Iranian Journal of Field Crop Science
Vol 49, No 4, Winter 2019 (67-86)
DOI: 10.22059/ijfcs.2018.234393.654329

علوم گیاهان زراعی ایران
دورهٔ ۴۹، شمارهٔ ۴، زمستان ۱۳۹۷ (ص۸۶-۶۷)

اثر نظام‌های مختلف کوددهی (زیستی و نانوزیستی) بر رشد، غلظت عناصر، عملکرد پیکره رویشی و اسانس رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) تحت تنش خشکی

رقیه محمدپور وشوایی*[۱]، احمد قنبری[۲]، محمود رمرودی[۳]، براتعلی فاخری[۴]

۱. دانشجوی دکتری آگرواکولوژی، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل
۲. استاد زراعت، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل
۳. دانشیار زراعت، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل
۴. استاد اصلاح نباتات، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

(تاریخ دریافت: ۹۶/۰۳/۰۸ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۲۸)

چکیده

جایگزینی نهاده‌های شیمیایی با نهاده‌های بوم‌سازگار به‌عنوان گامی در جهت گذار از کشاورزی رایج به پایدار، ضروری به‌نظر می‌رسد. در این راستا، آزمایشی در سال‌های ۱۳۹۳-۱۳۹۵، به‌صورت کرت‌های یک‌بار خرد شده و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی، در سه تکرار، در پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل اجرا شد. تنش خشکی در چهار سطح شامل ۳۰، ۵۰، ۷۰ و ۹۰ درصد آب قابل دسترس گیاه، به‌عنوان عامل اصلی و کود در چهار سطح، شامل نانوبیومیک، نیتروکسین، میکوریزا و عدم کاربرد کود به‌عنوان عامل فرعی، در نظر گرفته شد. اثر متقابل سال، تنش خشکی و کود برای کلیه صفات مورد بررسی، معنادار شد. در تیمار آبیاری با ۹۰ درصد رطوبت قابل دسترس و کود نانوبیومیک در سال دوم، بیشترین ارتفاع بوته (۳۷/۷۵ سانتی‌متر)، تعداد شاخه در بوته (۴۷/۰۱ شاخه)، وزن تر و خشک شاخ و برگ (به‌ترتیب۸۶/۶۰ و ۳۱/۸۲ گرم در بوته)، عملکرد پیکره رویشی (۱۷۵۰/۳۸ کیلوگرم در هکتار)، درصد نیتروژن و فسفر برگ (۱۳/۳۵ و ۰/۷۴۲ درصد) به‌دست آمد. بالاترین درصد پتاسیم برگ (۷/۰۷ درصد)، درصد اسانس (۱/۵۷۵ درصد) و عملکرد اسانس (۳۱/۲۲ و ۱۷۱۶/۹۳ گرم در بوته/کیلوگرم در هکتار)، به تیمار آبیاری با ۳۰ درصد رطوبت قابل دسترس و کود نانوبیومیک در سال دوم تعلق داشت. ترکیبات یک و هشت سینئول، β-ترپینئول و لیمونن، مهم‌ترین ترکیبات اسانس گیاه رزماری بودند. تنش خشکی، موجب تغییر و کودهای نانوزیستی و زیستی، موجب افزایش ترکیبات اسانس رزماری شدند. کود نانوبیومیک نسبت به سایر کودهای زیستی توانست تنش خشکی را بهتر تعدیل نماید و موجب بهبود رشد، عملکرد پیکره رویشی و اسانس و ترکیبات اسانس رزماری شود. بنابراین، در راستای نیل به اهداف کشاورزی پایدار، استفاده از آن، جهت بهبود ویژگی‌های زراعی و بیوشیمیایی رزماری توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اکلیل کوهی، تنش کم‌آبی، روغن فرار، نانوبیومیک، کوددهی.

Effects of different fertilization systems (bio and nano-bio) on growth, elements concentration, foliage and essential oil yield of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) under drought stress

Roghayeh Mohammadpour Vashvaei*[1], Ahmad Ghanbari[2], Mahmood Ramroudi[3], Barat Ali Fakheri[4]

1. Ph.D student of Agroecology, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol.
2. Professor of Agronomy, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol.
3. Associate Professor of Agronomy, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol.
4. Professor of Plant Breeding, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol.

(Received: May 29, 2017 - Accepted: February 17, 2018)

ABSTRACT

It seems that replacement of chemical inputs with ecological compatible inputs (organic amendments) is necessary as a step towards transition from common to sustainable agriculture. In this regard, an experiment was conducted in a split plot based on randomized complete block design with three replications, at the Agricultural Research Institute of Zabol University, during 2014-2016. Main plots consisted of irrigation with 30, 50, 70 and 90% of available water and subplots including plant nutrition with bioumik, nitroxin, mycorrhiza, and no fertilizer. Effects of interaction of year, drought stress and fertilizer was significant on all studied traits. The highest plant height (37.75 cm), number of branches per plant (47.01), fresh and dry weight of herb (86.60 and 31.82 g. plant^{-1}, respectively), foliage yield (1750 Kg.ha^{-1}) and leaf nitrogen and phosphorus content (13.35 and 0.742%, respectively) were obtained from in the irrigation with 90% available water and bioumik fertilizer treatment in the second year. The maximum potassium concentration (7.07%) and essential oil percentage (1.575%) and yield (31.22 and 1716.93 g. plant^{-1}/Kg.ha^{-1}) were obtained by irrigation with 30% available water and bioumik fertilizer in the second year. 1, 8 cineole, β-terpineol and limonene were the most important compounds of rosemary essential oil. Drought stress caused changes and bio and nano bio-fertilizers were increased rosemary essential oil components . Bioumik than other fertilizers, amend better drought stress and improved rosemary growth, foilage and essential oil yield and its components . Thus, to achieve sustainable agriculture, it is recommended to improve agronomic and biochemical properties of rosemary.

Keywords: Nano bioumik, rosemary, volatile oil, water deficit stress, fertilization.

* Corresponding author E-mail: ro_mohammadpour@yahoo.com

مقدمه

رزماری (*R. officinalis* L.) گیاهی دارویی چند ساله و بوته‌ای، از خانواده نعناعیان (Labiatae) و بومی مدیترانه است (Banjaw *et al*., 2016). این گیاه به‌خاطر داشتن ترکیبات فنلی متفاوت، به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی عمل می‌کند و در صنایع دارویی و غذایی، به‌وفور استفاده می‌شود (Terpinc *et al*., 2009). افزایش محتوای داروئی ترکیبات مطلوب گیاهان دارویی، با دستکاری تکنیک‌های زراعی از جمله آبیاری و کوددهی، امکان‌پذیر است. در طول فرآیند تکامل و تولید متابولیت‌های ثانویه، متابولیسم ثانویه گیاهان و متابولیت‌های حاصل از آن، تحت تأثیر پاسخ و سازگاری به تنش‌های محیطی متفاوت می‌باشند (Xia *et al*., 2007). تنش‌های غیرزنده، اثر قابل ملاحظه‌ای بر رشد، عملکرد و سطوح متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارند (Dixon & Paiva, 1995). کمبود آب، از مهم‌ترین عوامل محیطی کاهش رشد و عملکرد بسیاری از گیاهان زراعی، باغی و دارویی، به‌خصوص در مناطق خشک و نیمه خشک دنیاست (Babaee *et al*., 2010). تنش خشکی در مراحل مختلف رشد، به‌خصوص مراحل گلدهی و دانه‌بندی، محدود کننده عملکرد است (Kalamian *et al*., 2006). تنش آب، از طریق کاهش سطح برگ، بسته شدن روزنه‌ها، کاهش در قابلیت هدایت روزنه‌ها، کاهش در آبگیری کلروپلاست و سایر بخش‌های پروتوپلاسم، کاهش ساخت پروتئین و کلروفیل، سبب تقلیل فرآیند فتوسنتز می‌گردد. تنش آب به‌طور مستقیم می‌تواند بر فرآیندهای بیوشیمیایی مربوط به فتوسنتز اثر گذارد و به‌طور غیرمستقیم، ورود دی‌اکسیدکربن به داخل روزنه‌ها را که به‌علت شرایط کم‌آبی بسته‌اند، کاهش دهد. از این رو، انتقال مواد فتوسنتزی نیز تحت تأثیر تنش آب قرار می‌گیرد و موجب اشباع برگ‌ها از این مواد می‌شود که ممکن است فتوسنتز را محدود نماید. بدیهی است که با محدود شدن فرآورده‌های فتوسنتزی در شرایط کمبود آب، رشد گیاه و در نهایت عملکرد آن دچار نقصان می‌شود (Coronic *et al*., 1992). در مطالعه‌ای، تنش کم‌آبی در مقایسه با شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)، موجب کاهش قابل توجه پارامترهای رشد رویشی، غلظت نیتروژن، فسفر و پتاسیم در رزماری شد؛ درصد اسانس افزایش یافت، ولی عملکرد آن کاهش یافت. اجزای اصلی اسانس، از جمله α-پینن، یک و هشت سینئول و بورنئول افزایش یافتند و لینالول و کامفور کاهش یافتند (Hassan *et al*., 2013). در مطالعه‌ای دیگر روی گیاه رزماری، تنش شدید (دور آبیاری سه هفته یک‌بار)، محتوای اسانس چین اول را کاهش داد، ولی این کاهش، برای چین دوم اندک بود. با افزایش دور آبیاری (سه هفته یک‌بار)، غلظت نیتروژن و فسفر برگ کاهش یافت ولی غلظت پتاسیم برگ، ۱/۴۷ تا ۵/۷ درصد افزایش یافت. پاره‌ای از ترکیبات اسانس، از جمله β-پینن و یک و هشتسینئول، با افزایش دور آبیاری، به‌شدت افزایش یافتند (Leithy *et al*., 2006). مدیریت حاصلخیزی خاک، تولیدات کشاورزی و پایداری بوم‌نظام‌های زراعی را تحت تأثیر قرار خواهد داد. در پی بحران آلودگی‌های زیست‌محیطی و به‌منظور یافتن راهکارهای مناسب برای بهبود کیفیت خاک و محصولات کشاورزی و حذف آلاینده‌ها در بوم‌نظام‌های زراعی، با هدف حذف یا کاهش مصرف نهاده‌های شیمیایی، از کودهای زیستی استفاده شده است (Sharma, 2002). در برخی موارد، کودهای زیستی به عنوان جایگزین و در اکثر موارد، به‌عنوان مکمل کودهای شیمیایی می‌توانند پایداری تولید نظام‌های کشاورزی را تضمین نمایند (Han *et al*., 2006). کودهای زیستی، متشکل از ریزجانداران مفیدی هستند که هریک به منظور خاصی مانند تثبیت نیتروژن، رهاسازی یون‌های فسفات، پتاسیم، آهن و غیره تولید می‌شوند. این ریزجانداران، معمولاً در اطراف ریشه مستقر می‌شوند و گیاه را در جذب عناصر یاری می‌کنند (Wu *et al*., 2005). علاوه بر این، موجب بهبود کیفیت فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک می‌شوند (Cardoso & Kuyper, 2006). افزایش فراهمی عناصر، با افزایش انحلال مواد و عناصر غذایی و تولید مواد کلات‌کننده در محیط ریزوسفر، افزایش جذب عناصر غذایی، بیوسنتز هورمون‌های گیاهی، کنترل پاتوژن‌های گیاهی

و مقاومت گیاه در مقابل آنها، بهبود ساختمان خاک، تحریک بیشتر رشد گیاه و افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی و حتی اسیدیته بالای خاک، از جمله مکانیسم‌های افزایش دهنده رشد و عملکرد کمّی و کیفی گیاهان توسط این کودها می‌باشند (Mohammadpour Vashvaei *et al.*, 2015a & b; Nagananda *et al*., 2010 &b; 2017a). در مطالعه‌ای بر روی رزماری، بالاترین ارتفاع بوته، تعداد شاخه، وزن تر و خشک بوته، درصد روغن و عملکرد تر بوته، از تیمار هشت تن کمپوست، در ترکیب با *Azotobacter chroococcum* ، *Bacillus megaterium* و *Bacillus circulanse*، در مقایسه با سایر تیمارها به‌دست آمد (Abdullah *et al*., 2012). در مطالعه‌ای دیگر بیان شد که کود زیستی *Azotobacter vinelandii*، موجب بهبود خصوصیات رشدی رزماری شد. بالاترین محتوای اسانس، از گیاهان تحت تیمار کود زیستی، در شرایط آبیاری ۷۵ درصد به‌دست آمد. بیشترین غلظت نیتروژن، فقط از تیمار کود زیستی به‌دست آمد. ترکیبات β-پینن و یک و هشت سینئول، با استفاده از کود زیستی به‌شدت افزایش یافتند (Leithy *et al.*, 2006). فناوری نانو، فرصت‌های جدیدی را به منظور افزایش راندمان مصرف عناصر غذایی و به حداقل رساندن هزینه‌های حفاظت از محیط زیست، فراهم نموده است (Chinnamuthu & Murugesa Boopathi, 2009). در نانوکودها، عناصر غذایی، درون پوششی از نانومواد متخلخل و یا لایه پلیمری نازکی پوشیده می‌شوند و به مرور، در محیط ریزوسفر آزاد می‌شوند (DeRosa *et al.*, 2010). در فرمولاسیون نانوکودهای زیستی، علاوه بر فرمول‌بندی نانوکودها، از ریزجانداران مفید نیز استفاده شده است. بنابراین، استفاده از نانوکودهای زیستی، به منظور کنترل دقیق آزادسازی عناصر غذایی و تثبیت عناصر می‌تواند گامی مؤثر در جهت دستیابی به کشاورزی پایدار و سازگار با محیط زیست باشد. استفاده از نانوکودهای زیستی، منجر به بهبود کارایی جذب و مصرف عناصر غذایی، کاهش آلودگی خاک و مردابی شدن ذخایر آبی، به حداقل رسیدن اثرات منفی ناشی از مصرف بیش از حد کودها، کاهش تعداد دفعات کاربرد آن‌ها، ارتقای حفاظت از محیط زیست و کشاورزی پایدار می‌شود (DeRosa *et al.*, 2010). از آنجایی که بزرگ‌ترین مشکل مناطق گرم و خش، برای تولید مطلوب عملکرد کیفی و کمی گیاهان دارویی، مدیریت صحیح نهاده‌های کشاورزی، از جمله آب و کود می‌باشد، با مدیریت صحیح آن‌ها می‌توان به عملکرد مطلوب و سالم دست یافت. بنابراین، هدف از این آزمایش، انتخاب بهترین نوع کود و میزان آب، برای تولید بیشترین عملکرد پیکره رویشی و ماده مؤثره در گیاه رزماری بود.

مواد و روش‌ها

در این راستا، آزمایشی در سال‌های ۱۳۹۳تا ۱۳۹۵، به‌صورت کرت‌های یک‌بار خرد شده و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار، در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل، با عرض جغرافیایی ۳۰ درجه و ۵۵ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۶۱ درجه و ۳۱ دقیقه شرقی و با ارتفاع ۴۸۰ متر از سطح دریا اجرا شد. این منطقه از نظر آب و هوا، دارای زمستان‌های سرد و خشک و تابستان‌های گرم و خشک می‌باشد. بر اساس طبقه‌بندی کوپن، این منطقه جزء آب و هوای خیلی گرم و خشک محسوب می‌شود. آمار هواشناسی منطقه مورد مطالعه (ایستگاه سینوپتیک زهک) در سه سال، در جدول ۱ آمده است. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک قبل از آزمایش و در عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری، در جدول ۲ ارائه شده است. در این بررسی، تنش خشکی در چهار سطح، شامل ۳۰، ۵۰، ۷۰ و ۹۰ درصد رطوبت قابل دسترس گیاه به عنوان عامل اصلی و کود نانوزیستی (بیومیک)، زیستی (نیتروکسین و میکوریزا) و عدم استفاده از کود، به عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شد. نیاز غذایی رزماری، ۱۲۵ کیلوگرم در هکتار نیتروژن، ۷۵ کیلوگرم در هکتار P_2O_5 و ۵۰ کیلوگرم در هکتار K_2O می‌باشد (Leithy *et al.*, 2006). کود زیستی نانوبیومیک، متشکل از ازتوباکتر، باسیلوس، سودوموناس، آزوسپرولیوم، ۳۲ درصد اسید

هیومیک، دو درصد اسید فولیک، ۰/۱ درصد مولیبدن، ۱۲ درصد پتاسیم، ۰/۳۶ درصد منیزیم، ۴/۳ درصد منگنز، ۰/۳۶ درصد کلسیم، ۱۰ درصد روی، ۵/۹ درصد آهن و انواع اسیدهای آمینه است. کود زیستی نیتروکسین حاوی باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن از جنس *Azotobacter chorococum*، *Azospirillum lipoferoum* و حل‌کننده فسفات از جنس *Pseudomonas sp.* با 10^8 سلول زنده در هر میلی‌لیتر است. کود زیستی میکوریزا شامل دو گونه *Glumus intraradices* و *Glumus etunicatum* بودند. کودهای زیستی نانوبیومیک و نیتروکسین، به‌ترتیب به میزان سه و پنج کیلوگرم در هکتار و به صورت پودرپاشی استفاده شدند. برای تلقیح میکوریزا، از دو گرم اندام فعال قارچی (شامل اسپور و هیف) هریک از گونه‌ها، به صورت پودرپاشی استفاده شد.

جدول ۱- میانگین آمار هواشناسی منطقه مورد مطالعه (ایستگاه سینوپتیک زهک) در سال‌های ۱۳۹۳تا ۱۳۹۵

Table 1- Meteorological data of the study area (synoptic stations of Zahak) from 2014to 2016 .

Year	Rainfall (mm)	Absolute maximum temperature (°C)	Absolute minimum temperature (°C)	Average temperature (°C)	Average daily evaporation (mm)	Average relative humidity (%)
2014	53.5	49.0	-2.2	23.1	13.7	19.1
2015	110.9	47.4	-4.0	23.7	12.45	19.6
2016	22.2	48.4	-4.0	22.5	12.3	20.1
Long-term average	53.0	49.0	-7.0	21.7	13.6	39.2

Source: Zahak Weather Station منبع: ایستگاه هواشناسی زهک

جدول ۲- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک قبل از آزمایش در عمق صفر-۳۰ سانتی‌متر

Table 2- Physiochemical properties of soil befor experiment in the depth of 0-30 cm.

Soil texture	pH	EC ($dS.m^{-1}$)	Nitrogen (%)	Phosphorus (ppm)	Potassium (ppm)	Manganese (ppm)	Copper (ppm)	Zinc (ppm)	Iron (ppm)
Sandy-Loam	8.4	1.45	0.02	4.60	100.00	5.60	1.15	0.46	10.40

جهت آماده نمودن پودر، ابتدا سبوس گندم با محلول صمغ عربی (۲۰ گرم صمغ عربی در یک لیتر آب) ترکیب شد و سپس به کودهای نانوبیومیک، نیتروکسین و قارچ‌های *G. intraradices* و *G. etunicatum* آغشته شد و بلافاصله در کرت‌ها پاشیده شد و سپس آبیاری صورت گرفت. کود نانوبیومیک استفاده شده در این تحقیق، توسط شرکت بیوزر و کودهای زیستی استفاده شده، توسط شرکت فن‌آوری زیستی مهر آسیا (MABCO[1]) و تحت لیسانس و نظارت مستقیم مؤسسه خاک و آب کشور تولید شده بودند. در طول اجرای آزمایش، هیچ نوع کود شیمیایی، علف‌کش، آفت‌کش و یا قارچ‌کشی مصرف نشد. با آغاز رشد مجدد گیاهان در اسفند ماه هر سال، اعمال تیمارهای کودی تکرارشد. تکثیر این گیاه از طریق قلمه است. بدین منظور، در ۲۲ آذر ۱۳۹۲، از گیاهان چند ساله مزرعه تحقیقات گیاهان دارویی پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل، نمونه قلمه همسان تهیه شد و در گلخانه کشت شد. به منظور ریشه‌دهی، قلمه‌ها در گلدان‌های ۱۰ لیتری حاوی شن شسته شده در گلخانه و با شرایط کنترل شده (هشت ساعت تاریکی، ۱۶ ساعت روشنایی، ۱۸ درجه سانتی‌گراد در شب و ۲۴ درجه سانتی‌گراد در روز) نگه‌داری شدند. در طول این مدت، قلمه‌ها دو بار در هفته (یک بار با آب معمولی و یک بار با محلول غذایی هوگلند) آبیاری شدند. پس از گذشت دو ماه که ریشه‌ها تکمیل شد، قلمه‌ها به داخل گلدان‌های نایلونی منتقل شدند و در تاریخ ۲۲ اسفند وارد مزرعه شدند. هر واحد آزمایشی، دارای چهار ردیف کاشت به طول چهار متر با فاصله بین ردیف‌های ۹۰ سانتی‌متر و روی ردیف‌های ۳۰ سانتی‌متر بود. فاصله بین کرت‌های فرعی، یک متر و بین کرت‌های اصلی دو متر در نظر گرفته شد. برای اندازه‌گیری رطوبت خاک در طول آزمایش، از دستگاه تی دی آر[2] استفاده شد. بدین منظور، پروب‌های تی دی آر، به صورت عمودی در داخل خاک اشباع شده

1 - Mehr Asia Biotechnology Company

2 - TDR=Time Domain Reflectometry

کار گذاشته شدند. سپس در روزهای متوالی، رطوبت خاک به‌وسیله دستگاه اندازه و زمان آبیاری به‌دست آمد. پس از رسیدن رطوبت هر کرت به ۳۰، ۵۰، ۷۰ و ۹۰ درصد رطوبت قابل دسترس گیاه (به‌ترتیب ۱۸/۳۵، ۲۲/۲۵، ۲۶/۱۵ و ۳۰/۰۵ درصد حجمی خاک)، آبیاری به روش نشتی صورت گرفت. مبارزه با علف‌های‌هرز به‌صورت دستی و در طول دوره رشد در هر سال، ۵ مرتبه انجام شد. جهت استحصال بیشترین درصد اسانس، هر سه سال، برداشت اندام‌های هوائی، همزمان با حداکثر گلدهی در اواخر خرداد (به‌ترتیب ۲۵، ۲۲ و ۲۶ خرداد)، پس از حذف اثرات حاشیه (دو ردیف کناری و نیم متر ابتدا و انتهای کرت)، از دو ردیف میانی هرکرت به مساحت ۵/۴ متر مربع (۱/۸×۳) و از فاصله ۱۰ سانتی‌متری بوته‌ها از سطح زمین انجام شد. برای حفظ کمیت و کیفیت مطلوب اسانس، نمونه‌های برداشت شده در سایه و در دمای محیط خشک شدند (Jalal *et al*., 2009) و برای تعیین عملکرد پیکره رویشی (کیلو گرم در هکتار)، وزن آن‌ها اندازه‌گیری شد. صفات ارتفاع بوته (سانتی-متر)، تعداد شاخه در بوته، وزن تر و خشک شاخ و برگ (گرم در بوته)، درصد نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ‌ها و درصد اسانس، روی ۱۰ بوته که به‌طور تصادفی از هر کرت انتخاب شده بودند، اندازه‌گیری شد. عملکرد اسانس (گرم در بوته/ گیلوگرم در هکتار)، از حاصل‌ضرب درصد اسانس در وزن خشک شاخ و برگ و عملکرد پیکره رویشی به‌دست آمد. درصد پتاسیم برگ‌ها، به روش Chapman & Pratt(1961)، درصد نیتروژن برگ‌ها به روش میکروکجلدال (Bremner & Mulvany, 1982) و درصد فسفر برگ‌ها به روش Jackson (1973) تعیین شدند. برای استخراج اسانس اندام‌های هوائی خشک شده، از دستگاه کلونجر (روش تقطیر با بخار آب) استفاده شد. بدین منظور، از هر نمونه خشک شده، ۱۰۰ گرم آسیاب شد و به مدت ۳/۵ ساعت با استفاده از روش تقطیر با آب، اسان آن‌ها گرفته شد و (روغن زرد رنگ و شفاف) پس از رطوبت‌زدائی اسانس، وزن آن، تعیین شد. سپس اسانس، در ظروف شیشه‌ای درب بسته قرار داده شد و جهت تعیین ترکیبات آن، به یخچالی با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد منتقل شد. ترکیبات تشکیل دهنده اسانس، توسط دستگاه کروماتوگرافی گاز (GC) مدل شیماتزو[1] مجهز به دتکتور F.I.D (یونیزاسیون شعله هیدروژن) و داده پرداز Chromatepac، ستون DB-5 و نیمه قطبی به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۲۵ میکرون و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون، گاز حامل هلیم، سرعت جریان گاز حامل ۲۲/۷ سانتی‌متر بر ثانیه، برنامه حرارتی ۲۵۰-۵۰ درجه سانتی‌گراد، با سرعت چهار درجه سانتی‌گراد بر دقیقه و دمای محفظه تزریق ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد و کروماتوگرافی گازی مجهز به طیف سنج جرمی (GC/MS)، Varin-3400، متصل شده با طیف سنج جرمی (Saturn II)، ستون DB-5 و نیمه قطبی به‌طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۲۵ میکرون و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون، دتکتور Ion trap، گاز حامل هلیم، سرعت جریان گاز حامل ۳۵ میلی‌لیتر بر دقیقه و انرژی یونیزاسیون در طیف سنج جرمی معادل ۷۰ الکترون وات، برنامه حرارتی ۲۴۰-۶۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت سه درجه سانتی-گراد بر دقیقه و دمای محفظه تزریق ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد، واقع در مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور تعیین شد. پس از تزریق اسانس به دستگاه‌های نامبرده، با استفاده از زمان بازداری ترکیب‌ها (tR)، اندیس بازداری (RT) طیف جرمی و مقایسه این پارامترها با ترکیب‌های استاندارد و یا با اطلاعات موجود در کتابخانه، نسبت به شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس اقدام شد. درصد کمّی این ترکیب‌ها نیز با محاسبه سطوح زیر منحنی در کروماتوگرام‌ها محاسبه شد (Adams, 2001). ویژگی های مورد بررسی پس از میانگین‌گیری (برای ۱۰ نمونه اندازه‌گیری شده) از سه سال زراعی، تجزیه واریانس مرکب و مقایسه میانگین شدند. جهت اطمینان بیشتر از اختلافات معنادار، مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد و با آزمون چند دامنه‌ای توکی انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری نتایج تحقیق با استفاده از نسخه ۹/۲ نرم افزار SAS[2] (SAS Institute,

1 - Shimatzu
2 - Statistical Analysis System

2013, Cary, NC.) انجام شد.

نتایج و بحث

رشد رویشی

اثرات اصلی سال، تنش خشکی، کود و برهمکنش آن‌ها بر ارتفاع بوته، تعداد شاخه در بوته، وزن تر و خشک شاخ و برگ در سطح احتمال یک درصد معنا-دار شد (جدول ۳). در تیمار آبیاری با ۹۰ درصد رطوبت قابل دسترس و کود زیستی نانوبیومیک در سال دوم، بیشترین ارتفاع بوته (۳۷/۷۵ سانتی‌متر)، تعداد شاخه در بوته (۴۷/۰۱ شاخه)، وزن تر و خشک شاخ و برگ (به‌ترتیب۸۶/۶۰ و ۳۱/۸۲ گرم در بوته) به‌دست آمد و پس از آن، تیمار آبیاری با ۹۰ درصد رطوبت قابل دسترس و کود زیستی نیتروکسین در سال دوم به‌ترتیب با مقادیر ۳۱/۷۱ سانتی‌متر،۴۳/۷۲ شاخه، ۸۵/۹۷ و ۲۸/۹۴ گرم در بوته قرار داشت (جدول ۴). در تیمار آبیاری با ۳۰ درصد رطوبت قابل دسترس و عدم استفاده از کود در سال اول، کمترین ارتفاع بوته، تعداد شاخه در بوته، وزن تر و خشک شاخ و برگ (به‌ترتیب ۹/۷۸ سانتی‌متر، ۴/۶۵ شاخه، ۶/۵۵ و ۴/۷۳ گرم در بوته) به‌دست آمد و پس از آن، تیمار آبیاری با ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس و عدم استفاده از کود در سال اول (۸۲/ ۱۲سانتی‌متر، ۴/۸۹ شاخه، ۸/۹۱ و ۵/۵۵ گرم در بوته) قرار داشت (جدول ۴). ویژگی‌های رشد رویشی در سال‌های مختلف متفاوت بود. بیشترین رشد رویشی، به سال دوم و کمترین آن به سال اول تعلق داشت. رزماری گیاهی چندساله است و از آن‌جایی که در سال اول، هنوز خوب ریشه‌دوانی نکرده است، بنابراین جذب عناصر غذایی توسط آن، پایین است؛ از این رو، لذا کمترین مقدار را از نظر خصوصیات رشد رویشی داشته است. بهترین عملکرد پیکره رویشی و اسانس رزماری، ۱۸ ماه پس از کاشت به‌دست می‌آید (Begum *et al.*, 2013). از سال دوم به بعد، به‌واسطه افزایش سن و پیری گیاهان، خصوصیات رویشی نسبت به سال دوم کمتر می‌شوند. تنش خشکی موجب کاهش ویژگی-های رشد رویشی شد. ارتفاع بوته، تعداد شاخه در بوته، وزن تر و خشک شاخ و برگ مانند هر اندام رویشی یا زایشی دیگر، به شدت تحت تأثیر عناصر غذایی و آب قرار می‌گیرند (Erkossa *et al*., 2002). بر اساس نظر Sreevalli *et al.* (2001)، کاهش عملکرد در طی افزایش سطح تنش خشکی می‌تواند مربوط به افزایش اختصاص مواد فتوسنتزی به ریشه، نسبت به بخش هوایی گیاه باشد. تنش خشکی موجب کاهش مقدار آب، آماس، پتانسیل کل آب، پژمردگی، بسته شدن روزنه‌ها و کاهش در بزرگ شدن سلول‌ها و رشد رویشی می‌شود. کمیّت و کیفیت رشد رویشی گیاه، به تقسیم سلولی، بزرگ شدن سلول‌ها و تمایز، بستگی دارد و کلیه این حوادث، متأثر از تنش خشکی می-باشند (Kusaka *et al*., 2005). بر اساس گزارش Mohammadpour Vashvaei *et al.* (2015a)، تنش خشکی موجب کاهش ویژگی‌های رشد رویشی آویشن (*Thymus vulgaris* L.) شد.

جدول ۳ -تجزیه واریانس مرکب ویژگی‌های رشد رویشی، غلظت عناصر و عملکرد رویشی و اسانس رزماری، تحت اثرات تنش خشکی، کودهای زیستی و نانوزیستی در سال‌های ۱۳۹۳ تا ۱۳۹۵

Table 3- Combined analysis of variance of the effects of drought stress and bio and nano bio-fertilizers on rosemary vegetative characteristics, elements concentration and foliage and essential oil yield during 2014-2016.

S.O.V.	df	MS										
		Plant height	No. of branches	Fresh weight of foliage	Dry weight of foliage	Foliage yield	Leaf nitrogen	Leaf phosphorus	Leaf potassium	Essential oil	Essential oil yield	Essential oil yield
Year	2	660.83**	4089.03**	17017.88**	296.36**	896480.36**	0.0004^{ns}	0.168388**	0.3346**	0.000319**	927.11**	2804195.22**
Replication (Year)	6	0.41	1.39	1.90	1.06	3196.45	0.1361	0.000129	0.0708	1.414829**	1.40	4240.91
Drought stress	3	465.51**	998.38**	3479.36**	820.29**	2481370.53**	139.1881**	0.414376**	43.2908**	0.000290**	93.09**	281537.49**
Drought stress×Year	6	3.83**	144.15**	96.54**	3.53**	10691.30**	0.0192^{ns}	0.001022**	0.0431**	0.554091**	17.95**	54326.21**
Drought stress ×Replication (Year)	18	0.04	0.05	0.21	0.05	148.35	0.0109	0.000102	0.0023	0.106909**	0.03	102.21
Bio-fertilizer	3	506.46**	515.99**	2475.36**	736.08**	2226653.71**	137.2809**	0.231775**	75.7576**	0.000060**	1378.06**	4168094.31**
Drought stress ×Bio-fertilizer	9	11.83**	24.82**	119.06**	22.41**	67784.29**	17.5555**	0.025696**	4.7309**	1.539987**	11.89**	36002.16**
Bio-fertilizer×Year	6	1.03**	52.50**	123.20**	37.79**	114334.26**	0.1521**	0.012801**	0.0469**	0.028893**	183.33**	554475.83**
Drought stress×Bio-fertilizer×Year	18	5.30**	15.57**	16.65**	3.94**	11926.32**	0.0572**	0.000970**	0.0067*	0.113348**	4.38**	13244.77**
Error	72	0.09	0.05	0.26	0.05	165.17	0.0173	0.000033	0.0034	0.010416	0.16	491.06
C.V (%)		1.26	1.30	1.44	1.51	1.50	1.25	1.64	2.03	2.51	3.49	3.51

*,** and ns: significant at 0.05 and 0.01 probability levels and non significant, respectively. *، ** و ns: به‌ترتیب معنادار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد و ، غیر معنادار

جدول ۴- مقایسه میانگین ویژگی‌های رشد رویشی رزماری، تحت اثرات متقابل تنش خشکی و کودهای زیستی و نانوزیستی در سال‌های ۱۳۹۳، ۱۳۹۳ و ۱۳۹۵

Table 4- Mean comparison of the effects of drought stress and bio and nano bio-fertilizers interactions on rosemary vegetative characteristics during 2014-2016.

Drought stress	Bio and nano bio-fertilizer	Plant height (cm)			No. of branches (No.plant^{-1})			Fresh weight of foliage (g.plant^{-1})			Dry weight of foliage (g.plant^{-1})		
		2014	2015	2016	2014	2015	2016	2014	2015	2016	2014	2015	2016
90% available water	Mycorrhiza	23.55^{mn}	29.32^{de}	29.20de	10.48^{q}	42.82^{c}	22.07^{j}	31.77^{mn}	62.10^{c}	33.76l	17.77^{j}	21.95^{fg}	21.65^{g}
	Nitroxin	24.98^{k}	31.71^{b}	30.43^{c}	12.33^{p}	43.72^{b}	24.39^{f}	38.77^{k}	85.97^{a}	41.77^{ij}	22.53^{f}	28.94^{b}	25.52^{d}
	Bioumik	30.12^{cd}	37.75^{a}	30.45^{c}	13.15^{o}	47.01^{a}	26.66^{e}	41.00^{j}	86.60^{a}	43.85^{h}	23.37^{e}	31.82^{a}	26.55^{c}
	No-inoculated	18.16^{v}	26.06^{ij}	22.48^{op}	6.65^{y}	21.56^{i}	17.78l	17.76^{u}	49.83^{e}	20.08^{t}	10.70^{qr}	14.64l	15.63^{k}
70% available water	Mycorrhiza	20.72^{qr}	26.58^{hi}	27.83^{g}	8.50^{uvw}	23.56^{gh}	18.17l	28.85^{o}	60.59^{c}	23.87^{rs}	12.48^{n}	13.77^{m}	15.88^{k}
	Nitroxin	20.96^{qr}	28.78^{ef}	28.73^{ef}	9.43st	26.95^{e}	19.50^{k}	26.64^{pq}	61.22^{c}	27.11^{p}	14.75l	18.03^{ij}	19.94^{h}
	Bioumik	21.60^{pq}	28.32^{efg}	28.62^{ef}	11.99^{p}	29.40^{d}	20.62^{j}	30.63	71.87^{b}	30.77^{n}	17.77^{j}	28.92^{b}	20.05^{h}
	No-inoculated	14.78^{x}	23.40^{mno}	19.33t^{u}	5.56^{z}	19.35^{k}	9.98^{qrs}	14.62^{wx}	48.00^{fg}	15.88^{vw}	8.72st	11.02^{pqr}	11.49^{opq}
50% available water	Mycorrhiza	19.45^{stu}	26.13^{ij}	23.82l^{m}	7.82^{w}	23.27^{h}	14.65^{n}	20.62^{t}	46.50^{g}	17.71^{u}	11.43^{pqr}	12.18^{no}	11.84^{no}
	Nitroxin	18.81^{uv}	27.49^{gh}	25.32^{jk}	7.78^{wz}	24.23^{fg}	14.65^{n}	23.69^{s}	49.10^{ef}	20.81^{t}	13.54^{m}	17.79^{j}	14.78l
	Bioumik	20.41^{rs}	27.47^{gh}	26.21^{ij}	8.78^{tu}	24.82^{f}	15.89^{m}	25.40^{qr}	61.01^{c}	25.24^{qrs}	14.82l	22.42^{fg}	18.59^{i}
	No-inoculated	12.82^{y}	20.09^{rst}	18.62^{uv}	4.89$^{z\alpha}$	17.82l	9.65^{rs}	8.91$^{\alpha}$	32.74l^{m}	14.88^{wx}	5.55^{u}	10.74^{qr}	10.67^{r}
30% available water	Mycorrhiza	13.67^{y}	22.69^{no}	18.80^{uv}	5.16$^{z\alpha}$	20.50^{j}	8.67^{uv}	12.86^{y}	42.70^{hi}	14.24^{wxy}	8.25^{t}	10.85^{qr}	9.51^{s}
	Nitroxin	18.30^{v}	24.56^{kl}	23.82l^{m}	7.06^{xy}	23.56^{gh}	10.33^{qr}	13.89^{xy}	47.12^{g}	15.12^{wx}	8.59^{t}	13.39^{m}	10.90^{qr}
	Bioumik	18.48^{uv}	24.83^{k}	24.67^{kl}	7.99^{vw}	24.54^{f}	9.82^{qrs}	17.25^{uv}	51.72^{d}	18.12^{u}	10.87^{qr}	19.81^{h}	11.72^{nop}
	No-inoculated	9.78^{z}	14.81^{x}	16.84^{w}	4.65$^{\alpha}$	12.49^{op}	6.51^{y}	6.55$^{\beta}$	31.33^{mn}	11.05^{z}	4.73^{v}	8.66^{t}	7.96^{t}

برای هر صفت در سه سال، حروف مشابه Tنمایانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در آزمون توکی می‌باشد.

For each trait in the three years, similar letters indicate non significant differences at 0.05 probability level based on Tukey test.

کودهای زیستی و نانوزیستی، موجب افزایش ویژگی‌های رشد رویشی شدند. بر اساس نتایج به‌دست آمده در این آزمایش، هر چند که با کاهش میزان آب مصرفی و به تبع آن، بروز تنش خشکی، از عملکرد ماده خشک در گیاه کاسته شده است، اما با بکارگیری کودهای نانوزیستی و زیستی، به‌ویژه در سطوح بالای تنش، می‌توان تا حدی از بروز اثرات سوء ناشی از تنش خشکی بر رشد این گیاه کاست که این مسأله را می‌توان به تأثیر مثبت کودهای زیستی، در بهبود شرایط تغذیه‌ای گیاهان در شرایط تنش در نظر گرفت (Mohammadpour Vashvaei *et al.*, 2017c & 2015a). در منابع مختلف، به نقش مفید و موثر میکروارگانیزم‌ها در بهبود رشد و عملکرد گیاهان دارویی اشاره شده است. Mohammadpour Vashvaei *et al.* (2015a) گزارش دادند که کودهای زیستی، موجب بهبود ویژگی‌های رشد رویشی آویشن شدند. بر اساس تحقیقات Khoram-Dell *et al.* (2008)، کاربرد مایه تلقیح آزوسپیریلوم و ازتوباکتر و قارچ مایکوریزا، منجر به افزایش ارتفاع بوته، شاخص سطح برگ، تجمع ماده خشک و سرعت رشد سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) نسبت به شاهد گردید. در این میان، تلفیق میکوریزا و آزوسپیریلوم، بیشترین تأثیر را در افزایش صفات مورد مطالعه داشت. Vinutha (2005) گزارش نمود که تلقیح گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) با گونه‌های مختلف باکتری ازتوباکتر و قارچ گلوموس، سبب افزایش زیست توده، سرعت رشد و میزان اسانس گیاه شد. در تحقیقی، کاربرد کود زیستی آزوسپیریلوم و ازتوباکتر، سبب افزایش ارتفاع بوته و وزن تر و خشک اندام‌های هوایی گیاه مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.)، در چین های اول و دوم، طی دو فصل گردید (Youssef *et al.*, 2004). از آن‌جا که کود زیستی نانوبیومیک نسبت به سایر کودهای مورد استفاده، کامل‌تر می‌باشد، بنابراین رشد بهتر گیاه در نتیجه استفاده از این کود، دور از انتظار نیست. افزودن کود نانوزیستی بیومیک به خاک، نه تنها فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه را افزایش داده است، بلکه با بهبود شرایط فیزیکی و فرایندهای حیاتی خاک (Chen, 2006)، ضمن ایجاد یک بستر مناسب برای رشد ریشه، موجبات افزایش دسترسی به عناصر معدنی و در نهایت رشد رویشی را فراهم آورده است. عناصر غذایی پرمصرف و کم‌مصرف موجود در نانوبیومیک، با آزاد شدن تدریجی، موجب رشد بهتر گیاه در شرایط بحرانی شده‌اند (DeRosa *et al.*, 2010).

عملکرد پیکره رویشی

در هر سه سال زراعی، عملکرد شاخ و برگ ، در سطح احتمال یک درصد تحت، تأثیر اثرات اصلی سال، تنش خشکی، کود و برهمکنش آنها قرار گرفت (جدول ۳). در تیمار آبیاری با ۹۰ درصد رطوبت قابل دسترس و کود نانوزیستی بیومیک در سال دوم، بیشترین عملکرد شاخ و برگ (۱۷۵۰/۳۸ کیلوگرم در هکتار) به‌دست آمد. پس از آن، تیمار آبیاری با ۹۰ درصد رطوبت قابل دسترس و کود زیستی نیتروکسین در سال دوم، با ۱۵۹۱/۷۰ کیلوگرم در هکتار قرار داشت اختلاف این دو تیمار در سطح احتمال پنج درصد، معنی‌دار بود. در تیمار آبیاری با ۳۰ درصد رطوبت قابل دسترس و عدم استفاده از کود زیستی در سال اول، با ۲۶۰/۱۵ کیلوگرم در هکتار، کمترین عملکرد شاخ و برگ را به خود اختصاص داد (جدول ۵). پس از آن، تیمار آبیاری با ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس و عدم استفاده از کود در سال اول، با ۴۵۳/۷۵ کیلوگرم در هکتار قرار داشت و اختلاف این دو تیمار، در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۵). عملکرد پیکره رویشی سال دوم نسبت به سال سوم و سال سوم نسبت به سال اول، بیشتر بود. در توجیه این نتیجه می‌توان به این نکته اشاره کرد که بهترین عملکرد پیکره رویشی و اسانس رزماری ۱۸ ماه پس از کاشت به‌دست می‌آید (Begum *et al*., 2013). تنش خشکی موجب کاهش ویژگی عملکرد پیکره رویشی شد. تنش خشکی، یکی از مهم‌ترین علل از دست دادن محصول در سرتاسر جهان است و موجب کاهش ۵۰ درصد و بیشتر عملکرد می‌شود (Wang *et al*., 2003). کاهش عملکرد شاخ و برگ در نتیجه کاهش رطوبت خاک می‌تواند ناشی از اثر زیان‌بار تنش آبی بر رشد و توسعه پیکره رویشی گیاه باشد. شرایط تنش، باعث شکل‌گیری گونه‌های اکسیژن فعال (ROS[1]) می‌شود (Turkan *et al*., 2005). فعالیت این گونه‌های اکسیژن فعال، باعث بروز صدماتی مانند اکسید شدن چربی‌ها، تغییر ساختار غشاء و از هم پاشیدگی یکپارچگی آن، تغییر ساختار پروتئین‌ها، غیر فعال شدن آنزیم‌ها، بی‌رنگ شدن یا از بین رفتن رنگدانه‌هایی مانند کلروفیل، حمله به مولکول‌های آبی مثل DNA و اختلال در این رشته‌های پروتئینی می‌شود (Habibi *et al*., 2004). این صدمات فیزیولوژیک، موجب کاهش رشد و توسعه سلول‌ها، به‌ویژه در ساقه و برگ‌ها، کاهش سطح برگ، از بین رفتن کلروفیل و در نتیجه کاهش فتوسنتز و اجزای رشد رویشی و در نهایت عملکرد پیکره رویشی می‌شود. Mohammadpour Vashvaei *et al*. (2015a) گزارش دادند که تنش خشکی، موجب کاهش عملکرد پیکره رویشی گیاه آویشن شد. بهبود ویژگی عملکرد پیکره رویشی در تیمارهای کود زیستی نسبت به تیمار عدم استفاده از کود زیستی، حاکی از تأثیر مثبت کودهای زیستی بر این صفات بود. این نتایج مشابه یافته‌های Mohammadpour Vashvaei *et al*. (2015a) در آویشن، Kapoor *et al*. (2002, 2004 and 2007) در گشنیز (*Coriandrum sativum* L.)، رازیانه و گندواش (*Artemisia annua* L.)، Gharib *et al*. (2008) در مرزنجوش (*Origanum majorana* L.)، Mahfouz & Sharaf- Eldin (2007) در رازیانه و Sanchez *et al*. (2008) در بارهنگ (*Plantago major* L.) بود. باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن و حل‌کننده فسفر، نیتروژن و فسفر بیشتری را در اختیار گیاه قرار می‌دهند. با توجه به اثر مثبت این عناصر در عملکرد زیستی و تشکیل گل، می‌توان نتیجه گرفت که تأمین نیتروژن و فسفر کافی برای رزماری، یکی از راهکارهای افزایش عملکرد زیستی محسوب می‌شود. فراهمی عناصر غذایی نظیر فسفر، آهن، مس، روی و به‌ویژه نیتروژن، سبب افزایش فتوسنتز، تحریک رشد گیاه و بهبود ماده خشک گیاهی شده است که این مسأله در نهایت، باعث افزایش عملکرد رویشی رزماری می‌شود. بسیاری از محققین (Adesemoye *et al*., 2010; Kumar *et al*., 2009; Mohammadpour Vashvaei *et al*. 2017a, b, c & 2015b; Yadegari *et al*., 2010;)، به نقش مثبت ریزوباکترهای محرک رشد گیاه بر عملکرد محصولات زراعی مختلف اشاره کرده‌اند. Akhtar & Siddiqui (2009) بیان نمودند که کودهای زیستی، عناصر معدنی غیرقابل دسترس و همچنین ترکیب‌های آلی را به‌شکل قابل دسترس برای

1 - Reactive oxygen speices

گیاه فراهم می‌کنند و باعث افزایش رشد می‌شوند. از آن‌جا که کمبود عناصر غذایی، یکی از عوامل اصلی تعیین کننده عملکرد رویشی است، در تیمار تنش خشکی و عدم استفاده از کود، به‌علت فراهمی کمتر مواد غذایی در مراحل بحرانی رشد، بوته‌ها از رشد کمتری برخوردار بودند و به تبع آن، عملکرد پیکره رویشی کمتری بود. تیمار آبیاری با ۹۰ درصد ظرفیت زراعی و کود نانوزیستی بیومیک، بیشترین عملکرد پیکره رویشی را داشت. باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن موجود در کود نانوبیومیک، مقدار کافی هورمون گیاهی و ویتامین‌های گروه B را می‌سازند که موجب افزایش رشد ریشه و افزایش جذب عناصر غذایی از خاک می‌شوند (Revilas *et al*., 2000). باکتری‌های تثبیت کننده فسفر موجود در نانوبیومیک، اسیدهای آلی و غیرآلی ترشح می‌کنند و موجب کاهش pH خاک می‌شوند. این مسأله، موجب در دسترس قرار دادن فسفر و عناصر دیگر، به شکل قابل جذب برای گیاه می‌شود (Singh & Kapoor, 1999) که این افزایش، موجب افزایش رشد و عملکرد رویشی رزماری شده است.

جدول ۵- مقایسه میانگین غلظت عناصر و عملکرد رویشی رزماری تحت اثرات متقابل تنش خشکی، کودهای زیستی و نانوزیستی در سال‌های ۱۳۹۳، ۱۳۹۳ و ۱۳۹۵

Table 5- Mean comparison of the rosemary elements concentration and foliage yield under the interactions of drought stress and bio and nano bio-fertilizers iduring 2014-2016.

Drought stress	Bio and nano bio-fertilizer	Foliage yield (kg.h^{-1})			Leaf nitrogen (%)			Leaf phosphorus (%)			Leaf potassium (%)		
		2014	2015	2016	2014	2015	2016	2014	2015	2016	2014	2015	2016
90% available water	Mycorrhiza	977.63^{j}	1207.25^{fg}	1190.75^{g}	12.81^{bcde}	12.32^{fg}	12.57^{def}	0.345l^{m}	0.480^{f}	0.412^{h}	1.56^{rs}	1.61^{qrs}	1.58^{qrs}
	Nitroxin	1239.15^{f}	1591.70^{b}	1403.88^{d}	13.00^{abcd}	13.09^{ab}	13.04^{abc}	0.445^{g}	0.571^{c}	0.508^{e}	1.70^{pqrs}	1.76^{pqr}	1.73^{pqr}
	Bioumik	1285.63^{e}	1750.38^{a}	1460.53^{c}	13.21^{ab}	13.35^{a}	13.28^{a}	0.545^{d}	0.742^{a}	0.643^{b}	3.45l	3.60^{jkl}	3.52^{kl}
	No-inoculated	588.50^{qr}	805.20l	859.93^{k}	11.63^{ij}	11.92^{ghi}	11.77^{hij}	0.355l	0.438^{g}	0.396^{hi}	0.72^{u}	0.75^{u}	0.73^{u}
70% available water	Mycorrhiza	686.68^{n}	757.35^{m}	873.68^{k}	10.87^{mno}	10.48^{op}	10.67^{nop}	0.285^{pqr}	0.466^{f}	0.375^{jk}	1.75^{pqr}	1.77^{pq}	1.76^{pqr}
	Nitroxin	811.25l	991.65^{ij}	1096.98^{h}	12.35^{fg}	12.61^{cdef}	12.48^{ef}	0.285^{pqr}	0.348l^{m}	0.317^{no}	2.60^{n}	2.67^{n}	2.64^{n}
	Bioumik	977.35^{j}	1590.88^{b}	1103.03^{h}	12.19^{fgh}	12.59^{def}	12.39^{ef}	0.405^{hi}	0.659^{b}	0.532^{d}	3.65^{ijk}	3.93^{gh}	3.79^{hij}
	No-inoculated	479.60st	606.38^{pqr}	631.95^{opq}	10.50^{op}	10.29^{p}	10.39^{p}	0.245^{tu}	0.270^{qrs}	0.257st	1.10^{t}	1.13^{t}	1.11^{t}
50% available water	Mycorrhiza	628.93^{pqr}	670.18^{no}	651.20^{no}	9.01^{q}	9.11^{q}	9.06^{q}	0.245^{tu}	0.414^{h}	0.329^{mn}	2.00^{o}	2.01^{o}	2.01^{o}
	Nitroxin	744.98^{m}	978.45^{j}	813.18l	11.55^{ijk}	11.68^{ij}	11.61^{ij}	0.205^{vw}	0.269^{rs}	0.237^{u}	3.81^{hi}	3.96^{gh}	3.89^{gh}
	Bioumik	815.10l	1233.38^{fg}	1022.73^{i}	11.36^{jkl}	11.92^{ghi}	11.64^{ij}	0.265^{s}	0.401^{hi}	0.333^{mn}	3.95^{gh}	4.20^{f}	4.07^{fg}
	No-inoculated	453.75^{t}	590.70^{qr}	586.85^{r}	6.54^{r}	6.15^{rs}	6.35^{rs}	0.195^{wx}	0.208^{vw}	0.201^{vwx}	1.51^{s}	1.69^{pqrs}	1.60^{qrs}
30% available water	Mycorrhiza	305.53^{u}	596.75^{qr}	523.05^{s}	6.01^{s}	5.91^{s}	5.96^{s}	0.240^{tu}	0.356^{kl}	0.298^{op}	3.03^{m}	3.14^{m}	3.09^{m}
	Nitroxin	472.45^{t}	736.73^{m}	599.50^{qr}	11.05l^{mn}	11.17^{klm}	11.11^{klmn}	0.185^{x}	0.289^{pq}	0.236^{u}	5.84^{e}	6.24^{c}	6.04^{d}
	Bioumik	597.85^{qr}	1089.83^{h}	644.88^{nop}	11.52^{ijk}	11.41^{jkl}	11.46^{jkl}	0.215^{v}	0.392^{ij}	0.303^{op}	6.42^{c}	7.07^{a}	6.75^{b}
	No-inoculated	260.15^{v}	476.30^{t}	438.08^{t}	4.17^{t}	4.45^{t}	4.31^{t}	0.160^{y}	0.210^{vw}	0.185^{x}	1.66^{pqrs}	1.83^{op}	1.74^{pqr}

برای هر صفت در سه سال، حروف مشابه معنی‌دار، نمایانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در آزمون توکی می‌باشد.

For each trait in the three years, similar letters indicate not significant at 0.05 probability level based on Tukey test.

درصد نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ‌ها

اثرات اصلی و برهمکنش تیمارهای سال، تنش خشکی و کود (به جز اثر اصلی سال و اثر متقابل سال و تنش خشکی بر درصد نیتروژن برگ (P>۰/۰۵) و اثر متقابل سال، تنش خشکی و کود بر درصد پتاسیم برگ (۰/۰۱≥P≤۰/۰۵)) بر درصد نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ‌ها، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین برهمکنش تیمارهای سال، تنش خشکی و کود نشان داد که بیشترین درصد نیتروژن (۱۳/۳۵ درصد) و فسفر (۰/۷۴۲ درصد) برگ‌ها، از تیمار آبیاری با ۹۰ درصد رطوبت قابل دسترس و کود نانوزیستی بیومیک در سال دوم به‌دست آمد و پس از آن، درصد نیتروژن در تیمار آبیاری با ۹۰ درصد رطوبت قابل دسترس و کود نانوزیستی بیومیک در سال سوم (۱۳/۲۸ درصد) و درصد فسفر در تیمار آبیاری با ۷۰ درصد رطوبت قابل دسترس و کود نانوزیستی بیومیک در سال دوم (۰/۶۵۹ درصد) قرار داشت. بیشترین درصد پتاسیم (۷/۰۷ درصد) برگ‌ها، از تیمار آبیاری با ۳۰ درصد رطوبت قابل دسترس و کود نانوزیستی بیومیک در

سال دوم به‌دست آمد و پس از آن، تیمار آبیاری با ۳۰ درصد رطوبت قابل دسترس و کود نانوزیستی بیومیک در سال سوم (۶/۷۵ درصد) قرار داشت ولی اختلاف آنها از نظر آماری معنی‌دار نبود. کمترین درصد نیتروژن و فسفر برگ‌ها، به‌ترتیب ۴/۱۷ و ۰/۱۶۰ درصد بود که در تیمار آبیاری با ۳۰ درصد رطوبت قابل دسترس و عدم استفاده از کود زیستی در سال اول به‌دست آمد (جدول ۵). کمترین درصد پتاسیم برگ‌ها (۰/۷۲ درصد) از تیمار آبیاری با ۹۰ درصد رطوبت قابل دسترس و عدم استفاده از کود زیستی در سال اول به‌دست آمد و پس از آن، تیمار آبیاری با ۹۰ درصد رطوبت قابل دسترس و عدم استفاده از کود زیستی در سال سوم و دوم (به‌ترتیب ۰/۷۳ و ۰/۷۵ درصد) قرار داشت ولی اختلاف آنها معنی‌دار نبود.

تنش خشکی موجب کاهش غلظت عناصر نیتروژن و فسفر و افزایش غلظت پتاسیم برگ شد. یکی از زیان‌بارترین اثرات تنش خشکی، اختلال در روند جذب و تجمع عناصر غذایی است که باعث کاهش عملکرد می‌شود. مکانیسم‌های جذب و انتقال عناصر غذایی در گیاهان، مانند جریان توده‌ای، انتشار و یا جذب و انتقال به‌وسیله پدیده اسمز، همگی تابعی از مقدار رطوبت موجود در خاک و ریشه است و در صورت کاهش رطوبت، شدت و مقدار جذب عناصر غذایی، دستخوش تغییر و تحول می‌شود (Taiz & Zeiger, 2006). پژوهشگران با مطالعه تأثیر تنش خشکی بر جذب مواد غذایی (سدیم، فسفر و پتاسیم) گزارش دادند که دلیل کاهش جذب مواد توسط ریشه گیاهان در خاک خشک، دسترسی کمتر گیاه به عناصر غذایی است (Fatemy & Evans, 1986). هرچه مقدار رطوبت خاک افزایش یابد، نیتروژن بیشتری به‌وسیله گیاه جذب می‌شود و همچنین جذب سایر عناصر مانند فسفر، پتاسیم، آهن، روی، ارتباط نزدیکی با میزان رطوبت قابل دسترس گیاه دارد (Jones, 1980). کمبود رطوبت، سرعت انتشار و همچنین جریان توده‌ای را کاهش می‌دهد و باعث می‌شود که میزان انتقال یون آمونیوم و نیترات به سطح ریشه، کاهش یابد و گیاه نتواند نیتروژن کافی دریافت کند. این امر، به کاهش غلظت نیتروژن در بافت‌های گیاه کمک می‌کند. Gunes *et al.* (2008) نشان دادند که تنش خشکی، منجر به کاهش غلظت نیتروژن برگ در آفتابگردان شد. فسفر، عنصری است که بیشتر از طریق فرآیند انتشار به سطح ریشه گیاه منتقل و جذب می‌شود. کاهش آب خاک، باعث تخلیه خلل و فرج از آب می‌شود و سطح لازم برای انتشار کاهش می‌یابد که این امر، باعث پایین آمدن سرعت انتشار می‌شود. در نتیجه، فسفر کمتری به سطح ریشه منتقل و جذب می‌شود که کاهش غلظت فسفر بافت-های گیاه را به‌همراه دارد. اثر متقابل پتاسیم و فسفر نیز بر غلظت فسفر تأثیر گذار است، چرا که در شرایط تنش خشکی، گیاه برای مقابله با خشکی، جذب پتاسیم را نسبت به فسفر ترجیح می‌دهد و با انتقال فعال (جابجایی مولکول‌ها یا یون‌ها در عرض غشای سلولی، با مصرف انرژی برخلاف جهت غلظت یا فشار یا بار الکتریکی)، پتاسیم را جذب می‌کند. بنابراین، با افزایش تنش خشکی، از غلظت فسفر برگ کاسته می-شود. تنش خشکی، غلظت پتاسیم برگ را در تیمار شاهد، از ۰/۷۲، ۰/۷۵ و ۰/۷۳ درصد در تیمار آبیاری در سطح رطوبتی ۹۰ درصد رطوبت قابل دسترس به-ترتیب برای سال اول، دوم و سوم، به ۱/۶۶، ۱/۸۳ و ۱/۷۴ درصد در تیمار آبیاری در سطح رطوبتی ۳۰ درصد رطوبت قابل دسترس افزایش داد (جدول ۵). افزایش غلظت پتاسیم برگ، با افزایش تنش خشکی را می‌توان به رقت و کاهش رشد و نمو گیاه نسبت داد. Dastbandan Nejad *et al.* (2010) بیان داشتند که در شرایط تنش خشکی، میزان پتاسیم جذب شده، دو تا سه برابر شرایط طبیعی است. آن‌ها همچنین گزارش دادند که علت افزایش جذب پتاسیم تحت شرایط تنش خشکی را می‌توان به مکانیسم جذب فعال این یون به‌وسیله گیاه، نسبت داد که بدین وسیله، گیاه مقاومت خود را در برابر تنش بالا می‌برد.

استفاده از کودهای زیستی، موجب تعدیل اثرات تنش خشکی و بهبود صفات درصد نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ‌ها شد. بر اساس یافته‌های (Mohammadpour Vashvaei *et al.* 2015b & 2017b)، کود-

های زیستی، موجب افزایش غلظت عناصر مغذی موجود در برگ و کاسبرگ‌های چای ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.) شدند. جذب عناصر غذایی توسط گیاه، تابع دو عامل رشد سیستم ریشه و فراهمی عناصر غذایی در خاک، به‌خصوص در ریزوسفر می‌باشد. افزودن کودهای زیستی و نانوزیستی به خاک، نه تنها فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه را افزایش داده است، بلکه با بهبود شرایط فیزیکی و فرایندهای حیاتی خاک، ضمن ایجاد یک بستر مناسب برای رشد ریشه، موجبات افزایش دسترسی به عناصر معدنی را فراهم آورده است. کود نانوزیستی بیومیک، حاوی مؤثرترین باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن (ازتوباکتر و آزوسپریلیوم) می‌باشد. باکتری‌های تثبیت‌کننده غیرهمزیست آزوسپیریلوم، علاوه بر قابلیت تثبیت نیتروژن و متعادل کردن جذب عناصر غذایی اصلی پرمصرف و ریزمغذی مورد نیاز گیاه، با تولید مواد محرک رشد (ایندول استیک اسید، جیبرلین و سیتوکنین و غیره) و ویتامین‌های گروه B، سبب بهبود رشد ریشه (افزایش پتانسیل ریشه زایی، طویل شدن ریشه‌ها و افزایش ریشه‌های جانبی) و به دنبال آن، افزایش جذب آب و عناصر غذایی شده است (Mohammadpour Vashvaei *et al.* 2017a, b & c). گونه‌های مختلف جنس سودوموناس و باسیلوس موجود در نانوبیومیک، با تنظیم و تولید هورمون‌های محرک رشد و از طریق بهبودی که در مقدار فسفر و تثبیت نیتروژن و افزایشی که به‌دنبال آن بر رشد، نمو و بیوماس گیاه دارند، منجر به جذب بیشتر نیتروژن و افزایش نیتروژن جذبی گیاه می‌شوند. افزایش غلظت نیتروژن و تحرک رشد اندام‌های هوایی گیاه، با افزایش تغذیه فسفر همراه است. از این رو، تأثیر سودوموناس بر میزان نیتروژن به‌طور غیرمستقیم، از طریق بهبود وضعیت فسفر گیاه که ناشی از همزیستی باکتریایی است، اعمال می‌شود. به‌عبارت دیگر، سودوموناس‌ها، با انحلال فسفات نامحلول و افزایش مقدار فسفر قابل دسترس برای باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن، باعث افزایش جذب نیتروژن می‌شوند (Pal *et al.*, 2001).

کودهای زیستی از طریق ترشح اسیدهای آلی و معدنی (کاهش pH)، باعث افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی در ریزوسفر می‌شوند. همچنین ریزجانداران موجود در کودهای زیستی، با ترشح پیش‌ماده هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد گیاهی، باعث افزایش رشد ریشه و افزایش جذب می‌شوند (Khalid *et al.*, 2004). در خصوص تأثیر میکروارگانیزم‌های حل‌کننده فسفات بر جذب عناصر غذایی، Ratti *et al.* (2001) در پژوهشی بر روی گیاه دارویی علف لیمو (*Cymbopogon citratus* L.) مشاهده نمودند که مصرف یک گونه باکتری حل‌کننده فسفات، همراه با تری‌کلسیم فسفات، موجب بهبود بارز غلظت فسفر ساقه نسبت به تیمار شاهد شد. در تحقیقی دیگر که توسط Sundara *et al.* (2002) در گیاه نیشکر (*Saccharum Officinarum* L.) انجام شد، کاربرد یک گونه از باکتری‌های حل‌کننده فسفات به نام *Bacillus megatherium* همراه با سنگ فسفات، غلظت فسفر در غلاف برگ و عملکرد ساقه نیشکر را در مقایسه با شاهد، به‌طور معنی‌دار افزایش داد. Toro *et al.* (1997) نیز نشان دادند که کاربرد باکتری‌های حل‌کننده فسفات، موجب افزایش غلظت نیتروژن و فسفر اندام رویشی نسبت به تیمار عدم مصرف شد. اگر چه خاک‌های مناطق خشک و نیمه خشکT حاوی مقادیر زیادی پتاسیم تبادلی و غیر تبادلی هستند (Jalali, 2005)، ولی پتاسیم تبادلی در این مناطق می‌تواند در اثر کشت پی‌درپی و متراکم تخلیه شود (Jalali & Zarabi, 2006). خروج پتاسیم، بدون تأمین پتاسیم کافی، باعث تخلیه خاک از ذخیره پتاسیم می‌شود. پتاسیم موجود در کود نانوزیستی بیومیک (۱۲ درصد)، نه‌تنها موجب فراهمی پتاسیم مورد نیاز گیاه می‌شود، بلکه با بهبود شرایط فیزیکی و فرایندهای حیاتی خاک توسط ریزجانداران موجود در این کود، ضمن ایجاد یک بستر مناسب برای رشد ریشه، موجبات افزایش دسترسی به عناصر معدنی از جمله پتاسیم را فراهم می‌آورد.

درصد و عملکرد اسانس

اثر سال، تنش خشکی، کود و برهمکنش آن‌ها بر

درصد و عملکرد اسانس در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود(جدول ۳). اثر متقابل سال، تنش خشکی و کود بر درصد و عملکرد اسانس حاکی از آن بود که بیشترین درصد اسانس (۱/۵۷ درصد)، در تیمار آبیاری با ۳۰ درصد رطوبت قابل دسترس و کود نانوزیستی بیومیک در سال دوم به‌دست آمد و پس از آن، تیمار آبیاری با ۳۰ درصد رطوبت قابل دسترس و کود زیستی نیتروکسین در سال دوم (۱/۴۸۰ درصد) قرار داشت و اختلاف این دو تیمار در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۶). بیشترین عملکرد اسانس (به‌ترتیب با ۳۱/۲۲ و ۱۷۱۶/۹۳ گرم در بوته/کیلوگرم در هکتار)، از تیمار آبیاری با ۳۰ درصد رطوبت قابل دسترس و کود نانوزیستی بیومیک در سال دوم به‌دست آمد و پس از آن، تیمارهای آبیاری با ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس و کود نانوزیستی بیومیک (به‌ترتیب با ۳۰/۶۰ و ۱۶۸۳/۳۹گرم در بوته/کیلوگرم در هکتار) و آبیاری با ۷۰ درصد رطوبت قابل دسترس و کود نانوزیستی بیومیک (به‌ترتیب با ۲۹/۸۹۰ و ۱۶۳۸/۹۱گرم در بوته/کیلوگرم در هکتار) قرار داشتند (جدول ۶). اختلاف دو تیمار آبیاری با ۳۰ و ۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس و کود نانوزیستی بیومیک در سال دوم معنی‌دار نبود. در تیمار آبیاری با ۹۰ درصد رطوبت قابل دسترس و عدم استفاده از کود زیستی در سال اول، کمترین درصد اسانس به میزان ۰/۳۲۵ درصد به‌دست آمد و پس از آن، تیمارهای آبیاری با ۹۰ درصد رطوبت قابل دسترس و عدم استفاده از کود زیستی در سال دوم (۰/۳۶۵ درصد)، تیمار آبیاری با ۷۰ درصد رطوبت قابل دسترس و عدم استفاده از کود زیستی در سال اول (۰/۳۶۵ درصد) و تیمار آبیاری با ۹۰ درصد رطوبت قابل دسترس و عدم استفاده از کود زیستی در سال سوم (۰/۳۷۰ درصد) قرار داشتند که اختلاف آنها از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۶). در تیمار آبیاری با۳۰ درصد رطوبت قابل دسترس و عدم استفاده از کود در سال اول، کمترین عملکرد اسانس (به‌ترتیب ۲/۱۹ و ۱۲۰/۹۴ گرم در بوته/ کیلوگرم در هکتار) به‌دست آمد و پس از آن، تیمار آبیاری با۵۰ درصد رطوبت قابل دسترس و عدم استفاده از کود در سال اول (به‌ترتیب ۲/۲۵ و ۱۲۳/۸۰ گرم در بوته/ کیلوگرم در هکتار) قرار داشت ولی اختلاف این دو تیمار از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۶). به‌واسطه همبستگی منفی عملکرد رویشی گیاه با درصد اسانس و افزایش عملکرد رویشی در تیمار آبیاری با ۹۰ درصد رطوبت قابل دسترس، درصد اسانس در این تیمار، به حداقل مقدار رسید. به‌عبارت دیگر، با افزایش غلظت نیتروژن برگ، اسانس گیاه رزماری در این تیمار کاهش یافته است (جدول ۵ و ۶).

جدول ۶- مقایسه میانگین درصد و عملکرد اسانس رزماری تحت اثرات متقابل تنش خشکی، کودهای زیستی و نانوزیستی در سال‌های ۱۳۹۵-۱۳۹۳

Table 6- Mean comparison of the rosemary essential oil percentage and yield under the interactions of drought stress and bio and nano bio-fertilizers during 2014-2016.

Drought stress	Bio and nano bio-fertilizer	Essential oil (%)			Essential oil yield (g.plant^{-1})			Essential oil yield (Kg.h^{-1})		
		2014	2015	2016	2014	2015	2016	2014	2015	2016
90% available water	Mycorrhiza	0.515^{r}	0.680^{mn}	0.615^{opq}	10.93^{kl}	14.93^{gh}	11.15^{ijk}	601.25^{kl}	821.07^{gh}	613.30^{k}
	Nitroxin	0.595^{q}	0.805^{jk}	0.645^{nopq}	14.53^{h}	23.29^{d}	15.18^{gh}	799.33^{h}	1281.40^{d}	835.35^{gh}
	Bioumik	0.605^{q}	0.895^{ghi}	$0.735l^{m}$	17.18^{f}	28.49^{c}	16.06^{fg}	944.98^{f}	1566.87^{c}	883.70^{fg}
	No-inoculated	0.325^{v}	0.365^{uv}	0.370^{uv}	3.96^{xy}	5.34^{uvw}	5.08^{vwx}	217.85^{xy}	293.84^{uvw}	279.52^{vwx}
70% available water	Mycorrhiza	0.525^{r}	0.690^{mn}	0.675^{mno}	8.42^{nopq}	9.51^{mn}	8.34^{nopq}	463.52^{nopq}	523.12^{n}	458.70^{nopq}
	Nitroxin	0.610^{pq}	0.885^{hi}	0.650^{nopq}	$9.58l^{mn}$	15.95^{fg}	12.16^{ijk}	$527.28l^{mn}$	877.67^{fg}	669.15^{ijk}
	Bioumik	0.615^{opq}	1.030^{e}	0.815^{jk}	14.48^{h}	29.80^{bc}	12.33^{i}	796.58^{h}	1638.91^{ab}	678.39^{i}
	No-inoculated	0.365^{uv}	0.395^{u}	0.395^{tu}	3.44^{yz}	4.35^{wxy}	4.19^{wxy}	189.40^{yz}	239.48^{wxy}	230.66^{wxy}
50% available water	Mycorrhiza	0.605^{q}	0.950^{fg}	$0.695l^{mn}$	7.94^{opqr}	11.57^{ijk}	7.16^{qrst}	437.09^{opqr}	636.67^{ijk}	394.00^{qrst}
	Nitroxin	0.610^{pq}	0.935^{fgh}	0.670^{nop}	9.07^{no}	16.63^{f}	9.01^{nop}	499.13^{no}	914.83^{f}	496.04^{nop}
	Bioumik	0.680^{mn}	1.365^{c}	0.955^{fg}	14.15^{h}	30.60^{ab}	12.65^{i}	778.33^{h}	1683.39^{ab}	695.68^{i}
	No-inoculated	0.415^{stu}	0.605^{q}	0.405^{stu}	2.25^{z}	6.49^{stu}	4.42^{wxy}	123.80^{z}	357.33^{stu}	243.56^{wxy}
30% available water	Mycorrhiza	0.645^{nopq}	1.115^{d}	0.845^{ij}	6.97^{rst}	12.08^{ijk}	6.13^{tuv}	383.44^{rst}	665.07^{ijk}	337.30^{tuv}
	Nitroxin	0.675^{mno}	1.480^{b}	0.895^{ghi}	7.69^{pqrs}	19.82^{e}	7.35^{qrst}	422.91^{pqrs}	1090.38^{e}	404.68^{qrst}
	Bioumik	0.755^{kl}	1.575^{a}	0.995^{ef}	10.81^{klm}	31.22^{a}	8.85^{nop}	594.94^{klm}	1716.93^{a}	487.01^{nop}
	No-inoculated	0.435^{st}	0.610^{pq}	0.465^{rs}	2.19^{z}	5.28^{uvwx}	3.46^{yz}	120.94^{z}	290.54^{uvwx}	190.57^{yz}

برای هر صفت در سه سال، حروف مشابه، نمایانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در آزمون توکی می‌باشد.

For each trait in the three years, similar letters indicate non significant differences at 0.05 probability level based on Tukey test.

تنش خشکی، موجب افزایش درصد و عملکرد اسانس شد. تنش کم‌آبی، دارای اثرات متفاوتی بر محصولات گیاهی است. تغییر میزان اسانس گیاهان و محتوای آن‌ها بر اثر تیمار خشکی، در چندین گونه گیاهی گزارش شده است (Fatima *et al*., 2000; Petropoulos *et al*., 2008) ولی در مواردی هم دیده شده است که تغییرات آب در دسترس گیاه، تأثیری بر میزان اسانس آن ندارد (Singh & Ramesh, 2000). دلایل اثبات شده‌ای مبنی بر نحوه واکنش متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی به تنش خشکی وجود ندارد. تنها دو فرضیه در مورد نحوه تأثیر شرایط محیطی بر متابولیت‌های ثانویه این گیاهان ارایه شده است. فرضیه اول، تحت عنوان موازنه کربن عناصر غذایی (CNB) می‌باشد و میزان هزینه کربن برای تولید متابولیت‌های ثانویه را به‌عنوان موازنه بین فتوسنتز و رشد توضیح می‌دهد (Gershenzon *et al*., 1984; Tuomi *et al*., 1984). بر اساس این فرضیه، زمانی که عناصر غذایی در دسترس باشند، گیاه، کربن را به رشد اختصاص می‌دهد. فرضیه دوم، تحت عنوان موازنه رشد- تمایز، بیان شده است. بر اساس این فرضیه، تا زمانی که شرایط، اجازه تقسیم و گسترش سلولی را بدهد، کربن، صرف رشد می‌شود. با وقوع تنش کم‌آبی، رشد متوقف می‌شود، سلول‌ها تمایز می‌یابند و مخازن متابولیت‌های ثانویه را تشکیل می‌دهند و گیاه، کربن را به تولید مواد مؤثره دارویی اختصاص می‌دهد (Lorio, 1986). تجمع یا ساخت موادی مانند آنزیم‌ها، پروتئین‌ها، متابولیت‌های ثانویه و عناصر معدنی، یکی از پاسخ‌های گیاهان به تنش کم‌آبی است. تصور بر این است که در شرایط تنش خشکی و کم‌آبی، تولید مواد مؤثر، به‌دلیل جلوگیری از اکسیداسیون درون سلولی، افزایش می‌یابد. گلوتاتیون ترنسفراز و فنیل آلانین آمونیالیاز، دو آنزیم مهم مسیر بیوسنتزی متابولیت‌های ثانویه هستند که تحت اثر تنش خشکی، افزایش می‌یابند. افزایش درصد اسانس گیاهان دارویی نعناع (Simon *et al*., 1992)، مرزنگوش (Rhizopoulous & Diamatoglon, 1991)، آویشن (Letchamo & Gosselin, 1996) و اسطوخودوس، بابونه و افسنطین (Andalibi *et al*., 2010) و ریحان (Refaat & Saleh, 1997) تحت تنش کم‌آبی نیز تأیید کننده مطالب فوق می‌باشد. کودهای نانوزیستی و زیستی، موجب افزایش درصد و عملکرد اسانس شدند. تحقیقات نشان داده است که CO_2 و گلوکز، به‌عنوان پیش ماده مناسب در سنتز اسانس مطرح هستند. فتوسنتز و تولید فرآورده‌های فتوسنتزی، ارتباط مستقیمی با تولید اسانس دارند. کود زیستی از طریق کمک به جذب نیتروژن و فسفر و نقشی که این عناصر در تولید کلروفیل و تأمین آنزیم-های مورد نیاز گیاه دارند، باعث افزایش میزان بافت-های فتوسنتزی و در نهایت افزایش درصد اسانس شده است (Sangwan, *et al*., 2001). علاوه بر این، از آن جا که اسانس‌ها از گروه مواد شیمیایی ترپن‌ها هستند و یا منشأ ترپنی دارند و واحدهای سازنده ترپن‌ها، از جمله ایزوپنتنیل پیروفسفات (Isopentenyl pyrophosphate) و دی‌متیل‌آلیل پیروفسفات (Dimethylallyl pyrophosphate)، نیاز مبرم به ATP و NADPH دارند و با توجه به این موضوع که حضور عناصری نظیر نیتروژن و فسفر، برای تشکیل ترکیب-های فوق ضروری می‌باشد، بنابراین باکتری‌های حل-کننده فسفات و تثبیت‌کننده نیتروژن، از طریق جذب کارآمد فسفر و نیتروژن توسط ریشه رزماری، موجب افزایش درصد اسانس این گیاه دارویی شده‌اند. این موضوع با نتیجه تحقیقات Kapoor *et al*. (2004) در رازیانه، Ratti *et al*. (2001) در علف لیمو (*Cymbopogon citratus* L.)، Gharib *et al*. (2008) در مرزنجوش و Mahfouz & Sharaf-Eldin (2007) در رازیانه مطابقت داشت. Leithy *et al*. (2006) در آزمایشی به اثر مثبت استفاده از کود بیولوژیک ازتوباکتر، در افزایش اسانس گیاه دارویی رزماری اشاره داشتند. نتایج پژوهش Kapoor *et al*. (2002)، بیانگر اثر مثبت کاربرد کود زیستی میکوریزا بر درصد اسانس گیاه دارویی گشنیز بود. همچنین Mahfouz & Sharaf-Eldin (2007) با تحقیق بر روی گیاه رازیانه نتیجه گرفتند که کاربرد کودهای زیستی بیولوژیک، باعث افزایش درصد اسانس گیاهان مذکور شد. دلیل

بهبود کیفیت گیاهان دارویی در شرایط استفاده از کودهای بیولوژیک، به اثرات متقابل گیاه با ریزجاندار و انتقال سیگنال، توسط ریزجاندار نسبت داده شده است (Karthikeyan *et al*., 2008). همچنین گزارش شده است که برخی از ریزموجودات خاکزی، باعث تحریک مسیرهای بیوسنتزی متابولیت‌های ثانویه می‌شوند (Demir, 2004). از آن‌جا که عملکرد اسانس، تابع درصد اسانس و عملکرد پیکره رویشی گیاه می‌باشد، اگرچه در شرایط کم‌آبی، عملکرد پیکره رویشی کاهش یافته است ولی به‌دلیل افزایش محسوس درصد اسانس، عملکرد اسانس افزایش یافت. بیشترین درصد و عملکرد اسانس، از گیاهان تحت تیمار کود نانوزیستی بیومیک به‌دست آمد (جدول ۶). کاربرد باکتری‌های محرک رشد این تیمار و عناصر غذایی موجود در آن می‌تواند در تعدیل شرایط تنش کم‌آبی، از طریق بهبود فراهمی عناصر، ترشح مواد تحریک کننده رشد و تسریع مراحل اولیه رشد مانند ریشه‌دوانی، جوانه‌زنی و سبز شدن مفید واقع شود (Nagananda *et al*., 2010). در تحقیقی، کاربرد باسیلوس روی گیاه ریحان، سبب افزایش عملکرد اسانس شد و میزان اسانس گیاه را دو برابر افزایش داد (Banchio *et al*., 2009). با توجه به نتایج مصرف کودهای زیستی، با بهبود شرایط تغذیه‌ای گیاه در شرایط تنش کم‌آبیاری، کودهای زیستی می‌توانند نقش مفیدی در جهت کاهش خسارت‌های شرایط تنش‌زا داشته باشند و مهم‌تر آن که،جایگزینی کودهای زیستی به جای کودهای شیمیایی، نوید بخش کشاورزی پایدار و کاهش آلودگی‌های زیست محیطی در آینده می‌باشد.

ترکیبات اسانس

ترکیبات الکلی منوترپنی (۱، ۸ سینئول و β-ترپینئول) و هیدروکربن‌های منوترپنی (لیمونن)، مهم‌ترین ترکیبات معطر گیاه رزماری بودند. ترکیبات فنلی شامل تیمول (۰/۷۸ تا ۴/۱۴ درصد) و کارواکرول (۰/۲۲ تا ۲/۸۷ درصد) بودند. هیدروکربن‌های منوترپنی شامل α- پینن (۳/۴۶ تا ۵/۸۲ درصد)، β-پینن (۰/۲۷ تا ۱/۵۸ درصد)، لیمونن (۷/۵۴ تا ۷/۶۲ درصد) و کامفور (۳/۱۷ تا ۸/۰۰ درصد) بودند. ترکیبات الکلی منوترپنی شامل یک و هشتسینئول (۱۶/۷۷ تا ۲۵/۶۳ درصد)، β-ترپینئول (۱۱/۵۲ تا ۱۵/۰۷ درصد)، بورنئول (۱/۲۲ تا ۸/۵۱ درصد)، ترپینن ۴-o۱ (۲/۱۱ تا ۵/۸۹ درصد)، کارونه (۱/۲۷ تا ۲/۸۲ درصد)، لینالیل استات (۱/۱۷ تا ۶/۵۵ درصد)، بورنیل استات (۰/۹۲ تا ۴/۱۷ درصد) و جرانیل استات (۱/۴۳ تا ۵/۴۵ درصد) بودند. β-کاروفیلن (۱/۳۸ تا ۵/۸۴ درصد)، مهم‌ترین ترکیب سزکویی‌ترپنی اسانس بود. در بین ترپن‌های اکسیژنه شده، اکسید کاریوفیلن (۰/۸۴ تا ۲/۱۱ درصد)، فراوان‌ترین ترکیب بود. این یافته‌ها، تایید کننده نتایج گزارش شده توسط Leithy *et al*. (2006) بود. Chalchat *et al*. (1993) در مطالعه اسانس رزماری از مناطق جغرافیایی متفاوت بیان نمودند که اسانس رزماری اسپانیایی، غنی از α-پینن (۱۹/۴-۲۴/۷ درصد)، یک و هشتسینئول (۱۹/۰-۲۱/۸ درصد)، کامفور (۱۶/۳-۱۸/۹ درصد) بود در صورتی که اسانس رزماری فرانسوی، سرشار از α-پینن (۳۵/۱-

۱۹/۹ درصد)، یک و هشتسینئول (۵/۳-۲۴/۸ درصد) و بورنیل استات (۱/۲-۱۴/۴ درصد) بود. رزماری مراکشی، غنی از یک و هشتسینئول (۵۷/۷-۴۳/۵ درصد) بود. سطوح مختلف تنش خشکی، موجب تغییر (افزایش و کاهش) اسانس گیاه رزماری شد (جدول ۷). با افزایش تنش خشکی، مقدار α-پینن، β-پینن، کامفور، β-ترپینن، تیمول، کارواکرول، لینالیل استات، بورنیل استات، جرانیل استات، β-کاریوفیلن و کاریوفیلن اکساید افزایش یافت و از مقدار لیمونن، یک و هشتسینئول، لینالول، بورنئول، ترپینن ۴-o۱، کاسته شد. Leithy *et al*. (2006) گزارش دادند که α-پینن، β-پینن، لیمونن، یک و هشتسینئول، لینالول، کامفور، β-ترپینئول، بورنئول، ترپینن ۴-o۱، کارونه، تیمول، کاواکرول، لینالیل استات، جرانیل استات، β-کایوفیلن، اکسید کاریوفیلن، با افزایش دور آبیاری، افزایش یافتند. تنش خشکی، تأثیری بر مقدار کارونه نداشت. کودهای نانوزیستی و زیستی، موجب افزایش مقدار ترکیبات اسانس گیاه

رزماری شدند (جدول ۷). تیمار آبیاری با ۹۰ درصد رطوبت قابل دسترس، بیشترین ترکیبات اصلی اسانس، از جمله یک و هشت سینئول (در کود نانوزیستی بیومیک، کودهای زیستی نیتروکسین و میکوریزا و شاهد به‌ترتیب به میزان ۲۵/۲۱، ۲۵/۶۳، ۲۳/۸۹ و ۲۲/۳۲ درصد)، لیمونن (در کود نانوزیستی بیومیک، کودهای زیستی نیتروکسین و میکوریزا و شاهد به‌ترتیب به میزان ۱۷/۶۲، ۱۶/۸۹، ۱۶/۶۷ و ۱۵/۳۹ درصد) و لینالول (در کود نانوزیستی بیومیک، کودهای زیستی نیتروکسین و میکوریزا و شاهد به‌ترتیب به میزان ۱۰/۸۹، ۱۰/۳۹، ۹/۸۸ و ۹/۳۸ درصد) را تولید نمود که این اثر با کاهش β-ترپینئول، کامفور، α-پینن، تیمول، لینالیل استات، جرانیل استات و β-کایوفیلن همراه بود. تیمار آبیاری با۳۰ درصد رطوبت قابل دسترس، بیشترین ترکیبات اصلی اسانس از جمله β-ترپینئول (در کود نانوزیستی بیومیک، کودهای زیستی نیتروکسین و میکوریزا و شاهد به‌ترتیب به میزان ۱۵/۰۷، ۱۴/۶۶، ۱۴/۵۵ و ۱۴/۱۷ درصد)، کامفور (در کود نانوزیستی بیومیک، کودهای زیستی نیتروکسین و میکوریزا و شاهد به‌ترتیب به میزان ۸/۰۰، ۷/۶۳، ۷/۷۶ و ۷/۱۴ درصد)، α-پینن (به‌ترتیب به میزان ۵/۸۲، ۵/۷۳، ۵/۴۰ و ۵/۳۱ درصد در کود نانوزیستی بیومیک، کودهای زیستی نیتروکسین، میکوریزا و شاهد)، تیمول (به‌ترتیب به میزان ۴/۰۸، ۴/۱۱، ۴/۰۷ و ۴/۰۶ درصد در کود نانوزیستی بیومیک، کودهای زیستی نیتروکسین، میکوریزا و شاهد)، لینالیل استات (به‌ترتیب به میزان ۵/۹۵، ۶/۵۵، ۵/۹۵ و ۵/۱۵ درصد در کود نانوزیستی بیومیک، کودهای زیستی نیتروکسین، میکوریزا و شاهد)، جرانیل استات (به‌ترتیب ۴/۸۸، ۵/۳۹، ۵/۵۱ و ۴/۷۶ درصد در کود نانوزیستی بیومیک، کودهای زیستی نیتروکسین، میکوریزا و شاهد) و β-کایوفیلن (در کود نانوزیستی بیومیک، کودهای زیستی نیتروکسین و میکوریزا و شاهد به‌ترتیب به میزان ۵/۸۴، ۵/۱۶، ۵/۷۰ و ۵/۰۳ درصد) را به خود اختصاص داده بود (جدول ۷).

جدول ۷- اثرات متقابل تنش خشکی و کود زیستی بر ترکیبات اسانس رزماری

Table 7- Interactions of drought stress and bio and nano bio-fertilizer on rosmary essential oil components

Essential oil composition	90% available water				70% available water				50% available water				30% available water			
	Mycorrhiza	Nitroxin	Bioumik	No-inoculated	Mycorrhiza	Nitroxin	Bioumik	No-inoculated	Mycorrhiza	Nitroxin	Bioumik	No-inoculated	Mycorrhiza	Nitroxin	Bioumik	No-inoculated
α-Pinene	3.51	3.58	3.76	3.46	3.94	4.05	4.081	3.91	5.27	5.65	5.72	5.34	5.40	5.73	5.82	5.31
β- Pinene	0.31	0.44	0.47	0.27	0.56	0.58	0.599	0.57	0.71	1.06	1.15	0.62	1.43	1.55	1.58	1.40
Limonene	16.67	16.89	17.62	15.39	14.59	14.52	14.21	13.14	12.52	12.12	12.62	12.02	7.54	7.75	8.52	7.73
1,8 cineole	23.89	25.63	25.21	22.32	23.11	23.26	23.49	23.10	20.06	20.30	20.61	19.75	16.93	17.70	17.54	16.77
Linalool	9.88	10.39	10.89	9.38	8.28	9.44	9.808	7.65	7.15	7.01	7.58	6.58	6.25	5.37	6.27	5.35
Camphor	3.69	3.78	3.26	3.17	4.62	4.59	4.873	4.33	5.38	4.90	6.69	4.54	7.76	7.63	8.00	7.14
β-terpineol	11.53	11.56	11.56	11.52	11.65	12.14	12.2	11.53	13.64	13.05	13.37	12.50	14.55	14.66	15.07	14.17
Borneol	8.51	7.53	8.10	7.12	5.79	5.76	5.951	5.50	2.44	2.49	2.30	2.25	1.31	1.69	1.79	1.22
Terpinen 4-o1	5.88	5.89	5.62	5.14	4.02	4.25	4.836	3.07	2.52	2.91	2.97	2.17	2.15	2.34	2.38	2.11
Carvone	2.64	1.50	2.41	1.27	2.24	2.71	2.824	2.13	2.49	2.78	2.72	2.43	2.62	2.65	2.72	2.60
Thymol	0.99	0.96	0.81	0.78	2.16	2.87	2.009	2.30	3.46	4.14	3.80	3.13	4.07	4.11	4.08	4.06
Carvacrol	0.70	0.35	0.57	0.22	1.18	1.18	1.174	1.17	2.39	2.61	2.45	2.24	2.87	2.59	2.46	2.18
Linalyl acetate	1.23	1.44	1.49	1.17	1.37	1.45	1.47	1.35	2.67	2.98	2.45	2.15	5.95	6.55	5.95	5.15
Bornyl acetate	0.95	1.08	1.06	0.92	2.20	2.78	2.073	1.65	3.91	3.46	3.58	3.38	3.50	3.94	4.17	3.73
Geranyl acetate	1.33	1.94	1.84	1.43	3.90	3.53	3.922	3.25	4.29	5.22	5.45	4.06	5.51	5.39	4.88	4.76
β-caryophyllene	1.38	1.96	1.86	1.49	3.25	3.67	2.738	2.35	3.59	3.94	4.02	3.10	5.70	5.16	5.84	5.03
Caryophyllene oxide	0.86	1.01	0.89	0.84	1.62	1.51	1.368	0.97	1.79	1.64	1.83	1.60	2.08	2.11	2.11	2.08

با در نظر گرفتن ارتباط بین ترکیبات فنلی تیمول و کارواکرول و مشتقات هیدروکربنی لیمونن و الکلی مونوترپنی یک و هشتسینئول و لینالول در شرایط تنش خشکی، رابطه معکوسی بین این دو مشاهده شد. در تیمارهای کودی، با افزایش تنش خشکی، درصد تیمول و کارواکرول، برای جبران لیمونن، یک و هشتسینئول و لینالول افزایش یافت. این بدین معنی است که نرخ تبدیل لیمونن، یک و هشتسینئول و

لینالول به ترکیبات فنلی تیمول و کارواکرول، در شرایط تنش خشکی، افزایش می‌یابد. این یافته، این نتیجه‌گیری را که ترکیبات فنلی در شرایط تنش افزایش می‌یابند، تأیید می‌نماید. این یافته با یافته‌های Babaee *et al*. (2010) در آویشن، Estrada *et al*. (1999) در فلفل (*Capsicum annuum* L.)، Omer (1998) در مرزنجوش (*Origanum syriacum* L.) و Omer *et al*. (1994) در مرزنجوش شیرین (*Majorana horenses* L.)، مطابقت دارد. نتایج حاصل نشان داد که محتوای دارویی ترکیبات مطلوب اسانس، با دستکاری تکنیک‌های زراعی از جمله آبیاری (تنش کم‌آبی) و کوددهی امکان پذیر می‌باشد. در واقع تنش‌های زیستی و غیرزیستی، اثر قابل ملاحظه‌ای بر سطوح متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارند (Dixon & Paiva, 1995). تنش خشکی، بیوسنتز ایزوپنتنیل پیروفسفات، پیش‌ماده اولیه ترپن‌ها در گیاهان را القاء می‌کند. (Milborrow, 2001; Turtola *et al*., 2003). ایزومرهای ایزوپنتنیل دی‌فسفات، مسئول ایزومریزاسیون ایزوپنتنیل دی‌فسفات به دی-متیل آلیل دی‌فسفات، برای ساخت واحد ایزوپرن، ترکیب اساسی برای ساخت کلیه ترپن‌ها، می‌باشند. Abreu & Mazzafera (2007) نشان دادند که کمبود آب، محتوای ترکیبات اساسی علف چای (*Hypericum brasiliense* L.) را تحت تأثیر قرار می‌دهد و ممکن است از طریق تخصیص مجدد کربن جذب شده، موجب کاهش تدریجی رشد گیاه و افزایش متابولیت-های ثانویه شود. ارتباط فیزیولوژیک این پدیده از لحاظ هزینه رقابت ناشناخته است. اگر چه برای ترکیبات فنلی با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، این پدیده ممکن است با مکانیزم مقابله با اثرات زیانبار گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، در ارتباط باشد (Kirakosyan *et al*., 2004).

نتیجه‌گیری کلی

تنش خشکی، موجب افزایش رشد پیکره رویشی، درصد و عملکرد اسانس و تغییر ترکیبات آن شد. کودهای نانوزیستی و زیستی، موجب افزایش رشد پیکره رویشی و درصد، عملکرد و ترکیبات اسانس رزماری شدند. در سطوح متفاوت تنش خشکی در بیشتر موارد، حداکثر مقدار اسانس، به کود نانوزیستی بیومیک تعلق داشت. کود نانوزیستی بیومیک نسبت به سایر کودها توانست تنش خشکی را بهتر تعدیل نماید و موجب بهبود رشد پیکره رویشی، درصد و عملکرد اسانس و ترکیبات اسانس رزماری شود. بنابراین، به‌نظر می‌رسد که در راستای نیل به اهداف کشاورزی پایدار، به جای کودهای شیمیایی قابل توصیه باشد. ترکیبات الکلی منوترپنی (۱،۸ سینئول و β- ترپینئول) و هیدروکربن‌های منوترپنی (لیمونن)، مهم‌ترین ترکیبات معطر گیاه رزماری بودند.

REFERENCES

1. Abdullah, A. T., Hanafy, M. S., EL-Ghawwas, E. O. & Ali, Z. H. (2012). Effect of compost and some biofertilizers on growth, yield, essential oil productivity and chemical composition of *Rosmarinus officinalis*, L. plants. *Journal of Horticultural Science & Ornamental Plants*, 4 (2), 201-214.
2. Abreu, I. N. & Mazzafera, P. (2007). Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* choisy. *Plant Physiolology and Biochemistry*, 43, 241-248.
3. Adams, R.P. (2001). *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography and Mass Spectrometry* (4th ed.). Allured, USA. 804p.
4. Adesemoye, A. O., Torbert, H. A. & Kloepper, J. W. (2008). Enhanced plant nutrient use efficiency with PGPR and AMF in an integrated nutrient management system. *Canadian Journal of Microbiology*, 54, 876-886.
5. Akhtar, M. S. & Siddiqui, Z. A. (2009). Effect of phosphate solubilizing microorganisms and *Rhizobium sp*. on the growth, nodulation, yield and root- rot disease complex of chickpea under field condition. *African Journal of Biotechnology*, 8(15), 3489-3496.
6. Andalibi, B., Zehtab Salmasi, S., Ghassemi Gholezani, K. & Saba, J. (2010). Changes in essential oil yield and composition at different parts of dill (*Anethum graveolens* L.) under limited irrigation conditions. *Journal of Agricultural Science*, 21, 11-22.
7. Babaee, K., Amini Dehaghi, M., Modares Sanavi, S. A. M. & Jabbari, R. (2010). Water deficit effect

on morphology, prolin content and thymol percentage of thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 26(2), 239-251. (In Farsi with English abstract).
8. Banchio, E., Xie, X., Zhang, H. & Pare, P. W. (2009). Soil bacteria elevate essential oil accumulation and emissions in sweet basil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 653–657.
9. Banjaw, D. T. B., Wolde, T. G., Gebre, A. & Mengesha, B. (2016). Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Variety Verification Trial at Wondogenet, South Ethiopia. *Medicinal and Aromatic Plants*, 5, 267.
10. Begum, A., Sandhya, S., Ali, S. S., Vinod, K. R., Reddy, S. & Banji, D. (2013). An in-depth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 12(1), 61-73.
11. Bremner, J. M. & Mulvany, G. S. (1982). Nitrogen Total. In: Page A. L. (ed.). *Methods of Soil Analysis, Part 2: Chemical and Microbiological Properties*. American Society of Agronomy, Madison, WI., USA. p. 595-622.
12. Cardoso, I. M. & Kuyper, T. W. (2006). Mycorrhizas and tropical soil fertility. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 116, 72-84.
13. Chalchat, J. C., Garry, R. P., Michet, A., Benjilali, B. & Chabart, J. L. (1993). Essential oils of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). The chemical composition of oils of various origins (Morocco, Spain, France). *Journal of Essential Oil Research*, 5(6), 613-618.
14. Chapman, H. D. & Pratt, P. F. (1961). *Methods of Analysis for Soil, Plants and Waters*. University of California, Riverside, CA.
15. Chen, J. (2006). The combined use of chemical and organic fertilizers and/or biofertilizer for crop growth and soil fertility. *International Workshop on Sustained Management of the Soil-Rhizosphere System for Efficient Crop Production and Fertilizer Use*. October, 16 -20. Thailand. p.11.
16. Chinnamuthu, C. R. & Murugesa Boopathi, P. (2009). Nanotechnology and agroecosystem. *Madras Agricultural Journal*, 96, 17-31.
17. Coronic, G., Hashghaie, J. G., Genty, B. & Briantais, J. M. (1992). Leaf photosynthesis is resistant to a mild drought stress. *Photosynthetica*, 27, 295-300.
18. Dastbandan Nejad, S., Saki Nejad, T. & Lack, S. (2010). Effect of drought stress and different levels of potassium fertilizer on K^+ accumulation in corn. Natural Science, 8(5), 23-27.
19. Demir, S. (2004). Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. *Turkish Journal of Biology*, 28, 85-90.
20. DeRosa, M. R., Monreal, C., Schnitzer, M., Walsh, R. & Sultan, Y. (2010). Nanotechnology in fertilizers. *Nature Nanotechnology*, 5, 91-92.
21. Dixon, R. A. & Paiva, N. (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell*, 7, 1085-1097.
22. Erkossa, T., Stahr, K. & Tabor, G. (2002). Integration of organic and inorganic fertilizers: effect on vegetable productivity. *Ethiopian Agricultural Research Organization, Debre Zeit Agricultural Research Centre, Ethiopia*, 82, 247-256.
23. Estrada, B., Pomar, F., Do, A., Az, J., Merino, F. & Bernal, M. A. (1999). Pungency level in fruits of the padron pepper with different water supply. *Scientia Horticulturae*, 81, 385-396.
24. Fatemy, F. & Evans, K. (1986). Effects of Globodera rostochiensis and water stress on shoot and root growth and nutrient uptake of potatoes. *Revune Nematol*, 9, 181-184.
25. Fatima, S. F., Farooqi, A. H. A. & Srikant, S. (2000) Effect of drought stress and plant density on growth and essential oil metabolism in citronella java (*Cymbopogon* winterianus) cultivars. *Journal of Medcinal and Aromatic Plant Science*, 22 (1B), 563-567.
26. Gershenzon, J. (1984). Changes in levels of plant secondary metabolites under water and nutrient stress.In: Timmermann, B. N., Steelink, C. and Leowus, F. A. (Eds.). Phytochemical Adaptation to Stress. Plenum Press, New York. pp. 273-320.
27. Gharib, F. A., Moussa, L. A. & Massoud, O. N. (2008). Effect of compost and bio-fertilizers on growth, yield and essential oil of sweet marjoram (*Marjorana hortensis* L.). *Journal of Agriculture and Biological Science*, 10, 381-387.
28. Gunes, A., Pilbeam, D. J., Inal, A., Coban, S. & Aksu, A. (2008). Influence of silicon on sunflower cultivars under drought stress. II: Essential and nonessential element uptake determined by polarized energy dispersive x-ray fluorescence. *Commun in Soil Science and Plant Analysis*, 39, 1904-1927.
29. Habibi, D. M., Boojar, M. A., Mahmodi, A., Ardakani, M. R. & Taleghani, D. (2004). Antioxidative enzayme in sunflower subjected to drought stress .*4th international Crop Science Congress*, Brishbane, Australia, 26 septamber 1- Octobr, p.1-4.
30. Han, H. S., Supanjani, D. & Lee, K. D. (2006). Effect of coin coculation with phosphate andpotassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. *Plant, Soil and*

Environment, 52, 130-36.
31. Hassan, F.A.S., Bazaid, S. & Ali. E. F. (2013). Effect of deficit irrigation on growth, yield and volatile oil contenton *Rosmarinus officinalis* L. Plant. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 1(3), 12-21.
32. Jackson, M.L. (1973). *Soil Chemical Analysis*. Prentice Hall of India Pvt. Ltd., New Delhi, 498p.
33. Jalal, K., Rahmat, M., Mohammad, F. & Himan, N. (2009) Influence of drying methods, extraction time, and organ type on essential oil content of rosemary *(Rosmarinus officinalis* L.*). Nature and Science*, 7, 11.
34. Jalali, M. (2005). Release kinetics of non-exchangeable potassium in calcareous soils. *Communication in Soil Science Plant Analalysis*, 36, 1903-1917.
35. Jalali, M. & Zarabi, M. (2006). Kinetics of non-exchangeable potassium release and plant response in some calcareous soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 169, 194-204.
36. Jones, H. (1980). Interaction and integration of adaptive response to water stress. *Royal Science Society of London, Series*, B 273, 193-205.
37. Kalamian, S., Modares Sanavi, S. A. M. & Sepehri, A. (2006). Effect of water deficit at vegetative and reproductive growth stages in leafy and commercial hybrids of maize. *Agricultural Research*, 5(3), 38-53.
38. Kapoor, R., Chaudhary, V. & Bhatnagar, A. K. (2007). Effects of arbuscular mycorhiza and phosphorus application on artemisinin concenteration in *Artemisia annua* L. *Mycoriza*, 17, 581-587.
39. Kapoor, R., Giri, B. & Mukerji, K. G. (2004). Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare* Mill. on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. *Bioresource Technology*, 93, 307-311.
40. Kapoor, R., Giri, B. & Mukerji, K. G. (2002). Mycorrhization of coriander (*Coriandrum sativum* L.) to enhance the concentration and quality of essential oil. *Journal of Science, Food and Agriculture*, 82(4), 339-342.
41. Karthikeyan, B., Abdul Jaleel, C., Lakshmanan, G. M. A. & Deiveekasundaram, M. (2008). Studies on rhizosphere microbial diversity of some commercially important medicinal plants. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 62(1), 143-145.
42. Khalid, A., Muhammad, A. M. & Zahir, Z. A. (2004). Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *Journal of Applied Microbiology*, 96, 473-480.
43. Khoram-Dell, S., Kochaki, S., Nasiri-Mahalati, M. & Ghorbani, R. (2008). Application of biological fertilizers on growth indices of black cumin (*Nigella sativa* L.). *Journal of Agricultural Research*, 2, 294-285.
44. Kirakosyan, A., Kaufman, P., Warber, S., Zick, S., Aaronson K. & Bolling, S. (2004). Applied environmental stresses to enhance the levels of polyphenolics in leaves of hawthorn plants. *Physiology Plantarum*, 121, 182-186.
45. Kumar, T. S., Swaminathan, V. & Kumar, S. (2009). Influence of nitrogen, phosphorus and biofertilizers on growth, yield and essential oil constituents in ratoon crop of davana (*Artemisia pallens* Wall.). *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 8(2), 86-95.
46. Kusaka, M., Lalusin, A. G. & Fujimura, T. (2005). The maintenance of growth and turgor in pearl millet (*Pennisetum glaucum* L. Leeke) cultivars with different root structures and osmo-regulation under drought stress. *Plant Science*, 168, 1-14.
47. Leithy, S., El-Meseiry, T. A. & Abdallah, E. F. (2006). Effect of bio-fertilizer, cell stabilizer and irrigation regime on rosemary herbage oil yield and quality. *Journal of Applied Sciences Research*, 2(10), 773-779.
48. Letchamo, W. & Gosselin, A., (1996) Transpiration, essential oil glands, epicuticular wax and morphology of *Thymus vulgaris* are influenced by light intensity and water supply. *Journal of Horticultural Science*, 71, 123 – 134.
49. Lorio, P. L. (1986) Growth - differentiation balance: A basis for understanding southern pin beetle-tree interaction. *Forest Ecological Management*, 14, 259-273.
50. 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 Agrophysics*, 21(4), 361-366.
51. Milborrow, B. V. (2001). Thepathway of biosynthesis of abscisic acid in *Vascular olants*: a review of the present state of knowledge of ABA biosynthesis. *Journal of Experimental Botany*, 52, 1145-1164.
52. Mohammadpour Vashvaei, R., Galavi, M., Ramroudi, M. & Fakheri, B. A. (2015a). Effects of drought stress and bio-fertilizers inoculation on growth, essential oil yield and constituents of thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Journal of Agroecology*, 7(2), 237-253. (In Persian with English Abstract)
53. Mohammadpour Vashvaei, R., Ghanbari, A. & Fakheri, B. A. (2017a). Effect of bio-fertilizers in combination with different rates of chemical fertilizers on the growth characters and sepals yield of

roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Journal of Agroecology*, 9(2), 276-295. (In Persian with English Abstract)
54. Mohammadpour Vashvaei, R., Ghanbari, A. & Fakheri, B. A. (2017b). Effect of different fertilization systems (chemical, biological and integrated) on nitrogen and phosphorus concentration, biochemical attributes and sepals dry weight of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Journal of Agroecology*, 9(3), 652-674. (In Farsi with English Abstract)
55. Mohammadpour Vashvaei, R., Ghanbari, A. & Fakheri, B. A. (2015b). Effect of combined feeding system on N, P and K concentration, biochemical characteristics and calyxes yield of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). Iranian *Journal of Filed Crop Science*, 46(3), 497-518. (In Persian with English Abstract)
56. Mohammadpour Vashvaei, R., Ramroudi, M. & Fakheri, B. A. (2017c). Effects of Drought Stress and Bio-fertilizer Inoculation on Quantitative and Qualitative Characteristics of Marian Thistle (*Silybum marianum* L.). *Journal of Agroecology*, 9(1), 31-49. (In Farsi with English Abstract)
57. Nagananda, G. S., Das, A., Bhattacharya, S. & Kalpana, T. (2010). *In vitro* studies on the effects of biofertilizers (*Azotobacter and Rhizobium*) on seed germination and development of *Trigonella foenum-graecum* L. using a novel glass marble containing liquid medium. *International Journal of Botany*, 6, 394-403.
58. Omer, E. A. (1998). Response of wild Egyptian oregano to nitrogen fertilization in sandy soil. *Egyptian Journal of Horticulture*, 25(3), 295-307.
59. Omer, E. A., Ouda, H. E. & Ahmad, S. S. (1994). Cultivation of sweet marjoram, *Majorana hortenses* in newly reclaimed lands of Egypt. *Journal Herbs Spices Medicinal Plants*, 2(2), 9-16.
60. Pal, K. K., Tilak, V. B. R., Saxena, A. K., Dey, R. & Singh, C. S. (2001). Suppression of maize root diseases caused by *Macrophomia phaseolina*, *Fusarium moniliforme* and *Fusarium graminaerum* caused by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiological Research*, 156, 209-223.
61. Petropoulos, S. A., Dimitra, D., Polissiou, M. G. & Passam, H. C. (2008) The effect of water deficit stress on the growth, yield and composition of essential oils of parsley. *Journal of Horticultural Science*, 115, 393-397.
62. Ratti, N., Kumar, S., Verma, H. N. & Gautam, S. P. (2001). Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to *Cymbopogon martini* var. motia by rhizobecteria, AMF and *Azospirillum* inoculation. *Microbiology Research*, 156, 145-149.
63. Refaat, A. M. & Saleh, M. M. (1997). The combined effect of irrigation intervals and foliar nutrition on sweet basil plants. *Bulletin of Faculty of Agriculture University of Cairo*, 48, 515-527.
64. Revilas, J. J., Rodelas, B. Pozo, C. Martinez-Toledo M. V. & Gonzalez-Lopez, J. (2000). Production of B-group vitamins by two azotobacter strains with phenolic compounds as sole carbon source under diazotrophic and adiazotrophic conditions. *Journal of Applied Microbiology*, 89, 486-493.
65. Rhizopoulous, S. & Diamatoglon, S. (1991). Water stress induced diurnal variations in leaf water relations, stomatal conductance, soluble sugars, lipids and essential oil content of *Origanum majorana* L. *Journal of Hortical Science*, 66, 119 – 125.
66. Sanchez, G. E., Carballo, G. C. & Romos, G. S. R. (2008). Influence of organic manures and biofertilizers on the Quality of two Plantaginaceae: *Plantago major* L. and *P. lanceolota* L. Revista cubana de plants. *Medicinales*, 13, 12-15.
67. Sangwan, N. S., Farooqi, A. H. A., Shabih, F. & Sangwan, R. S. (2001). Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regulation*, 34, 3-21.
68. SAS Institute. (2013). *The SAS system for Windows*. Release 9.2. SAS Institute. Cary, NC.
69. Sharma, A. K. (2002). *Biofertilizers for Sustainable Agriculture*. Agrobios, India. 407p.
70. Simon, J. E., Reiss-Buhenheinra, D., Joly R. J. & Charles, D. J. (1992) Water stress induced alterations in essential oil content and composition of sweet basil. *Journal Essenential Oil Research*, 4, 71–5.
71. Singh, M. & Ramesh, S. (2000) Effect of irrigation and nitrogen on herbage, oil yield and water-use efficiency in rosemary grown under semi-arid tropical conditions. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Science*, 22 (1B), 659-662.
72. Singh, S. & Kapoor, K. K. (1999). Inoculation with phosphate solubilizing microorganisms and a *Vesicular arbuscular* mycorrhizal fungus improves dry matter yield and nutrient uptake by wheat grown in a sandy soil. *Biology and Fertility Soils*, 28, 139-144.
73. Sreevalli, Y., Baskaran, K., Chandrashekara, R., kuikkarni, R., SuShil Hasan, S., Samresh, D., Kukre, J., Ashok, A., Sharmar Singh, K., Srikant, S. & Rakesh, T. (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.

74. Sundara, B., Natarajan, V. & Hari K. (2002). Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugar cane and sugar yields. *Field Crop Research*, 77, 43-49.
75. Taiz, L. & Zeiger, E. (2006). *Plant Physiology*, (4th Ed) Sinauer Associates, Sunderland, Mass, 623p.
76. Terpinc, P., Bezjak, M. & Abramovic, H. (2009). A kinetic model for evaluation of the antioxidant activity of several rosemary extracts. *Food Chemistry*, 115(2), 740-744.
77. Toro, M., Azcon, R. & Barea, J. M. (1997). Improvement of arbuscular mycorrhiza development by inoculation of soil with phosphate-solubilizing rhizobacteria to improve rock phosphate bioavailability (32p) and nutrient cycling. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(11), 4408-4412.
78. Tuomi, J., Niemela, P., Haukioja, E. & Neuvonen, S. (1984) Nutrient stress an explan- at ion for plant antiherbivore responses to defoliation. *Oecologia*, 61, 208-210.
79. Turtola, S., Manninen, A. M., Rikalaand, R. & Kainulainen, P. (2003). Drought stress alters the concentration of wood terpenoids in Scots pine and Norway spruce seedlings. *Journal Chemistry Ecology*, 29, 1981-1955.
80. Turkan, I., Bor, M., Ozdemir, F. & Koca, H. (2005). Differential responses of lipid peroxidation and antioxidant in the leaves of drought –sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyetylenglycol mediated water stress. *Plant Science*, 168, 223-231.
81. Vinutha, T. (2005). *Biochemical Studies on Ocimum sp. Inoculated with Microbial Inoculants*. M.Sc, (Agriculture) thesis, University of Agricultural Sciences, Bangalore, India.
82. Wang, W., Vinocur, B. & Altman, M. A. (2003). Plant responses to drought towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, 218, 1-14.
83. Wu, S. C., Cao, Z. H., Li, Z. G., Cheung, K. C. & Wong, M. H. (2005). Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma*, 125, 155-166.
84. Xia, L., Yang, W. & Xiufengl, Y. (2007). Effects of water stress on berberine, jatrorrhizine and palmatine contents in amur corktree seedlings. *Acta Ecologica Sinica*, 27(1), 58-64.
85. Yadegari, M., Asadirahmani, H., Noormohammadi, G. & Ayneband, A. (2010). Plant growth promoting rhizobacteria increase growth, yield and nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris*. *Journal of Plant Nutrition*, 33, 1733-1743.
86. Youssef, A. A., Edri, A. E. & Gomaa, A. M. (2004). A comparative study between some plant growth regulators and certain growth hormones producing microorganisms on growth and essential oil composition of *Salvia officinalis* L. *Plant Annals of Agricultural Science*, 49, 299-311.