



به‌زراعی کشاورزی

دوره ۱۹ ■ شماره ۱ ■ بهار ۱۳۹۶
صفحه‌های ۱۱۹-۱۲۲

تأثیر منابع مختلف کودی بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک کاسنی (*Cichorium intybus* L.) تحت تنش خشکی

فریبا ساعدی^{۱*}، سید محسن موسوی نیک^۲، عبدالرحمان رحیمیان بوگر^۳

۱. کارشناسی ارشد گیاهان داروئی، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۲. دانشیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۳. مربی، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۰۲/۳۰

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۴/۱۰/۲۶

چکیده

به منظور بررسی کودهای آلی، نانوپتاسیم و سولفات پتاسیم بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک گیاه داروئی کاسنی تحت تنش خشکی آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل واقع در شرق زهک با سه تکرار در سال زراعی ۱۳۹۲-۱۳۹۳ انجام شد. تیمارهای خشکی شامل: ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ میلی متر تبخیر از سطح تشت تبخیر به عنوان عامل اول و پنج سطح کودی شامل تیمارهای ۳۰ تن در هکتار کود حیوانی (گوسفندی)، ۳۰ تن در هکتار کود مرغی، ۱۰ کیلوگرم در هکتار نانو پتاسیم ۲۷ درصد، ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار سولفات پتاسیم و تیمار شاهد (بدون مصرف کود) به عنوان عامل دوم در نظر گرفته شدند. نتایج بدست آمده نشان دادند که تنش خشکی تأثیری منفی و معنی دار بر ویژگی‌های رویشی دارد، اما کودهای مختلف بخصوص کودهای آلی تا حد زیادی این تأثیر منفی را تعدیل نمودند. بیشترین میزان ارتفاع بوته، قطر گل، تعداد گل، شاخه‌های جانبی، عملکرد گل و شاخساره از کود مرغی و شرایط عدم تنش به دست آمد. با بالا رفتن تنش خشکی از میزان کلروفیل a و b کاسته شد، اما میزان کارتنوئید و آنتوسیانین افزایش یافت. بیشترین میزان کلروفیل‌ها و کارتنوئید از کود مرغی و حداکثر آنتوسیانین از مصرف نانوپتاسیم حاصل شد. تنش شدید بطور معنی‌داری منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان شد طوری که بیشترین فعالیت آنزیم‌ها در مقایسه با شاهد در شرایط تنش شدید و مصرف کود نانوپتاسیم حاصل شد.

کلیدواژه‌ها: آنزیم آنتی اکسیدان، خشکی، رنگیزه فتوسنتزی، کاسنی، کود آلی

۱. مقدمه

کاسنی با نام علمی *Cichorium intybus* L. که بنام شیکوره شناخته می‌شود، گیاهی یک ساله و یکی از گیاهان داروئی مهم خانواده گل ستاره‌ای‌ها (Asteraceae) است [۱۲]. کاسنی حاوی ترکیبات داروئی پلی ساکاریدی به نام اینولین، سزکوئی‌ترین، لاکتون‌ها، کومارین‌ها، فلاونوئیدها، شیکوریک اسید و ویتامین‌ها می‌باشد که دارای استفاده داروئی مختلفی هستند [۳۲، ۳۴، ۳۵]. همچنین از گیاه کاسنی به دلیل ترکیبات آنتی رادیکال و آنتی اکسیدانی موجود در ریشه برای درمان ایدز، سرطان و دیابت استفاده می‌شود [۲۸]. کاسنی منبع غنی از ترکیبات فنلی، ویتامین C، A، و همچنین پتاسیم، کلسیم و فسفر می‌باشد [۳۳]، که باعث شده این گیاه خاصیت آنتی اکسیدانی ویژه‌ای پیدا کند. یکی از مهم ترین ترکیبات فنلی کلروژنیک است و کاسنی یکی از منابع تجاری این ماده می‌باشد که منبعی گران و محدود می‌باشد [۱۷]. کاسنی درد و التهاب معده را آرام، گیر مجاری کبدی را باز و مجاری ادرار را تمیز می‌نماید، همچنین در منابع قدیمی این گیاه به عنوان مقوی کبد، صفرا آور، مدر، ملین و اشتها آور معرفی شده است [۴]. خشکی یکی از مهم ترین تنش‌های محیطی است که مراحل مختلف رشد و نمو گیاه مانند مرحله جوانه‌زنی، استقرار گیاهچه و تولید محصول را در سرتاسر جهان تحت تاثیر قرار می‌دهد [۱۳]. در سال‌های اخیر، به علت تغییرات شرایط آب و هوایی تنش خشکی بسیار شدیدتر شده است. بر این اساس بررسی مکانیسم‌هایی که گیاهان را قادر می‌سازد تا با تنش خشکی سازش پیدا کنند و رشدشان را تحت آن شرایط حفظ نمایند، در نهایت می‌تواند به تولید گیاهان مقاوم به تنش برای کشت در مناطق خشک و نیمه خشک کمک نماید [۲۴]. در بررسی تیمارهای مختلف آبیاری روی گیاهان داروئی اسفرزه، بومادران، مریم‌گلی، همیشه‌بهار و بابونه نشان دادند که با

کاهش میزان قابلیت دسترسی به آب (تشدید تنش خشکی) وزن اندام‌های هوایی، ارتفاع بوته‌ها و عملکرد دانه گیاهان بررسی شده کاهش می‌یابد [۲۷]. با پژوهش روی گیاه داروئی ریحان اعلام کردند که تنش خشکی منجر به کاهش ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد و طول شاخه‌های جانبی، عملکرد دانه و عملکرد اسانس می‌شود [۲]. کشاورزی ارگانیک کیفیت گیاهان داروئی را تضمین می‌کند، به همین دلیل است که مصرف کنندگان گیاهان داروئی ترکیبات گیاهان ارگانیک را ترجیح می‌دهند [۲۲]. امروزه استفاده از انواع کودهای آلی و دامی به خصوص در خاک‌های فقیر از عناصر غذایی، ضرورتی اجتناب ناپذیر برای حفظ کیفیت خاک است [۲۳]. نتایج بررسی‌ها نشان داده است که کودهای آلی سبب بهبود خواص فیزیکی، شیمیائی و بیولوژیکی خاک شده و عملکرد محصول را افزایش داده‌اند [۹]. کود دامی یکی دیگر از منابع کود آلی است که استفاده از آن در سیستم‌های مدیریت پایدار خاک مرسوم می‌باشد. اثرات مثبت کودهای حیوانی بر باروری خاک، افزایش ماده آلی و غنی سازی خاک و در نهایت بهبود رشد و نمو گیاه، توسط محققین مختلف مورد تأیید قرار گرفته است. همچنین گزارش شده است که خاک‌هایی که کود حیوانی دریافت کردند، علاوه بر جمعیت میکروبی فعال تر و غنی تر، مقادیر فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و نیترات قابل دسترس بیشتری نسبت به خاک‌هایی که با کود های غیر آلی تغذیه شده‌اند، داشتند [۱۱]. در آزمایشی بر روی کدو تنبل کاربرد کودهای حاصل از گاو، بز و مرغ باعث افزایش زیست توده محصول نسبت به تیمارهای شاهد و کاربرد سطح کم کود شیمیائی شد [۱۱]. در گزارشی که نتیجه ده سال بررسی روی محصولات مختلف بود اعلام کردند که نیتروژن باعث افزایش عملکرد و کیفیت بهتر محصولات برداشتی شده است [۲۱]. نانوکشاوری شامل به کار بردن نانوذرات در بخش

تأثیر منابع مختلف کودی بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک کاسنی (*Cichorium intybus L.*) تحت تنش خشکی

کشاورزی است که موجب اثرات سودمند خاص در محصولات تولیدی می‌باشد [۴۱]. در آزمایشی با عنوان اثر نانو کلات پتاسیم و کلسیم بر روی ویژگی‌های کمی و کیفی ریحان اعلام کردند که غلظت دو در هزار نانو کلسیم و شش در هزار نانو پتاسیم در مقایسه با نمونه شاهد بیشترین تاثیر مثبت را بر ارتفاع بوته، وزن خشک، سطح برگ، شاخص برداشت، عملکرد بیولوژیک، درصد پتاسیم و ترکیبات کلروفیلی موجود در ریحان داشته اند [۲۰].

مدیریت منابع کودی و تامین مواد غذایی گیاه، مطالعه تاثیر کودهای مربوطه در شرایط خشکی و ارزیابی تاثیر این گونه مدیریت ها بر کمیت و کیفیت گیاه دارویی کاسنی بسیار حائز اهمیت است و تحقیقات مرتبط ضروری به نظر می‌رسد، در نتیجه هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی اثرات کودهای آلی (گوسفندی و مرغی)، نانو پتاسیم و سولفات پتاسیم بر صفات رویشی، رنگیزه های فتوسنتزی و آنزیم های کاسنی تحت رژیم آبی می باشد تا وضعیت مورفوفیزیولوژیکی این گیاه در شرایط ارگانیک و شیمیایی مقایسه گردد.

مواد و روش ها:

این تحقیق در سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲ در مزرعه تحقیقاتی

دانشگاه زابل واقع در شهرستان زهک (شرق زهک) با طول جغرافیائی ۶۱ درجه و ۲۹ دقیقه شرقی، عرض جغرافیائی ۳۱ درجه و ۲ دقیقه شمالی و ارتفاع ۴۷۸ متر از سطح دریا انجام گرفت. متوسط بارندگی سالانه منطقه ۶۳ میلی متر، متوسط حداقل و حداکثر دمای سالانه آن ترتیب ۱۶ و ۳۰ درجه سانتی گراد و از لحاظ اقلیمی جزء مناطق گرم و خشک به شمار می رود. این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای خشکی در سه سطح (D₁) ۶۰ میلی متر تبخیر (عدم تنش)، (D₂) ۹۰ میلی متر تبخیر (تنش متوسط)، (D₃) ۱۲۰ میلی متر تبخیر (تنش شدید) از تشتک تبخیر کلاس A به عنوان عامل اول و پنج سطح کودی مختلف شامل F₀: شاهد (بدون مصرف هیچ کودی)، کود حیوانی (گوسفندی) ۳۰ تن در هکتار (F₁)، کود مرغی ۳۰ تن در هکتار (F₂)، نانو کلات پتاسیم (۲۷ درصد) ۱۰ کیلوگرم در هکتار (F₃) و سولفات پتاسیم ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار (F₄) به عنوان عامل دوم در نظر گرفته شده اند. نتایج حاصل از تجزیه شیمیائی خاک قبل از کاشت در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱. نتایج تجزیه خاک محل آزمایش در عمق ۰-۳۰ سانتی متری

هدایت الکتریکی (ds.m)	pH	ماده آلی		N	K	P	Zn	Mn	Fe	شن رس لوم		بافت خاک
		%	%							%	%	
۲/۵	۸/۲	۰/۵۹	۰/۰۶	۱۹۴	۱۸	۲/۸	۳/۲	۳/۸	۴۱/۸۶	۳۱/۱	۲۷/۰۴	شنی رسی

باریکی بین تکرارهای مختلف شد تا آب اضافی از مزرعه خارج شود. در ابتدای آزمایش و هنگام آماده کردن زمین قبل از کاشت (۱۳۹۲/۱۲/۱۰)، هر کدام از کودها (کودهای

اندازه کرت ها ۳×۲ متر، فاصله بین کرت ها نیم متر و بین بلوک ها یک متر در نظر گرفته شد و برای جلوگیری از تداخل زه آب کرت های مختلف اقدام به حفر جوی های

به زراعی کشاورزی

دوره ۱۹ ■ شماره ۱ ■ بهار ۱۳۹۶

شاخه‌های اصلی و فرعی، تعداد گل، قطر گل، عملکرد گل خشک، عملکرد شاخساره (اندام هوایی بدون گل) و صفات فیزیولوژیکی از قبیل کلروفیل a، کلروفیل b، مجموع کلروفیل، کارتنوئید، آنتوسیانین، و آنزیم های آنتی اکسیدان کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز اندازه‌گیری شدند.

اندازه‌گیری صفات مورفولوژیک

اندازه‌گیری صفات مورفولوژیک در نیمه اول تیر ماه صورت گرفت. برای اندازه‌گیری ارتفاع بوته پنج بوته به طور تصادفی از قسمت میانی کرت انتخاب و از ناحیه طوقه تا انتهای بوته به وسیله متر اندازه‌گیری شد. برای شمارش تعداد ساقه های اصلی و فرعی و قطر گل نیز پنج بوته انتخابی از میانه کرت انتخاب گردید و شمارش صورت گرفت. از آنجا که کاسنی دارای رشد نامحدود می باشد و بتدریج گل می دهد، لذا برداشت گل طی یک هفته و در چهار نوبت انجام شد. برای این کار گل های وسط کرت، با حذف حاشیه برداشت شد و در سایه و به دور از آفتاب مستقیم خشک شدند و بعد از خشک شدن وزن کرده و عملکرد آن در یک هکتار محاسبه گردید. برای محاسبه عملکرد شاخساره (اندام هوایی بدون گل) نیز در پایان کار و نمونه‌گیری های لازم، همه بوته های یک کرت را به استثناء حواشی کرت برداشت کرده و بعد از خشک کردن وزن نموده و میزان عملکرد آن در یک هکتار محاسبه گردید.

اندازه‌گیری رنگدانه‌های فتوسنتزی

برای اندازه‌گیری رنگبزه‌های کلروفیل و کارتنوئید از روش آرنون استفاده شد [۸]. برای این کار مقدار ۰/۱ گرم از ماده تر (برگ) گیاه را جدا کرده و در هاون چینی ریخته ۱۰ میلی لیتر استون ۸۰٪ به نمونه اضافه، سپس در دستگاه

آلی به نسبت ۲/۳ کود مصرفی و سولفات پتاسیم ۱/۲ کود مصرفی) براساس نسبت‌های تعیین شده در کرت های مربوطه با خاک مخلوط شدند و کود نانو پتاسیم که به میزان ۱۰ کیلو در هکتار مورد استفاده قرار گرفت طی دو مرحله به گیاه داده شد. مرحله اول سه روز بعد از کاشت (برای استعمال خاکی نانو پتاسیم ۴ گرم کود را با ۵۰۰ گرم خاک رس ترکیب کرده و ترکیب کودی مناسب تهیه شد تا حتی الامکان از آبشویی آن جلوگیری شود) با نسبت ۸ کیلو در هکتار به صورت خطی کنار ردیف کشت به کرت ها اضافه شد. بذر کاسنی مورد استفاده در این پژوهش کاسنی وحشی یا (*Cichorium intybus* L.) می باشد که از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. کاشت در نیمه اول اسفند (۱۳۹۲/۱۲/۱۲) به صورت ردیفی و با فاصله ۲۰ سانتی متر بین بوته‌ها و ۵۰ سانتی متر بین ردیف‌ها انجام شد. اولین آبیاری بلافاصله بعد از کاشت اعمال گردید. پس از آن آبیاری هفت روز یکبار به روش غرقابی انجام گردید تا زمانی که بذرها جوانه زده و گیاهان سبز شدند. پس از رشد گیاه به حد کافی (۴۰ روز بعد از کاشت) تیمارهای خشکی اعمال شدند. برای اعمال تیمار تنش خشکی از تشتک تبخیر استفاده شد. زمانی که بوته‌ها به ارتفاع ۲۵ سانتی متری (مرحله قبل از تشکیل ساقه گلدهنده) رسیدند مرحله دوم کودهی اعمال شد، طوری که کودهای آلی (۱/۳ کود باقی مانده) و سولفات پتاسیم (۱/۲ کود باقی مانده) به صورت خطی و مخلوط با خاک کنار بوته ها و نانو پتاسیم (۲ کیلو در هکتار کود باقی مانده) به صورت محلول پاشی به نسبت دو در هزار به کاربرده شد که در مجموع ۱۰ کیلو در هکتار نانو پتاسیم استعمال شد (طبق توصیه شرکت تولید کننده کود). عملیات تنک در مرحله ۴-۵ برگی و وجین علف‌های هرز در طول دوره رشد با دست طی سه مرحله صورت پذیرفت. در این تحقیق صفات رویشی مانند ارتفاع بوته، تعداد

روش محاسبه فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی

اندازه گیری فعالیت آنزیم‌ها با روش پروتئین گیری برادفورد انجام شد [۱۴]. نیم گرم برگ تازه در آن چینی که قبلاً در یخچال سرد شده با استفاده از ازت مایع به خوبی سائیده و نرم گردید. سپس یک میلی لیتر بافر نمونه فسفات سدیم یک درصد مول با PH برابر ۶ به آن اضافه و کاملاً هموژن شد و مخلوط حاصله بلافاصله به میکرو تیوب‌های ۱/۵ میلی لیتر منتقل و توسط میکروسانتیفریوژ در ۱۳۰۰۰ rpm به مدت ۲۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی گراد سانتیفریوژ شد. و از عصاره بالایی برای اندازه گیری آنزیم‌ها استفاده شد.

ارزیابی میزان کل پروتئین قابل حل در عصاره شامل تهیه منحنی استاندارد با استفاده از پروتئین استاندارد (آلبومین سرم گاوی) مطابق با روش برادفورد انجام گرفت، به این منظور مقدار ۲۰ میکرو لیتر عصاره هر نمونه با سه میلی لیتر معرف برادفورد در یک لوله آزمایش کوچک مخلوط و سپس میزان جذب نور در طول موج ۵۹۵ nm با استفاده از اسپکتروفتومتر قرائت گردید. برای هر نمونه سه تکرار در نظر گرفته شد و میزان پروتئین هر عصاره با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد.

فعالیت آنزیم کاتالاز با روش چنس و مهلی صورت گرفت [۱۶]. برای این کار سه میلی لیتر بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی مول و PH=۷ با مقداری عصاره که دارای ۳۰ میکروگرم پروتئین باشد مخلوط شد. دستگاه اسپکتروفتومتر با استفاده از این مخلوط در کوویت بلانک صفر گردید. توسط دستگاه اسپکتروفتومتر تغییرات جذب نور در ۲۴۰nm در یک دقیقه ثبت گردید. سپس ۳۰ میکرولیتر پراکسیداز هیدروژن (H_2O_2) به مخلوط واکنش اضافه کرده و سریعاً مخلوط نموده و بلافاصله تغییرات جذب نور به مدت یک دقیقه ثبت شد و منحنی تغییرات جذب رسم گردید. سپس عدد شیب خط مربوط به معادله رگرسیون به

سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده و سپس به طور جداگانه در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a، و ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و ۴۷۰ برای کارتنوئیدها توسط اسپکتروفتومتر مقدار جذب را قرائت و در نهایت با استفاده از فرمول‌های زیر میزان کلروفیل a، b و کارتنوئیدها بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر نمونه به دست آید.

(۱)

$$\begin{aligned} \text{Chlorophyll a} &= (19.3 * A_{663} - 0.86 * A_{645}) V/100W \\ \text{Chlorophyll b} &= (19.3 * A_{645} - 3.6 * A_{663}) V/100W \\ \text{Carotenoides} &= 100(A_{470}) - 3.27(\text{mg chl. a}) - \\ &104(\text{mg chl. b})/227 \end{aligned}$$

V = حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتیفریوژ)

A = جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر
W = وزن تر نمونه بر حسب گرم

سنجش آنتوسیانین

برای اندازه گیری آنتوسیانین از روش واگنر استفاده شد [۴۲]. برای این منظور ۰/۱ گرم برگ تازه در ۱۰ میلی لیتر متانول اسیدی (متانول خالص و اسیدکلریدریک به نسبت حجمی ۱:۰.۹۹ کاملاً ساییده شد. عصاره حاصل برای مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای چهار درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور سانتیفریوژ و با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب محلول روئی در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه گیری شد. غلظت آنتوسیانین از رابطه زیر بدست آمد؛

(۲)

$$A = b \cdot \epsilon \cdot c$$

که در آن A مقدار جذب، ϵ ضریب خاموشی ۳۳۰۰۰ مول بر سانتی متر، b عرض کووت بر حسب سانتی متر و c غلظت آنتوسیانین بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر برگ است.

وسیله ورتکس (Vortex) هوادهی و همگن شد. سپس دستگاه اسپکتروفوتومتر با استفاده از این مخلوط در کوویت بلانک صفر گردید. دستگاه اسپکتروفوتومتر روی برنامه کیتیک (J3PPO) با مشخصات طول موج ۵۱۵ nm، زمان یک دقیقه، فواصل زمانی ۱۰ ثانیه و جذب نور (absorbance) تنظیم گردید. سپس ۴۰ میکرولیتر محلول پیروکاتکول (Pirocatechol FW) ۱۰۰ میلی مول به مخلوط فوق اضافه کرده و سریعاً مخلوط را همگن نموده و بلافاصله تغییرات جذب نور با فواصل ۱۰ ثانیه و به مدت یک دقیقه اندازه گیری شد و منحنی مربوطه رسم شد. سپس عدد شیب خط مربوط به معادله رگرسیون به عنوان فعالیت آنزیم در ثانیه در نظر گرفته شد و عدد مذکور به عنوان فعالیت آنزیم به صورت تغییرات جذب در ۵۱۵ nm در دقیقه در میلی گرم پروتئین با استفاده از شیب خط بدست آمد و داده ها بر حسب میکرومول بر میلی گرم پروتئین در دقیقه اعلام شد.

آنالیز داده‌ها

در پایان داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار آماری SAS (نسخه ۹٫۲) تجزیه و مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۰٫۰۵٪ انجام پذیرفت. برای رسم نمودارها و جداول به ترتیب از نرم افزارهای EXCEL و WORD استفاده گردید.

نتایج و بحث

ارتفاع بوته، شاخه اصلی و فرعی، تعداد و قطر گل
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که تیمارهای تنش خشکی و انواع کود بر ارتفاع بوته، شاخه اصلی و فرعی، تعداد گل و قطر گل در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود، در حالی که اثر متقابل کود و خشکی بر هیچکدام از صفات مذکور معنی دار

عنوان فعالیت آنزیم در ثانیه در نظر گرفته شد و عدد مربوط به عنوان فعالیت آنزیم به صورت تغییرات جذب در ۲۴۰ nm در دقیقه در میلی گرم پروتئین با استفاده از شیب خط بدست آمد و داده های نهایی بر میکرومول پراکسید هیدروژن تجزیه شده در دقیقه در میلی گرم پروتئین با استفاده از شیب خط اعلام شد.

میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز با روش محمدی و کاظمی اندازه گیری شد [۳۰]. ابتدا دو میلی لیتر محلول واکنش شامل مقداری از عصاره دارای ۴۰ میلی گرم پروتئین، ۲۰ میکرولیتر گایاکول و مقدار کافی بافر سترات فسفات ۲۵ میلی مول (pH=۵/۴) طوری که حجم نهایی دو میلی لیتر باشد، در یک لوله آزمایش مخلوط گردیده و دستگاه اسپکتروفوتومتر با استفاده از این مخلوط در طول موج max = ۴۷۵ nm صفر گردید. سپس ۱۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۳۰ درصد به مخلوط اضافه کرده و سریعاً مخلوط و مقدار جذب نور در ۴۷۵ nm با فواصل ۱۰ ثانیه و به مدت یک دقیقه قرائت شد و منحنی تغییرات جذب نور در مدت یک دقیقه رسم شد. سپس عدد شیب خط مربوط به معادله رگرسیون به عنوان فعالیت آنزیم در ثانیه در نظر گرفته شد و عدد مربوط به عنوان فعالیت آنزیم به صورت تغییرات جذب در ۴۷۵ nm در دقیقه در میلی گرم پروتئین با استفاده از شیب خط بدست آمد و داده های نهایی بر حسب میکرومول بر میلی گرم پروتئین در دقیقه اعلام شد.

در نهایت فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز با روش محمدی و کاظمی انجام شد [۳۰]. به این ترتیب که دو میلی لیتر مخلوط واکنش شامل مقداری از عصاره نمونه که دارای ۴۰ میکروگرم پروتئین باشد، ۲۰ میکرولیتر محلول پرولین و مقدار کافی بافر سترات- فسفات ۲۵ میلی مول طوری که حجم نهایی دو میلی لیتر باشد در یک لوله آزمایش کوچک کاملاً مخلوط و این مخلوط به مدت دو دقیقه به

نشده (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد با افزایش سطح تنش خشکی از شرایط عدم تنش به تنش شدید از میزان ارتفاع بوته، شاخه اصلی و فرعی، تعداد گل و قطر گل به ترتیب ۱۶/۷، ۳۸/۵۹، ۱۹/۰۸ و ۱۷/۲۷ درصد کاسته شد (جدول ۳). در این آزمایش مشخص شد کودهای آلی نسبت به سایر کودهای دیگر قوی‌تر عمل کرده و بیشترین تأثیر را بر اجزاء عملکرد مورد بررسی داشتند (جدول ۳)، طوری که بالاترین ارتفاع بوته (۷۴/۶۶ سانتی متر)، شاخه اصلی و فرعی (۲۱/۴۴)، تعداد گل (۹۳/۱۱) و قطر گل (۲/۹۶ میلی‌متر) در کود مرغی و سپس کود حیوانی (گوسفندی) دیده شد که البته کود مرغی تأثیر بسیار بالاتری نسبت به کود حیوانی (گوسفندی) گذاشت ولی در کل همه کودها نسبت به تیمار شاهد باعث افزایش این صفات شدند (جدول ۳).

افزایش مصرف کودهای آلی باعث بهبود معنی‌دار صفات ارتفاع بوته، زود گلدهی، طول و قطر نهج و عملکرد گل بابونه می‌شود [۳]. تحت تأثیر کاربرد انواع کودهای دامی (گوسفندی، گاو و مرغی) افزایش ساقه فرعی در ریحان را گزارش شده است [۱]. با مصرف ۳۰ تن در هکتار کود دامی افزایش شاخه‌های فرعی بابونه گزارش شده است [۲۶]. بررسی‌های صورت گرفته نشان داده است که اثرهای مطلوب کودهای آلی بدلیل تغییر شرایط فیزیکی، شیمیایی و خصوصیات میکروبی و بیولوژیکی محیط کشت [۱۵] و همچنین تنظیم pH و افزایش معنی‌دار ظرفیت نگهداری رطوبت و عناصر غذایی در محیط کشت می‌باشد [۲۹].

عملکرد گل و عملکرد شاخساره

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنش خشکی و تیمارهای کودی بر عملکرد گل خشک و عملکرد شاخساره کاسنی در سطح احتمال یک درصد

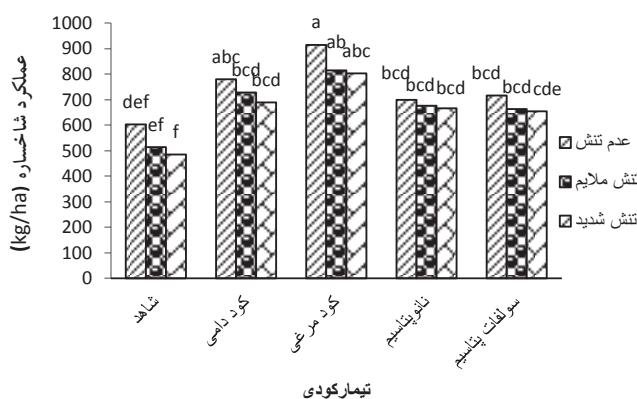
معنی‌دار شدند (جدول ۲)، این در حالی است که اثر متقابل خشکی و کود بر عملکرد شاخساره نیز در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان دادند با افزایش تنش خشکی تا سطح تنش شدید از میزان عملکرد گل خشک و شاخساره به ترتیب ۱۴/۵۶ و ۱۱/۱۸ درصد نسبت به شاهد کاهش نشان داده شد (جدول ۳).

دلیل این امر را چنین می‌توان بیان کرد که گیاه برای تولید سرشاخه‌های گلدار نیاز به رشد رویشی مناسب دارد و به نظر می‌رسد که کاهش مواد فتوسنتزی تولیدی به علت کاهش سطح برگ و در نتیجه کاهش انتقال مواد فتوسنتزی به سمت اندام‌های زایشی در اثر تنش خشکی سبب کاهش عملکرد سرشاخه‌های گلدار و گل در گیاه کاسنی می‌شود. کاهش عملکرد گل در طی افزایش سطح تنش خشکی می‌تواند مربوط به کاهش ارتفاع گیاه، کاهش تعداد گل و تعداد شاخه جانبی در بوته، کاهش سطح برگ تولیدی و افزایش اختصاص مواد فتوسنتزی به ریشه نسبت به بخش هوایی گیاه باشد [۴۰]. کاهش عملکرد گل خشک و شاخساره در تیمارهای تحت تنش آب، ناشی از افت وزن خشک بخش‌های رویشی به واسطه افزایش رقابت برای جذب آب بود و عملکرد ماده خشک را کاهش می‌دهد [۵].

میانگین‌ها نشان دادند که تیمارهای کود مرغی و حیوانی و نانوپتاسیم به ترتیب بیشترین تأثیر را در افزایش میزان عملکرد گل خشک و شاخساره داشته به طوری که بالاترین مقدار مربوط به تیمار کود مرغی می‌باشد (جدول ۳)، این در حالی می‌باشد که تأثیر کود نانوپتاسیم با افزایش ۲۱/۵۵ درصدی تأثیر زیادی بر روی عملکرد شاخساره گذاشته اما با تأثیر سولفات پتاسیم برابری کرده و در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۳). میانگین‌های اثرات متقابل نشان می‌دهند که بیشترین عملکرد شاخساره از تیمار عدم تنش و کود مرغی با میانگین ۹۱۴/۸۴

توسعه یافته و عملکرد نهائی شاخساره افزایش می یابد که این روند وابسته به تامین آب کافی برای گیاه می باشد. در تحقیقی اظهار کردند که کاهش میزان عملکرد تولیدی در طی بروز تنش خشکی می تواند مربوط به کاهش ارتفاع گیاه، کاهش سطح برگ و افزایش اختصاص مواد فتوسنتزی به ریشه نسبت به بخش هوایی باشد [۴۰].

کیلوگرم در هکتار بدست آمد و بعد از آن کود حیوانی و نانو پتاسیم در مراحل بعدی تاثیر قرار گرفتند (شکل ۱). به نظر می رسد تاثیر نیتروژن روی تولید محصول از طریق افزایش بیشتر سطح برگ با تاثیرگذاری بر مکانیسم های توسعه سلولی باشد [۱۸]، که نهایتاً منتج به افزایش تولید گیرنده های نوری می شود [۳۹]، که در پی آن فتوسنتز



شکل ۱. اثر متقابل کود و خشکی بر عملکرد شاخساره در گیاه کاسنی

جدول ۲. تجزیه واریانس منابع مختلف کودی بر صفات رویشی کاسنی تحت تنش خشکی

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		ارتفاع شاخه اصلی و فرعی	تعداد گل	قطر گل	عملکرد گل خشک	عملکرد شاخساره
تکرار	۲	۴۴/۹۵ ^{ns}	۱۸/۴۸ ^{ns}	۳/۶۲ ^{ns}	۰/۰۰۲ ^{ns}	۱۰۹/۸۹ ^{ns}
تیمار خشکی	۲	۳۸۰/۶۸ ^{**}	۱۶۶/۶۸ ^{**}	۹۰۰/۲۶ ^{**}	۰/۸۷ ^{**}	۲۵۴۳/۱۴ ^{**}
تیمار کودی	۴	۱۵۲۳/۲ ^{**}	۲۱۱/۹۱ ^{**}	۱۶۸۶/۹۱ ^{**}	۱/۲۷ ^{**}	۶۶۷۳/۷۴ ^{**}
خشکی* کودی	۸	۱۰/۴۶ ^{ns}	۳/۶۶ ^{ns}	۲۰/۶۵ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}	۱۶۳/۳۱ ^{ns}
خطا	۲۸	۵۹/۸۸	۴/۵۸	۶۲/۶۷	۰/۰۳	۱۰۲/۹
ضریب تغییرات		۱۴/۰۲	۱۵/۳۹	۱۰/۸۳	۷/۵۳	۱۲/۱۸
						۱۱/۶۷

ns و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد می باشد

تأثیر منابع مختلف کودی بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک کاسنی (*Cihorium intybus L.*) تحت تنش خشکی

جدول ۳. مقایسه میانگین‌های اثر منابع مختلف کودی بر صفات رویشی کاسنی تحت تنش خشکی

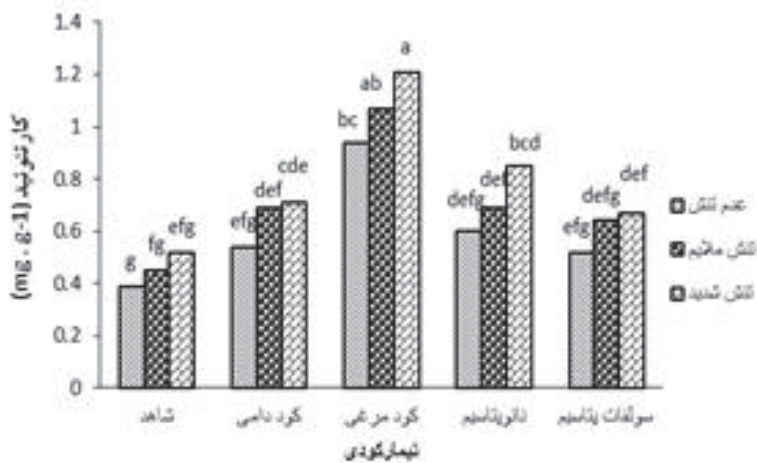
تیمارهای آزمایش	ارتفاع بوته (cm)	شاخه اصلی و فرعی	تعداد گل	قطر گل	عملکرد گل خشک (kg/ha)	عملکرد شاخساره (kg/ha)
تیمار خشکی						
۶۰ میلی متر تبخیر	۶۰/۳۳a	۱۷/۲۶a	۸۱/۰۶a	۲/۷۸a	۱۷۸/۲۶a	۷۴۲/۷۹a
۹۰ میلی متر تبخیر	۵۴/۹۳ab	۱۳/۸۶b	۷۲/۵۳b	۲/۵۸b	۱۶۷/۱۲ab	۶۸۰/۳۵b
۱۲۰ میلی متر تبخیر	۵۰/۲۶b	۱۰/۶c	۶۵/۶۰c	۲/۳c	۱۵۲/۳۱b	۶۵۹/۷۸c
تیمار کودی						
شاهد	۴۱/۳۳d	۹/۲۲d	۵۶/۵۵d	۱/۹۴c	۱۲۹/۲۹d	۵۳۴/۲۴c
کود حیوانی	۶۱/۱۱b	۱۵/۶۶b	۷۸/۷۷b	۲/۷۱b	۱۷۷/۳۸b	۷۳۲/۵۸b
کود مرغی	۷۴/۶۶a	۲۱/۴۴a	۹۳/۱۱a	۲/۹۶a	۲۰۲/۳۹a	۸۴۴/۳۳a
نانو پتاسیم	۴۸/۱۱cd	۱۲/۵۵c	۶۸/۴۴c	۲/۵۸b	۱۶۷/۱۹bc	۶۸۰/۹۶b
سولفات پتاسیم	۵۰/۶۶c	۱۰/۶۶cd	۶۸/۴۴c	۲/۵۸b	۱۵۳/۲۲c	۶۷۹/۴۴b

در هر ستون و برای هر تیمار، میانگین‌های حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی داری ندارند.

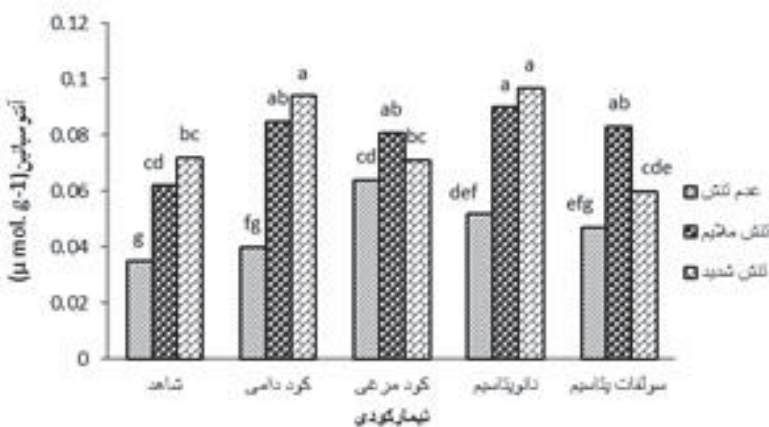
رنگدانه‌های فتوسنتزی

تشنگ تبخیر به ترتیب علظت کلروفیل a و b، محتوی نسبی آب برگ و پتانسیل آب برگ ۳۰، ۲۴، ۲۷ و ۴۱ درصد کاهش نشان داد [۳۶]. آنتوسیانین‌ها و کارتنوئیدها رنگیزه‌های گیاهی هستند که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند [۲۵]. این رنگیزه‌ها با جذب رادیکال‌های فعال اکسیژن باعث محافظت کلروفیل در برابر تنش‌ها می‌گردند. در تنش‌های شدید، میزان کارتنوئید که به عنوان حمایت کننده‌ای برای کلروفیل‌ها در برابر اکسیداسیون نوری به شمار می‌رود افزوده می‌شود تا مانع تخریب بیشتر کلروفیل‌ها گردد. این نتایج با یافته‌های محققان دیگر نیز مطابقت دارد و آن‌ها نیز گزارش کردند با افزایش تنش خشکی از مقدار کلروفیل‌ها کاسته و در مقابل میزان کارتنوئیدها افزوده می‌شود [۳۱، ۶]. گزارش شده است که مقدار آنتوسیانین در *Begonia Semperflorens* در شرایط تنش افزایش یافته است. این افزایش به علت نقش حفاظت نوری آنتوسیانین به وسیله حذف مستقیم ROS در طول نقش اکسیداتیو می‌باشد [۴۳].

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنش خشکی و تیمار کودی تأثیر معنی داری بر ترکیبات مذکور در کاسنی داشتند (جدول ۲). همچنین نتایج نشان داد اثرمتقابل کود و خشکی بر کارتنوئید و آنتوسیانین در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد (جدول ۲) و مقادیر مربوطه را در شکل‌های زیر مشاهده می‌کنید (شکل ۲ و ۳). مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ نشان داد با افزایش سطح تنش خشکی از میزان کلروفیل a و b کاسته شده و بر میزان کارتنوئید و آنتوسیانین برگ کاسنی افزوده شد (جدول ۳). طبق گزارشی کاهش میزان کلروفیل‌ها در اثر تنش خشکی به علت افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن در سلول است که این رادیکال‌های آزاد سبب پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه این رنگدانه‌ها می‌گردند [۳۸]. طبق گزارشی با افزایش سطح آبیاری از ۶۰ میلی‌متر تبخیر به ۱۵۰ میلی‌متر تبخیر از



شکل ۲. اثر متقابل کود و خشکی بر کارتنوئید در گیاه کاسنی



شکل ۳. اثر متقابل کود و خشکی بر آنتوسیانین در گیاه کاسنی

۴). مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون چنددامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد با بالا رفتن سطح تنش خشکی تا حد تنش شدید بر میزان فعالیت این آنزیم‌ها افزوده شد، طوری که بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در شرایط تنش شدید مشاهده شد. برای

آنزیم‌های آنتی اکسیدانی

نتایج آماری نشان می‌دهند که اثر تنش خشکی و کودهای مختلف بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار گردید (جدول ۴) اما اثرات متقابل آنها معنی دار نشد (جدول

تأثیر منابع مختلف کودی بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک کاسنی (*Cichorium intybus L.*) تحت تنش خشکی

(CAT)، پراکسیداز (POX)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، گلوکاتایون ردوکتاز (GR) و پلی فنل اکسیداز (PPO) و گایاکول پراکسیداز (GPX) هستند [۷].
 کودهای مختلف هرکدام به نوعی سبب افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های مذکور شدند و طبق میانگین‌های مشاهده شد کود مرغی و نانوپتاسیم به ترتیب بیشترین تاثیر را در افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و پلی فنل اکسیداز داشته اند اما از آنجائی که تفاوت بین کودهای مختلف چندان زیاد نیست همه در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۵). در مورد آنزیم پراکسیداز نانوپتاسیم با ۲۵/۸۱ درصد افزایش فعالیت نسبت به شاهد بیشترین تاثیر را دارا بوده است (جدول ۵).

آنزیم پلی فنل اکسیداز ابتدا افزایش فعالیت را مشاهده کرده و با تشدید مجدد تنش تا سطح ۱۲۰ ملیمتر تبخیر (تنش شدید) از میزان فعالیت این آنزیم اندکی کاسته شده اما بازهم نسبت به عدم تنش بیشتر بوده است (جدول ۵). بنابراین یکی از پیامدهای اجتناب ناپذیر تنش خشکی، افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال در اجزای مختلف سلولی مانند کلروپلاست‌ها، پراکسی زوم ها و میتوکندری‌ها است [۱۹]. گیاهان برای کاستن از آسیب‌های ناشی از گونه‌های اکسیژن فعال دارای سازوکارهای آنتی اکسیدانی هستند که شامل اجزای غیر آنزیمی مانند آسکوربات، گلوکاتایون، توکوفرول‌ها، کاروتنوئیدها و فلاوونوئیدها و آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز

جدول ۴. تجزیه واریانس اثرات منابع مختلف کودی بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و آنزیم‌های آنتی اکسیداتی کاسنی تحت تنش خشکی

میانگین مربعات							درجه آزادی	منبع تغییرات
پلی فنل اکسیداز	پراکسیداز	کاتالاز	آنتوسیانین	کارتنوئید	کلروفیل b	کلروفیل a		
۰/۰۸ ^{ns}	۰/۰۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۷ ^{ns}	۰/۰۲۴ ^{ns}	۰/۰۰۸ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	۲	تکرار
۰/۶۸ ^{**}	۰/۰۶ ^{**}	۰/۱۵ ^{**}	۰/۰۰۵ ^{**}	۰/۱۴ ^{**}	۰/۱۱ ^{**}	۲/۷۵ ^{**}	۲	تیمار خشکی
۰/۰۷ ^{**}	۰/۰۰۷ ^{**}	۰/۰۲ ^{**}	۰/۰۰۰۷ ^{**}	۰/۴۸ ^{**}	۰/۴۰ ^{**}	۲/۴۸ ^{**}	۴	تیمار کودی
۰/۰۰۶ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۳ ^{**}	۰/۰۰۳ ^{**}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۸ ^{ns}	۸	خشکی* کودی
۰/۰۱	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۴	۰/۰۰۰۰۶	۰/۰۱۷	۰/۰۰۳	۰/۱۱	۲۸	خطا
۱۲/۳۵	۷/۸۶	۵/۵۶	۱۱/۹۱	۱۸/۵۷	۷/۰۶	۱۰/۴۱		ضریب تغییرات

ns و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد می باشد

نتیجه گیری

باتوجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق مشخص گردید که تنش خشکی تا حد زیادی عملکرد گیاه کاسنی را کاهش می دهد اما با به کار بردن کودهای مختلف با اثرات مخرب تنش مقابله شده و باعث افزایش تولید شدند. کودهای ارگانیک بنا به خواص خود، از جمله اصلاح ساختمان خاک، تغذیه خاک، حفظ رطوبت خاک و برخی ویژگی های خاص دیگر نسبت به کودهای شیمیائی در اکثر صفات بهتر عمل کرده و در سطوح بالای تنش با تولید بیشتر رنگیزهای فتوسنتزی و افزایش فعالیت آنزیم ها اثرات نامناسب کم آبی را کاهش دادند. همچنین کود نانوپتاسیم نسبت به کود سولفات پتاسیم بسیار قوی تر عمل کرد. بنا به خاصیت آهسته رهش بودن این کودها و مقادیر کم مورد استفاده آنها پیشنهاد می شود که از کود نانو پتاسیم به جای کودهای شیمیائی سولفات مرسوم که به مقدار خیلی زیادی مصرف می شوند و باعث شوری خاک کشاورزی، مسمومیت گیاهان، تغییرات pH و EC خاک، تجمع در خاک و دیگر اثرات زیست محیطی می شوند، استفاده شود.

منابع

۳. عزیزی م، رضوانی ف، حسن زاده خیاط م، لکزیان ا و نعمتی ح (۱۳۸۷) تأثیر سطوح مختلف ورمی کمپوست و آبیاری بر خصوصیات مورفولوژیک و میزان اسانس بابونه آلمانی رقم گورال. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۴(۱): ۹۳-۸۲.
۴. قنادی ع، مینائیان م و علیرضاع (۱۳۹۰) دیروزهندبانه؛ امروز کاسنی (*Cichorium intybus L.*), دارویی برای فردا. مجله ی طب سنتی اسلام و ایران. ۵(۲): ۱۰-۱۴.
۵. مظاهری د، عسکری راد م و بانکه سازا (۱۳۸۱) بررسی اثر تراکم بوته و الگوی کاشت بر عملکرد و اجزای عملکرد ذرت. مجله پژوهش و سازندگی. شماره پنجاه و چهارم. صفحه ۴۸-۴۶.
6. Abdalla MM and El-Khoshiban NH (2007) The influence of water stress on growth, relative water content, photosynthetic pigments, some metabolic and hormonal contents of two *Triticum aestivum* cultivars. Journal of Applied Science Research. 3(12): 2062-2074.
7. Agarwal S and Pandey V (2004) Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. Biological Plant. 48: 555-560.
8. Arnon AN (1967) Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal. 23:112-121.
9. Arun KS (2002) A Handbook of Organic Farming Pub. Agrobios, India.
10. Atta AH, Elkoly TA, Mounieir SM, Kamel G, Alwabel NA and Zaher S (2010) Hepatoprotective effect of methanolic extracts of *Zingiber officinale* and *Cichorium intybus*. Indian Journal Pharmlogical Science. 72 (5): 564-570.
11. Azeez JO, Van Averbeke AB and Okorogbona AOM (2010) Differential responses in yield of pumpkin (*Cucurbita maxima L.*) and nightshade (*Solanum retroflexum Dun.*) to the application of three animal manures. Bioresource Technology. 101: 2499-2505.
۱. تهمی زرنندی س م ک، رضوانی مقدم پ و جهان م (۱۳۸۹) مقایسه تاثیر کودهای آلی و شیمیایی بر عملکرد و درصد اسانس گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum L.*). نشریه بوم شناسی کشاورزی. ۲(۱): ۷۴-۶۳.
۲. حسنی ع، امیدبیگی ر و حیدری شریف آباد ح (۱۳۸۲) تأثیر سطوح مختلف رطوبت خاک بر رشد، عملکرد و انباشت متابولیت های سازگاری در گیاه ریحان. مجله علوم آب و خاک. ۱۷(۲): ۲۱۹-۲۱۱.

12. Bais HP and Ravishankar GA (2001) *Cichorium intybus* L. cultivation, processing, utility, value addition and biotechnology, with an emphasis on current status and future prospects. *Journal of Science Food Agriculture*. 81: 467-484.
13. Ben Ahmed Ch, Ben Rouina B, Sensoy S, Boukhris M and Ben Abdallah F (2009) Changes in gas exchange, proline accumulation and antioxidative enzyme activities in three olive cultivars under contrasting water availability regimes. *Environmental and Experimental Botany*. 67(2): 345-352.
14. Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilising the principal of protein - dye binding, *Anal. Biochem*. 72: 248-254.
15. Brussard L and Ferrera-Cenato R (1997) Soil ecology in sustainable agricultural systems. New York: Lewis publishers. U.S.A. 168 p.
16. Chance BA and Maehly C (1995) Assay of catalase and peroxidase, *Methods Enzymol*. 2:764-775.
17. Chen Y, Yu Q, Luo X and Liu H (2001) Extraction and HPLC characterisation of chlorogenic acid from tobacco residuals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 6497-6502.
18. Cook BG, Pengelly BC, Brown SD, Donnelly JL, Eagles DA, Franco MA, Hanson J, Mullen BF, Partridge IJ, Peters M and Schultze-Kraft R (2005) Tropical forages: an interactive selection tool. *Lablab purpureus*. CSIRO, DPI&F(Qld), CIAT, and ILRI, Brisbane, Australia.
19. De Carvalho MHC (2008) Drought stress and reactive oxygen species. *Plant Signal Behav*. 3(3): 156-165.
20. Gahremani A, Akbari K, Yousefpour M and Ardalani H (2014) Effects of Nano Potassium and Nano-Calcium Chelated Fertilizers on Qualitative and Quantitative Characteristics of *Ocimum basilicum*. *International Journal for Pharmaceutical Research Scholars*. 3(12): 325-241.
21. Gidea M, Ciontu C, Sandoiu D, Penescu A, Schiopu T and Nichita M (2015) The Role of Rotation and Nitrogen Fertilization Level upon the Economic Indicators at Wheat and Corn Crops in Condition of a Long Term Experience. *Journal of Agriculture and Agricultural Science Procedia*. 6: 24-29.
22. Griffe P, Metha S and Shankar D (2003) Organic Production of Medicinal, Aromatic and Dye-Yielding Plants (MADPs): Forward, Preface and Introduction, FAO.
23. Guler S and Kar H (2002) Response of field-grown tomatoes to nitrogen and potassium applied with drip or furrow irrigation. *Acta Horticulturae*. 571: 187-193.
24. Hassani A, Omydbygy R and Heidari Sharief Abad H (2003) Effect of different soil moisture levels on growth, yield and metabolite adaptate accumulation in Basil. *Journal of Soil and Water Science*. 17(2):67-76.
25. Inze D and Montagu MV (2000) Oxidative Stress in Plant. Tj International Ltd, Padstow, Cornwall, Great Britain. 321p.
26. Jahan M and koocheki A (2004) Effect of organic production of german chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) on its chemical composition. *Pajouhesh & Sazandegi*. 61: 87-95.
27. Lebaschy M and Sharifi Ashorabadi A (2003) Growth index of medical plants in different condition of water stress. *Iranian J. Medicin. Arom. Plant*. 20(3): 249-261.
28. Lee J and Scagel CF (2010) Chicoric acid levels in commercial basil (*Ocimum basilicum*) and Echinacea purpurea products, *Journal of functional foods*. 2: 77-84.
29. Mcginnis M, Cooke A, Bilderback T and Lorscheider M (2003) Organic Fertilizers for

- basil transplant production. Acta Horticulturae. 491: 213- 218.
30. Mohammadi M and Kazemi H (2002) Changes in peroxidase and polyphenol oxidase activities in susceptible and resistant wheat heads inoculated with *Fusarium graminearum* and induced resistance. Plant Science. 162: 491-498.
31. Mohammadkhani N and Heidari R (2007) Effects of water stress on respiration, photosynthetic pigments and water content in tow Maize cultivar. Pakistan Journal of Biological Science. 10(22): 4022-4028.
32. Molan AL, Duncan AJ, Barryand TN, McNabb WC (2003) Effect of condensed tannins and sesquiterpene lactones extracted from chicory on the motility of larvae of deer lungworm and gastrointestinal nematodes. Parasitol. Int. 52: 209–218.
33. Mulabagal V, Wang H, Ngouajio M, Nair MG (2009) Characterization and quantification of health beneficial anthocyanins in leaf chicory (*Cichorium intybus*) varieties. European Food Reserch and Technology. 230: 47–53.
34. Muthusamy VS, Anand S, Sangeetha KN, Sujatha S, Arun B, Lakshami BS (2008) Tannins present in *Cichorium intybus* enhance glucose uptake and inhibit adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes through PTP1B inhibition. Chemico Biological Interactions Journal. 174 (1): 69–78.
35. Nandagopal S and Ranjitha kumari BD (2007) Phytochemical and antibacterial studies of chicory (*Cichorium intybus* L.) – a multipurpose medicinal plant. Advances in Biological Research. 1 (1-2): 17–21.
36. Rezaie Chiane E, Zehtab salmasi S, Ghasemi Golozani K and Dea Azar A (2013) Physiological reacts of Fennel(*Foeniculum vulgare* L) under water limitation. Journal of Agroecology. 4(4): 347-355.
37. Scherer EE, Agostini VJ, Wildner LP, Nadal R, Sivestro M and Sorrenson WJ (1991) Poultry manure and nitrogen for maize on small farms. Agropecuaria Catarinense. 4: 8-11.
38. Schutz H and Fangmier E (2001) Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Minaret) to elevated CO₂ and water limitation. Journal of Environ Pollution. 114: 187-194.
39. Shao CX, Hu J, Song WJ and Hu WM (2007) Effects of seed priming with chitosan solutions of different acidity on seed germination and physiological characteristics of maize seedling. Journal of Agriculture and Life Science. 31:705–708.
40. Sreevalli Y, Baskaran K, Chandrashekara R and kuikkarni R (2001) Preliminary observations on the effect of irrigation frequency and genotypes on yield and alkaloid concentration in petriwinkle. Journal of Medicinal and Aromatic plant Science. 22: 356-358.
41. Srinivasulu M R and Chakrapani R (2011) Factors Affecting Seed Germination and Seedling Growth of Tomato Plants cultured in Vitro Conditions. Journal of Chemical Biological and Physical Science. 1(2): 328-334.
42. Wagner GJ (1979) Content and vacuole/ extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids and anthocyanin in protoplasts. Plant Physiology . 64: 88-93.
43. Zhang KM, Yu HJ, Shi K, Zhou YH, Yu JQ and Xia XJ (2010) Photoprotective roles of anthocyanins in *Begonia semperflorens*. Plant Science. 179(3): 202-208.