

تأثیر تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر عملکرد سرشاخه‌های گلدار، رنگدانه‌های فتوسنتزی و غلظت عناصر پر مصرف گیاه در آویشن زراعی (*Thymus vulgaris* L.)

فریده گشسی^۱، مصطفی حیدری^{۲*}، سید کاظم صباغ^۳، حسن مکاریان^۲

۱- دانشجو و دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه صنعتی شاهرود، ۳- دانشیار گروه زیست شناسی، دانشگاه یزد

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۹/۲۲ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱/۲۸)

چکیده

به منظور بررسی اثر تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر گیاه دارویی آویشن زراعی، آزمایشات مزرعه‌ای در فروردین تا تیرماه سال ۱۳۹۶ انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل تنش کم آبی در سه سطح هفت (W_1) (شاهد)، $W_2=12$ و $W_3=17$ روز دور آبیاری به عنوان عامل اصلی و کودهای زیستی و غیر زیستی در پنج سطح تیمار شاهد (بدون مصرف کود) (B_1)، قارچ اندومایکوریزا از جنس $B_2=Glomus$ ، باکتری‌های آزوسپیریلوم B_3 ، سودوموناس B_4 و کود شیمیایی NPK B_5 به عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند. نتایج نشان داد که برهمکنش تیمار تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیر زیستی بر عملکرد سرشاخه‌های گلدار، میزان کلروفیل a، b و کل، درصد عناصر نیتروژن و فسفر و میزان آنتوسیانین در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. بیشترین میزان کلروفیل a، b و درصد عنصر نیتروژن برگ گیاه در دور آبیاری شاهد (هفت روز آبیاری، W_1) و تیمار کودی آزوسپیریلوم (به ترتیب ۴/۸۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر برگ، ۱/۸۳ میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر برگ و ۱/۶۱ درصد)، بیشترین میزان کلروفیل کل و درصد عنصر فسفر برگ گیاه در دور آبیاری شاهد (هفت روز آبیاری، W_1) و تیمار کودی سودوموناس (به ترتیب ۶/۵۸ میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر برگ و ۳/۹۴ درصد)، بیشترین عملکرد سرشاخه‌های گلدار در دور آبیاری شاهد (هفت روز آبیاری، W_1) و تیمار کودی NPK (۳۰/۲ کیلوگرم بر هکتار)، بیشترین میزان آنتوسیانین در دور آبیاری شدید (۱۷ روز آبیاری، W_3) و تیمار کودی شاهد (B_1) (۰/۱۵۷ میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر برگ) مشاهده شد. اثر تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی به تنهایی بر میزان کاروتنوئید و فلاونوئید در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد، اما تنها تأثیر معنی دار فاکتور کوددهی بر درصد عنصر پتاسیم در سطح احتمال یک درصد مشاهده شد. بیشترین میزان کاروتنوئید و فلاونوئید در تیمار تنش کم آبی شدید (۱۷ روز آبیاری، W_3) (به ترتیب ۰/۳۷ میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر برگ و ۱/۶۷ درصد) مشاهده شد. بیشترین میزان کاروتنوئید و فلاونوئید در تیمار کودی سودوموناس (B_3) (به ترتیب ۰/۳۷ میلی گرم بر کیلوگرم وزن تر برگ و ۱/۸۵ درصد) و بیشترین درصد عنصر پتاسیم برگ گیاه در تیمار کودی مایکوریزا (B_2) (۱۷/۲۲ درصد) مشاهده شد. به طور کلی می توان بیان کرد که در شرایط تنش کم آبی، استفاده از کودهای زیستی به ویژه آزوسپیریلوم و سودوموناس تاحدی می تواند از بروز اثرات سوء در این گیاه بکاهد.

واژه‌های کلیدی: آزوسپیریلوم، سودوموناس عملکرد کمی، کلروفیل، مایکوریزا.

Effect of water deficit stress and bio and non -bio-fertilizers on flowering branches yield, photosynthetic pigments and concentration of macro elements in thyme (*Thymus vulgaris* L.)

Farideh Goshabi¹, Mostafa Heidari^{2*}, Seyed Kazem Sabbagh³, Hassan Makarian²
1,2. Agronomy and Plant Breeding Department, Shahroud University of Technology, 3. Biology Department, University of Yazd

(Received: December 13, 2019 - Accepted: April 16, 2020)

ABSTRACT

To investigate the effects of water deficit stress and bio and non-bio fertilizers on *Thymus Vulgaris*, a split plot experiment was conducted based on randomized complete block design with three replications in 2017 in Asgarya agricultural field in Yazd. The treatments included water tension: $W_1=7$ (Control), $W_2=12$ and $W_3=17$ days irrigation intervals as the main factor and bio and non - bio fertilizers at five levels including B_1 = control (without fertilizer), B_2 = endo mycorrhiza (Glomus), B_3 = Azospirillum bacteria, B_4 = Pseudomonas bacteria and B_5 = chemical fertilizer (NPK) a sub - factors. Results showed that the highest flowering branches yield, a, b, and total chlorophylls and nitrogen and phosphorus elements were observed in 17 days of irrigation (W_3). 12 days of irrigation treatment (W_2) showed the highest potassium element rate. The highest a, b and chlorophylls and nitrogen were observed in Azospirillum treatment (B_3). The highest total chlorophyll, phosphorus element, carotenoids and flavonoids were observed in Pseudomonas treatment (B_4); the highest potassium element rate were obtained in mycorrhiza treatment (B_2); the highest flowering branches yield were observed in NPK treatment (B_5) and control (B_1) treatment resulted in the highest anthocyanin

Keywords: Azospirillum, chlorophyll, mycorrhiza, pseudomonas, quantitative yield.

* Corresponding author E-mail: m_haydari@shahroud.ac.ir

مقدمه

عملکرد اسانس شده است (Rezapor *et al.*, 2011). استفاده از منابع زیستی به جای منابع شیمیایی، نقش مهمی در باروری و حفظ فعالیت‌های زیستی خاک، افزایش کیفیت محصولات کشاورزی و سلامت اکوسیستم دارد (Zaidi *et al.*, 2003). کودهای زیستی، از باکتری‌ها و همچنین قارچ‌های مفیدی تشکیل شده‌اند که هر یک به‌منظور خاصی همانند تثبیت نیتروژن و رها سازی یون‌های فسفات، پتاسیم و آهن از ترکیبات نامحلول آن‌ها تولید می‌شوند. این باکتری‌ها معمولا در اطراف ریشه مستقر می‌شوند و گیاه را در جذب عناصر یاری می‌کنند (Wu *et al.*, 2005). یکی از مهم‌ترین کودهای زیستی که در حال حاضر کاربرد زیادی در کشاورزی دارد، باکتری‌های تقویت کننده رشد^۱ می‌باشند که از جنس‌های مختلف باکتری‌های آنتاگونیست و تثبیت کننده نیتروژن همانند سودوموناس‌ها و آزوسپیریلوم تشکیل شده است (Selosse *et al.*, 2004). مکانیسمی که توسط باکتری‌های PGPR برای تنظیم رشد گیاهان به کار برده می‌شوند، به درستی مشخص نیست، اما دارای نقش‌های مختلفی شامل تولید فیتوهورمون‌ها، تثبیت نیتروژن و سنتز آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشند (Beauchamp, 1993; Vessey, 2003; Beneduzi *et al.*, 2012).

توسعه سیستم ریشه‌ای و جوانه‌زنی بهتر بذرها (Rajendran & Devaraj, 2004)، تولید هورمون‌های تحریک کننده رشد به ویژه اکسین، جیبرلین و سیتوکسین در گیاهان زراعی (Zahir *et al.*, 2003) و همچنین افزایش تقسیم سلولی در ریشه و افزایش جذب مواد غذایی (Kennedy & Dubrovsky, 1996) اثرات مثبتی است. تأثیر مفید آزوسپیریلوم بر توسعه سیستم تارهای کشنده در گیاهان مختلف و همچنین در افزایش ارتفاع بوته و وزن تر و خشک اندام‌های گیاه دارویی مریم گلی به اثبات رسیده است (Youssef *et al.*, 2004). در میان کودهای زیستی، باکتری‌های سودوموناس، یکی از

آویشن یکی از گیاهان دارویی مهم است که از گذشته‌های دور مورد استفاده قرار گرفته است. آویشن گیاهی معطر از خانواده نعنائیان است که به علت داشتن تیمول، در صنایع غذایی، دارویی، بهداشتی و آرایشی کاربرد فراوان دارد. در این بین، قسمت‌های سرشاخه‌های گلدار و برگ‌های خشک شده آن از اهمیت زیادی برخوردارند. در بین گونه‌های مختلف آویشن، آویشن زراعی (*Thymus vulgaris* L.) در بسیاری از نقاط دنیا از جمله ایران کشت و تولید می‌شود (Omidbaigi, 2000).

کمبود آب از مهم‌ترین عوامل محیطی کاهش رشد و عملکرد بسیاری از گیاهان زراعی، باغی و دارویی، به خصوص در مناطق خشک و نیمه خشک دنیا به‌شمار می‌رود (Babae *et al.*, 2010). خشکی موجب کاهش فتوسنتز گیاه، تغییر در محتوای کلروفیل و صدمه به ساختارهای فتوسنتزی می‌شود (Fu, 2001). تنش ناشی از کمبود آب می‌تواند سبب کاهش ارتفاع، تعداد و سطح برگ، وزن خشک، بسته شدن روزنه‌ها، کاهش میزان کلروفیل و کاهش رشد ریشه در گیاهان دارویی شود (Hughes *et al.*, 1989). در پژوهشی، اثر رژیم‌های مختلف آبی را روی گیاه ریحان بررسی کردند و مشاهده نمودند که با تشدید کمبود آب، وزن خشک برگ و ساقه کاهش یافت (Simon *et al.*, 1992). پژوهشگران دیگر، ضمن بررسی اثر رژیم‌های مختلف رطوبت خاک بر گونه‌ای از نعناع نتیجه گرفتند که افزایش رطوبت خاک، ارتفاع گیاه، شاخص سطح برگ و تجمع ماده خشک را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (Muni Ram *et al.*, 1995). در پژوهشی با بررسی اثر آبیاری کامل، مختصر (دور آبیاری ملایم) و عدم انجام آبیاری بر گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperata* L.) نتیجه گرفتند که تنش آبی، طول میانگره‌ها، ارتفاع گیاه و وزن خشک برگ، ساقه و ریشه را کاهش می‌دهد (Alkire *et al.*, 1993). طی آزمایشی بر روی گیاه دارویی سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) مشخص شد که تنش خشکی، موجب کاهش زیست‌توده گیاهی، ارتفاع بوته و

^۱ - Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR

افزایش رشد و نمو در شرایط متفاوت محیطی فراهم می‌آورند. از آنجا که رویکرد جهانی در تولید گیاهان دارویی به سمت بهبود کمیت و کیفیت عملکرد و ماده موثره می‌باشد، بنابراین به نظر می‌رسد که تغذیه سالم گیاهان از طریق کاربرد کودهای زیستی، دارای بیشترین تطابق با اهداف تولید گیاهان دارویی باشد و منجر به بهبود عملکرد کمی و کیفی آن‌ها شود. هدف از این آزمایش، بررسی تأثیر کاربرد کودهای زیستی و غیرزیستی و مقایسه تأثیر آن‌ها بر عملکرد و اجزای عملکرد و تغییرات فیزیولوژیکی و تعیین بهترین و کارآمدترین کود در بهبود صفات فیزیومرفولوژیک و خصوصیات کمی و کیفی در گیاه دارویی آویشن زراعی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت کرت‌های یک بار خرد شده و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار، در بازه زمانی اواسط فروردین تا اواخر تیر ماه سال زراعی ۱۳۹۶ در مزرعه زراعی عسگریه واقع در روستایی از توابع بخش مرکزی شهرستان یزد، با طول جغرافیایی ۵۴ درجه و ۱۷ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۱ درجه و ۵۳ دقیقه و ۱۲/۲۳۰ متر ارتفاع از سطح دریا، در شمال شرقی شهرستان یزد اجرا شد. نتایج داده‌های هواشناسی و نتایج تجزیه شیمیایی خاک مزرعه، به ترتیب در جدول‌های ۱ و ۲ آمده است.

انواع مهم باکتری‌های حل‌کننده فسفات می‌باشند (Narsian & Patel, 2006). نتایج حاصل از مطالعه محققان حاکی از آن بود که تیمار گیاهچه‌های گیاه دارویی پروانش با باکتری محرک رشد گیاه سودوموناس (*Pseudomonas Fluorescens*) سبب افزایش عملکرد زیست‌توده و میزان آلکالوئید در این گیاه در شرایط تنش آب شده است (Abdul-Jaleel et al., 2007). همزیستی قارچ‌های مایکوریزا با ریشه گیاهان می‌تواند در بهبود صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاهان دارویی موثر باشد. قارچ‌های مایکوریزا علاوه بر تأثیر در بهبود رشد گیاه، جذب عناصر غذایی را نیز افزایش می‌دهند. از مهم‌ترین عناصری که توسط میکوریزا به‌طور فعال و در سطح وسیع جذب می‌شود، عنصر فسفر است (Bolan, 1991). در پژوهشی مشاهده شد که تلقیح گیاه نعنای با قارچ میکوریزا، به‌طور قابل توجهی ارتفاع بوته و عملکرد زیستی را افزایش داد (Gupta et al., 2002). در یک بررسی دیگر مشخص شد مخلوط قارچ‌های *G. fasciculatum* و *mosseae* میزان رشد و زیست‌توده را در گیاهان پیاز، گشنیز و ریحان افزایش داد (Basu & Srivastava, 1998). تنش خشکی و کم‌آبایی از جمله تنش‌های محیطی مهم می‌باشند که با ایجاد اختلال در عمل روزنه‌ها، سیستم فتوسنتزی، تخریب پروتئین‌ها و آنزیم‌ها و کاهش سطح برگ، موجب ریزش گل و میوه‌ها و در نتیجه کاهش عملکرد می‌شوند. در این بین، افزودن کودهای زیستی به خاک، موجب تغذیه بهتر گیاهان می‌شود و شرایط را برای

جدول ۱- داده‌های هواشناسی نزدیک‌ترین ایستگاه هواشناسی به منطقه آزمایش در سال ۱۳۹۶

Table1. Meteorology data of the nearest meteorological station to the tested area in 2017

Station	Average annual temperature (°C)	Average minimum annual temperature (°C)	Average maximum annual temperature (°C)	Average annual relative humidity (%)	Average minimum annual relative humidity (%)	Average maximum annual relative humidity (%)	Total annual rainfall) mm(Total annual evaporation)mm(Number of sunny hours
Yazd	21.6	14.4	28.4	22.6	11.9	33.3	23.6	3046.2	3569.9

جدول ۲- نتایج تجزیه شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی

Table 2. Results of the soil chemical analysis of the experimental field

Soil Texture	EC (dS.m ⁻¹)	pH	Sand (%)	Clay (%)	Loam (%)	OC (%)	K (ppm)	P (ppm)	N (%)
Sandy loam	2.05	7.66	75	10	15	0.339	19.08	14.8	0.029

تحقیقاتی، کرت‌هایی به طول سه متر و عرض دو متر (مساحت هر کرت شش متر مربع) آماده شدند. فاصله بین ردیف‌های کاشت، ۷۰ سانتی‌متر و فاصله بین بوته‌ها روی ردیف‌ها، ۵۰ سانتی‌متر بود و تراکم کاشت، سه بوته در متر مربع بود. زمانی که نشاءها حدود ۱۱-۱۰ برگی شدند، به زمین اصلی منتقل شدند و بعد از نشاکاری، اولین آبیاری در مزرعه به صورت غرقابی انجام شد. زمانی که گیاهان استقرار کامل یافتند، تیمار کم آبی با روش آبیاری قطره‌ای و تنظیم دور آبیاری و بر اساس نقشه طرح اعمال شد که حجم آب آبیاری در هر بار برای تمامی تیمارها یکسان بود (با قراردادن کنتور از حجم آب یکسان استفاده شد). اعمال تنش کم آبی تا زمان حداکثر گلدهی بوته‌ها یعنی زمانی که ۵۰ درصد گیاهان مزرعه به گل رفته بودند، ادامه یافت و بوته‌ها در مرحله گلدهی کامل یعنی زمانی که تقریباً ۹۰ درصد بوته‌ها به گل رفته بودند، برداشت شدند.

عملکرد سرشاخه‌های گلدار

سرشاخه‌های گلدار ۱۰ بوته به طور تصادفی انتخاب شدند و پس از جدا کردن آن‌ها به آرامی، در سایه و در جریان باد به مدت یک هفته خشک شدند و سپس وزن آن‌ها با ترازوی دقیق دیجیتالی Soehnle ساخت کشور آلمان، با دقت ۰/۱ گرم، اندازه‌گیری شد.

رنگدانه‌های فتوسنتزی

سنجش میزان کلروفیل a, b و کاروتنوئید

برای اندازه‌گیری کلروفیل در مرحله گلدهی، ابتدا ۰/۱ گرم از بافت برگ‌تر گیاه با ۱۰ سی سی استن ۸۰ درصد در هاون چینی خرد و یکنواخت شد. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۶۰۰۰ در دقیقه قرار داده شدند و بعد از اتمام سانتریفیوژ، محلول بالای به عنوان عصاره به بالن شیشه‌ای منتقل شد و جهت انجام طیف سنجی مورد استفاده قرار

تیمارهای آزمایش شامل سه سطح دور آبیاری هفت $W_1=12$ ، $W_2=17$ و $W_3=17$ روز به عنوان عامل اصلی و تیمار کودی شامل شاهد (بدون مصرف کود) $B_1=$ ، قارچ اندومایکوریزا از جنس $B_2=Glomus$ که از شرکت زیست فناوری پیشتاز واریان واقع در استان البرز (کرج) تهیه شد، باکتری‌های آزوسپیریوم $B_3=(Azospirillum\ brasilense)$ و $B_4=(Pseudomonas\ fluorescens)$ که هر دو باکتری از شرکت دانش بنیان همیشه واقع در استان گلستان تهیه شد و کود شیمیایی $B_5=NPK$ که نسبت هر سه عنصر در این کود، ۲۰ درصد بود و به صورت آماده از فروشگاه کشاورزی تهیه شد، به عنوان فاکتور فرعی در نظر گرفته شدند. در این آزمایش، بذر آویشن زراعی (*Thymus vulgaris*) از شرکت گیاه ایران در شهراصفهان تهیه شد. در اسفندماه ۱۳۹۵، ابتدا جهت تهیه نشاء، بذرهای در قرص‌های جیفی پات که نوعی گلدان‌های کاغذی کوچک ساخت کشور آلمان و دارای پیت ماس، کوکوپیت و مواد مغذی جهت رشد گیاه بود کشت شدند. پس از تهیه بستر مناسب، بلوک بندی و آماده سازی کرت‌های کشت در اوایل اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۶ صورت گرفت. از کود زیستی میکوریزا به مقدار ۴۰ کیلوگرم در هکتار به صورت اینوکولوم ماسه که هر گرم حاوی حداقل ۱۰۰ اندام فعال قارچ بود، استفاده شد. باکتری سودوموناس و آزوسپیریوم، به صورت غوطه‌ور کردن ریشه در آن‌ها به کار رفت، بدین صورت که براساس توصیه شرکت تولیدکننده، مقدار ۲۰۰ گرم از هر کدام از باکتری‌ها در ۱۰ لیتر آب حل شد و سپس ریشه‌ها به مدت پنج تا ۱۵ دقیقه در داخل محلول غوطه‌ور شدند و سپس کشت انجام شد (۲۰ کیلوگرم در هکتار). کود شیمیایی NPK (که نسبت هر کدام از عناصر در این کود ۲۰ درصد بود)، به صورت گرانولی و بر اساس ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار استفاده شد. جهت انجام این طرح

استفاده از دستگاه طیف سنجی (Analytika Jena) 1500S, Germany-2010 در طول موج ۳۰۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت، از ضریب خاموشی $33000 \text{ cm}^{-2}\text{mol}^{-6}$ (Krizek *et al.*, 1998) استفاده شد.

سنجش درصد عناصر نیتروژن، فسفر و

پتاسیم در برگ

جهت اندازه‌گیری درصد عناصر، در مرحله گلدهی از برگ‌هایی که در آن خشک و سپس آسیاب شده بودند، استفاده شد. جهت اندازه‌گیری عنصر نیتروژن برگ‌ها از روش کج‌دال، پتاسیم از روش نورسنجی شعله‌ای، فلیم فتومتر (Chapman & Pratt, 1982) و فسفر (Olsen *et al.*, 1954) از دستگاه اسپکتروفوتومتر و در طول موج ۷۲۰ استفاده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

در نهایت داده‌ها با استفاده از نرم افزارهای آماری SAS (V9.4) مورد تجزیه آماری قرار گرفت و جهت رسم نمودارها از نرم افزار Excel نسخه ۲۰۰۷ استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

عملکرد سرشاخه‌های گلدار

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که برهمکنش تیمار تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر عملکرد سرشاخه‌های گلدار در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. هر چند با افزایش سطح تنش کم آبی از W_1 به W_3 از عملکرد سرشاخه‌های گلدار کاسته شد، اما همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، استفاده از کودهای زیستی و همچنین غیرزیستی، تا حدی با بهبود شرایط رشد برای گیاه، سبب کاهش اثرات تنش کم آبی بر گیاه آویشن زراعی شد، به طوری که بیشترین عملکرد سرشاخه‌های گلدار در تیمار تنش کم آبی شاهد W_1 (هفت روز یک بار آبیاری) و تیمار کودی NPK با میانگین $30/2$ کیلوگرم بر هکتار و کمترین آن در تیمار تنش کم آبی W_3 (۱۷ روز یک بار آبیاری) و

گرفت. خوانش مقدار جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر به ترتیب برای اندازه‌گیری کلروفیل a و b و کاروتنوئید با استفاده از دستگاه طیف سنجی -2010 Analytika Jena 1500S, Germany انجام شد. سپس با استفاده از روابط ۱ تا ۴، میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئید محاسبه شد (Arnon, 1967).

$$\text{Chlorophylla} = (19.3 \times A_{663} - 0.86 \times A_{645}) V / 100W \quad (1)$$

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

$$\text{Total Chlorophyll} = \text{Chlorophyll a} + \text{Chlorophyll b} \quad (3)$$

$$\text{Carotenoids} = 100 (A_{470} - 3.27 (\text{mg chl. a}) - 104 (\text{mg chl. b}) / 227 \quad (4)$$

که در آن، V: حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)، A: جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر و W: وزن تر نمونه بر حسب گرم می‌باشد.

سنجش میزان آنتوسیانین

برای سنجش میزان آنتوسیانین، ابتدا مقدار $0/2$ گرم از بافت تازه گیاهی با چهار میلی‌لیتر محلول اسیدکلریدریک یک درصد و متانول در یک هاون چینی ساییده شد. محلول حاصل به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در 13000 دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی به دقت به ظرف دیگری منتقل شد و برای انجام طیف سنجی مورد استفاده قرار گرفت و جذب محلول‌ها در طول موج 530 و 657 نانومتر خوانش شد (Mita *et al.*, 1997). در نهایت میزان آنتوسیانین برای هر عصاره با استفاده از رابطه ۵ محاسبه شد.

$$A = A_{530} - (0/25 A_{657}) \quad (5)$$

که در آن، A: جذب نور در طول موج‌های 530 و 657 نانومتر است.

سنجش میزان فلاونوئید

برای سنجش میزان فلاونوئید، ابتدا $0/2$ گرم از برگ در سه میلی‌لیتر اتانول اسیدی شامل اتانول و اسیدکلریدریک به نسبت ۹۹ به یک، به طور کامل ساییده و به مدت ۱۵ دقیقه در 12000 دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای 80 درجه سلسیوس قرار داده شد و پس از سرد شدن، میزان جذب نوری نمونه با

تولید ماده خشک گیاه دارویی بادرشبو کاهش یافت (Ramroud *et al.*, 2017). مصرف کودهای زیستی سبب افزایش عملکرد گل گیاه دارویی بابونه شد (Sanchez *et al.*, 2005; Fallahi *et al.*, 2009). در پژوهش دیگری مشخص شد که بیشترین عملکرد گل بابونه آلمانی در تلقیح با کود زیستی به دست آمد (Salehi *et al.*, 2016). جمع مواد آلی توسط باکتری ها در خاک، باعث افزایش توسعه ریشه و دسترسی بیشتر به عناصر غذایی شده است، به طوری که این شرایط موجب افزایش عملکرد می شود (Fallah *et al.*, 2007).

تیمار کودی مایکوریزا با میانگین ۱۱/۷ کیلوگرم بر هکتار به دست آمد. کاهش عملکرد در طی افزایش سطح تنش خشکی می تواند مربوط به افزایش اختصاص مواد فتوسنتزی به ریشه نسبت به بخش های هوایی گیاه باشد (Sreevalli *et al.*, 2001). نتایج پژوهشی نشان داد که تنش خشکی در حد ۵۰ درصد ظرفیت زراعی، عملکرد گل گیاه دارویی بابونه را نسبت به تیمار شاهد به میزان ۱۸/۱ درصد کاهش داد (Arazmjo *et al.*, 2010). بروز تنش خشکی موجب کاهش سطح برگ ها می شود؛ در نتیجه جذب نور و ظرفیت فتوسنتزی گیاه کاهش می یابد. با محدود شدن فرآورده های فتوسنتزی در شرایط کمبود آب،

جدول ۳- تجزیه واریانس تاثیر تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیر زیستی بر عملکرد سرشاخه های گلدار، رنگدانه های فتوسنتزی و غلظت عناصر پر مصرف در گیاه آویشن زراعی

Table 3. Analysis of variance of effect of water deficit stress, bio and non-bio-fertilizers on flowering branches yield, photosynthetic pigments and concentration of macro elements in Thyme (*Thymus vulgaris* L.)

Source of Variance	df	Mean square									
		Flowering Branches yield	Chlorophyll "a"	Chlorophyll "b"	Total Chlorophyll	Carotenoid	Anthocyanin	Flavonoid	Nitrogen (N)	phosphorus (P)	potassium (K)
Repetition(R)	2	4.37 ^{ns}	0.055 ^{ns}	0.012 ^{ns}	0.10*	0.00094 ^{ns}	0.00043 ^{ns}	0.0057**	0.039 ^{ns}	0.11 ^{ns}	0.022 ^{ns}
Water deficit Stress(W)	2	333.05**	18.01**	2.19**	32.26**	0.084**	0.0011*	0.13**	0.23**	0.046 ^{ns}	3.35 ^{ns}
Error a (R*A)	4	3.27	0.016	0.001	0.023	0.0001	0.000069	0.00053	0.015	0.00022	12.65
Fertilizers (B)	4	38.12**	0.75**	0.19**	0.84**	0.036**	0.00036 ^{ns}	0.40**	0.12**	5.25**	41.25**
W*B	8	43.30**	0.10**	0.11**	0.32**	0.00088 ^{ns}	0.0033**	0.00026 ^{ns}	0.105**	0.16*	2.68 ^{ns}
Error b	24	6.37	0.013	0.005	0.019	0.001	0.00023	0.00031	0.020	0.067	1.61
C.V. (%)		1.32	3.42	6.74	3.05	11.16	14.20	1.12	13.44	9.22	8.82

ns, *, **: به ترتیب نشان دهنده تفاوت غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

ns, *, **: non-significant difference and significant difference at 5% and 1% of probability levels, respectively.

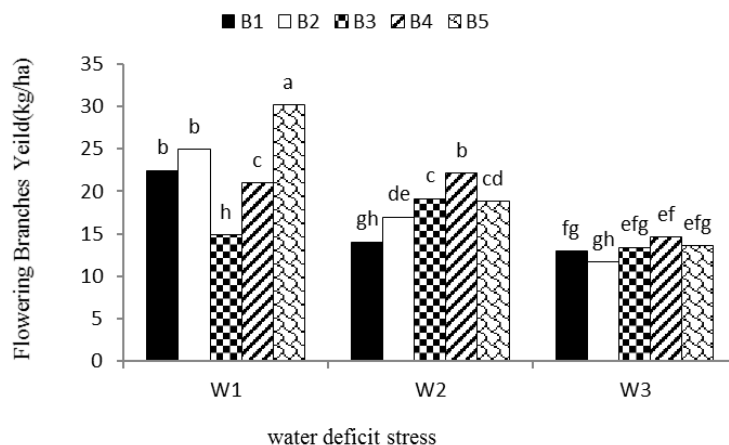
کلروفیل b و کل در تیمار تنش کم آبی شاهد (W₁) و به ترتیب در تیمار کودی آروسپیریوم و سودوموناس به میزان ۱/۸۳ و ۶/۵۸ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ و کمترین میزان کلروفیل a، b و کل در تیمار تنش کم آبی W₃ (۱۷ روز یک بار آبیاری) و به ترتیب در تیمار کودی NPK، مایکوریزا (گلووموس) و شاهد به میزان ۲/۰۴، ۲/۶۲ و ۲/۸ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ به دست آمد. به نظر می رسد که کاهش رنگیزه های فتوسنتزی با افزایش شدت تنش خشکی، به دلیل افزایش تولید رادیکال های آزاد اکسیژن در اثر تنش خشکی باشد که این رادیکال های آزاد، سبب پراکسیداسیون می شوند (Wise & Naylor, 1987)

رنگدانه های فتوسنتزی

کلروفیل a، b و کل

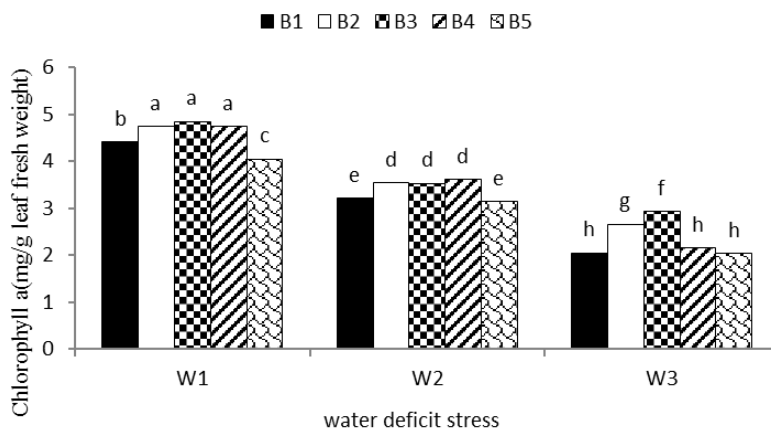
نتایج تجزیه واریانس داده ها (جدول ۳) نشان داد که برهمکنش تیمار تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیر زیستی بر میزان کلروفیل a، b و کل در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد و با افزایش سطح تنش کم آبی از W₁ به W₃، از میزان کلروفیل a، b و کل در برگ ها کاسته شد (جدول ۴). همان طور که در شکل های ۲ تا ۴ مشاهده می شود، بیشترین میزان کلروفیل a در تیمار تنش کم آبی شاهد (هفت روز یک بار آبیاری) و تیمار کودی آروسپیریوم به میزان ۴/۸۵ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ، بیشترین میزان

که در نتیجه به تجزیه و تخریب این رنگیزه‌ها می‌انجامد (Schutz & Fangmeir, 2001). کاهش مقدار کلروفیل a و b، نوعی مکانیسم حفاظت نوری است تا با کاهش جذب نور، از زنجیره فتوسنتزی گیاه حفاظت نمایند (Salehi, 2003).



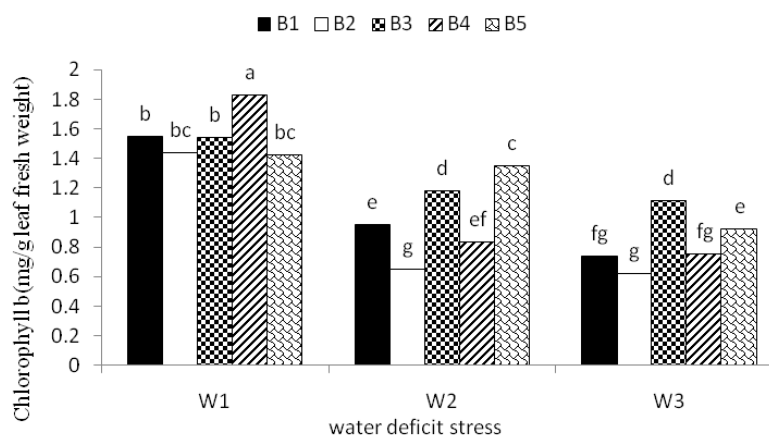
شکل ۱- اثر متقابل دور آبیاری و کود دهی بر عملکرد سرشاخه های گلدار در گیاه آویشن باغی. W₁= شاهد، W₂= دور آبیاری ۱۲ روز و W₃= دور آبیاری ۱۷ روز. B₁= شاهد، B₂= مایکوریزا (گلموس)، B₃= آزوسپیریلوم، B₄= سودوموناس و B₅= کود نیتروژن، فسفر و پتاسیم

Figure 1. Interaction effects of irrigation interval and fertilizers on flowering branches yield in *Thymus vulgaris*. W₁= 7 (control), W₂=12 and W₃= 17 (Irrigation interval). B₁= Contro, B₂= Mycorrhizal (Glomus), B₃=Azospirillum, B₄= Pseudomonas and B₅= NPK



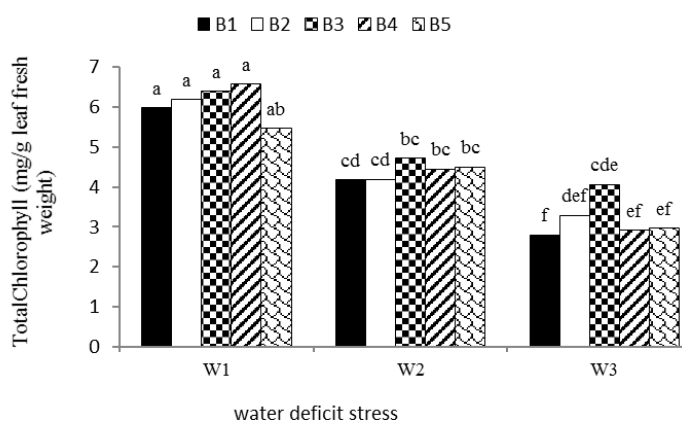
شکل ۲- اثر متقابل دور آبیاری و کود دهی بر میزان کلروفیل a در گیاه آویشن باغی. W₁= شاهد، W₂= دور آبیاری ۱۲ روز و W₃= دور آبیاری ۱۷ روز. B₁= شاهد، B₂= مایکوریزا (گلموس)، B₃= آزوسپیریلوم، B₄= سودوموناس و B₅= کود نیتروژن، فسفر و پتاسیم

Figure 2. Interaction effects of irrigation interval and fertilizers on chlorophyll a content in *Thymus vulgaris*. W₁= 7 (control), W₂=12 and W₃= 17 (Irrigation interval). B₁= Contro, B₂= Mycorrhizal (Glomus), B₃=Azospirillum, B₄= Pseudomonas and B₅= NPK



شکل ۳- اثر متقابل دور آبیاری و کود دهی بر میزان کلروفیل b در گیاه آویشن باغی. W₁= شاهد، W₂= دور آبیاری ۱۲ روز و W₃= دور آبیاری ۱۷ روز. B₁= شاهد، B₂= مایکوریزا (گلموس)، B₃= آزوسپیریلوم، B₄= سودوموناس و B₅= کود نیتروژن، فسفر و پتاسیم

Figure 3. Interaction effects of irrigation interval and fertilizers on chlorophyll b content in *Thymus vulgaris*. W₁= 7 (control), W₂=12 and W₃= 17 (Irrigation interval). B₁= Contro, B₂= Mycorrhizal (Glomus), B₃=Azospirillum, B₄= Pseudomonas and B₅= NPK



شکل ۴- اثر متقابل دور آبیاری و کود دهی بر میزان کلروفیل کل در گیاه آویشن باغی. W₁= شاهد، W₂= دور آبیاری ۱۲ روز و W₃= دور آبیاری ۱۷ روز. B₁= شاهد، B₂= مایکوریزا (گلموس)، B₃= آزوسپیریلوم، B₄= سودوموناس و B₅= کود نیتروژن، فسفر و پتاسیم

Figure 4. Interaction effects of irrigation interval and fertilizers on total chlorophyll content in *Thymus vulgaris*. W₁= 7 (control), W₂=12 and W₃= 17 (Irrigation interval). B₁= Contro, B₂= Mycorrhizal (Glomus), B₃=Azospirillum, B₄= Pseudomonas and B₅= NPK

(et al., 2016) و در مطالعه بر روی ریحان (Sharafzadeh & Zare, 2011) گزارش شد که تنش خشکی موجب کاهش کلروفیل a و b می‌شود. کاهش محتوای کلروفیل در گیاه نعنای تحت تنش خشکی نیز گزارش شده است (Zand et al., 2017). تنش خشکی باعث کاهش کلروفیل می‌شود، اما فسفر اثرات تنش

رنگیزه‌های گیاهی، مهم‌ترین عامل برای کسب نور و تولید محصول هستند و میزان هر دو کلروفیل، به رطوبت خاک وابسته است و با کاهش میزان رطوبت موجود در خاک، میزان کلروفیل موجود در گیاه کاهش پیدا می‌کند (Jaleel et al., 2008). در مطالعه بر روی گیاهان دارویی آویشن باغی و دنایی (Askary

برگ) و کمترین (۰/۲۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) میزان کاروتنوئید به‌ترتیب به تیمار W_3 (۱۷ روز یک بار آبیاری) و W_1 (شاهد، هفت روز یک بار آبیاری) تعلق داشت. اثر تیمار کودی نیز بر میزان کاروتنوئید نشان داد که بیشترین میزان کاروتنوئید (۰/۳۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) در تیمار کودی B_4 (سودوموناس) و کمترین میزان آن (۰/۲۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) در تیمار کودی B_3 (آزوسپیریلوم) مشاهده شد. در تنش‌های شدید، بر میزان کاروتنوئید که به عنوان حمایت‌کننده‌ای برای کلروفیل‌ها در برابر اکسیداسیون نوری به شمار می‌رود، افزوده می‌شود تا مانع تخریب بیشتر کلروفیل‌ها شود. در تحقیقی گزارش شد که با افزایش تنش خشکی، از مقدار کلروفیل‌ها کاسته و در مقابل بر میزان کاروتنوئیدها افزوده شد (Mohammadkhani & Abdalla & El-Khoshiban, 2007; Heidari, 2007). افزایش میزان کاروتنوئیدهای برگ در تیمار با سودوموناس را می‌توان به افزایش چشمگیر عنصر فسفر نسبت داد، زیرا فسفر، حامل انرژی در فرآیند فتوسنتز است. تنش کم آبی در سطح احتمال پنج درصد و تیمار کودهای زیستی و غیرزیستی در سطح احتمال یک درصد بر میزان فلاونوئید معنی‌دار شد، اما برهمکنش این فاکتورها بر میزان این رنگدانه مؤثر واقع نشد (جدول ۳).

بیشترین میزان فلاونوئید (۱/۶۷ درصد) در تنش کم آبی W_3 (۱۷ روز یک بار آبیاری) و کمترین میزان آن (۱/۴۸ درصد) در تیمار کم آبی W_1 (هفت روز یک بار آبیاری) مشاهده شد (جدول ۴). همچنین تیمار کودی سودوموناس، بیشترین میزان فلاونوئید (۱/۸۵ درصد) و تیمار کودی شاهد، کمترین میزان فلاونوئید (۱/۳۴ درصد) را تولید کردند (جدول ۴). گزارش شده است که در گیاه کلزا در شرایط بروز تنش خشکی، میزان فلاونوئید افزایش یافت (Sangtarash *et al.*, 2009b). البته محققان نتایج مشابهی را نیز روی گیاه *Stellaria longipes* نیز ارائه کردند. فلاونوئیدها به عنوان مواد آنتی‌اکسیدان، گیاهان را تا حدی از خسارت تنش اکسیداتیو در تنش خشکی است حفظ می‌کنند (Seyoum *et al.*, 2006). این نتایج بیانگر

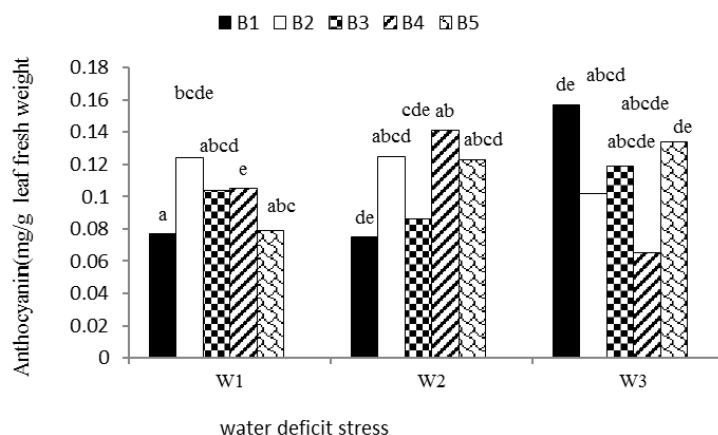
را تعدیل می‌کند. نتایج آزمایشی نشان داد که در شرایط کم آبی، با افزایش مصرف کود شیمیایی فسفر همراه با کود زیستی فسفات‌ها بارور دو، میزان کلروفیل-کل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (Heshmati *et al.*, 2016). افزایش کلروفیل برگ در شرایط تنش خشکی، تحت تأثیر کاربرد کود شیمیایی فسفره همراه با تلقیح باکتری‌های حل‌کننده فسفات بارور دو، نمایانگر افزایش توانایی گیاه جهت تحمل به شرایط تنش خشکی می‌باشد (Heshmati *et al.*, 2016; Hun & Lee, 2005). در تأیید نتایج به‌دست آمده، گزارش شده است که باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپیریلوم، غلظت کلروفیل‌ها را در گیاه گشنیز به‌طور چشمگیری افزایش دادند (Jahanshahi *et al.*, 2013).

آنتوسیانین، کارتنوئید و فلاونوئید

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که برهمکنش تیمار تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان آنتوسیانین و اثر تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیر زیستی به‌تنهایی بر میزان کاروتنوئید و فلاونوئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. با افزایش سطح تنش کم آبی از W_1 به W_3 ، بر میزان آنتوسیانین و کاروتنوئید در برگ‌ها افزوده شد (جدول ۴). همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، بیشترین میزان آنتوسیانین در تیمار تنش کم آبی W_3 (۱۷ روز یک بار آبیاری) و تیمار کودی شاهد به میزان ۰/۱۵۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ و کمترین آن در تیمار W_3 (۱۷ روز یک بار آبیاری) و تیمار کودی سودوموناس به میزان ۰/۰۶۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ به‌دست آمد. آنتوسیانین‌ها نیز مشابه فلاونوئیدها، رنگیزه‌های محافظ هستند که گیاه را در برابر تنش محافظت می‌کنند. در پژوهشی بیان شده است که مقدار آنتوسیانین بگونبای دائم‌گل در شرایط تنش خشکی افزایش یافته است (Chalker-Scott, 2002). این افزایش به علت نقش حفاظت نوری آنتوسیانین به‌وسیله حذف مستقیم رادیکال‌های آزاد اکسیژن در طول تنش اکسیداتیو است (Zahir *et al.*, 2003). با توجه به جدول ۴، بیشترین (۰/۳۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر

میتوکندریایی برمی گردد (Sangtarash *et al.*, 2009b).

آن است که فلاونوئیدها توانایی پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن را دارند. خواص آنتی اکسیدانی فلاونوئیدها به اثر بازدارندگی آن‌ها در تنفس



شکل ۵- اثر متقابل دور آبیاری و کود دهی بر بر میزان آنتوسیانین در گیاه آویشن باغی. W_1 = شاهد، W_2 = دور آبیاری ۱۲ روز و W_3 = دور آبیاری ۱۷ روز. B_1 = شاهد، B_2 = مایکوریزا (گلموس)، B_3 = آزوسپیریلوم، B_4 = سودوموناس و B_5 = کود نیتروژن، فسفر و پتاسیم

Figure 5. Interaction effects of irrigation interval and fertilizers on anthocyanin content in *Thymus vulgaris*. $W_1=7$ (control), $W_2=12$ and $W_3=17$ (Irrigation interval). B_1 = Contro, B_2 = Mycorrhizal (Glomus), B_3 =Azospirillum, B_4 = Pseudomonas and B_5 = NPK

پتاسیم (۱۷/۲۲ درصد) و تیمار کودی شاهد، کمترین میزان عنصر پتاسیم (۱۱/۶۶ درصد) را داشتند (جدول ۴). آبیاری و شرایط عدم تنش خشکی، باعث افزایش انحلال مواد معدنی و افزایش جابجایی و حرکت عناصر معدنی به سمت ریشه‌ها و به دنبال آن، افزایش قابلیت دسترسی عناصر برای گیاه و در نتیجه سبب افزایش جذب عناصر توسط گیاهان می‌شود. کاهش فسفر در پی تنش خشکی در ارتباط با کاهش فقر خاک است که منجر به کاهش انتقال عناصر از خاک به گیاه شده است. فسفر یکی از یون‌هایی است که در شرایط خشکی برای گیاه غیرقابل استفاده می‌شود، زیرا این یون شدیداً جذب رس‌های خاک می‌شود و فقط بخش کوچکی از یون فسفات به حالت محلول است. در شرایط خشکی، جذب یون فسفات، نه تنها به واسطه قابلیت حل کم آن، بلکه به دلیل کاهش قدرت جذب ریشه‌ها تقلیل پیدا می‌کند (Kafi & Mahdavi, 2012). نتایج پژوهشی روی بابونه آلمانی نشان داد که بیشترین میزان فسفر در برگ، به تیمار آبیاری پس از ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه تعلق داشت

غلظت عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که برهمکنش تیمار تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیر زیستی بر میزان عنصر نیتروژن و فسفر، به ترتیب در سطح احتمال یک و پنج درصد معنی‌دار شد، اما تنها تأثیر فاکتور کود دهی بر میزان عنصر پتاسیم در سطح احتمال یک درصد شد (جدول ۴). با افزایش سطح تنش کم آبی از W_1 به W_3 ، از میزان عنصر نیتروژن در برگ‌ها کاسته شد (جدول ۴). همان‌طور که در شکل‌های ۶ و ۷ مشاهده می‌شود، بیشترین میزان عناصر نیتروژن و فسفر در تیمار تنش کم آبی شاهد (هفت روز آبیاری، W_1) و به ترتیب تیمار کودی آزوسپیریلوم و سودوموناس به میزان ۱/۶۱ و ۳/۹۴ درصد به دست آمد. کمترین میزان عناصر نیتروژن و فسفر در تیمار کودی شاهد (B_1) و به ترتیب در تنش کم آبی ۱۲ (W_2) و ۱۷ (W_3) روز یک بار، به میزان ۰/۸۱ درصد و ۱/۶۱ درصد مشاهده شد. همان‌گونه که در جدول مقایسه میانگین (جدول ۳) مشاهده می‌شود، تیمار کودی مایکوریزا، بیشترین میزان عنصر

که با کاهش میزان آبیاری و تشدید سطح تنش رطوبتی از میزان فسفر برگ کاسته شد (Pirzad *et al.*, 2015). عدم تحرک فسفر در اسیدپته بالا و تثبیت آن، به‌ویژه در تنش های کمبود آب، دلیل اصلی کاهش تجمع آن در بافت برگ می باشد (Devau *et al.*, 2009).

جدول ۴- مقایسه میانگین تاثیر تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیر زیستی بر مقادیر کارتنوئید، فلاونوئید و میزان پتاسیم در برگ گیاه آویشن زراعی

Table 4. Means comparison of the effects of water deficit stress bio and non -bio-fertilizers on carotenoids, flavonoids and potassium in Thyme (*Thymus vulgaris* L.)

Treats			
Treatment	Carotenoid	Flavonoid	Potassium (K)
(W) Water Deficit Stress			
W1=7	0.22c	1.48 c	14.46a
W2=12	0.31b	1.58 b	13.86a
W3=17	0.37a	1.67 a	14.80a
Fertilizers (B)			
B1= Control	0.36a	1.34 e	11.66d
B2=Mycorrhizal(Glomus)	0.24c	1.42 d	17.22a
B3=Azospirillum brasilense	0.23c	1.73 b	15.33b
B4=Pseudomonas fluorescens	0.37a	1.85 a	14.66b
B5=NPK	0.30b	1.53 c	13.0c

میانگین هایی که در هر ستون با حروف مشابه مشخص شده اند در سطح پنج درصد اختلاف معنی دار ندارند.

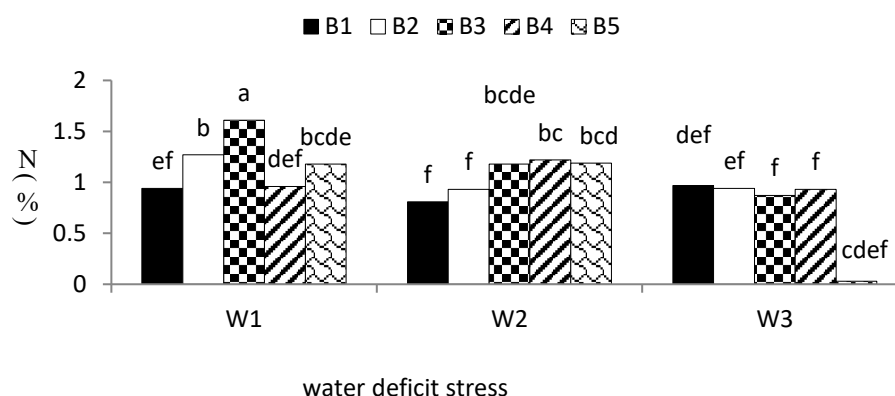
Means in each column followed by similar letter(s), are not significantly different at 5% probability level.

فسفر، در تیمار ترکیب کودهای زیستی ازتوباکتر، آروسپیریلوم و باسیلوس به‌دست آمد، که این امر را ناشی از تأثیر تمام ریزموجودات ذکر کردند (Mahfouz & Sharaf-Eldin, 2007). آن‌ها بیان داشتند که باکتری حل‌کننده فسفات، با تولید اسیدهای آلی، باعث تبدیل فسفات تثبیت شده به فسفات قابل دسترس شد و علاوه بر این، با افزایش رشد ریشه‌ها، جذب فسفر افزایش یافت. افزایش عنصر فسفر تا حدودی اثرات مستقیم و غیرمستقیم خشکی بر جذب فسفر خنثی را می‌کند و مقاومت به خشکی را در گیاه افزایش می‌دهد (Jones *et al.*, 2003). در بین عناصر غذایی، پتاسیم در باز و بسته کردن دهانه روزنه‌ها و نیز تنظیم اسمزی در سلول‌های ریشه گیاهان، نقش بسزائی دارد. قابلیت گیاهان در جذب این عنصر از محیط ریشه در شرایط نامساعد محیطی از جمله خشکی و شوری می‌تواند در میزان تولید گیاه مؤثر باشد (Abreu & Mazzafera, 2005). کاهش

بر اساس نتایج یک تحقیق، با دسترسی بیشتر به آب، افزایش میزان جذب ازت و فسفر در گیاه مشاهده شد. هر چه مقدار رطوبت خاک افزایش یابد، نیتروژن بیشتری به‌وسیله گیاه جذب می‌شود و با کاهش رطوبت، میزان نیتروژن جذب شده کاهش می‌یابد (Jones, 1980). در شرایط تنش خشکی، سرعت انتشار فسفر از خاک به سطح ریشه کاهش می‌یابد، چراکه یون فسفات، به ذرات رس چسبیده و کمتر در دسترس ریشه گیاه قرار می‌گیرد (Marschner, 1995). بررسی واکنش گیاه لوبیا به خشکی نشان داد که در شرایط تنش، توانایی جذب فسفر توسط ریشه‌های این گیاه ضعیف است. دلیل این موضوع، کاهش قابلیت تحرک فسفر در خاک‌هایی با محتوای پایین آب است، چراکه بر واکنش‌های تجزیه‌ای و فعالیت‌های زیستی آن تأثیرگذار است (Hadidi, 1999). نتایج پژوهشی روی گیاه دارویی رازیانه نشان داد که بیشترین درصد

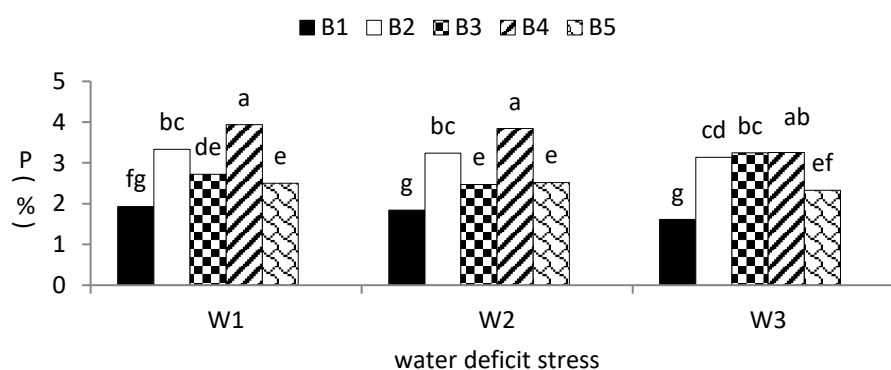
قرار دادن نیتروژن و فسفر مورد نیاز گیاه، از طریق افزایش رشد رویشی گیاه و به دنبال آن توسعه ریشه، باعث بهبود جذب و افزایش فراهمی پتاسیم و سایر عناصر ریزمغذی می‌شوند (Marschner, 1995). افزایش اسیدیته خاک و عدم تثبیت پتاسیم در حضور کودهای زیستی می‌تواند از دلایل افزایش دسترسی این عنصر در خاک و به تبع آن جذب بیشتر آن توسط گیاه باشد (Eidizadeh *et al.*, 2011).

پتاسیم در پی تنش خشکی با نتایج پژوهش‌های دیگر مطابقت دارد (Arazmjo *et al.*, Wu & Xia; 2006;). آن‌ها علت این کاهش را در ارتباط با کاهش آب خاک می‌دانند که منجر به کاهش جریان عناصر از خاک به گیاه می‌شود. استفاده از کود زیستی حاوی باکتری سودوموناس نیز تأثیر معنی‌داری بر غلظت پتاسیم دانه در گیاه دارویی رازیانه داشته است (Darzi *et al.*, 2009). کودهای زیستی علاوه بر در دسترس



شکل ۶- اثر متقابل دور آبیاری و کود دهی بر میزان عنصر نیتروژن در گیاه آویشن باغی. W₁= شاهد، W₂= دور آبیاری ۱۲ روز و W₃= دور آبیاری ۱۷ روز. B₁= شاهد، B₂= مایکوریزا (گلوبوس)، B₃= آزوسپیریلوم، B₄= سودوموناس و B₅= کود نیتروژن، فسفر و پتاسیم

Figure 6. Interaction effects of irrigation interval and fertilizers on nitrogen content content in *Thymus vulgaris*. W₁= 7 (control), W₂=12 and W₃= 17 (Irrigation interval). B₁= Contro, B₂= Mycorrhizal (Glomus), B₃=Azospirillum, B₄= Pseudomonas and B₅= NPK



شکل ۷- اثر متقابل دور آبیاری و کود دهی بر میزان عنصر فسفر در گیاه آویشن باغی. W₁= شاهد، W₂= دور آبیاری ۱۲ روز و W₃= دور آبیاری ۱۷ روز. B₁= شاهد، B₂= مایکوریزا (گلوبوس)، B₃= آزوسپیریلوم، B₄= سودوموناس و B₅= کود نیتروژن، فسفر و پتاسیم

Figure 7. Interaction effects of irrigation interval and fertilizers on phosphorus content content in *Thymus vulgaris*. W₁= 7 (control), W₂=12 and W₃= 17 (Irrigation interval). B₁= Contro, B₂= Mycorrhizal (Glomus), B₃=Azospirillum, B₄= Pseudomonas and B₅= NPK

نتیجه گیری کلی

کاربرد کودهای زیستی حدود رطوبتی مناسب برای این گیاه را به نحوی که کاهش رطوبت خاک، به کاهش فاحش در میزان رنگدانه‌ها و عناصر ماکرو منجر نشود، تغییر داد. در نتیجه، در مناطقی که با تنش خشکی شدید همراه هستند، می‌توان از این راهکار استفاده کرد و به نظر می‌رسد که در راستای نیل به اهداف کشاورزی پایدار، به جای کودهای شیمیایی قابل توصیه باشد.

با توجه به نتایج این تحقیق چنین نتیجه‌گیری می‌شود که با افزایش تنش خشکی، محتوای کلروفیل‌ها و عنصر فسفر کاهش یافت، اما افزایش محتوای رنگدانه‌های گیاه و عنصر مذکور با کاربرد کودهای زیستی آزوسپیریلوم و سودوموناس در شرایط تنش، مؤید تأثیرات مثبت آن‌ها از طریق صفات فیزیولوژیک گیاه است. بنابراین به نظر می‌رسد که می‌توان با

REFERENCES

1. Abdalla, M.M. & El-Khoshiban, N. H. (2007). The influence of water stress on growth, relative water content, photosynthetic pigments, some metabolic and hormonal contents of two *Triticum aestivum* cultivars. *Journal of Applied Science Research*, 3, 2062-2074.
2. Abdul-Jaleel, C., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Gopi, R., Somasundaram, R. & Panneerselvam, R. (2007). *Pseudomonas fluorescens* enhances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 60, 7-11.
3. Abreu, I. N. & Mazzafera, P. (2005). Effect of water and temperature stress on the content of active advances in medicinal. *Journal of Spices and Aromatic Crops*, 2, 413-416.
4. Alkire, B. H., Simon, J. E., Palevitch, D. & Putievsky, E. (1993). Water management for Midwestern peppermint (*Mentha piperita* L.) growing in highly organic soil. *Indiana, USA. Acta Horticulture*, 344, 544-556.
5. Arnon, A. N. (1967) Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23, 112-121.
6. Arazmjo, A., Heidari, M. & Ghanbari, A. (2010). The effect of water stress and three sources of fertilizers on flower yield, physiological parameters and nutrient uptake in chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 25(4), 482-494. (In Persian)
7. Askary, M., Behdani, M. A., Parsa, S., Jamialahmadi, M. & Mahmoodi, S. (2016). Assessment of changes in yield components, yield and some physiological traits of *Thymus vulgaris* L. and *Thymus daenensis* Celak under drought stress and application of manure. *Environmental Stresses in Crop Science Journal*, Accepted for publication.
8. Babae, K., Amini Dehaghi, M., Modares Sanavi, S. A. M., & Jabbari, R. (2010). Water deficit effect on morphology, proline content and thymol percentage of thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 26(2), 239-251. (In Persian with English Summary)
9. Bashan, Y. & Dubrovsky, J. (1996). *Azospirillum* spp. participation in dry matter partitioning in grasses at the whole plant level. *Biology and Fertility of Soils*, 23, 435-440.
10. Basu M. & Srivastava N. K. (1998). Root endophytes in medicinal plants: their population and effects. *Abstract of The 7th International Congress of Plant Pathology, Edinburgh, Scotland*, 9-16 August, 19.
11. Beauchamp C. (1993). Mode of action of plant growth-promoting rhizobacteria and their potential use as biological control agent. *Phytoprotection*, 74, 19-28.
12. Beneduzi, A., Ambrosini, A. & Passaglia, L. M. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and molecular biology*, 35, 1044-1051.
13. Bolan, N. (1991). A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and soil*, 134, 189-207.
14. Chalker-Scott, L. (2002). Do anthocyanins function as osmoregulators in leaf tissues? *Advances in Botanical Research*, 37, 103-106.
15. Chapman, H. D. & Pratt, P. F. (1982). *Method of Analysis for Soil, Plants and Water*, Chapman Publisher, Riverside, CA.
16. Darzi, M. T., Ghalavand, A. & Rejali, F. (2009). The effects of biofertilizers application on N, P, K assimilation and seed yield in fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.).
17. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 25(1), 1-19. (In Persian)
18. Devau, N., Cadre, E. L., Hinsinger, P., Jaillard, B. & Gérard, F. (2009). Soil pH controls the environmental availability of phosphorus. *Experimental and mechanistic modeling approaches. Applied Geo*, 24(11), 2163-2174.

19. Eidizadeh, K. H., Mahdavi Damghani, A. M., Ebrahimpoor, F. & Sabahi, H. (2011). Effects of integrated application of biological and chemical fertilizer and application method of biofertilizer on yield and yield components of maize. *Electronic Journal of Crop Production*, 4(3), 21-35. (In Persian)
20. Fallah, S., Ghalav, A. & Khajehpour, M. R. (2007). Effect of mixing manure with soil and its integration with chemical fertilizer on yield and yield components of corn (*Zea mays* L.). *Journal of Water and Soil*, 11(40), 233-242. (In Persian)
21. Fallahi, J., Koocheki, A. & Rezvani Moghadam, P. (2009). Effects of biofertilizers on quantitative and qualitative yield of chamomile (*Matricaria recutita*) as a medicinal plant. *Iran. Journal of Field Crops Research*, 7(1), 127-135. (In Persian).
22. Fu, J. & Huang, B. (2001). In volvement of antioxidant and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. *Environmental and Experimental Botany*, 45, 105-114.
23. Gupta, M., Prasad, A., Ram, M. & Kumar S. (2002). Effect of the vesicular–arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasciculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. *Bioresource Technology*, 81, 77-79.
24. Hadidi, N. (1999). Germination and early growth of two common bean cultivars as affected by water stress and seed size. *DIRASAT. Agricultural Sciences*, 26(1), 23- 35.
25. Heshmati, S., Amini Dehaghi, M., Rezazadeh, A. R. & Fathi Amirkhiz, K. (2016). Study the effect of different phosphorus fertilizers on physiological characteristic of photosynthetic pigments and soluble sugars of safflower under water deficit condition. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 14(2), 304-3017. (In Persian)
26. Hughes, S. G., Bryant, J. A. & Smirinoff, N. (1989). *Molecular biology application to studies of stress tolerance*. In: Plants under stress. Hamlyn, G. J., Flowers, T. J. & Jonea, M. B., editors. New York, Ambridge University Press, 131-135.
27. Hun, H. S. & Lee, K. D. (2005). Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis, mineral uptake and growth of lettuce under soil salinity. *Research journal of agriculture and biological sciences*, 1(3), 210-215.
28. Jaleel, C. A., Sankar, B., Murali, P. V., Gomathinayagam, M., Lakshmanan, G. M. A. & Panneerselvam, R. (2008). Water deficit stress effects on reactive oxygen metabolism in *Catharanthus roseus* L. impact on ajmalicine accumulation. *Olloids Surfaces Biointerfaces*, 62, 105-111.
29. Jahanshahi, S. H., Baghreizadeh, M. & Abotalebi, A. (2013). Effect of vermi compost, azotobacter and barvar II on some quantitative and qualitative traits of coriander (*Coriandrum sativum* L.) *Medicinal plant. Journal of Crop Production Research*, 4(4), 391-400. (In Persian)
30. Jones, C. A., Jacobsen, J. S. & Wraith, J. M. (2003). The effects of P fertilization on drought tolerance of malt barley. *In Westem Nutrient Management Conference*, 5, 88-93
31. Jones, H. (1980). Interaction and integration of adaptive response to water stress. *Royal Science Society of London, Series B*, 273, 193-205.
32. Kafi, M. & Mahdavi. A. (2012). *Environmental stresses tolerance mechanisms*. Ferdowsi University Publication, Mashhad, Iran, 466p. (In Persian)
33. Kennedy, A. C. & Smith, K. (1995). Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. *Plant and soil*, 170, 75-86.
34. Krizek, D. T., Britz, S. J. & Mirecki, R. M. (1998). Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. new red fire lettuce. *Physiologia Plantarum*, 103, 1-7.
35. Mahfouz, S. A. & Sharaf-Eldin, M. A. (2007). Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield and essential oil content of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *International Agrophysiocs*, 21, 361-366.
36. Marschner, H. (1995). *Mineral nutrition of higher plants*. 2nd edition, Academic Press. Ltd., London, 862p.
37. Mita, S., Murano, N., Akaike, M. & Nakamura, K. (1997). Mutants of *Arabidopsis thaliana* with pleiotropic effects on the expression of the gene for beta-amylase and on the accumulation of anthocyanin those are inducible by sugars. *Plant Journal*, 11, 841-851.
38. Mohammadkhani, N. & Heidari, R. (2007). Effects of water stress on respiration, photosynthetic pigments and water content in tow maize cultivar. *Pakistan Journal Biological Science*, 10, 4022-4028.
39. Muni Ram, D. & Singh, S. (1995). Irrigation and nitrogen requirements of Bergamot min on a sandy loam soil under sub-tropical conditions. *Agricultural water management*, 27, 45-54.
40. Narsian V. & Patel, H. (2006). Biodiversity of phosphate solubilizing microorganisms in various rhizosphere soils of Bhavnagar district. *Asian Journal of Microbiology Biotechnology and Environmental Sciences*, 8(2), 201-204.

41. Olsen, S. R., Cole, C. V., Watanabe, F. S. & Dean, L. A. (1954). *Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate*. U.S. Department of Agriculture Circular .939p.
42. Omidbaigi, R. (2000). *Production and processing of medicinal plants*. Publications Astan Quds Razavi, Volume III, Second Edition.
43. Pirzad, A., Shakiba, M. R., ZehtabSalmasi, S. & Mohammadi, S. A. (2015). Effects of water stress on some nutrients uptake in *Matricaria chamomilla* L. *Applied Field Crops Research*, 104, 1-7. (In Persian)
44. Rajendran K. & Devaraj P. (2004) Biomass and nutrient distribution and their return of *Casuarina equisetifolia* inoculated with biofertilizers in farm land. *Biomass and Bioenergy*. 26: 235-249.
45. Ramroudi, M., Chezgim, M. & Galavi, M. (2017). Effect of methanol spraying on quantitative traits and osmotic adjustments in moldavian (*Dracocephalum moldavica* L.) under low irrigation conditions. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 48(1), 149-158. (In Persian)
46. Rezapour, A. R., Heidari, M., Galavi, M. & Ramrodi, M. (2011). Effect of water stress and different amounts of sulfur fertilizer on grain yield, grain yield components and osmotic adjustment in *Nigella sativa* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 3, 384-396. (In Persian)
47. Salehi, S. P. (2003). Izozyme diversity of peroxidase, leucine aminopeptidase and glutamate oxaloacetate transaminase of fagus orientalis lipsky in beech forests of Iran: 1-15.
48. Salehi, A., Ghalavand, A., Sefidkon, F., Asgharzade, A. & Saeedi, K. (2016). Effects of zeolite, bio and organic fertilizers application on the growth, yield and yield components of German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) in organic cultivation. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 32(2), 203-215. (In Persian)
49. Sanchez Govin, E., Rodriguez Gonzales, H., Carballo Guerra, C. & Milanes Figueredo, M. (2005). Influencia de los abonos orgánicos y biofertilizantes en la calidad de las especies medicinales *Calendula officinalis* L., *Matricaria recutita* L. *Rev Cubana Plant Med*, 10, 1. 1-5.
50. Sangtarash, M. H., Qaderi, M. M., Chinnappa, C. C. & Reid, D. M. (2009a). Differential responses of two *Stellaria longipes* ecotypes to ultraviolet-B radiation and drought stress Flora-Morphology, Distribution. *Flora Morphology Functional Ecology of Plants*, 204(8), 593-603.
51. Sangtarash, M. H., Qaderi, M. M., Chinnappa, C. C. & Reid, D. M. (2009b). Carotenoid differential sensitivity of canola (*Brassica napus*) seedlings to ultraviolet-B radiation, water stress and abscisic acid. *Environmental and Experimental Botany*, 66(2), 212-219.
52. Schutz M. & Fangmeir E. (2001). Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Minaret) to elevated CO₂ and water limitation. *Environmental Pollution*. 114(2), 187-194.
53. Selosse M. A., Baudoin E. & Vandenkoornhuysse P. (2004). Symbiotic microorganisms, a key for ecological success and protection of plants. *Comptes rendus biologiques*, 327, 639-648.
54. Seyoum, A., Asres, K. & El-Fiky, F. K. (2006). Structure radical scavenging activity relationships of flavonoid. *Phytochemistry*, 67(18), 2058-2070.
55. Sharafzadeh, S. & Zare, M. (2011). Effect of drought stress on qualitative and quantitative characteristics of some medicinal plants from Lamiaceae family. *Advances in Environmental Biology*, 5(8), 2058-2062.
56. Simon, J. E., Bubenheim, R. D., Joly, R. J. & Chrles, D. J. (1992). Water stress induced alternations in essential oil content and composition of sweet basil. *Journal of Essential Oil Research*, 4, 71-75.
57. Sreevalli, Y., Baskaran, K., Chandrashekara, R. & Kuikkarni, R. (2001). Preliminary observations on the effect of irrigation frequency and genotypes on yield and alkaloid concentration in petriwinkle. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Science*, 22, 356-358.
58. Youssef, A., Edris, A. & Gomaa, A. (2004). A comparative study between some plantgrowth regulators and certain growth hormones producing microorganisms on growth and essential oil composition of *Salvia officinalis* L. Plants. *Annals of Agricultural Science-Cairo*, 49, 299-312.
59. Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and soil*, 25, 571-586.
60. Wise, R. R. & Naylor, A. W. (1987). Chilling enhanced photo-oxidation, the peoxidative destruction of lipids during chilling injury to photosynthesis and ultrasructure. *Plant Physiology*, 83, 272-2872.
61. Wu, S., Cao, Z., Li Z., Cheung, K. & Wong, M. (2005). Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: A *greenhouse trial*. *Geoderma*, 125, 155-166.
62. Wu, Q. & Xia, R. (2006). Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and water stress conditions. *Journal of Plant Physiology*, 163, 417-425
63. Zahir, Z. A., Arshad, M. & Frankenberger, W. T. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria: Applications and perspectives in agriculture. *Advances in Agronomy*, 81, 97-168.
64. Zaidi, A., Khan, M. S. & Amil, M. D. (2003). Interactive effect of rhizotrophic microorganisms on yield and nutrient uptake of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *European Journal of Agronomy*, 19, 15-21.

65. Zand, A., Aroiee, H., Chaichi, M. R. & Nemati, S. H. (2017). Effects of bio-fertilizers on some physiological characteristics, essential oil percentage and yield of spearmint (*Mentha spicata* L.) under deficit irrigation. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Science*, 32(1), 112-125. (In Persian)