسالیسیلیک و مدت انبارمانی بر ویژگی‌های باغبانی و فیتوشیمیایی آویشن دناپی (*Thymus daenensis* Celak)، پژوهشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی به صورت فاکتوریل در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی فارس انجام شد. محلول‌پاشی گیاهان در دو مرحله به فاصله ۱۵ روز بعد از استقرار، در سطوح صفر، ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵ درصد حجمی-حجمی انجام شد. پس از برداشت گیاهان و انبارمانی در طول دوره‌های صفر، ۲، ۴ و ۶ ماه در دمای اتاق، تغییرهای کمی و کیفی اسانس، محتوای ترکیب‌های فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندام هوایی بررسی شد. براساس نتایج محلول‌پاشی نانوکمپلکس روی-سالیسیلیک اسید ۰/۳ درصد، باعث افزایش ارتفاع بوته، وزن تر، وزن خشک، ارتفاع گل‌آذین، طول برگ، عرض برگ و نسبت وزن تر به خشک به ترتیب نسبت به شاهد بدون محلول‌پاشی به میزان ۳۲/۵، ۲۶/۷، ۱۹/۲، ۳۸/۳، ۲۲/۲ و ۲۷/۰۸ درصد شد. مدت انبارمانی اثر معنی‌داری بر درصد اسانس نداشت. غلظت ۰/۳ درصد نانوکمپلکس، مقدار اسانس را ۰/۸۲۲ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. اثر برهمکنش غلظت نانوکمپلکس و زمان انبارمانی بر درصد اسانس معنی‌دار نشد. ترکیب‌های غالب اسانس، کارواکرول، تیمول، پی-سیمن و بورنتول بود. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه مربوط به برهمکنش محلول‌پاشی نانوکمپلکس روی-اسیدسالیسیلیک با غلظت ۰/۱ درصد و نگهداری به مدت ۶۰ روز بود. تیمار با نانوکمپلکس روی-اسیدسالیسیلیک (در غلظت ۰/۳ درصد) باعث بهبود ویژگی‌های رویشی و مدت انبارمانی و افزایش درصد اسانس گردید.

واژه‌های کلیدی: مواد فنولی، پتانسیل آنتی‌اکسیدانی، درصد اسانس.

مقدمه

تیره نعنائیان (Lamiaceae) از متنوع‌ترین و گسترده‌ترین تیره‌های گیاهی است و اهمیت دارویی گیاهان این تیره به دلیل اسانس موجود در آن‌ها است. آویشن از تیره نعنائیان و دارای اثرهای ضد میکروبی، ضد قارچی و آنتی‌اکسیدان قوی است. به دلیل دارا بودن بازده بالای اسانس و ترکیب‌های فنولی ارزشمند، به ویژه تیمول و کارواکرول بسیار مورد توجه است. آویشن باغی^۳ و آویشن دناپی^۴ دو گونه دارویی این تیره هستند که در ایران مصرف دارویی دارند (۲۳). آویشن دناپی در مناطق مختلف کشور رشد و نمو می‌کند و در مناطقی به صورت زراعی کشت می‌شود (۱۹). اسید سالیسیلیک در تمام سلسله‌های گیاهی

۱- تاریخ دریافت: ۹۹/۸/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۳/۹

۲- به ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار گروه علوم باغبانی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، دانشیار مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز و استادیار گروه علوم باغبانی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (aa84607@gmail.com).

۴- *T. daenensis* Celak.

۳- *Thymus vulgaris* L.

وجود داشته و روی بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک در گیاهان با غلظت‌های کم موثر است. اسید سالیسیلیک، گل‌دهی، افزایش عمر گل، به تأخیر انداختن پیری و افزایش سرعت فرآیندهای متابولیکی یاخته را می‌انگیزد. حفظ سطوح اسید سالیسیلیک شاید یک پیش‌نیاز برای ساخت اکسین و یا سایتوکاینین باشد. استفاده از اسید سالیسیلیک در گیاهان دارویی شمعدانی عطری (*Pelargonium graveolens*)، فلفل (*Capsicum annuum*)، نعنا (*Mentha sativa*)، پونه (*M. pulegium*) و سنبل هندی (*Nardostachys jatamansi*) هیچ گونه افزایشی در میزان کمی اسانس نداشته، اما روی کیفیت اسانس با کاهش میزان ترکیب‌های سمی موجود در اسانس اثر مثبت دارد (۲۰). اسید سالیسیلیک همچنین بر رشد رویشی گیاه تأثیر مثبت دارد. پژوهشی نشان داد که محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک با غلظت‌های ۱۰، ۱ و ۱۰۰ میکرومولار روی گیاهان دارویی ریحان و مرزنجوش باعث افزایش ویژگی‌های رویشی، کربوهیدرات‌ها و میزان عنصرهای کم‌مصرف شد و مقدار پلی‌آمین‌های مضر را کاهش داد (۹). پاسخ گیاهان دارویی به عوامل محیطی مانند فلزهای سنگین، عنصرهای کم‌مصرف و پرمصرف و چگونگی تغییرهای متابولیکی و فیزیولوژیکی آن‌ها همواره مورد توجه پژوهشگران بوده است. روی از عنصرهای کم‌مصرف ضروری است و نقش‌های ساختاری و عملکردی فراوانی در فرآیندهای متابولیکی گیاهان برعهده دارد، اما هم کمبود و هم مقدار اضافی آن در خاک‌ها موجب بروز اختلال‌های متابولیکی و بازدارندگی رشد در بیشتر گونه‌های گیاهی می‌شود (۱۸، ۲). کاربرد نانوفناوری به‌عنوان یکی از روش‌های نویدبخش جهت افزایش تولید غذای مورد نیاز جمعیت در حال رشد جهان است (۱۶). قطر منافذ دیواره یاخته‌های گیاهی در محدوده ۵ تا ۲۰ نانومتر است بنابراین، ساختارهایی در اندازه نانومتر در بسیاری از جنبه‌های زیست‌شناسی گیاهی مهم هستند. نانوکودها حامل‌های عنصرهای غذایی در ابعاد ۳ تا ۴۰ نانومتر هستند که توانایی حمل مناسب ۹ تا ۴۰ نانومتر یون‌های عنصرهای غذایی را به‌علت سطح ویژه زیاد دارند (۷). استفاده از نانوفناوری در تولید کودها ممکن است موجب رها شدن بهینه و افزایش کارایی جذب عنصرهای غذایی موجود در کود شود که منجر به فواید اقتصادی و زیست‌محیطی قابل توجهی می‌شود (۶).

به‌دلیل اهمیت آویشن دثانی از نظر اسانس و ترکیب‌های دارویی، در پژوهش حاضر اثر نانوکمپلکس روی و اسیدسالیسیلیک و همچنین طول دوره انبارمانی بر ویژگی‌های رویشی و میزان ترکیب‌های آن مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه ایستگاه بعثت شیراز وابسته به مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس با ارتفاع متوسط حدود ۱۴۸۶ متر از سطح دریا، میانگین بارش ۳۳۷ میلی‌متر و متوسط دمای ۱۸ درجه سلسیوس در سال ۱۳۹۸ انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک در چهار سطح صفر، ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵ درصد حجمی-حجمی، در دو دوره، پیش از گل‌دهی و تمام گل روی گیاه دارویی آویشن دثانی انجام شد. طول زمان انبارمانی در ۴ سطح صفر، ۲، ۴ و ۶ ماه پس از برداشت در دمای اتاق، مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. بذرها از مرکز بیان‌شده تهیه و در گلخانه در مخلوط مساوی خاک، ماسه و کود دامی پوسیده در اوایل اسفندماه سال ۱۳۹۷ کشت و گیاهچه‌ها در مرحله ۶ تا ۸ برگی (اواخر اسفندماه) به زمین اصلی در کرت‌های ۲×۱/۵ متر در فواصل بین و روی ردیف ۵۰ سانتی متر منتقل شدند و تا فرارسیدن زمان بهره‌برداری از آن‌ها در زمین اصلی باقی مانده و مراقبت‌های لازم مانند آبیاری هفتگی، وجین علف‌های هرز و سله‌شکنی انجام شد. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل انجام آزمایش در جدول یک آمده است.

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی پیش از اجرای آزمایش.

Table 1. Physical and chemical properties of soil of experimental farm before performing the experiment.

رس	سیلت	شن	مس	منگنز	روی	آهن	پتاسیم	فسفر	نیتروژن	کربن آلی	پی‌اچ	هدایت الکتریکی
Clay	Silt	Sand	Cu	Mn	Zn	Fe	K	P	N	OC	pH	EC
	%				ppm				%			dSm ⁻¹
28.3	45.1	31.6	1.52	19.8	0.55	7.6	449	15.4	0.07	0.68	7.52	7.6

استخراج و واکاوی اسانس

بی‌درنگ پس از برداشت (مرحله گلدهی بالای ۵۰ درصد) وزن تر بوته‌ها با ترازوی دیجیتالی اندازه‌گیری و بوته‌هایی از هر کرت برای محاسبه وزن خشک جدا شد که پس از خشک شدن در دمای اتاق (۲۰ تا ۲۵ درجه سلسیوس) توزین و وزن خشک آن‌ها محاسبه شد و ۵۰ گرم از این نمونه برای استخراج اسانس مورد استفاده قرار گرفت. اسانس‌گیری توسط روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۲ ساعت انجام گرفت. اسانس حاصل تا زمان استفاده، پس از آبگیری درون ظرف درب‌دار تیره رنگ و در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد. تعیین نوع و درصد ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس با استفاده از کروماتوگرافی گازی (Gas chromatography) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (Gas Chromatograph-Mass Spectrometer) مورد ارزیابی قرار گرفت.

ویژگی‌های دستگاه‌های مورد استفاده

دستگاه کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی

کروماتوگرافی گازی Agilent technologies مدل ۷۸۹۰A، ستون HP-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۳۲ میلی‌متر، ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر، برنامه‌ریزی دمایی ستون از ۶۰ تا ۲۱۰ درجه سلسیوس با افزایش دمای سه درجه سلسیوس در دقیقه، آشکارساز با دمای ۲۹۰ درجه سلسیوس، گاز حامل نیتروژن با سرعت یک میلی‌لیتر در دقیقه و دمای تزریق ۲۸۰ درجه سلسیوس بود. کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی از نوع Agilent Technologies مدل ۵۹۷۵A، ستون HP-5MS به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۳۲ میلی‌متر، ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر، برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۶۰ تا ۲۱۰ درجه سلسیوس با افزایش دمای سه درجه سلسیوس در دقیقه و ۲۱۰ تا ۲۴۰ درجه با افزایش دمای ۲۰ درجه سلسیوس در دقیقه، دمای محفظه تزریق ۲۸۰ درجه سلسیوس، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و گاز حامل، هلیوم بود.

شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس

پس از جداسازی اسانس، درصد ترکیب‌های تشکیل‌دهنده آن به همراه شاخص بازدارندگی محاسبه شد. به منظور بررسی کیفی (شناسایی) طیف‌های جرمی مربوط به ترکیب‌های موجود در اسانس به دست آمد. شناسایی طیف‌ها به کمک محاسبه شاخص‌های بازدارندگی کوآتس که با تزریق هیدروکربن‌های نرمال (C7-C25) در شرایط یکسان انجام شد و با مقادیر ارائه شده در منابع مختلف مقایسه شد. بررسی طیف‌های جرمی نیز برای شناسایی ترکیب‌ها انجام شد و شناسایی‌های انجام‌شده با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد و استفاده از منابع کتابخانه‌ای تأیید شد. درصد نسبی هر یک از ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس با توجه به سطح زیر منحنی آن در طیف کروماتوگرافی گازی به دست آمد و با مقادیری که در منابع مختلف با در نظر گرفتن اندیس کوآتس منتشر شده، مقایسه شد (۱، ۶).

تهیه عصاره و تعیین محتوای فنول کل

به منظور تهیه عصاره، ۲۰۰ میلی‌گرم از بافت برگ‌های خشک‌شده به صورت پودر درون میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری ریخته و به آن ۲ میلی‌لیتر حلال متانول-استیک اسید به نسبت حجمی ۸۵ به ۱۵ به هر یک از آن‌ها اضافه شد. سپس در دستگاه اولتراسونیک به مدت ۱۵ دقیقه در دمای پایین قرار گرفتند. بعد از آن به سانتریفیوژ یخچال‌دار به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه در دمای صفر درجه سلسیوس و به منظور جداکردن فاز مایع از جامد منتقل شدند. فاز رویی به درون میکروتیوب‌های جدید انتقال داده شدند و هم حجم آن‌ها n-هگزان اضافه شد. بعد از دو قطبی شدن، محلول از فاز زیری برداشته شد. برای اندازه‌گیری فنول کل ۲۰۰ میکرولیتر عصاره تهیه شده و رقیق شده (به نسبت ۱ به ۱۰) در مرحله پیش با یک میلی‌لیتر محلول فولین یک درصد در لوله آزمایش آمیخته و به مدت ۶ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس ۸۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم ۱۰ درصد به آن اضافه نموده و نمونه‌ها به مدت ۹۰ دقیقه در محیط تاریک و دمای محیط نگهداری شد. در این مرحله مقدار ۲۲۰ میکرولیتر از محتوای درون لوله آزمایش را در هر یک از چاهک‌های میکروپلیت ریخته و برای هر نمونه سه تکرار در نظر گرفته شد. میزان جذب محلول‌ها در همه تیمارها و تکرارها در یک زمان و در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه میکروپلیت ریدر مدل BioTek ELx 808 اندازه‌گیری شد. برای رسم منحنی استاندارد نیز پس از تهیه غلظت‌های مختلف گالیک اسید (صفر تا ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر)، به جای ۲۰۰ میکرولیتر عصاره ۲۰۰ میکرولیتر از هر غلظت استاندارد تهیه شده در شروع آزمایش اضافه شد (۱۲، ۲۴).

استخراج عصاره و ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی

ویژگی آنتی اکسیدانی عصاره گیاه به روش DPPH (۱،۲-دیفنیل-۱-پیکریلیدرازیل) مورد سنجش قرار گرفت. برای تهیه عصاره متانولی، ۱۰ گرم پودر نمونه خشک شده را در ۲۰۰ میلی لیتر متانول ریخته و پس از ۴۸ ساعت عصاره با استفاده از کاغذ صافی صاف و جهت حذف حلال، در دستگاه روتاری قرار داده شد. جذب نوری نمونه ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر خوانده و درصد مهار رادیکال های آزاد DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$100 - [(A) \text{ sample} - (A) \text{ blank}] \times 100 / (A) \text{ control}$$

ضمن تعیین رابطه بین غلظت و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی IC50 (Median Inhibition Concentration) (غلظتی از ترکیب که باعث ۵۰ درصد بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی می شود) فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکرومول اسید گالیک بر گرم وزن خشک عصاره ($\mu\text{mol/g}$) محاسبه شد. بدیهی است که هر چه این عدد کوچک تر باشد، قدرت آنتی اکسیدانی یا مهار رادیکال های آزاد بیشتر است (۵).

روش ساخت نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک

کود نانوکمپلکس با استفاده از پایه اسید سالیسیلیک و استات روی با استفاده از مراحل ساخت نانو کود تهیه شد که در ازای ۱ مول استات روی، ۲ مول اسید سالیسیلیک به کار برده شد. برای اطمینان از ایجاد و تشکیل کمپلکس نانو، از ترکیب کودی ساخته شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عکس برداری انجام شد. همچنین برای بررسی پایداری کود با استفاده از دستگاه Zeta Potential میزان پایداری آن اندازه گیری شد. عکس برداری از اندازه ذرات و کیفیت تشکیل نانو توسط میکروسکوپ الکترونی در دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز انجام شد (شکل ۱). عکس میکروسکوپ الکترونی عبوری نشان می دهد که اندازه ذرات نانوکمپلکس روی کوچک تر از ۵۰ نانومتر است. این تصویر مشخص می سازد که نانو ذرات کمپلکس روی به شکل کروی به خوبی روی سطح بستر اسید سالیسیلیک پخش شده است.

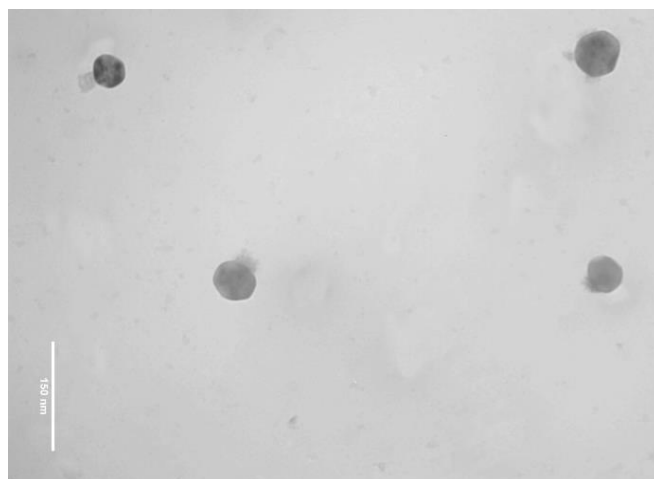


Fig. 1. The electron microscope image was prepared by Philips EM208 100 kV device.

شکل ۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری تهیه بوسیله دستگاه ۱۰۰ kV Philips, EM208.

محاسبه آماری و نرم افزارهای مورد استفاده

واکاوی آماری داده ها با استفاده از نرم افزارهای SAS 9.1 و Excel 2007 انجام شد. میانگین ها پس از تجزیه واریانس توسط آزمون دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج

براساس نتیجه های حاصل از تجزیه واریانس، محلول پاشی کود نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک بر ارتفاع بوته، وزن تر، وزن خشک و نسبت وزن تر به وزن خشک در سطح ۵ درصد و بر ارتفاع گل آذین، طول و عرض برگ در سطح یک درصد معنی دار بود و بر تعداد شاخه در بوته اثر معنی دار نداشت.

ویژگی‌های رویشی

با افزایش غلظت محلول‌پاشی نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک همه ویژگی‌های رویشی اندازه‌گیری‌شده تا سطح ۰/۳ درصد این ترکیب افزایش یافته و سپس روند کاهشی داشتند. محلول‌پاشی نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک در سطح ۰/۳ درصد باعث افزایش ارتفاع بوته، وزن تر، وزن خشک، ارتفاع گل‌آذین، طول برگ، عرض برگ و نسبت وزن تر به خشک به ترتیب نسبت به شاهد بدون محلول‌پاشی به میزان ۳۲/۵، ۲۶/۷، ۱۹/۲، ۳۸/۳، ۲۲/۲ و ۲۷/۰۸ درصد شد (جدول ۲).

جدول ۲- تاثیر محلول‌پاشی نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک بر برخی ویژگی‌های ریخت‌شناسی آویشن دناپی.

Table 2. Effect of foliar application of Zinc-salicylic acid nano-complex on some morphological traits of Denaian Thyme

غلظت نانوکمپلکس Nano-complex concentration	ارتفاع بوته (سانتی متر) Plant height(cm)	وزن تر (گرم در بوته) Fresh weight(g/plant)	وزن خشک (گرم در بوته) Dry weight(g/plant)	ارتفاع گل آذین (سانتی متر) Inflorescence height(cm)	طول برگ (میلی متر) Leaf length(cm)	عرض برگ (میلی متر) Leaf width(cm)	نسبت وزن تر به خشک Fresh weight/Dry weight
0	16.2 ^c	45.7 ^b	16.4 ^b	4.5 ^c	12.6 ^b	3.5 ^{bc}	2.8 ^b
0.1	16.5 ^c	56.7 ^a	17.7 ^b	4.5 ^c	12.3 ^b	3.3 ^c	3.2 ^a
0.3	24.0 ^a	62.4 ^a	20.3 ^a	7.3 ^a	16.2 ^a	4.8 ^a	3.1 ^a
0.5	20.2 ^b	57.4 ^a	18.3 ^b	6.0 ^b	15.3 ^a	4.0 ^b	3.1 ^a

Means with the same letter in each column are not significant difference (based on Duncan Multiple Range Test 5%).

در هر ستون، میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک، در سطح ۵ درصد آزمون دانکن، اختلاف معنی‌دار ندارند.

درصد اسانس

براساس نتیجه‌های تجزیه واریانس، درصد اسانس آویشن دناپی به طور معنی‌داری زیر تاثیر غلظت نانوکمپلکس روی قرار گرفت، اما زمان انبارداری اثری بر درصد اسانس نداشت. بیشترین درصد اسانس (۰/۸۲۲ درصد) در استفاده از ۰/۳ درصد نانوکمپلکس روی و کمترین آن (۰/۵۰۸ درصد) در استفاده از ۰/۱ درصد نانوکمپلکس روی مشاهده شد (جدول ۳).

جدول ۳- درصد اسانس آویشن دناپی زیر تاثیر غلظت نانوکمپلکس روی - سالیسیلیک اسید و مدت زمان انبارداری.

Table 3. Essential oil percent of Denaian Thyme influenced by different concentrations of Zinc-salicylic acid nano-complex and storage time.

غلظت نانوکمپلکس روی (%) Nano-complex concentration (%)	زمان انبارداری Storage time			میانگین غلظت نانوکمپلکس Mean of nano-complex concentration
	۲ ماه 2 months	۴ ماه 4 months	۶ ماه 6 months	
0	††0.640 ^{ef}	0.617 ^f	0.670 ^e	†0.642 ^C
0.1	0.487 ^g	0.520 ^g	0.517 ^g	0.508 ^D
0.3	0.860 ^a	0.793 ^{bc}	0.813 ^{ab}	0.822 ^A
0.5	0.773 ^{bcd}	0.723 ^d	0.760 ^{cd}	0.752 ^B
میانگین زمان انبارداری Mean of storage time	†0.690 ^A	0.663 ^A	0.690 ^A	

†Means with the same letter in each column are not significant difference (based on Duncan Multiple Range Test 5%).

میانگین‌های دارای حرف‌های بزرگ موجود در ستون سمت راست و ردیف پایین (مربوط به اثرهای اصلی دو فاکتور) و میانگین‌های دارای حرف‌های کوچک در خانه‌های میانی جدول (مربوط به برهمکنش دو فاکتور) که دستکم دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۵٪ آزمون دانکن، تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

اجزای اسانس

در این آزمایش در زمان‌های صفر، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ روز انبارداری به‌ترتیب تعداد ۴۴، ۵۱، ۵۲ و ۴۶ ماده مؤثره در اسانس گیاه آویشن دناپی زیر تاثیر مقادیر نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک و روش‌های مختلف انبارداری مورد شناسایی قرار گرفت. تیمول، کارواکرول، بورنئول و پی‌سیمن ترکیب‌های اصلی اسانس بودند.

تعداد ترکیب‌های اسانس

در پژوهش حاضر مشخص شد که تعداد ترکیب‌های موجود در اسانس بسته به نوع تیمار متفاوت بود و با افزایش مدت انبارمانی تعداد ترکیب‌ها کاهش یافت. در طول دوره انبارمانی بیشترین تعداد ترکیب‌های موجود در اسانس متعلق به سطح ۰/۱ درصد نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک بود (جدول ۴).

جدول ۴- تعداد ترکیب‌های اسانس زیر تاثیر عوامل مورد بررسی.

Table 4. Number of essential oil compounds under the influence of the studied factors.

غلظت نانوکمپلکس Nano-complex concentration	مدت انبارمانی Storage time (days)			
	0	60	120	180
0	38	29	29	29
0.1	33	37	36	32
0.3	30	36	33	29
0.5	38	28	27	25

بررسی روند تغییرهای میزان کارواکرول زیر تاثیر زمان‌های مختلف انبارمانی نشان داد بیشترین میزان این ترکیب متعلق به ۱۲۰ روز پس از برداشت بود و پس از آن با افزایش طول مدت انبارمانی درصد این ترکیب در اسانس کاهش یافت. متوسط درصد کارواکرول در اسانس در زمان‌های ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ روز انبارمانی نسبت به زمان برداشت به ترتیب ۲/۰۵، ۸/۷ و ۸/۱۲ درصد افزایش یافت. بررسی روند تغییرهای این ترکیب نشان‌دهنده یک رابطه درجه دوم معنی‌دار ($R^2 = 0.87$) بین تعداد روزهای انبارمانی و درصد کارواکرول موجود در اسانس بود. بالاترین درصد کارواکرول (۴۹/۰۶) با محلول‌پاشی ۰/۱ درصد نانوکمپلکس به دست آمد. درصد کارواکرول در این تیمار با اختلاف معنی‌دار و افزایش ۲۶/۹ درصدی نسبت به شاهد در بالاترین گروه آماری قرار گرفت. کمترین میزان کارواکرول با ۲۴/۷ درصد کاهش نسبت به تیمار برتر از محلول‌پاشی با غلظت ۰/۵ درصد نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک به دست آمد و در آخرین گروه آماری قرار گرفت. با افزایش زمان انبارمانی میانگین درصد تیمول در اسانس آویشن دناپی افزایش یافت. بیشترین میزان این ترکیب متعلق به ۱۸۰ روز پس‌از برداشت بود. متوسط درصد تیمول در اسانس در زمان‌های ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ روز پس‌از برداشت نسبت به زمان برداشت به ترتیب ۲/۵۱، ۶/۳ و ۷/۸ درصد افزایش یافت. بررسی روند تغییرهای این ترکیب نشان‌دهنده یک رابطه مثبت خطی و معنی‌دار ($R^2 = 0.97$) بین تعداد روزهای انبارمانی و درصد تیمول موجود در اسانس بود. بالاترین درصد تیمول در اثر محلول‌پاشی با غلظت ۰/۳ درصد نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک بود (۲۶/۶۲ درصد) که بدون اختلاف معنی‌دار با شاهد در بالاترین گروه آماری قرار گرفت. کمترین میزان تیمول با ۵۴/۶۱ درصد کاهش نسبت به تیمار برتر، از محلول‌پاشی با غلظت ۰/۱ درصد نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک به دست آمد که با اختلاف معنی‌دار در آخرین گروه آماری جای گرفت. کمترین میزان بورنتول متعلق به زمان برداشت بود و پس از آن با افزایش طول مدت انبارمانی درصد این ترکیب در اسانس افزایش یافت. درصد بورنتول در اسانس در زمان‌های ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ روز پس‌از برداشت نسبت به زمان برداشت به ترتیب ۴/۲، ۴/۴ و ۶/۸ درصد افزایش یافت و در ۱۸۰ روز پس‌از برداشت با بیشترین مقدار در بالاترین گروه آماری قرار گرفت. روند نتیجه‌ها نشان‌دهنده بالاترین درصد این ترکیب (۵/۰۴ درصد) در اثر محلول‌پاشی با غلظت ۰/۳ درصد نانوکمپلکس بود که با تفاوت معنی‌دار در بالاترین گروه آماری قرار گرفت. محلول‌پاشی غلظت‌های صفر، ۰/۱ و ۰/۵ درصد نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک نسبت به تیمار برتر به ترتیب ۲/۱۱، ۱۴/۹۸ و ۱۲/۱۱ درصد کاهش داشت. کمترین میزان بورنتول با متوسط ۴/۴ درصد از کل اسانس از محلول‌پاشی با غلظت ۰/۱ درصد به دست آمد که در آخرین گروه آماری جای گرفت. با افزایش طول مدت انبارمانی درصد پی‌سیمن در اسانس کاهش یافت. متوسط درصد این ترکیب در اسانس در زمان‌های ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ روز پس‌از برداشت نسبت به زمان برداشت به ترتیب ۲/۳، ۱۴/۶ و ۱۸/۷ درصد کاهش یافت. با افزایش غلظت نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک، غلظت پی‌سیمن در اسانس گیاه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بالاترین درصد پی‌سیمن در اثر محلول‌پاشی با غلظت ۰/۵ درصد نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک به دست آمد (۱۰/۸۹ درصد) که با اختلاف معنی‌دار در بالاترین گروه آماری قرار گرفت.

میزان پی‌سیمن در تیمار محلول‌پاشی با غلظت ۰/۵ درصد نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک نسبت به غلظت‌های صفر، ۰/۱ و ۰/۳ درصد این ترکیب به ترتیب ۵۰/۶، ۲۴/۴ و ۱۵/۲۴ درصد افزایش یافت (جدول ۵).

جدول ۵- اثر اصلی نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک و زمان انبارمانی بر برخی ترکیب‌های جدا شده از اسانس آویشن دناایی.
Table 5. Main effects of Zinc-salicylic acid nano-complex and storage time on some compounds extracted from Denaieian Thyme essential oil.

	کارواکرول Carvacrol	تیمول Thymol	بورنتول Borneol	پی-سیمن p-Cymene
غلظت نانوکمپلکس (درصد) Nano-complex concentration (%)				
0	38.65 ^b	21.48 ^b	4.94 ^b	8.65 ^c
0.1	49.06 ^a	22.02 ^{ab}	4.39 ^d	8.23 ^c
0.3	38.01 ^{bc}	22.84 ^{ab}	5.04 ^a	9.23 ^b
0.5	36.94 ^c	23.15 ^a	4.50 ^c	10.89 ^a
مدت انبارمانی (روز) Storage time (days)				
0	38.83 ^b	27.05 ^a	4.54 ^c	10.16 ^a
60	39.63 ^b	12.28 ^c	4.73 ^b	9.92 ^a
120	42.23 ^a	26.62 ^a	4.74 ^b	8.67 ^b
180	41.98 ^a	23.53 ^b	4.85 ^a	8.25 ^b

Means with the same letter in each column are not significant difference (based on Duncan Multiple Range Test 5%).

در هر ستون، میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک، در سطح ۵ درصد آزمون دانکن، اختلاف معنی‌دار ندارند.

در هر یک از طول دوره‌های ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ روز انبارمانی با افزایش غلظت نانوکمپلکس، درصد کارواکرول تا سطح ۰/۱ درصد نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک افزایش و بعد از آن کاهش یافت. این میزان افزایش در سطح ۰/۱ درصد نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک نسبت به شاهد به ترتیب افزایش و پس از آن کاهش یافت. درصد افزایش کارواکرول در زمان‌های ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ روز بعد از برداشت در سطح ۰/۱ درصد نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک نسبت به شاهد به ترتیب ۲۸/۷، ۲۸/۰۹ و ۲۸/۴ درصد بود. میزان کاهش کارواکرول در غلظت ۰/۵ درصد نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک نسبت به تیمار شاهد در زمان‌های ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ روز پس از برداشت به ترتیب ۴۱/۴، ۳۸ و ۴۲/۳ درصد بود. همان‌طور که نتیجه‌ها نشان می‌دهد تغییرهای درصد تیمول دارای روند مشخصی نبوده است. در زمان‌های ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ روز پس از برداشت غلظت تیمول در اثر محلول‌پاشی با غلظت ۰/۱ درصد نانوکمپلکس به شدت کاهش یافت و پس از آن با محلول‌پاشی در غلظت‌های ۰/۳ و ۰/۵ درصد نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک افزایش پیدا کرد. نتیجه‌ها نشان داد افزایش زمان انبارمانی تأثیر معنی‌داری بر درصد تیمول در تیمار شاهد بدون محلول‌پاشی نداشته است (جدول ۷). بیشترین درصد بورنتول متعلق به برهمکنش غلظت ۰/۳ درصد نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک ۱۲۰ روز بعد از برداشت به میزان ۵/۳۲ درصد بود که در بالاترین گروه آماری قرار گرفتند. در هر یک از تاریخ‌ها و ۱۲۰ روز بعد از برداشت، محلول‌پاشی با غلظت ۰/۱ درصد نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک کمترین درصد بورنتول در اسانس را به دنبال داشت. در زمان‌های ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ روز پس از برداشت، غلظت بورنتول در تیمار ۰/۱ درصد نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک به‌طور معنی‌دار کاهش یافت ولی در تیمارهای ۰/۳ و ۰/۵ درصد نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک افزایش پیدا کرد. نتیجه‌ها نشان داد افزایش زمان انبارمانی در تیمار شاهد بدون محلول‌پاشی تا زمان ۱۲۰ روز پس از برداشت باعث افزایش و پس از آن کاهش درصد بورنتول شد. روند تغییرهای غلظت پی‌سیمن بی‌درنگ بعد از برداشت در اثر افزایش نانوکمپلکس نزولی بود. بیشترین غلظت پی‌سیمن (۱۳/۶ درصد) در غلظت صفر نانوکمپلکس بی‌درنگ پس از برداشت به دست آمد. در انبارمانی بیشترین درصد پی‌سیمن (۶۰ روز

۱۲/۹۷ درصد، ۱۲۰ روز ۱۲/۳۶ درصد و ۱۸۰ روز ۱۱/۱۳) متعلق به تیمار ۵/۰ درصد نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک بود که به ترتیب بعد از تیمار برتر در گروه‌های مستقل آماری قرار گرفتند (جدول ۶).

جدول ۶- برهمکنش نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک و زمان انبارمانی بر برخی ترکیب‌های جدا شده از اسانس آویشن دناپی.

Table 6. Interaction effects of Zinc-salicylic acid nano-complex and storage time on some compounds extracted from Denaieian Thyme essential oil.

غلظت نانوکمپلکس Nano-complex concentration (%)	زمان انبارمانی Storage duration (days)	کارواکرول Carvacrol	تیمول Thymol	بورنئول Borneol	پی-سیمن p-Cymene
0	0	28.50 ⁱ	27.20 ^{cde}	4.46 ^g	13.60 ^a
	60	40.00 ^d	26.10 ^{ef}	5.15 ^b	8.80 ^f
	120	43.18 ^c	27.60 ^{bcd}	5.09 ^{bc}	6.35 ⁱ
	180	42.93 ^c	27.30 ^{cde}	5.06 ^c	5.83 ⁱ
0.1	0	34.31 ^g	24.00 ^g	4.79 ^e	11.04 ^d
	60	51.51 ^b	8.40 ^h	4.20 ⁱ	7.81 ^g
	120	55.31 ^a	8.20 ^h	4.22 ⁱ	7.06 ^h
	180	55.11 ^a	8.50 ^h	4.33 ^h	7.03 ^h
0.3	0	40.98 ^d	26.30 ^{def}	4.84 ^e	8.88 ^f
	60	36.83 ^{ef}	25.10 ^{fg}	5.03 ^{cd}	10.11 ^e
	120	36.13 ^f	26.00 ^{ef}	5.32 ^a	8.90 ^f
	180	38.11 ^e	29.10 ^{ab}	4.98 ^d	9.02 ^f
0.5	0	51.51 ^b	8.50 ^h	4.07 ^j	7.11 ^h
	60	30.17 ⁱ	28.50 ^{abc}	4.56 ^f	12.97 ^b
	120	34.29 ^g	29.50 ^a	4.33 ^h	12.36 ^c
	180	31.79 ^h	27.70 ^{bcd}	5.04 ^{cd}	11.13 ^d

Means with the same letter in each column are not significant difference (based on Duncan Multiple Range Test 5%).

در هر ستون، میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک، در سطح ۵ درصد آزمون دانکن، اختلاف معنی‌دار ندارند.

محتوای فنول کل

محتوای فنول کل در اثر افزایش روزهای انبارمانی تا ۶۰ روز پس از برداشت افزایش و پس از آن مقدار این شاخص کاهش یافت. بیشینه مجموع ترکیب‌های فنولی (۱۵۲/۱۲ میلی‌گرم بر گرم عصاره) در زمان ۶۰ روز پس از برداشت به دست آمد. این تغییرها با یک رابطه درجه دوم مثبت و معنی‌دار توجیه شد (شکل ۲).

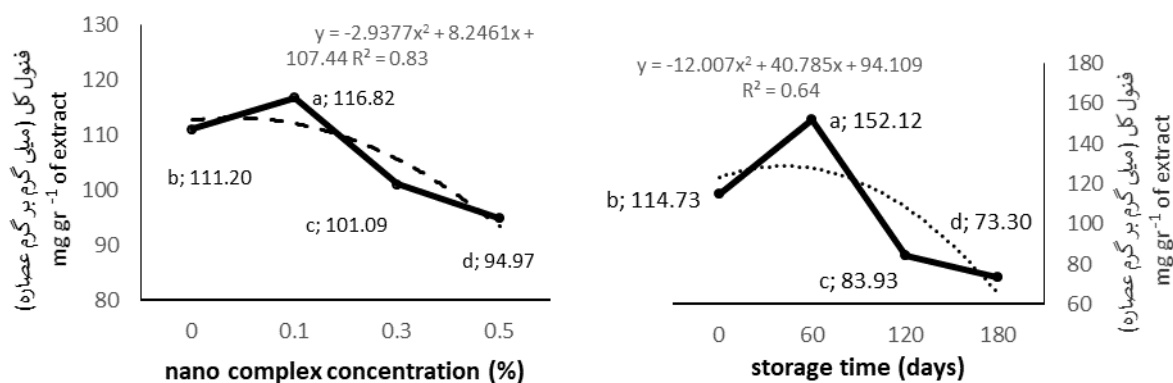


Fig. 2. Total phenol content at different storage times and concentrations of Zn- salicylic acid noncomplex. Means with the same letter in each column are not significant difference (based on Duncan Multiple Range Test 5%).

شکل ۲- محتوای فنول کل در زمان‌های مختلف انبارمانی و غلظت‌های نانوکمپلکس روی- اسید سالیسیلیک. در هر ستون، میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک، در سطح ۵ درصد آزمون دانکن، اختلاف معنی‌دار ندارند.

با افزایش مقدار نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک تا سطح ۰/۱ درصد محتوای فنول کل افزایش یافت (۱۱۶/۸۲ میلی گرم بر گرم عصاره) و پس از آن روند تغییرها کاهشی بود. کمترین میزان محتوای فنول کل از غلظت ۰/۵ درصد نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک با متوسط ۹۴/۹۷ میلی گرم بر گرم عصاره به دست آمد که نسبت به تیمار برتر و تیمار شاهد به ترتیب ۱۸/۷ و ۱۴/۶ درصد کاهش یافت. بررسی روند تغییرها نشان‌دهنده یک رابطه درجه دوم معنی‌دار بین غلظت‌های مختلف نانوکمپلکس و محتوای فنول کل گیاه بود (شکل ۳).

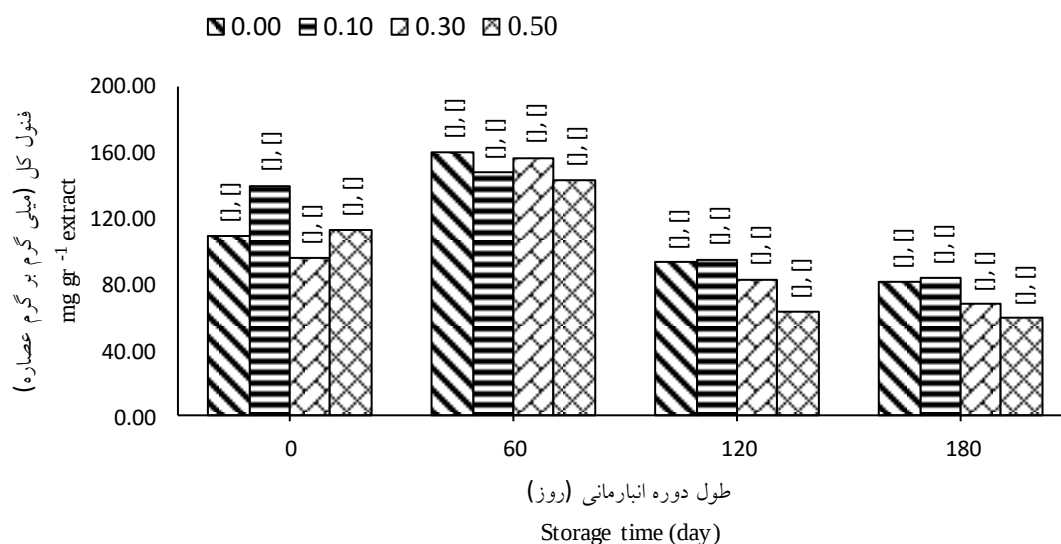


Fig. 3. Interaction of Zn-salicylic acid nano-complex concentrations and storage times on the total phenol content of Denaian thyme. Means with the same letter in each column are not significant difference (based on Duncan Multiple Range Test 5%).

شکل ۳- برهمکنش غلظت‌های نانوکمپلکس روی اسید سالیسیلیک و زمان‌های انبارمانی بر محتوای فنول کل آویشن دنائی. در هر ستون، میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک، در سطح ۵ درصد آزمون دانکن، اختلاف معنی‌دار ندارند.

در برهمکنش بین طول دوره انبارمانی و تغییرات غلظت نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک، بیشترین میزان فنول کل (۱۰۶/۲ میلی گرم بر گرم عصاره از برهمکنش غلظت ۰/۱ درصد نانوکمپلکس در ۶۰ روز پس‌ازبرداشت به دست آمد). در هر یک از تاریخ‌های نمونه‌برداری با افزایش غلظت نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک محتوای فنول کل تا سطح ۰/۱ درصد افزایش و پس از آن کاهش یافت. کمترین مقادیر فنول کل در این بررسی متعلق به ۱۸۰ روز انبارمانی آویشن دنائی در هر یک از سطوح نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک بود. بررسی همبستگی هر یک از غلظت‌های نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک با محتوای فنول کل در زمان‌های مختلف انبارمانی نشان داد در هر یک از غلظت‌ها یک رابطه درجه دوم معنی‌دار بین محتوای فنول کل و غلظت نانوکمپلکس بوده است. بالاترین میزان همبستگی بین این دو شاخص ($r^2=0/۸۳$) در غلظت ۰/۱ درصد نانوکمپلکس بود (شکل ۴).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در اثر افزایش روزهای انبارمانی تا ۶۰ روز پس‌ازبرداشت بود و پس از آن کاهش یافت. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدان (۷۴۶/۵ میلی گرم بر لیتر) در زمان ۶۰ روز پس از انبارمانی به دست آمد (شکل ۵). محلول‌پاشی غلظت‌های ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵ درصد نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی به ترتیب ۱۸، ۷/۶ و ۸/۹ درصد نسبت به شاهد بدون محلول‌پاشی شد. بیشترین سطح فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۶۰۲/۴۶ میلی گرم بر لیتر) از محلول‌پاشی با غلظت ۰/۱ درصد نانوکمپلکس به دست آمد و پس از آن با افزایش سطح محلول‌پاشی نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک، غلظت آنتی‌اکسیدان کاهش یافت (شکل ۶).

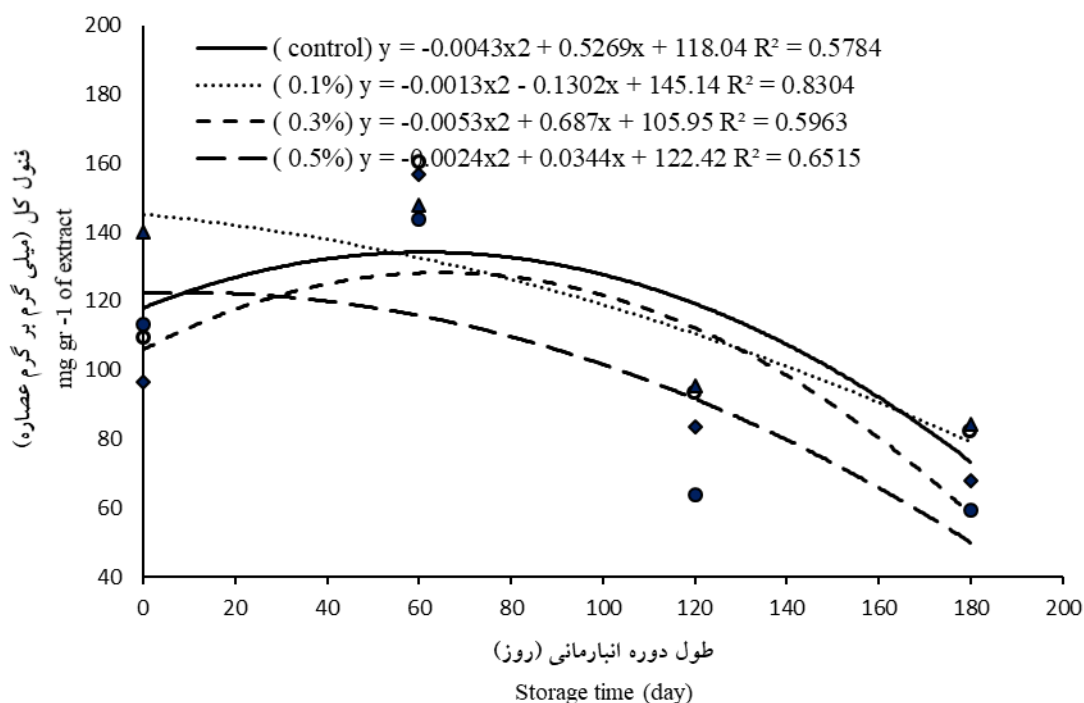


Fig. 4. Correlation between concentrations of Zn-salicylic acid nano-complex and storage times on the total phenol content of Denaeian thyme.

شکل ۴- همبستگی غلظت‌های نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک و زمان‌های انبارمانی بر محتوای فنول کل آویشن دنائی.

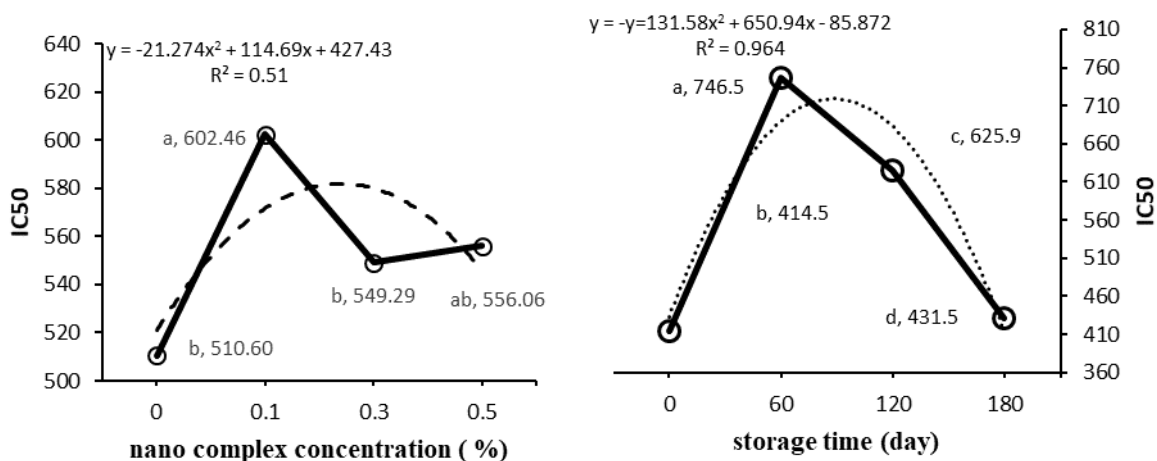


Fig. 5. Changes in antioxidant activity by increase in storage time and concentrations of Zn-salicylic acid nanocomplex. Means with the same letter in each column are not significant difference (based on Duncan Multiple Range Test 5%).

شکل ۵- تغییرهای فعالیت آنتی‌اکسیدانی با افزایش زمان انبارمانی و غلظت نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک. در هر ستون، میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک، در سطح ۵ درصد آزمون دانکن، اختلاف معنی‌دار ندارند.

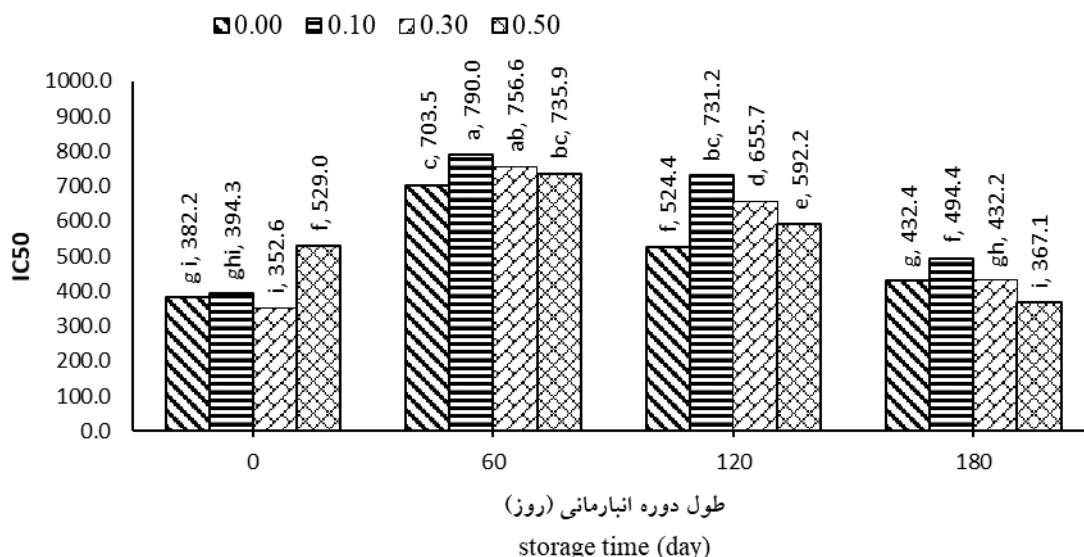


Fig. 6. Interaction of concentrations of Zn-salicylic acid nano-complex and storage time on the antioxidant activity. Means with the same letter in each column are not significant difference (based on Duncan Multiple Range Test 5%).

شکل ۶- برهمکنش درصد نانوکمپلکس روی اسید سالیسیلیک و مدت‌زمان انبارمانی بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی. در هر ستون، میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک، در سطح ۵ درصد آزمون دانکن، اختلاف معنی‌دار ندارند.

برهمکنش سطوح نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک و مدت زمان انبارمانی نشان داد در هر زمان انبارمانی محلول‌پاشی با غلظت ۰/۱ درصد نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نسبت به سایر غلظت‌های محلول‌پاشی داشته است. رابطه بین زمان انبارمانی و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در هر یک از سطوح نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک بر اساس یک رابطه درجه دوم معنی‌دار تفسیر شد. میزان همبستگی در سطوح صفر ($r^2=0/71$)، ۰/۱ درصد ($r^2=0/96$)، ۰/۳ درصد ($r^2=0/96$) و ۰/۵ درصد ($r^2=0/95$) بود که بر اساس آن بالاترین میزان همبستگی در سطح ۰/۱ درصد نانوکمپلکس به دست آمد. روند تغییرهای میزان آنتی‌اکسیدان در برابر افزایش غلظت محلول‌پاشی نانوکمپلکس بر اساس یک رابطه درجه دوم معنی‌دار ($r^2=0/5$) توجیه شد (شکل ۷).

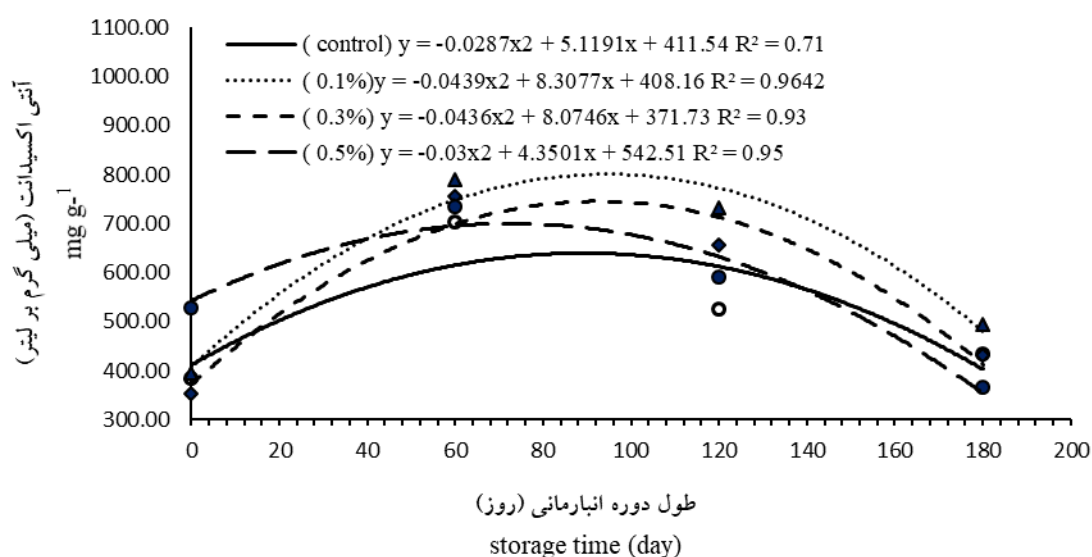


Fig. 7. Correlation of antioxidant levels of thyme extract in storage durationa at different concentrations of nanocomplex.

شکل ۷- همبستگی میزان آنتی‌اکسیدان عصاره آویشن دناپی بازمان انبارمانی در غلظت‌های مختلف نانوکمپلکس.

بحث

گیاه آویشن دنايي یکی از گونه‌های مهم تیره نعناعیان محسوب می‌شود. مطالعه روی روش‌های دستیابی به رشد مطلوب و کیفیت اسانس این گونه ارزشمند از نظر اقتصادی مهم است. از این رو باید با مدیریت‌های مهم زراعی مانند محلول‌پاشی عنصرهای غذایی و مدیریت انباردانی این گیاه پس از برداشت، به این هدف مهم یعنی افزایش کیفیت دست یافت. از طرفی به نظر می‌رسد اسید سالیسیلیک با افزایش میزان کلروفیل در برگ‌هایی که در آغاز فرایند پیری هستند، می‌تواند سبب افزایش مجدد فتوسنتز و در نتیجه افزایش رشد شود (۹). کاربرد اسید سالیسیلیک یا آنالوگ‌های دیگر اسید سالیسیلیک، در برگ‌های ذرت و سویا باعث افزایش ارتفاع آن‌ها شد (۱۳). پژوهشگران در مطالعه‌هایی نشان دادند استفاده از ترکیب‌های مختلف عنصر روی بر ارتفاع بوته اثر مثبت دارد. این بررسی‌ها نشان دادند که ارتفاع گیاه در لوبیا با مصرف عنصر روی افزایش می‌یابد (۲۵). گزارش شده است که کاربرد کود روی باعث افزایش رشد ریشه و ارتفاع ساقه‌ها در طی فصل رشد می‌شود (۲۲، ۲۷). افزایش وزن تر بوته در آزمایش حاضر به احتمال به دلیل افزایش محتوای رطوبت نسبی برگ بوده است که در نهایت منجر به حفظ تورم و حجم برگ شده و در نتیجه رشد و افزایش تعداد یاخته‌ها را باعث شده است (۲۷). بررسی‌ها نشان می‌دهد استفاده از اسید سالیسیلیک با گسترش سیستم ریشه‌ای، حفظ سلامت آن‌ها، جذب بیشتر آب و مواد غذایی و از راه افزایش فتوسنتز در برگ‌ها در افزایش عملکرد زیستی آویشن دنايي نقش مثبتی ایفا کرده است. از طرفی به نظر می‌رسد که افزایش عملکرد زیستی در اثر استفاده از اسید سالیسیلیک به خاطر فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ماده در غشا یاخته‌ای باشد که باعث افزایش مقادیر لیگنین در ساختار دیواره یاخته‌ای می‌شود که این خود می‌تواند عاملی در افزایش وزن زیست‌توده گیاهان باشد. اثر مثبت عنصر روی بر افزایش وزن خشک شاخساره گیاهان مختلف توسط بسیاری از پژوهش‌گران گزارش شده است (۱۴). در رابطه با تأثیر مثبت غلظت‌های پایین عنصر روی بر وزن خشک شاخساره و ریشه می‌توان بیان نمود که با توجه به غلظت کم این عنصر در خاک مورد مطالعه، کاربرد ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵ درصد نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک به دلیل فراهم آوردن تعادل تغذیه‌ای و اثرهای مثبت روی-اسید سالیسیلیک بر جذب و انتقال سایر عنصرهای غذایی کم‌مصرف و پرمصرف و بدنال آن افزایش فتوسنتز و تنفس بوده است (۱۷، ۳). کاربرد سطوح بالای نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک در مقایسه با تیمار شاهد، سبب کاهش معنی‌دار ویژگی‌های رویشی و زایشی نسبت به تیمار ۰/۳ درصد محلول‌پاشی شد. در این رابطه می‌توان بیان نمود به‌رغم نقش حیاتی در ساختار و راه‌اندازی بسیاری از فرآیندهای متابولیک گیاه، انباشت زیاد عنصر روی در گیاه از راه اختلال در عملکرد طبیعی یاخته‌های گیاه (۱۳)، مهار فرآیند تنفس و واکنش‌های انرژی‌خواه مرتبط با رشد یاخته، تحریک تولید رادیکال‌های آزاد، افزایش پراکسیداسیون لیپید، آسیب به غشای یاخته‌ها، افزایش تراوایی غشای یاخته‌ای (۱۲) و بدین ترتیب وقوع نشت الکترولیتی غشای یاخته‌ای و در نهایت کاهش آب در دسترس گیاه و کلروفیل و فعالیت‌های فتوسنتزی (۱۷، ۳) باعث کاهش رشد ریشه و شاخساره می‌شود. همان‌طور که این نتیجه‌ها نشان می‌دهد غلظت تیمول و پی‌سیمن با افزایش غلظت نانوکمپلکس روند افزایشی داشته است. این نتیجه با نتیجه‌های به دست آمده پیشین همسو است (۱۸). تغییرهای تعداد ترکیب‌های موجود در اسانس گیاه در اثر تیمارهای مورد بررسی می‌تواند به دلیل تبخیر ترکیب‌های فرار و واکنش‌های اکسیداتیو باشد. گزارش شده است که مقدار و تعداد ترکیب‌های اسانس گیاه گل محمدی به طور معنی‌داری زیر تأثیر زمان و شرایط انبارداری قرار می‌گیرد (۱۵). در گزارش Ebadi و همکاران (۸) نیز با افزایش مدت زمان انبارداری مقدار تعداد ترکیب‌های اسانس گیاه به‌لیمو به طور چشمگیری کاهش یافت. اشرفی و همکاران (۴) در گزارشی اعلام کردند که غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک بر میزان ترکیب‌های اصلی آویشن دنايي اثرهای معنی‌داری دارد، به طوری که غلظت‌های مختلف به کار رفته سبب کاهش یا افزایش تعدادی از ترکیب‌های ثانویه شدند. در این بررسی نیز تغییرات معنی‌داری بین غلظت‌های تیمول، کارواکرول، بورنئول و پی‌سیمن در اثر محلول‌پاشی نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک نسبت به شاهد مشاهده شد. در این پژوهش اسید سالیسیلیک با توجه به ماهیت و برهمکنشی که با دیگر هورمون‌ها دارد، سبب شد که در غلظت‌های مختلف تأثیرهای متفاوتی بر ترکیبات مختلف اسانس داشته باشد، بنابراین با توجه به اهداف و ترکیب مورد نظر، می‌توان غلظت‌های به دست آمده برای هر یک از اجزا را برای کاربرد آن در نظر گرفت. فنول‌ها و فلاونوئیدها از جمله ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان موجود در گیاه هستند که سبب فعالیت آنتی‌اکسیدانی و جاروکنندگی رادیکال‌های آزاد می‌شوند (۱۱). شمار زیادی از فلاونوئیدهای گلیکوزیدی در عصاره متانولی برگ‌های گیاهان دارویی مشاهده شده است. بررسی‌ها روی اسفناج

نیز نشان داد مقدار فنول‌ها و فلاونوئیدها در طول انبارمانی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. این کاهش مربوط به زمان انبارداری است که اغلب مقدار فنول‌ها در طول انبارمانی با کاهش مواجه می‌شوند. با وجود این، رفتار و تغییرهای این ترکیب‌ها در طول انبارمانی خیلی مشخص نیست و مقدار آن‌ها در طول انبار کردن می‌تواند کاهش یا افزایش یابد و یا تغییری نکند. همچنین این تغییرها در مورد انواع مختلف ترکیب‌های فنولی می‌تواند متفاوت باشد (۱۱، ۱۰). نتیجه‌های حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که تیمار با نانوکمپلکس روی-اسید سالیسیلیک تا سطح ۰/۱ درصد باعث افزایش مقدار ترکیب‌های فنولی شد، همچنین افزایش طول مدت انبارمانی بعد از دو ماه باعث کاهش محتوای ترکیب‌های فنولی در گیاه شد. بسیاری از مطالعه‌ها نشان می‌دهند که افزودن اسید سالیسیلیک خارجی با اتصال به گیرنده‌های غشا سبب تولید اکسیژن‌های فعال NO و متیل جاسمونات می‌شود (۲۶، ۲۱). تأثیر مستقیم این تغییرها بر رونویسی ژن‌ها و آنزیم‌های دخیل در ساخت متابولیت‌های ثانویه سبب افزایش تولید این ترکیب‌ها می‌شوند. در واقع اسید سالیسیلیک با تأثیر بر آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز سبب فعال‌سازی مسیر فنیل پروپانوییدی و افزایش تولید ترکیب‌های فنولی می‌شود (۲۴). در گیاهان تولید آنتی‌اکسیدان‌ها زیر تأثیر برهمکنش عوامل داخلی و خارجی مانند نور، دما، کربوهیدرات، هورمون‌های گیاهی و غیره است.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر، کاربرد غلظت‌های مختلف نانوکمپلکس روی-اسیدسالیسیلیک بر ویژگی‌های رویشی و زایشی گیاه آویشن دناپی اثر معنی‌داری داشت. همه ویژگی‌های رویشی اندازه‌گیری‌شده تا سطح ۰/۳ درصد کود افزایش یافته و سپس کاهش یافتند. به احتمال، سالیسیلیک اسید بتواند سبب بهبود جذب عنصرهای غذایی شود که این خود می‌تواند افزایش رشد را به همراه داشته باشد که افزایش ارتفاع گیاه یکی از این موارد است. براساس نتایج، با هدف بهبود کیفی اسانس و افزایش غلظت‌های کارواکرول، تیمول، بورنئول و پی‌سیمن، محلول‌پاشی نانوکمپلکس روی-اسیدسالیسیلیک به ترتیب در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵ درصد حجمی/حجمی توصیه می‌شود. همچنین، با توجه افزایش میزان کارواکرول و بورنئول با افزایش طول دوره انبارمانی و بر عکس، کاهش در میزان تیمول و پی‌سیمن، لازم است که براساس هدف استفاده از گیاه آویشن دناپی، مدیریت انبارداری مورد توجه قرار گیرد. براساس نتیجه‌های به دست آمده بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه مربوط به برهمکنش محلول‌پاشی نانوکمپلکس روی-اسیدسالیسیلیک با غلظت ۰/۱ درصد و نگهداری به مدت ۶۰ روز در انبار بود.

References

1. Adams, R.P. 2011. Identification of essential oils by ion trap mass spectroscopy. Academic Press, New York, 809p.
2. Agarwal, S., R.K. Sairam, G.C. Srivastava and R.C. Meena. 2005. Changes in antioxidant enzymes activity and oxidative stress by abscisic acid and salicylic acid in wheat genotypes. Biol. Plant. 49: 541-550.
3. Ali, N.A., M.P. Bernal, and M. Ater. 2002. Tolerance and bioaccumulation of copper in *Phragmites australis* and *Zea mays*. Plant Soil. 239: 103-111.
4. Ashrafi, M., A. Ghasemi Pir Baloti, M. Rahimmalek and B. Hamid. 2012. The effect of jasmonic acid sprayed on the composition of (*Thymus daenensis* Celak.). Herbal Medic. 3(2): 75-80
5. Bruits M., K. Asres and F. Bucar. 2001. The antioxidant activity of the essential oils of *Artemisia afra*, *Artemisia byssinica* and *Juniperus procera*. Phytotherapy Res. 15: 103- 108.
6. Davies, N.W. 1998. Gas chromatographic retention indices of mono-terpenes and sesquiterpenes on methyl silicon and Carbowax 20M phases. J. Chromat. 503: 1-24.
7. DeRosa, M.C., C. Monreal, M. Schnitzer, R. Walsh and Y. Sultan. 2010. Nanotechnology in fertilizers. Nature Nanotechnol. 5:91.
8. Ebadi, M.T., F. Sefidkon, M. Azizi and N. Ahmadi. 2017. Packaging methods and storage duration affect essential oil content and composition of lemon verbena (*Lippia citriodora* Kunth.). Food Sci. Nutr. 2017; 5: 588 - 595.
9. Eraslan, F., A. Inal, A. Gunes and M. Alpaslan. 2007. Impact of exogenous salicylic acid on growth, antioxidant activity and physiology of carrot plants subjected to combined salinity and boron toxicity. Sci. Hort. 113: 120-128.
10. Fatma, A.G. 2007. Effect of salicylic acid on the growth, metabolic activities and oil content of basil and marjoram. J. Agri. Biol. 1560 (98530): 249-301.

منابع

11. Gill, M.I., F. Ferreres and A. Francisco. 2009. Effect of postharvest storage and processing on the antioxidant constituents (flavonoids and vitamin C) of fresh-cut spinach. J. Agric. Food Chem. 47(6): 2213-2217.
12. Justesen, U., P. Knuthsen and T. Leth. 1997. Determination of plant phenols in Danish foodstuffs by HPLC-UV and LC-MS detection. Cancer Let. 114, 165-167.
13. Khan, W., B. Prithiviraj and D. Smith. 2003. Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. J. Plant Physiol. 160: 485-492.
14. Kovacic J., J. Gruz, M. Backor, M. Strand and M. Repcak. 2009. Salicylic acid induced changes to growth and phenolic metabolism in *Matricaria chamomilla* plant. Plant Cell Rep. 28: 135- 143.
15. Kumar, R., S. Shama, S. Sood, V.K. Agnihotri and B. Singh .2013. Effect of diurnal variability and storage conditions on essential oil content and quality of damask rose (*Rosa damascena* Mill.) flowers in north western Himalayas. Sci. Hort. 2013; 154, 102 - 108.
16. Liu, R. and R. Lal. 2014. Synthetic apatite nanoparticles as a phosphorus fertilizer for soybean (*Glycine max*). Sci. Rep. 4, 5686-5691
17. Pande, P., M. Anwar, S. Chand, V.K. Yadav and D. Patra. 2007. Optimal level of iron and zinc in relation to its influence on herb yield and production of essential oil in menthol mint. Common Soil Sci. Plant Anal. 38: 561- 578.
18. Pandey, N., G.C. Pathak and C.P. Sharma. 2006. Zinc is critically required for pollen function and fertilization in lentil. J. Trace Elements Medic. Biol. 20: 89-96
19. Rahimmalek, M., B. Bahreininejad, M. Khorrami and B.E.S. Tabatabaei. 2009. Genetic variability and geographic differentiation in *Thymus daenensis* subsp. *daenensis*, an endangered medicinal plant, as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) markers. Biochem Genet. 47: 831
20. Ram, M., R. Singh, A.A. Naqvi, R.S. Lohia, R.P. Bansal and S. Kumar .1997. Effect of salicylic acid on the yield and quality of essential oil in aromatic crop. Medicinal and Aromatic Plant Sci. 19 (1): 24-27.
21. Raman, V. and S. Ravi. 2011. Effect of Salicylic acid and methyl jasmonate on antioxidant systems of *Heamatococcus pluvialis*. Acta Physiol. Plant. 33: 1043 - 49.
22. Rengel Z., H. Marschner and V. Romheld. 1998. Uptake of zinc and iron by wheat genotypes differing in zinc efficiency. J. Plant Physiol. 152: 433-438.
23. Safaei-Ghomi, J., A.H. Ebrahimabadi, Z. Jafari- Bidgoli and H. Batooli. 2009. GC/MS analysis and in vitro antioxidant activity of essential oil and methanol extracts of *Thymus caramanicus* Jalas and its main constituent Carvacrol. Food Chem. 115(4): 1528-1524.
24. Singleton, V., R. Orthofer and R.M. Lamuela-Raventós. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent, Methods in Enzymol. 299:152-178
25. Teixeira, I. R., M.J.B. Andrade, J.G. Carvalho, A.R. Moraes and J.B.D. Correa. 2004. Manganese and zinc leaf application on common bean grown on a "CERRADO" soil. Sci. Agric. 61: 77-81.
26. Wang, K., P. Jin, S. Cao, H. Shang, Z. Yang and Y. Zheng .2009. Methyl jasmonate reduces decay and enhances antioxidant capacity in chine bay berries. J. Agric. Food Chem. 57: 5809 - 5820.
27. Zare Dehabadi S., Z. Asrar and M. Mehrabani. 2010. Biochemical changes in terpenoid compounds of *Mentha spicata* essential oils in response to excess zinc supply. Iran. J. Plant Biol. 2(3):25

Changes in Morphology and Biochemical Compounds in Essential Oil of Thyme (*Thymus daenensis* Celak.) under Foliar Application of Zinc-Salicylic Acid Nano-complex and Storage Duration

A.R. Tavakoli, A. Aboutalebi Jahromi*, V. Rowshan Sarvestani and A. Zakerin¹

To investigate the effects of Zinc-salicylic acid nano-complex and storage time on horticultural and phytochemical properties of *Thymus daenensis* Celak, a factorial experiment was conducted based on a randomized complete block design. Foliar spraying was done in two stages 15 days after establishment, at levels of zero, 0.1, 0.3 and 0.5% by volume. After harvesting and storage during periods of 0, 2, 4 and 6 months at room temperature, quantitative and qualitative changes in essential oil, phenolic compounds content and antioxidant activity of shoots were studied. Based on the foliar application of zinc-salicylic acid nanocomplex by 0.3%, it increased plant height, fresh weight, dry weight, flower height, leaf length, leaf width and wet to dry weight ratio, respectively, compared to the control without foliar application by 32.5, 26.7, 19.2, 38.3, 22.2 and 27.08%, respectively. Storage time had no significant effect on the percentage of essential oil. Concentration of 0.3% nanocomplex increased the essential oil by 0.822% compared to the control. The effect of interaction between nanocomplex concentration and storage time on the percentage of essential oil was not significant. The predominant compounds were essential oil, Carvacrol, Thymol, p-Cymene and Borneol. The highest antioxidant activity of plant extract was related to the interaction of foliar application of zinc-salicylic acid nanocomplex with a concentration of 0.1% and storage for 60 days. Treatment with zinc-salicylic acid nanocomplex (at a concentration of 0.3%) improved vegetative characteristics and storage time and increased the percentage of essential oil.

Keywords: Phenolic compounds, Antioxidant potential, Percentage of essential oil

1. Ph.D. Student, Associate Professor, Horticultural Science Department, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Associate Professor of Horticultural Science, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom,, Associate Professor, Fars Agricultural Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shiraz, Assistant Professor of Horticultural Science, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran.

*Corresponding author: aa84607@gmail.com