تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد دوازدهم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۸
۴۸۰-۴۷۱
http://dx.doi.org/10.22077/escs.2018.1374.1292

تأثیر رژیم‌های مختلف آبیاری و محلول‌پاشی کیتوزان بر صفات کیفی و فیزیولوژیکی بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.)

معصومه نعیمی[1*]، محمدصادق دهقانی[2]، ابراهیم غلام‌علی پور علمداری[1]، حمید جباری[3]
۱. استادیار دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، گلستان، ایران.
۲. دانشجوی کارشناسی ارشد رشته آگرواکولوژی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، گلستان، ایران
۳. استادیار پژوهش، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج، البرز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۲۸؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۳/۰۷

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر رژیم آبیاری و محلول‌پاشی کیتوزان بر برخی صفات کیفی و فیزیولوژیک بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.)، پژوهشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۹۴-۱۳۹۳ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه گنبدکاووس اجرا شد. تیمارهای موردبررسی شامل آبیاری پس از ۶۰ (شاهد) و ۱۰۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A (تنش کم‌آبی) و کیتوزان در پنج سطح شامل عدم مصرف کیتوزان (محلول‌پاشی با آب مقطر به‌عنوان تیمار شاهد، محلول‌پاشی با ۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر ۶۰ روز پس از کاشت، محلول‌پاشی با ۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر ۷۵ روز پس از کاشت، محلول‌پاشی با ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر ۶۰ روز پس از کاشت و محلول‌پاشی با ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر ۷۵ روز پس از کاشت بودند. نتایج نشان داد که در شرایط تنش کاربرد سطح دوم کیتوزان و در شرایط رطوبتی معمول، کاربرد سطح سوم کیتوزان منجر به افزایش درصد کامازولن، درصد و عملکرد اسانس گردید. محلول‌پاشی کیتوزان به مقدار ۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر ۶۰ روز پس از کاشت، موجب افزایش فعالیت پراکسیداز، درصد کامازولن و عملکرد اسانس در شرایط تنش گردید. با توجه به اینکه محلول‌پاشی کیتوزان باعث افزایش مقدار متابولیت‌های ثانویه در بابونه آلمانی شد، بنابراین جهت افزایش فراورده‌های با ارزش دارویی در این گیاه، محلول‌پاشی کیتوزان حائز اهمیت است.

واژه‌های کلیدی: **اسانس، پراکسیداز، تنش خشکی، کامازولن، کلروفیل**

مقدمه

تنش خشکی ازجمله تنش‌های محیطی است که علاوه بر کاهش رشد رویشی و تغییر در ساختارهای آناتومیکی گیاه، از طریق ایجاد تنش ثانویه نظیر تنش اکسیداتیو، سبب تغییر در مسیرهای سنتز ترکیبات و متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Sharma et al, 2012). گونه‌های مختلف گیاهان دارویی تحت آبیاری کامل و تنش خشکی واکنش‌های متفاوتی از خود نشان می‌دهند. تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان به‌وسیله عوامل محیطی تغییر می‌یابند و تنش رطوبتی نیز عامل مؤثری در رشد و همچنین سنتز ترکیبات طبیعی گیاهان داروئی است (Baher et al, 2002). گزارش‌های بسیاری اثرات تنش خشکی در کاهش کلروفیل (Abdul Jaleel et al., 2008; Salehi et al., 2004)، افزایش پرولین (Ashraf, 2004; Khajeh and Naderi, 2014)، افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز (Amiri et al., 2016) و کاهش عملکرد اسانس (Omidbeigi et al., 2003) را به اثبات رسانده است.

اثرات نامناسب تنش خشکی بر کاهش عملکرد اسانس در گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) گزارش شده است (Hassani et al, 2002). مطالعه تأثیر تنش خشکی (آبیاری پس از ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۵۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک

* نگارنده پاسخگو: معصومه نعیمی. پست الکترونیک: Naeemi_701@yahoo.com

تبخیر کلاس (A) روی گیاه بابونه آلمانی مشخص کرد که تنش منجر به افزایش پرولین و قندهای محلول و کاهش مقدار کلروفیل در گیاه گردید (Salehi et al., 2004). بررسی سه رژیم مختلف رطوبتی خاک شامل ۴۰، ۶۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه بر ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) نشان داد که بیشترین عملکرد اسانس مربوط به تیمار آبیاری در حالت ۶۰ درصد ظرفیت مزرعه بود و با افزایش سطح تنش، مقدار عملکرد اسانس کاهش یافت (Safikhani et al., 2007). در پژوهشی محققان اثر سطوح مختلف رطوبت خاک (۵۵، ۷۰، ۸۵ و ۱۰۰٪ رطوبت مزرعه‌ای) را بر گیاه دارویی ریحان بررسی کرده و گزارش کردند که با کاهش رطوبت خاک، عملکرد اسانس کاهش و درصد اسانس افزایش یافت (Omidbeigi et al., 2003).

تجمع پرولین در شرایط تنش، بیش از سایر اسیدآمینه‌ها صورت می‌گیرد که می‌تواند در تنظیم اسمزی و احتمالاً حفظ فعالیت آنزیمی گیاه نقش داشته باشد (Ashraf, 2004). روش‌های متعددی برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان وجود دارد که از آن جمله می‌توان به استفاده از محرک‌هایی نظیر کیتوزان اشاره کرد. کیتین ترکیب اصلی دیواره‌های سلولی برخی جانوران ازجمله خانواده خرچنگ مانند میگو، خرچنگ خاردار، حشرات، برخی پاتوژن‌های گیاهی و میکروارگانیسم‌ها را تشکیل می‌دهد و کاربردهای متعدد صنعتی، دارویی و کشاورزی برای آن گزارش شده است (Babel and Kumiawan, 2003). استفاده از کیتوزان به‌عنوان محرک زیستی کارآمد در افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهان زیادی گزارش شده است (Chenge et al., 2006). افزایش مقدار کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها در گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) با کاربرد کیتوزان گزارش شده است (Khajeh and Naderi, 2014). گزارش‌ها بیانگر آن است که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پلی‌فنل‌اکسیداز در ریشه بادمجان (*Solanum melongena* L.) تحت تیمار با کیتوزان افزایش یافته است (Mandal, 2010). در مطالعه‌ای مشاهده شد که کاربرد کیتوزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز را در دو رقم ذرت افزایش داد (Guan et al., 2009). همچنین محققان گزارش کردند که میزان غلظت پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز تحت تأثیر تیمار کیتوزان با غلظت‌های ۰/۰۵ تا ۰/۴ درصد در گیاهچه‌های گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) افزایش یافت (Mahdavi et al., 2011). گروهی از پژوهشگران نیز اظهار داشتند که کاربرد کیتوزان منجر به افزایش ترکیبات فنلی در کتان (*Linum album* L.) شده است (Esmaeizadeh Bahabadi et al., 2012). همچنین گزارش شده است که کیتوزان می‌تواند با کاهش تعرق و حفظ محتوی نسبی آب، باعث ایجاد تحمل به کم‌آبی گردد (Mahdavi et al., 2014).

بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.) یکی از مهم‌ترین و پرکاربردترین گیاهان دارویی شناخته‌شده در جهان است. گل‌های لوله‌ای زردرنگ بابونه حاوی اسانس و ماده مؤثره آن کامازولن است (Zeinali et al., 2008). برای اسانس حاصل از گل‌های بابونه خواص ضدعفونی‌کنندگی، آرام‌بخش، ضداسپاسم، ضد آلرژی و ضد نفخ گزارش شده است. گل‌های این گیاه به دلیل داشتن ترکیبات فلاونوئیدی، دارای اثرات مرطوب‌کنندگی و لطیف‌کنندگی هستند و به همین دلیل در صنایع بهداشتی و آرایشی به‌صورت گسترده‌ای مورداستفاده قرار می‌گیرند (Ebadi et al., 2010).

به دلیل محدودیت منابع آبی در کشور، لزوم یافتن راه‌کارهایی به‌منظور کاهش اثرات خشکی ضروری به نظر می‌رسد. با استناد به گزارش‌های محققین مبنی بر کارایی بالای کیتوزان در کاهش اثرات سوء تنش خشکی (Amiri et al., 2016) و بهبود متابولیت‌های ثانویه (Emami Bistgani et al., 2017) در برخی گیاهان دارویی، ضرورت انجام این تحقیق نمایان می‌گردد. لذا هدف از اجرای پژوهش حاضر، بررسی اثرات محلول‌پاشی کیتوزان در شرایط آبیاری معمول و تنش کم‌آبی بر برخی صفات فیزیولوژیکی، درصد و عملکرد اسانس در گیاه دارویی بابونه آلمانی بود.

مواد و روش‌ها

آزمایش در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبدکاووس با مختصات طول جغرافیایی ۵۵ درجه و ۱۲ دقیقه طول شرقی و ۳۷ درجه و ۱۶ دقیقه عرض شمالی و ارتفاع ۴۵ متر از سطح دریا در سال زراعی ۹۴-۱۳۹۳ اجرا شد. اقلیم گنبدکاووس بر اساس طبقه‌بندی کوپن اقلیم مدیترانه‌ای گرم و نیمه‌خشک بوده و دارای متوسط بارندگی ده‌ساله ۴۵۰ میلی‌متر است. قبل از شروع آزمایش به‌منظور بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک محل

آزمایش، نمونه‌برداری از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متر انجام گردید که نتایج آن در جدول ۱ گزارش شده است.

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. فاکتورهای موردبررسی شامل آبیاری در دو سطح (فواصل آبیاری پس از ۶۰ و ۱۰۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A (به ترتیب شرایط بدون تنش و تنش کم‌آبی)) و محلول‌پاشی کیتوزان در پنج سطح (شامل عدم مصرف کیتوزان (محلول‌پاشی با آب مقطر به‌عنوان تیمار شاهد)، محلول‌پاشی با ۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر ۶۰ روز پس از کاشت، محلول‌پاشی با ۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر ۷۵ روز پس از کاشت، محلول‌پاشی با ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر ۶۰ روز پس از کاشت و محلول‌پاشی با ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر ۷۵ روز پس از کاشت) بودند.

پس از انجام عملیات خاک‌ورزی و پیاده‌سازی نقشه طرح، کرت‌هایی با ابعاد ۱/۵ در سه متر ایجاد و در داخل هر کرت پنج ردیف برای کاشت در نظر گرفته شد. کشت در ردیف‌هایی با فاصله ۳۰ سانتی‌متر و با فاصله بوته پنج سانتی‌متر روی ردیف انجام گرفت. فاصله کرت‌ها از هم یک متر و فاصله بلوک‌ها از یکدیگر به‌منظور جلوگیری از اختلاط تیمارها سه متر در نظر گرفته شد. بذر مورداستفاده از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید. به‌منظور سهولت در کاشت بذرهای ریز بابونه، بذور با نسبت یک به ۱۰ با ماسه‌بادی مخلوط شدند. پس از سبز شدن جهت دستیابی به تراکم مطلوب در مرحله شش برگی اقدام به تنک گیاهان گردید. از مرحله استقرار بوته‌ها تیمارهای آبیاری اعمال شدند. دو هفته پس از محلول-پاشی تیمارهای کیتوزان، نمونه‌برداری موردنیاز از برگ‌های توسعه‌یافته گیاهان هر کرت، با در نظر گرفتن اثرات حاشیه‌ای به‌صورت تصادفی صورت گرفت. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه تا زمان انجام آزمایش‌های مربوط به ارزیابی صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در زمان شروع گلدهی با حذف اثر حاشیه برداشت گل‌ها از خطوط میانی کرت‌ها شروع شد. با توجه به این‌که گل‌های بابونه در یک بازه زمانی چهار تا پنج هفته، ظاهر می‌شوند، برداشت گل‌ها به‌صورت هفتگی صورت گرفت و گل‌ها در سایه خشک شدند. استخراج اسانس توسط دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با بخارآب انجام شد و عملکرد اسانس از حاصل‌ضرب عملکرد گل در درصد اسانس به دست آمد.

اندازه‌گیری مقدار کامازولن بر اساس روش فاماکوپه گیاهی ایران (IHP) صورت گرفت. بدین منظور اسانس حاصل از ۵۰ گرم گل خشک به بالن ژوژه ۱۰ میلی‌لیتری انتقال یافت و با دی کلرومتان به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. جذب این محلول در طول‌موج ۶۰۳ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتری مدل Biochrom libera- S22 قرائت شد و بر اساس رابطه زیر مقدار کامازولن برآورد گردید (IHP).

$$C= [(50 \times 10\times E \times 184.3) / (\varepsilon\times 1000)] \times 100 \quad [۱]$$

در رابطه فوق، C: درصد کامازولن در اسانس، عدد۵۰: وزن گل خشک اسانس‌گیری شده به گرم، عدد ۱۰: حجم نهایی نمونه، عدد ۱۸۴/۳ وزن مولکولی کامازولن، E عدد جذبی قرائت‌شده و ε ثابت جذب مولار کامازولن که برابر ۴۲۰ است.

سنجش محتوای کلروفیل برگ بر اساس روش آرنون (Arnon, 1949) انجام شد و با استفاده از فرمول‌های زیر مقدار کلروفیلa ، b و کل برحسب میلی‌گرم در یک گرم وزن تر محاسبه شد.

$$Chla=[12.7(D663)– 2.69 (D645)] \times V/(1000\times W) \quad [۲]$$

$$ChlT= [20.2(D646)+8.02(D663)]\times V/ (1000\times W) \quad [۳]$$

که در آن D: مقدار جذب نوری قرائت‌شده در طول‌موج مربوطه، V: حجم عصاره و W: وزن نمونه تر بودند.

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکو شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش (عمق ۳۰-۰ سانتی‌متر)

Table 1. Physico-chemical characteristics of soil in the study site (0-30 cm depth)

شن Sand	سیلت Silt	رس Clay	درصد کربن آلی O.C	نیتروژن N	پتاسیم K	فسفر P	اسیدیته pH	هدایت الکتریکی EC
----------(%)----------					-------ppm-------			dS/m
21	64	15	0.68	0.07	356	4.13	7.9	1.19

فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش چنس و مهلی (Chance and Maehly, 1955) و سنجش محتوای پرولین به روش بیتز و همکاران (Bates et al., 1973) اندازه‌گیری شد.

پس از اطمینان از یکنواختی داده‌ها، تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار (SAS, Ver. 9) و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. جدول‌ها با نرم‌افزار Word ترسیم شدند.

نتایج و بحث

تأثیر رژیم آبیاری و کیتوزان بر مقدار کلروفیل

تأثیر رژیم آبیاری بر مقدار کلروفیل a و کلروفیل کل غیر معنی‌دار بود (جدول ۲). به‌طورکلی تأثیر رژیم آبیاری بر محتوای کلروفیل برگ گیاهان بسیار متغیر بوده و گزارش‌های متناقضی در مورد اثر خشکی بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی وجود دارد. گروهی از محققان اظهار داشتند که تنش خشکی محتوای کلروفیل را در گیاه دارویی پروانش (*Catharanthus roseus* L. G. Don) کاهش داد (Abdul Jaleel et al., 2008) و در گزارش دیگری ذکر شده است که تنش خشکی تأثیر مثبتی بر محتوای کلروفیل کاکوتی (*Ziziphora clinopodioides* Lam) داشته است (Koocheki et al., 2008). طی پژوهشی مشخص شد که تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه آویشن دنایی (*Thymus daenensis* Celak) نداشت (Emami Bistgani et al., 2017). گزارش شده است که بروز تنش کم‌آبی در مرحله گلدهی تأثیر معنی‌داری بر میزان کلروفیل کل در گیاه دارویی کدو پوست‌کاغذی (*Cucurbita papeo* L.) نداشت، درحالی‌که اعمال تنش در مرحله میوه‌دهی گیاه منجر به کاهش صفت مذکور گردید (Naeemi et al., 2015). به نظر می‌رسد گیاه بابونه آلمانی توانسته در شرایط تنش با فعال‌سازی سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی و تنظیم اسمزی از تخریب کلروفیل ممانعت و میزان کلروفیل را در واحد سطح حفظ نماید.

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که محلول‌پاشی کیتوزان تأثیر معنی‌داری بر محتوای کلروفیل a و کلروفیل کل در گیاه بابونه آلمانی داشت (جدول ۲). محلول‌پاشی کیتوزان در اغلب سطوح کاربردی منجر به افزایش محتوای کلروفیل گردید که با گزارش‌های موجود (Emami Bistgani et al., 2017) مطابقت داشت.

مقایسه میانگین‌های سطوح مصرفی کیتوزان مشخص کرد که کاربرد سطح چهارم کیتوزان (K4) موجب افزایش به ترتیب ۲۹ و ۲۸ درصدی مقدار کلروفیل a (شکل ۱) و کلروفیل کل نسبت به تیمار عدم مصرف گردید (شکل ۲).

افزایش کلروفیل در شرایط کاربرد کیتوزان، به اثرات مثبت ناشی از افزایش دسترسی به ترکیبات آمینواسیدی آزادشده توسط کیتوزان ارتباط داده شده است (Chibu and Shiayama, 2001). همچنین گزارش شده است که کیتوزان قادر است از طریق تقویت سطوح داخلی سیتوکنین در گیاه که محرک سنتز و تولید کلروفیل است، منجر به افزایش کلروفیل گردد (Farouk et al., 2012). طی پژوهشی مشخص شد که کاربرد کیتوزان محتوای کلروفیل a را در برگ‌های قهوه افزایش داد (Dzung et al., 2011) که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد.

گروهی از پژوهشگران اثر محلول‌پاشی کیتوزان بر مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در آفتابگردان را مورد ارزیابی قرار داده و گزارش کردند محلول‌پاشی کیتوزان منجر به افزایش میزان کلروفیل کل گردید، درحالی‌که تأثیری بر محتوای کلروفیل a و b نداشت (Yadollahi Deh Cheshmeh et al., 2014). گزارش‌های متعددی در مورد تأثیر مثبت کیتوزان بر رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاهانی همچون زنیان (*Carum cupticum* L.) (Khajeh and Naderi 2014)، سویا، بادام‌زمینی و قهوه (Dzung et al., 2011) و باقلا (*Vicia faba* L.) (Sheikha et al., 2009) ارائه شده است. برخی پژوهشگران بر این باور هستند که مصرف کیتوزان با تأثیر روی ژن‌های مسئول سازنده کلروفیل، تولید کلروفیل را افزایش می‌دهد (Heng et al., 2012). گروهی از محققان نیز دریافتند که کیتوزان در افزایش کلروفیل و فتوسنتز نقش دارد و علاوه بر این، اثبات کردند که کیتوزان بیان ژن کلروپلاست برگ را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Limpanavech et al., 2008).

درصد کامازولن

تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان داد که رژیم آبیاری، کیتوزان و برهم‌کنش رژیم آبیاری در کیتوزان تأثیر معنی‌داری (۱ % $\geq$ P) بر درصد کامازولن داشتند (جدول ۲). مقایسه میانگین اثرات متقابل رژیم آبیاری در کیتوزان بیانگر آن است که بیشترین درصد کامازولن (۹/۹۱ درصد) مربوط به سطح دوم کیتوزان (محلول‌پاشی به مقدار ۱۲۵ میلی‌گرم

در لیتر ۶۰ روز پس از کاشت) در شرایط تنش خشکی بود که با تیمار سطح سوم کیتوزان در شرایط آبیاری معمول و تنش در گروه آماری مشابه قرار گرفتند (جدول ۳) که این امر احتمالاً نشان‌دهنده این است که کاربرد سطوح کیتوزان یادشده در افزایش ماده مؤثره گیاه بابونه آلمانی تأثیر قابل‌ملاحظه‌تری نسبت به سایر سطوح مورد ارزیابی داشته است. مشخص شده است که کاربرد کیتوزان به‌عنوان یک محرک گیاهی می‌تواند موجب تحریک سنتز و افزایش قابل‌ملاحظه متابولیت‌های ثانویه در گیاهان گردد (Kang et al., 2004; Sheikha et al., 2009). می‌توان گفت محرک‌هایی مثل کیتوزان ممکن است ژن‌های جدیدی را فعال کنند تا آنزیم‌ها و درنهایت مسیرهای بیوسنتزی مختلفی را راه‌اندازی کنند و باعث تشکیل متابولیت‌های ثانویه شوند. گزارش شده است که کاربرد کیتوزان منجر به افزایش ۱۲ پلی‌فنول در گیاه پونه (*Mentha pulegium* L.) گردید و به نظر می‌رسد افزایش در پلی‌فنول‌ها به علت تحریک آنزیم‌های بیوسنتزی از قبیل فنیل آلانین آمونیالیاز و چالکون سنتتاز پلی‌فنل باشد (Heng et al., 2012). آزمایش دیگری مشخص کرد که کاربرد کیتوزان منجر به افزایش ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه آویشن دنایی گردید (Emami Bistgani et al., 2017). در این تحقیق بین صفات درصد کامازولن و میزان اسانس و عملکرد اسانس همبستگی مثبت و معنی‌داری به ترتیب (۰/۵۱ و ۰/۴۴) وجود داشت (جدول ۴).

فعالیت آنزیم پراکسیداز

تأثیر برهم‌کنش رژیم آبیاری در کیتوزان بر مقدار فعالیت آنزیم پراکسیداز معنی‌دار (P≤1%) بود (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها بیانگر آن است که کاربرد سطح دوم کیتوزان (K2) تحت هر دو رژیم آبیاری منجر به بروز بیشترین مقدار

جدول ۲. تجزیهٔ واریانس اثر رژیم آبیاری و محلول‌پاشی کیتوزان بر برخی ویژگی‌های کیفی و فیزیولوژیک بابونه آلمانی

Table 2. Analysis of variance of some quantitative and physiologic traits of German chamomile affected by irrigation regime and foliar application of chitosan

Source of variation	منابع تغییرات	درجه آزادی df	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل کل Total Chlorophyll	مقدار کامازولن Chamazulene content
Replication	**تکرار**	2	4.971 ns	9.852 ns	1.123**
Irrigation	**آبیاری**	1	0.000ns	0.149ns	18.200**
Chitosan	**کیتوزان**	4	14.898*	25.120*	30.156**
Irrigatin×Chitosan	**آبیاری × کیتوزان**	4	2.318ns	4.381 ns	7.480**
Error	**خطا**	18	4.759	8.150	0.220
C.V (%)	**ضریب تغییرات**		*21.19*	*20.99*	*7.49*

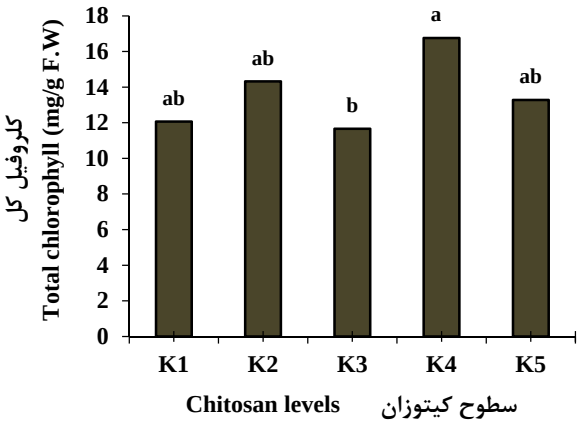
جدول ۲. ادامه

Table 2. Continued

Source of variation	منابع تغییرات	درجه آزادی df	فعالیت پراکسیداز Proxidase activity	محتوای پرولین Prolin content	مقدار اسانس Essential oil content	عملکرد اسانس Essential oil yield
Replication	**تکرار**	2	0.003*	0.056 ns	0.021 ns	225.071*
Irrigation	**آبیاری**	1	0.048**	4.483**	0.000ns	152.242ns
Chitosan	**کیتوزان**	4	0.029**	0.312 **	0.077**	355.791**
Irrigatin×Chitosan	**آبیاری × کیتوزان**	4	0.010**	0.176*	0.075**	282.110**
Error	**خطا**	18	0.001	0.043	0.008	48.977
C.V (%)	**ضریب تغییرات**		*12.77*	*14.13*	*22.17*	*21.44*

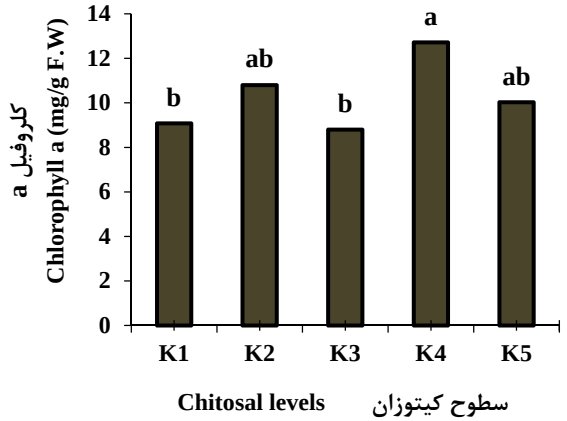
ns، *و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns, *and ** Non-significant and significant at the 5% and 1% levels of probability respectively



شکل ۲. تأثیر سطوح کیتوزان بر محتوای کلروفیل کل. K_1: عدم مصرف کیتوزان (شاهد)؛ K_2: محلول‌پاشی با ۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر ۶۰ روز پس از کاشت؛ K_3: ۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر ۷۵ روز پس از کاشت؛ K_4: ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر ۶۰ روز پس از کاشت؛ K_5: ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر ۷۵ روز پس از کاشت.

Fig. 2. The effect of application of chitosan levels on total chlorophyll content. K_1: Non application of chitosan (Control), K_2: chitosan spraying as 125 mg/L after 60 days of planting, K_3: 125 mg/L after 75 days of planting, K_4: 250 mg/L after 60 days of planting and K_5: 250 mg/L after 75 days of planting.



شکل ۱. تأثیر سطوح کیتوزان بر محتوای کلروفیل a. K_1: عدم مصرف کیتوزان (شاهد)؛ K_2: محلول‌پاشی با ۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر ۶۰ روز پس از کاشت؛ K_3: ۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر ۷۵ روز پس از کاشت؛ K_4: ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر ۶۰ روز پس از کاشت؛ K_5: ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر ۷۵ روز پس از کاشت.

Fig. 1. The effect of application of chitosan levels on chlorophyll a content. K_1: Non application of chitosan (Control), K_2: chitosan spraying as 125 mg/L after 60 days of planting, K_3: 125 mg/L after 75 days of planting, K_4: 250 mg/L after 60 days of planting and K_5: 250 mg/L after 75 days of planting.

فعالیت آنزیم پراکسیداز گردید (جدول ۳). کیتوزان با فعال نمودن تعدادی از آنزیم‌ها نظیر کاتالاز، پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز مقاومت گیاه را در برابر شرایط نامساعد محیطی و تنش‌ها افزایش داده و صدمات ناشی از آن‌ها را کاهش می‌دهد (Amiri et al., 2016). گروهی از پژوهش‌گران گزارش کردند کاربرد کیتوزان باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز گردید (Khajeh and Naderi, 2014) گزارش‌هایی مبنی بر افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز با کاربرد کیتوزان در شرایط تنش خشکی در گیاه زنیان موجود است (Taheri et al., 2017). گروهی از پژوهشگران اظهار داشتند که میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز تحت تأثیر تیمار کیتوزان در گیاهچه‌های گلرنگ افزایش یافت (Mahdavi et al., 2012).

در این تحقیق نیز مشخص شد که محلول‌پاشی کیتوزان منجر به افزایش تجمع پرولین و فعالیت آنزیم پراکسیداز گردید و بین دو صفت همبستگی مثبت مشاهده گردید (جدول ۴). امروزه فعالیت آنتی‌اکسیدانی کیتوزان موردتوجه زیادی قرار گرفته است. همچنین بررسی‌ها تأیید کرده‌اند که کیتوزان ممکن است قابلیتی برای از بین بردن رادیکال‌های آزاد داشته باشد. کیتوزان می‌تواند گروهی از رادیکال‌های OH و O^{2-} را از بین ببرد (Harish et al., 2007). سازوکار خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد کیتوزان ممکن است به ساختار خاص آن مربوط باشد که از شمار زیادی گروه آمین و هیدروکسیل قابل‌دسترس تشکیل‌شده که با رادیکال‌های آزاد (ROS) واکنش نشان می‌دهد (Xie et al., 2001).

محتوای پرولین

نتایج مشخص کرد که اثر برهم‌کنش آبیاری و کیتوزان بر غلظت پرولین معنی‌دار ($P\leq5\%$) بود (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها بیانگر آن است که در شرایط تنش آبی، محلول‌پاشی با غلظت‌ها مختلف کیتوزان موجب افزایش ۱۹ تا ۴۳ درصدی تجمع این اسمولیت نسبت به تیمار شاهد گردید. بیش‌ترین مقدار غلظت پرولین مربوط به تیمار کاربرد سطح دوم کیتوزان تحت شرایط تنش کم‌آبی بود (جدول ۳). پژوهش‌گران گزارش کردند که میزان غلظت پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز تحت تأثیر تیمار کیتوزان در گیاهچه‌های گلرنگ افزایش یافت (Mahdavi et al., 2011). همچنین بررسی تأثیر کیتوزان روی گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) نشان داد که کیتوزان

باعث افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل a، b، کاروتنوئید و محتوای پرولین در این گیاه گردید (Khajeh and Naderi, 2014) که با نتایج ما مطابقت داشت. در این بررسی به نظر می‌رسد کیتوزان با از بین بردن رادیکال‌های آزاد به‌طور مستقیم و یا توسط آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، از اکسیداسیون چربی‌ها جلوگیری نموده و همین امر افزایش پرولین در گیاه را به دنبال داشته است (Mahdavi et al., 2012). گزارش شده است که کیتوزان منجر به افزایش غلظت پرولین در آویشن دنایی در معرض تنش خشکی گردید (Emami Bistgani et al., 2017).

درصد و عملکرد اسانس

نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش نشان داد برهم‌کنش رژیم آبیاری در کیتوزان تأثیر معنی‌داری (P≤1%) بر درصد و عملکرد اسانس گیاه بابونه آلمانی داشتند (جدول ۲). در شرایط آبیاری معمول، کاربرد سطح سوم تیمار محلول‌پاشی کیتوزان منجر به افزایش معنی‌دار درصد اسانس بابونه نسبت به تیمار شاهد گردید (جدول ۳). همچنین درصد اسانس به‌صورت معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای محلول‌پاشی کیتوزان در شرایط کم‌آبی قرار گرفت. بررسی نتایج نشان داد که کاربرد سطح دوم کیتوزان در شرایط تنش، منجر به افزایش ۵۱ درصدی مقدار اسانس نسبت به تیمار شاهد گردید و حائز رتبه برتر در جدول مقایسات میانگین‌های اثرات متقابل گردید (جدول ۳). گروهی از پژوهشگران گزارش کردند که کاربرد کیتوزان در شرایط تنش خشکی منجر به افزایش درصد و عملکرد اسانس در گیاه دارویی آویشن دنایی گردید و دلیل آن را نقش کیتوزان در فعال‌سازی ژن‌های جدید و مسیرهای بیوسنتزی مختلف در جهت تولید متابولیت‌های ثانویه برشمردند (Emami Bistgani et al., 2017). کم‌ترین مقدار عملکرد اسانس نیز به تیمار عدم کاربرد کیتوزان در شرایط تنش (۱/۶۶ کیلوگرم در هکتار) تعلق داشت (جدول ۳). در شرایط تنش خشکی عملکرد گیاهان کاهش و معمولاً مقدار اسانس و متابولیت‌های ثانویه افزایش می‌یابد. با توجه به اینکه عملکرد اسانس تا حد زیادی تابع تغییرات عملکرد گیاه است، به نظر می‌رسد دلیل کاهش عملکرد اسانس بابونه آلمانی در این آزمایش، کاهش عملکرد گل در شرایط کم‌آبی (نتایج ارائه نشده است) بوده است. کاهش عملکرد اسانس در واحد سطح و افزایش درصد اسانس تحت تأثیر تنش رطوبتی در گیاه ریحان توسط محققان گزارش شده است (Omidbeigi et al., 2003).

جدول ۳. مقایسه میانگین‌های صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بابونه آلمانی تحت تأثیر برهمکنش آبیاری و محلول‌پاشی کیتوزان

Table 3. Means comparison of physiological and biochemical traits of German chamomile affected by irrigation and foliar application of chitosan

Treatments تیمارها						
رژیم آبیاری Irrigation regims	کیتوزان Chitosan§	فعالیت پراکسیداز Proxidase activity (U/mg protein)	کامازولن Chamazulene (%)	پرولین Prolin (µmol/g F.W)	درصد اسانس Essential oil content (%)	عملکرد اسانس Essential oil yield (Kg/ha)
آبیاری معمول Normal irrigation	K_1	0.17 b	4.44 c	1.15 cd	0.41 b	2.12 bc
	K_2	0.35 a	5.28 b	1.07 d	0.44 b	3.14 ab
	K_3	0.18 b	9.76 a	0.97 d	0.55 a	3.63 a
	K_4	0.19 b	4.33 c	0.90 d	0.21 c	1.79 c
	K_5	0.13 b	3.57 d	0.96 d	0.47 ab	2.88 abc
تنش کم‌آبی Water deficit stress	K_1	0.31 ab	3.91 d	1.39 c	0.37 b	1.66 b
	K_2	0.40 a	9.91 a	2.43 a	0.74 a	4.40 a
	K_3	0.23 c	9.11 a	1.77 b	0.28 b	1.67 b
	K_4	0.31 ab	7.04 b	1.61 b	0.34 b	2.20 b
	K_5	0.27 bc	5.19 c	1.72 b	0.32 b	1.67 b

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ دارای تفاوت معنی‌داری نیستند.

§ K_1: عدم مصرف کیتوزان (شاهد)، K_2: محلول‌پاشی با ۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر ۶۰ روز پس از کاشت، K_3: ۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر ۷۵ روز پس از کاشت، K_4: ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر ۶۰ روز پس از کاشت و K_5: ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر ۷۵ روز پس از کاشت.

In each column, means with at least one similar letter are not significantly different (P≤0.05) based on LSD test.

§ K_1: Non application of chitosan (Control), K_2: chitosan spraying as 125 mg/L after 60 days of planting, K_3: 125 mg/L after 75 days of planting, K_4: 250 mg/L after 60 days of planting and K_5: 250 mg/L after 75 days of planting.

جدول ۴. ضرایب همبستگی میان صفات مورد ارزیابی در بابونه آلمانی

Table 4. Correlation indexes between evaluated traits in German chamomile

			1	2	3	4	5	6	7
1	کلروفیل a Chlorophyll a	آبیاری معمول Normal irrigation	1						
		تنش کم‌آبی Water deficit stress							
2	کلروفیل کل Total Chlorophyll	آبیاری معمول Normal irrigation	0.99**	1					
		تنش کم‌آبی Water deficit stress	0.99**						
3	محتوای پرولین Prolin content	آبیاری معمول Normal irrigation	-0.25	-0.24	1				
		تنش کم‌آبی Water deficit stress	-0.38	-0.37					
4	آنزیم پراکسیداز Proxidase enzyme	آبیاری معمول Normal irrigation	0.22	0.20	0.10	1			
		تنش کم‌آبی Water deficit stress	0.21	0.24	-.023				
5	درصد اسانس Essential oil content	آبیاری معمول Normal irrigation	-0.63*	-0.65**	-0.15	0.05	1		
		تنش کم‌آبی Water deficit stress	0.07	0.03	-0.31	0.51			
6	مقدار کامازولن Chamazulene content	آبیاری معمول Normal irrigation	-0.45	-0.48	-0.09	0.04	0.54*	1	
		تنش کم‌آبی Water deficit stress	0.19	0.21	-0.63*	0.08	0.40		
7	عملکرد اسانس Essential oil yield	آبیاری معمول Normal irrigation	-0.62*	-0.63*	-0.32	0.13	0.61*	0.40	1
		تنش کم‌آبی Water deficit stress	0.20	0.22	-0.45	0.47	0.52*	0.51*	

در پژوهش حاضر بین صفات مقدار کلروفیل a و کلروفیل کل همبستگی مثبت و بسیار معنی‌داری وجود داشت (r=۰/۹۹). همچنین بین صفات درصد و عملکرد اسانس در شرایط آبیاری معمول و تنش کم‌آبی همبستگی مثبت و معنی‌داری (به ترتیب r=۰/۶۱ و r=۰/۵۲) مشاهده گردید (جدول ۴).

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس یافته‌های این آزمایش می‌توان کاربرد کیتوزان به مقدار ۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر ۷۵ روز پس از کاشت (مرحله غنچه‌دهی) در شرایط تنش و همچنین محلول‌پاشی کیتوزان به مقدار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر ۶۰ روز پس از کاشت (مرحله ساقه‌دهی) در شرایط رطوبتی بهینه را به‌عنوان بهترین تیمارها ازنظر حصول بیشترین مقدار کامازولن به‌عنوان مهم‌ترین ماده مؤثره بابونه و همچنین تولید بالاترین مقدار عملکرد اسانس در گیاه بابونه معرفی نمود. با توجه به گزارش‌های موجود می‌توان از اثرات مثبت کیتوزان به‌عنوان یک محرک زیستی کارآمد جهت بهبود بیوسنتز ماده مؤثره و دیگر متابولیت‌های ثانویه تحت رژیم‌های مختلف رطوبتی در تولید گیاهان دارویی بهره برد که به نظر می‌رسد این امر گامی باارزش در جهت مهندسی متابولیت و تولید داروهای گیاهی است.

منابع

Abdul Jaleel, P., Manivannan, G.M.A., Lakshmanan, M., Gomathinayagam, R., Panneerselvam, R., 2008. Alterations in morphological parameters and photosynthetic pigment responses of Catharanthus roseus under soil water deficits. Colloids and surfaces B: Biointerfaces. 61, 298- 309.

Amiri, A., Yadollahi, P., Asgharipour, M.R., Esmaeilzadeh Behabadi, S., 2016. Effect of drought stress and spraying of salicylic acid and chitosan on photosynthetic pigments and antioxidant enzymes in safflower. Crop Improvement (Agricultural Crop Production). 18(2), 453-466. [In Persian with English Summary].

Arnon, D.I, 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta vulgaris. Plant physiology. 24(1), 1-15.

Ashraf, M, 2004. Some important physiological criteria for salt tolerance in plants. Flora. 199, 361-376.

Babel, S., Kurniawan, T.A., 2003. Low-cost adsorbents for heavy metals uptake from contaminated water: a review. Hazardous Materials. 97, 219-243.

Baher, Z.F, Mirza M., Ghorbani, M., Rezaii, M.B., 2002. The influence of water stress on plant height, herbal and essential oil yield and composition in *Satureja hortensis* L. Flavor and Fragrance. 17, 275-277.

Bates, L.S., Waldern, R.P., Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil. 39 (1), 205-207.

Chance, B., Maehly, C., 1955. Assay of Catalases and Peroxidases, In: Colowick, S.P., Kaplan, N.O. (Eds.), Methods in Enzymology Academic Press. 380 p.

Cheng, X, Zhou, U., Cui, X., 2006. Improvement of phenylethanoid glycosides biosynthesis in Cistanchede serticolacell suspension cultures by chitosan elicitor. Biotechnology. 121, 253-260.

Committee IHP. 2002. Iranian Herbal Pharmacopoeia, 2, 99-107 [In Persian].

Chibu, H., Shibayama, H., 2001. Effects of chitosan applications on the growth of several crops. In: Uragami Kurita, K., Fukamizo, T. (eds.), Chitin and Chitosan in Life Science. Yamaguchi. Pp. 235–239.

Dzung, N.A., Khanh, V.T.P., Dzung, T.T., 2011. Research on impact of chitosan oligomers on biophysical characteristics, growth, development and drought resistance of coffee, Carbohydrate Polymer. 84, 751–755.

Ebadi, M., Azizi, M., Omidbeigi, R., Hassanzadeh Khayyat, M., 2010. Effect of sowing date and harvest frequency on flower yield, essential oil percent and composition of chamomile (*Matricaria recutita* L.) CV. Presov. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 26(2), 213-226. [In Persian with English Summary].

Emami Bistgani, Z., Siadat, S.A., Bakhshandeh, A., Ghasemi Pirbalouti, A., Hashemi, M., 2017. Interactive effects of drought stress and chitosan application on physiological characteristics and essential oil yield of *Thymus daenensis* Celak. The Crop Journals. 5 (5), 407-415.

Esmaeilzadeh Bahabadi, S., Sharifi, S, Safaie M.N., Behmanesh, M., 2012. Enhancement of lignin and phenylpropanoid compounds production by chitosan in *Linum album* cell culture. Plant Biology. 11, 13-26.

Guan, Y.J.J., Hu, X., Wang, J., Shao, C.X., 2009. Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. Plant Science. 10, 427-433.

Heng, Y., Xavier, C., Lars, F., Chritensen, P., Kai, G., 2012. Chitosan oligosaccharides promote the content of polyphenol in Greek Oregano (*Origanum vulgare* ssp. *Hirtum*). Journal of Agriculture and Food Chemistry. 60, 136-143.

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

Khajeh, H., Naderi, S., 2014. The effect of chitosan on some antioxidant enzyme activity and biochemical traits of Melissa. Journal of Crop Science in Dry Areas. 1, 100-116. [In Persian with English Summary].

Koocheki, A, Nassiri-Mahallati, M., Azizi, G., 2008. Effect of drought, salinity, and defoliation on growth characteristics of some medicinal plants of Iran. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants. 37–53.

Limpanavech, P., Chaiyasuta, S., Vongpromek, R., Pichyangkura, R., Khunwasi, C., Chadchanwan, S., Lotrakul, P., Bunjongrat, R., Chaidee, A., Bangyeekhun, T., 2008. Effect of chitosan on floral production, gene expression and anatomical changes in the Dendrobium orchid. Science Horticulture. 116, 65–72.

Mahdavi, B., Modarres Sanavy, S.A.M., Aghaalikhani, M., Sharifi, M., 2012. Effect of water stress and chitosan on germination and proline of seedling in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Crop Improvement. 25, 728-741.

Mahdavi, B., Modarres Sanavy, S.A.M., Aghaalikhani, M., Sharif, M., Dolatabadian, A., 2011. On the growth of soybean. In: Advances in Chitin Science (eds. Suchiva, V. K., Chandrkrachang, S., Methacanon, P., Peter, M.G., Bangkok, Thailand, pp. 463–467.

Mandal, S., 2010. Induction of phenolics, lignin and key defense enzymes in eggplant (*Solanum melongena* L.) roots in response to elicitors. Biotechnology. 9, 8038-8047.

Naeemi, M., Akbari, G.H. A., Shiranirad, A.H., Hasanlou, T., Akbari, G.H., Amirinejad, M., 2015. Crop Improvement (Journal of Agricultural Crop production). 17(3), 635-647. [In Persian with English Summary].

Omidbaigi, R., Hassani, A., Sefidkon, F., 2003. Essential oil content and composition of sweetbasil (*Ocimum basilicum* L.) at different irrigation regimes. Essential Oil Bearing Plants. 6(2), 104 108.

Safikhani, F., Heidari sharif abad, M., Siadat, S.A., Sarifi Ashoorabadi, A., Seydnejad, S.M, Abbaszadeh, B., 2007. Effect of drought stress on percentage and yield of essential oil and physiological characteristics of *Deracocephalum moldavica* L. Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants. 23 (1), 86-99. [In Persian with English Summary].

Salehi, M., Koochaki, A., Nasiri Mahalati, M., 2004. Nitrogen and chlorophyll levels as an indicator of drought stress in wheat. Iranian J. Field Crop Research. 1(2), 199-205. [In Persian with English summary].

Sharma, P., Jha, A., Dubey, R., Pessarakli, M., 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. Journal of Botany. 14, 1-26.

Sheikha, S.A.A.K., AL-Malki, F.M., 2009. Growth and chlorophyll Responses of Bean Plants to the Chitosan Applications. European Journal of Scientific Research. 50,124-134.

Taheri, F., Dahmardeh, M., Salati, M., Bagheri, R., 2017. Evaluation of different levels of chitosan on antioxidant enzymes in ajwain (*Carum capticum* L.) under drought stress condition. Iranian Journal of Horticultural Science. 48(3), 575-584.

Xie, W., Xu, P., Liu, Q., 2001. Antioxidant activity of water-soluble chitosan derivatives. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 11, 1699-1701.

Yadollahi Dehcheshmeh, P., Bagheri, A., Amiri, A., Esmaeilzadeh Behabadi, S., 2014. The effect of drought stress and chitosan foliar application on yield and photosynthetic pigments in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Crop Physiology Journal. 21(6), 73-83. [In Persian with English Summary].

Yordanov, I., Velikova, V., Tsonev, T., 2003. Plant responses to drought and stress tolerance.Bulgarian Journal of Plant Physiology. Special Issue, 187-206.

Zeinali, H., Khoulanjani, M.B., Golparvar, A.R., Jafarpour, M., Shiranirad, A.H., 2008. Effect of different planting time and nitrogen fertilizer rates on flower yield and its components in German chamomile (*Matricaria recutita*). Crop Science. 10, 220-230.