بررسی اثر کشت مخلوط و کودهای شیمیایی بر میزان اسانس، محتوای فنل و فلاونوئید و برخی خواص زیستی گیاه دارویی *Hyssopus officinalis* L.

فرهاد حبیب‌زاده[1*]، بهور اصغری[2]

[1]استادیار، گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

[2]استادیار، گروه مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۷/۲٤ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۲/۲۵

چکیده

در راستای کاهش مصرف کودهای شیمیایی در تولید گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis* L.)، پژوهشی در سال ۱۳۹۵ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره) قزوین، به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو فاکتور و سه تکرار به اجرا درآمد. فاکتورهای آزمایش شامل الگوهای مختلف کاشت (فاکتورA) شامل کشت خالص (۱۰۰ درصد زوفا) و کشت مخلوط افزایشی (۱۰۰ درصد زوفا + ۵۰ درصد عدس) و کاربرد کود شیمیایی (فاکتورB) شامل مصرف و عدم کاربرد کودهای NPK بود. استخراج اسانس به روش تقطیر با طرح کلونجر، میزان عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم، راندمان عصاره‌دهی به روش خیساندن، محتوای فنل و فلاونوئید به روش رنگ‌سنجی، قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH و عملکرد آنتی‌اکسیدانی کل در آغاز گل‌دهی بر پیکره رویشی زوفا بررسی گردیدند. نتایج نشان داد که کلیه صفات به غیر از محتوای عصاره به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارها قرار گرفتند. درصد اسانس، محتوای فنل و فلاونوئید، قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های DPPH و عملکرد آنتی‌اکسیدانی کل در تیمار کشت مخلوط + مصرف کود، نسبت به سایر تیمارها به‌طور معنی‌داری بالاتر بود. یعنی اینکه در کشت مخلوط با میزان ترکیبات فنل و فلاونوئید و همچنین عملکرد اسانس و عصاره گیاه زوفا را بالا برده است. متابولیت‌های ثانویه نظیر ترکیبات فنل، فلاونوئید و اسانس از مهمترین عوامل سیستم دفاعی گیاه محسوب می‌شوند که رقابت زوفا و عدس (به عنوان عامل تنش‌زا) تولید آن را افزایش داد. با توجه به افزایش مقدار ترکیبات فنل و فلاونوئید، خاصیت آنتی اکسیدانتی نیز بیشتر گردید.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، اسانس، زوفا، کشت مخلوط، محتوای فنل، محتوای فلاونوئید

[*]نویسنده مسئول: habibzadeh_f@yahoo.com

مقدمه

گیاهان دارویی در جوامع مختلف به منظور درمان و پیشگیری از بیماری‌ها کاربردهای فراوانی دارند. ترکیبات فنل خواص آنتی‌اکسیدانی خوبی داشته و غالباً در میوه‌ها و سبزیجات یافت می‌شوند. این ترکیبات شامل موادی از قبیل فلاونوئیدها، فلاونول‌ها، آنتوسینین‌ها، آنتراکینون، استیلبنوئید و مشتقات آن‌ها هستند. خصوصیات آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنل وابسته به توانایی آن‌ها در دادن الکترون برای به دام انداختن رادیکال‌های آزاد به وسیله تشکیل ترکیبات پایدار فنوکسیل می‌باشد. خواص آنتی‌اکسیدانی فلاونوئیدها به خاطر وجود گروه‌های هیدروکسیل فنلی در ساختمان آن‌هاست. به دام انداختن و حذف رادیکال‌های آزاد از نقش‌های مهم فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات می‌باشد. قابلیت استفاده از داروها با پایه فلاونوئیدی به منظور پیشگیری و یا درمان برخی از بیماری‌هاست که رادیکال‌های آزاد در ایجاد آن‌ها نقش دارند (Daniel, 2005; Miguel et al., 2014).

مطالعات فراوانی در زمینه بررسی ترکیبات فنل و فلاونوئید و اثرات بیولوژیکی ناشی از حضور آنها در گیاه زوفا انجام گرفته است. در بررسی مشابه که در ترکیه انجام گردید، نشان داده شد که عصاره‌های بدست آمده توسط حلال‌های مختلف از این گیاه بین ۴ تا ۵ درصد محتوای فنل تام دارند. مقدار محتوای فلاونوئید عصاره‌های این گیاه نیز بین ۱ تا ۱/۵ درصد گزارش شده است. آنالیز ترکیبات فنل موجود در عصاره‌ها نیز حضور ترکیباتی نظیر کلروژنیک اسید، کافئیک اسید، پاراکوماریک اسید، روتین، فرولیک اسید و کوئرستین را به اثبات رساند. در این تحقیق نشان داده شد که عصاره‌های حاوی ترکیبات فنل و فلاونوئید بالاتر، اثر آنتی‌اکسیدانتی قوی‌تری را از خود نشان می‌دهند (Hatipoglu et al., 2013).

در مطالعه دیگری نیز اثر آنتی‌اکسیدانتی گیاه زوفا که با روش‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفته بودند، به حضور ترکیبات فنل و فلاونوئید نسبت داده شد و ثابت گردید که این گیاه از پتانسیل بالای مقابله با کم‌خونی برخوردار است (Alinezhad et al., 2013). علاوه بر موارد فوق، مطالعات نشان می‌دهند که این گیاه خواص بیولوژیکی نظیر ضدقارچی و ضدمیکروبی و خاصیت‌هایی نظیر قدرت مهارکنندگی آنزیم‌های دخیل در ایجاد بیماری دیابت را دارا است و ثابت گردیده که حضور ترکیبات فنل و فلاونوئید در این زمینه مؤثر می‌باشد (Miyazak et al., 2003; Dzamic et al., 2013; Vlase et al., 2014).

به منظور افزایش تولید محصولات کشاورزی در واحد سطح، عملیات زراعی متعددی نظیر مصرف کودهای شیمیایی انجام می‌گیرد. کودهای شیمایی عناصر مورد نیاز را سریع‌تر و مؤثرتر در اختیار گیاهان قرار می‌دهند. از بین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه، نیتروژن نقش مهمی در رشد و نمو و فیزیولوژی گیاه دارد و یکی از اجزای تشکیل‌دهنده آمینواسیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک است که در ساختار کلروفیل و ATP به کار رفته و بیش از سایر عناصر در تغذیه گیاه مصرف می‌شود (Barker and Pilbeam, 2016). اثر قابل توجه نیتروژن در افزایش محصولات از یک طرف و کاهش میزان آن در خاک از طرف دیگر سبب شده است که محققان به طور فزاینده‌ای به مطالعه اثرات کودهای نیتروژن روی آورده و از آن‌ها جهت افزایش تولید استفاده نمایند. علیرغم فواید مصرف کودهای شیمیایی، کاربرد آنها موجب آلودگی‌های محیطی و صدمات اکولوژیکی می‌شود که خود هزینه تولید را افزایش می‌دهد. در حال حاضر، به دلیل مشکلات ناشی از افزایش مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی و خطرات زیست محیطی مرتبط با مصرف غیراصولی این کودها، زمینه‌های توجه بیشتر

به مدیریت تلفیقی در کشاورزی پایدار را فراهم کرده است (Barker and Pilbeam, 2016; Chatterjee and Clay, 2016.).

کشت مخلوط یکی از روش‌های رایج در نظام‌های کشاورزی پایدار است که نقش مهمی در افزایش تولید و ثبات عملکرد به جهت بهبود استفاده از منابع و عوامل محیطی دارد. کشت مخلوط ضمن افزایش تنوع زیستی، باعث افزایش تولید، استفاده کارآمدتر از منابع آب، زمین، نیروی کار و عناصرغذایی، کاهش مشکلات ناشی از آفات، بیماری‌ها و علف‌های هرز گردیده، در نتیجه مشکلات فراوان کشاورزی رایج بدون نیاز به استفاده از مواد شیمیایی از این طریق رفع می‌شود (Pandita et al., 2000; Maffei and Mucciarelli, 2003).

زوفا با نام علمی *Hyssopus officinalis* L. گیاهی دارویی و چندساله متعلق به تیره نعناعیان است که بخش‌های قابل استفاده آن سرشاخه‌های گل‌دار، برگ و بذر می‌باشد. این گیاه دارویی برای تقویت دستگاه گوارش، رفع ناراحتی‌های عصبی و افسردگی، ضدباکتری و درمان سرماخوردگی استفاده می‌شود (Letessier et al., 2001; Fathiazad and Hamedeyazdan, 2011). منشأ این گیاه آسیای صغیر گزارش شده و از دریای خزر تا دریای سیاه و همچنین در مناطق شنی مدیترانه می‌روید. این گیاه دارای ریشه‌ی مستقیم با انشعابات فراوان می‌باشد، ساقه در این گیاه چهارگوش و مستقیم و ارتفاع آن بین ۵۰ الی ۷۰ سانتی‌متر است. برگ‌های زوفا به طول ۲ الی ۴ سانتی‌متر و به عرض ۰/۵ الی یک سانتی‌متر که در طول ساقه به صورت متقابل به شکل صلیب قرار می‌گیرند. هر دو طرف پهنک پوشیده از حفره‌های محتوی اسانس است. گل‌های زوفا در ۴ رنگ سفید، صورتی، آبی و مخلوط که در قسمت فوقانی ساقه‌هایی به طول ۴۰ الی ۴۵ سانتی‌متر به صورت چرخه‌هایی مجتمع که هر چرخه مرکب از ۷ الی ۹ گل می‌باشد، تشکیل می‌شوند. میوه زوفا فندقه چهار قسمتی و رنگ آن سیاه یا قهوه‌ای تیره است. رشد اولیه در گیاه زوفا کند بوده و در سال اول رویش، گل‌ها در اواخر خرداد و اوایل تیرماه ظاهر می‌شوند (Khazaiea et al., 2008; Wang and Yang, 2010; Alinezhad et al., 2013).

عدس (*Lens culinaris* Medik) گیاهی یک‌ساله، خودبارور، با بوته‌های ۴۵-۲۰ سانتی‌متری و از حبوبات خوراکی است که ارزش اولیه آن در قابلیت تولید حدود ۲۵ درصد پروتئین با کیفیت بالا و توانایی آن در تثبیت نیتروژن خاک در تناوب زراعی در محیط‌های حاشیه‌ای خشک است. بالا بودن مقدار پروتئین عدس و از طرفی مقاومت عدس به خشکی که امکان کشت دیم آن را فراهم می‌سازد، آن را در ردیف گیاهان مهم زراعی قرار داده است (Jahani et al., 2008).

با توجه به اهمیت گیاه دارویی زوفا و لزوم توجه به کشاورزی کم‌نهاده، هدف از این تحقیق بررسی تأثیر کشت مخلوط عدس با گیاه دارویی زوفا و کاربرد کود شیمیایی بر رشد و عملکرد رویشی و عصاره گیاه دارویی زوفا می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۵ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو فاکتور و سه تکرار به اجرا درآمد. قبل از کشت، جهت تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده، از ۱۰ نقطه از توده خاک به صورت تصادفی نمونه‌برداری به عمل آمد، سپس نمونه‌ها با هم مخلوط شد و یک نمونه تصادفی برای تعیین مشخصات خاک مورد استفاده قرارگرفت. بافت خاک مورد استفاده لومی شنی و pH آن ۷/۸ بود (جدول ۱).

جدول ۱: نتایج تجزیه خاک محل تحقیق

pH	هدایت الکتریکی ($dS.m^{-1}$)	مواد خنثی شونده (٪)	کربن آلی (٪)	نیتروژن کل (٪)	فسفر قابل جذب (ppm)	پتاسیم قابل جذب (ppm)	بافت خاک
۷/۸	۰/۳۳	۷/۵	۰/۳۹	۰/۰۳	۴/۶	۲۳۸	لومی- سیلتی

الگوهای مختلف کاشت (فاکتورA) در دو سطح شامل A1: کشت خالص زوفا (۱۰۰ درصد زوفا) و A2: کشت مخلوط افزایشی (۱۰۰ درصد زوفا + ۵۰ درصد عدس) و کاربرد کود شیمیایی حاوی عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم (فاکتورB) در دو سطح B1: کودی شامل عدم مصرف کودهای NPK و B2: کاربرد کود NPK در انطباق با نتایج آزمون خاک اعمال شد. در این طرح، هر کرت آزمایشی دارای ۴ خط کاشت به طول ۴ متر (هرکرت به ابعاد ۱/۵ × ۴ متر) و فاصله بین خطوط کاشت در کشت مخلوط ۳۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. فاصله بین بلوک‌ها یک متر و فاصله بین کرت‌ها نیز نیم متر منظور شد. کودهای شیمیایی قبل از کاشت در سطح خاک پخش و با آن مخلوط گردید. در این تحقیق ۵۰ سانتی‌متر از ابتدا و انتهای هر کرت و یک خط از هر سمت کرت از کلیه کرت‌ها جهت حذف اثر حاشیه‌ای، حذف گردید و قسمت باقیمانده، جامعه آماری مورد نمونه‌گیری آزمایش را تشکیل داد.

جهت تعیین تاثیر تیمارهای اجراشده، فاکتورهایی مانند وزن خشک، میزان اسانس و عملکرد اسانس، میزان عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم، میزان راندمان عصاره‌دهی، میزان محتوای فنل و فلاونوئید، قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد و اثر آنتی اکسیدانتی در آغاز گل‌دهی بر پیکره رویشی گیاه دارویی زوفا مورد بررسی قرارگرفتند. اندام‌های گیاهی پس از برداشت، در دمای اتاق و به دور از تابش مستقیم نور خورشید خشک گردید و پس از خرد شدن، برای عملیات اسانس‌گیری و عصاره‌گیری آماده شد.

به‌منظور استخراج اسانس، از هر تکرار آزمایشی، یک نمونه ۲۵ گرمی از گیاه خشک به آزمایشگاه منتقل گردید. اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب[1] توسط دستگاه کلونجر و به مدت ۲ ساعت انجام گرفت. اسانس به دست آمده توسط سولفات سدیم خشک رطوبت‌زدایی گردید و سپس درصد اسانس محاسبه شد.

عصاره‌گیری از اندام‌های گیاهی خشک شده به روش خیساندن[2] انجام گرفت. حلال مورد استفاده برای عصاره‌گیری، متانول (۸۰ درصد حجمی) بود. نمونه‌های خشک با استفاده از آسیاب برقی پودر شد و مقدار ۱۵ گرم از آن به ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری انتقال یافت و با ۲۰۰ میلی‌لیتر از حلال مخلوط گردید. پس از اینکه عصاره‌گیری به مدت ۴۸ ساعت انجام گرفت، مخلوط با استفاده از کاغذ صافی فیلتر شد. فرآیند ذکر شده دو مرتبه بر روی گیاه انجام گردید تا از حداکثر استخراج مواد مؤثره گیاه، اطمینان حاصل شود. عصاره‌های به دست آمده پس از ترکیب با استفاده از تبخیرکننده گردان[3] تحت فشار کاهش یافته و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ و در نهایت عصاره‌های تغلیظ شده در آون ۴۰ در جه سانتی‌گراد کاملاً خشک گردیدند. با توزین عصاره‌های خشک، داده‌های مورد نیاز جهت محاسبه درصد عصاره گیاه به دست آمد و مواد تا زمان انجام آنالیزهای بعدی در

1. Hydrodistillation
2. Maceration
3. Rotary evaporator

ظروف تیره شیشه‌ای دربسته در یخچال (در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد.

میزان محتوای فنل عصاره‌های به دست آمده با استفاده از معرف فولین سیکالتو[1] اندازه‌گیری شد (Salehi et al., 2013). اندازه‌گیری میزان محتوای فلاونوئید عصاره‌های گیاهی با استفاده از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم انجام گرفت (Miguel et al., 2014). قدرت جذب رادیکال‌های آزاد عصاره‌ها با استفاده از روش DPPH بررسی شد (Zengin et al., 2015). در این روش، یک میلی‌لیتر از محلول‌های عصاره که دارای غلظت‌های مختلف بودند با ۴ میلی‌لیتر از محلول ۰/۰۱ درصد رادیکال‌های آزادDPPH درحلال متانول ترکیب شد. اندازه‌گیری میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانتی کل با استفاده از روش فسفومولیبدنیوم انجام گرفت (Zengin et al., 2015). در این روش احیاء Mo (VI) به Mo (V) و تشکیل کمپلکس سبز رنگ فسفات از یون Mo (V) پایه و اساس تعیین قدرت آنتی‌اکسیدانتی نمونه به حساب می‌آید.

اندازه‌گیری نیتروژن با روش کجلدال اصلاح شده از طریق معدنی شدن با اسیدسولفوریک، اسیدسالیسیلیک و یک کاتالیزور به نیتروژن آمونیاکی انجام گردید. فسفر از طریق اسپکتروفتومتری یون‌های فسفو وانادو مولیبدات در ناحیه ۴۳۰ نانومتر و سنجش یون پتاسیم با استفاده از روش هضم با اسید نیتریک و استفاده از دستگاه فلیم‌فتومتر انجام گردید (Benton Jones, 2001).

داده‌های آزمایشی مربوط به صفات اندازه‌گیری شده با محاسبه میانگین سه تکرار به دست آمده است. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد ($p<0/05$) انجام گرفت. تجزیه همبستگی داده‌ها با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون یا r محاسبه گردید. کلیه آنالیزهای فوق با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.2 انجام شد.

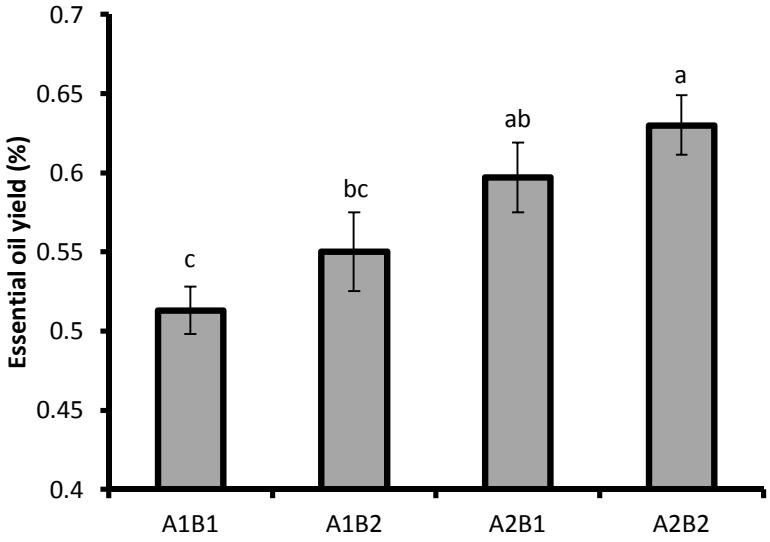
نتایج

نتایج نشان داد که گیاهان زوفایی که تحت تیمار کشت مخلوط با عدس همراه با مصرف کود NPK قرارگرفتند (تیمار A2B2)، در مقایسه با سایر نمونه‌ها، بالاترین میزان محتوای اسانسی را با مقدار ۰/۶۳۰ درصد (حجم به وزن) دارا بودند. میزان محتوای اسانسی این گیاهان از نظر آماری به غیر از تیمار A2B1 (نمونه‌هایی که بدون مصرف کود شیمیایی تحت تیمار کشت مخلوط با عدس قرار گرفته بودند) به شکل معنی‌داری از بقیه تیمارها، محتوای بالاتری را دارا بود. کمترین میزان محتوای اسانسی به تیمار A1B1 تعلق داشت که دارای ۰/۵۱۳ درصد، اسانس بود. این تیمار با تیمار A1B2 تفاوت آماری معنی‌داری نشان نداد (شکل ۱). چنین استنباط می‌شود که در حالت کشت خالص اگرچه کاربرد کود شیمیایی، درصد اسانس را تا حدودی افزایش داد، ولی این افزایش در حد معنی‌داری نبوده است. در حالت کشت مخلوط نیز همین روند قابل مشاهده است. نکته قابل توجه این است که در کل، کشت مخلوط عدس با گیاه زوفا منجر به افزایش محتوای اسانسی گیاه زوفا گردیده است. در شکل ۱ می‌توان دید که تیمارهای A2B1 و A2B2 در مقایسه با تیمارهای کشت خالص گیاه زوفا دارای محتوای اسانسی بالاتری هستند، اگرچه اختلاف معنی‌داری بین A2B1 و A1B2 وجود ندارد.

اگرچه کاربرد کود و همچنین کشت مخلوط عدس باعث افزایش نسبی در راندمان عصاره به دست آمده از گیاه گردید، اما این اختلاف ایجاد شده، درحد معنی‌داری نبوده است (شکل ۲). درصد عصاره به دست آمده از گیاه زوفا برای تیمار A1B1 مقدار

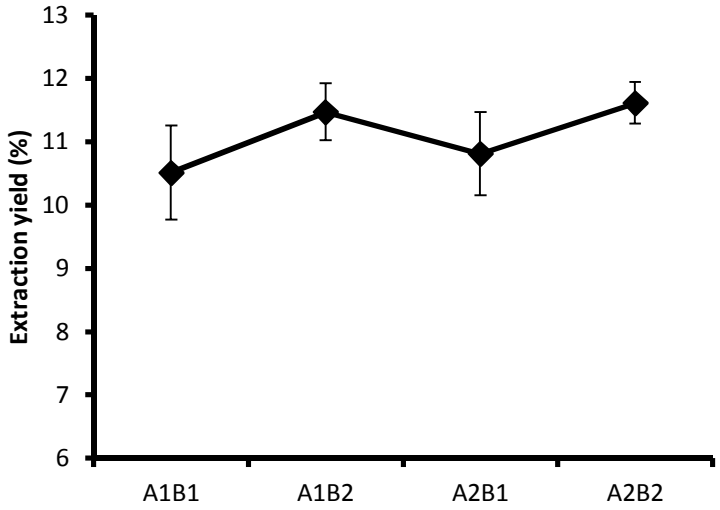
1. Folin-Ciocalteu

۱۰/۵۱ درصد بود. این مقدار برای گیاه تحت تیمار A1B2 معادل ۱۱/۴۷ درصد، برای گیاه تحت تیمار A2B1 به میزان ۱۰/۸۱ درصد و برای گیاه تحت تیمار A2B2 برابر با ۱۱/۶۱ درصد تعیین گردید. با توجه به این موضوع تفاوت معنی‌داری بین میزان عصاره‌های به دست آمده از گیاهان وجود نداشت که این امر تا حدودی نیز به راندمان روش استخراج بر می‌گردد.



شکل ۱: نمودار درصد محتوای اسانسی گیاه زوفا تحت تیمارهای مختلف

(میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، از لحاظ آماری در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند)



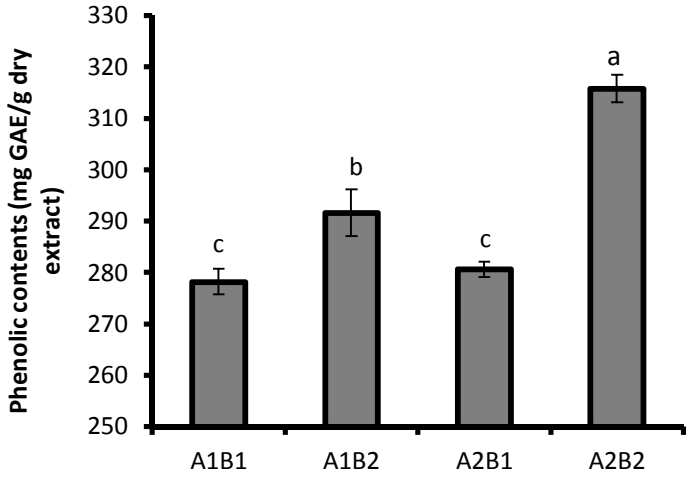
شکل ۲: درصد عصاره به دست آمده از گیاه زوفا تحت تیمارهای مختلف

(کلیه میانگین‌ها از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند)

نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری محتوای فنل عصاره‌های تهیه شده از گیاه زوفا (شکل ۳)، نشان داد که در حالت کشت خالص گیاه زوفا، کاربرد کود در مقایسه با عدم کاربرد آن منجر به افزایش معنی‌دار

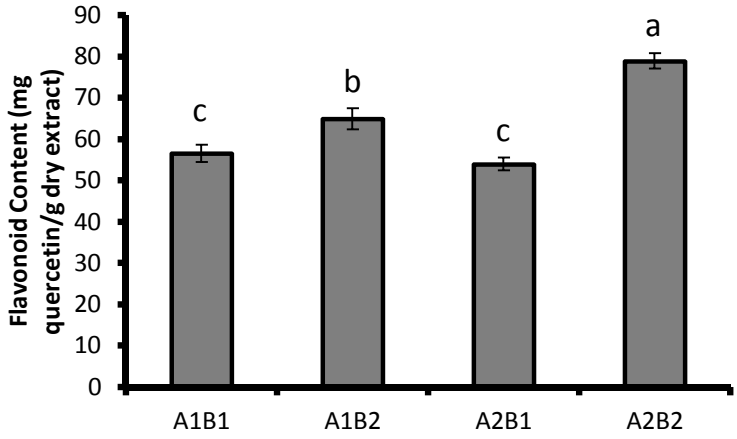
ترکیبات فنل گیاه شده است. همچنین در حالت کشت مخلوط، گیاهانی که با کود شیمیایی تغذیه گردیده‌اند، مقدار محتوای فنل بالاتری را (در مقایسه با عدم مصرف کود) دارا بوده‌اند که این اختلاف از نظر آماری نیز معنی‌دار بود. همانگونه که در شکل ۳ مشاهده می‌گردد، تیمار A2B2، یعنی شرایطی که گیاهان در حالت کشت مخلوط تحت کوددهی شیمیایی نیز قرار گرفتند، با دارا بودن میزان ۳۱۵/۷ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در هر گرم عصاره بالاترین میزان ترکیبات فنل را دارا بوده است.

شکل ۴ نتایج مربوط به اندازه‌گیری میزان محتوای فلاونوئید گیاه زوفا تحت تیمارهای مختلف اعمالی را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که میزان محتوای فلاونوئید گیاه زوفایی که تحت تیمار کشت مخلوط با عدس همراه با مصرف کود NPK قرار گرفته بودند (تیمار A2B2)، در مقایسه با سایر نمونه‌ها، ازنظرآماری بالاترین مقدار بود (۸۶/۷۸ معادل میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره خشک). کمترین میزان محتوای فلاونوئید نیز به تیمار A2B1 (کشت مخلوط بدون مصرف کود شیمیایی) تعلق داشت که با تیمار A1B1 (کشت خالص زوفا بدون مصرف کود شیمیایی) تفاوت آماری معنی‌داری نشان نداد.



شکل ۳: محتوای فنل گیاه زوفا تحت تیمارهای مختلف برحسب میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره خشک

(میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، از لحاظ آماری در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند)

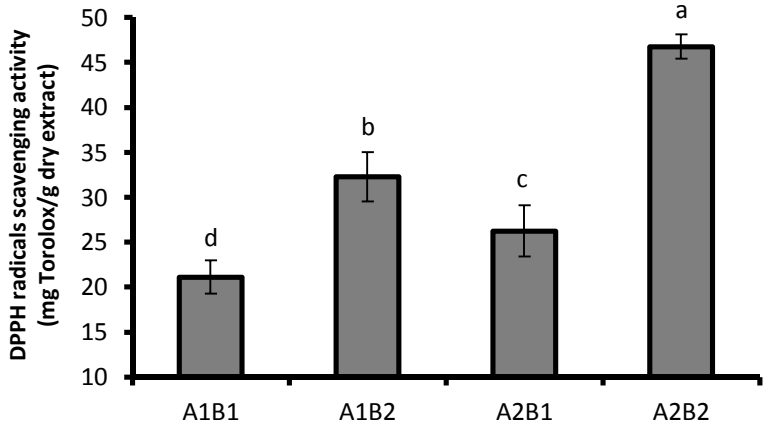


شکل ٤: میزان محتوای فلاونوئید گیاه زوفا تحت تیمارهای مختلف

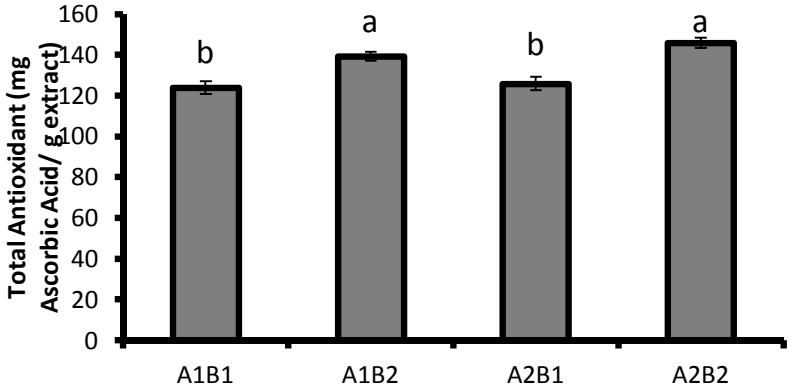
(میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، از لحاظ آماری در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند)

نتایج مربوط به قدرت ضد رادیکال DPPH عصاره‌های به دست آمده از گیاه زوفا در شکل ۵ نشان داده شده است. بررسی قدرت آنتی‌اکسیدانتی گیاه زوفا در حالت‌های مختلف مورد بررسی، نشان داد که تیمار A2B2 دارای بالاترین قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH بود، که این مقدار معادل ۴۶/۷۳ میلی‌گرم Trolox بر گرم خشک عصاره می‌باشد. در حالی که کمترین مقدار این اثر با عددی معادل ۲۱/۰۷ میلی‌گرم Trolox بر گرم خشک عصاره مربوط به تیمار A1B1 بود. مقایسه نتایج نشان می‌دهد که در این مورد نیز کشت مخلوط در گیاهانی که کوددهی نشده بودند، باعث افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانتی عصاره‌های به دست آمده، گردید. جالب توجه است که در هر دو مورد کشت خالص و مخلوط، کوددهی به گیاهان باعث افزایش در قدرت آنتی‌اکسیدانتی زوفا گردیده است که این اختلاف‌ها به شکلی معنی‌دار قویتر از حالت بدون کوددهی است. با توجه به اینکه تیمارA2B1 به صورت معنی‌داری قدرت آنتی‌اکسیدانتی پائین‌تری از تیمار A1B2 نشان داد، می‌توان نتیجه گرفت که کشت مخلوط به تنهایی نتواسته است در مقایسه با کوددهی اثر مثبتی بر گیاه زوفا بگذارد. این در حالی است که کوددهی و کشت مخلوط بر گیاه زوفا هم‌افزایی بسیار خوبی داشته‌اند و بالاترین قدرت آنتی‌اکسیدانتی در گیاهانی مشاهده گردید که هر دوی این فاکتورها بر آنها اعمال شده‌اند.

بالاترین میزان خاصیت آنتی اکسیدانتی اندازه‌گیری شده با استفاده از روش فسفومولیبدنیوم، به تیمار کشت مخلوط زوفا و عدس همراه با مصرف کود شیمیایی NPK (تیمار A2B2) تعلق داشت (۱۴۵/۹ میلی‌گرم معادل اسیدآسکوربیک بر گرم خشک عصاره) که با تیمار کشت خالص زوفا همراه با مصرف کود (A1B2) با میانگین ۱۳۹/۱۷ میلی‌گرم معادل اسیدآسکوربیک بر گرم خشک عصاره، از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نشان نداد. کمترین میزان خاصیت آنتی اکسیدانتی نیز در تیمارهای A1B1 و A2B1 مشاهده گردید (شکل ۶). جالب توجه است که در روندی مشابه قدرت ضدرادیکالی، کوددهی به گیاهان باعث افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانتی تام گیاه زوفا گردیده است که این اختلاف‌ها به شکلی معنی‌داری قوی‌تر از حالت بدون کوددهی است.



شکل ۵: قدرت بازدارندگی رادیکال‌های آزاد DPPH توسط عصاره گیاه زوفا تحت تیمارهای مختلف
(میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، ازلحاظ آماری در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند)



شکل ٦: قدرت آنتی‌اکسیدانتی تام عصاره گیاه زوفا تحت تیمارهای مختلف اندازه‌گیری شده با روش فسفومولیبدنیوم
(میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، ازلحاظ آماری در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند)

بالاترین میزان نیتروژن برگ در حالت کشت خالص یا مخلوط زوفا همراه با مصرف کود مشاهده شد (به ترتیب مقادیر ۳۲/۳۳ و g^{-1} ۲۸/۹۳mg). بالاترین مقدار فسفر نیز به کشت خالص همراه با مصرف کود مربوط بود (مقدار $mg\ g^{-1}$ ۱/۵۴) که از وجود رقابت بین گیاه زوفا و عدس از لحاظ جذب فسفر حکایت دارد. از نظر میزان پتاسیم، تیمار کشت مخلوط بدون مصرف کود ($mg\ g^{-1}$ ۱۱/۱۳) کمترین مقدار را داشت (جدول ۲). این نتایج با وضعیت عناصر در خاک نسبتاً منطبق است.

جدول ۲: تأثیر تیمارهای آزمایشی بر میزان نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ زوفا

تیمار	میزان نیتروژن ($mg\ g^{-1}$)	میزان فسفر ($mg\ g^{-1}$)	میزان پتاسیم ($mg\ g^{-1}$)
کشت خالص زوفا بدون مصرف کود شیمیایی (تیمار A1B1)	۲۳/۰۳ b (۱/۱۸)	۰/۸۲ c (۰/۰۵)	۱۲/۳۳ ab (۰/۲۶)
کشت خالص زوفا + مصرف کود NPK (تیمار A1B2)	۳۲/۳۳ a (۰/۸۰)	۱/۵۴ a (۰/۰۶)	۱۳/۴۰ a (۰/۴۵)
کشت مخلوط زوفا و عدس بدون مصرف کود شیمیایی (تیمار A2B1)	۲۵/۱۶ b (۱/۴۷)	۰/۵۹ d (۰/۰۸)	۱۱/۱۳ b (۰/۴۶)
کشت مخلوط زوفا و عدس + مصرف کود NPK (تیمار A2B2)	۲۸/۹۳ a (۱/۱۷)	۱/۱۵ b (۰/۰۳)	۱۲/۷۳ a (۰/۲۱)

در هر ستون اعداد برخوردار از حروف مشترک در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند و خطای استاندارد در پرانتز ذکر شده است.

جدول ۳: ضرایب همبستگی بین صفات مورد مطالعه

	Essential oil yield	Extract yield	Phenolic Content	DPPH	Flavonoid	Total Antioxidant	N	P	K
Essential oil yield	۱								
Extract yield	۰/۶۷	۱							
Phenolic Content	۰/۷۲	۰/۹۴*	۱						
DPPH	۰/۷۸	۰/۹۶*	۰/۹۹ **	۱					
Flavonoid	۰/۵۹	۰/۹۲*	۰/۹۸ **	۰/۹۵*	۱				
Total Antioxidant	۰/۵۸	۰/۹۹**	۰/۹۲*	۰/۹۳*	۰/۹۴*	۱			
N	۰/۲۸	۰/۸۰	۰/۵۷	۰/۶۱	۰/۵۹	۰/۸۰	۱		
P	-۰/۰۴	۰/۶۹	۰/۵۰	۰/۴۸	۰/۵۸	۰/۷۴	۰/۸۹	۱	
K	-۰/۲۰	۰/۵۸	۰/۴۶	۰/۴۱	۰/۵۸	۰/۶۶	۰/۷۲	۰/۹۵*	۱

* و **: به ترتیب معنی‌دار بودن در سطوح آماری پنج و یک درصد را نشان می‌دهد. بدون علامت ستاره، غیرمعنی‌دار بود.

در این پژوهش رابطه همبستگی بین صفات مختلف مورد بررسی قرار گرفت که در جدول ۳، ضرایب همبستگی نشان داده شده است. با توجه به نتایج به دست آمده به خوبی رابطه مستقیم بین محتوای فنل و فلاونوئید با خواص ضدرادیکالی و آنتی‌اکسیدانتی تام عصاره‌های گیاه زوفا قابل مشاهده است. ضرایب همبستگی بین محتوای فنل این عصاره با خاصیت ضدرادیکالی و آنتی اکسیدانتی تام به‌ترتیب ۰/۹۹ و ۰/۹۴ است که نشان از ارتباط بالای بین این پارامترها است. محتوای فلاونوئید نیز با دو خاصیت ذکر شده دارای ضرایب همبستگی به ترتیب ۰/۹۵ و ۰/۹۴ بودند که این ضرایب نیز اشاره به ارتباط مستقیم این خواص دارد. همچنین ارتباط بین میزان راندمان عصاره‌دهی گیاه زوفا با میزان ترکیبات فنل و فلاونوئید به ترتیب دارای ضرایب همبستگی ۰/۹۴ و ۰/۹۲ بود.

بحث

کشت مخلوط با عدس به همراه مصرف کود، موجب افزایش محتوای اسانس گیاه زوفا گردید. از جمله مهم‌ترین مواد موثره گیاه زوفا اسانس آن است که بر طبق گزارشات موجود، اصلی‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده‌ی آن عبارتند از : ۱و۸- سینئول، بتا- پینن، ایزوپینوکامفون، ۴-ترپینئول، پینوکاروون و کارواکرول (Dzamic et al., 2013). از آن‌جا که اسانس، ترکیبی ترپنوئیدی بوده که واحدهای سازنده آن نیاز به ATP و NADPH دارد و با در نظر گرفتن این مطلب که حضور عناصر ضروری برای تشکیل ترکیب‌های اخیر ضروری می‌باشد (Kizil et al., 2010)، به نظر می‌رسد که کشت مخلوط این گیاه دارویی با عدس از طریق فراهمی عناصر اصلی سازنده اسانس موجب افزایش عملکرد اسانس شده است.

احتمالاً افزایش عناصر قابل جذب برای گیاه در شرایط کشت مخلوط توام با کوددهی، موجب افزایش ترکیبات فنل شده است. از طرف دیگر با توجه به اینکه ترکیبات فنل جزء متابولیت‌هایی از گیاه هستند که در مکانیسم‌های دفاعی آن دخیل‌اند، حضور مقدار بالای این ترکیبات می‌تواند توجیه‌پذیر باشد. زیرا حضور گیاه عدس در کنار زوفا می‌تواند به عنوان یک عامل ایجاد تنش در نظر گرفته شود و گیاه زوفا برای تطبیق با شرایط تنش اقدام به ساخت بیشتر این ترکیبات می‌نماید. ترکیبات فنل عوامل مقابله‌کننده با انواع بیماری‌ها نظیر بیماری‌های قلبی و عروقی، دیابت، آلزایمر و انواع سرطان‌ها هستند (Scalbert et al., 2005). بنابراین باعث تعجب نیست که استخراج و آنالیز ترکیبات فنل از گیاهان و سایر منابع غذایی به این حد مورد توجه قرار گیرد (Dai and Mumper, 2010). در گیاهان ترکیبات فنل از آمینو اسیدهای آروماتیک L-فنیل‌آلانین و در برخی موارد L-تیروزین تشکیل می‌شوند (Shahidi, 2002). ترکیبات فنل می‌توانند در ساختار گیاهان یا به صورت واحدهای منومری آگلیکونی (بدون جزء قندی) و یا به صورت ترکیبات گلیکوزیدی وجود داشته باشند. بسیاری از ترکیبات فنل و مخلوط آنها به‌طور گسترده در میوه‌جات، سبزی‌ها، حبوبات و سایر محصولات گیاهی یافت می‌شوند (Adom and Liu, 2005). در مطالعات انجام شده بین ترکیبات فنل و خاصیت آنتی اکسیدانتی آنها روابط خاصی پیدا شده است. به عنوان مثال مشاهده گردیده که هر چه تعداد حلقه‌های فنلیک یک ساختار بیشتر باشد، قدرت آنتی‌اکسیدانتی ترکیب نیز افزایش یافته است (Kim and Lee, 2004).

بالاتر بودن میزان محتوای فلاونوئید گیاه زوفایی که تحت تیمار کشت مخلوط با عدس همراه با مصرف کود NPK قرار گرفته بودند، نیز اهمیت زیادی دارد. فلاونوئیدها معمول‌ترین ترکیبات فنل

هستند که دارای گستردگی فراوانی در گیاهان می‌باشند. ساختار پایه آنها از یک هسته دی‌فنیل پروپانی تشکیل شده است که در آن دو حلقه آروماتیک از طریق یک زنجیره سه کربنه به یکدیگر متصل شده‌اند که این زنجیره هم می‌تواند به صورت بسته یا حلقوی باشد (نظیر فلاون‌ها، فلاونول‌ها و ...) و هم به صورت باز یا زنجیری (مانند چالکون‌ها). همانگونه که در مورد ترکیبات فنل نیز اشاره شد، نوع ساختار ترکیبات فلاونوئید نیز در میزان قدرت آنتی‌اکسیدانتی ترکیب تأثیرگذار است. به طور کلی نشان داده شده است که هر چه تعداد گروه‌های هیدروکسیل آزاد در یک ساختار بیشتر شود، قدرت آنتی‌اکسیدانتی نیز در آن ترکیب افزایش می‌یابد (Lien et al., 1999).

در این تحقیق مشاهده گردید که در هر دو مورد کشت خالص و مخلوط، کوددهی به گیاهان باعث افزایش در قدرت آنتی‌اکسیدانتی زوفا گردید که این اختلاف‌ها به شکلی معنی‌داری قویتر از حالت بدون کوددهی است. گزارش‌های فراوانی وجود دارد که ارتباط مؤثر بین میزان ترکیبات فنل و فلاونوئید گیاه و قدرت آنتی‌اکسیدانتی را گزارش نموده‌اند (Bahadori et al., 2015; Bahadori et al., 2017). این تحقیق نیز نشان داد که افزایش مقدار ترکیبات فنل و فلاونوئید در گیاهان به طور مستقیم بر قدرت آنتی‌اکسیدانتی آنها اثر دارد. با توجه به اثرات آنتی‌اکسیدانتی اکثر ترکیبات فنل که نشأت گرفته از ساختار شیمیایی آنهاست، این نتیجه‌گیری کاملاً قابل قبول است (Craft et al., 2012). در حالت کلی، نتایج به دست آمده از این تحقیق تایید کننده مطالعات دیگر انجام شده در این زمینه است (Jo et al., 2012; Fu et al., 2014; Martins et al., 2015; Bahadori et al., 2017). در تحقیقی که با کودهای زیستی بر پایه باکتری *Bacillus liheniformis* و دوزهای مختلف کود نیتروژنی بر گیاه گوجه‌فرنگی انجام گرفت، میزان ترکیبات فنل موجود در گوجه‌فرنگی با میزان کود نیتروژنه مصرفی نسبت عکس نشان داد. چنین استنباط شد که دوز بالای نیتروژن باعث کاهش تنش‌های غیرزیستی گیاه گوجه‌فرنگی می‌گردد و به این طریق میزان محتوای فنل موجود در این گیاه را کاهش می‌دهد (Ochoa-Velasco et al., 2016). در مطالعه دیگری که عصاره جلبک *Eckloniamaxima* در دو غلظت ۰/۲ و ۰/۴ درصد برای تیمار گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) استفاده شد (به‌صورت اسپری بر اندام هوایی)، چنین نتیجه گرفته شد که کاربرد عصاره جلبک اثر چندانی بر میزان نشاسته، قندهای آزاد و پروتئین لوبیا نداشت، اما نمونه‌هایی که تحت دوبار اسپری عصاره جلبک قرار گرفته بودند افزایش قابل توجهی در میزان ترکیبات فنل و آنتوسیانین نشان می‌دادند. نتایج تست‌های آنتی‌اکسیدانتی انجام شده بر عصاره لوبیاهای تحت تیمار نیز نشان داد که این نمونه‌ها در عین حال دارای قدرت احیاءکنندگی و ضد رادیکالی بالایی نیز می‌باشند (Kocira et al., 2018).

نتیجه‌گیری نهایی

هدف این تحقیق، بررسی اثر کشت مخلوط عدس روی برخی از مشخصات کمی و کیفی گیاه زوفا بود. گیاه زوفا از جمله مهمترین گیاهان دارویی است که کاربردهای فراوانی در صنایع مختلف غذایی، دارویی و آرایشی و بهداشتی دارد. به همین علت تولید گیاهانی که از نظر مواد مؤثره موجود دارای کیفیت بالایی باشند و همچنین در تولید آنها از کودهای شیمیایی و سموم کمتری استفاده شده باشد، از اهمیت بالایی برخوردار است. نتایج به دست آمده نشان داد که استفاده از کشت مخلوط عدس به همراه گیاه زوفا می‌تواند تأثیر خوبی در بالا بردن ترکیبات فنل و فلاونوئید، میزان اسانس و عصاره زوفا داشته باشد. در

حقیقت حضور عدس یک عامل رقابتی و تنش برای گیاه زوفاست. در حقیقت حضور این عامل تنش‌زا به نحوی باعث فعال‌شدن سیستم دفاعی در گیاه زوفا می‌گردد که یکی از این سیستم‌های دفاعی تولید برخی متابولیت‌های ثانویه نظیر ترکیبات فنل و فلاونوئید و اسانس گیاه است. لذا همانگونه که نتایج آنالیزهای انجام شده نشان می‌دهد، در حضور عدس میزان متابولیت‌های مذکور که جزء ترکیبات ارزشمند گیاه هستند، در زوفا افزایش می‌یابد. از طرف دیگر با توجه به توانایی عدس به عنوان یکی از گیاهان خانواده لگوم در تثبیت نیتروژن، میزان عناصر مغذی که در اختیار زوفا قرار می‌گیرد در حضور عدس افزایش می‌یابد. در حقیقت نتایج این تحقیق کشت مخلوط عدس به همراه زوفا را به عنوان یک روش جایگزین برای استفاده کمتر از کودهای شیمیایی تأیید می‌کند.

References

1. Adom, K.K. and Liu, RH. 2005. Rapid peroxyl radical scavenging capacity (PSC) assay for assessing both hydrophilic and lipophilic antioxidants. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53: 6572–6580.
2. Alinezhad, H., Azimi, R., Zare, M., Ebrahimzadeh M.A., Eslami S., Nabavi, S.F. and Nabavi, S.M. 2013. Antioxidant and antihemolytic activities of ethanolic extract of flowers, leaves, and stems of *Hyssopus officinalis* L. Var. *angustifolius*. International Journal of Food Properties, 16: 1169-1178.
3. Bahadori, M.B., Asghari, B., Dinparast, L., Zengin, G., Sarikurkcu, C., Abbas-Mohammadi, M. and Bahadori, S. 2017. *Salvia nemaroa* L.: A novel source of bioactive agents with functional connections. LWT- Food Science and Technology, 75: 42-50.
4. Bahadori, M.B., Valizadeh, H., Asghari, B., Dinparast, L., Moridi Farimani, M. and Bahadori, S. 2015. Chemical composition and antimicrobial, cytotoxicity, antioxidant and enzyme inhibitory activities of *Salvia spinosa* L. Journal of Functional Foods, 18: 727-736.
5. Barker, A.V. and Pilbeam, D.J. 2016. Handbook of plant nutrition. CRC Press, 632 pp.
6. Benton Jones, J. 2001. Laboratory guide for conducting soil tests and plant analysis. CRC Press, 363 pp.
7. Chatterjee, A. and Clay, D. 2016. Soil fertility management in agroecosystems. American Society of Agronomy, 147 pp.
8. Craft, B.D., Kerrihard, A.L., Amarowicz, R. and Pegg, R.B. 2012. Phenol-based antioxidants and the in vitro methods used for their assessment. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 11: 148-173.
9. Dai, J. and Mumper, R.J. 2010. Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules, 15: 7313–7352.
10. Daniel, M. 2005. Medicinal plants, chemistry and properties. Science Publishers, 188 pp.
11. Dzamic, A.M., Sokovic, M.D., Novakovic, M., Jadranin, M., Ristic, M.S., Tesevic, V. and Marin, P.D. 2013. Composition, antifungal and antioxidant properties of *Hyssopus officinalis* L. subsp. pilifer (Pant.) Murb. essential oil and deodorized extracts, Industrial Crops and Products, 51: 401– 407.
12. Fathiazad, F. and Hamedeyazdan, S. 2011. A review on *Hyssopus officinalis* L.: Composition and biological activities. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 5: 1959 – 1966.
13. Fu, R., Zhang, Y., Guo, Y., Liu, F. and Chen, F. 2014. Determination of phenolic contents and antioxidant activities of extracts of *Jatropha curcas* L. seed shell, a by-product, a new source of natural antioxidant. Industrial Crops and Products, 58: 265-270.

14. Hatipoglu, G., Sokmen, M., Bektas, E., Daferera, D., Sokmen, A., Demir, E. and Sahin, H. 2013. Automated and standard extraction of antioxidant phenolic compounds of *Hyssopus officinalis* L. ssp. Angustifolius. Industrial Crops and Products, 43: 427– 433.
15. Jahani, M., Koocheki, A. and Nassiri Mahallati, M. 2008. Comparison of different intercropping arrangements of cumin (*Cuminum cyminum*) and lentil (*Lens culinaris*). Iranian Journal of Field Crop Research, 6: 67-78 (In Persian).
16. Jo, Y.H., Yuk, H.G., Lee, J.H., Kim, J.C., Kim, R. and Lee, S.C. 2012. Antioxidant, tyrosinase inhibitory, and acetylcholinesterase inhibitory activities of green tea (*Camellia sinensis* L.) seed and its pericarp. Food Science and Biotechnology, 21: 761-768.
17. Khazaiea, H.R., Nadjafi, F. and Bannayan M. 2008. Effect of irrigation frequency and planting density on herbage biomass and oil production of thyme (*Thymus vulgaris*) and hyssop (*Hyssopus officinalis*). Industrial Crops and Products, 27: 315-321.
18. Kim, D.O. and Lee, C.Y. 2004. Comprehensive study on vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of various polyphenolics in scavenging a free radical and its structural relationship. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 44: 253–73.
19. Kizil, S., Hasimi, N., Tolan, V., Kilinic, E. and Kartas, H. 2010. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) essential oil, Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 38: 99-103.
20. Kocira, A., Swieca, M., Kocira S., Zlotek, U. and Jakubczyk, A. 2018. Enhancement of yield, nutritional and nutraceutical properties of two common bean cultivars following the application of seaweed extract (*Ecklonia maxima*). Saudi Journal of Biological Sciences, 25: 563-571.
21. Letessier, M.P., Svoboda, K.P. and Walters, D.R., 2001. Antifungal activity of the essential oil of hyssop (*Hyssopus officinalis*). Journal of Phytopathology, 149: 673-678.
22. Lien, E.J. Ren, S., Bui, H.H. and Wang, R. 1999. Quantitative structure activity relationship analysis of phenolic antioxidants. Free Radical Biology and Medicine, 26: 285–94.
23. Maffei, M. and Mucciarelli, M. 2003. Essential oil yield in peppermint /soybean strip intercropping. Field Crop Research, 84: 229-240.
24. Martins, N., Barros, L., Santos-Buelga, C., Silva, S., Henriques, M. and Ferreira, I. 2015. Decoction, infusion and hydroalcoholic extract of cultivated thyme: Antioxidant and antibacterial activities, and phenolic characterization. Food Chemistry, 167: 131–137.
25. Miguel, M.G., Nunes, S., Dandlen, S.A., Cavaco, A.M. and Antunes, M.D. 2014. Phenols, flavonoids and antioxidant activity of aqueous and methanolic extracts of propolis (*Apis mellifera* L.) from Algarve, South Portugal. Food Science and Technology, 34:16-23.
26. Miyazak, H., Matsuura, H., Yanagiya, C., Mizuntani, J., Tsuji, M. and Ishihara, C. 2003. Inhibitory effects of hyssop (*Hyssopus officinalis*) extracts on intestinal alpha-glucosidase activity and postprandial hyperglycemia. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, 49: 346-349.
27. Ochoa-Velasco, C.E., Valadez-Blanco, R., Salas-Coronado, R., Sustaita-Rivera, F., Hernandez-Carlos, B., Garcia-Ortega, S. and Santos-Sanchez, N.F. 2016. Effect of nitrogen fertilization and *Bacillus licheniformis* biofertilizer addition on the antioxidants compounds and antioxidant activity of greenhouse cultivated tomato fruits (*Solanum lycopersicum* L. var. Sheva). Scientia Horticulturae, 201: 338-345.
28. Pandita, A.K., Saha, M.H. and Bali, A.S. 2000. Effect of row ratio in cereal-legume intercropping systems on productivity and competition functions under Kashmir condition. Indian Journal of Agronomy, 45: 48-53.
29. Salehi, P., Asghari, B., Esmaeili, M.A., Dehghan, H. and Ghazi, I. 2013. α-Glucosidase and α-amylase inhibitory

effect and antioxidant activity of ten plant extracts traditionally used in Iran for diabetes. Journal of Medicinal Plants Research, 7: 257-266.

30. Scalbert, A., Johnson, I.T. and Saltmarsh M. 2005. Polyphenols: antioxidants and beyond. American Journal of Clinical Nutrition, 81: 215–217.
31. Shahidi, F. 2002. Antioxidants in plants and oleaginous seeds. In: Morello MJ, Shahidi F, Ho C-T, editors. Free radicals in food. Chemistry, nutrition, and health effects. ACS Symposium Series 807. Washington DC: American Chemical Society. p 162–175.
32. Vlase, L., Benedec, D., Hanganu, D., Damian, G., Csillag, I., Sevastre, B., Mot, A.C., Silaghi-Dumitrescu, R. and Tilea, I. 2014. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities and phenolic profile for *Hyssopus officinalis, Ocimum basilicum* and *Teucrium chamaedrys*. Molecules, 19: 5490-5507.
33. Wang, N. and Yang, X.W. 2010. Two new flavonoid glycosides from the whole herbs of *Hyssopus officinalis*. Journal of Asian Natural Products Research, 12: 1044-1050.
34. Zengin, G., Sarikurkcu, C., Gunes, E., Uysal, A., Ceylan, R., Uysal, S., Halil, G. and Aktumsek, A. 2015. Two Ganoderma species: profiling of phenolic compounds by HPLC-DAD, antioxidant, antimicrobial and inhibitory activities on key enzymes linked to diabetes mellitus, Alzheimer's disease and skin disorders. Food and Function, 6: 2794-2802.