



Effects of vermicompost and cow manure on physiological characteristics of marigold (*Calendula officinalis* L.) in Rasht region

Bakhshi Davood^{1*}, Ostad Malekroody Reyhaneh², Majidian Majid³

¹Associate Professor, Dept. of Horticultural Science, Faculty of Agricultural Sciences, Guilan University, Rasht, Iran

²M.Sc., Dept. of Horticultural Science, Faculty of Agricultural Sciences, Guilan University, Rasht, Iran

³Associate Professor, Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, Guilan University, Rasht, Iran

ABSTRACT INFO

Research Paper

Received: 14 May 2023

Accepted: 09 Apr 2024

ABSTRACT

Calendula officinalis L., commonly known as Marigold, is an herbaceous annual plant belonging to the Asteraceae family. It is renowned as both a medicinal and ornamental plant, cultivated extensively for the extraction of its beneficial compounds found in its petals, for use in phytotherapy, as well as for various ornamental purposes. The present study was conducted in the form of a randomized complete block design (RCBD) with three replications and 11 treatments in the year 1398. The utilized fertilizers included decomposed cow manure, vermicompost, and a combination of the two as a composite fertilizer. No chemical fertilizers were used as negative controls, while 130 kilograms of urea per hectare served as the positive control. The physiological traits of the flowers were examined during the full bloom stage. The results demonstrated significant effects of cow manure, vermicompost, and the composite fertilizer on chlorophyll a, b, and total chlorophyll content, flavonoids, total phenols, antioxidant capacity, and carotenoid content. The highest levels of chlorophyll a (0.76 mg/g leaf weight), chlorophyll b (1.45 mg/g leaf weight), and total chlorophyll (7.35 mg/g leaf weight) were obtained in the treatment of 15 kilograms of cow manure and vermicompost. Additionally, the maximum carotenoid content (31.298 mg/g dry weight) was observed in the treatment of 30 kilograms of cow manure. The highest levels of flavonoids (0.365 mg/g dry weight), total phenols (0.453 mg/g dry weight), and antioxidant capacity (70.30% DPPH) were recorded in the treatment of 10 kilograms of cow manure and vermicompost. The minimum values of the mentioned traits were registered in the negative control. Overall, vermicompost and cow manure had a positive impact on the production of *Calendula* flowers and can be of economic importance.

Key words: Antioxidant, Carotenoids, Flavonoids, Medicinal plants, Phenols.

How to cite this article:

Bakhshi D, Ostad Malekroody R, Majidian M. 2025. Effects of vermicompost and cow manure on physiological characteristics of marigold (*Calendula officinalis* L.) in Rasht region. Journal of Advanced Researches in Medicinal Plants 2 (1): 37-48. (In Farsi)

DOI: 10.30479/ARMP.2024.18777.1014

©The Author(s).
Publisher: Imam Khomeini International University
ARMP is an open access journal under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

*Corresponding Author Email: bakhshi-d@guilan.ac.ir



تأثیر ورمی کمپوست و کود گاوی بر خصوصیات فیزیولوژیکی گل همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) در منطقه رشت

داود بخشی^{۱*}، ریحانه استاد ملکردی^۲، مجید مجیدیان^۳

^۱دانشیار، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت

^۲کارشناسی ارشد، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت

^۳دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت

اطلاعات مقاله	چکیده
علمی-پژوهشی	همیشه بهار (<i>Calendula officinalis</i> L.) گیاهی علفی و یکساله از تیره کاسنی (Asteraceae) است. این گونه یکی از مشهورترین گیاهان دارویی و زینتی است که برای استخراج مواد مؤثر در گلبرگ‌ها و استفاده از آن در phytotherapy و نیز برای کاربردهای زینتی به طور گسترده کشت می‌شود. این مطالعه در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی (RCBD) با سه تکرار و ۱۱ تیمار در سال ۱۳۹۸ انجام شد. کودهای مورد استفاده شامل کود گاوی پوسیده، ورمی کمپوست و ترکیبی از آنها به عنوان کود ترکیبی بود. برای شاهد منفی از کود شیمیایی استفاده نشد و ۱۳۰ کیلوگرم در هکتار اوره به عنوان شاهد مثبت استفاده شد. در مرحله گلدهی کامل، ویژگی‌های فیزیولوژیکی گل مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که کاربرد کود گاوی، ورمی کمپوست و کود ترکیبی بر کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل، فلاونوئیدها، فنل کل، ظرفیت آنتی اکسیدانی و محتوای کاروتنوئید معنی دار بود. بیشترین مقدار کلروفیل a (۶۰۷ میلی گرم بر گرم)، کلروفیل b (۱۰۴۵ میلی گرم بر گرم) و کلروفیل کل (۷۳۵ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) در تیمار ترکیبی ۷۰۵+۱۵ کیلوگرم کود گاوی و ورمی کمپوست به دست آمد. همچنین بیشترین میزان کاروتنوئید (۲۹۸۳۱ میلی گرم بر گرم وزن خشک) در تیمار ۳۰ کیلوگرم کود گاوی مشاهده شد. بیشترین میزان فلاونوئیدها (۰۳۶۵ میلی گرم بر گرم وزن خشک)، فنل کل (۰۴۵۳ میلی گرم بر گرم وزن خشک) و ظرفیت آنتی اکسیدانی (۰۷۰۳ درصد DPPH) در تیمار ترکیبی ۵+۱۰ کیلوگرم کود گاوی و ورمی کمپوست مشاهده شد. کمترین ویژگی‌های ذکر شده در کنترل منفی ثبت شد. در مجموع، کاربرد ورمی کمپوست و کود گاوی بر تولید گل همیشه بهار تأثیر مثبت دارد و می‌تواند از نظر اقتصادی دارای اهمیت باشند.
دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۲۴	کلمات کلیدی: آنتی اکسیدان، فلاونوئیدها، فنل، کاروتنوئیدها، گیاهان دارویی.
پذیرش: ۱۴۰۳/۰۱/۲۱	

استناد به این مقاله

Bakhshi D, Ostad Malekroody R, Majidian M. 2025. Effects of vermicompost and cow manure on physiological characteristics of marigold (*Calendula officinalis* L.) in Rasht region. Journal of Advanced Researches in Medicinal Plants 2 (1): 37-48. (In Farsi)

DOI: 10.30479/ARMP.2024.18777.1014

حق مؤلف © نویسندگان
ناشر: دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)

*نشانی پست الکترونیکی نویسنده مسئول: bakhshi-d@guilan.ac.ir

مقدمه

مطالعه‌ای در WHO (سازمان بهداشت جهانی) نشان داده است که ۸۰ درصد از جمعیت جهان به داروهای گیاهی وابسته هستند. خوشبختانه در دهه اخیر احیای علاقه در کشورهای توسعه‌یافته به داروهای گیاهی، آن‌ها را مجبور کرده است که قوانین مربوط به استفاده از داروهای گیاهی را مورد بازنگری قرار دهند (Baser, 1999). جمع‌آوری مواد خام از طبیعت، راهی اقتصادی به نظر می‌رسد؛ اما معایبی نیز برای آن وجود دارد. گیاهان جمع‌آوری شده از طبیعت ممکن است حاوی علف‌های هرز باشد که اغلب به‌سختی می‌توان آن‌ها را از گیاه اصلی جدا کرد. به‌طور خلاصه، کشت گیاهان دارویی و معطر می‌تواند ثباتی را برای صنایع مرتبط، بازارها و تقاضای رو به رشد جمعیت به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه فراهم کند (Roersch, 1999). *Calendula officinalis* یکی از اعضای خانواده Asteraceae است که معمولاً به نام گل همیشه‌بهار شناخته می‌شود و گیاهی یک‌ساله یا چندساله بومی اروپای جنوبی است. این گیاه، گل‌های مرکب زرد یا نارنجی تولید می‌کند و برای اهداف درمانی و زینتی در سراسر جهان استفاده می‌شود (Martin and Deo, 1999). از گل‌ها و برگ‌های همیشه‌بهار، چندین ترکیب استخراج شده است از جمله ترکیبات فنلی (کوئرستین، روتین، ایزورامنتین و کامفرول، ساپونین‌های تری ترپن، الکل‌های تری ترپن، استرهای تری ترپن، کومارین‌ها، کارتنوئیدها، اسید مالیک، استرول‌ها، کلروژن‌ها، روتین، کوئرستین)، اسانس و هیدروکسی کومارین (Hamburger et al., 2003; Fernandes et al., 2013). این گیاه برای درمان بیماری‌های معده، روده، التهاب، ناراحتی‌های پوستی و درد کاربرد دارد. همچنین خاصیت باکتری‌کشی و ضد عفونی‌کننده داشته و در صنایع آرایشی و بهداشتی نیز استفاده می‌شود. رنگدانه گل همیشه‌بهار به‌عنوان رنگ‌کننده طبیعی غذا استفاده می‌شود. علاوه بر این، روغن بذر آن، کاربرد دارویی و صنعتی دارد (Dinda and Craker, 1998; Bernath, 2000). روغن کالندولا بر درمان ویروس HIV تأثیر مثبتی دارد (Kalvatcev et al., 1997).

استفاده از کود آلی، مواد مغذی مهم زیادی را در خاک آزاد، و میکروارگانیسم‌های خاک را تغذیه می‌کند که به سهم خود به‌طور پیوسته و آهسته مواد معدنی را در دسترس گیاهان قرار می‌دهد (Hynes, 2007). مواد آلی، ویژگی‌های فیزیکی خاک را بهبود می‌بخشند که این امر با افزایش ظرفیت نگهداری آب، بهبود نفوذپذیری خاک، تسهیل ریشه‌زایی گیاه و کاهش

فرسایش خاک، مشهود است (Allison, 1973). زمانی که ضایعات آلی با کیفیت قابل قبول به‌صورت منظم به خاک‌های کشاورزی بازگردانده می‌شود به حفظ حاصلخیزی و بهره‌وری خاک کمک می‌کند و نیاز به کود معدنی را کاهش می‌دهد (Parr and Colacicco, 1987). استفاده از ورمی‌کمپوست در سال‌های اخیر رو به افزایش بوده است. استفاده از این گونه کودهای آلی به افزایش بهره‌وری و عملکرد محصول و بهبود ساختار خاک، حاصلخیزی (Follet et al., 1981)، افزایش جمعیت و فعالیت میکروبی خاک و همچنین ظرفیت نگهداری رطوبت خاک منجر می‌شود (Zink and Allen, 1998). مطالعات گلخانه‌ای و مزرعه‌ای اثر ورمی‌کمپوست را بر غلات و حبوبات، سبزیجات و محصولات زراعی بررسی کرده‌اند (Chan and Griffiths, 1988; Peyvast et al., 2008). بهبود ساختار خاک و افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی از دیگر خصوصیات مثبت این کود زیستی است (Ndegwa and Thompson, 2001). ورمی‌کمپوست بیشتر مواد مغذی اصلی را حفظ می‌کند و سطوح آلاینده‌های آلی را کاهش می‌دهد (Ndegwa et al., 2000). کاربرد کودهای آلی و زیستی مانند ورمی‌کمپوست در سیستم‌های کشاورزی پایدار ضمن بهبود ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک در باروری پایدار خاک نقش مهمی ایفا می‌کنند و کمیت و کیفیت محصول را به‌ویژه در تولید گیاهان دارویی افزایش می‌دهند (Rezvani Moghaddam et al., 2015). آزمایش‌های اخیر نشان داده است که ورمی‌کمپوست شامل مواد تنظیم‌کننده رشد گیاه مانند هورمون‌های رشد گیاه و اسید هیومیک است که ترکیبات مؤثری برای افزایش جوانه‌زنی، رشد و عملکرد گیاهان می‌باشند (Atiyeh et al., 2002). همچنین، ورمی‌کمپوست منبع خوبی از عناصر غذایی لازم برای رشد گیاهان است که تا حدی نیتروژن، کربن و مواد معدنی مورد نیاز رشد گیاه را تأمین و سبب رشد بهتر و مقابله با بیماری‌ها می‌شود (Salehi Sardoei, 2014). کود گاوی نه تنها زباله کشاورزی است، بلکه یک منبع کود آلی نیز به‌شمار می‌رود. استفاده از کود آلی، روشی عملی برای کاهش تخریب خاک ناشی از استفاده بیش از حد از کودهای شیمیایی است که می‌تواند بر تنوع باکتریایی و ترکیب خاک تأثیر بگذارد (Zhang et al., 2020). کود آلی با فراهم کردن مواد آلی و مواد مغذی در بهبود خاک نقش مهمی ایفا می‌کند (Xiong et al., 2017) و می‌تواند سبب بهبود حاصلخیزی خاک و انباشت کربن شود که عاملی کلیدی در تعیین ویژگی‌ها و بهره‌وری خاک است (Wang and Lin, 2002). بنابراین این مطالعه به‌منظور بررسی

طرح آزمایشی و کشت بذر

به منظور آماده‌سازی محل آزمایش، شخم نیمه‌عمیق توسط گاوآهن انجام شد؛ سپس در اواخر تابستان ۱۳۹۸، زمین دو بار برای نرم شدن خاک چنگک زده شد. در ۲۰ مهر ۱۳۹۸، پس از تسطیح و تقسیم زمین، کرت‌بندی با ابعاد ۲٫۵×۲ متر انجام، و در هر کرت چهار ردیف بذر کاشته شد. فاصله کرت‌ها یک متر و فاصله بین دو بلوک دو متر بود. پس از توزین، کودها تا عمق ۳۰ سانتی‌متر با خاک مخلوط شد. پس از چند روز بذر گل همیشه‌بهار خریداری شده از پاکان بذر اصفهان با عمق حدود پنج سانتی‌متر در کرت‌هایی با تراکم مشخص به فاصله ۴۰ سانتی‌متر بین ردیف و ۲۰ سانتی‌متر روی ردیف کاشته شد. مزرعه بلافاصله پس از کاشت آبیاری گردید. کود نیتروژن (نوع اوره) به‌عنوان تیمار شاهد مثبت سه بار یعنی زمان کشت، سه هفته پس از کاشت (دوره رشد سریع نشاها) و شروع گلدهی اعمال شد. این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۱ تیمار و سه تکرار اجرا گردید. تیمارها شامل کود گاوی پوسیده (CM)، ورمی کمپوست (VC) و مخلوطی از آنها به‌عنوان کود ترکیبی (C) بود. تیمارهای کود گاوی و ورمی کمپوست به ترتیب در سه سطح ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۱۰، ۱۵، ۵ تن در هکتار استفاده شد. همچنین از ۵، ۱۰ و ۱۵ تن کود گاوی در هکتار و ۲/۵، ۵

اثر سطوح مختلف کود گاوی، ورمی کمپوست و کود ترکیبی بر ترکیبات گیاه همیشه‌بهار انجام شد. امروزه آلودگی منابع آب و خاک در اثر مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی، نگرانی بزرگی است؛ در نتیجه، تغییر به سمت استفاده از کودهای آلی به‌عنوان جایگزینی برای کودهای شیمیایی، راهی برای حمایت از کشاورزی پایدار است.

مواد و روش‌ها

ویژگی‌های جغرافیایی و اقلیمی

این آزمایش به منظور بررسی اثر ورمی کمپوست و کود گاوی بر مواد مؤثر گل همیشه‌بهار از مهر ۱۳۹۸ تا اردیبهشت ۱۳۹۹ در دانشگاه گیلان انجام شد. ویژگی جغرافیایی منطقه آزمایشی در جدول ۱ ارائه شده است.

تجزیه و تحلیل خاک

قبل از اجرای طرح آزمایشی، نمونه‌های خاک جمع‌آوری شده از قسمت‌های مختلف مزرعه آزمایشی از عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متری مخلوط، و برای تعیین ویژگی‌های خاک به آزمایشگاه خاک دانشگاه گیلان منتقل شد (جدول ۲). علاوه بر این، ویژگی‌های کود گاوی و ورمی کمپوست نیز مطابق جدول ۳ تعیین شد.

جدول ۱- مشخصات جغرافیایی و اقلیمی سایت آزمایشی

جهت باد غالب	تعداد روزهای یخبندان	میانگین حداکثر دما (°C)	میانگین حداقل دما (°C)	میانگین دمای سالانه (°C)	میانگین بارندگی سالانه (mm)	ارتفاع از سطح دریا (m)	طول جغرافیایی (درجه شرقی)	عرض جغرافیایی (درجه شمالی)
غرب	۲۵	۲۰٫۶	۹٫۳	۱۵٫۹	۱۳۵۹	۷	۴۹٫۳	۳۷٫۲

جدول ۲- ویژگی‌های خاک محل آزمایش، قبل از اجرای طرح

بافت خاک	pH	EC (ds/m)	کربن آلی (%)	نیتروژن (%)	فسفر (ppm)	پتاسیم (ppm)
لومی	۶٫۸	۱	۲٫۸	۰٫۲	۱۳	۲۵۰

جدول ۳- درصد عناصر کودهای آلی مورد استفاده در آزمایش

نوع کود	کربن آلی (%)	N (%)	P (%)	K (%)	Mg (%)	Cl (%)	رطوبت (%)	Zn (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	pH	Ec (ds/m)
کود گاوی	۲۰	۱٫۵	۰٫۷	۰٫۳	۰٫۵	۱٫۵	۳۲	۱۰۹٫۳	۵۶٫۶	۲۴۷٫۶	۸٫۲	۱۲٫۵
ورمی کمپوست	۳۰	۲٫۸	۱٫۷	۱٫۹	۰٫۹	۱۳٫۲	۳۰	۹۵۰	۳۵۵	۳۶۸٫۲	۷٫۵	۵٫۸

$V =$ حجم عصاره تصفیه شده (ml)

$W =$ وزن تازه نمونه (g) است.

تهیه عصاره متانولی فنل، فلاونوئید و آنتی اکسیدان

عصاره‌گیری گل همیشه‌بهار طبق پژوهش بخشی و آراکاو (۲۰۰۶) صورت گرفت. گل‌ها برای ارزیابی فنل کل، فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، عصاره‌گیری و سپس یک گرم گل خشک با استفاده از نیتروژن مایع در هاون به پودر نرم تبدیل شد. شش میلی‌لیتر حلال استخراج متانول اسیدی حاوی ۸۵ درصد متانول و ۱۵ درصد اسید استیک به نمونه اضافه، و پس از اختلاط اجزاء، نمونه‌ها به مدت یک شب در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. فاز مایع نمونه‌ها به یک لوله آزمایش منتقل، و با استفاده از Eppendorf 5417 R در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع رویی نمونه‌ها به میکروتیوب منتقل شد و در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد برای آزمایش‌های بعدی قرار گرفت.

تعیین محتوای فنل کل

محتوای فنلی کل (TPC) عصاره متانولی گل‌ها با استفاده از روش Folin-Ciocalteu (FC) همانطور که توسط Slinkard and Singleton (1977) با برخی تغییرات توصیف شده است، صورت گرفت. ۲۰ میکرولیتر عصاره متانولی با ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین ۱۰ درصد و ۱۶/۱ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط، و پس از ۸-۵ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم یک مولار (۱۰/۶ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) به مخلوط اضافه شد. محلول به مدت ۱/۵ ساعت در تاریکی در دمای اتاق نگهداری و در نهایت میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. تمام اجزا به جز عصاره گل در نمونه شاهد (blank) استفاده به کار رفت. برای تهیه منحنی کالیبراسیون از محلول استاندارد اسید گالیک استفاده، و محتوای فنل کل نمونه‌ها بر حسب میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک بیان شد.

تعیین محتوای فلاونوئید کل

برای تعیین غلظت کل فلاونوئید (TFC) توسط کلرید آلومینیوم (AlCl₃) روش Chang و همکاران (۲۰۰۸) با برخی تغییرات مورد استفاده قرار گرفت. مخلوطی از ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد در اتانول (۱۰ گرم کلرید آلومینیوم در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول و آب مقطر)، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار (۲/۴۱ گرم در ۱۰ میلی‌لیتر

و ۷/۵ تن در هکتار ورمی کمپوست به عنوان تیمار ترکیبی استفاده شد. شاهد منفی (NC) کود نداشت؛ اما شاهد مثبت (PC) شامل ۱۳۰ کیلوگرم در هکتار اوره (۶۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن خالص) بود.

مراقبت‌های پس از کاشت

آبیاری و کنترل علف‌های هرز

مزرعه پس از کاشت تا زمانی که بوته‌ها ظاهر شود، هر روز آبیاری شد. گیاهان تقریباً یک هفته پس از کاشت ظاهر شدند. پس از ظهور گیاهان تا زمان گلدهی، آبیاری به صورت دستی ضروری بود. از زمان جوانه‌زنی گیاهان تا زمان گلدهی، کنترل علف‌های هرز به صورت دستی و هفتگی به مدت چهار ماه انجام شد.

ارزیابی کلروفیل a، b و کلروفیل کل

برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل، ابتدا برگ‌های بالغ به‌طور تصادفی جمع‌آوری، و با استفاده از نیتروژن مایع به صورت دستی پودر شد. ۰/۱ گرم از نمونه پودری توسط ترازوی دیجیتال وزن شد؛ به ویال‌های دو میلی‌لیتری منتقل، و سپس یک میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به ویال‌ها اضافه گردید. مخلوط ابتدا توسط ورتکس رومیزی تقریباً ۱۰ ثانیه مخلوط، و با استفاده از سانتریفیوژ یخچالی (Eppendorf 5417 R) به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ و مایع رویی به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی انکوبه شد. بعد از آن، ۲۵۰۰ میکرولیتر استون ۸۰ درصد به ۵۰۰ میکرولیتر مایع رویی اضافه و سه میلی‌لیتر از نمونه به یک کووت شیشه‌ای سه میلی‌لیتری منتقل شد. جذب توسط یک اسپکتروفتومتر (T80+ UV/VIS Spectrometer PG Instruments Ltd) در ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر صورت گرفت. پس از کالیبراسیون دستگاه با محلول بلانک استون ۸۰ درصد، نمونه در نهایت در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار گرفت تا سرعت جذب ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a و ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b خوانده شود. محاسبه کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل نیز بر اساس فرمول‌های معادله Fouché و همکاران (۲۰۱۰) صورت گرفت.

$$\text{Chlorophyll a} = (19.3 \times A_{663} - 8.86 \times A_{645}) V/100 \times W \quad (1)$$

$$\text{Chlorophyll b} = (19.3 \times A_{645} - 3.6 \times A_{663}) V/100 \times W \quad (2)$$

$$\text{Total Chlorophyll} = \text{Chlorophyll}_a + \text{Chlorophyll}_b \quad (3)$$

که در آن:

$$A_{663} \text{ و } A_{645} = \text{جذب نور به ترتیب در } 663 \text{ و } 645 \text{ (nm)}$$

۱۳ میلی‌لیتر پترولیوم اتر منتقل، و استون از طریق افزودن آهسته آب مقطر برای جلوگیری از تشکیل امولسیون حذف شد. فاز آبی حذف می‌شود. این روش سه بار تا حذف باقی‌مانده تکرار شد. عصاره به بشر آزمایشگاه منتقل شد و روی همزن آزمایشگاهی قرار گرفت. ۵ گرم سولفات سدیم بی‌آب به تدریج به بشر اضافه شد تا آب اضافی خارج شود؛ سپس با افزودن پترولیوم اتر، حجم به ۱۷ میلی‌لیتر رسید. پس از آن، نمونه‌ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (UV/Vis (T80+ PG Instrument) خوانده شد.

(۵)

$$\text{Carotenoid content (mg/g)} = A \times V (\text{ml}) \times 10^4 / A_{1\text{cm}}^{1\%} \times P (\text{g})$$

که در آن:

P: وزن نمونه

V: حجم استخراج کل

A: جذب

است. 2592: A1%1cm (ضریب انقراض بتاکاروتن در پترولیوم اتر)

تحلیل‌های آماری

برای ارزیابی نتایج مجموعه داده‌های ویژگی‌های فیزیولوژیکی بر اساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی از نرم‌افزار SAS 9.3 استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون دامنه توکی در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. نمودارها با Excel 2010 ترسیم شد.

نتایج و بحث

کلروفیل a، b و کلروفیل کل

کودهای مورد استفاده به‌طور قابل توجهی بر کلروفیل a، b و کلروفیل کل برگ همیشه‌بهار در سطح احتمال ۵ درصد تأثیر گذاشتند. با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین مقدار کلروفیل a (شکل ۱-الف) در تیمار ترکیبی یعنی ۷/۵+۱۵ کیلوگرم کود گاوی و ورمی‌کمپوست (V6) مشاهده شد. با این حال، تفاوت معنی‌داری با تیمار ترکیبی ۵+۱۰ کیلوگرم کود گاوی و ورمی‌کمپوست (V5) نداشت. همچنین کمترین مقدار کلروفیل در گروه شاهد منفی (V0) مشاهده شد. نمودار میله‌ای مقایسه میانگین کلروفیل b (شکل ۱-ب) نشان داد که تیمار ترکیبی ۷/۵+۱۰ کیلوگرم ورمی‌کمپوست و کود گاوی (V6) بهتر از دیگر تیمارها بود. شاهد منفی (V0) کمترین میزان کلروفیل

آب مقطر) و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر به ۵۰ میکرولیتر عصاره متانولی اضافه شد؛ سپس مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت. جذب با استفاده از اسپکتروفتومتر در ۴۱۵ نانومتر صورت گرفت. تمام این موارد به جز عصاره به صورت blank استفاده شد. محتوای فلاونوئید کل بر حسب میلی‌گرم معادل کاتچین در گرم وزن خشک بیان شده است.

تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی گل همیشه‌بهار بر اساس روش Yamaguchi و همکاران (۱۹۹۸) با استفاده از فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد ۲،۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) اندازه‌گیری شد. ابتدا ۰/۰۰۰۴ گرم DPPH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول خالص حل شد تا محلول DPPH تهیه شود. یک قطعه خالی که فقط شامل متانول خالص بود به داخل یک کووت شیشه‌ای منتقل و در اسپکتروفتومتر قرار گرفت. سپس کووت حاوی DPPH و محلول متانول در قسمت نمونه اسپکتروفتومتر قرار گرفت و میزان جذب خوانده شد. ۵۰ میکرولیتر از عصاره با ۹۵۰ میکرولیتر محلول متانولی DPPH مخلوط؛ در تاریکی در دمای اتاق به مدت یک ساعت انکوبه؛ سپس به کووت شیشه‌ای منتقل شد و جذب با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر صورت گرفت. نمونه شاهد مخلوطی از DPPH و متانول بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره به‌عنوان درصد مهار DPPH با استفاده از رابطه ۴ محاسبه شد:

$$\text{DPPH sc} = (A_{\text{cont.}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{cont.}} \times 100\% \quad (۴)$$

که در آن:

DPPH sc%: درصد فعالیت مهارسازی

A_{cont.}: میزان جذب DPPH (شاهد)A_{sample}: نرخ جذب (نمونه + DPPH) است.

تعیین محتوای کارتنوئید

ارزیابی کارتنوئید بر اساس روش Carvalho و همکاران (۲۰۱۱) صورت گرفت. ۰/۲ گرم گل همیشه‌بهار پودر شده، یک گرم سولفات سدیم، ۸ میلی‌لیتر استون، ۱۳ میلی‌لیتر پترولیوم اتر و ۵ گرم سولفات سدیم (برای مرحله دوم) مورد نیاز است. ۰/۲ گرم نمونه با یک گرم سولفات سدیم در هاون به‌خوبی پودر شود. ۸ میلی‌لیتر استون روی محیط ریخته؛ به قیف بوختر منتقل، و در خلاء فیلتر شد. این روش سه بار یا تا زمان بی‌رنگی نمونه تکرار خواهد شد. عصاره به‌دست آمده به قیف جداکننده حاوی

جدول ۴- تجزیه و تحلیل واریانس اثر کود گاوی، ورمی کمپوست و ترکیب آنها بر میزان کلروفیل برگ‌های همیشه‌بهار

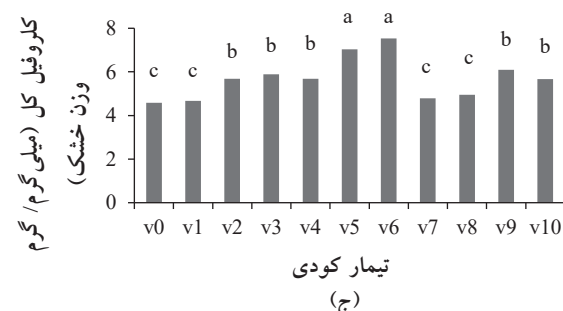
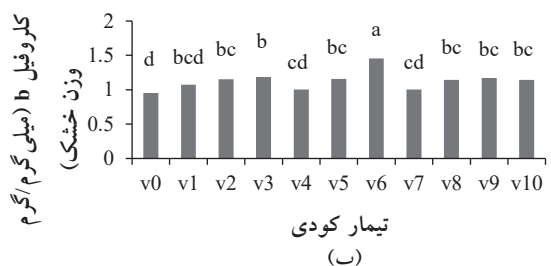
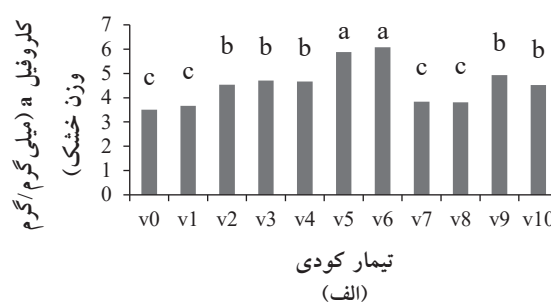
منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	میانگین مربعات
تیمار	۱۰	۲,۱۵۹۲*	۰,۰۵۴۰*	۲,۷۱۳۰*
خطا	۲۰	۰,۰۲۹۳	۰,۰۰۳۵	۰,۰۳۳۷
C.V %		۳,۷۵۸۷	۵,۲۸۰۷	۳,۲۳۰۳

* و * به ترتیب غیر معنی‌دار و با اطمینان ۵ درصد معنی‌دار هستند.

بهینه شد. مقدار زیادی کلروفیل برای حفظ رنگدانه‌های فتوسنتزی و سنتز آنزیم‌های شرکت‌کننده، که در نتیجه رشد و عملکرد گیاه بادام زمینی افزایش می‌یابد، مورد نیاز است (Purbajanti *et al.*, 2019). مقایسه میانگین اثر متقابل ورمی کمپوست و تنش آبی بر میزان کلروفیل کل در نخود (*Cicer arietinum*) نشان داد که تیمارهای ۱۰، ۲۰، ۳۰ درصد ورمی کمپوست دارای بیشترین میزان کلروفیل کل در شرایط غیر تنش آبی بودند و کمترین آن در تیمار شاهد تحت تنش شدید آبی مشاهده شد (Amiri *et al.*, 2017). به نظر می‌رسد که ورمی کمپوست حاوی ریزمغذی‌هایی مانند آهن است که به عنوان یک گروه از هموپروتئین‌ها مانند کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز عمل می‌کند که قادر به تخریب گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در گیاه است (Atik, 2013). بررسی‌ها نشان می‌دهد که ورمی کمپوست حاوی میزان زیادی از مواد مغذی مانند نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم و ریزمغذی‌هایی مانند آهن، روی، مس و منگنز نسبت به دیگر کودهای آلی است (Tognetti *et al.*, 2005; Suthar, 2009). از سوی دیگر، افزایش محتوای پرولین، گلوتامات را که پیش‌ساز کلروفیل و پرولین است، مهار می‌کند که مشارکت آن در سنتز کلروفیل را کاهش می‌دهد (Redy *et al.*, 2003). به نظر می‌رسد که ورمی کمپوست در دسترس بودن آب و مواد مغذی مانند پتاسیم و نیتروژن را حفظ می‌کند که در تنظیم فشار اسمزی نقش دارد. گلوتامات شرکت‌کننده‌ای اصلی در بیوسنتز کلروفیل a است. مشخص شد که درصد ورمی کمپوست در افزایش و پایداری کلروفیل a و کلروفیل کل نقش دارد و در نتیجه به کاهش اثر منفی تنش آبی در نخود کمک می‌کند (امیری و همکاران، ۱۳۹۶).

فنل کل

کاربرد سطوح مختلف تیمار بر میزان فنل کل، همیشه‌بهار با اطمینان ۹۵ درصد معنی‌دار بود. با توجه به نمودار میله‌ای



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کودها بر کلروفیل a، b و کلروفیل کل در برگ همیشه‌بهار. شاهد منفی = v0، ۱۰ کیلوگرم کود گاوی = v1، ۲۰ کیلوگرم کود گاوی = v2، ۳۰ کیلوگرم کود گاوی = v3، ۲,۵+۵ کیلوگرم ترکیبی (کود گاوی و ورمی کمپوست) = v4، ۷,۵+۱۰ کیلوگرم ترکیبی (کود گاوی و ورمی کمپوست) = v5، ۱۵+۵ کیلوگرم ترکیبی (کود گاوی و ورمی کمپوست) = v6، ۱۵ کیلوگرم ورمی کمپوست = v7، ۱۰ کیلوگرم ورمی کمپوست = v8، ۱۵ کیلوگرم ورمی کمپوست = v9، شاهد مثبت (نیتروژن) = v10

b را در مقایسه با دیگر تیمارها داشت. نمودار مقایسه میانگین نشان داد که میانگین محتوای کلروفیل کل (شکل ۱-ج) در تیمار ترکیبی ۷,۵+۱۵ کیلوگرم ورمی کمپوست و کود گاوی (v6) بیشتر بود. همچنین میانگین کلروفیل کل برای شاهد منفی (v0) در مقایسه با دیگر تیمارها کمتر بود (جدول ۴).

در مطالعه‌ای که روی گیاه بادام زمینی انجام شده است، گزارش گردید که بیشترین میزان کلروفیل با استفاده از ۵ تن در هکتار کود گاوی بدون کود NPK به دست آمد که با افزایش ۰,۴۱۰ میلی گرم در گرم، مکمل کود گاوی با کاربرد NPK به طور قابل توجهی جذب مواد مغذی را بهبود بخشید به طوری که کلروفیل بیوسنتز

९९

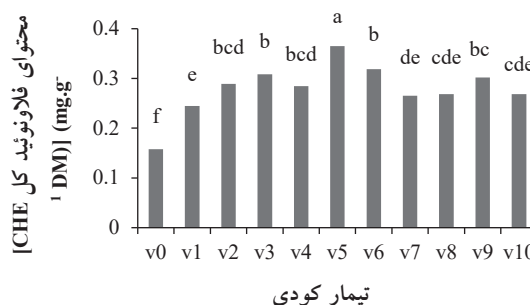
آنتی‌اکسیدان

با توجه به نتایج به‌دست آمده، میانگین بیشترین مقدار آنتی‌اکسیدان در تیمار ترکیبی ۱۰+۵ کیلوگرم کود گاوی و ورمی‌کمپوست (V5) به ثبت رسید که ۰/۷۰۳ بود (شکل ۴) در حالی که شاهد منفی (V0) با میانگین ۰/۵۳۹ کمترین میزان را نشان داد. این یافته‌ها مطابق با یافته‌های (Wang *et al.*, 2010) در مورد کلم چینی است؛ تعدادی از عوامل از جمله شدت نور، دما و رقم می‌تواند ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بافت‌های گیاهی را تحت تأثیر قرار دهد. علاوه بر این، نوع خاک و محتوای ترکیبات هیومیک در خاک، می‌تواند تأثیر تعیین‌کننده‌ای داشته باشد به گونه‌ای که هر چه محتوای ترکیبات هیومیک در خاک بیشتر باشد، گیاه فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نشان می‌دهد. در واقع، مشخص شده است که کاربرد ورمی‌کمپوست به طور قابل توجهی باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان می‌شود (Rimmer, 2006). به‌طور خلاصه، محیط‌های رشد گیاه و کودهای آلی می‌توانند بر محتوای آنتی‌اکسیدانی تأثیر بگذارند (Ahn *et al.*, 2005). گزارش شده است هنگامی که غلظت ورمی‌کمپوست در محیط به ۱۵ تن در هکتار می‌رسد، به دلیل غلظت زیاد نمک‌های محلول، تخلخل ضعیف یا هوادهی ضعیف ممکن است بر رشد و تکثیر ریشه تأثیر منفی گذاشته و به کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و عملکرد منجر شود (Donghong *et al.*, 2010). بر این اساس، (Atiyeh *et al.*, 2000) کاهش عملکرد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه را در گیاهان گوجه فرنگی در نرخ‌های جایگزینی ورمی‌کمپوست کود خاکی، بیش از ۶۰ درصد گزارش کردند. در آزمایش ما نیز رشد گیاه و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با افزایش نسبت ورمی‌کمپوست در محیط کاهش یافت. یافته‌های Saki و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد که استفاده از کود گاوی باعث افزایش فعالیت پاکسازی DPPH در *Satureja mutica* شد. افزایش پتانسیل آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی تیمار شده با کودهای آلی، در کلم بروکلی نیز گزارش شده است (Naguib *et al.*, 2012).

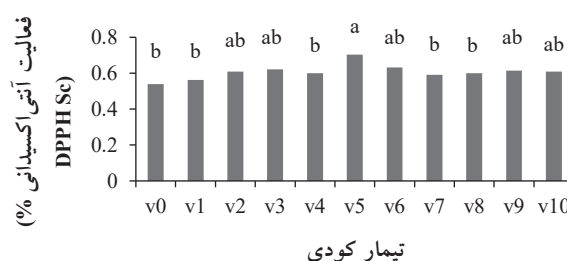
کارتونوئیدها

بر اساس نمودار مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۵)، بیشترین مقدار کارتونوئیدها در تیمار ۳۰ کیلوگرم کود گاوی (V3) مشاهده شد در حالی که میانگین کمترین مقدار کارتونوئیدها در شاهد منفی (V0) دیده شد. در تحقیقی بیشترین محتوای کارتونوئید در *Cicer arietinum* L. برای ورمی‌کمپوست ۳۰

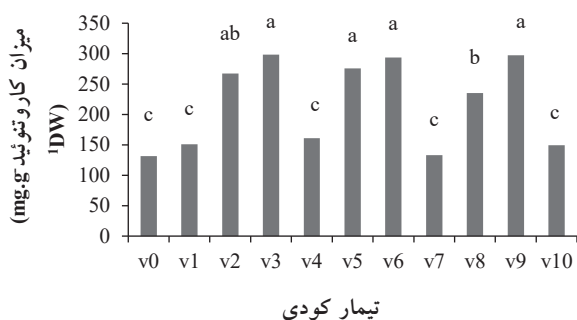
افزایش قابل توجهی را در محتوای فلاونوئید کل در پاسخ به کاربرد ورمی‌کمپوست در کلم چینی گزارش کردند. برخی از پژوهشگران دیگر نیز تأثیر مثبت ورمی‌کمپوست را در افزایش سنتز فلاونوئیدها در گیاهان گزارش کردند (Kheiry *et al.*, 2016).



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کودها بر محتوای فلاونوئید کل در گل همیشه‌بهار. شاهد منفی = V0، ۱۰ کیلوگرم کود گاوی = V1، ۲۰ کیلوگرم کود گاوی = V2، ۳۰ کیلوگرم کود گاوی = V3، ۲/۵+۵ کیلوگرم ترکیبی (کود گاوی و ورمی‌کمپوست) = V4، ۵+۱۰ کیلوگرم ترکیبی (کود گاوی و ورمی‌کمپوست) = V5، ۷/۵+۱۵ کیلوگرم ترکیبی (کود گاوی و ورمی‌کمپوست) = V6، ۵ کیلوگرم ورمی‌کمپوست = V7، ۱۰ کیلوگرم ورمی‌کمپوست = V8، ۱۵ کیلوگرم ورمی‌کمپوست = V9، شاهد مثبت (نیتروژن) = V10



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کودها بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گل همیشه‌بهار. شاهد منفی = V0، ۱۰ کیلوگرم کود گاوی = V1، ۲۰ کیلوگرم کود گاوی = V2، ۳۰ کیلوگرم کود گاوی = V3، ۲/۵+۵ کیلوگرم ترکیبی (کود گاوی و ورمی‌کمپوست) = V4، ۵+۱۰ کیلوگرم ترکیبی (کود گاوی و ورمی‌کمپوست) = V5، ۷/۵+۱۵ کیلوگرم ترکیبی (کود گاوی و ورمی‌کمپوست) = V6، ۵ کیلوگرم ورمی‌کمپوست = V7، ۱۰ کیلوگرم ورمی‌کمپوست = V8، ۱۵ کیلوگرم ورمی‌کمپوست = V9، شاهد مثبت (نیتروژن) = V10



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کودها بر میزان کاروتنوئید در گل همیشه بهار. شاهد منفی = v0، ۱۰ کیلوگرم کود گاوی = v1، ۲۰ کیلوگرم کود گاوی = v2، ۳۰ کیلوگرم کود گاوی = v3، ۲۵+۵ کیلوگرم ترکیبی (کود گاوی و ورمی کمپوست) = v4، ۱۰+۵ کیلوگرم ترکیبی (کود گاوی و ورمی کمپوست) = v5، ۷٫۵+۱٫۵ کیلوگرم ترکیبی (کود گاوی و ورمی کمپوست) = v6، ۵ کیلوگرم ورمی کمپوست = v7، ۱۰ کیلوگرم ورمی کمپوست = v8، ۱۵ کیلوگرم ورمی کمپوست = v9، شاهد مثبت (نیتروژن) = v10

تنظیم می کند (Arancon et al., 2006).

نتیجه گیری

نتایج نشان داد که کاربرد ورمی کمپوست و کود گاوی به صورت ترکیبی می تواند محتوای کلروفیل a، b و کلروفیل کل را در همیشه بهار بهبود بخشد در حالی که با استفاده از سطح متوسط کود ترکیبی، مقدار فلاونوئید، فنل و فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش یافت. همچنین میزان بهینه محتوای کاروتنوئید در بیشترین استفاده از کود گاوی مشخص شد.

References

- Ahn T, Oke M, Schofield A, Paliyath G. 2005. Effects of phosphorus fertilizer supplementation on antioxidant enzyme activities in tomato fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (5): 1539-1545.
- Allison FE. 1973. *Soil organic matter and its role in crop production*. Elsevier.
- Amiri H, Ismaili A, Hosseinzadeh SR. 2017. Influence of vermicompost fertilizer and water deficit stress on morpho-physiological features of chickpea (*Cicer arietinum* L. cv. karaj). *Compost Science and Utilization* 25 (3): 152-165.
- Amooaghaie R, Golmohammadi S. 2017. Effect of vermicompost on growth, essential oil, and health of *Thymus Vulgaris*. *Compost Science and Utilization*, 25 (3): 166-177.
- Arancon NQ, Edwards CA, Lee S, Byrne R. 2006. Effects of humic acids from vermicomposts on plant growth. *European*

درصد در شرایط بدون تنش مشاهده شد؛ که با نتایج تیمارهای ورمی کمپوست ۱۰ و ۲۰ درصد در شرایط بدون تنش، تفاوت معنی داری نداشت و کمترین میزان کاروتنوئید برای گروه شاهد ثبت شد (امیری و همکاران، ۲۰۱۷). کاروتنوئیدها مدت هاست که به عنوان مواد مغذی ضروری و ترکیبات مفید برای سلامتی شناخته شده اند (Fraser and Bramley, 2004). در اسفناج، کود گاوی مقدار کاروتنوئیدها را افزایش می دهد (Xu and Mou, 2016). عموآقایی و گل محمدی (۱۳۹۶) گزارش کردند که بیشترین محتوای کاروتنوئیدی آویشن (*Thymus vulgaris*) با کاربرد ورمی کمپوست به دست آمد. همچنین، این نتایج نشان داد که موفقیت حاصل از کاربرد ورمی کمپوست هم به غلظت ورمی کمپوست و هم به مرحله رشد گیاه بستگی دارد. تسهیل جذب منابع غذایی مانند نیتروژن، فسفر و دیگر مواد معدنی ضروری (Sinha et al., 2011) در گیاهان تیمار شده با ورمی کمپوست احتمالاً به افزایش محتوای کاروتنوئید برگ و در نتیجه ارتقای کارایی فتوسنتزی کمک کرده است. همچنین، تیمار کلم چینی با ورمی کمپوست باعث افزایش محتوای کاروتنوئید شد (Archana et al., 2009). نتایج پژوهشی دیگر نشان می دهد که کاربرد ورمی کمپوست و کمپوست دامی سبب افزایش محتوای کاروتنوئید در شرایط تنش آبی و به طور کلی کاهش اثر مخرب تنش می شود (Khosravi et al., 2019). علاوه بر این، ورمی کمپوست شامل مواد فعالی مانند اسیدهای هیومیک و فولویک است که به طور غیرمستقیم باعث رشد می شود. اسیدهای هیومیک مولکول هایی هستند که بسیاری از فرایندهای رشد گیاه و همچنین تحریک جذب مواد مغذی را

Journal of Soil Biology 42: S65-S69.

- Pant AP, Radovich TJ, Hue NV, Talcott ST, Krenek KA. 2009. Vermicompost extracts influence growth, mineral nutrients, phytonutrients and antioxidant activity in pak choi (*Brassica rapa* cv. Bonsai, Chinensis group) grown under vermicompost and chemical fertiliser. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 89 (14): 2383-2392.
- Atik A. 2013. Effects of planting density and treatment with vermicompost on the morphological characteristics of oriental beech (*Fagus orientalis* Lipsky.). *Compost Science and Utilization* 21 (2): 87-98.
- Atiyeh RM, Arancon N, Edwards CA, Metzger JD. 2000. Influence of earthworm-processed pig manure on the growth and yield of greenhouse tomatoes. *Bioresource Technology* 75(3): 175-180.
- Atiyeh RM, Lee S, Edwards CA, Arancon NQ, Metzger JD. 2002. The influence of humic acids derived from earthworm-

processed organic wastes on plant growth. *Bioresource Technology* 84 (1): 7-14.

Bakhshi D, Arakawa O. 2006. Effects of UV-B irradiation on phenolic compound accumulation and antioxidant activity in 'Jonathan' apple influenced by bagging, temperature and maturation. *Journal of Food Agriculture and Environment* 4 (1): 75-79.

Baser HK. 1999. Industrial utilization of medicinal and aromatic plant. *Acta Horticulturae* 503: 177-188.

Bernath J. 2000. Medicinal and aromatic plants. Mezo Publication Budapest pp. 667.

de Carvalho LMJ, Gomes PB, de Oliveira Godoy RL, Pacheco S, do Monte PHF, de Carvalho JLV, Nutti MR, Neves ACL, Vieira ACRA, Ramos SRR. 2012. Total carotenoid content, α -carotene and β -carotene, of landrace pumpkins (*Cucurbita moschata* Duch): A preliminary study. *Food Research International* 47 (2): 337-340.

Chan PL, Griffiths DA. 1988. The vermicomposting of pre-treated pig manure. *Biological Wastes* 24 (1): 57-69.

Chang HT, Cheng YH, Wu CL, Chang ST, Chang TT, Su YC. 2008. Antifungal activity of essential oil and its constituents from *Calocedrus macrolepis* var. *formosana* Florin leaf against plant pathogenic fungi. *Bioresource Technology* 99 (14): 6266-6270.

Dinda KA, Craker LE. 1998. Growers guide to medicinal plants. HSMP Press.

Edwards CA, Burrows I. 1988. Potential of earthworm composts as plant growth media. In: Edward CA, Neuhauser EF. Eds., *Earthworms in waste and environmental management*. SPB Academic Publishing, The Hague pp. 2132.

Fernandes EFA, Meloni F, Borella JC, Lopes NP. 2013. Effect of fertilisation and harvest period on polar metabolites of *Calendula officinalis*. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 23 (5): 731-735.

Follett RH, Murphy LS, Donahue RL. 1981. Fertilizers and soil amendments. Prentice-Hall, Inc.

Fouché JR, Roberts SC, Midgley SJ, Steyn WJ. 2010. Peel color and blemishes in 'Granny Smith' apples in relation to canopy light environment. *HortScience* 45 (6): 899-905.

Fraser PD, Bramley PM. 2004. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Progress in Lipid Research* 43 (3): 228-265.

Hamburger M, Adler S, Baumann D, Förg A, Weinreich B. 2003. Preparative purification of the major anti-inflammatory triterpenoid esters from Marigold (*Calendula officinalis*). *Fitoterapia* 74 (4): 328-338.

Haukioja E, Ossipov V, Lempa K. 2002. Interactive effects of leaf maturation and phenolics on consumption and growth of a geometrid moth. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 104 (1): 125-136.

Gholami H, Saharkhiz MJ, Fard FR, Ghani A, Nadaf F. 2018. Humic acid and vermicompost increased bioactive

components, antioxidant activity and herb yield of Chicory (*Cichorium intybus* L.). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 14: 286-292.

Hynes E. 2007. Organic farming microsoft student (DVD). Microsoft Corporation, Microsoft Encarta.

Ibrahim MH, Jaafar HZ, Karimi E, Ghasemzadeh A. 2013. Impact of organic and inorganic fertilizers application on the phytochemical and antioxidant activity of Kacip Fatimah (*Labisia pumila* Benth). *Molecules* 18 (9): 10973-10988.

Kalvatchev Z, Walder R, Garzaro D. 1997. Anti-HIV activity of extracts from *Calendula officinalis* flowers. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 51 (4): 176-180.

Kheiry A, Arghavani M, Khastoo M. 2016. Effects of organic fertilizers application morphophysiological characteristics of *Calendula officinalis* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research* 31 (6): 1047-1057. (In Farsi)

Khosravi Shakib A, Rezaei Nejad A, Khandan Mirkohi A, Kalate Jari S. 2019. Vermicompost and manure compost reduce water-deficit stress in pot marigold (*Calendula officinalis* L. cv. Candyman Orange). *Compost Science and Utilization* 27 (1): 61-68.

Martin RJ, Deo B. 2000. Effect of plant population on calendula (*Calendula officinalis* L.) flower production. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 28 (1): 37-44.

Mitchell AE, Hong YJ, Koh E, Barrett DM, Bryant DE, Denison RF, Kaffka S. 2007. Ten-year comparison of the influence of organic and conventional crop management practices on the content of flavonoids in tomatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55 (15): 6154-6159.

Naguib AEMM, El-Baz FK, Salama ZA, Hanaa HAEB, Ali HF, Gaafar AA. 2012. Enhancement of phenolics, flavonoids and glucosinolates of Broccoli (*Brassica oleracea*, var. *Italica*) as antioxidants in response to organic and bio-organic fertilizers. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 11 (2): 135-142.

Ndegwa PM, Thompson SA. 2001. Integrating composting and vermicomposting in the treatment and bioconversion of biosolids. *Bioresource Technology* 76 (2): 107-112.

Ndegwa PM, Thompson SA, Das KC. 2000. Effects of stocking density and feeding rate on vermicomposting of biosolids. *Bioresource Technology* 71 (1): 5-12.

Parr JF, Colacicco D. (1987). Energy in plant nutrition and pest control. In: Helsel ZR. Ed., *Energy in world agriculture*. Elsevier Science Publishers 2: 81-129.

Pathak SB, Niranjana K, Padh H, Rajani M. 2004. TLC densitometric method for the quantification of eugenol and gallic acid in clove. *Chromatographia* 60: 241-244.

Peyvast G, Olfati JA, Madeni S, Forghani A, Samizadeh H. 2008. Vermicompost as a soil supplement to improve growth and yield of parsley. *International Journal of Vegetable Science* 14 (1): 82-92.

- Purbajanti ED, Slamet W, Fuskhah E. 2019, March. Effects of organic and inorganic fertilizers on growth, activity of nitrate reductase and chlorophyll contents of peanuts (*Arachis hypogaea* L.). In: IOP conference series: earth and environmental science. IOP Publishing 250 (1): 012048.
- Rao KR. 2002. Induced host plant resistance in the management of sucking insect pests of groundnut. *Annals of Plant Protection Sciences* 10 (1): 45-50.
- Reddy TY, Reddy VR, Anbumozhi V. 2003. Physiological responses of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) to drought stress and its amelioration: a critical review. *Plant Growth Regulation* 41: 75-88.
- Rezvani Moghaddam P, Akbarabadi M, Hasanzadeh F. 2015. The Effects of organic fertilizers kinds and different sowing dates on yield and yield components of flower and seed of marigold (*Calendula officinalis*). *Journal of Agroecology* 6 (4): 730-740.
- Rimmer DL. 2006. Free radicals, antioxidants, and soil organic matter recalcitrance. *European Journal of Soil Science* 57 (2): 91-94.
- Roersch C. 1997, November. The marketing of medicinal plants, aromatic plants and essential oils in the dominican republic. In: II World Congress on Medicinal and Aromatic Plants for Human Welfare 10-15.
- Saki A, Mozafari H, Asl KK, Sani B, Mirza M. 2019. Plant yield, antioxidant capacity and essential oil quality of *Satureja mutica* supplied with cattle manure and wheat straw in different plant densities. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 50 (21): 2683-2693.
- Sardoei A. 2014. Vermicompost effects on the growth and flowering of marigold (*Calendula officinalis*). *European Journal of Experimental Biology* 4 (1): 651-655.
- Slinkard K, Singleton VL. 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture* 28 (1): 49-55.
- Suthar S. 2009. Impact of vermicompost and composted farmyard manure on growth and yield of garlic (*Allium stivum* L.) field crop. *International Journal of Plant Production* 3 (1): 1735-6814.
- Tognetti C, Laos F, Mazzarino MJ, Hernandez MT. 2005. Composting vs. vermicomposting: a comparison of end product quality. *Compost Science and Utilization* 13 (1): 6-13.
- Wang D, Shi Q, Wang X, Wei M, Hu J, Liu J, Yang F. 2010. Influence of cow manure vermicompost on the growth, metabolite contents, and antioxidant activities of Chinese cabbage (*Brassica campestris* ssp. *chinensis*). *Biology and Fertility of Soils* 46: 689-696.
- Winkel-Shirley B. 2002. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Current Opinion in Plant Biology* 5 (3): 218-223.
- Xiong W, Jousset A, Guo S, Karlsson I, Zhao Q, Wu H, Kowalchuk GA, Shen Q, Li R, Geisen S. 2018. Soil protist communities form a dynamic hub in the soil microbiome. *The ISME Journal* 12 (2): 634-638.
- Xu C, Mou B. 2016. Short-term effects of composted cattle manure or cotton burr on growth, physiology, and phytochemical of spinach. *HortScience* 51 (12): 1517-1523.
- Yamaguchi T, Takamura H, Matoba T, Terao J. 1998. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 62 (6): 1201-1204.
- Zhang S, Sun L, Wang Y, Fan K, Xu Q, Li Y, Ma Q, Wang J, Ren W, Ding Z. 2020. Cow manure application effectively regulates the soil bacterial community in tea plantation. *BMC Microbiology* 20 (1): 1-11.
- Zhao X, Iwamoto T, Carey EE. 2007. Antioxidant capacity of leafy vegetables as affected by high tunnel environment, fertilisation and growth stage. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87 (14): 2692-2699.
- Zink TA, Allen MF. 1998. The effects of organic amendments on the restoration of a disturbed coastal sage scrub habitat. *Restoration-Ecology* 6 (1): 52-58.