

الحمد لله الذي
خلقنا من
الحمم



دانشکده کشاورزی

رساله دکتری مهندسی زراعت - فیزیولوژی گیاهان زراعی

تأثیر کاربرد کودهای زیستی و غیرزیستی بر عملکرد و برخی صفات
فیزیومورفولوژیک گیاه آویشن زراعی (*Thymus vulgaris*) تحت تنش کم آبی

نگارنده: فریده گشسبی

استاد راهنما

دکتر مصطفی حیدری

اساتید مشاور

دکتر سید کاظم صباغ

دکتر حسن مکاریان

شهریور ۱۳۹۹

شماره: ۱۰۴
تاریخ: ۱۳۹۱/۹/۱۷
ویرایش:

باسمه تعالی



مدیریت تحصیلات تکمیلی

فرم شماره ۱۱: صورت جلسه نهایی دفاع از رساله دکتری (Ph.D)

بدینوسیله گواهی می شود خانم فریده گشسی دانشجوی دکتری رشته زراعت فیزیولوژی گیاهان زراعی به شماره دانشجویی ۹۴۰۱۰۲۵ ورودی ۱۳۹۲ در تاریخ ۱۳۹۱/۰۶/۲۹ از رساله نظری ☒ علمی ☐ خرد با عنوان: تأثیر کاربرد کودهای زیستی و غیروزیستی بر عملکرد و برخی صفات فیزیولوژیک گیاه آویشن زراعی (*Thymus vulgaris*) تحت تنش کم آبی دفاع و با اخذ نمره ۱۹/۲۵ به درجه عالی نائل گردید.

الف) درجه عالی: نمره ۱۹-۲۰ ☒ (ب) درجه خیلی خوب: نمره ۱۸/۹۹ - ۱۷ ☐
ج) درجه خوب: نمره ۱۶/۹۹ - ۱۵ ☐ (د) مردود: کمتر از ۱۵ ☐

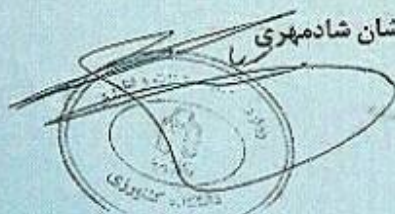
ردیف	هیئت داوران	نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی	امضاء
۱	استاد راهنما	دکتر مصطفی حیدری	دانشیار	
۲	مشاورین	دکتر سید کاظم صباغ دکتر حسن مکلویان	دانشیار دانشیار	
۳	داور داخلی	دکتر احمد غلامی	دانشیار	
۴	داور داخلی	دکتر حمید عباس دخت	دانشیار	
۵	داور خارجی	دکتر همت اله پیردستی	استاد	
۶	نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر منوچهر قلی پور	دانشیار	

مدیر محترم تحصیلات تکمیلی دانشگاه:

ضمن تأیید مراتب فوق مقرر فرمائید اقدامات لازم در خصوص انجام مراحل دانش آموختگی خانم فریده گشسی بعمل آید.

نام و نام خانوادگی رئیس دانشکده: علی درخشان شادمهری

تاریخ و امضاء و مهر دانشکده:



یتت
اعدرم به

خدايي که آفرید جهان را ، انسان را ، عقل را ، علم را ، معرفت را ، عشق را

یتت
اعدرم به

خانواده عزیزم که از نگاهشان صلابت ، از رفتارشان محبت و از صبرشان یرمادگی را آموختم .

یتت
اعدرم به

تمام کسانی که دوستان داشته و خواهم داشت .

شکر و قدردانی

پاس بی پایان پروردگار را که به حکمت ناب انبی و قدرت خاص هم نزال خویش انسان را که اوست بنشیند تا از هر چه سرشاری فیض الہی جام کفای علم و دانش را بفرشد و تربت وجود خویش را عرصه رشد و تعالی نماید.

اینک که در پیو لطف الہی تحصیل نمود با بی پایان رسانیده ام بر خود لازم من دانم از بزرگواری که در دلی تحصیل یاری نموده اند قدردانی نمایم.

از خانواده عزیز و همربانم که در سبقت با و دشواری های زندگی بر واره یاری در روز و غذا کار و پشتیبانی حکم و مطیعین برام بوده اند صمیمانه شکر و قدردانی من نمایم.

از استاد فرزانه جناب آقای دکتر مصطفی جیدی که به عنوان استاد راهنما در مراحل مختلف این پایان نامه بر واره با صبر و کوشش و کثرت در وقت و در طول مدت تحصیل از راهنمایی های علی ایسان بهره جسته ام

کمال شکر را دارم.

از جناب آقای دکتر سید کاظم مبلغ، که در طی مراحل اجرائی و نگارش این پایان نامه کامل بر کفاری و مساعدت را داشته و مرا از لطف و معیت بی شائبه خویش بهره مند نموده اند صمیمانه سپاسگزارم.

از مشاور دیگر این پایان نامه، جناب آقای دکتر حجت محمدیان، که طی انجام این پژوهش، در روزانه یاری ام نموده اند و من را از تجارب ارزنده شان بهره مند ساخته اند، شکر و قدردانی من نمایم.

از سرکار خانم مرضیه طاهری، کارشناس آزمایشگاه و مسئول دکر ووه زیرت شناسی دانشگاه یزد که زحمت کمک و راهنمایی در اجرائی آنزیمی را مقبل شده اند، کمال شکر را دارم.

در پایان از تمام عزیزان به ویژه سرکار خانم زحراتی زاده طهری و سرکار خانم زحرانوری آگندی، که صمیمانه در تمام مراحل این پایان نامه یار و غیره وارم بوده اند و جناب آقای دکتر سید مصطفی طباطبائی که در آمالی و تجزیه

و تحلیل داده های آزمایش زحمت زیادی را مقبل شده اند و در نهایت از کلیه همربانانی که یار و خاشرشان در فزیم جاودانه است، کمال شکر و قدردانی را دارم. در پایان، این پروژه در آزمایشگاه میکروفلوئیدی و مهندسی

تشکیک گروه زیرت شناسی دانشگاه یزد انجام گرفت و بر این اساس این تحقیق در ژب سپاسگزاری خود را از مربین پردیس علوم و گروه زیرت شناسی دانشگاه یزد، ابراز می دارند.

تهدنام

اینجانب فریده گشسبی دانشجوی دوره دکتری رشته مهندسی کشاورزی-فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده رساله تأثیر کاربرد کودهای زیستی و غیرزیستی بر عملکرد و برخی صفات فیزیومورفولوژیک گیاه آویشن زراعی (*Thymus vulgaris*) تحت تنش کم آبی تحت راهنمایی دکتر مصطفی حیدری متعهد می‌شوم.

- تحقیقات در این پایان‌نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است .
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است .
- مطالب مندرج در پایان‌نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است .
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می‌باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه صنعتی شاهرود » و یا « Shahrood University of Technology » به چاپ خواهد رسید .
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان‌نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان‌نامه رعایت می‌گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان‌نامه ، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است .
- در کلیه مراحل انجام این پایان‌نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری ، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است .

تاریخ شهریورماه ۱۳۹۹

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج ، کتاب ، برنامه های رایانه ای ، نرم افزار ها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می‌باشد . این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود . استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان‌نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی‌باشد.

کم آبی یکی از عوامل مهم کاهش تولید محصولات کشاورزی و گیاهان دارویی به شمار می رود. از آنجا که رویکرد جهانی در تولید گیاهان دارویی به سمت بهبود کمیت و کیفیت ماده مؤثره است، به نظر می رسد تغذیه این دسته از گیاهان از طریق کاربرد کودهای بیولوژیکی در شرایط متفاوت محیطی بیش ترین تطابق را با اهداف تولید گیاهان دارویی دارد. از اینرو به منظور بررسی اثر تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیر زیستی بر عملکرد سرشاخه های گل دار و برخی صفات فیزیومورفولوژیک گیاه دارویی آویشن زراعی (*Thymus vulgaris* L.)، آزمایشی به صورت اسپیلت پلات و در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه زراعی عسکریه یزد در طی دو سال زراعی ۱۳۹۶ و ۱۳۹۷ انجام شد. عامل های آزمایشی شامل تنش کم آبی در سه سطح: $W_1=7$ (شاهد)، $W_2=12$ و $W_3=17$ روز دور آبیاری به عنوان عامل اصلی و کودهای زیستی و غیر زیستی در پنج سطح شامل: شاهد (بدون مصرف کود) B_1 ، قارچ اندومیکوریزا از جنس (*Glomus Glomus mosseae, G.intraradics, G.etunicatum*) B_2 ، باکتری های آزسپریلیوم (*Azospirillum brasilense*) B_3 ، سودوموناس (*Pseudomonas fluorescens*) B_4 و کود شیمیایی $B_5=NPK$ به عنوان عامل فرعی بودند. نتایج تجزیه مرکب داده های حاصل از دو سال آزمایش نشان داد که اثر متقابل سه جانبه سال، تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی تاثیرمعی داری بر میزان فلاونوئید و پروتئین داشت به طوریکه در سال دوم مقدار آن ها بیش تر از سال اول بود و همراه با افزایش سطح تنش از W_1 به W_3 به مقدار فلاونوئید افزوده و از مقدار پروتئین برگ ها کاسته شد. در این بین کود سودوموناس از کارایی بیش تری در سطح تنش W_3 برخوردار بودند. اثر متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی تأثیر معنی داری بر عملکرد سرشاخه های گل دار و عملکرد بیولوژیکی داشت. به طوریکه همراه با افزایش سطح تنش کم آبی از مقدار آن ها به میزان ۶۳ درصد کاسته شد. کودهای NPK و آزوسپیریوم بترتیب به میزان ۳۳/۳۶ و ۴۶۲/۱۶ گرم در بوته در این شرایط از تأثیر بیش تری بر آن ها برخوردار بودند. همچنین اثر متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیر زیستی تأثیر معنی داری بر میزان کلروفیل کل برگ داشت. با افزایش سطح تنش کم آبی از مقدار کلروفیل کل برگ ها به میزان ۵۴ درصد کاسته شد. در بالاترین سطح تنش کم آبی، استفاده از کود سودوموناس مانع تاثیر سوء تنش کم آبی بر کاهش کلروفیل کل در برگ های گیاه آویشن زراعی شد. در مورد درصد و عملکرد اسانس اثرات ساده تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیر زیستی در صفت درصد اسانس و اثر متقابل

تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیر زیستی در عملکرد اسانس از تاثیر معنی داری برخوردار بود، به طوریکه تنش کم آبی در بالاترین سطح به میزان ۳۱ درصد بر درصد اسانس افزود. در بین کودهای زیستی و غیر زیستی، کود میکوریزا و سودوموناس بترتیب از تاثیر بیش تری بر درصد و عملکرد اسانس برخوردار بود. در مورد دو عنصر نیتروژن و فسفر نتایج تجزیه مرکب داده ها نشان داد که اثر متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی تاثیر معنی داری بر غلظت این دو عنصر در برگ های آویشن زراعی داشت و سبب کاهش غلظت آن ها در برگ ها بترتیب به میزان ۵۴ و ۵۹ درصد شد. آزوسپیریوم تاثیر بیش تری در تنش کم آبی در رابطه با غلظت این دو عنصر در برگ گیاه آویشن داشت. تنش کم آبی بر مقدار پرولین و قندهای محلول در برگ ها و نیز فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز در برگ های گیاه آویشن زراعی افزود و در بین کودهای زیستی و غیر زیستی کود سودوموناس از تاثیر بیش تری بر این ترکیبات برخوردار بود. به طور کلی از نتایج دو سال آزمایش می توان نتیجه گیری کرد که هر چند تنش کم آبی از عملکرد سرشاخه های گل دار ، عملکرد بیولوژیکی و میزان رنگدانه های فتوسنتزی (کلروفیل a و b) کاست، اما به طور کلی استفاده از کود سودوموناس با بهبود صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی سبب بهبود رشد، عملکرد بیولوژیکی و عملکرد سرشاخه های گل دار شد. از این رو استفاده از کودهای زیستی به ویژه کود سودوموناس می تواند تا حد زیادی از بروز اثرات سوء بر این گیاه در شرایط تنش کم آبی بکاهد. لذا استفاده از کود سودوموناس در شرایط تنش کم آبی در این گیاه پیشنهاد می شود.

کلمات کلیدی: آویشن زراعی، تنش کم آبی، کودهای زیستی، عملکرد، ترکیبات بیوشیمیایی.

لیست مقالات مرئوس از پیمان نامه

گشسبی ف. حیدری م. صباغ س.ک. مکاریان.ج، (۱۳۹۹) " تأثیر دورآبیاری و کودهای زیستی و غیرزیستی بر اجزای عملکرد و برخی ترکیبات بیوشیمیایی آویشن زراعی (*Thymus vulgaris*) " نشریه علمی تغذیه گیاهان باغی، دوره ۳، شماره ۱: ص ۶۸-۵۱.

گشسبی ف. حیدری م. صباغ س.ک. مکاریان.ج، (۱۳۹۹) " تأثیر تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر عملکرد سرشاخه های گلدار، رنگدانه های فتوسنتزی و غلظت عناصر پرمصرف در گیاه آویشن زراعی (*Thymus vulgaris*) " پذیرش برای چاپ در نشریه علوم گیاهان زراعی ایران.

گشسبی ف. حیدری م. صباغ س.ک. مکاریان.ج، (۱۳۹۸) " بررسی اثر کودهای زیستی و غیرزیستی بر رنگدانه های فتوسنتزی آویشن زراعی (*Thymus vulgaris*) تحت تنش کم آبی " اولین کنفرانس تحقیقات بنیادین در علوم کشاورزی و زیست محیطی، دانشگاه شهید بهشتی تهران.

گشسبی ف. حیدری م. صباغ س.ک. مکاریان.ج، (۱۳۹۸) " بررسی اثر کودهای زیستی و غیرزیستی بر برخی صفات زراعی و تعدادی عناصر ماکرو در گیاه آویشن زراعی (*Thymus vulgaris*) تحت تنش کم آبی " اولین کنفرانس تحقیقات بنیادین در علوم کشاورزی و زیست محیطی، دانشگاه شهید بهشتی تهران.

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه و کلیات	۱
۱-۱ مقدمه	۲
۲-۱ موارد استفاده از آویشن	۳
۳-۱ شرایط کاشت گیاه آویشن	۳
۴-۱ اسانس و عصاره گیاه آویشن	۴
۵-۱ تنش ها	۵
۵-۱-۱ تنش خشکی	۵
۶-۱ کودهای زیستی	۶
۱-۶-۱ قارچ های میکوریزا	۸
۱-۶-۲ باکتری های افزایشنده رشد	۱۰
۷-۱ کودهای شیمیایی	۱۱
فصل دوم: بررسی منابع	۱۳
۱-۲ تنش ها	۱۴
۱-۲-۱ تنش خشکی و کم آبی	۱۴
۲-۲ کودهای زیستی	۱۵
۱-۲-۲ قارچ های میکوریزا	۱۵
۲-۲-۲ باکتری های افزایشنده رشد	۱۷
۱-۲-۲-۲ آزوسپیریلوم	۱۸
۲-۲-۲-۲ سودوموناس	۱۸
۳-۲ کودشیمیایی NPK	۱۹
۴-۲ آنزیم های آنتی اکسیدان	۱۹

فصل سوم : مواد و روش ها.....	۲۳
۱-۳ زمان، موقعیت جغرافیایی و مشخصات آب و هوایی محل اجرای آزمایش	۲۴
۲-۳ خصوصیات خاک محل اجرای آزمایش	۲۶
۳-۳ مشخصات طرح آزمایشی و فاکتورهای آزمایش	۲۶
۴-۳ عملیات اجرایی	۲۷
۱-۴-۳ کاشت	۲۷
۲-۴-۳ داشت	۲۷
۳-۴-۳ برداشت	۲۸
۵-۳ نمونه برداری جهت اندازه گیری عملکرد بیولوژیکی، عملکرد سرشاخه های گل دار و صفات فیزیولوژیکی	۲۸
۶-۳ اندازه گیری صفات زراعی و مورفولوژیک	۲۹
۷-۳ اندازه گیری صفات فیزیولوژیک	۲۹
۱-۷-۳ سنجش میزان کلروفیل a ، کلروفیل b ، کلروفیل کل و کاروتنوئید برگ	۲۹
۲-۷-۳ سنجش میزان آنتوسیانین برگ	۳۰
۳-۷-۳ سنجش میزان فلاونوئید برگ	۳۰
۴-۷-۳ سنجش درصد و عملکرد اسانس سرشاخه های گل دار	۳۱
۵-۷-۳ سنجش میزان قندهای محلول برگ	۳۲
۶-۷-۳ سنجش میزان پرولین برگ	۳۵
۷-۷-۳ سنجش میزان پروتئین برگ	۳۶
۸-۷-۳ سنجش میزان فنل کل برگ	۳۷
۸-۳ آنزیم های آنتی اکسیدان برگ	۳۸
۱-۸-۳ تهیه عصاره آنزیمی	۳۸
۲-۸-۳ سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)	۳۸

۳-۸-۳	سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز (POX).....	۳۹
۳-۸-۴	سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)	۴۰
۳-۸-۵	سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)	۴۱
۳-۹-۹	سنجش میزان عناصر برگ گیاه	۴۲
۳-۹-۱	سنجش درصد عنصر نیتروژن.....	۴۲
۳-۹-۲	سنجش میزان عنصر فسفر	۴۳
۳-۹-۳	سنجش میزان عنصر پتاسیم.....	۴۴
۳-۱۰	تجزیه و تحلیل داده ها	۴۴
	فصل چهارم: نتایج و بحث	۴۵
۴-۱	صفات زراعی (مورفولوژیک) و عملکرد	۴۶
۴-۱-۱	ارتفاع بوته	۴۶
۴-۱-۲	تعداد شاخه های جانبی در بوته	۴۹
۴-۱-۳	عملکرد سرشاخه های گل دار	۵۱
۴-۱-۴	عملکرد بیولوژیکی	۵۲
۴-۱-۵	روابط همبستگی بین صفات زراعی	۵۵
۴-۲	صفات فیزیولوژیکی	۵۷
۴-۲-۱	کلروفیل a	۵۷
۴-۲-۲	کلروفیل b	۶۱
۴-۲-۳	کلروفیل کل	۶۲
۴-۲-۴	کاروتنوئید	۶۴
۴-۲-۵	آنتوسیانین	۶۶
۴-۲-۶	فلاونوئید	۶۸
۴-۲-۷	روابط همبستگی بین صفات فیزیولوژیکی	۷۰

۷۱	۳-۴ صفات بیوشیمیایی
۷۱	۱-۳-۴ درصد و عملکرد اسانس سرشاخه های گل دار
۷۵	۲-۳-۴ فنل کل برگ
۷۷	۳-۳-۴ میزان قندهای محلول برگ
۷۹	۴-۳-۴ میزان پروتئین کل برگ
۸۱	۵-۳-۴ میزان پرولین برگ
۸۳	۶-۳-۴ روابط همبستگی بین صفات بیوشیمیایی
۸۴	۴-۴ عناصر معدنی برگ
۸۴	۱-۴-۴ عنصر نیتروژن
۸۷	۲-۴-۴ عنصر فسفر
۸۸	۳-۴-۴ عنصر پتاسیم
۹۱	۴-۴-۴ روابط همبستگی بین عناصر معدنی
۹۲	۵-۴ آنزیم های آنتی اکسیدان
۹۲	۱-۵-۴ آنزیم کاتالاز (CAT)
۹۶	۲-۵-۴ آنزیم پراکسیداز (POX)
۹۷	۳-۵-۴ آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)
۹۹	۴-۵-۴ آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)
۱۰۲	۵-۵-۴ روابط همبستگی بین آنزیم های آنتی اکسیدان
۱۰۴	۶-۴ نتیجه گیری کلی
۱۰۵	۷-۴ پیشنهادات
۱۰۷	مراجع
۱۳۱	پیوست

فهرست جداول

- جدول ۳-۱ داده های هواشناسی منطقه مورد آزمایش در سال های ۱۳۹۶ و ۱۳۹۷ ۲۵
- جدول ۳-۲ نتایج تجزیه شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش در عمق ۰ تا ۳۰ سانتی متری خاک ۲۶
- جدول ۴-۱ تجزیه واریانس مرکب تأثیر تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر صفات زراعی گیاه
آویشن زراعی در دو سال آزمایش ۴۷
- جدول ۴-۲ مقایسه میانگین اثرات ساده سال در صفات زراعی آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله .. ۴۸
- جدول ۴-۳ مقایسه میانگین اثرات ساده تیمار تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر ارتفاع بوته
گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله ۴۸
- جدول ۴-۴ تجزیه واریانس مرکب تأثیر تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر صفات فیزیولوژیکی
گیاه آویشن زراعی در دو سال آزمایش ۵۸
- جدول ۴-۵ مقایسه میانگین اثر ساده سال بر صفات فیزیولوژیکی گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب
دو ساله ۵۹
- جدول ۴-۶ مقایسه میانگین اثرات ساده تیمار تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان
کاروتنوئید گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله ۶۵
- جدول ۴-۷ مقایسه میانگین اثرات متقابل سال در تیمارهای تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی
بر میزان فلاونوئید گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله ۶۹
- جدول ۴-۸ تجزیه واریانس مرکب تأثیر تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر صفات بیوشیمیایی
گیاه آویشن زراعی در دو سال آزمایش ۷۲
- جدول ۴-۹ مقایسه میانگین اثر ساده سال بر صفات بیوشیمیایی گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب
دو ساله ۷۳

جدول ۴-۱۰ مقایسه میانگین اثرات ساده تیمارتنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر درصد	
اسانس گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله	۷۴
جدول ۴-۱۱ مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارتنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان	
پروتئین کل گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله	۸۰
جدول ۴-۱۲ تجزیه واریانس مرکب تأثیرتنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی برمیزان	
عناصرمعدنی گیاه آویشن زراعی در دو سال آزمایش	۸۵
جدول ۴-۱۳ مقایسه میانگین اثرساده سال برمیزان عناصر معدنی گیاه آویشن زراعی حاصل ازتجزیه مرکب	
دوساله	۸۶
جدول ۴-۱۴ تجزیه واریانس مرکب تأثیرتنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی برمیزان آنزیم های	
آنتی اکسیدان گیاه آویشن زراعی در دو سال آزمایش	۹۳
جدول ۴-۱۵ مقایسه میانگین اثر ساده سال برمیزان آنزیم های آنتی اکسیدان گیاه آویشن زراعی حاصل	
ازتجزیه مرکب دوساله	۹۴

فهرست ارجاع

- شکل ۱-۱ ساختار ظاهری گیاه آویشن و اجزاء تشکیل دهنده آن ۳
- شکل ۱-۲ مراحل کلونیزاسیون ریشه با قارچ میکوریزا آربسکولار ۹
- شکل ۱-۳ ساختار هیف های میکوریزا و رابطه میزبانی در میزبان های مختلف ۱۰
- شکل ۴-۱ مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر تعداد شاخه های جانبی گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله ۵۰
- شکل ۴-۲ مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر عملکرد سرشاخه های گل دار گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله ۵۱
- شکل ۴-۳ مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر عملکرد بیولوژیک گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله ۵۳
- شکل ۴-۴ مقایسه میانگین اثر متقابل سال در کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان کلروفیل a گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله ۶۰
- شکل ۴-۵ مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان کلروفیل a در گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله ۶۰
- شکل ۴-۶ مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان کلروفیل b در گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله ۶۱
- شکل ۴-۷ مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان کلروفیل کل در گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله ۶۳
- شکل ۴-۸ مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان آنتوسیانین در گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله ۶۷
- شکل ۴-۹ مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان عملکرد اسانس در گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله ۷۵

- شکل ۴-۱۰ مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان فنل کل در گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله ۷۶
- شکل ۴-۱۱ مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان قندهای محلول در گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله ۷۸
- شکل ۴-۱۲ مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان پرولین در گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله ۸۲
- شکل ۴-۱۳ مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر درصد نیتروژن در برگ گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله ۸۷
- شکل ۴-۱۴ مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان عنصر فسفر در برگ گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله ۸۸
- شکل ۴-۱۵ مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان عنصر پتاسیم در برگ گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله ۸۹
- شکل ۴-۱۶ مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان آنزیم کاتالاز در گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله ۹۵
- شکل ۴-۱۷ مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان آنزیم پراکسیداز در گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله ۹۶
- شکل ۴-۱۸ مقایسه میانگین اثر متقابل سال در تیمار کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله ۹۸
- شکل ۴-۱۹ مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیر زیستی بر میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله ۹۹
- شکل ۴-۲۰ مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله ۱۰۱

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱-۱ مقدمه

برای تولید محصولات مناسب چه از نظر کمی و چه از نظر کیفی، لازم است شرایط کاشت در بهترین وضعیت محیطی برای ارتباط مناسب با عوامل آبی و خاکی باشد. اما عمدتاً کاشت گیاهان با مشکلات عدیده ای روبرو است. از اینرو ایجاد شرایط و بستر مناسب برای حصول حداکثر محصول از اهداف مهم تولیدکنندگان به شمار می رود. از ابتدای زندگی بشر، گیاهان همواره مورد توجه بوده و هستند. این توجه در وهله اول به تغذیه بشر مربوط است. همچنین با مشاهده تاثیر برخی از این گیاهان در بهبود بعضی از بیماری ها، توجه انسان به آن ها بیش ترشد به طوریکه بعضی از آن ها به عنوان گیاهان دارویی مورد مطالعه و بررسی قرار گرفتند (کینت زیوس، ۲۰۰۶). سلسله گیاهی با بیش از ۲۵۰ هزار گونه به عنوان یکی از بزرگ ترین جمعیت های موجود در روی زمین شناخته می شوند (پزوتو، ۱۹۹۷). این جمعیت به عنوان یک منبع سرشار از ترکیبات زیستی و شیمیایی می تواند دارای ارزش ها بالای دارویی باشد (بلندیرین و همکاران، ۱۹۸۵). شرایط متفاوت محیطی همانند کم آبی می تواند تغییراتی را در رشد و تولید عملکرد اقتصادی گیاهان و از جمله گیاهان دارویی به وجود آورد. در این بین، گیاه دارویی آویشن به علت داشتن ماده موثره تیمول کاربرد زیادی در طب سنتی و نیز صنایع غذایی امروز دارد.

گیاه دارویی آویشن زراعی (*Thymus vulgaris* L. ; Lamiaceae) گیاهی است از خانواده نعنائیان، دارای ماده موثره تیمول، در بین قسمت های مختلف آن سرشاخه های گل دار و برگ های خشک شده از اهمیت زیادی برخوردارند. آویشن زراعی در اکثر نقاط دنیا و از جمله در مناطق مختلف ایران کشت و تولید می شود (امیدبیگی و محمودی سورستانی، ۱۳۸۹). در شکل ۱ تصویری از گیاه کامل و اجزای تشکیل دهنده آن آورده شده است. این گیاه دارای گل های کوچک، بنفش رنگ و بذرهایی ریز با تنوع رنگی متفاوت است. رنگ بذرها عمدتاً قهوه ای متمایل به تیره است (امیدبیگی، ۱۳۸۴).



شکل ۱-۱ ساختار ظاهری گیاه آویشن و اجزاء تشکیل دهنده آن (امیدبگی، ۱۳۸۴).

۱-۲ موارد استفاده از آویشن

آویشن زراعی به عنوان گیاهی معطر در گروه ترکیبات آروماتیک دار قرار دارد. برگ های خشک آویشن و گل های آن به عنوان مواد معطره در صنایع غذایی و نوشیدنی ها مورد استفاده قرار می گیرد. همچنین اسانس آن در صنایع داروسازی و مواد آرایشی و بهداشتی کاربرد دارد. عصاره آویشن تحت عنوان Thyme دارای کاربرد وسیعی در طب سنتی است و در درمان بیماری های رماتیسمی، ضد نفخ و ضد میکروب و همچنین به عنوان خلط آور از آن ها استفاده می شود (برنج و برنج، ۲۰۱۲؛ نیک آور و همکاران، ۱۳۸۴).

۱-۳ شرایط کاشت گیاه آویشن

بهترین دما برای کاشت آویشن در زمستان بین صفر تا ۴ درجه سانتی گراد و در تابستان حداکثر تا دمای ۴۰ درجه سانتی گراد می باشد. در مجموع آب و هوای معتدل و گرمسیری برای کاشت این گیاه توصیه شده است. کاشت این گیاه به صورت نشاء توصیه می شود. نشاء یا بذر این گیاه به صورت ردیفی و معمولاً با فاصله ۵۰ سانتی متر روی ردیف و فاصله بین ردیف ها ۷۰ سانتی متر کاشت می شوند. در

مجموع تعداد تقریبی ۵۰-۶۰ هزار بوته در هکتار قابل برداشت می باشد. آبیاری این گیاه در ماه اول باید بسیار مرتب و منظم و دوره های دو یا سه روزه تکرار شود. اما در ماه های دوم به بعد این مقدار به دوره های ۴-۵ روز و در اواخر به دوره های ۷ روزه می رسد. با توجه به شرایط فوق الذکر آبیاری کافی در اوایل فصل رشد لازم و ضروری بوده و بوجود آمدن تنش خشکی می تواند منجر به کاهش محصول و کاهش کیفیت اسانس و عصاره آن گردد (هندوی و همکاران، ۲۰۱۰).

۴-۱ اسانس و عصاره گیاه آویشن

عصاره گیاهان دارویی منبع سرشاری از ترکیبات مختلف شیمیایی با خصوصیات کاربردی ویژه ای می باشند. اسانس گیاه آویشن شامل مقادیر بسیار متغیری از ترکیب های فنلی می اشد. معمولاً عمده ترین ترکیب های فنلی آویشن تیمول، کارواکرول و فلاونوئید می باشند که اغلب تصور می شود خاصیت ضدباکتری، ضد نفخ، ضدکرم و ضد قارچ داشته باشند (بارنس و همکاران، ۲۰۰۲). تحقیقات انجام شده نشان می دهد بالاترین عملکرد اسانس در مراحل گل دهی و در سرشاخه های گل دار آن می باشد (استهل بیسکوپ و سیز، ۲۰۰۳؛ لی و همکاران، ۲۰۰۵). تیمول معمولاً بین ۸۰-۲۰ درصد از حجم عصاره را تشکیل می دهد. ترکیبی بنام پی مایسین^۱ بین ۴۳-۹ درصد، لیمونن^۲ بین ۲۴-۰/۲ درصد، گاما ترپینن^۳ بین ۱۳-۱ درصد و ترکیبی بنام کارواکرول بین ۶-۰/۵ درصد را تشکیل می دهد (بلوم و همکاران، ۱۹۹۷؛ لی و همکاران، ۲۰۰۵؛ نیک آور و همکاران، ۲۰۰۵). اسانس و عصاره های گیاه آویشن قادر به تحریک سیستم ایمنی جانوران علیه سرماخوردگی و آنفلوآنزا بوده و همچنین در کنترل بیماری های عفونی موثر می باشد (نیکولیک و همکاران، ۲۰۱۴). به جز موارد مربوط به سلامتی، عصاره این گیاه در صنایع نساجی و غذایی نیز مورد استفاده قرار می گیرد (هزیت و همکاران، ۲۰۰۹). همچنین از عصاره و اسانس آویشن در تولید

^۱ p-cymene

^۲ limonene

^۳ γ-terpinene

دهان شویه های معطر، تهیه عطر و مواد معطره و همچنین صابون و دیگر مواد آرایشی و بهداشتی نیز استفاده می شود (ایپیور و همکاران، ۲۰۱۱؛ لاولس و همکاران، ۲۰۱۳).

۱-۵ تنش ها

تنش های محیطی قادرند فرآیندهای فیزیولوژی و رشد گیاهان را تحت تاثیر قرار دهند. بسته به گونه گیاهی، شدت و مدت بروز تنش و نیز مرحله رشدی گیاه این تاثیر پذیری متفاوت است (آقایی و کمتسو، ۲۰۱۳). امروزه در بین مسائل مربوط به کاشت گیاهان زراعی علاوه بر تنش های زیستی نظیر انواع بیماری های گیاهی و آفات، تنش های غیرزیستی همانند خشکی، شوری و گرما از جمله مهم ترین عوامل محدود کننده تولید محصول در کشورهای مختلف دنیا با شدت و حدت متفاوت می باشد (دیودال، ۱۹۶۷). در شرایط تنش، تغییرات ریختشناسی، فیزیولوژیک، ژنتیکی و بیوشیمیایی در گیاهان تحت تنش ایجاد می گردد که به طور زیان آوری شرایط رشد و تولید گیاهان را تحت تاثیر قرار می دهند (هرب و همکاران، ۲۰۱۰). پاسخ های سازگاری در شرایط تنش های محیطی در گیاهان به طور عمده به سه گروه مهم تقسیم می شوند که البته می توانند به گروه های کمتر یا بیشتری نیز گروه بندی شوند. این سه گروه شامل هم ایستایی، هومئوستازی آبی و کنترل خسارت ناشی از تنش و بازسازی مجدد و کنترل شرایط رشد و نمو گیاه می باشد (ژو، ۲۰۰۲).

۱-۵-۱ تنش خشکی

در بین تنش های محیطی، تنش خشکی یکی از عوامل مهم اقلیمی مؤثر بر توزیع و پراکنش گیاهان در سرتاسر جهان به شمار می رود. کاهش مقدار آب در دسترس گیاهان می تواند باعث تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در آنها گردد (حسنی و امیدبیگی، ۱۳۸۱). خشکی به عنوان مهم ترین مسئله و مشکل توسعه کشاورزی در ایران یکی از بازدارنده های اصلی در تولید محصولات کشاورزی را شامل می

شود. شدت و دوره آبیاری می تواند بر روند تولید محصول چه از نظر کمی و چه کیفی مؤثر باشد. لذا انتخاب گونه های مناسب در مناطق خشک و نیمه خشک بسیار حائز اهمیت است. کمبود آب از مهم ترین عوامل محیطی کاهش رشد و عملکرد بسیاری از گیاهان زراعی، باغی و دارویی به خصوص در مناطق خشک و نیمه خشک دنیا به شمار می رود (بابایی و همکاران، ۱۳۸۹). گونه های مختلف گیاهی از نظر مقاومت به خشکی دامنه وسیعی را نشان می دهند که دلیل آن می تواند سازگاری های فیزیولوژیکی، ریخت شناسی و بیوشیمیایی در آن ها باشد (توماس و گاسلین، ۲۰۰۰). گیاهان متحمل به خشکی را می توان با استراتژی های سازش به خشکی نظیر غربالگری توده ای جمعیت ها و اصلاح ژنتیکی آن ها از طریق اصلاح کلاسیک و یا از طریق مهندسی ژنتیک، انتخاب گیاهان مقاوم با استفاده از نشانگرهای مولکولی^۴ و همچنین کاربرد خارجی فیتوهورمون ها و ترکیبات محافظتی اسمزی^۵ برای بذور یا گیاهان در حال رشد به دست آورد (سلمار، ۲۰۰۸؛ شینوزاکی و یاماگوچی - شینوزاکی، ۲۰۰۶).

۱-۶ کودهای زیستی

انقلاب سبز و تکنولوژی های وابسته به آن منجر به افزایش قابل توجهی در تولید محصولات کشاورزی در حد ۱۲-۱۳ درصد در کشورهای در حال توسعه شده است. کشورهای آسیای جنوبی و هند از اولین کشورهایی بودند که تاثیر انقلاب سبز در تولید ارقام مختلف برنج را نشان دادند. تمایلات مشابهی در ارتباط با تولید گندم و ذرت در کشورهای دیگر آسیایی دیده شد و بعدها بهبود ژنتیکی محصولات با تاکید بر ارقام پرمحصول نشان داد که تلفیق این منبع در راستای کشاورزی پایدار می تواند منجر به افزایش قابل توجهی در تولید محصولات کشاورزی گردد (هان و همکاران، ۲۰۰۶).

^۴ Marker-assisted selection

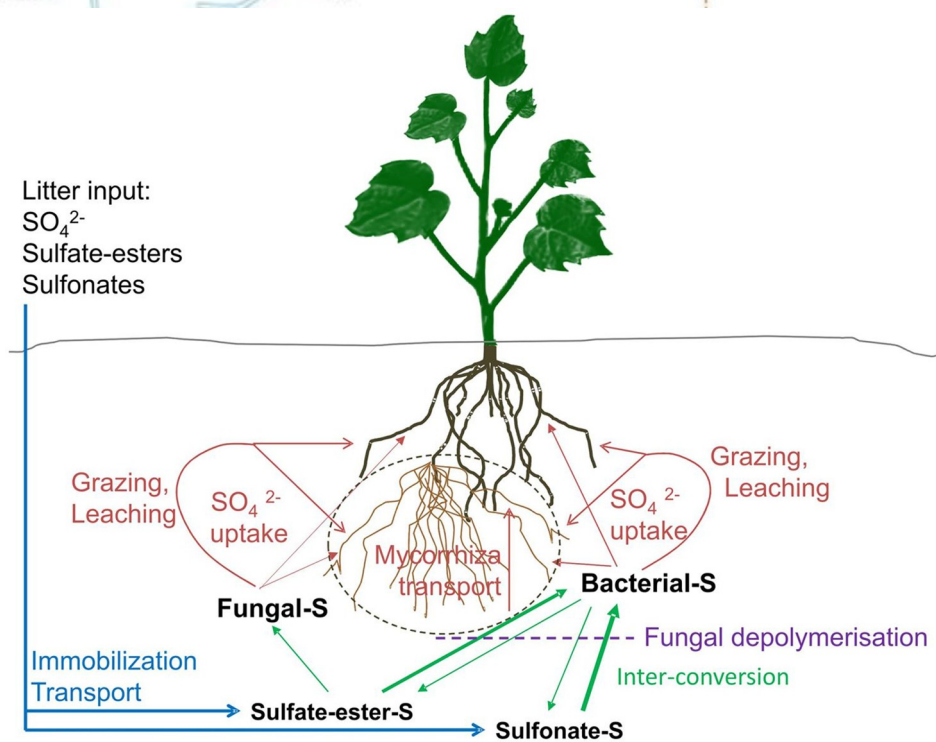
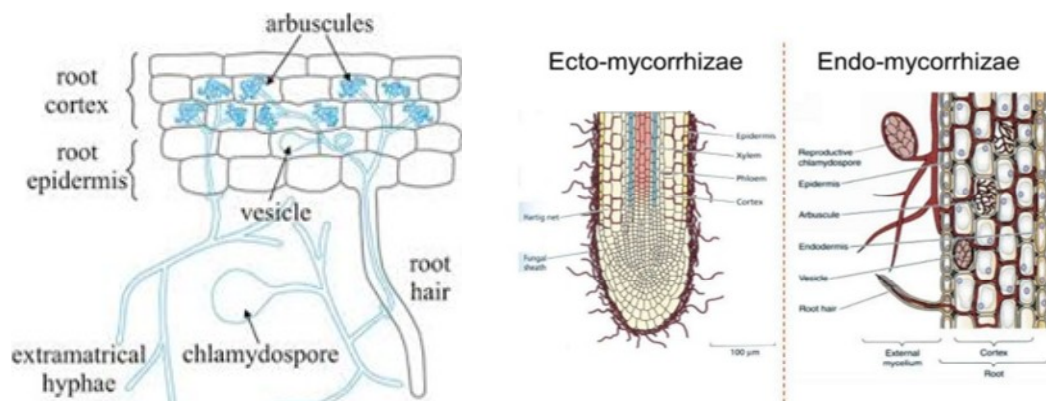
^۵ Osmoprotectants

کودهای زیستی یکی از ابزارهای مهم در مدیریت منابع غذایی می باشد. زیرا علاوه بر اثرات مهم و با ارزش، جزء منابع تجدید پذیر نیز می باشند که می توانند در کشاورزی پایدار جانشین مناسبی برای کودهای شیمیایی به شمار آیند. این کودها یک منبع آماده از ریزجانداران زنده هستند که محصولات را در جذب و دریافت مواد غذایی از طریق ریزوسفر یاری می دهند. این ترکیبات از طریق کاربرد با بذر و یا کاربرد در خاک مورد استفاده قرار می گیرند. کودهای زیستی، فرآورده های رشدی جمعیت میکروبی موجود در خاک اطراف ریشه یا ریزوسفر را تشدید می کند که با این عمل باعث بالا رفتن جمعیت این ریزمیکروب ها شده و دسترسی گیاه به مواد غذایی را تسهیل می نماید (راجا، ۲۰۱۳). کودهای زیستی به محصول فعالیت ریزجاندارانی که در ارتباط با تثبیت نیتروژن و یا فراهمی فسفر و سایر عناصر غذایی در خاک عمل می کنند، اشاره دارد (باستا و همکاران، ۲۰۰۱). کودهای زیستی از دیرباز توسط انسان مورد استفاده قرا می گرفته است. با این وجود در چند دهه اخیر با رواج کودهای شیمیایی، کودهای زیستی به فراموشی سپرده شدند (وسی، ۲۰۰۳). ولی امروزه به دلیل استفاده بی رویه از کودهای شیمیایی و اثرات زیان بار آن بر سلامت انسان و خاک، بشر برای تأمین نیاز گیاهان، به استفاده از کودهای زیستی و ریزجانداران روی آورده است (وسی، ۲۰۰۳). امروزه طبیعی ترین و مطلوب ترین راه حل برای زنده و فعال نگه داشتن سیستم حیاتی خاک در اراضی کشاورزی، به کارگیری جانداران مفید خاکزی تحت عنوان کودهای زیستی است. بزرگ ترین مزیت این کودها، عرضه مواد آلی به خاک، به دلیل پاسخگویی به مبرم ترین نیاز آن ها می باشد. علاوه بر این، تأمین عناصر غذایی به صورتی کاملاً متناسب با تغذیه طبیعی گیاهان، کمک به تنوع زیستی، تشدید فعالیت های حیاتی، بهبود کیفیت و حفظ سلامت محیط زیست از جمله مهم ترین مزایای کودهای زیستی محسوب می شوند (برار و همکاران، ۲۰۱۲). انواع مختلف کودهای زیستی شامل: باکتری های تثبیت کننده ازت مولکولی (دی ازوتروف ها)، قارچ های میکوریز، ریزجانداران حل کننده فسفات های نامحلول، باکتری های ریزوسفری محرک رشد گیاه، ریزجانداران تبدیل کننده مواد آلی زائد به کمپوست و کرم های خاکی

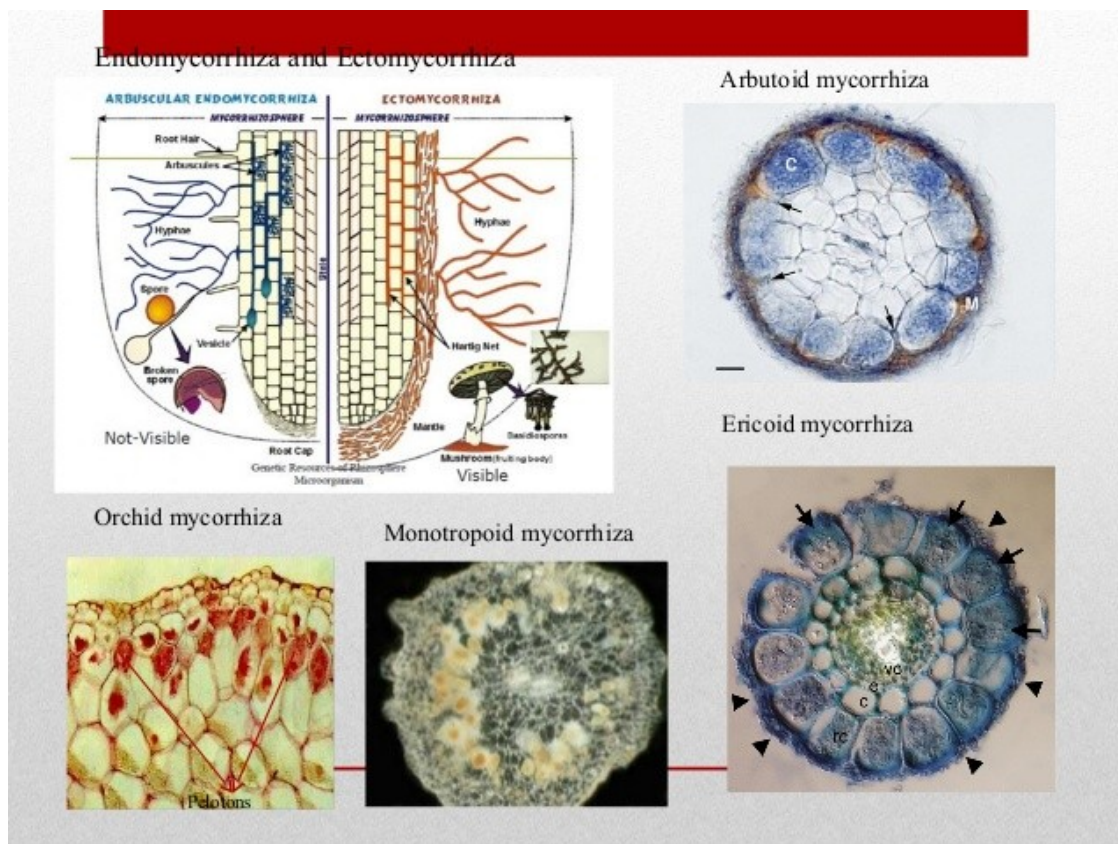
تولیدکننده ورمی کمپوست می باشند (گودا و همکاران، ۲۰۱۸؛ کوماری و همکاران، ۲۰۱۸). به طور معمول ارگانوسم‌های مورد استفاده برای تولید کودهای زیستی، از خاک منشأ می‌گیرند و در اغلب خاک‌ها حضور فعال دارند. اما در بسیاری از موارد، کمیت و کیفیت آن‌ها در حد مطلوب نیست. بنابراین استفاده از مایه تلقیح آن‌ها ضرورت پیدا می‌کند. عواملی که موجب کاهش یا عدم وجود ارگانوسم‌های خاص در خاک‌های یک منطقه می‌شوند، عبارتند از: الف) تنش‌های محیطی بلند مدت از جمله خشکی، آب ایستادگی، دمای بالا و یخبندان. ب) استفاده زیاد و مکرر از سموم شیمیایی به منظور مبارزه با بیماری‌ها و آفات گیاهی. پ) عدم حضور گیاه میزبان مناسب (در مورد انواع همزیست با گیاهان) به مدت طولانی و یا وارد کردن گونه یا واریته خاصی از یک گیاه غیر بومی (چن و همکاران، ۲۰۱۸؛ وو و همکاران، ۲۰۰۵).

۱-۶-۱ قارچ‌های میکوریزا

میکوریزا، در نتیجه همزیستی بین این دسته از قارچ‌ها و ریشه گیاهان، جذب مواد غذایی کم تحرک خصوصاً فسفر و ریز مغذی‌هایی همانند روی و مس برای گیاهان تسهیل و همچنین در جذب آب نیز به آنها کمک می‌کنند (ارتاس، ۲۰۱۰). گونه‌های مختلفی از میکوریزا در اکثر خاک‌ها وجود دارند و منجر به کلونیزه کردن ریشه‌های بسیاری از گیاهان می‌شوند. با اینکه معمولاً به نظر نمی‌رسد این قارچ‌ها میزبان اختصاصی داشته باشند ولی ایجاد ارتباط، همیشه با سازوکارهای ویژه‌ای همراه می‌باشد (سلوس و همکاران، ۲۰۰۴).



شکل ۱-۲ مراحل کلونیزاسیون ریشه با قارچ میکوریزا آربسکولار (سلوس و همکاران، ۲۰۰۴).



شکل ۱-۳ ساختار هیف های میکوریزا و رابطه میزبانی در میزبان های مختلف (سلوس و همکاران، ۲۰۰۴).

۱-۶-۲ باکتری های افزاینده

یکی از مهم ترین کودهای بیولوژیکی که در حال حاضر مصرف زیادی در کشاورزی دارد، باکتری های افزاینده رشد یا PGPR^۶ می باشند. این باکتری ها جنس های مختلف باکتری های حل کننده فسفات و تثبیت کننده نیتروژن همانند سودوموناس ها و آزوسپیریلوم را شامل می شوند (سلوس و همکاران، ۲۰۰۴). آزوسپیریلوم علاوه بر قابلیت تثبیت نیتروژن، با تولید مواد محرک رشد، سبب بهبود رشد ریشه و متعاقب آن افزایش سرعت جذب آب و عناصر غذایی گردیده و از این طریق در افزایش عملکرد

^۶ Plant Growth Promoting Rhizobacteria

تاثیر گذار می باشد (تیلاک وهمکاران، ۲۰۰۵). باکتری های حل کننده فسفات گروهی از ریزموجودات را در بر می گیرند که قادرند فسفر نامحلول در خاک را به فرم محلول قابل دسترس گیاه تبدیل کنند. از مهم ترین جنس های این خانواده می توان به سودوموناس ها اشاره کرد (تیلاک وهمکاران، ۲۰۰۵). گونه های مختلف جنس سودوموناس در کنترل قارچ های بیماریزا مؤثر بوده (پال و همکاران، ۲۰۰۱) و سودوموناس فلورسنس از طریق ساز و کارهای مختلفی از جمله تولید سیدروفورها، سنتز آنتی بیوتیک ها، تولید هورمون های گیاهی، افزایش جذب فسفر توسط گیاه، تثبیت نیتروژن و سنتز آنزیم هایی که مقدار اتیلن در گیاه را تنظیم می کنند، سبب تحریک رشد گیاه می گردند (عبدالجلیل ، ۲۰۰۷). بدین لحاظ از نظر علمی با مصرف این باکتری ها (محرک رشد گیاه) در قالب کود بیولوژیک، آلودگی زیست محیطی ناشی از مصرف کودهای شیمیایی کاهش یافته و موجب احیا و حفظ محیط زیست می گردد. همچنین، افزایش محصول، کاهش بیماری ها و بهبود ساختمان خاک را به دنبال دارند(سینگ و همکاران، ۲۰۱۱).

۱-۷ کود های شیمیایی

امروزه استفاده بی رویه از انواع کودهای شیمیایی در دنیا رواج یافته که به دنبال آن مخاطرات بهداشتی و زیست محیطی فراوانی ایجاد نموده است. در این شرایط استفاده از منابع کودهای زیستی و شیمیایی هر کدام به نوعی می تواند بر عملکرد گیاهان تأثیر بگذارد (کیزیل کایا، ۲۰۰۸). کود NPK یا کود کامل، سه عنصر مهم و حیاتی برای رشد گیاه یعنی نیتروژن (N) ، فسفر (P) و پتاسیم (K) را در ترکیب خود دارد و به همین دلیل از کودهای محبوب در دنیا به شمار می رود. نقش این عناصر در رشد گیاه را می توان به صورت زیر خلاصه کرد:

نیتروژن: عموماً مسئول رشد برگ ها در گیاه است.

فسفر: برای رشد ریشه، گل و تشکیل میوه مورد نیاز است.

پتاسیم: عنصری است که بر روی عملکرد کلی گیاه اثر مثبت می گذارد.

نامگذاری این محصول بر اساس درصد نیتروژن (N)، فسفر پنتا اکسید (P_2O_5) و پتاسیم اکسید (K_2O) است که به ترتیب بیان می شوند. به علاوه این کودها ممکن است حاوی منیزیم، بور، گوگرد، میکرو مواد و غیره باشد. اطلاع از مقادیر NPK یک کود به ما کمک می کند تا بهترین نوع را برای گیاه مد نظر انتخاب کنیم. نکته مهم در استفاده از تمامی کودها داشتن آنالیز خاک مورد استفاده است. با آگاهی از میزان مواد موجود در خاک و مقایسه آن با میزان ماده مورد نیاز برای رشد مطلوب گیاه، می توان میزان کود بهینه را انتخاب کرد (بوقالب و همکاران، ۲۰۱۱).

با توجه با این که رویکرد جهانی در تولید گیاهان دارویی به سمت بهبود کمیت و کیفیت عملکرد و ماده موثره می باشد، به نظر می رسد که تغذیه سالم گیاهان از طریق کاربرد کودهای زیستی دارای بیش ترین تطابق با اهداف تولید گیاهان دارویی باشد و منجر به بهبود عملکرد کمی و کیفی آن ها گردد. لذا هدف از این آزمایش بررسی اثر کاربرد کودهای زیستی و غیر زیستی و مقایسه تاثیر آن ها، بر عملکرد، درصد اسانس و تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاه دارویی آویشن زراعی و همچنین تعیین بهترین و کارآمدترین کود در بهبود صفات فیزیومورفولوژیک و خصوصیات کمی و کیفی در گیاه آویشن زراعی در شرایط تنش کم آبی بود.

فصل دوم

بررسی منابع

۲-۱ تنش ها

کنترل عوامل محیطی در شرایط گلخانه قابل انجام است اما در شرایط مزرعه، محصولات کشاورزی با انواعی از تنش های زیستی و غیرزیستی مواجه می شوند. تنش های زیستی همانند انواعی از بیماری های گیاهی و آفات و تنش های غیرزیستی شامل خشکی، شوری و گرما می باشند که جزو مهم ترین عوامل محدودکننده تولید محصولات کشاورزی در اکثر مناطق مختلف دنیا می باشند (دیودال، ۱۹۷۶).

۲-۱-۱ تنش خشکی و کم آبی

تنش خشکی و کم آبی از جمله تنش های محیطی مهم است که با ایجاد اختلال در عمل روزنه ها و سیستم فتوسنتزی، تخریب پروتئین ها و آنزیم ها و کاهش سطح برگ موجب ریزش گل و میوه گیاهان و در نهایت کاهش عملکرد می گردد (احیایی، ۱۳۸۸). علاوه براین، گیاهان با تغییراتی نظیر کاهش سطح تعرق کننده، افزایش طول و حجم ریشه و تولید اسمولیت های سازگار کننده، قادرند اثرات تنش خشکی و کم آبی را تا حدی کاهش دهند. تنش ناشی از کمبود آب می تواند باعث کاهش ارتفاع، کاهش تعداد و سطح برگ، کاهش وزن خشک، بسته شدن روزنه ها، کاهش میزان کلروفیل و کاهش رشد ریشه در گیاهان دارویی گردد (احمدالهادی و همکاران، ۱۹۹۹). خشکی منجر به کاهش فتوسنتز گیاه، تغییر در محتوای کلروفیل و صدمه به ساختارهای فتوسنتزی می گردد (فو و هانگ، ۲۰۰۱). در پژوهشی اثر رژیم های مختلف آبی بر روی گیاه ریحان بررسی و نتایج نشان داد کمبود آب، وزن خشک برگ و ساقه را کاهش می دهد (سایمون و همکاران، ۱۹۹۲). پژوهشگران دیگری ضمن بررسی رژیم های مختلف رطوبت خاک بر گونه ای از نعنای گزارش کردند که افزایش رطوبت خاک، منجر به افزایش معنی داری در ارتفاع گیاه، شاخص سطح برگ و تجمع ماده خشک شد (مانی رم و سینگ، ۱۹۹۵). نتایج بررسی تاثیر تنش آبی بر گیاه نعنای فلفلی (*Mentha piperata* L.) نشان داد تنش آبی طول میانگرم ها، ارتفاع گیاه و وزن خشک برگ،

ساقه و ریشه را کاهش داد (الکایر و همکاران، ۱۹۹۳). طی آزمایشی بر روی گیاه دارویی سیاهدانه (*Nigella stiva* L.) گزارش شد که تنش کم آبی موجب کاهش بیوماس گیاهی، ارتفاع بوته و عملکرد اسانس شد (رضاپور و همکاران، ۱۳۹۰). در بررسی اثر تنش کم آبی بر روی گیاه آویشن زراعی گزارش شد که تنش کم آبی سبب کاهش ارتفاع بوته و وزن خشک سرشاخه های گل دار شده درصد اسانس افزایش یافت (محمدپوروشوایی و همکاران، ۱۳۹۳).

۲-۲ کودهای زیستی

استفاده از منابع زیستی به جای منابع شیمیایی، نقش مهم و با ارزشی در باروری و حفظ فعالیت های زیستی خاک، افزایش کیفیت محصولات کشاورزی و سلامت اکوسیستم ایفا می کند (زیدی و همکاران، ۲۰۰۳). کودهای زیستی متشکل از باکتری ها و همچنین قارچ های مفیدی هستند که هر یک با هدف خاصی از جمله تثبیت نیتروژن و رها سازی یون های فسفات، پتاسیم و آهن از ترکیبات نامحلول آنها تولید می شوند. این باکتری ها معمولا در اطراف ریشه مستقر شده، گیاه را در جذب عناصر یاری می دهند (وو و همکاران، ۲۰۰۵).

۲-۲-۱ قارچ های میکوریزا

همزیستی قارچ های میکوریزا با ریشه گیاهان می تواند در بهبود صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیکی آن ها موثر باشد. قارچ های میکوریزا علاوه بر تاثیر در بهبود رشد گیاه، باعث افزایش جذب عناصر غذایی نیز می شوند. عنصر فسفر، از مهم ترین عناصری است که توسط میکوریز به طور فعال و در سطح وسیع جذب می شود (بلن و همکاران، ۱۹۹۱). در نتایج آزمایشی بر روی گیاه دارویی بشقابی (*Scutellaria integrifolia*) صورت گرفت مشخص شد تلقیح ریشه این گیاه با میکوریزا علاوه بر این که در افزایش رشد و تکثیر گیاه، مؤثر بود، توانایی گیاه را برای رشد در خاک های دچار کمبود فسفر نیز افزایش داد (جشی و همکاران، ۲۰۰۷).

در بسیاری از گیاهان، برای مقابله با کم آبی و تنش خشکی، میکوریزاهای دارای وزیکولار آربوسکولار مورد استفاده قرار گرفته است (سانگ، ۲۰۰۵). میکوریزاهای وزیکولار آربوسکولار یکی از انواع کودهای زیستی بوده که دارای رابطه همزیستی مسالمت آمیز با ریشه گیاهان می باشد. قارچ های همزیست مواد کربوهیدراتی را عمدتاً به شکل ساکارز از گیاه دریافت و عناصر غذایی عمدتاً عنصر فسفر را در اختیار گیاه قرار می دهند (گوگنی و سینگ، ۲۰۱۱؛ کاراگیانییدیس و همکاران، ۲۰۱۲). مطالعات نشان داد تلقیح گیاه نعنای با قارچ میکوریزا به طور قابل توجهی باعث افزایش ارتفاع بوته و عملکرد بیولوژیکی شده است (گوپتا و همکاران، ۲۰۰۲). تلقیح ریشه دو گیاه شوید (*Anethum graveolens*) و زنیان (*Trachyspermum ammi*) با دو گونه قارچ میکوریزا نشان داد که این تلقیح ریشه ها سبب افزایش معنی داری در وزن خشک اندام هوایی شده و در پایان فصل رشد منجر به افزایش اجزای عملکرد به میزان قابل توجهی گردید (جشی و همکاران، ۲۰۰۷). نتایج تحقیقی روی گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum*) نشان داد که قارچ میکوریزا، سبب افزایش عملکرد بیولوژیکی و درصد اسانس در گیاه گشنیز شد (کاپور و همکاران، ۲۰۰۲). در یک بررسی دیگر نشان داده شد که مخلوط قارچ های *G. mosseae* و *G. fasciculatum* منجر به افزایش میزان رشد و بیوماس تولیدی در گیاهان میزبان پیاز، گشنیز و ریحان شد (باسو و اسریواستاوا، ۱۹۹۸). به طور کلی محققان در طی مطالعات خود، تأثیر همزیستی میکوریزای بر روابط هورمونی (ردکر و همکاران، ۲۰۰۰)، افزایش تنظیم اسمزی (اسمیت و همکاران، ۲۰۱۰)، افزایش جذب آب از طریق بهبود تراکم ریشه (بلوموالد و همکاران، ۲۰۰۰)، حمایت در برابر صدمات اکسیداتیو ناشی از خشکی (آیوج و همکاران، ۲۰۰۳) و تغییرات در خواص نگهداری آب در خاک در شرایط تنش کم آبی در گیاهان میزبان را مطرح کردند. در طی بررسی تاثیر قارچ میکوریزا بر گیاه رزماری (*Salvia rosmarinus*) در شرایط کم آبی، نتایج نشان داده شد که در گیاهان همزیست شده با قارچ میکوریزا، میزان عملکرد بیولوژیک قسمت هوایی

در مقایسه با گیاهان شاهد بیشتر بود. همچنین در این بررسی اثر مثبت قارچ میکوریزا بر هدایت هیدرولیکی ریشه و هدایت روزنه ای و نیز محتوای کلروفیل مشاهده شد (سنچز بلانکو و همکاران، ۲۰۰۴). در بررسی تأثیر دو گونه قارچ آربوسکولار میکوریزا *Glomus mosseae* و *Glomus intraradices* بر رشد، مقادیر کلروفیل و جذب فسفر در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) تحت شرایط تنش کم آبی نتایج نشان داده شد که با کاهش میزان رطوبت خاک، ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد و سطح برگ، تعداد شاخه جانبی، وزن خشک ریشه، عملکرد ماده تر و خشک، میزان کلروفیل، غلظت فسفر و درصد کلونیزاسیون ریشه کاهش یافت. علاوه براین، اثر کاربرد قارچ های AM (میکوریزا آربوسکولار) بر پارامترهای رشد و میزان جذب فسفر معنی دار گردید. به گونه ای که گیاهان مایه کوبی شده با قارچ های AM در مقایسه با گیاهان مایه کوبی نشده از رشد، عملکرد و میزان فسفر بیشتری در هر دو شرایط تنش کم آبی و بدون تنش برخوردار بودند. بنابراین می توان چنین نتیجه گرفت که در شرایط کم آبی، قارچ های AM با افزایش جذب عنصر فسفر، باعث بهبود رشد و عملکرد گیاه ریحان شد (الکرکی و همکاران، ۲۰۰۴؛ وو و همکاران، ۲۰۰۸).

۲-۲-۲ باکتری های افزایش دهنده رشد

مکانیسمی که توسط PGPRs برای تنظیم رشد گیاهان به کار برده می شوند به درستی درک نشده اما نقش های مختلفی شامل تولید فیتو هورمون ها، تثبیت نیتروژن، سنتز آنتی بیوتیک ها (بیچمپ، ۱۹۹۳؛ بندوزی و همکاران، ۲۰۱۲؛ ویسی، ۲۰۰۳)، توسعه سیستم ریشه ای و جوانه زنی بهتر بذور (راجندران و دیواراج، ۲۰۰۴)، تولید هورمون های تحریک کننده رشد خصوصاً اکسین، جیبرلین و سیتوکسین در گیاهان زراعی (زهیر و همکاران، ۲۰۰۳) و همچنین افزایش تقسیم سلولی در ریشه و افزایش جذب مواد غذایی (باشان و دابروسکی، ۱۹۹۶؛ کندی و اسمیت، ۱۹۹۵) را دارا می باشد.

۲-۲-۲-۱ آزوسپیریوم

در تحقیقی تأثیر باکتری آزوسپیریوم (*Azospirillum brasilense*) بر صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی ریحان (*Ocimum basilicum*) تحت تنش کم آبی صورت گرفت، نتایج داده ها نشان داد که کود - آزوسپیریوم در شرایط کم آبی باعث کاهش معنی داری در ارتفاع بوته، وزن خشک ریشه و ساقه، و وزن تر ساقه و ریشه گردید (انتشاری و همکاران، ۱۳۹۱). در یک بررسی دیگر تأثیر باکتری آزوسپیریوم بر روند رشدی گیاه ریحان مشخص شد که کاربرد این کود، اثر افزایشی بر تعداد شاخه جانبی و وزن تر و خشک اندام های گیاه داشت. تأثیر مفید آزوسپیریوم در افزایش ارتفاع بوته و وزن تر و خشک اندام های گیاه دارویی مریم گلی به اثبات رسیده است (یوسف و همکاران، ۲۰۰۴). نتایج تحقیقات دیگر نشان داد که استفاده از آزوسپیریوم در طول مرحله زایشی به خصوص مرحله گل دهی موجب افزایش فعالیت آنزیم نیتروژناز در ریشه گیاه علف لیمو تلقیح شد. در نهایت فراهمی نیتروژن از این طریق برای گیاه منجر به افزایش تعداد گل و به تبع آن افزایش عملکرد دانه گردید (راتی و همکاران، ۲۰۰۱).

۲-۲-۲-۲ سودوموناس

در میان میکروارگانیسم های حل کننده فسفات، باکتری های جنس سودوموناس از جمله مهم ترین انواع باکتری های حل کننده فسفات می باشد (نرسیان و پاتل، ۲۰۰۶). این موجود زنده در خاک، آب و دیگر محیط های مرطوب یافت می شوند. طی کنش های متقابل سودوموناس ها با سایر ریزوباکتری ها، کارایی تثبیت نیتروژن و میزان دسترسی به فسفر توسط فعالیت حل کنندگی فسفات افزایش یافته که منجر به آزادسازی ماده محرک رشد گیاه می گردد (توتن و همکاران، ۱۹۹۰). طی تحقیقی تأثیر تلقیح باکتری های ریزوسفری سودومونادس بر رشد، کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی مریم گلی صورت گرفت، نتایج نشان داد تلقیح باکتری سودوموناس منجر به افزایش وزن خشک ریشه و شاخساره گیاه گردید و همچنین تأثیر معنی داری بر رشد ریشه، برگ و افزایش محتوا و عملکرد اسانس گیاه مریم گلی داشت (اوسالاح و

همکاران، ۲۰۰۶). نتایج حاصل از مطالعه محققان حاکی از آن است که تیمار گیاهچه های گیاه دارویی پروانش با باکتری محرک رشد گیاه سودوموناس (*Pseudomonas fluorescens*) باعث افزایش عملکرد زیست توده و میزان آلکالوئید در این گیاه در شرایط تنش کم آبی شد (عبدالجلیل و همکاران، ۲۰۰۷).

۲-۳ کود شیمیایی NPK

در کشاورزی، علاوه بر تأثیر مهم آبیاری بر مقدار تولید، استفاده بهینه از کود نیز در تولید نهایی حائز اهمیت است. تأثیر کودهای شیمیایی بر کمیت، کیفیت، رشد، نمو و عملکرد گیاهان دارویی، متأثر از عوامل مختلف ژنتیکی و محیطی است و عملکرد کمی تحت تأثیر وضعیت محیطی، عناصر غذایی و سایر عوامل قرار می گیرد (اکبری نیا و همکاران، ۱۳۸۲؛ امیدبیگی، ۱۳۸۴). در بررسی اثر مصرف کود شیمیایی NPK بر عملکرد کمی و کیفی بابونه مشخص شد که با مصرف کودهای شیمیایی در وضعیت تنش ملایم، عملکرد گل در گیاه افزایش یافت (احمدیان و همکاران، ۱۳۸۹). در بررسی روی گیاه دارویی زنیان، در ارتباط با میزان اسانس، نتایج آزمایش نشان داد که کاربرد کود شیمیایی NPK تأثیری بر درصد اسانس دانه زنیان نداشتند (اکبری نیا، ۱۳۸۲). کرشنامورتی (۱۹۹۹) و ایران نژاد و رسام (۱۳۸۱) نیز عدم تأثیر کود شیمیایی NPK بر درصد اسانس دانه زنیان، دانه انیسون و کدو تخم کاغذی را گزارش کردند.

۲-۴ آنزیم های آنتی اکسیدان

تنش کم آبی، موجب افزایش تولید انواع اکسیژن واکنشگر و در نتیجه افزایش دفاع آنتی اکسیدانی می گردد. این آنزیم ها نقش بسیار مهمی در غیرفعال کردن رادیکال های آزاد اکسیژن در سلول گیاه دارند. میزان فعالیت آن ها در گیاه بسته به گونه گیاهی و شدت تنش تغییر می کند (اپل و هیرت، ۲۰۰۴). آنزیم کاتالاز از دسته پروتئین های آهن دار محسوب می شود و زمانی در سلول های گیاهی و جانوری وارد عمل می شود که مقدار ماده پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در محیط زیاد باشد (گرات و

همکاران، ۲۰۰۲). محققان بیان کردند که کاتالاز، باعث حفاظت سلول ها از اثرات پراکسید هیدروژن می- گردد. کاتالاز تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن را انجام می دهد (ساعی و همکاران، ۱۳۸۴).

آنزیم آسکوربات پراکسیداز دارای چندین نقش اساسی در فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاهان همانند رشد و نمو و متابولیسم می باشد و علاوه بر این به عنوان یک احیاکننده برای خیلی از رادیکال های آزاد و بخصوص پراکسید هیدروژن عمل می کند. بنابراین خسارت ناشی از تنش اکسیداتیو را به کم ترین مقدار ممکن می رساند (آرورا و همکاران، ۲۰۰۲، چو و سنو، ۲۰۰۵). در تحقیقی روی تأثیر تنش کم آبی و کودهای آلی بر فعالیت برخی آنزیم های آنتی اکسیدانی در گیاه گاوزبان (*Borago officinalis*)، مقایسه میانگین نتایج مربوط به اثرات متقابل تنش کم آبی و کودهای آلی نشان داد که بیش ترین فعالیت آنزیمی برای کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در تیمار ۶۰ درصد ظرفیت زراعی و تیمار کودی شاهد (عدم کود) مشاهده شد (قلی نژاد و همکاران، ۱۳۹۳). پراکسیداز دسته ای از گلیکو پروتئین هایی هستند که در سیتوزول، دیواره سلولی و واکوئل قرار گرفته اند و از اکسایش ترکیب های فنلی همانند گایاکول برای سم زدایی و تجزیه پراکسید هیدروژن استفاده می کنند. ترکیب های فنلی از جمله گایاکول به عنوان دهنده الکترون به پراکسید هیدروژن عمل می کنند (میلرو همکاران، ۲۰۱۰). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با تولید آب اکسیژنه، منجر به حذف آنیون سوپراکسید می گردد. آب اکسیژنه تولید شده سپس توسط آنزیم های پراکسیداز و کاتالاز، سم زدایی می شوند. آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز در سیکل آسکوربات گلوکاتیون، با مصرف آسکوربات به عنوان دهنده الکترون، منجر به کاهش مقدار پراکسید هیدروژن می شود (ترابی پاشایی و همکاران، ۱۳۹۵).

سنتز آنزیم هایی نظیر سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز به عنوان واکنش های دفاعی سلول های گیاهی در پاسخ به تنش های محیطی بررسی شده، و نتایج نشان داد که در شرایط تنش، میزان آنزیم های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافت (سینگ و همکاران، ۲۰۰۶؛ میتلر و پلوس، ۲۰۰۵). در تحقیقی

بر روی اثر تنش کم آبی بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در گیاه پونه معطر (*Mentha pulegium* L.)، نتایج نشان داد تنش کم آبی موجب افزایش فعالیت کاتالاز در اندام هوایی گردید (افشارمحمیدیان و همکاران، ۱۳۹۵). در تحقیق دیگری بر روی مقایسه اثر تنش کم آبی بر فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان در سه رقم زیتون (*Olea europaea* L.)، نتایج نشان داد میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در هر سه رقم دزفولی، T₂ و کرونیکی افزایش یافت (امینی و همکاران، ۱۳۹۳). در پژوهشی مشاهده شده که در شرایط تنش کم آبی، فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در گیاهان متحمل بیش از گیاهان حساس است. از اینرو به نظر می رسد آنزیم های آنتی اکسیدان در افزایش تحمل گیاهان به تنش کم آبی دارای نقش مهمی می باشند (گو و همکاران، ۲۰۰۶؛ هینگ و همکاران، ۲۰۰۴). در بررسی بر روی میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در گندم های پاییزه تحت تنش کم آبی، مشخص شد کمترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت شرایط عادی (بدون تنش) و بیشترین میانگین فعالیت این آنزیم در شرایط تنش شدید با ۶۵٪ افزایش و تنش متوسط با ۵۳٪ افزایش نسبت به حالت عادی (بدون تنش) به دست آمد (نادری و ولیزاده، ۱۳۹۳).

جباری و همکاران (۱۳۹۳) در تحقیقی بر روی نقش آنزیم های آنتی اکسیدان در گیاه کلزا تحت تنش کم آبی گزارش کردند که میزان فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز در تیمارهای تحت تنش کم آبی بالاتر از شرایط بدون تنش بود. گزارش های متعددی وجود دارد که نشان می دهند قارچ های میکوریزا باعث افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی می شوند و از گیاهان در برابر گونه های اکسیژن فعال که در شرایط تنش تولید می شوند محافظت می کنند (خلف الله و ابوقلبا، ۲۰۰۸؛ گامالرو و همکاران، ۲۰۰۹). در تحقیقی در مورد تاثیر مصرف کودهای زیستی بر میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) در شرایط تنش خشکی، نتایج نشان داد تلقیح میکوریزا در شرایط تنش خشکی موجب افزایش معنی دار فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز گردید (سیدشریفی، ۱۳۹۸). در

مطالعه ناصری و همکاران (۱۳۹۶) بر روی کاربرد باکتری سودوموناس پوتیدا و قارچ گلوموس موسه آ بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در گندم در شرایط دیم، نتایج نشان داد در شرایط مصرف کودهای استفاده شده، بیش ترین میزان فعالیت در آنزیم های آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز مشاهده شد و کم ترین آن در شرایط عدم مصرف کود به دست آمد.

فصل روم

مواد و روش ها

۳-۱ زمان، موقعیت جغرافیایی و مشخصات آب و هوایی محل اجرای آزمایش

این آزمایش در دو سال زراعی و در طی سال های ۱۳۹۶ و ۱۳۹۷ در مزرعه زراعی در عسکریه شهرستان یزد اجرا گردید. از لحاظ طول جغرافیایی این منطقه دارای طول جغرافیایی ۵۴ درجه و ۱۷ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۱ درجه و ۵۳ دقیقه و دارای ۱۲۳۰/۲ متر ارتفاع از سطح دریا می باشد. عسکریه در شمال شرقی شهرستان یزد واقع و دارای اقلیم گرم و خشک می باشد. به طور کلی بارندگی کم، نامنظم، نوسانات شدید درجه حرارت، تبخیر زیاد، رطوبت نسبی کم و دوره های گرمای طولانی موجب شده است که بخش اعظم استان یزد، آب و هوای گرم و خشک داشته باشد. به علت وزش بادهای شدید از سمت کویر لوت و نمک، تابستان های این منطقه گرم و خشک و زمستان آن معتدل است. میانگین سالانه دما در این منطقه در سال ۱۳۹۶، ۲۱/۶ درجه سانتی گراد و در سال ۱۳۹۷، ۲۱ درجه سانتی گراد، میانگین بارندگی در سال های ۱۳۹۶ و ۱۳۹۷، به ترتیب ۲۳/۶ و ۷۱/۶ میلی متر در سال و رطوبت نسبی در سال ۱۳۹۶، ۲۲/۶ درصد و در سال ۱۳۹۷، ۲۷/۹ درصد می باشد.

نتایج داده های هوا شناسی سال های ۱۳۹۶ و ۱۳۹۷ (دو سال اجرای طرح) منطقه که از ایستگاه

هواشناسی یزد تهیه شده در جداول ۳-۱ ارائه شده است:

جدول ۱-۳ داده های هواشناسی منطقه مورد آزمایش در سال های ۱۳۹۶ و ۱۳۹۷

ایستگاه یزد	سال ۱۳۹۶	سال ۱۳۹۷
میانگین دمای سالیانه (درجه سانتی گراد)	۲۱/۶	۲۱
متوسط کمینه دمای سالیانه (درجه سانتی گراد)	۱۴/۴	۱۴/۴
متوسط بیشینه دمای سالیانه (درجه سانتی گراد)	۲۸/۴	۲۷/۷
میانگین رطوبت نسبی سالیانه (درصد)	۲۲/۶	۲۷/۹
متوسط کمینه رطوبت نسبی سالیانه (درصد)	۱۱/۹	۱۵/۲
متوسط بیشینه رطوبت نسبی سالیانه (درصد)	۳۳/۳	۴۰/۷
کل بارندگی سالیانه (میلی متر)	۲۳/۶	۷۱/۶
تبخیر سالیانه (میلی متر)	۳۰۴۶/۲	۳۰۶۳/۸
تعداد ساعات آفتابی	۳۵۶۹/۹	۳۴۰۹/۹

۳-۲ خصوصیات خاک محل اجرای آزمایش

پیش از اجرای آزمایش و عملیات آماده سازی زمین جهت تعیین بافت و نیز برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک از عمق ۰ تا ۳۰ سانتی متری نمونه برداری انجام و جهت تجزیه به آزمایشگاه ارسال شد. نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه در جدول ۳-۳ ارائه شده است.

جدول ۳-۲ نتایج تجزیه شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش در عمق ۰-۳۰ سانتی متری خاک

بافت خاک	هدایت الکتریکی ($ds.m^{-1}$)	اسیدیته pH	شن (درصد)	رس (درصد)	لوم (درصد)	کربن آلی (درصد)	پتاسیم (ppm)	فسفر (ppm)	نیترژن (درصد)
لومی شنی	۲/۰۵	۷/۶۶	۷۵	۱۰	۱۵	۰/۳۳۹	۱۹۰/۸	۱۴/۸	۰/۰۲۹

۳-۳ مشخصات طرح آزمایشی و فاکتورهای آزمایش

این آزمایش در دو سال زراعی در مزرعه زراعی عسگریه شهر یزد به صورت اسپلیت پلات و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. عوامل آزمایش شامل فاکتور کم آبی در سه سطح شاهد، W_1 =آبیاری با دور ۷ روز، W_2 =دور آبیاری ۱۲ روز و W_3 =دور آبیاری ۱۷ روز به عنوان عامل اصلی و کودهای زیستی و غیر زیستی شامل: شاهد (بدون مصرف کود) B_1 ، قارچ اندو میکوریزا از سه گونه جنس گلوموس ($B_2 = Glomus\ mosseae, G.intraradices, G.etunicatum$) تهیه شده از شرکت زیست فناور پيشتاز واریان واقع در استان البرز (کرج)، باکتری های آزسپیریلوم ($B_3 = Azospirillum\ brasilense$) سودوموناس ($B_4 = fluorescens\ Pseudomonas$) که از شرکت دانش بنیان تمیشه واقع در استان گلستان تهیه شد و کود شیمیایی ($B_5 = NPK(20, 20, 20)$) به صورت گرانول شامل سه عنصر نیترژن، فسفر و

پتاسیم به صورت آماده از فروشگاه کشاورزی تهیه شدند، به عنوان عامل فرعی لحاظ شد. کرت‌های فرعی دارای ابعادی به طول ۴ و عرض ۳/۵ متر و بودند. هر واحد آزمایشی شامل ۴ ردیف کاشت با فاصله بین ردیف ۷۰ سانتی متر و روی ردیف ۵۰ سانتی متر بودند. فاصله بین کرت های اصلی یک متر و فاصله بین تکرارها سه متر در نظر گرفته شد.

۳-۴ عملیات اجرایی

۳-۴-۱ کاشت

در این آزمایش بذور آویشن زراعی از شرکت گیاه ایران (اصفهان) تهیه گردید. در اسفندماه ابتدا بذرها در گلدان های کشت کوچک (جیفی پات) جهت تهیه نشاء کشت شدند. و گلدان ها جهت رشد در گلخانه - مخصوص نشاء نگهداری شدند. در فروردین ماه ، نشاء های تولیدی (۱۱-۱۰ برگی) به زمین اصلی منتقل شدند. بعد از نشاء کاری اولین آبیاری انجام و مقدار آب آبیاری در هر بار برای تمامی تیمارها یکسان بود و از سیستم آبیاری قطره ای استفاده شد.

۳-۴-۲ داشت

زمانی که گیاهان استقرار کامل پیدا کردند (۱۵-۱۴برگی)، اعمال کم آبی با روش آبیاری تحت فشار (آبیاری قطره ای)، تنظیم دور آبیاری و براساس نقشه طرح انجام گرفت که حجم آب آبیاری در هر بار برای تمامی عوامل یکسان بود. اعمال تنش کم آبی تا زمان گل دهی بوته ادامه یافت. استفاده از کودهای زیستی و غیرزیستی در زمان انتقال نشاء به مزرعه صورت گرفت. بدین صورت که از کود زیستی میکوریز به صورت اینوکولوم ماسه که هر گرم حاوی حداقل ۱۰۰ اندام فعال قارچ بودند ، به مقدار ۱۵۰ گرم به ازای هر بوته (بر اساس توصیه شرکت تولید کننده) استفاده شد. از باکتری سودوموناس و آزوسپیریلوم، به صورت غوطه ور کردن ریشه گیاه در آن‌ها استفاده شد، بدین صورت که بر اساس توصیه

شرکت تولید کننده، مقدار ۲۰۰ گرم از هر کدام از باکتری ها در ۱۰ لیتر آب حل شده و سپس ریشه ها به مدت ۵-۱۵ دقیقه در داخل محلول غوطه ور شده سپس کشت انجام شد. کود شیمیایی NPK (که نسبت هر کدام از عناصر در این کود ۲۰ درصد بود) بصورت گرانولی به میزان ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار استفاده شد. مبارزه با علف های هرز به صورت وجین دستی انجام گرفت.

۳-۴-۳ برداشت

برداشت دو ماه پس از تاریخ انتقال نشاء به مزرعه، به عبارتی در خردادماه و در مرحله گل دهی، در اوایل روز بین ساعت ۷-۹ صبح انجام گرفت.

۳-۵ نمونه برداری جهت اندازه گیری عملکرد بیولوژیکی، عملکرد

سرشاخه های گل دار و صفات فیزیولوژیکی

برای این منظور دو ردیف کناری و ۵۰ سانتی متر از ابتدا و انتهای هر کرت به عنوان حاشیه حذف شدند. نمونه برداری در زمان گل دهی صورت گرفت. بوته ها (چهاربوته) انتخاب شدند. قطع بوته ها برای اندازه گیری میزان بیوماس کل (عملکرد بیولوژیکی) و نیز عملکرد سرشاخه های گل دار به این صورت بود که از سطح خاک و از ناحیه طوقه گیاهان قطع و برداشت شدند. سرشاخه های گل دار از بوته ها جدا و در نهایت سرشاخه های گل دار به همراه بوته های برداشت شده در پاکت های شماره گذاری شده و دارای برچسب شناسایی قرار داده شدند. بوته های برداشت شده در سایه و در جریان باد به مدت ۱ هفته خشک شدند. پس از خشک شدن با ترازوی دقیق دیجیتالی Soehnle ساخت کشور آلمان و با دقت ۰/۰۱ گرم توزین و در نهایت مقادیر به دست آمده بر حسب گرم در بوته محاسبه گردیدند.

همچنین به منظور بررسی صفات فیزیولوژیکی همانند آنزیم های آنتی اکسیدان، کلروفیل ها، آنتوسیانین، فلاونوئید، و غیره، در زمان گل دهی، نمونه برداری به صورت تصادفی از بوته های میانی

خطوط کاشت (چهار بوته) با احتساب اثر حاشیه و از برگ های همسن در قسمت یک سوم فوقانی، میانی و پایین بوته ها انجام گرفت. سپس نمونه ها سریعاً به داخل یخچال صحرایی حاوی یخ انتقال داده و پس از آن برای انجام آزمایشات لازم به آزمایشگاه منتقل و به وسیله ازت مایع فریز و در نهایت در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

۳-۶ اندازه گیری صفات زراعی و مورفولوژیک

جهت اندازه گیری تعداد انشعابات جانبی و ارتفاع بوته، از بوته های میانی خطوط کاشت هر کرت با احتساب اثرات حاشیه، تعداد شاخه های جانبی چهار بوته شمارش و میزان ارتفاع بوته ها تا سطح خاک نیز با خط کش اندازه گیری و یادداشت گردید.

۳-۷ اندازه گیری صفات فیزیولوژیک

۳-۷-۱ سنجش میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید برگ

جهت ارزیابی غلظت کلروفیل برگ ابتدا مقدار ۰/۱ گرم از بافت تر برگ در هاون چینی قرار داده و با ۱۰ سی سی استن ۸۰ درصد خرد و یکنواخت گردید. نمونه ها به مدت ۱۰ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۶۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. بعد از اتمام سانتریفیوژ، محلول بالایی به عنوان عصاره به بالن شیشه ای منتقل و جهت انجام طیف سنجی مورد استفاده قرار گرفت. مقدار جذب نمونه ها در طول موج های ۶۶۳ ، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر به ترتیب برای اندازه گیری کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید با استفاده از دستگاه طیف سنجی Jena 1500S, Germany-2010 Analytika انجام گردید. سپس با استفاده از روابط موجود میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید محاسبه شدند (آرنون، ۱۹۶۷).

$$\text{Chlorophyll a} = (19.3 \times A_{663} - 0.86 \times A_{645}) V / 100W \quad (1-3)$$

$$\text{Chlorophyll b} = (19.3 \times A_{645} - 3.6 \times A_{663}) V / 100 W \quad (2-3)$$

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

$$\text{Carotenoids} = 100 (A_{470} - 3.27 (\text{mg chl. a}) - 104 (\text{mg chl. b}) / 227 \quad (4-3)$$

که در آن V = حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)، A = جذب نور در طول موج های ۶۴۵، ۶۶۳ و ۶۷۰ نانومتر، W = وزن تر نمونه بر حسب گرم هستند.

۳-۷-۲ سنجش میزان آنتوسیانین برگ

برای سنجش میزان آنتوسیانین برگ مقدار ۰/۱ گرم از بافت تر گیاه در ۴ میلی لیتر محلول اسیدکلریدریک ۱ درصد در متانول در یک هاون چینی ساییده، محلول حاصل به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگه داری شدند. سپس به مدت ۱۰ دقیقه و در ۱۳۰۰۰ دور، سانتریفیوژ شدند. محلول رویی به دقت به ظرف دیگری منتقل و برای انجام طیف سنجی مورد استفاده قرار گرفت. در نهایت در طول موج های ۵۳۰ (A530) و ۶۵۷ (A657) نانومتر اندازه گیری شدند. میزان آنتوسیانین برای هر عصاره با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (میتا و همکاران، ۱۹۹۷).

(۵-۳)

$$A = A_{530} - (0.25 \times A_{657})$$

که در آن A = جذب نور در طول موج های ۵۳۰ و ۶۵۷ نانومتر است.

۳-۷-۳ سنجش میزان فلاونوئید برگ

برای سنجش میزان فلاونوئید، ابتدا ۰/۱ گرم از بافت تر برگ در ۳ میلی لیتر اتانول اسیدی شامل (اتانول و اسیدکلریدریک به نسبت ۹۹ به ۱) به طور کامل ساییده و به مدت ۱۵ دقیقه و با مقدار ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. محلول رویی به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجه سانتی گراد

قرار داده شدند. پس از سرد شدن، میزان جذب نوری نمونه با استفاده از دستگاه طیف سنجی Analytika Jena1500S, Germany-2010 در طول موج ۳۰۰ نانومتر قرائت شد. برای محاسبه غلظت از ضریب خاموشی $33000 \text{ cm}^{-2} \text{ mol}^{-1}$ استفاده شد. میزان فلاونوئید بر حسب درصد با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (کریزک و همکاران، ۱۹۹۸).

(۶-۳)

$$100 \times \frac{V}{780} \times FLV = ABS(300nm)$$

V = حجم عصاره

۴-۷-۳ سنجش درصد و عملکرد اسانس سرشاخه های گل دار

اسانس از سرشاخه های گل دار گیاه گرفته شد. به این صورت که پس از برداشت و خشک شدن گیاه ، سرشاخه های گل دار از گیاه جدا شدند. ابتدا آسیاب و سپس وزن و در نهایت به صورت زیر عمل اسانس گیری صورت گرفت. عمل استخراج اسانس با استفاده از تقطیر آب توسط دستگاه اسانس گیر (کلونجر) در آزمایشگاه انجام شد. روش تقطیر با آب برای جداسازی مواد غیر محلول در آب (مثل اسانس ها) استفاده می شود. با استفاده از این روش به سهولت می توان اقدام به استخراج اسانس ها از گیاهان مورد نظر نمود.

در استخراج اسانس آویشن روش کار بدین صورت بود که مقدار ۱۰۰ گرم از سرشاخه های گل دار خشک آویشن به همراه آب مقطر (۱۲۰۰ سی سی) در درون بالن قرار گرفت. سپس بالن را بر روی هیتر قرار داده و به دستگاه اسانس گیر متصل شدند. پس از به جوش آمدن آب به مدت ۲ ساعت حرارت داده شدند. با افزایش فشار بخار آب، اسانس از گیاه خارج و به همراه بخار آب وارد قسمت مبرد (سرد کن) شد. در مبرد عمل میعان صورت گرفته و قطرات اسانس در درون آب به صورت دو فاز مشخص به طرف لوله مدرج حرکت می کند و در آنجا به علت سبک تر بودن، اسانس استخراج شده روی آب قرار می گیرد و

آب اضافی از طریق لوله رابط به بالن بر می‌گردد. با توجه به مشاهدات صورت گرفته بیشترین میزان اسانس در همان ساعت اول حدود یک ساعت و بیست دقیقه اول (بعد از جوش آمدن) خارج می‌گردد. در نهایت به منظور جمع‌آوری اسانس آویشن، شیردستگاه را باز و اسانس خارج گردید. اسانس استخراج شده را درون ظروف شیشه‌ای کوچک (که قبلاً توزین شده و وزن خالی شیشه یادداشت گردیده و دارای درب پلاستیکی محکمی بود) ریخته و با ترازوی الکتریکی وزن شدند. وزن اسانس برحسب گرم ثبت شد و بر حسب درصد محاسبه گردید. میزان عملکرد اسانس از حاصلضرب عملکرد سرشاخه‌های گل‌دار در درصد اسانس به دست آمد.

۳-۷-۵ سنجش میزان قندهای محلول برگ

جهت سنجش میزان قندهای محلول برگ در مرحله گل‌دهی از روش آواک (۱۹۹۵) استفاده شد. محلول‌های مورد نیاز عبارتند از: محلول ۵٪ (پنج درصد) سولفات روی : ۵ گرم پودرسولفات روی را در آب مقطر حل نموده و حجم نهایی به ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. محلول هیدروکسیدباریموم ۰/۳ نرمال: ۴/۷۲۵ گرم پودرهیدروکسید باریموم ($\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) در آب مقطر حل و حجم نهایی به ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد.

محلول ۵٪ (پنج درصد) فنل: مقدار ۵ گرم پودر فنل در آب مقطر حل و حجم نهایی ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. (معمولاً محلول فنل آماده در بازار به صورت ۵ درصد به فروش می‌رسد. اما چون در آزمایشگاه پودر فنل در اختیار بود، به صورت فوق محلول ۵ درصد فنل تهیه گردید). با توجه به اینکه فنل بسیار سمی و خطرناک است، تمامی مراحل کار با این محلول با استفاده از دستکش و زیرهود آزمایشگاهی انجام گرفت.

۱- اتانول ۸۰٪ : با افزودن ۴۵ میلی لیتر آب مقطر به ۲۰۰ میلی لیتر اتانول ۹۸٪، مقدار ۲۴۵ میلی لیتر اتانول ۸۰٪ تهیه شد.

۲- اسیدسولفوریک ۹۸٪

۳- گلوکز خالص جهت تهیه محلول‌های استاندارد: برای تهیه استاندارد ppm ۱۰۰۰ (قسمت در میلیون و یا به عبارتی میلی گرم در لیتر) در بالن حجمی مقدار ۰/۲۵ گرم پودر گلوکز خالص در آب مقطر حل و حجم نهایی به ۲۵۰ میلی لیتر رسانده شد. برای تهیه استانداردهای ۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ قسمت در میلیون به ترتیب مقدار صفر، ۰/۵، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۱۰ میلی لیتر از استوک ppm ۱۰۰۰ تهیه در مرحله قبل را برداشته و در بالن های حجمی به کمک آب مقطر حجم نهایی به ۵۰ میلی لیتر رسانده شد.

استخراج نمونه: نمونه های گیاهی تهیه شده به مدت ۴۸ ساعت توسط آون، در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد خشک شد. سپس آن ها را آسیاب نموده به طوری که کاملاً پودر شده و از غربال مش ۸ عبور داده شدند. ۰/۱ گرم پودر نمونه تهیه شده به تیوب (فالكون) ۱۵ میلی لیتری در پیچ دار منتقل شد. ۱۵ میلی لیتر اتانول ۸۰٪ کاملاً داغ را به تیوب اضافه نموده و پس از محکم نمودن درب تیوب به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس شدند. به منظور جدا نمودن فاز جامد از مایع، تیوب به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای اتاق سانتریفیوژ شدند. فاز شناور را به تیوب (فالكون) ۵۰ میلی لیتر جدید منتقل و مراحل اضافه نمودن اتانول ۸۰٪ داغ به رسوب انتهای تیوب ۱۵ میلی لیتر، ورتکس، سانتریفیوژ و اضافه نمودن فاز شناور به تیوب ۵۰ میلی لیتر، دوبار دیگر تکرار شد تا تمامی قندهای محلول موجود در نمونه گیاهی حتی الامکان استخراج گردد. در انتهای این مرحله ۴۵ میلی لیتر اتانول ۸۰٪ در تیوب ۵۰ میلی لیتر جمع شد. تیوب ۵۰ میلی لیتر را در آون با دمای ۴۵ درجه سانتیگراد قرار داده تا در مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت اتانول موجود در تیوب تبخیر گردد (دماهای بالاتر ممکن است اثر منفی بر قندها بگذارد). پس از تبخیر کامل اتانول، ۴۰ میلی لیتر آب مقطر به تیوب اضافه نموده، درب تیوب را بسته و به مدت ۲ دقیقه ورتکس شدند تا رسوبات چسبیده به جداره تیوب در آب حل شود (قند به سهولت در آب حل می گردد).

به منظور حذف رسوبات اضافی و دیگر ترکیبات زائد، ۵ میلی لیتر محلول سولفات روی ۵٪ و ۴/۷ میلی لیتر محلول هیدروکسید باریوم ۰/۳ نرمال به تیوب اضافه و دوباره ورتکس شدند. تیوب با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند.

فاز شناور را در یک تیوب دیگر جمع آوری شدند، ۲ میلی لیتر از فاز شناور به یک تیوب ۱۵ میلی لیتر جدید انتقال داده شد. ۲ میلی لیتر از هر یک از ۸ محلول استاندارد گلوکز تهیه شده نیز به تیوب های ۱۵ میلی لیتر در پیچ دار منتقل شدند. به تیوب ۱۵ میلی لیتری نمونه و نیز هر یک از تیوب های گلوکز استاندارد (۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ قسمت در میلیون)، ۱ میلی لیتر محلول فنل ۵٪ اضافه نموده، درب تیوب را بسته و به شدت تکان داده شدند تا حباب های کف سفید داخل تیوب نمایان شود (این مرحله حتماً باید زیر هود آزمایشگاهی انجام گردد).

۵ میلی لیتر اسید سولفوریک ۹۸٪ بوسیله سرنگ به داخل تیوب با فشار اضافه شد (این مرحله نیز بسیار خطرناک است و باید با احتیاط کامل و زیر هود انجام گیرد، تیوب در این مرحله به شدت داغ می شود). در صورت وجود قند محلول در نمونه و با توجه به میزان قند، محتوای تیوب در این مرحله به رنگ نارنجی روشن تا قهوه ای پررنگ متمایل می گردد. پس از گذشت ۴۵ دقیقه تا یک ساعت با تثبیت رنگ، توأم با خنک شدن تیوب در دمای اتاق توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۵ نانومتر اقدام به قرائت نمونه ها شد.

عدد قرائت شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در حقیقت معادل Y در معادله بوده که از طریق معادله میزان X به عنوان محتوی قند (میلی گرم در لیتر) به دست می آید. از آن جایی که در تهیه محلول های استاندارد غلظت به صورت میلی گرم بر لیتر در نظر گرفته می شود و با توجه به استفاده از ۰/۱ گرم پودر خشک و رقیق نمودن نمونه ها و نظر به اینکه محتوی قند در برخی از گزارش ها بر حسب میلی گرم بر گرم نمونه خشک ارائه می گردد می توان از فرمول زیر جهت تبدیل واحد استفاده نمود:

(۷-۳)

$$E = \frac{C \times D \times V}{DM \times 100000} \times 100$$

E: مقدار قند نمونه بر حسب میلی گرم در وزن خشک

C: غلظت نمونه بر حسب میلی گرم در لیتر همان X است

D: درجه رقت (در این روش ۳ می باشد).

V: حجم نهایی عصاره تهیه شده (در این روش ۵۰ می باشد).

DM: وزن ماده خشک بر حسب گرم (۰/۱ می باشد).

در نهایت میزان کربوهیدرات محلول برگ بر حسب میکروگرم بر وزن خشک برگ بیان شد.

۳-۷-۶ سنجش میزان پرولین برگ

برای اندازه گیری پرولین آزاد برگ در مرحله گل دهی از روش بیتس و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. محلول های مورد نیاز عبارتند از: محلول اسید سولفوسالسیلیک ۳ درصد: برای این منظور ۳ گرم از پودر سولفوسالسیلیک اسید در ۹۷ میلی لیتر آب مقطر حل گردید. محلول اسید فسفریک ۶ مولار: برای تهیه ۱۰۰ میلی لیتر محلول اسید فسفریک ۶ مولار مقدار ۳۸ میلی لیتر اسید فسفریک با اضافه کردن به آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. معرف ناین هیدرین: ۰/۱۲۵ گرم از معرف ناین هیدرین را در ۷۰ سی سی اسیدگلاسیال استیک و ۵۰ سی سی اسید فسفریک ۶ مولار حل کرده و روی حرارت قرار داده شد تا حل شود سپس سرد شد.

مقدار ۰/۰۵ گرم از بافت تازه برگ درون هاون قرار داده شد و ۴ سی سی اسیدسولفوریک ۳ درصد به آن اضافه و کوبیده شد. سپس سانتریفیوژ گردید تا دو فاز ایجاد شود و فاز بالایی جدا و ۲ سی سی اسید گلاسیال استیک و ۲ سی سی از محلول ناین هیدرین مخلوط شد و محلول آماده شده درون حمام بن ماری به مدت نیم ساعت با دمای ۹۰ درجه قرار داده شد. پس از آن به لوله های سرد شده مقدار ۴ سی

سی تولوئن اضافه شد و نمونه ها خوب تکان داده شد تا دو فاز ایجاد شود. فاز رویی برداشته و درون کووت اسپکتروفتومتر قرار داده شد، سپس نمونه ها درون دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. ضمناً بلنک دستگاه نیز ماده تولوئن بود.

عدد قرائت شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در حقیقت معادل Y در معادله بوده که از طریق معادله، میزان X به عنوان محتوای پرولین به دست می آید.

با توجه به استفاده از ۰/۵ گرم ماده تر و رقیق نمودن نمونه ها و نظر به اینکه محتوی پرولین بر حسب میکرومول بر گرم نمونه تر محاسبه می گردد از فرمول زیر جهت تعیین محتوای واقعی پرولین نمونه ها استفاده می گردد:

(۸-۳)

$$\mu\text{moles} \frac{\text{prolin}}{\text{g}} \text{ of fresh weight} = \frac{\left[\frac{\mu\text{g prolin} \times \text{ml Toluene}}{115.5 \mu\text{g}/\mu\text{mol}} \right]}{(g \text{ sample}/5)}$$

۷-۳-۷ سنجش میزان پروتئین برگ

برای اندازه گیری میزان پروتئین در مرحله گل دهی از روش بیوره استفاده شد. بدین صورت که برای درست کردن محلول بیوره ۱/۵ گرم سولفات مس ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) و ۰/۶ گرم سدیم پتاسیم تارتارات را در ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل نموده، سپس به آن ۳۰۰ میلی لیتر سدیم هیدروکسید ۱۰٪ اضافه شد. حجم آن به ۱ لیتر رسانده شد. محلول در ظرف پلاستیکی و در جای تاریک نگهداری شدند. برای اینکه محلول برای مدت زیادی نگهداری شود، ۱ گرم پتاسیم یداید (Potassium Iodide) به آن اضافه شد تا مانع احیای مس شود.

عصاره گیری به روش گانگ و همکاران (۲۰۰۱) صورت گرفت. بدین صورت که مقدار ۰/۲ گرم بافت گیاهی را در هاون چینی سرد با محلول عصاره گیری (۱۶۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم با pH= ۶/۸، ۲۰ میکرولیتر EDTA ۰/۱ مولار و ۳۸۰ میکرولیتر آب مقطر) هموژن شد. سپس به مدت ۲۵ دقیقه در ۱۴۰۰۰ rpm در ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. پس از سانتریفیوژ از فاز بالایی عصاره برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها استفاده شد.

برای ۰/۱ میلی لیتر از یک نمونه عصاره که ماکزیمم ۳ میلی گرم پروتئین داشته باشد از ۵ میلی لیتر محلول بیوره استفاده و سریعاً ورتکس شد. پس از دو دقیقه و قبل از یک ساعت جذب آن‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۰ نانومتر خوانده شد و غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد آلبومین گاوی محاسبه و بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید. (ضمناً بلانک (blank حاوی ۰/۵ میلی لیتر آب مقطر بعلاوه ۲/۵ میلی لیتر محلول بیوره بود (زلانج و جانهویی، ۲۰۱۷).

۳-۷-۸ سنجش میزان فنل کل برگ

برای عصاره‌گیری، یک گرم از بافت گیاهی همراه با ۱۰ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد در هاون چینی ریخته و پس از له کردن برگ‌ها، عصاره حاصل از پارچه ململ دولایه عبور و در ظرفی استریل ریخته شد. باقی مانده مواد در روی پارچه دو بار و هر بار با ۳ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد شستشو و به عصاره داخل ظرف اضافه گردید. عصاره صاف شده به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و سپس رسوب حاصل حذف و از محلول رویی برای اندازه‌گیری فنل استفاده شد.

برای اندازه‌گیری فنل کل در عصاره برگ در مرحله گل دهی از معرف فولین به شرح زیر استفاده شد. بدین منظور در ابتدا ۰/۵ میلی لیتر از عصاره گیاهی با ۷ میلی لیتر آب مقطر استریل در یک لوله آزمایش مخلوط و یکنواخت گردید. سپس ۰/۵ میلی لیتر از معرف فولین به لوله اضافه و محتویات لوله با هم مخلوط شدند. پس از سه دقیقه ۲۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم اشباع به لوله اضافه و حجم مخلوط

با آب مقطر استریل به ۱۰ میلی لیتر رسانده شد. پس از یک ساعت مقدار جذب رنگ در طول موج ۷۲۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Analytik Jena, Spekol 1300, Germany) خوانده شد و غلظت فنل با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه و بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید. (سیورس و دیلی، ۱۹۷۰).

۳-۸ آنزیم های آنتی اکسیدان برگ

۳-۸-۱ تهیه عصاره آنزیمی

عصاره گیری به روش گانگ و همکاران (۲۰۰۱) صورت گرفت. بدین صورت مقدار ۰/۲ گرم بافت گیاهی را در هاون چینی سرد با محلول عصاره گیری (۱۶۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم با $\text{pH} = 6/8$ ، -20°C میکرولیتر $0/1$ EDTA مولار و ۳۸۰ میکرولیتر آب مقطر) هموژن شد. سپس به مدت ۲۵ دقیقه در rpm ۱۴۰۰۰ در ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شدند. پس از سانتریفیوژ از فاز بالایی عصاره برای اندازه گیری فعالیت آنزیم ها استفاده شد.

۳-۸-۲ سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

به منظور بررسی فعالیت آنزیم کاتالاز از روش (ابی، ۱۹۸۴) استفاده شد. پس از آماده سازی عصاره آنزیمی، به منظور سنجش فعالیت سینتیکی آنزیم کاتالاز، ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم (۰/۰۵ و $\text{pH} = 7$) و ۰/۳ میلی لیتر آب اکسیژنه ۳٪ را در حمام یخ با یکدیگر مخلوط کرده و بلافاصله ۰/۲ میلی لیتر عصاره آنزیمی به آن افزوده شد. منحنی تغییرات جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. واکنش با افزودن پراکسید هیدروژن آغاز شد و کاهش جذب به مدت ۳ دقیقه اندازه گیری شد. فعالیت آنزیمی بر حسب تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازای هر گرم وزن تر بافت

گیاهی محاسبه گردید و ضریب خاموشی کاتالاز ۳۹/۴ در نظر گرفته شد. مقدار آنزیم با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$\frac{\Delta A_{240} \times I \times V_t \times df}{\epsilon \times l \times t \times V_s} \quad (3-9)$$

ΔA_{240} : تفاوت میزان جذب مخلوط واکنش در زمان شروع و پایان واکنش؛ I : با توجه به ضریب پراکسیداسیون هیدروژن معادل ۲ می باشد؛ V_t : حجم مخلوط واکنش (در این آزمایش برابر ۳ میلی لیتر بود)؛ df : فاکتور رقیق کننده (۵۰)؛ t مدت زمان واکنش (۱۸۰ ثانیه)؛ V_s : حجم نمونه (در این آزمایش برابر ۲۰ میکرولیتر بود)؛ ϵ : ضریب خاموشی؛ l طول مسیر عبور نور از مخلوط واکنش (برابر ۱).

۳-۸-۳ سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز (POX)

فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش (چانس و مهلی، ۱۹۵۵) اندازه گیری شد. مخلوط واکنش شامل مواد شیمیایی زیر بود:

۱۴۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار (pH=۷)، ۷۵۰ میکرولیتر گوانیکول ۱۰ میلی مولار محلول در آب دوبار تقطیر، ۱۰۰ میکرولیتر H_2O_2 ۷۰ میلی مولار محلول در فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار pH=۷، ۷۵۰ میکرولیتر آب دوبار تقطیر استریل شده. مخلوط واکنش بالا به اضافه مقدار معینی از عصاره آنزیمی در یک کیووت شیشه‌ای ۳ میلی‌لیتری ریخته شده و با قرار گرفتن در دستگاه اسپکتروفتومتر، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در طول موج ۴۷۰ نانومتر و در مدت زمان واکنش ۱۸۰ ثانیه اندازه گیری شد. از مخلوط واکنش بالا بدون عصاره آنزیمی به عنوان شاهد اسپکتروفتومتر استفاده گردید. ضریب خاموشی پراکسیداز ۲۶/۶ در نظر گرفته شد.

۳-۸-۴ سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

اندوفنل اکسیداز (IPO) یا تترازولیوم اکسیداز (TO) از نام های دیگر این آنزیم است. جهت اندازه گیری میزان فعالیت این آنزیم از روش (بیچمپ و فریدوویچ، ۱۹۷۱) استفاده گردید. سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از سنجش میزان احیای نوری نیتروبلو تترازولیوم (NBT) در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه گیری شد. محلول های مورد نیاز برای سنجش فعالیت این آنزیم عبارتند از:

بافر فسفات پتاسیم (pH = ۷/۸) ۵۰ میلی مولار μl ۲۳۰۰

متیونین ۱۳ میلی مولار μl ۱۰۰

نیترو بلو تترازولیوم (NBT) ۷۵ میکرومولار μl ۱۰۰

EDTA ۰/۱ میلی مولار μl ۱۰۰

ریبوفلاوین ۲ میکرومولار μl ۱۰۰

عصاره آنزیمی ۳۰۰ μl

قبل از اضافه کردن این ترکیبات به بافر فسفات پتاسیم ، ظرف حاوی مخلوط واکنش با فویل آلومینیومی به خوبی پوشانده شد تا به هیچ وجه نور نبیند. سپس ۳۰۰ میکرولیتر از هر نمونه عصاره با سمپلر در هر لوله آزمایش ریخته ۲۷۰۰ میلی لیتر از محلول فوق به آن اضافه شد. بعد از آن بلافاصله لوله ها تحت تابش دو لامپ فلورسنت ۲۰ وات قرار گرفت و واکنش آغاز شد. پس از گذشت ۱۵ دقیقه سپس جذب نمونه ها در ۵۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای صفر کردن دستگاه به عنوان شاهد، ۳ میلی لیتر از محلول تهیه شده با بافر فسفات پتاسیم را که فاقد عصاره بود، بدون آنکه نور ببیند درون کووت ریخته و دستگاه با آن صفر شد. برای سنجش فعالیت این آنزیم علاوه بر شاهد، نیاز به نمونه

کنترل نیز می باشد که به آن شاهدروشنایی گفته می شود. برای تهیه شاهد روشنایی یک لوله آزمایش حاوی ۳ میلی لیتر از محلول واکنش (فاقد عصاره) همراه با دیگر لوله های حاوی عصاره در زیر نور فلورسنت با همان مدت زمان قرار گرفت و میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در نمونه ها در مقایسه با شاهدروشنایی سنجیده شد.

همچنین محلول تحت نور و فاقد آنزیم به عنوان شاهد استفاده شد و از جذب نمونه ها کسر شد. با استفاده از رابطه زیر در نهایت مقدار فعالیت آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز بر حسب تغییرات جذب به ازای میلی گرم وزن تر محاسبه گردید.

(۱۰-۳)

$$IH = \frac{\Delta \text{ Abs without enzyme} - \Delta \text{ Abs with enzyme}}{\Delta \text{ Abs without enzyme}}$$

$$SOD \text{ Activity} = \frac{IH \times 1000}{50 \times grwf}$$

۳-۸-۵ سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به روش (ناکانو و اسدا، ۱۹۸۱) اندازه گیری گردید. مخلوط واکنش حاوی مواد شیمیایی عبارتند از :

۲۲۵۰ میکرولیتر آسکوربات ۰/۵ میلی مولار محلول در بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار، ۴۵۰

میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۲ میلی مولار محلول در آب دوبار تقطیر . از مخلوط واکنش بدون عصاره

آنزیمی در یک کیووت کوارتز ۳ میلی لیتری به عنوان شاهد اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۹۰ نانومتر

استفاده گردید. سپس ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به آن اضافه شده و میزان فعالیت آنزیم آسکوربات

پراکسیداز در مدت زمان ۱۸۰ ثانیه اندازه گیری شد. از مخلوط واکنش بالا بدون عصاره آنزیمی به عنوان شاهد اسپکتروفتومتر استفاده گردید. ضریب خاموشی آسکوربات پراکسیداز ۲/۸ در نظر گرفته شد.

۳-۹ سنجش میزان عناصر برگ گیاه

۳-۹-۱ سنجش درصد عنصر نیتروژن

برای اندازه گیری درصد نیتروژن برگ در مرحله گل دهی از روش کجلدال استفاده شد. بدین صورت که طی سه مرحله هضم، تقطیر و تیتراسیون عنصر نیتروژن اندازه گیری شد. در مرحله هضم مقدار ۰/۲ گرم برگ پودر شده گیاه را داخل ظرف مخصوص هضم کجلدال ریخته و سپس مقدار یک گرم مخلوط کاتالیست به آن اضافه و مخلوط نموده، بعد از این مرحله ۵ سی سی اسید سولفوریک غلیظ به آن افزوده و سپس ظرف را در جای مخصوص دستگاه هضم قرار داده و دستگاه در دمای ۳۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳ ساعت روشن شد. بعد از مرحله هضم و سرد شدن، در مرحله تقطیر ظرف سرد شده مرحله هضم را در جایگاه دستگاه تقطیر کجلدال قرارداده و دستگاه تنظیم شده را روشن نموده تا این مرحله نیز که شامل اضافه شدن آب مقطر و سود ده نرمال (۵۰-۴۰ سی سی برای هر نمونه) به نمونه در شرایط بخار و جمع آوری گاز آمونیاک آزاد شده توسط اسید بوریک دو درصد (۴۰ سی سی برای هر نمونه) می باشد انجام بگیرد. در مرحله آخر یعنی تیتراسیون، معرف ازت (۵ قطره برای هر نمونه) به ارلن ازت جمع آوری شده اضافه گردید که به رنگ سبز در آمده سپس توسط اسید سولفوریک دو درصد (۴۰ سی سی برای هر نمونه) تیتر گردید تا رنگ قرمز پدیدار گردد و حجم اسید مصرفی یادداشت گردید. پس از یادداشت نمودن حجم اسید مصرفی، مقدار کل نیتروژن موجود در نمونه با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید.

(۱۱-۳)

$$\%N = (V \times N \times 1.4) / S$$

N% : درصد نیتروژن

V : حجم اسید مصرفی برای نمونه

N : نرمالیت اسید (۰/۱)

S: وزن نمونه خشک شده

۳-۹-۲ سنجش میزان عنصر فسفر

برای اندازه گیری عنصر فسفر برگ در مرحله گل دهی از روش (اولسن و همکاران، ۱۹۵۴) استفاده شد. بدین صورت که نمونه ها در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت در آون جهت خشک شدن قرار داده شد. سپس نمونه های خشک شده آسیاب و ۱-۰/۵ گرم از آنها پس از وزن شدن داخل بوته چینی ریخته شد و به مدت ۴ ساعت در دمای ۵۵۰ درجه سانتیگراد در کوره جهت خاکستر شدن قرار داده شد. پس از خارج شدن از کوره ۱۰ سی سی HCl ۲ مولار اضافه شده و جهت تبخیر شدن مقداری از اسید (حدود دو سوم) روی هیتر قرارداده شد. پس از سرد شدن حدود ۴ سی سی از اسید باقیمانده، آب مقطر اضافه شده و با کاغذ صافی در بالن ۱۰۰ میلی لیتری به حجم معین رسانده شد.

تهیه محلول A: جهت تهیه این محلول، مقداری آب مقطر داخل بالن ریخته سپس ۷۴ سی سی اسید سولفوریک غلیظ به آن اضافه و در مرحله بعد ۶۰ گرم مولیبدات آمونیوم و ۰/۱۴۵ گرم تارتارات پتاسیم اضافه شده و در آخر توسط آب مقطر به حجم ۱۰۰۰ سی سی رسانده شد.

تهیه محلول B: جهت تهیه این محلول، ۵۲۸ ۰/۰ گرم اسید آسکوربیک در بالن ریخته شد و توسط محلول A به حجم مورد نظر رسانده شد.

محلول استاندارد ۵۰۰ ppm فسفر: مقدار ۱/۰۹۸۴ پتاسیم دی هیدروژن فسفات به ۵۰۰ میلی لیتر آب اضافه شده و به حجم مشخصی رسانده شد سپس از حجم ppm ۵۰۰، ۲۰ ppm فسفر ساخته شد.

۴ سی سی محلول B در بالن ریخته شده و ۵ سی سی آب مقطر به آن افزوده شد و عصاره به محلول اضافه شد تا زمانی که رنگ محلول آبی شود. پس از رؤیت رنگ آبی، حجم محلول توسط آب مقطر به ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۲۰ ابتدا برای استانداردها و سپس برای نمونه ها قرائت شد. همچنین برای صفر کردن دستگاه، از شاهد استفاده شد. در نهایت با استفاده از داده های استاندارد و رسم منحنی، مقدار عنصر فسفر محاسبه گردید.

۳-۹-۳ سنجش میزان عنصر پتاسیم

برای اندازه گیری عنصر پتاسیم از روش نور سنجی شعله ای استفاده شد (چپمن و پرات، ۱۹۸۲). بدین صورت که در ارلن ۱۰۰ میلی لیتری، ۰/۰۵ گرم پودر حاصل از برگ خشک شده هر تیمار به طور جداگانه با ۳ میلی لیتر اسید نیتریک غلیظ مخلوط شدند. درب ارلن ها بسته شده و به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت در محیط آزمایشگاه قرار گرفتند. سپس ارلن ها در زیر هود و بر روی کوره دمایی، به آرامی حرارت داده شد. تصاعد دود سفید و بی رنگ شدن محلول اسیدی، نشانه پایان هضم بود. محلول باقیمانده با مقدار مشخصی آب مقطر به حجم ۵۰ میلی لیتر رسید. سپس غلظت عنصر پتاسیم توسط دستگاه نورسنجی شعله ای (دستگاه فلم فتومتر) تعیین شد. در نهایت از طریق منحنی استاندارد میزان عنصر پتاسیم محاسبه گردید.

۳-۱۰ تجزیه و تحلیل داده ها

در ابتدا جهت بررسی یکنواختی داده ها، آزمون بارتلت انجام گرفت. سپس تجزیه مرکب داده های دو سال آزمایش و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS ver9.4 و مقایسات میانگین با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام گردید. شکل ها نیز با استفاده از نرم افزار Excel ترسیم شدند.

فصل چہارم

نتیجہ و بحث

۴-۱ صفات زراعی (مورفولوژیک) و عملکرد

۴-۱-۱ ارتفاع بوته

نتایج حاصل از تجزیه مرکب داده ها نشان داد اثر سال، تیمار کودهای زیستی و غیرزیستی و نیز تیمار تنش کم آبی هرکدام به صورت مجزا تاثیر معنی داری بر ارتفاع بوته داشتند. در این بین اثر متقابل عوامل مذکور و نیز اثر متقابل سال در این عوامل تاثیر معنی داری بر ارتفاع بوته نداشتند (جدول ۴-۱).

مقایسه میانگین حاصل از تجزیه مرکب داده ها نشان داد ارتفاع بوته در سال دوم نسبت به سال اول افزایش داشت (جدول ۴-۲). به طوریکه میانگین ارتفاع در سال دوم ۲۲/۲۴ سانتی متر و در سال اول ۱۹/۱۵ سانتی متر بود (جدول ۴-۳). در مورد تیمار تنش کم آبی، مقایسه میانگین داده ها نشان داد که بیش ترین ارتفاع بوته با میانگین ۲۳/۷۰ سانتی متر در تنش کم آبی W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) و کم ترین آن با میانگین ۱۸/۹۱ سانتی متر در تنش کم آبی W_3 (۱۷ روز یک بار) مشاهده شد. این بدان معناست که با افزایش تنش کم آبی، ارتفاع بوته به میزان ۲۰ درصد کاهش یافت (جدول ۴-۳).

در مورد عامل کودی نتایج نشان داد استفاده از کودهای زیستی و غیرزیستی تاثیر متفاوتی بر ارتفاع بوته داشت به طوریکه کود سودوموناس بیش ترین میزان ارتفاع (۲۱/۹۷ سانتی متر) و کود آروسپیریلوم کم ترین میزان ارتفاع بوته (۱۹/۸۰ سانتی متر) را داشتند. بعد از سودوموناس کود شیمیایی در مرتبه دوم قرار داشت (جدول ۳-۴).

جدول ۴-۱ تجزیه واریانس مرکب تاثیر تنش کم آبی و کود های زیستی و غیرزیستی بر صفات زراعی گیاه

آویشن زراعی در دو سال آزمایش

میانگین مربعات					
منبع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع بوته	تعداد شاخه های جانبی	عملکرد سرشاخه های گل دار	عملکرد بیولوژیک
سال	۱	۲۱۴/۶۷**	۵۸۲/۶۷**	۲۱۴/۶۷**	۸۳۴/۱۷ ^{ns}
بلوک (سال)	۴	۴/۸۵	۱۹/۸۴	۳/۷۴	۹۱/۶۸
تنش کم آبی	۲	۲/۴۰۹۰**	۱۴۳۸۸/۳۱**	۷۴۳/۳۲**	۱۹۳۲۴۱/۷۳**
سال×تنش کم آبی	۲	۲/۱۷ ^{ns}	۱/۹۱ ^{ns}	۲/۱۷ ^{ns}	۲/۱۷ ^{ns}
خطای اصلی	۸	۱۱/۰۵	۵/۶۴	۴/۵۵	۳۸۱/۷۵
کود	۴	۱۵/۴۴*	۴۵۸۱/۶۲**	۹۲/۷۲**	۳۶۷۳۵/۹۵**
تنش کم آبی × کود	۸	۸/۴۹ ^{ns}	۱۵۵۳/۵۸**	۱۰۱/۷۷**	۳۵۹۸۳/۱۲**
سال×کود	۴	۰/۰۷۲ ^{ns}	۱/۸۴ ^{ns}	۱/۸۴ ^{ns}	۱/۸۴ ^{ns}
سال×کود×تنش کم آبی	۸	۰/۵۶ ^{ns}	۱/۰۷ ^{ns}	۱/۳۴ ^{ns}	۱/۳۴ ^{ns}
خطای فرعی	۴۸	۵/۱۸	۸/۱۸	۱/۷۹	۲۸۶/۳۳
ضریب تغییرات (درصد)		۱۰/۹۹	۲/۲۱	۶/۸۳	۶/۴۰

ns، *، ** به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی دار، اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

جدول ۴-۲ مقایسه میانگین اثر ساده سال بر صفات زراعی آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دوساله

فاکتور	صفات		
	ارتفاع	تعداد شاخه های جانبی	عملکرد سرشاخه های گل دار (گرم در بوته)
سال	(سانتی متر)		
اول	۱۹/۱۵b	۱۲۶/۵۷b	۱۸/۰۵b
دوم	۲۲/۲۴a	۱۳۱/۶۶a	۲۱/۱۴a

میانگین هایی که در هر ستون با حروف مشابه مشخص شده اند در سطح ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند.

جدول ۴-۳ مقایسه میانگین اثرات ساده تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر ارتفاع بوته گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله

فاکتور	صفات	
	ارتفاع بوته (سانتی متر)	
تنش کم آبی		
W ₁ (شاهد ۷۰ روز یک بار)	۲۳/۷۰a	
W ₂ (۱۲ روز یک بار)	۱۹/۴۸b	
W ₃ (۱۷ روز یک بار)	۱۸/۹۱b	
کود		
شاهد	۲۱/۲۷ab	
میکوریزا (گلو موس)	۱۹/۸۸b	
آزوسپیریلوم (<i>Azospirillum brasilense</i>)	۱۹/۸۰b	
سودوموناس (<i>Pseudomonas fluorescens</i>)	۲۱/۹۷a	
کودشیمیایی NPK	۲۰/۵۵a	

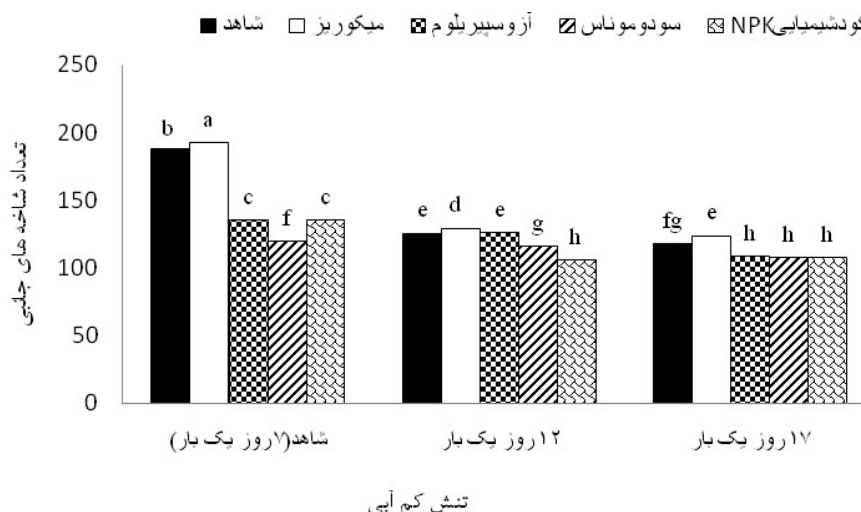
میانگین هایی که در هر ستون با حروف مشابه مشخص شده اند در سطح ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند.

علت کاهش ارتفاع بوته در شرایط تنش کم آبی، کاهش فشار تورژسانس و متعاقب آن کاهش تقسیم و بزرگ شدن سلولی نسبت به شرایط بدون تنش می باشد (کابوسلی و الجار، ۲۰۰۲). مطالعات نشان داده تنش کم آبی منجر به کاهش ارتفاع بوته در گیاهان می شود. در گیاه شنبلیله (احمد و همکاران، ۱۹۹۹؛ ریاست و همکاران، ۱۳۸۴)، ریحان (خلید، ۲۰۰۶، بزاز و همکاران، ۱۳۹۲)، مریم گلی، بومادران، اسفرزه، همیشه بهار، بابونه (بزاز و همکاران، ۱۳۹۲)، گل مکزیک (امیدبیگی و محمودی سورستانی، ۱۳۸۹) و بادرشبو (بزاز و همکاران، ۱۳۹۲) گزارشاتی در این زمینه ارائه شده است. در تحقیقی در مورد گیاهان مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) و آویشن (*Thymus vulgaris* L.) گزارش شد تأمین نیتروژن و فسفر از طریق کودهای زیستی توانست صفات رویشی همانند ارتفاع بوته را بهبود بخشد (نجفی و همکاران، ۱۳۹۳). در مطالعه اثر کودهای زیستی بر خصوصیات مرفولوژیکی گیاه دارویی زوفا، گزارش شد که کاربرد کودهای زیستی به ویژه سودوموناس، منجر به افزایش ارتفاع نسبت به شاهد گردید (کوچکی و همکاران، ۱۳۸۷).

۴-۱-۲ تعداد شاخه های جانبی در بوته

نتایج حاصل از تجزیه مرکب داده ها در جدول ۴-۱ نشان داد اثر سال و نیز اثر متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیر زیستی در سطح احتمال ۱ درصد تاثیر معنی داری بر تعداد شاخه های جانبی گیاه آویشن داشت. مقایسه میانگین اثر ساده سال حاصل از تجزیه مرکب داده ها نشان داد که تعداد شاخه های جانبی در سال دوم نسبت به سال اول افزایش یافته است (جدول ۴-۲). مقایسه میانگین داده های مربوط به اثرات متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیر زیستی نشان داد که بیشترین تعداد شاخه های جانبی به تعداد ۱۹۶/۵ در تنش کم آبی W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) و کود میکوریزا و کمترین آن به تعداد ۱۰۵/۵ در تیمار تنش کم آبی W_2 (۱۲ روز یک بار) و کود NPK به دست آمد. در این بین

عامل W_3 و آزوسپریلوم، W_3 و سودوموناس و W_3 و کود شیمیایی با W_2 و کود شیمیایی در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل ۴-۱).



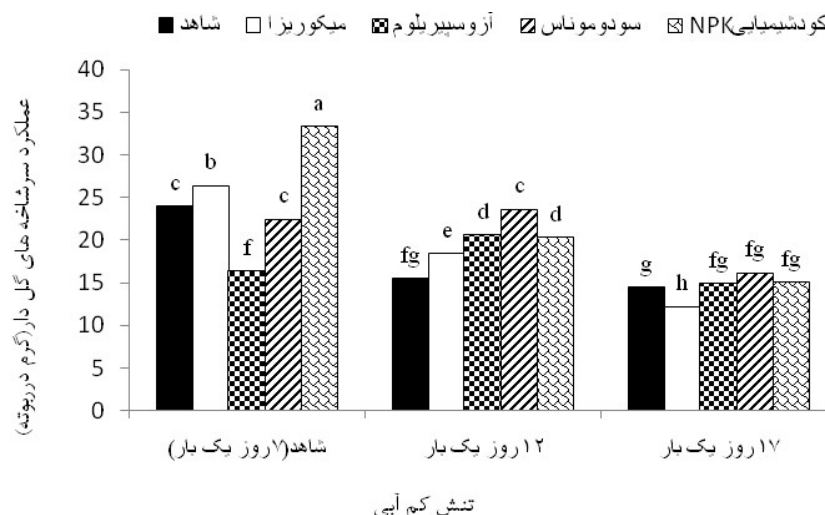
شکل ۴-۱ مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کم آبی و کود های زیستی و غیر زیستی بر تعداد شاخه های جانبی گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله

محققان گزارش کردند که افزایش تنش کم آبی، تعداد شاخه های جانبی و وزن خشک اندام رویشی آویشن را کاهش می دهد (بابایی و همکاران، ۱۳۸۹). نتیجه یک بررسی نشان داد با افزایش تنش کم آبی، تعداد شاخه های جانبی گیاه مرزه کاهش یافت. تلقیح با قارچ میکوریزا توانست تعداد شاخه های جانبی این گیاه را در شرایط تنش کم آبی در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده به طور معنی داری افزایش دهد (رحیمی و همکاران، ۱۳۹۵). از آنجاییکه تعداد شاخه های جانبی می تواند تعیین کننده تعداد برگ ها و در نتیجه میزان فتوسنتز باشد. بر اساس نتایج به دست آمده، بر اثر افزایش تنش کم آبی، تعداد شاخه های جانبی در بوته ها کاهش یافت. این نشان دهنده آن است که گیاه برای تحمل به تنش و کاهش میزان تعرق، ارتفاع و تعداد شاخه های فرعی خود را کاهش می دهد. نتایج فوق با گزارش های سایر

محققان مبنی بر کاهش تعداد شاخه های فرعی سویا و سایر بقولات با افزایش تنش کم آبی مطابقت دارد (فریدریک و همکاران، ۲۰۰۱؛ باریوس و همکاران، ۲۰۰۵).

۳-۱-۴ عملکرد سرشاخه های گل دار

نتایج حاصل از تجزیه مرکب داده ها نشان داد اثر سال و اثر متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیر زیستی تاثیر معنی داری بر عملکرد سرشاخه های گل دار داشت (جدول ۴-۱). در جدول مقایسه میانگین اثر ساده سال حاصل از تجزیه مرکب داده ها، عملکرد سرشاخه های گل دار در سال دوم نسبت به سال اول، افزایش معنی داری نشان داد (جدول ۴-۲). در شکل ۴-۲ مشاهده می شود، بیش ترین عملکرد سرشاخه های گل دار در تنش کم آبی W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) و کود NPK با میانگین ۳۳/۳۶ گرم در بوته و کم ترین آن مربوط به تنش کم آبی W_3 (۱۷ روز یک بار) و کود میکوریزا با میانگین ۱۲/۲۰ گرم در بوته بود. به عبارت دیگر میزان عملکرد سر شاخه های گل دار با افزایش تنش کم آبی، ۶۳ درصد کاهش یافت.



شکل ۴-۲ مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیر زیستی بر عملکرد سر شاخه های گل دار گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله

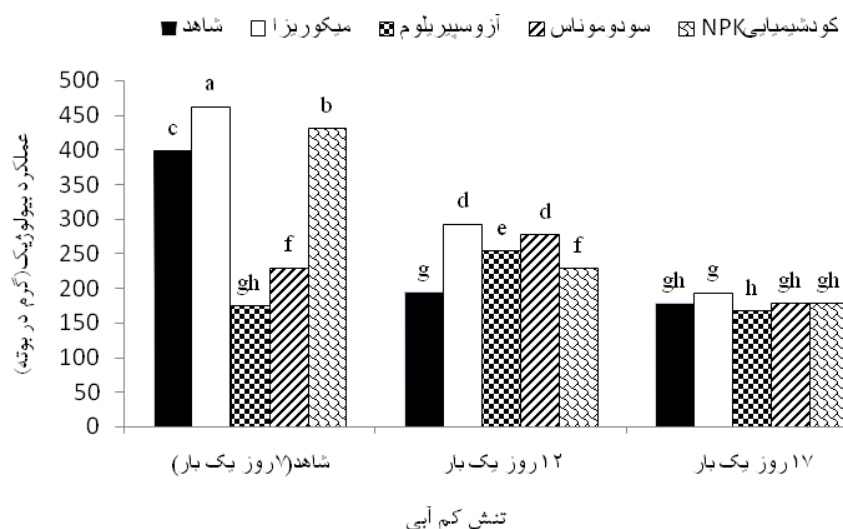
افزایش تنش کم آبی موجب کاهش سطح برگ‌ها می‌شود، در نتیجه جذب نور و ظرفیت فتوسنتزی گیاه کاهش می‌یابد (کلارک و همکاران، ۱۹۸۴). در تحقیقی گزارش شد که با محدود شدن فرآورده های فتوسنتزی در شرایط کمبود آب، تولید ماده خشک گیاه دارویی بادرشبو کاهش یافت (خاتمی و همکاران، ۱۳۹۷). نتایج پژوهشی نشان داد تنش کم آبی، عملکرد گل گیاه دارویی بابونه آلمانی را نسبت به عامل شاهد به میزان ۱۸/۱ درصد کاهش داد و همچنین نتایج مربوط به اثرات متقابل کم آبی و عامل کودی نشان داد که بیش ترین میزان عملکرد گل خشک در تیمار بدون تنش خشکی و در کود شیمیایی NPK به دست آمد (آرزمجو و همکاران، ۱۳۸۸). مشابه نتیجه این آزمایش، فرناندز و همکاران (۱۹۹۳) اعلام کردند کود شیمیایی NPK به سبب در دسترس قرار دادن عناصر غذایی مورد نیاز برای رشد در افزایش تولید گل در بابونه موثر است. در تحقیق دیگری کم ترین عملکرد سرشاخه های گل دار گیاه آویشن زراعی در کود زیستی میکوریزا تحت شرایط تنش خشکی به دست آمده است (محمدپور وشوایی، ۱۳۹۴).

۴-۱-۴ عملکرد بیولوژیکی

نتایج حاصل از تجزیه مرکب داده ها نشان داد اثر متقابل تیمار تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیر زیستی تاثیر معنی داری بر عملکرد بیولوژیکی در سطح احتمال ۱ درصد داشت. در این بین اثر سال و نیز اثر متقابل سال در تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی معنی دار نبودند (جدول ۴-۱). در شکل ۴-۳ مشاهده می شود که عملکرد بیولوژیک به میزان ۶۳ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش داشته است. به طوریکه بیش ترین میزان عملکرد بیولوژیک با میانگین ۴۶۲/۱۶ گرم در بوته در تنش کم آبی W₁ (شاهد، ۷ روز یک بار) و کود میکوریزا و کم ترین آن با میانگین ۱۶۷/۱۶ گرم در بوته در تنش کم آبی W₃ (۱۷ روز یک بار) و کود آزوسپیریلوم به دست آمد. هر چند از لحاظ کم ترین میزان عملکرد

بیولوژیکی W_3 و عامل کودی شاهد، W_3 و سودوموناس و W_3 و تیمار کودی NPK در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل ۳-۴).

جدول ضرایب همبستگی ساده صفات، همبستگی عملکرد سرشاخه های گل دار بترتیب در سال اول و دوم با تعداد شاخه های جانبی ($r=0.49^{**}$) و ($r=0.44^{**}$) و با عملکرد بیولوژیکی ($r=0.87^{**}$) و ($r=0.84^{**}$) را نشان داد (پیوست ۱ و ۲).



شکل ۳-۴ مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر عملکرد بیولوژیک گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله

عملکرد بیولوژیک تحت شرایط تنش کاهش یافت. به نظر می رسد دلیل عمده آن مربوط به کاهش تقسیم سلولی در مرحله رشد رویشی و در نهایت کاهش ارتفاع، تعداد شاخه های جانبی و بیوماس تولیدی گیاه باشد. تنش کم آبی سبب کاهش تجمع ماده خشک در گیاه و در نتیجه کاهش عملکرد بیولوژیک می گردد (کلارک و همکاران، ۱۹۸۴). همچنین کاهش عملکرد در طی افزایش سطح تنش کم آبی بر اساس نظر سروالی و همکاران (۲۰۰۱) می تواند مربوط به افزایش اختصاص مواد فتوسنتزی به ریشه نسبت به بخش های هوایی گیاه باشد. تنش کم آبی از طریق کاهش سطح برگ، بسته شدن

روزنه ها، کاهش در قابلیت هدایت روزنه ها، کاهش در آبیگری کلروپلاست و سایر بخش های پروتوپلاسم (که به نحوی کارآیی فتوسنتز را کاهش می دهند)، کاهش سنتز پروتئین و کلروفیل سبب تقلیل فرآیند فتوسنتز می گردد. تنش آب به طور مستقیم می تواند بر فرآیندهای بیوشیمیایی مربوط به فتوسنتز اثر گذاشته و به طور غیر مستقیم ورود دی اکسیدکربن به داخل روزنه ها را که به علت شرایط کم آبی بسته اند، کاهش دهد. از این رو انتقال مواد فتوسنتزی نیز تحت تأثیر تنش آب قرار گرفته و موجب اشباع برگ ها از این مواد می گردد که ممکن است فتوسنتز را محدود نماید. بدیهی است که با محدود شدن فرآورده های فتوسنتزی در شرایط کمبود آب، رشد گیاه و نهایتاً عملکرد آن دچار نقصان می شود (امیدبیگی و همکاران، ۱۳۸۱). نتایج پژوهش های مختلف بیانگر کاهش عملکرد بیولوژیک سویا در وضعیت تنش کمبود آب می باشد (دوگان و همکاران، ۲۰۰۹؛ کرم و همکاران، ۲۰۰۵). محققان طی آزمایشی بر روی گیاه دارویی سیاهدانه گزارش کردند که تنش کم آبی موجب کاهش بیوماس گیاهی، ارتفاع بوته و عملکرد اسانس گردید (رضایی چیاچه و دباغ محمدی نسب، ۱۳۹۳).

اثر مثبت کاربرد قارچ های میکوریزا بر افزایش عملکرد بیولوژیک گیاهان مختلف از جمله بزرک، گندم و سورگوم توسط بسیاری از پژوهشگران گزارش شده است (انصاری و همکاران، ۱۳۹۳؛ حق بهاری و شریفی، ۱۳۹۳؛ حمزه ئی و صادقی می آبادی، ۱۳۹۳). در رابطه با تأثیر مثبت کاربرد تیمارهای قارچی بر عملکرد بیولوژیک می توان بیان نمود که قارچ میکوریزا از طریق گسترش هیف و توسعه سیستم ریشه، سطح جذب آب بیشتری برای گیاه فراهم کرده و به دنبال جذب آب بیشتر، مواد غذایی بیشتری نیز جذب شده که منجر به تولید و تجمع ماده خشک بیش تری در گیاه می شوند (آیوج، ۲۰۰۱؛ کاسن و لیندسی، ۲۰۰۳). خلوتی و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند وزن خشک اندام های هوایی بوته های گندم تلقیح شده با قارچ میکوریزا در مقایسه با بوته های شاهد در شرایط تنش کم آبی، بیش تر بود. سیمون و همکاران (۱۹۹۲) اثر رژیم های مختلف آبی را روی گیاه

ریحان بررسی کردند و گزارش کردند که با تشدید کمبود آب وزن خشک برگ و ساقه کاهش یافت. مانی رام و همکاران، (۱۹۹۵) ضمن بررسی رژیم های مختلف رطوبت خاک بر گونه ای از نعنای نتیجه گرفتند که افزایش رطوبت خاک، تجمع ماده خشک را به طور معنی داری افزایش داد. فاروگی و همکاران (۱۳۷۷) دریافتند که تنش کم آبی در تمام ژنوتیپ های مورد آزمایش گیاه سنبل هندی (*Cymbopogon winterianus* L.) باعث کاهش عملکرد اندام رویشی شد (الکایر و همکاران، ۱۹۹۳). با بررسی تاثیر تنش خشکی بر گیاه نعنای فلفلی (*Mentha piperata* L.) گزارش شد که تنش کم آبی وزن خشک برگ، ساقه و ریشه را کاهش می دهد. همچنین کودهای زیستی از طریق تولید ترشحات حل کننده و کاهش اسیدیته، عناصر مختلف غذایی را به صورت محلول در اختیار گیاه قرار می دهند (هان و لی، ۲۰۰۶؛ ردمچر، ۱۹۹۴).

باکتری های موجود در کودهای زیستی علاوه بر جذب عناصر اصلی پرمصرف و کم مصرف مورد نیاز گیاه با ساخت و ترشح مواد محرک رشد گیاه و همچنین ترشح اسیدهای آمینه مختلف و انواع آنتی بیوتیک ها موجب رشد و توسعه ریشه و اندام هوایی می شوند (هان و لی، ۲۰۰۶؛ گویتیز منرو و همکاران، ۲۰۰۱). خرم دل و همکاران (۱۳۸۶) مشاهده کردند که کاربرد مایه تلقیح قارچ میکوریزا منجر به افزایش تجمع ماده خشک گیاه سیاهدانه نسبت به شاهد گردید. کوچکی و همکاران (۱۳۸۷) در مطالعه اثر کودهای زیستی بر رشد و عملکرد گیاه دارویی زوفا مشاهده کردند کاربرد کودهای زیستی منجر به افزایش وزن خشک بوته نسبت به شاهد گردید. در این بین تلفیق میکوریزا و سودوموناس تاثیر زیادی را در افزایش صفات مورد مطالعه نشان داد.

۴-۱-۵ روابط همبستگی بین صفات زراعی

نتایج حاصل از جداول همبستگی ساده صفات در سال اول و دوم نشان داد ارتفاع بوته با تعداد شاخه های جانبی ($r=0/41^{**}$)، عملکرد سرشاخه های گل دار ($r=0/50^{**}$)، عملکرد بیولوژیک ($r=0/40^{**}$)، کلروفیل

کل ($r=0/50^{**}$) و پروتئین برگ ($r=0/40^{**}$) همبستگی معنی داری در سال اول زراعی داشت (پیوست ۱). در سال دوم علاوه بر همبستگی های ارتفاع بوته با موارد گفته شده، بین ارتفاع بوته با عنصر نیتروژن ($r=0/30^*$) نیز همبستگی معنی داری مشاهده شد. که می تواند به دلیل تأمین عنصر نیتروژن از طریق کودهای زیستی و در نتیجه افزایش رشد رویشی گیاه باشد (نجفی و همکاران، ۱۳۹۳).

در ضمن همبستگی ارتفاع بوته با کلروفیل کل ($r=0/60^*$) در سال دوم افزایش یافت (پیوست ۲). همچنین با توجه به اینکه همبستگی معنی داری بین تعداد شاخه های جانبی و میزان کلروفیل در سال اول ($r=0/60^{**}$) و در سال دوم ($r=0/58^{**}$) وجود داشت (پیوست ۱ و ۲). می توان بیان کرد که رشد رویشی گیاه از جمله تعداد شاخه های جانبی ارتباط نزدیکی با میزان فتوسنتز گیاه دارد (رحیمی و همکاران، ۱۳۹۵). علاوه بر این تعداد شاخه های جانبی با عملکرد سرشاخه های گل دار ($r=0/40^{**}$) و ($r=0/44^{**}$)، با عملکرد بیولوژیک ($r=0/78^{**}$) و ($r=0/78^{**}$) و همانطور که ذکر شد با ارتفاع بوته ($r=0/40^{**}$) و ($r=0/43^{**}$) بترتیب در سال اول و دوم زراعی همبستگی معنی داری داشت (پیوست ۱ و ۲).

با توجه به اینکه عملکرد بیولوژیک حاصل وزن خشک اندام های هوایی گیاه می باشد، همبستگی بین صفات رویشی (ارتفاع و تعداد شاخه های جانبی) و عملکرد بیولوژیک و همچنین همبستگی عملکرد بیولوژیک با عملکرد سرشاخه های گل دار در سال اول ($r=0/87^{**}$) و در سال دوم ($r=0/84^{**}$) معنی دار گردید (پیوست ۱ و ۲). در ضمن همبستگی معنی دار عملکرد بیولوژیک با کلروفیل کل ($r=0/55^{**}$) در سال اول و ($r=0/51^{**}$) در سال دوم مشاهده شد (پیوست ۱ و ۲).

علاوه بر همبستگی های ذکر شده عملکرد سرشاخه های گل دار با صفات زراعی، این صفت با کلروفیل کل در سال اول ($r=0/62^{**}$) و در سال دوم ($r=0/56^{**}$) معنی دار گردید (پیوست ۱ و ۲). دلیل

همبستگی عملکردها با کلروفیل را می توان ارتباط نزدیک عملکرد بیولوژیک و همچنین عملکرد سرشاخه های گل دار با جذب نور و ظرفیت فتوسنتزی گیاه بیان نمود (کلارک و همکاران، ۱۹۸۴).

۴-۲ صفات فیزیولوژیکی

۴-۲-۱ کلروفیل a

نتایج حاصل از تجزیه مرکب داده ها در جدول ۴-۴ نشان داد اثر سال، اثر متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی و نیز اثر متقابل سال و کودهای زیستی و غیرزیستی تاثیر معنی داری بر میزان کلروفیل a برگ در سطح احتمال ۱ درصد داشت.

جدول ۴-۴ تجزیه واریانس مرکب تاثیر تنش کم آبی و کود های زیستی و غیرزیستی بر صفات فیزیولوژیکی گیاه آویشن زراعی در دو سال آزمایش

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				فلاونوئید
		کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید	آنتوسیانین
سال	۱	۵/۷۸**	۵/۸۲**	۲۳/۲۰**	۰/۰۰۲۶ ^{ns}	۰/۰۰۱۳ ^{ns}
بلوک (سال)	۴	۰/۱۱	۰/۰۴۴	۰/۲۲	۰/۰۰۱۱	۰/۰۰۰۴۳
تنش کم آبی	۲	۳۷/۸۰**	۴/۹۳**	۶۸/۸۶**	۰/۱۸**	۰/۰۰۲۴**
سال×تنش کم آبی	۲	۰/۰۲۲ ^{ns}	۰/۰۱۸ ^{ns}	۰/۰۷۷ ^{ns}	۰/۰۰۰۲۱ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۴۷ ^{ns}
خطای اصلی	۸	۰/۰۴۴	۰/۰۰۲۷	۰/۰۵۴	۰/۰۰۰۳۰	۰/۰۰۰۱۰
کود	۴	۱/۶۸**	۰/۰۴۷**	۱/۹۱**	۰/۰۷۸**	۰/۰۰۰۰۶۳ ^{ns}
تنش کم آبی×کود	۸	۰/۲۰**	۰/۳۱**	۰/۷۲**	۰/۰۰۲۵ ^{ns}	۰/۰۰۰۷۷**
سال×کود	۴	۰/۰۱۲ ^{ns}	۰/۰۱۸ ^{ns}	۰/۲۷ ^{ns}	۰/۰۰۰۱۸ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۸۴ ^{ns}
سال×کود	۸	۰/۰۰۶۷ ^{ns}	۰/۰۱۰ ^{ns}	۰/۰۰۹۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۱۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۲۶ ^{ns}
تنش کم آبی×کود						
خطای فرعی	۴۸	۰/۰۲۴	۰/۰۱۰	۰/۰۳۴	۰/۰۰۱۲	۰/۰۰۰۲۷
ضریب تغییرات (درصد)		۴/۲۱	۷/۵۶	۳/۶۶	۱۱/۳۲	۱۴/۶۹

ns، *، ** به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی دار، اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

جدول مقایسه میانگین اثر ساده سال حاصل از تجزیه مرکب نشان داد میزان کلروفیل a در سال دوم نسبت به سال اول افزایش یافت (جدول ۴-۵). در شکل ۴-۴ مشاهده می شود در مجموع در هر دو سال آزمایش عدم استفاده از کودهای زیستی و غیرزیستی میزان کلروفیل a برگ از میزان کم تری نسبت به شرایط استفاده از کودهای زیستی و غیرزیستی برخوردار بود. بیش ترین میزان کلروفیل a برگ را سال دوم و کود آزوسپیریلوم با میانگین ۴/۳۴ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ دارا بود، میکوریزا و سودوموناس

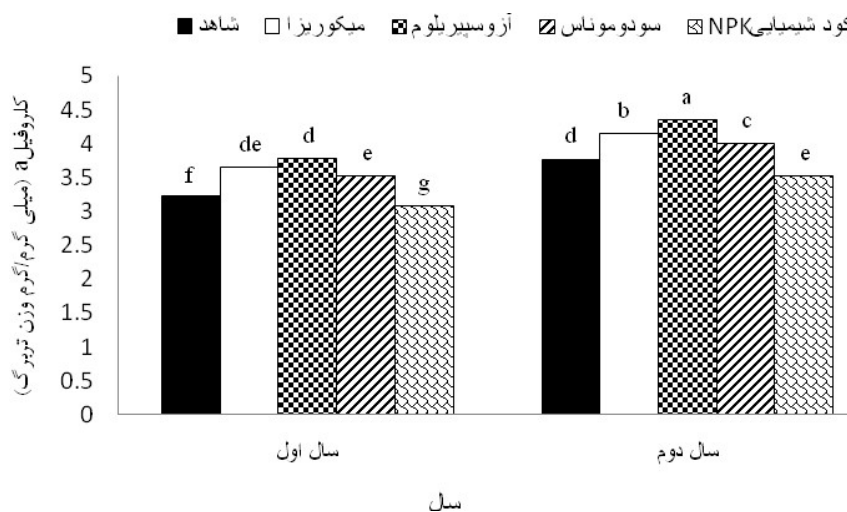
بترتیب در رتبه های دوم و سوم قرار داشتند. سال اول و کود شیمیایی NPK با میانگین ۳/۰۷ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ از کم ترین مقدار کلروفیل برگ برخوردار بود.

مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی نشان داد با افزایش سطح تنش کم آبی از شاهد (۷ روز یک بار) به W_3 (۱۷ روز یک بار)، از میزان کلروفیل a در برگ ها کاسته شد. به طوریکه بیش ترین میزان کلروفیل a در سطح تنش کم آبی W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) به همراه کود آزوسپیریلوم با میانگین ۵/۲۰ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ و کم ترین آن در سطح تنش کم آبی W_3 (۱۷ روز یک بار) و کود NPK با میانگین ۲/۱۹ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ بود (شکل ۴-۵). هر چند در شرایط تنش کم آبی از میزان کلروفیل a کاسته شد اما استفاده از کود آزوسپیریلوم نسبت به سایر کودها در بالاترین سطح تنش نیز تا حدی از بروز اثرات تنش بر کاهش کلروفیل a در برگ کاست (شکل ۴-۵).

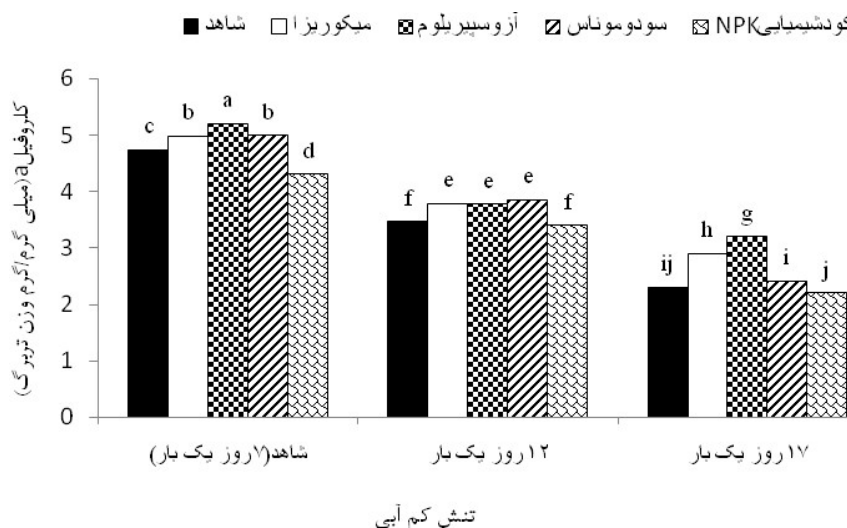
جدول ۴-۵ مقایسه میانگین اثر ساده سال بر صفات فیزیولوژیکی آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دوساله

فاکتور	صفات				سال
	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	فلاونوئید	
	(میلی گرم/گرم وزن تر برگ)	(میلی گرم/گرم وزن تر برگ)	(میلی گرم/گرم وزن تر برگ)	(میلی گرم/گرم وزن تر برگ)	
اول	۲/۴۵b	۱/۱۲b	۴/۵۸b	۱/۵۸b	
دوم	۲/۹۵a	۱/۶۲a	۵/۵۹a	۱/۹۸a	

میانگین هایی که در هر ستون با حروف مشابه مشخص شده اند در سطح ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند.



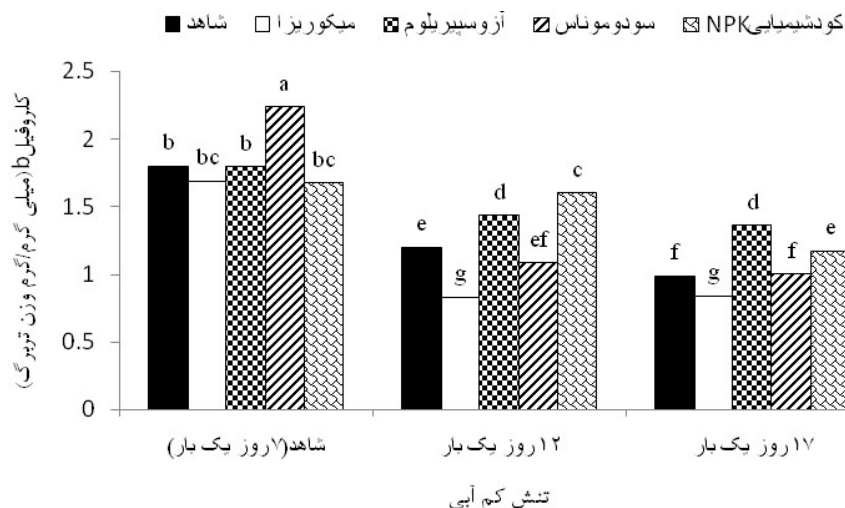
شکل ۴-۴ مقایسه میانگین اثر متقابل سال در کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان کلروفیل a در گیاه آویشن
زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله



شکل ۴-۵ مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان کلروفیل a در
گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله

۴-۲-۲ کلروفیل b

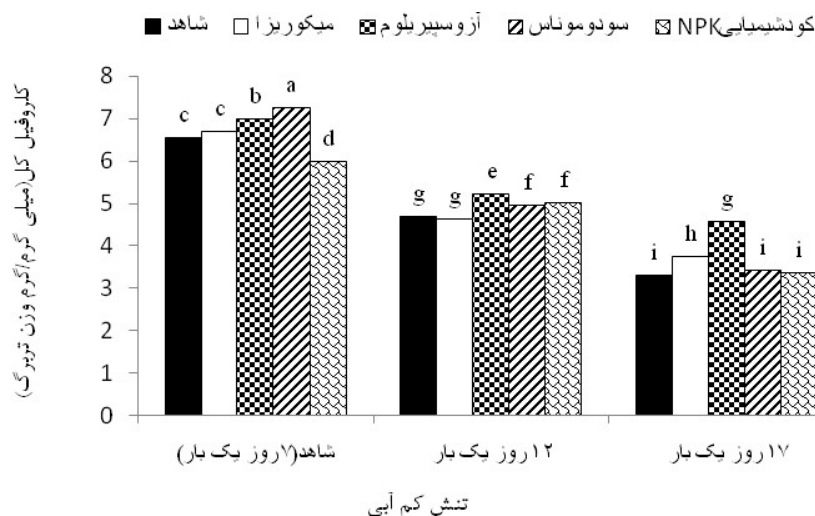
نتایج حاصل از تجزیه مرکب داده ها در جدول ۴-۴ نشان داد اثر سال و اثر متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی تاثیر معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد بر میزان کلروفیل b در برگ های گیاه آویشن زراعی داشت. مقایسه میانگین داده های اثر سال نشان داد در سال دوم افزایش معنی داری در میزان کلروفیل b نسبت به سال اول مشاهده شد (جدول ۴-۵). مقایسه میانگین داده های اثر متقابل مربوط به تیمارهای تنش کم آبی و نیز کودهای زیستی و غیرزیستی بر کلروفیل b نشان داد، با بالا رفتن سطح تنش از W_1 به W_3 از میزان کلروفیل b در برگ ها کاسته شد به طوریکه بیش ترین میزان کلروفیل b در سطح تنش کم آبی W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) و کود سودوموناس به میزان ۲/۲۴ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ و کم ترین آن در تنش کم آبی W_2 (۱۲ روز یک بار) و کود میکوریزا (گلموس) به میزان ۰/۸۳ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ و نیز W_3 و میکوریزا به دست آمد. در این بین عامل W_3 و کود میکوریزا با W_2 و میکوریزا (گلموس) در یک سطح آماری قرار داشتند (شکل ۴-۶).



شکل ۴-۶ مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان کلروفیل b در گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله

۴-۲-۳ کلروفیل کل

نتایج تجزیه واریانس داده ها در جدول ۴-۴ نشان داد اثر سال و اثر متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان کلروفیل کل در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شد. مقایسه میانگین داده های مربوط به اثر سال نشان داد میزان کلروفیل کل در سال دوم نسبت به سال اول افزایش معنی داری داشت (جدول ۴-۵). مقایسه میانگین داده های مربوط به اثر متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی در شکل ۴-۷ نشان می دهد بیش ترین میزان کلروفیل کل در تنش کم آبی W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) و کود سودوموناس به میزان ۷/۲۴ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ مشاهده شد. کم ترین آن مربوط به تنش کم آبی W_3 (۱۷ روز یک بار) و عامل کودی شاهد به میزان ۳/۳۰ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ به دست آمد. به عبارتی با افزایش تنش کم آبی، از میزان کلروفیل کل در برگ ها به میزان ۵۴ درصد کاسته شد. هر چند با افزایش سطح تنش کم آبی از W_1 به W_3 از میزان کلروفیل کل کاسته شد اما در بالاترین سطح تنش کم آبی استفاده از کود سودوموناس تا حدی مانع تأثیر سوء تنش کم آبی بر کاهش کلروفیل کل در برگ های گیاه آویشن زراعی شد.



شکل ۴-۷ مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان کلروفیل کل در گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله

کاهش رنگیزه های فتوسنتزی در اثر تنش کم آبی در این گیاه براساس نتایج محققان می تواند به دلیل افزایش تولید رادیکال های آزاد اکسیژن باشد. این رادیکال های آزاد سبب پراکسیداسیون کردن (وایز و نیلر، ۱۹۸۷) و در نتیجه تجزیه و تخریب رنگیزه ها می شوند (اسچاتز و فنگمیر، ۲۰۰۱). کاهش مقدار پیگمان های کلروفیل a و کلروفیل b به عنوان مکانیسم حفاظت نوری به کار گرفته می شود تا با کاهش جذب نور، از زنجیره فتوسنتزی گیاه حفاظت نمایند (صالحی، ۱۳۹۵). رنگیزه های گیاهی مهم ترین عامل برای کسب نور و تولید محصول هستند و میزان هر دو کلروفیل وابسته به رطوبت خاک می باشد و با کاهش میزان رطوبت موجود در خاک، میزان کلروفیل موجود در گیاه کاهش پیدا می کند (جلیل و همکاران، ۲۰۰۸).

در مطالعه بر روی گیاهان دارویی آویشن باغی (عسکری و همکاران، ۱۳۹۵) و در مطالعه بر روی ریحان (شرفزاده و زارع، ۱۳۹۰) گزارش شد که تنش کم آبی موجب کاهش کلروفیل a و b می گردد. کاهش محتوای کلروفیل در گیاه نعناع تحت تنش کم آبی نیز گزارش شده است (زند و همکاران، ۱۳۹۶). تنش

کم آبی باعث کاهش کلروفیل می شود، اما فسفر اثرات تنش را تعدیل می کند. نتایج آزمایشی نشان داد در شرایط کم آبی، با افزایش مصرف کود شیمیایی فسفر توأم با کودزیستی فسفات بارور ۲ در گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius*)، میزان کلروفیل کل به طور معنی داری افزایش یافت (حشمتی و همکاران، ۱۳۹۵). افزایش کلروفیل برگ در شرایط کم آبی، تحت تأثیر کاربرد کود شیمیایی فسفر همراه با تلقیح باکتری های حل کننده فسفات بارور ۲ نمایانگر افزایش توانایی گیاه جهت تحمل به شرایط تنش کم آبی می باشد (حشمتی و همکاران، ۱۳۹۵؛ هان و لی، ۲۰۰۵). در تأیید نتایج به دست آمده، گزارش شده که باکتری های ازتوباکتر و آزیسپریلوم غلظت کلروفیل a را در گیاه گشنیز به طور چشمگیری افزایش دادند (جهانشاهی و همکاران، ۱۳۹۲).

۴-۲-۴ کاروتنوئید

نتایج حاصل از تجزیه مرکب داده ها در جدول ۴-۴ نشان داد که تنها تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی تأثیر معنی داری بر میزان کاروتنوئید در برگ های گیاه آویشن داشت و اثر سال، اثرات متقابل سال در تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی از تأثیر معنی داری برخوردار نبودند. همانطور که در جدول ۴-۶ مشاهده می شود با افزایش سطح تنش کم آبی، بر میزان کاروتنوئید در برگ ها افزوده شد به طوریکه در سطح W_3 از افزایشی معادل ۴۲ درصد نسبت به تیمار شاهد (W_1) برخوردار بود. بیش ترین میزان کاروتنوئید مربوط به تنش کم آبی W_3 (۱۷ روز یک بار) با میانگین 0.38 میلی گرم برگرم وزن تر برگ و کم ترین آن مربوط شاهد (۷ روز یک بار) به میزان 0.22 میلی گرم برگرم وزن تر برگ بود.

مقایسه میانگین داده های کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان کاروتنوئید در برگ ها نشان داد که بیش ترین میزان کاروتنوئید در کود سودوموناس با میانگین 0.38 میلی گرم برگرم وزن تر برگ مشاهده شد. که با عامل کودی شاهد تفاوت معنی داری نداشته است. هر چند از لحاظ آماری کودهای میکوریزا و

آزوسپیریلوم در یک سطح آماری قرار گرفتند اما کم ترین میزان کاروتنوئید در کود آزوسپیریلوم با میانگین ۰/۲۳ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ به دست آمد (جدول ۴-۶).

جدول ۴-۶ مقایسه میانگین اثرات ساده تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان کاروتنوئید گیاه
آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله

صفات	
فاکتور	کاروتنوئید (میلی گرم/گرم وزن تر برگ)
تنش کم آبی	
W ₁ (شاهد ۷۰ روز یک بار)	۰/۲۲c
W ₂ (۱۲ روز یک بار)	۰/۳۱b
W ₃ (۱۷ روز یک بار)	۰/۳۸a
کود	
شاهد	۰/۳۶a
میکوریزا (گلموس)	۰/۲۵c
آزوسپیریلوم (<i>Azospirillum brasilense</i>)	۰/۲۳c
سودوموناس (<i>Pseudomonas fluorescens</i>)	۰/۳۸a
کودشیمیایی NPK	۰/۳۱b

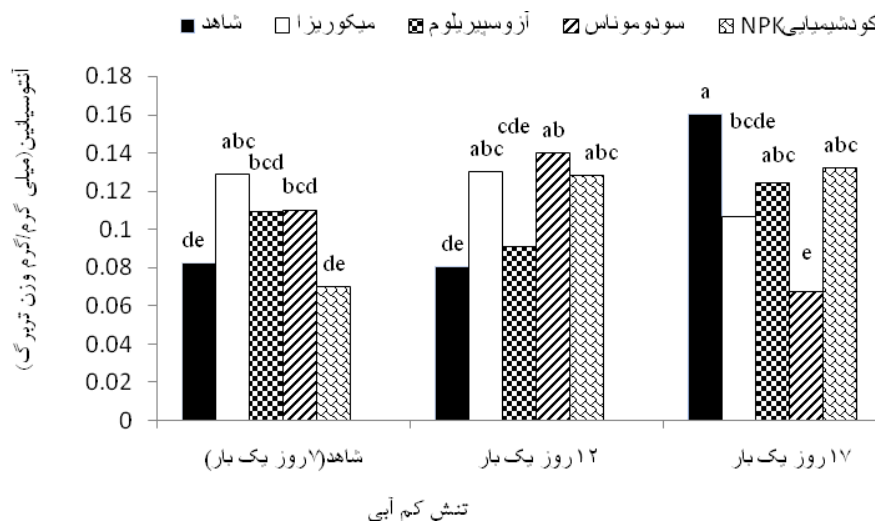
میانگین هایی که در هر ستون با حروف مشابه مشخص شده اند در سطح ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند.

در تنش های شدید میزان کاروتنوئید که به عنوان حمایت کننده ای برای کلروفیل ها در برابر اکسیداسیون نوری به شمار می روند افزوده می شود تا مانع تخریب بیش تر کلروفیل ها گردد. در تحقیقی بر روی گیاه ذرت گزارش شد که با افزایش تنش کم آبی، از مقدار کلروفیل ها کاسته و در مقابل بر میزان کاروتنوئیدها افزوده شد (محمدخانی و حیدری، ۱۳۸۶؛ عبدالا و همکاران، ۲۰۰۷). افزایش میزان کاروتنوئیدهای برگ در تیمار با سودوموناس را می توان به افزایش چشمگیر عنصر فسفر نسبت داد زیرا فسفر، حامل انرژی در فرآیند فتوسنتز است. در تحقیقاتی بر روی گیاه ذرت شیرین و نعنای گربه ای (*Nepeta cataria* L.)، افزایش میزان کاروتنوئید برگ در تیمار با باکتری های حل کننده فسفات (سودوموناس)، مشاهده شد (ملکی نارگ موسی، ۱۳۹۲؛ بویری ده شیخ و همکاران، ۱۳۹۶).

۴-۲-۵ آنتوسیانین

نتایج حاصل از تجزیه مرکب داده ها در جدول ۴-۴ نشان داد اثر متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیر زیستی تاثیر معنی داری بر میزان آنتوسیانین برگ در سطح احتمال ۱ درصد داشت. در این بین اثر سال و اثر متقابل سال در تیمار تنش کم آبی و تیمار کودهای زیستی و غیرزیستی معنی دار نبود. در شکل ۴-۸ مشاهده می شود همراه با بالا رفتن سطح تنش کم آبی از W_1 به W_3 بر میزان آنتوسیانین برگ ها افزوده شد. در این بین استفاده از کودهای زیستی و غیرزیستی تاثیر متفاوتی را در سطح تنش ها از خود نشان دادند به طوریکه بیش ترین میزان آنتوسیانین در تنش کم آبی W_3 (۱۷ روز یک بار) و عامل کودی شاهد با میانگین ۰/۱۶۲ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ به دست آمد که با کودهای آزوسپیریلوم و NPK در تنش کم آبی W_3 (۱۷ روز یک بار) و کودهای میکوریزا، سودوموناس و NPK در تنش کم آبی W_2 (۱۲ روز یک بار) و کود میکوریزا در تنش کم آبی W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) تفاوت معنی دار نداشته است. کم ترین میزان آنتوسیانین در تنش کم آبی W_3 (۱۷ روز یک بار) و کود سودوموناس با میانگین

۰/۰۶۷ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ بود که با کود میکوریزا در تنش کم آبی W_3 (۱۷ روز یک بار) و با عامل کودی شاهد و کود آزوسپیریلوم در تنش کم آبی W_2 (۱۲ روز یک بار) و با عامل کودی شاهد و کود میکوریزا در تنش کم آبی W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) در یک گروه آماری قرار گرفته اند. (شکل ۴-۸).



شکل ۴-۸ مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان آنتوسیانین در گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله

تنش کم آبی باعث تجمع رنگدانه آنتوسیانین در برگ ها می شود. آنتوسیانین ها مشابه فلاونوئیدها رنگیزه های محافظ بوده که گیاه را در برابر تنش محافظت می کنند. از نقش های اصلی آنتوسیانین ها می توان به نقش آنتی اکسیدانی و محافظت سیستم فتوسنتزی در برابر فتواکسیدان اشاره نمود که در گیاهان در معرض تنش نقش حفاظتی ایفا می کنند (هه و همکاران، ۲۰۱۰). در پژوهشی بیان شد که مقدار آنتوسیانین بگونیای دائم گل در شرایط تنش کم آبی افزایش یافت (چالکر-اسکات، ۲۰۰۲). این افزایش به علت نقش حفاظت نوری آنتوسیانین به وسیله حذف مستقیم رادیکال های آزاد اکسیژن در

طول تنش اکسیداتیو است (ظیر و همکاران، ۲۰۰۳). در بررسی اثر کودهای زیستی و شیمیایی بر میزان آنتوسیانین گیاه چای ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.)، نتایج نشان داد که بیشترین میزان آنتوسیانین برگ در تیمار کودهای زیستی حل کننده فسفات و NPK به دست آمد (محمدپوروشوایی، ۱۳۹۳). باکتری های حل کننده فسفات و تثبیت کننده نیتروژن موجود در کود زیستی از طریق جذب کارآمد فسفر و نیتروژن موجب افزایش محتوای آنتوسیانین برگ چای ترش شده اند (حسن، ۲۰۰۹).

۴-۲-۶ فلاونوئید

نتایج حاصل از تجزیه مرکب داده ها در جدول ۴-۴ نشان داد اثر متقابل سه جانبه سال در تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی تاثیر معنی داری بر میزان فلاونوئید برگ در سطح احتمال ۵ درصد داشت. در جدول ۴-۷ مشاهده می شود، بیشترین میزان فلاونوئید برگ در تنش کم آبی W_3 (۱۷ روز یک بار) و کود سودوموناس در سال دوم آزمایش با میانگین $2/68$ میلی گرم در گرم وزن تر برگ مشاهده شد. کمترین میزان فلاونوئید در سال اول آزمایش در تنش کم آبی W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) و عامل کودی شاهد به میزان $1/25$ میلی گرم در گرم وزن تر برگ به دست آمد که با کود میکوریزا در یک گروه آماری قرار گرفته است و نیز با عامل کودی شاهد در تنش کم آبی W_2 (۱۲ روز یک بار) تفاوت معنی داری نداشته است.

جدول ۴-۷ مقایسه میانگین اثرات متقابل سال در تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان

فلاونوئید گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله

سال	تنش کم آبی	عامل کودی			
		شاهد	میکوریزا	آزوسپیریلوم	سودوموناس کودشیمیایی NPK
اول	W ₁ (شاهد، ۷ روز یک بار)	۱/۲۵k	۱/۳۲jk	۱/۶۲fg	۱/۴۲hij
	W ₂ ۱۲ روز یک بار	۱/۳۴ijk	۱/۴۲hij	۱/۷۵ef	۱/۵۴gh
	W ₃ ۱۷ روز یک بار	۱/۴۲hij	۱/۵۲gh	۱/۸۲de	۱/۶۲fg
دوم	W ₁ (شاهد، ۷ روز یک بار)	۱/۴۵hi	۱/۷۲ef	۲/۰۲c	۱/۸۲de
	W ₂ ۱۲ روز یک بار	۱/۷۴ef	۱/۸۲de	۲/۱۵b	۱/۹۴cd
	W ₃ ۱۷ روز یک بار	۱/۸۲de	۱/۹۲cd	۲/۲۲b	۲/۰۲c

میانگین هایی که در هر ستون با حروف مشابه مشخص شده اند در سطح ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند.

محققان گزارش کردند فلاونوئیدها به عنوان مواد آنتی اکسیدان در تنش کم آبی وارد عمل شده و میزان آن زیاد می شود (سیوم و همکاران، ۲۰۰۶). فلاونوئیدها به عنوان مواد آنتی اکسیدان در تنش کم آبی، گیاهان را تا حدی از خسارت تنش اکسیداتیو حفظ می کنند زیرا قادرند تولید رادیکال های آزاد اکسیژن را مهار نمایند (سیوم و همکاران، ۲۰۰۶). این نتایج بیانگر آن است که فلاونوئیدها توانایی پاک سازی گونه های فعال اکسیژن را دارند. خواص آنتی اکسیدانی فلاونوئیدها به اثر بازدارندگی آن ها در تنفس میتوکندریایی برمی گردد (سنگتراش و همکاران، ۲۰۰۹). گزارش شده که در گیاه کلزا در شرایط بروز تنش کم آبی، میزان فلاونوئید افزایش یافت (سنگتراش و همکاران، ۲۰۰۹). همچنین در تحقیقی بر روی گیاه گلرنگ گزارش شد که با کاربرد کود زیستی حل کننده فسفات (سودوموناس)، فلاونوئید به میزان چشمگیری افزایش یافت. بدین ترتیب بیان شد که استفاده از کود زیستی سودوموناس تحت شرایط

تنش در مراحل رشد ریشی و زایشی گلرنگ، می تواند سبب افزایش فلاونوئیدها گردد (حشمتی و همکاران، ۱۳۹۵).

۴-۲-۷ روابط همبستگی بین صفات فیزیولوژیکی

در بخش صفات زراعی، همبستگی بین صفات در هر سال بصورت جداگانه بیان شد. در این بخش نیز همبستگی بین صفات فیزیولوژیکی با دیگر صفات بررسی و ارایه می شود. مشخص شد همبستگی معنی دار و مثبتی بین کلروفیل با عملکرد بیولوژیکی وجود دارد علاوه بر این در هر دو سال آزمایش بین کلروفیل با درصد نیتروژن و پروتئین برگ ها ($r=0/42^{**}$) همبستگی معنی دار و مثبت مشاهده شد (پیوست ۱ و ۲).

کارتونوئید دیگر رنگیزه اندازه گیری در این آزمایش در سال اول و دوم بترتیب با درصد اسانس ($r=0/24^{**}$) و ($r=0/33^{**}$)، با فنل ($r=0/70^{**}$) و ($r=0/69^{**}$)، با قندهای محلول برگ ($r=0/39^{**}$) و ($r=0/40^{**}$)، با پرولین ($r=0/14^{**}$) و ($r=0/42^{**}$)، با آنزیم پراکسیداز ($r=0/29^{*}$) و ($r=0/34^{*}$)، با آنزیم آسکوربات پراکسیداز ($r=0/54^{**}$) و ($r=0/57^{**}$) همبستگی معنی دار و مثبتی داشت (پیوست ۱ و ۲). در جهت تخفیف خسارت اکسیداتیو ناشی از تولید ROSها، گیاهان از یکسری ترکیبات آنزیمی و غیرآنزیمی به عنوان سیستم آنتی اکسیدانی استفاده می نمایند. در بین ترکیبات غیرآنزیمی، ترکیبات آب دوست همانند آسکوربات، و ترکیبات چربی دوست، همانند کارتونوئیدها قابلیت از بین بردن ROSها را دارند (حیدری و همکاران، ۱۳۹۲).

رنگدانه های فتوسنتزی آنتوسیانین و فلاونوئیدها که نقش محافظتی در گیاهان دارند در طی دو سال بررسی در این آزمایش همبستگی معنی دار و مثبتی با فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان داشتند به طوریکه آنتوسیانین در سال دوم با آنزیم کاتالاز ($r=0/31^{*}$) همبستگی معنی داری داشت (پیوست ۲). همچنین فلاونوئید در سال اول با آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ($r=0/52^{**}$) و در سال دوم با آنزیم های

پراکسیداز ($F=0/34^*$) و سوپراکسید دیسموتاز ($F=0/48^{**}$) همبستگی مثبت و معنی داری داشت (پیوست ۱ و ۲).

۳-۴ صفات بیوشیمیایی

۳-۴-۱ درصد و عملکرد اسانس

نتایج حاصل از تجزیه مرکب داده ها نشان اثر سال و نیز اثر ساده تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی در سطح احتمال ۱ درصد بر درصد اسانس معنی دار بود. اما اثر متقابل دو تیمار تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی و نیز اثر متقابل سال در دو عامل مذکور معنی دار نبودند (جدول ۴-۸). همچنین نتایج تجزیه مرکب داده ها نشان داد که اثر سال و نیز اثر متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی تاثیر معنی داری بر میزان عملکرد اسانس در سطح احتمال ۱ درصد داشت (جدول ۴-۸). مقایسه میانگین های اثر سال در جدول ۴-۹ نشان داد درصد و عملکرد اسانس تولیدی در گیاه آویشن زراعی در سال دوم آزمایش نسبت به سال اول، بیش تر بود. مقایسه میانگین ها نشان داد که درصد و عملکرد اسانس در سال دوم بترتیب ۰/۳۳ درصد و ۶/۹۱ گرم در بوته و در سال اول ۰/۲۹ درصد و ۵/۱۸ گرم در بوته بود.

جدول ۴-۸ تجزیه واریانس مرکب تاثیر تنش کم آبی و کود های زیستی و غیر زیستی بر صفات بیوشیمیایی
آویشن زراعی در دو سال آزمایش

متبع تغییرات	درجه آزادی	درصد اساتس	عملکرد اساتس	میانگین مربعات	فصل کل	قندهای محلول	پروتئین	پرولین
سال	۱	۰/۰۳۷**	۶۷/۶۹**	۳۱۶۸/۴۰**	۲۵۶۴۲۶/۸۴**	۲۷/۶۶**	۰/۰۰۹۸ ^{ns}	
بلوک(سال)	۴	۰/۰۰۶۴	۱/۱۵	۷۲/۴۸	۲۶۲۱/۴۷	۰/۰۶۴	۰/۰۶۶	
تنش کم آبی	۲	۰/۱۰**	۲۰/۳۵**	۶۴۲۰/۹۷**	۴۶۴۵۸۴۲/۲۵**	۱۳/۵۶**	۰/۷۶**	
سال×تنش کم آبی	۲	۰/۰۰۰۲۱ ^{ns}	۰/۱۰ ^{ns}	۳۶/۴۰ ^{ns}	۲۴۲۸/۸۴ ^{ns}	۰/۲۶*	۰/۰۰۰۲۱ ^{ns}	
خطای اصلی	۸	۰/۰۰۰۱۴	۰/۷۰	۲۲/۳۲	۲۶۹۹/۲۸	۰/۰۴۶	۰/۰۱۱	
کود	۴	۰/۰۰۹۳**	۷/۶۱**	۷۸۹/۵۱**	۵۹۱۳۱۰۱/۷۴**	۲۶/۱۹**	۵/۶۵**	
تنش کم آبی × کود	۸	۰/۰۰۰۱۵ ^{ns}	۷/۸۱**	۲۴۳/۳۱**	۵۹۴۴۴۱۴/۸۳**	۲/۶۵**	۰/۰۶۳*	
سال×کود	۴	۰/۰۰۰۱۱ ^{ns}	۰/۲۵ ^{ns}	۲۴/۱۷ ^{ns}	۴۷۸/۵۱ ^{ns}	۰/۲۱**	۰/۰۰۰۱۱ ^{ns}	
سال×کود×تنش کم آبی	۸	۰/۰۰۰۰۶۷ ^{ns}	۰/۳۷ ^{ns}	۱۵/۱۷ ^{ns}	۳۷۰۳/۰۱۱ ^{ns}	۰/۱۵*	۰/۰۰۰۰۶۷ ^{ns}	
خطا	۴۸	۰/۰۰۰۱۶	۰/۳۶	۶۷/۵۴	۵۹۵۴/۸۸	۰/۰۵۳	۰/۰۲۸	
ضریب تغییرات (درصد)		۴/۰۶۷	۸/۴۳	۴/۵۱	۲/۰۸	۴/۲۳	۱۵/۸۷	

ns، *، ** به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی دار، اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

جدول ۴-۹ مقایسه میانگین اثر ساده سال بر صفات بیوشیمیایی آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دوساله

فاکتور	صفات			
	اسانس	عملکرد اسانس	फल کل	فندهای محلول
سال	(درصد)	(گرم در بوته)	(میلی گرم/گرم وزن تربرگ)	(میکروگرم/گرم وزن خشک برگ)
اول	۰/۲۹b	۵/۱۸b	۱۷۶/۱۷b	۳۶۴۸/۴۹b
دوم	۰/۳۳a	۶/۹۱a	۱۸۸/۰۴a	۳۷۵۵/۲۵a

میانگین هایی که در هر ستون با حروف مشابه مشخص شده اند در سطح ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند.

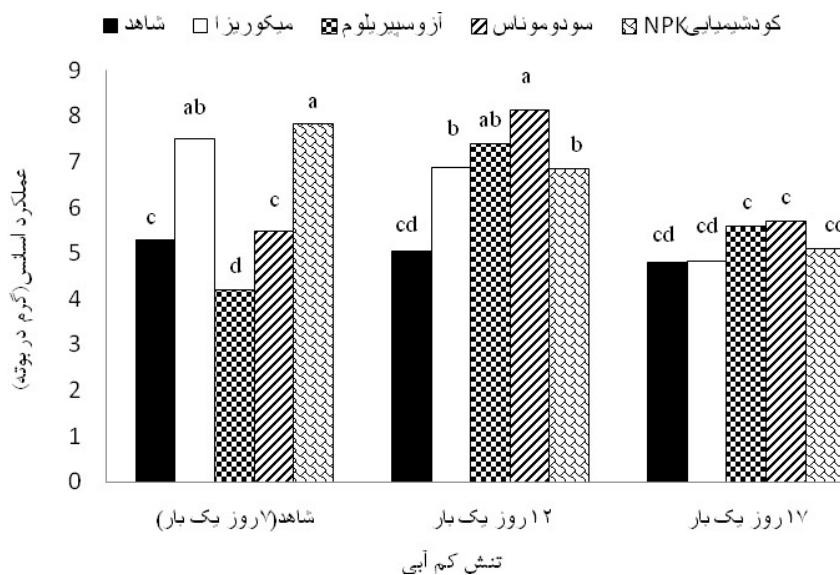
مقایسه میانگین داده های حاصل از تیمار تنش کم آبی نشان داد که با بالا رفتن سطح تنش از W_1 به W_3 بر درصد اسانس گل گیاه آویشن زراعی افزوده شد به طوریکه بیش ترین درصد اسانس با میانگین ۰/۳۵ درصد در تنش کم آبی W_3 (۱۷ روز یک بار) و کم ترین آن با میانگین ۰/۲۴ درصد در تنش کم آبی W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) مشاهده شد. این بدان معناست که با افزایش تنش کم آبی، درصد اسانس گیاه به میزان ۳۱ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت. همچنین در بین عامل کودی استفاده از میکوریزا بیش ترین درصد اسانس (۰/۳۴ درصد) داشت. بعد از آن کودهای آزوسپیریلوم و سودوموناس در مرتبه دوم و سوم قرار داشتند. عامل کودی شاهد کم ترین درصد اسانس (۰/۲۹ درصد) را دارا بود (جدول ۴-۱۰). همچنین مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی نشان داد که بیش ترین میزان عملکرد اسانس با میانگین ۸/۱۴ گرم در بوته در تنش کم آبی W_2 (۱۲ روز یک بار) و کود سودوموناس به دست آمد که با کود آزوسپیریلوم تفاوت معنی داری نداشته است و نیز با تنش کم آبی W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) و کودهای NPK و میکوریزا در یک گروه آماری قرار گرفته است. کم ترین میزان عملکرد اسانس با میانگین ۴/۲۲ گرم در بوته در تنش کم آبی W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) و کود

آزوسپیریلوم مشاهده شد که با عامل کودی شاهد در تنش کم آبی W_2 (۱۲ روز یک بار) و نیز با کودهای شاهد، میکوریزا و NPK در تنش کم آبی W_3 (۱۷ روز یک بار) تفاوت معنی داری نداشته است (شکل ۴-۹).

جدول ۴-۱۰ مقایسه میانگین اثرات ساده تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر درصد اسانس گیاه
آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله

صفات	
فاکتور	اسانس (درصد)
تنش کم آبی	
W_1 (شاهد ۷، روزیک بار)	۰/۲۴c
W_2 (۱۲ روز یکبار)	۰/۳۴b
W_3 (۱۷ روز یک بار)	۰/۳۵a
کود	
شاهد	۰/۲۹e
میکوریزا (گلموس)	۰/۳۴a
آزوسپیریلوم (<i>Azospirillum brasilense</i>)	۰/۳۲b
سودوموناس (<i>Pseudomonas fluorescens</i>)	۰/۳۱c
کودشیمیایی NPK	۰/۳۰d

میانگین هایی که در هر ستون با حروف مشابه مشخص شده اند در سطح ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند.



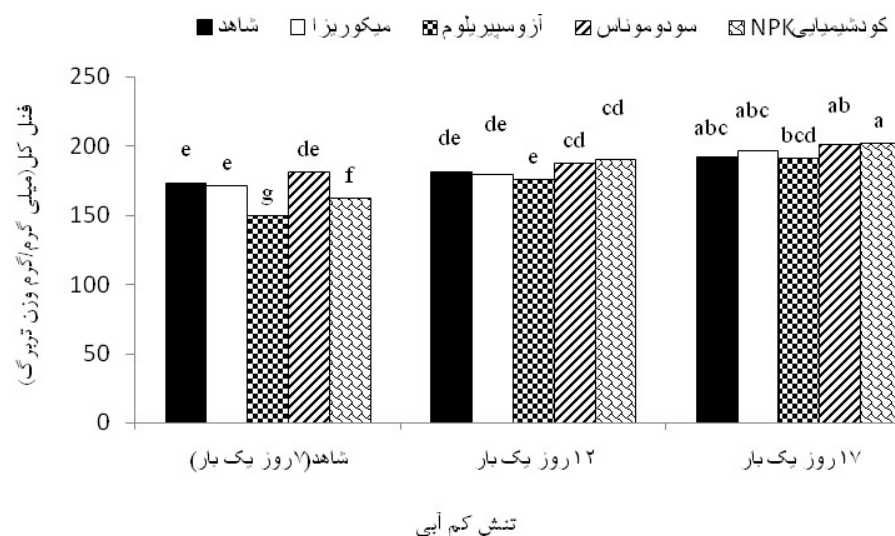
شکل ۴-۹ مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان عملکرد اسانس در گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله

تصور بر این است که در شرایط تنش کم آبی تولید مواد مؤثره به دلیل جلوگیری از اکسیداسیون درون سلولی افزایش می یابد. در ریحان گزارش شد با کاهش رطوبت خاک، درصد اسانس افزایش یافت (محمدپوروشوایی و همکاران، ۱۳۹۴). در تحقیق عسکری و همکاران (۱۳۹۶) بر روی آویشن دناپی و زراعی، گزارش شد که در بین دو سال زراعی، در سال دوم زراعی میزان اسانس بالاتری مشاهده شده است. محققان پس از بررسی اثر میکوریزا بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی نعنای گزارش کردند کلونیزاسیون ریشه تحت تأثیر تلقیح با این قارچ بهبود یافت و در نتیجه خصوصیات رشدی، عملکرد ماده خشک و محتوی اسانس گیاه نسبت به شاهد افزایش یافت (گوپتا و همکاران، ۲۰۰۲).

۴-۳-۲ فنل کل برگ

نتایج تجزیه مرکب داده ها نشان داد که اثر سال و نیز اثر متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی تأثیر معنی داری بر میزان فنل کل در سطح احتمال ۱ درصد داشت (جدول ۴-۸).

در شکل ۴-۱۰ مشاهده می شود همراه با بالا رفتن سطح تنش از W_1 به W_3 بر میزان فنل کل برگ افزوده شد. در این بین استفاده از کودهای زیستی و غیرزیستی نیز بر مقدار آن در همراه با بالا رفتن سطح تنش افزودند به طوریکه بیش ترین میزان فنل کل برگ با میانگین $201/93$ میلی گرم بر گرم وزن تر در تنش کم آبی W_3 (۱۷ روز یک بار) و کود NPK که با سایر عوامل کودی در تنش کم آبی W_3 (۱۷ روز یک بار) اختلاف معنی داری نداشته است. کم ترین میزان فنل کل برگ با میانگین $148/93$ میلی گرم بر گرم وزن تر در تنش کم آبی W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) و کود آزوسپیریلوم به دست آمد. کود سودوموناس در شرایط تنش بعد از کود NPK در مرتبه دوم قرار داشت.



شکل ۴-۱۰ مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان فنل کل در گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله

افزایش میزان ترکیب های فنلی بر اثر افزایش تنش کم آبی ارتباط مستقیم با ظرفیت آنتی اکسیدانی آن ها دارد (کیم و همکاران، ۱۹۹۷).

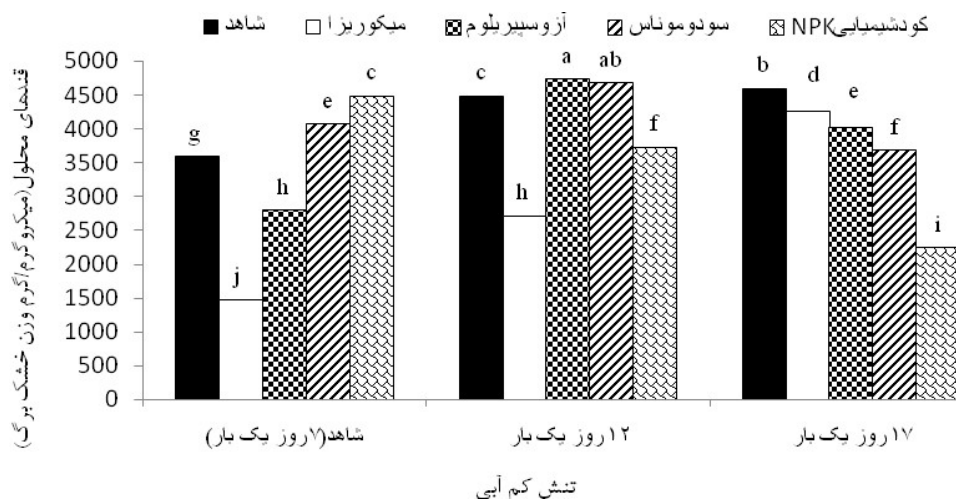
جدول ضرایب همبستگی ساده صفات، همبستگی فنل کل برگ با آنزیم کاتالاز را در سال اول و دوم زراعی بترتیب ($r=0.34^*$) و ($r=0.31^*$) نشان داد (پیوست ۱ و ۲). همچنین فنل کل با کاروتنوئید ($r=0.70^{**}$) و ($r=0.69^{**}$) بترتیب در سال اول و دوم آزمایش، همبستگی مثبت و معنی داری را نشان داد (پیوست ۱ و ۲).

تحقیقاتی که روی سیب زمینی انجام شد، نشان داد که با بیان بیش تر ژن تولید کننده فنل در گیاه در شرایط تنش کم آبی، میزان این ترکیب افزایش یافت (آندره و همکاران، ۲۰۰۹). در تحقیقی روی گیاه آرابیدوپسیس نشان داده شد که میزان فنل برگ در تنش کم آبی افزایش یافت (جانگ، ۲۰۰۴). افزایش میزان فنل در کود NPK ممکن است به دلیل فراهمی بیشتر نیتروژن و فسفر در این سیستم تغذیه ای باشد. در تحقیقی، افزایش در میزان نیتروژن و فسفر سبب افزایش ترکیبات فنلی در گیاه *Athrixia phylicoides* L. شد (فتوانی و همکاران، ۲۰۰۷). همچنین، افزایش میزان نیتروژن، سبب افزایش عملکرد و ترکیبات فنلی در مقایسه با سطح صفر نیتروژن شد (روستر و همکاران، ۱۹۸۵).

۳-۳-۴ میزان قندهای محلول برگ

نتایج تجزیه مرکب داده ها در جدول ۴-۸ نشان داد اثر سال و نیز اثر متقابل تیمار تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان قندهای محلول برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شد. اما تأثیر متقابل سال بر هیچ کدام از تیمارهای مذکور معنی دار نبود. افزایش معنی دار میزان قندهای محلول برگ در سال دوم نسبت به سال اول، در جدول مقایسه میانگین اثر ساده سال مشاهده شد (جدول ۴-۹). در شکل ۴-۱۱ مشاهده می شود هر چند با بالا رفتن سطح تنش از w_1 به w_3 بر میزان قندهای محلول برگ افزوده شد اما بیش تر این افزایش تا سطح w_2 بود و بعد از آن تا حدی از مقدار آن کاسته شد. به طوریکه که بیش ترین میزان قندهای محلول برگ با میانگین $4734/55$ میکرو گرم بر گرم وزن خشک برگ مربوط به تنش کم آبی w_2 (۱۲ روز یک بار) و تیمار کودی آروسپیریلوم و کمترین آن با

میانگین ۱۴۸۳/۵۵ میکروگرم برگرم وزن خشک برگ مربوط به تنش کم آبی W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) و کود میکوریزا می باشد. در سطح تنش W_2 دو کود آزو سپیریلیوم و سودوموناس تاثیر مشابه ای بر میزان قندهای محلول برگ در این سطح تنش داشتند اما بالاترین مقدار به دست آمده مربوط به آزو سپیریلیوم بود.



شکل ۴-۱۱ مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیر زیستی بر میزان قندهای محلول در گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله

افزایش قندهای محلول در پاسخ به تنش خشکی می تواند با افزایش فعالیت آنزیم آمیلاز و هیدرولیز نشاسته به قندهای ساده و کند شدن انتقال قند ها از برگ به سایر مراکز رشد گیاه مرتبط باشد (ژنگ و همکاران، ۲۰۱۰). در هر صورت افزایش قند های محلول با مقاومت به خشکی در گیاهان مرتبط است زیرا از یک سو با کاهش پتانسیل اسمزی سلول به تداوم جذب آب و حفظ تورژسانس کمک می کند و از سویی دیگر با تشکیل پیوند هیدروژنی با دنباله های قطبی و پلی پتیدها و گروه های فسفات لیپید از پروتئین ها و غشا های سلولی حفاظت می کنند (کرو و همکاران، ۱۹۹۲).

جدول ضرایب همبستگی ساده صفات، همبستگی قندهای محلول را با آنزیم آسکوربات پراکسیداز ($r=0.32^*$) در سال اول و دوم زراعی نشان داد (پیوست ۱ و ۲). همچنین همبستگی مثبت و معنی داری بین قندهای محلول و کاروتنوئید ($r=0.39^{**}$) در سال اول و ($r=0.40^{**}$) در سال دوم مشاهده شد (پیوست ۱ و ۲).

نتایج بررسی اثر ریزجانداران حل کننده فسفات و کود شیمیایی سوپرفسفات در گیاه جو نشان داد در نتیجه کاربرد کودزیستی فسفر میزان قندهای محلول با کاربرد کود شیمیایی فسفر افزایش یافت (خاتمی و همکاران، ۱۳۹۷).

۴-۳-۴ میزان پروتئین کل برگ

همانطور که در جدول ۴-۸ مشاهده می شود اثر متقابل سه گانه سال در تیمار تنش کم آبی و تیمار کودهای زیستی و غیرزیستی در سطح احتمال ۵ درصد تاثیر معنی داری بر میزان پروتئین کل برگ ها داشت.

مقایسه میانگین اثرات متقابل سال در تیمارهای تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی نشان داد در هر دو سال آزمایش همراه با بالا رفتن سطح تنش از W_1 به W_3 ، از پروتئین کل برگ ها کاسته شد، به طوریکه بیش ترین میزان پروتئین کل برگ بترتیب به مقدار ۷/۵۲ و ۹/۶۲ میلی گرم برگ گرم وزن تر برگ به ترتیب در سال اول و دوم از تنش کم آبی W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) و کود سودوموناس و کم ترین آن در سال اول و دوم به میزان ۲/۶۶ و ۲/۸۹ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ در تنش کم آبی W_3 (۱۷ روز یک بار) و عامل کودی شاهد به دست آمد (جدول ۴-۱۱).

جدول ۴-۱۱ مقایسه میانگین اثرات متقابل سال در تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان

پروتئین کل گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله

سال	تنش کم آبی	عامل کودی			
		شاهد	میکوریزا	آزوسپیریلوم	سودوموناس کودشیمیایی NPK
اول	W ₁ (شاهد، ۷ روز یک بار)	۵/۳۴fgh	۴/۷۳ij	۴/۹۴hi	۴/۶۶ij
	W ₂ (۱۲ روز یک بار)	۴/۹۴hi	۴/۴۴jk	۴/۴۴jk	۴/۵۶ij
	W ₃ (۱۷ روز یک بار)	۲/۶۶m	۳/۷۱l	۴/۱۳k	۴/۴۵jk
دوم	W ₁ (شاهد، ۷ روز یک بار)	۶/۴۴c	۵/۸۳de	۶/۰۴d	۵/۷۶def
	W ₂ (۱۲ روز یک بار)	۶/۰۴d	۵/۵۴efg	۵/۵۴efg	۵/۶۶defg
	W ₃ (۱۷ روز یک بار)	۲/۸۹m	۴/۸۱ij	۵/۲۳gh	۵/۵۳efg

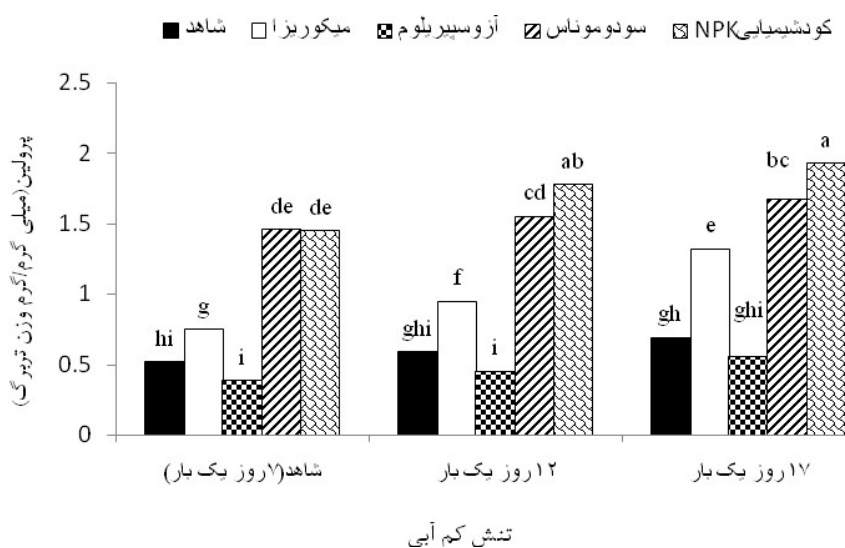
میانگین هایی که در هر ستون با حروف مشابه مشخص شده اند در سطح ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند.

محققان عامل کاهش میزان پروتئین های محلول در گیاه ذرت تیمار شده با خشکی را افت شدید فرآیند فتوسنتز و متعاقب آن کاهش پیش ماده های تولید کننده پروتئین و در نهایت کاهش سنتز پروتئین ها بیان نمودند (خاتمی و همکاران، ۱۳۹۷). برخی محققان رکود سنتز پروتئین ها را به کاهش تعداد پلی زوم های اتصال به غشاء نسبت داده اند. احتمالاً کاهش mRNA، تخریب و یا غیر فعال شدن ریبوزوم ها و کاهش سطح غشای سلولی سبب کاهش تعداد پلیزوم ها می شود (دیندسا و کلنلند، ۱۹۷۵). محققان دیگری گزارش کردند که تنش کم آبی، بیان ژن های کد کننده پروتئاز های درون سلولی را القا کرده و سبب تجزیه پروتئین ها و تحرک مجدد نیتروژن و متعاقب آن سنتز مواد محلول سازگار می گردد (فلر، ۲۰۰۴). از این رو به نظر می رسد که کاهش محتوای پروتئین تحت تنش خشکی با کاهش سنتز و افزایش فعالیت آنزیم های تجزیه کننده پروتئین مرتبط باشد که این موضوع با یافته های ما

مطابقت دارد. به دلیل افزایش سطح جذب مواد غذایی در تیمارهایی که کود زیستی سودوموناس در آن ها استفاده شده بود، میزان پروتئین افزایش یافت که با نتایج اردکانی و همکاران (۱۳۸۵) در گیاه سویا هماهنگی دارد.

۴-۳-۵ میزان پرولین برگ

نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد اثر متقابل تنش کم آبی و تیمار کودهای زیستی و غیرزیستی تأثیر معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد بر میزان پرولین برگ ها داشت. در این بین اثر سال و نیز اثر متقابل سال در تنش کم آبی و نیز کودهای زیستی و غیرزیستی معنی دار نبودند (جدول ۴-۸). مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی نشان داد که با افزایش سطح تنش از W_1 به W_3 ، میزان پرولین ۸۰ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت به طوریکه بیش ترین میزان پرولین با میانگین ۱/۹۳ میلی گرم برگرم وزن تر برگ در تنش کم آبی W_3 (۱۷ روزیک بار) و کود NPK به دست آمد که با سطح تنش کم آبی W_2 (۱۲ روزیک بار) اختلاف معنی داری نداشت. کم ترین میزان پرولین با میانگین ۰/۳۸ میلی گرم برگرم وزن تر برگ در تنش کم آبی W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) و کود آزوسپیریلوم مشاهده شد که با تنش های کم آبی W_2 (۱۲ روزیک بار) و W_3 (۱۷ روزیک بار) و همچنین عامل کودی شاهد در تنش کم آبی W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) در یک گروه آماری قرار گرفته اند. (شکل ۴-۱۲). در تمامی سطوح تنش استفاده از کود شیمیایی NPK و نیز سودوموناس از تاثیر بیش تری نسبت به سایر کودها برخوردار بودند (شکل ۴-۱۲).



شکل ۴-۱۲ مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان پرولین در گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله

در بررسی واکنش گیاه دارویی آویشن به تنش کم آبی مشاهده شده است که اسید آمینه پرولین تحت تأثیر تنش کم آبی افزایش می یابد (بابایی و همکاران، ۱۳۸۹). در واقع تجمع پرولین در اثر تنش کم آبی یک واکنش عمومی است که به علت ساخت پرولین در بافت ها (اسچانفل و همکاران، ۱۹۸۸)، ممانعت از فعالیت اکسیداتیو پرولین و جلوگیری از شرکت پرولین در ساخت پروتئین ها می باشد (پدرول و همکاران، ۲۰۰۰).

جدول ضرایب همبستگی ساده صفات، بترتیب در سال اول و دوم همبستگی مثبت و معنی دار پرولین با پروتئین ($r=0/34^*$) و ($r=0/33^*$) نشان داد (پیوست ۱ و ۲).

مصرف کود های بیولوژیک در شرایط تنش های محیطی همانند کم آبی نه تنها سبب افزایش مقاومت گیاهان به تنش می شود، بلکه موجب افزایش ظرفیت نگهداری آب و ساختمان گرانول های خاک، افزایش فعالیت های میکروبی و آنزیمی و آزاد سازی عناصر غذایی موجود در کلئید های خاک و جبران

میکروارگانسیم های از دست رفته خاک می گردد (گیلیک و همکاران، ۲۰۰۱). باکتری های همزیست از طریق اجتناب از خشکی، گیاهان را در مقابل تنش حفظ می کنند و این کار را با افزایش جذب عناصر فسفر و سایر عناصر ضروری برای رشد و نمو گیاه انجام می دهند (گیلیک و همکاران، ۲۰۰۱). معمولاً گیاهان تلقیح شده با استفاده از روابط آبی و تغذیه بهتر نسبت به گیاهان بدون تلقیح، قادرند از شرایط تنش کم آبی به طور موقت فرار کنند و کم تر دچار آسیب شوند و در نتیجه میزان پرولین و قند های محلول نسبت به گیاهان بدون تلقیح افزایش کم تری نشان می دهد (رویژ، ۲۰۰۳). نتایج بررسی تأثیر تنش خشکی و کود های زیستی و شیمیایی روی گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla* L.) بیانگر آن است که بیش ترین غلظت پرولین در تنش رطوبتی شدید و کود شیمیایی (نیتروژن + فسفر) و مخلوط کودهای زیستی آزوتوبارور ۱ و بارور ۲ و کم ترین آن در تیمار عدم کاربرد کود در شرایط بدون تنش مشاهده شد (خاتمی و همکاران، ۱۳۹۷).

۴-۳-۶ روابط همبستگی بین صفات بیوشیمیایی

ارتباط همبستگی اسانس با رنگدانه ها در مباحث صفات فیزیولوژی ذکر گردید. همچنین اسانس با فنل ($r=0/64^*$)، آنزیم کاتالاز ($r=0/32^*$) و با آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ($r=0/41^{**}$) در سال اول همبستگی معنی دار و مثبتی داشت (پیوست ۱). در سال دوم همبستگی اسانس با فنل $r=0/56^{**}$ بود (پیوست ۲). در جدول همبستگی همچنین مشاهده می شود فنل همبستگی معنی دار و مثبتی با میزان پرولین برگ در سال اول ($r=0/48^{**}$) و در سال دوم ($r=0/50^{**}$) دارد (پیوست ۱ و ۲). در هر دو سال همبستگی قندهای محلول با آنزیم آسکوربات پراکسیداز ($r=0/32^*$) مشاهده شد (پیوست ۱ و ۲). همبستگی معنی دار برخی صفات زراعی و فیزیولوژیک با پروتئین در هر قسمت ذکر گردید، علاوه بر این، پروتئین با پرولین در سال اول ($r=0/34^*$) و در سال دوم ($r=0/33^*$) و با آنزیم

سوپراکسید دیسموتاز در سال اول ($I=0/30^*$) و در سال دوم ($I=0/33^*$) همبستگی معنی داری را نشان - داد (پیوست ۱ و ۲).

صفات بیوشیمیایی مورد مطالعه در این بخش با عناصر غذایی اندازه گیری شده در گیاه آویشن همبستگی داشتند به طوریکه فسفر ($I=0/60^{**}$) در سال اول و ($I=0/66^{**}$) در سال دوم با پروتئین برگ ها همبستگی داشت (پیوست ۱ و ۲). دلیل آن را می توان به کاربرد کود زیستی سودوموناس (حل کننده فسفات) نسبت داد. در این بین بین پرولین با فسفر ($I=0/33^*$) نیز همبستگی مشاهده شد (پیوست ۲). می توان چنین استنباط کرد که با توجه به افزایش مقدار پرولین در تنش کم آبی، گیاه تعدیل افزایش پرولین و اجتناب از کم آبی را با افزایش جذب فسفر انجام می دهد (گیلیک و همکاران، ۲۰۰۱).

۴-۴ عناصر معدنی

۴-۴-۱ عنصر نیتروژن

نتایج تجزیه مرکب داده ها در جدول ۴-۱۲ نشان داد که اثر سال و اثر متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی در سطح احتمال ۱ درصد تاثیر معنی داری بر میزان عنصر نیتروژن در برگ گیاه آویشن زراعی داشت. در این بین اثر متقابل سال بر هیچ کدام از تیمارهای مذکور معنی داری نشد. مقایسه میانگین اثر ساده سال نشان داد که درصد نیتروژن برگ در سال دوم نسبت به سال اول افزایش یافت (جدول ۴-۱۳).

جدول ۴-۱۲ تجزیه واریانس مرکب تاثیر تنش کم آبی و کود های زیستی و غیر زیستی بر میزان عناصر معدنی
آویشن زراعی در دو سال آزمایش

میانگین مربعات				
منبع تغییرات	درجه آزادی	نیتروژن	فسفر	پتاسیم
سال	۱	۲/۱۴**	۵/۸۷**	۹۸/۱۷**
بلوک (سال)	۴	۰/۰۶۶	۰/۰۹۲	۱/۰۴
تنش کم آبی	۲	۰/۶۳**	۰/۲۰ ^{ns}	۹/۶۴*
سال×تنش کم آبی	۲	۰/۰۱۹ ^{ns}	۰/۰۲۴ ^{ns}	۰/۵۷ ^{ns}
خطای اصلی	۸	۰/۰۱۲	۰/۰۰۵۲	۲۱/۵۴
کود	۴	۰/۳۶**	۱۱/۳۲**	۸۹/۶۰**
تنش کم آبی×کود	۸	۰/۲۹**	۰/۳۷**	۸/۵۳**
سال×کود	۴	۰/۰۱۶ ^{ns}	۰/۰۱۸ ^{ns}	۱/۱۷ ^{ns}
سال×کود×تنش کم آبی	۸	۰/۰۱۱ ^{ns}	۰/۰۱۲ ^{ns}	۰/۷۴ ^{ns}
خطای فرعی	۴۸	۰/۰۲۹	۰/۰۷۵	۲/۶۵
ضریب تغییرات (درصد)		۱۴/۰۲	۸/۹۴	۱۰/۵۶

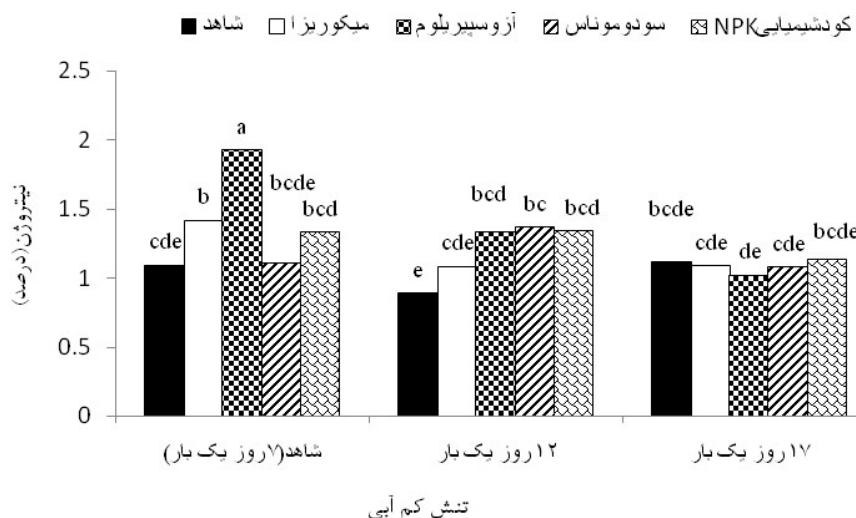
ns، *، ** به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی دار، اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

جدول ۴-۱۳ مقایسه میانگین اثر ساده سال بر میزان عناصر معدنی آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب

دوساله			
فاکتور	صفات		
سال	نیتروژن	فسفر	پتاسیم
	(درصد)	(گرم/گرم وزن خشک برگ)	(گرم/گرم وزن خشک برگ)
اول	۱/۰۷b	۲/۸۲b	۱۴/۳۷b
دوم	۱/۳۷a	۳/۳۳a	۱۶/۴۶a

میانگین هایی که در هر ستون با حروف مشابه مشخص شده اند در سطح ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند.

همانطور که در شکل ۴-۱۳ مشاهده می شود، با افزایش سطح تنش کم آبی از میزان عنصر نیتروژن در برگ ها به میزان ۵۴ درصد کاسته شد. به طوریکه بیش ترین میزان عنصر نیتروژن در تنش کم آبی W_1 (شاهد، ۷روز یک بار) و کود آزوسپیریلوم با میانگین ۱/۹۳ درصد به دست آمد. و کم ترین میزان در تنش کم آبی W_2 (۱۲روز یک بار) و عامل کودی شاهد با میانگین ۰/۸۹ درصد مشاهده شد. در شرایط تنش کم آبی مشاهده می شود بعد از کود آزوسپیریلوم، استفاده از کود شیمیایی NPK در مرتبه دوم تاثیر بر غلظت نیتروژن برگ داشت.

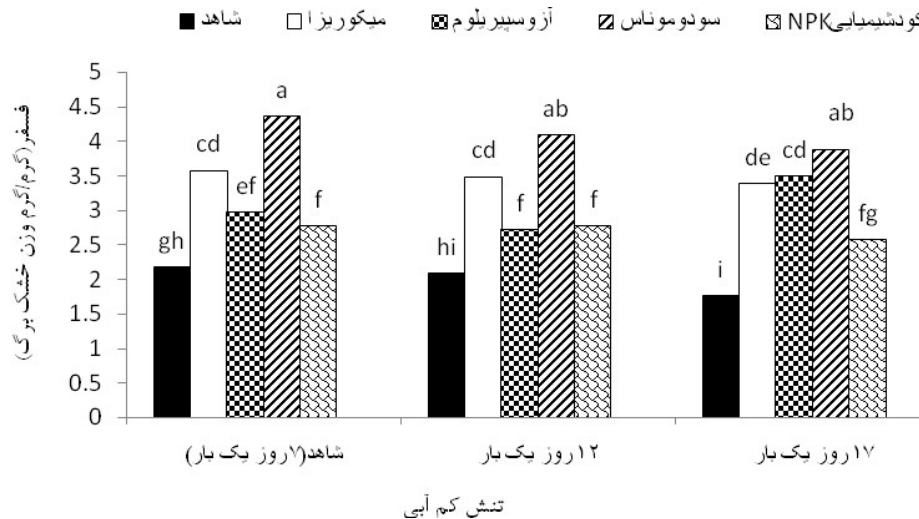


شکل ۴-۱۳ مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر درصد نیتروژن در برگ گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله

۴-۴-۲ عنصر فسفر

نتایج تجزیه مرکب داده ها در جدول ۴-۱۲ نشان داد اثر سال و اثر متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیر زیستی بر میزان عنصر فسفر برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شد. افزایش معنی دار میزان فسفر برگ در سال دوم نسبت به سال اول زراعی در جدول مقایسه میانگین اثر ساده سال مشهود بود (جدول ۴-۱۳). در شکل ۴-۱۴ مشاهده می شود با بالا رفتن سطح تنش کم آبی از W_1 به W_3 از غلظت فسفر در برگ های گیاه آویشن زراعی کاسته شد. به طوریکه بیش ترین میزان عنصر فسفر در تنش کم آبی W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) و کود سودوموناس با میانگین $4/36$ گرم برگ گرم وزن خشک برگ به دست آمد که با تنش های کم آبی W_2 (۱۲ روز یک بار) و W_3 (۱۷ روز یک بار) تفاوت معنی داری نداشت. کم ترین میزان عنصر فسفر در تنش کم آبی W_3 (۱۷ روز یک بار) و عامل کودی شاهد با میانگین $1/76$ گرم

برگرم وزن خشک برگ مشاهده شد که با تنش کم آبی W_2 (۱۲ روز یک بار) در یک گروه آماری قرار گرفته است.



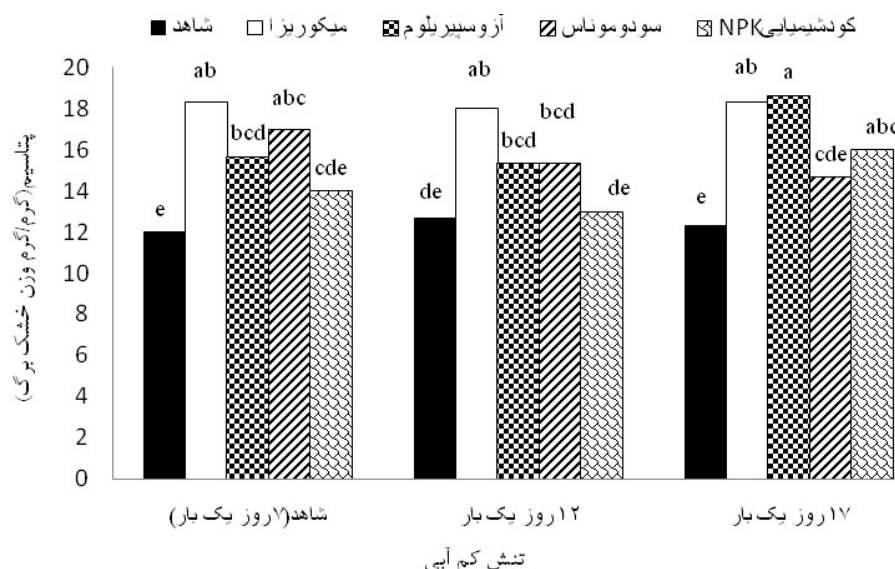
شکل ۴-۱۴ مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان عنصر فسفر در برگ گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله

۴-۴-۳ عنصر پتاسیم

نتایج تجزیه مرکب داده ها در جدول ۴-۱۲ نشان داد اثر سال و نیز اثر متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیر زیستی در سطح احتمال ۱ درصد تاثیر معنی داری بر عنصر پتاسیم در برگ گیاه آویشن زراعی داشت. در این بین اثر متقابل سال در تنش کم آبی و نیز کودهای زیستی و غیرزیستی معنی دار نبود. جدول مقایسه میانگین اثر ساده سال نشان داد که میزان عنصر پتاسیم برگ در سال دوم زراعی نسبت به سال اول افزایش معنی داری داشت (جدول ۴-۱۳).

همانطور که در جدول ۴-۱۳ مشاهده می شود غلظت سه عنصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم در سال دوم آزمایش نسبت به سال اول در برگهای گیاه آویشن زراعی بیشتر بود. مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش

کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی در شکل ۴-۱۵ نشان می دهد عدم استفاده از کود در طی بالا رفتن سطح تنش تغییری در میزان عنصر پتاسیم به وجود نیاورد اما استفاده از کود منجر به بهبود وضعیت عنصر پتاسیم در سطوح مختلف تنش کم آبی شد به طوریکه بیش ترین میزان عنصر پتاسیم در تیمار تنش کم آبی W_3 (۱۷ روز یک بار) و کود آزو سپیریلوم با میانگین $18/66$ گرم برگ گرم وزن خشک برگ به دست آمد که با کود میکوریزا در تنش های کم آبی W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) ، W_2 (۱۲ روز یک بار) و W_3 (۱۷ روز یک بار) اختلاف معنی داری نداشته است. کم ترین میزان عنصر پتاسیم در تیمار تنش کم آبی W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) و عامل کودی شاهد با میانگین 12 گرم برگ گرم وزن خشک برگ افزایش معنی داری مشاهده شد که با تنش های کم آبی W_2 (۱۲ روز یک بار) و W_3 (۱۷ روز یک بار) و همچنین با کود شیمیایی NPK در تنش های کم آبی W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) و W_2 (۱۲ روز یک بار) در یک گروه آماری قرار گرفته است.



شکل ۴-۱۵ مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان عنصر پتاسیم در برگ گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله

آبیاری و شرایط عدم تنش کم آبی باعث افزایش انحلال مواد معدنی و افزایش جابجایی و حرکت عناصر معدنی به سمت ریشه ها و به دنبال آن افزایش قابلیت دسترسی عناصر برای گیاه و در نتیجه سبب افزایش جذب عناصر توسط گیاهان می شود. فسفر یکی از یون هایی است که در شرایط کم آبی برای گیاه غیر قابل استفاده می شود، زیرا این یون شدیداً جذب رس های خاک شده و فقط بخش کوچکی از یون فسفات به حالت محلول است. (مارشور، ۱۹۹۵). در شرایط تنش کم آبی جذب یون فسفات نه تنها بواسطه قابلیت حل کم آن، بلکه به دلیل کاهش قدرت جذب ریشه ها تقلیل پیدا می کند (کافی و مهدوی، ۱۳۹۱). نتایج پژوهشی روی بابونه آلمانی نشان داد بیش ترین میزان فسفر در برگ مربوط به آبیاری پس از ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه بود که با کاهش میزان آبیاری و تشدید سطح تنش رطوبتی از میزان فسفر برگ کاسته شد (پیرزاد و همکاران، ۱۳۹۴). عدم تحرک فسفر در اسیدیته بالا و تثبیت آن به ویژه در تنش های کمبود آب دلیل اصلی کاهش تجمع آن در بافت برگ می باشد (دوائو و همکاران، ۲۰۰۹). براساس نتایج یک تحقیق، با دسترسی بیش تر به آب، افزایش میزان جذب ازت و فسفر در گیاه مشاهده شد، هر چه مقدار رطوبت خاک افزایش یابد، نیتروژن بیشتری به وسیله گیاه جذب می شود و با کاهش رطوبت، میزان نیتروژن جذب شده کاهش می یابد (جونز، ۱۹۸۰). بررسی واکنش گیاه لوبیا به کم آبی نشان داد که در شرایط تنش توانایی جذب فسفر توسط ریشه های این گیاه ضعیف است. دلیل این موضوع کاهش قابلیت تحرک فسفر در خاک هایی با محتوای پایین آب است، چراکه بر واکنش های تجزیه ای و فعالیت های بیولوژیکی آن تأثیرگذار است (حدیدی، ۱۹۹۹).

در پژوهشی روی گیاه دارویی رازیانه بیان شد که باکتری حل کننده فسفات با تولید اسیدهای آلی باعث تبدیل فسفات تثبیت شده به فسفات قابل دسترسی گردید و علاوه بر این با افزایش رشد ریشه ها جذب فسفر افزایش یافت (محفوظ و شرف-الدین، ۲۰۰۷). افزایش عنصر فسفر تا حدودی اثرات مستقیم و غیرمستقیم خشکی را بر جذب فسفر خنثی می کند و مقاومت به کم آبی را در گیاه افزایش می دهد

(جونز و همکاران، ۲۰۰۳). در بین عناصر غذایی، پتاسیم در باز و بسته کردن دهانه روزنه ها و نیز تنظیم اسمزی در سلول های ریشه گیاهان نقش بسزائی دارد، قابلیت گیاهان در جذب این عنصر از محیط ریشه در شرایط نامساعد محیطی از جمله کم آبی می تواند در میزان تولید گیاه مؤثر باشد (آبرو و مظافر، ۲۰۰۵). کاهش پتاسیم در پی تنش کم آبی با نتایج پژوهش های دیگر مطابقت دارد (آرزمجو و همکاران، ۱۳۸۸؛ وو و زیا، ۲۰۰۶). آن ها علت این کاهش را در ارتباط با کاهش آب خاک می دانند که منجر به کاهش جریان عناصر از خاک به گیاه می شود. استفاده از کودزیستی حاوی باکتری سودوموناس نیز تأثیر معنی داری بر غلظت پتاسیم دانه در گیاه دارویی رازیانه داشته است (درزی و همکاران، ۲۰۰۹). کودهای زیستی علاوه بر در دسترس 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 می شوند (مارشور، ۱۹۹۵). افزایش اسیدیته خاک و عدم تثبیت پتاسیم در حضور کودهای زیستی می تواند از دلایل افزایش دسترسی این عنصر در خاک و به تبع آن جذب بیشتر آن توسط گیاه باشد (عیدی زاده و همکاران، ۱۳۹۰).

۴-۴-۴ روابط همبستگی بین عناصر معدنی

همانطور که در مباحث صفات زراعی و بیوشیمیایی ذکر شد بترتیب در سال اول و دوم نیتروژن با کلروفیل ($r=0/44^{**}$) و ($r=0/45^{**}$)، فسفر با فلاونوئید ($r=0/58^{**}$) و ($r=0/53^{**}$)، با پروتئین ($r=0/60^{**}$) و ($r=0/66^{**}$) و با پرولین ($r=0/33^{*}$) و ($r=0/33^{*}$) همبستگی معنی داری در سال اول آزمایش داشتند (پیوست ۱ و ۲). همچنین بترتیب در سال اول و دوم فسفر با پتاسیم ($r=0/55^{**}$) و ($r=0/49^{**}$)، با آنزیم کاتالاز ($r=0/46^{**}$) و ($r=0/43^{**}$) همبستگی معنی داری داشت (پیوست ۱ و ۲). علاوه بر همبستگی بین پتاسیم و فسفر که در بالا ذکر شد، بین عنصر پتاسیم با آنزیم کاتالاز ($r=0/38^{**}$) نیز در سال اول همبستگی معنی داری مشاهده شد (پیوست ۱). در سال دوم پتاسیم با آنزیم

سوپراکسید دیسموتاز ($r=0.30^*$) همبستگی معنی داری را نشان داد (پیوست ۲). در ارتباط با همبستگی فلاونوئید و فسفر می توان چنین بیان نمود که از آنجایی که واحدهای سازنده فلاونوئیدها نیاز مبرم به NADPH و ATP دارند لذا حضور عنصری نظیر فسفر برای تشکیل ترکیب های فوق ضروری می باشد (حسن، ۲۰۰۹).

۴-۵ آنزیم های آنتی اکسیدان

۴-۵-۱ آنزیم کاتالاز (CAT)

نتایج تجزیه واریانس مرکب داده ها نشان داد اثر سال و اثر متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی تاثیر معنی داری بر میزان آنزیم کاتالاز برگ های گیاه آویشن زراعی بترتیب در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد داشت. در این بین اثر متقابل سال در تنش کم آبی و نیز عامل کودی معنی دار نشد (جدول ۴-۱۴). مقایسه میانگین اثر سال نشان داد میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در سال دوم نسبت به سال اول از مقدار بالاتری برخوردار بود (جدول ۴-۱۵).

جدول ۴-۱۴ تجزیه واریانس مرکب تاثیر تنش کم آبی و کود های زیستی و غیر زیستی بر میزان آنزیم های آنتی

اکسیدان آویشن زراعی در دو سال آزمایش

میانگین مربعات				درجه آزادی	منبع تغییرات
کاتالاز	پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز		
سال	۱	۰/۰۳۷*	۰/۰۱۰ ^{ns}	۵۷۷/۶۰*	۰/۰۰۲۲**
بلوک (سال)	۴	۰/۰۰۴۴	۰/۰۰۱۴	۶۸/۸۷	۰/۰۰۰۰۹۶
تنش کم آبی	۲	۰/۷۷**	۰/۰۲۸**	۱۰۷۵۸/۵۷**	۰/۰۰۰۰۹۲**
سال × تنش کم آبی	۲	۰/۰۰۰۰۱۷ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۱۷ ^{ns}	۰/۶۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۵۳ ^{ns}
خطای اصلی	۸	۰/۰۰۰۰۷۵	۰۰۰۰۹۱	۲۶/۷۶	۰/۰۰۰۰۰۴۶
کود	۴	۳/۱۵**	۰/۰۷۵**	۷۷۶۵/۶۲**	۰/۰۰۰۰۴۴**
تنش کم آبی × کود	۸	۰/۹۲**	۰/۰۹۹**	۷۹۵۱/۰۰۸**	۰/۰۰۰۰۲۶**
سال × کود	۴	۰/۰۰۰۰۱۸ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۱۵ ^{ns}	۱/۷۶ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۱۴ ^{ns}
سال × کود × تنش کم آبی	۸	۰/۰۰۰۰۱۸ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۱۱ ^{ns}	۱/۴۶ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۱۳ ^{ns}
خطای فرعی	۴۸	۰/۰۰۰۰۳۷	۰/۰۰۰۰۳۴	۵/۷۶	۰/۰۰۰۰۰۰۳۰
ضریب تغییرات (درصد)		۱/۷۹	۸/۷۳	۲/۶۷	۱۵/۷۸

ns، *، ** به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی دار، اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد

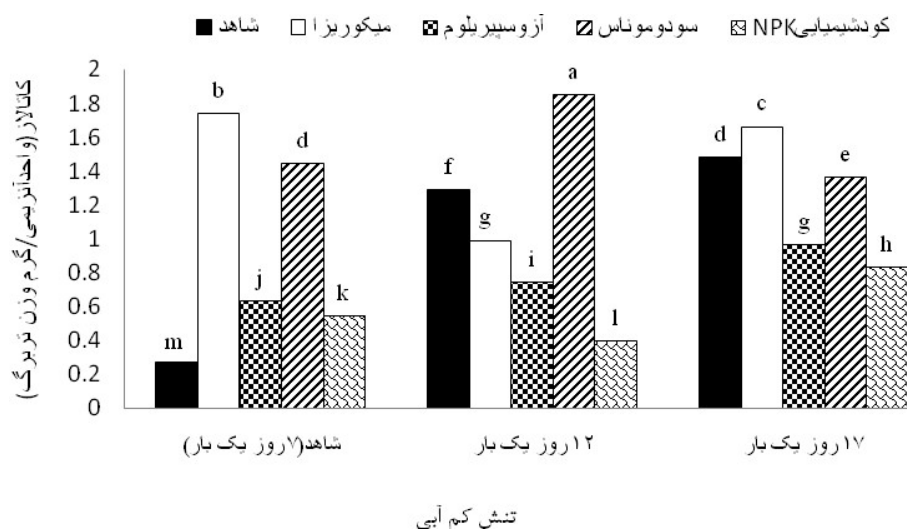
جدول ۴-۱۵ مقایسه میانگین اثر ساده سال بر میزان آنزیم های آنتی اکسیدان آویشن زراعی حاصل از تجزیه

مرکب دوساله

فاکتور	صفات		
سال	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز	سوپراکسیددیسموتاز
	(واحد آنزیمی/ گرم وزن تر برگ)	(واحد آنزیمی/ گرم وزن تر برگ)	(واحد آنزیمی/ گرم وزن تر برگ)
اول	۱/۰۵b	۸۷/۰۷b	۰/۰۳b
دوم	۱/۱۰a	۹۲/۱۳a	۰/۰۴a

میانگین هایی که در هر ستون با حروف مشابه مشخص شده اند در سطح ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند.

مقایسه میانگین های اثر متقابل تیمارهای تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی نشان داد همراه با بالا رفتن سطح تنش بر مقدار آنزیم کاتالاز در برگ های گیاه آویشن افزوده شد اما بیش ترین این افزایش تا سطح تنش کم آبی W_2 بود و با بالا رفتن سطح تنش به W_3 تا حدی از مقدار آن کاسته شد. به طوریکه بیش ترین میزان آنزیم کاتالاز در تنش کم آبی W_2 (۱۲ روز یک بار) و کود سودوموناس با میانگین ۱/۸۵ واحد آنزیمی بر گرم وزن تر برگ و کم ترین میزان آن مربوط به تنش کم آبی W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) و عامل کودی شاهد با میانگین ۰/۲۷ واحد آنزیمی بر گرم وزن تر برگ بود (شکل ۴-۱۶). همانطور که در شکل ۴-۱۶ مشاهده می شود در شرایط تنش W_3 میکوریزا از سایر کودها تاثیر بیش تری در افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز داشت.

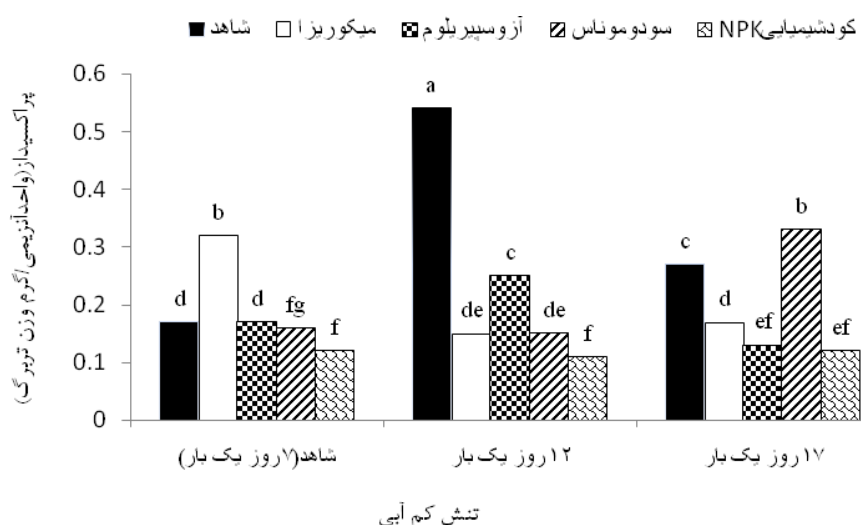


شکل ۴-۱۶ مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان آنزیم کاتالاز در گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله

امیدی (۱۳۸۹) در بررسی فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در کلزا در شرایط تنش کم آبی گزارش کرد که فعالیت آنزیم کاتالاز در مراحل مختلف رشد بسیار متغیر بوده و در کل با اعمال قطع آبیاری از مراحل نمودی تفاوت چندانی پیدا نکرد. در اینجا می توان چنین استدلال کرد که واکنش آنزیم کاتالاز در شرایط تنش خشکی متغیر بوده و می تواند افزایشی، کاهش یا بدون تغییر باشد (ژانگ و کرخام، ۱۹۹۶). افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان لوبیا، گندم و سویا مایه زنی شده با قارچ میکوریزا نیز عنوان شده است (علی و همکاران، ۲۰۰۵، خلف اله و همکاران، ۲۰۰۸، پرسل و ریزلوزانو، ۲۰۰۴). ژو و همکاران (۲۰۱۱) افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز را در گیاه ذرت مایه زنی شده با قارچ میکوریزا گزارش دادند. آن ها پیشنهاد کردند که قارچ میکوریزا با بهبود کلونیزاسیون ریشه ، افزایش کارایی جذب مواد غذایی و افزایش خصوصیات رشدی گیاه ، تولیدات آنتی اکسیدانی را افزایش داده که نتیجه این افزایش آنتی اکسیدانی موجب کم کردن گونه های اکسیژن فعال و محافظت سلول ها در برابر تنش اکسیداتیو می گردد.

۴-۵-۲ آنزیم پراکسیدازا (POX)

نتایج تجزیه واریانس مرکب داده ها نشان داد که اثر متقابل تیمار تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی تاثیر معنی داری بر میزان آنزیم پراکسیداز در سطح احتمال ۱ درصد داشت. اما اثر سال بر هیچ کدام از عامل های مذکور معنی دار نبود (جدول ۴-۱۴). بیش ترین میزان آنزیم پراکسیداز در تنش کم آبی W_2 (۱۲ روز یک بار) و عامل کودی شاهد با میانگین 0.54 واحد آنزیمی برگرم وزن تر برگ و کم ترین آن در تنش کم آبی W_2 (۱۲ روز یک بار) و W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) و کود NPK بترتیب با میانگین های 0.11 و 0.12 واحد آنزیمی برگرم وزن تر برگ به دست آمد که با تنش کم آبی W_3 (۱۷ روز یک بار) و کود سودوموناس در تنش کم آبی W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) و کود آزوسپیریلوم در تنش کم آبی W_3 (۱۷ روز یک بار) در یک گروه آماری قرار گرفته است (شکل ۴-۱۷).



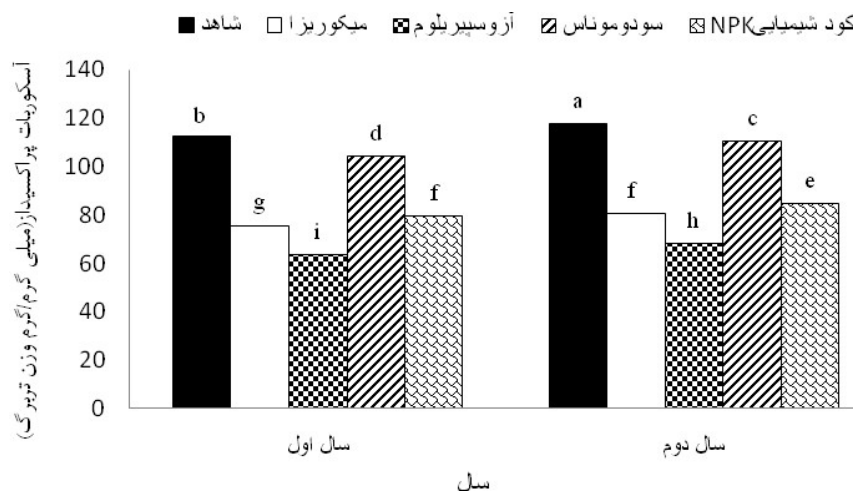
شکل ۴-۱۷ مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان آنزیم پراکسیداز در گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله

تنش کم آبی سبب افزایش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه لوبیا قرمز شده است و همچنین بیان شده است که افزایش سطح فعالیت آنزیم فوق در شرایط تنش کم آبی نشان دهنده اثر این آنزیم در کاهش خسارات تنش اکسیداتیو و نقش مهم آن در مقابله با گونه های فعال اکسیژن می باشد (اردلانی و همکاران، ۱۳۹۳). در مطالعات اسلام و همکاران (۲۰۱۴) نشان داده شد که باکتری سودوموناس موجب افزایش سطح فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه گندم گردید. چاکرابورتی و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که سطوح آنتی اکسیدانی در گندم در تیمارهای مایه زنی شده با باکتری های افزایشنده رشد زیاد می شود. با توجه به نقش آنزیم پراکسیداز در حذف رادیکال های سمی پراکسید هیدروژن در شرایط تنش های مختلف، افزایش فعالیت این آنزیم در تیمارهای باکتری های محرک رشد می تواند عاملی مؤثر در در حذف گونه های فعال اکسیژن باشد (سپهری و همکاران، ۱۳۹۴).

۴-۵-۳ آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

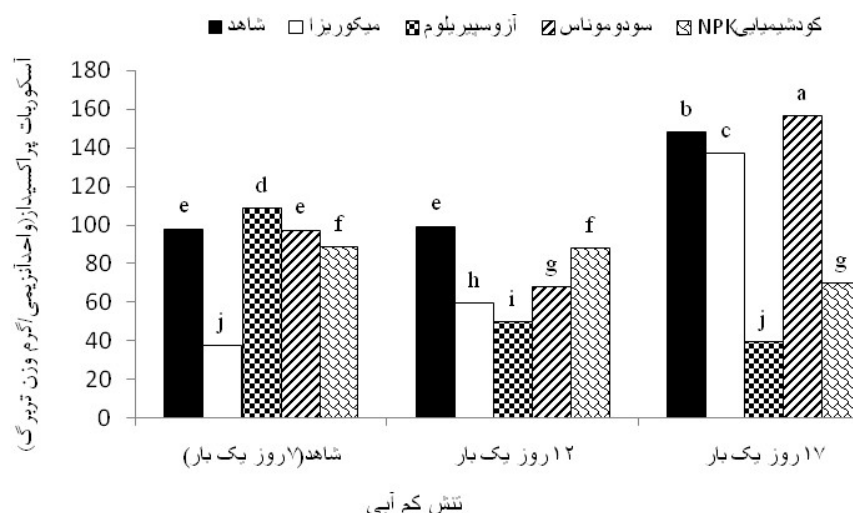
نتایج تجزیه واریانس مرکب داده ها نشان داد اثر سال، اثر متقابل سال کودهای زیستی و غیرزیستی و نیز اثر متقابل تیمار تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی تاثیر معنی داری بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ های گیاه آویشن زراعی داشت (جدول ۴-۱۴). مقایسه میانگین های اثر سال نشان داد در سال دوم زراعی میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به سال اول، افزایش داشت (جدول ۴-۱۵).

همانطور که در شکل ۴-۱۸ مشاهده می شود بیش ترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سال دوم با میانگین ۱۱۷/۶۳ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ در عامل کودی شاهد مشاهده شد. و کم ترین میزان آن مربوط به سال اول با میانگین ۶۳/۵۱ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ مربوط به کود آزوسپیریلوم بود.



شکل ۴-۱۸ مقایسه میانگین اثر متقابل سال در کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله

مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیر زیستی نشان داد تا سطح تنش کم آبی W_2 تغییراتی در میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ ها گیاه آویشن زراعی بوجود نیامد اما با بالا رفتن سطح تنش به W_3 بر میزان فعالیت آن افزوده شد بطوریکه بیش ترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تنش کم آبی W_3 (۱۷ روز یک بار) و کود سودوموناس با میانگین $156/62$ واحد آنزیمی بر گرم وزن تر برگ و کم ترین آن مربوط در سطح تنش کم آبی W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) و کود میکوریزا با میانگین $37/66$ واحد آنزیمی بر گرم وزن تر برگ به دست آمد که با کو آزوسپیریلوم در تنش کم آبی W_3 (۱۷ روز یک بار) اختلاف معنی داری نداشته است (شکل ۴-۱۹).



شکل ۴-۱۹ مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله

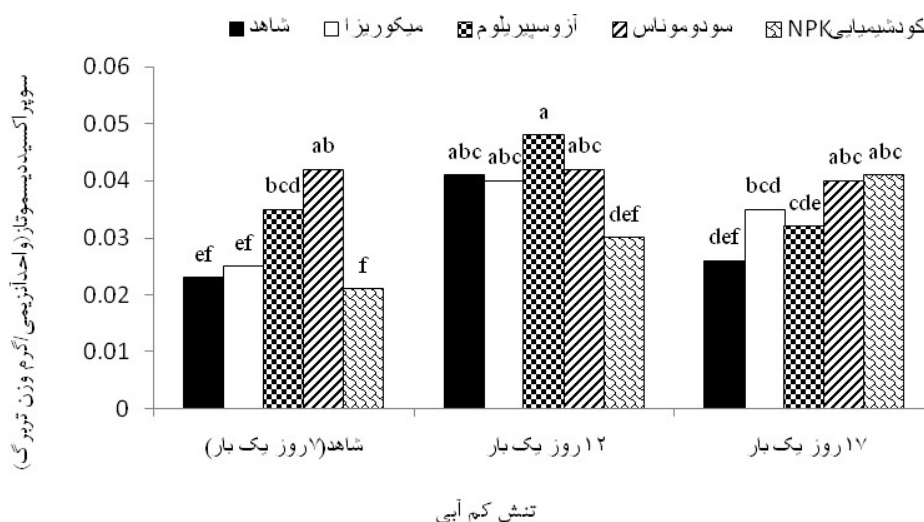
افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در شرایط تنش مانند آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و گایاکول پراکسیداز بر اثر افزایش گونه های فعال اکسیژن است که باعث افزایش بیان ژن های آنزیم های آنتی اکسیدان و افزایش فعالیت این آنزیم ها می شود (میتلر، ۲۰۰۵). نتایج پژوهشی نشان داد که فعالیت آسکوربات پراکسیداز در طول تنش کم آبی در گیاهچه های گندم، برنج و یونجه افزایش یافت (کلس و آنسل، ۲۰۰۲، رابو و همکاران، ۲۰۰۲، شارما و دبی، ۲۰۰۵). قنبری و همکاران (۱۳۹۹) در بررسی تاثیر باکتری سودوموناس بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز گزارش دادند که تلقیح ریزوباکتریایی سودوموناس تحت شرایط خشکی به طور معنی داری فعالیت آنزیم فوق را افزایش داد.

۴-۵-۴ آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

نتایج تجزیه واریانس مرکب داده ها نشان داد اثر سال و اثر متقابل تیمار تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی تاثیر معنی داری بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سطح احتمال ۱ درصد

داشت. در این بین اثر متقابل سال در تیمار تنش کم آبی و نیز تیمار کودهای زیستی و غیرزیستی معنی دار نبود (جدول ۴-۱۴). مقایسه میانگین های اثر سال نشان داد میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سال دوم زراعی نسبت به سال اول بیش تر بود (جدول ۴-۱۵).

همانطور که در شکل ۴-۲۰ مشاهده می شود بیش ترین میزان فعالیت این آنزیم در تنش کم آبی W_2 (۱۲ روز یک بار) و کود آزوسپیریلوم با میانگین 0.048 واحد آنزیمی برگرم وزن تر برگ مشاهده شد که با عامل کودی شاهد کود میکوریزا و سودوموناس تفاوت معنی داری نداشته است. همچنین با کود سودوموناس در تنش کم آبی W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) و W_3 (۱۷ روز یک بار) و کود شیمیایی NPK در تنش کم آبی W_3 (۱۷ روز یک بار) در یک گروه آماری قرار گرفته است. کم ترین فعالیت این آنزیم در سطح تنش کم آبی W_1 (شاهد، ۷ روز یک بار) و کود NPK با میانگین 0.021 واحد آنزیمی برگرم وزن تر برگ به دست آمد که با عامل کودی شاهد و کود میکوریزا اختلاف معنی داری نداشته است و همچنین با کود شیمیایی NPK در تنش کم آبی W_2 (۱۲ روز یک بار) و عامل کودی شاهد در تنش کم آبی W_3 (۱۷ روز یک بار) در یک گروه آماری قرار گرفته است.



شکل ۴-۲۰ مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کم آبی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاه آویشن زراعی حاصل از تجزیه مرکب دو ساله

به آنزیم سوپراکسید دیسموتاز دفاع اولیه در مقابل رادیکال‌های آزاد اکسیژن اطلاق می‌شود. طی دوران تنش خشکی وضعیت آب درون سلولی نقش کلیدی را در فعال کردن این مکانیسم‌های دفاعی بازی می‌کند. با افزایش میزان تنش، سیستم آنتی اکسیدان گیاه فعال شده و با افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسیداز دیسموتاز به عنوان اولین سد دفاعی در مقابل حمله رادیکال‌های اکسیژن در مقابل خسارات ناشی از تنش مقاومت می‌نماید و تا زمانی که گیاه قادر به مهار حجم سوپراکسید تولید شده در گیاه باشد این فرایند ادامه دارد (جانگ، ۲۰۰۴). سیف زاده و همکاران (۱۳۸۹) نشان دادند تنش کم آبی باعث کاهش عملکرد ریشه و افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در برگ‌های چغندر قند شد. احمد و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند تنش کم آبی در ارقام مختلف گندم نان سرعت فعالیت این آنزیم را افزایش داده است. این موضوع نشان می‌دهد که گیاهان برای مقابله با کم آبی و از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن سرعت فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان خود را افزایش می‌دهند.

سیستم های آنتی اکسیدان آنزیمی سلول ها را از سمیت رادیکال های آزاد اکسیژن (ROS) محافظت می کند. کاهش تولید رادیکال های آزاد اکسیژن وابسته به چندین آنزیم آنتی اکسیدان که از نظر ساختاری به هم مربوط هستند، می باشند همانند سوپراکسید دیسموتاز. باکتری های محرک رشد با بالا بردن سطح آنتی اکسیدانی گیاه، موجب حفاظت گیاه می شوند (پورابتهاج و همکاران، ۱۳۹۱). جانگ (۲۰۰۴) گزارش کرد که کودهای زیستی خصوصاً آزوسپیریلوم با افزایش فراهمی عناصر و بهبود شرایط خاک برای جذب مواد غذایی باعث افزایش عملکرد در شرایط کمبود آب می شود ولی چون در شرایط کمبود آب میزان رطوبت در ریزوسفر کاهش می یابد با توجه به اثر تدریجی مثبت کودهای زیستی در توسعه ریشه و آنزیم های آنتی اکسیدان قطعاً تولید آنتی اکسیدان ها در سلول افزایش می یابد. گزارش های دیگر نشان می دهد ممانعت کود زیستی از پیشرفت آسیب تجمعی در پاسخ به کمبود آب از طریق افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان فرضیه ای است که تاثیر مثبت این ترکیبات را روی آنها در شرایط تنش را نشان می دهد. این فرضیه با استفاده از آزوسپیریلوم در جو نیز مورد تایید قرار گرفته است (رائو و همکاران، ۲۰۱۴).

۴-۵-۵ روابط همبستگی بین آنزیم های آنتی اکسیدان

نتایج جدول همبستگی ساده صفات در سال اول زراعی نشان داد که آنزیم کاتالاز با اسانس ($r=0.32^*$)، فنل ($r=0.34^*$) و عناصر فسفر ($r=0.46^*$) و پتاسیم ($r=0.38^{**}$) و نیز با آنزیم پراکسیداز ($r=0.40^{**}$) همبستگی معنی دار و مثبتی داشت (پیوست ۱). در سال دوم زراعی نیز به غیر از همبستگی با عنصر پتاسیم که معنی دار نشد، در سایر موارد نتایج مشابهی به دست آمد (پیوست ۲). در این بین آنزیم پراکسیداز با رنگدانه کاروتنوئید ($r=0.54^{**}$)، آنزیم کاتالاز ($r=0.40^{**}$) و آنزیم آسکوربات پراکسیداز ($r=0.38^{**}$) همبستگی معنی داری را در سال اول نشان داد (پیوست ۱).

در سال اول زراعی بیش ترین همبستگی آنزیم آسکوربات پراکسیداز با رنگدانه کاروتنوئید ($r=0.54^{**}$) بود (پیوست ۱). همچنین آسکوربات پراکسیداز و قندهای محلول ($r=0.32^{**}$) نیز همبستگی معنی داری

را نشان دادند (پیوست ۱). در سال دوم نیز نتایج مشابهی به دست آمد (پیوست ۲). در سال اول زراعی بین آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با عنصر فسفر ($I=0/29^*$)، رنگدانه فلاونوئید ($I=0/52^{**}$)، پروتئین برگ ($I=0/30^*$) و اسانس ($I=0/41^{**}$) همبستگی معنی داری مشاهده شد (پیوست ۱). در سال دوم بر خلاف سال اول، سوپراکسید دیسموتاز تفاوت معنی داری با عنصر فسفر نداشت و با عنصر پتاسیم ($I=0/30^*$) همبستگی معنی داری را نشان داد (پیوست ۲).

در همبستگی آنزیم ها با رنگدانه ها می توان چنین استنباط کرد که از آنجاییکه در شرایط تنش کم آبی یکی از دلایل کاهش رنگدانه ها می تواند افزایش رادیکال های آزاد اکسیژن باشد، در نهایت باعث افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان می گردد (وایز و نیلر، ۱۹۸۷). در مورد همبستگی آنزیم ها با عناصر می توان بیان نمود که در تنش کم آبی، باکتری های محرک رشد خصوصاً باکتری های حل کننده فسفات (سودوموناس) با افزایش آنزیم های آنتی اکسیدان باعث حفاظت از گیاه در این شرایط می شوند (پورابتهاج و همکاران، ۱۳۹۱).

۴-۶ نتیجه گیری کلی

با توجه به نتایج این تحقیق چنین نتیجه گیری می شود که با افزایش تنش کم آبی محتوای کلروفیل ها و نیز غلظت عناصر نیتروژن و فسفر در برگ های گیاه آویشن زراعی کاهش یافت. در این بین استفاده از کودهای زیستی و غیر زیستی بخصوص آزوسپیریلوم و سودوموناس در شرایط تنش کم آبی تا حدی سبب بهبود و افزایش محتوای رنگدانه ای گیاه و عناصر مذکور گردید.

تجمع میزان پرولین و قندهای محلول در اندام های هوایی آویشن زراعی در مواجهه با تنش کم آبی از جمله مکانیسم های مقاومت به خشکی در این گیاه می تواند باشد. تجمع سریع مواد آلی تنظیم کننده فشار اسمزی نظیر پرولین و قندهای محلول منجر به کاهش پتانسیل اسمزی سلول های گیاهی شده و از این طریق سبب بالا بردن جذب آب در گیاه می شود. در شرایط تنش کم آبی، میزان پرولین، قند های محلول و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان نظیر کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز جهت تحمل گیاه به تنش کم آبی افزایش یافت. استفاده از کود زیستی سودوموناس باعث تعدیل اثر تنش کم آبی بر کاهش عملکرد گیاه گردید. همچنین کودهای زیستی خصوصاً آزوسپیریلوم با افزایش فراهمی عناصر و بهبود شرایط خاک برای جذب مواد غذایی باعث افزایش عملکرد در شرایط کمبود آب شد.

از طرفی هم سو بودن افزایش عملکرد سرشاخه های گل دار در گیاه آویشن زراعی با کاربرد کود های زیستی به ویژه میکوریزا در شرایط تنش مؤید تأثیرات مثبت این کود می باشد.

۴-۷ پیشنهادات

- ۱- مطالعه تغییرات بیان ژن تیمول در گیاه آویشن زراعی در طی مواجهه با تنش کم آبی و نیز کاربرد کودهای زیستی و غیرزیستی صورت گیرد.
- ۲- اثر کودهای زیستی به صورت ترکیب با هم نیز در آویشن زراعی در شرایط تنش کم آبی مورد بررسی قرار گیرند.
- ۳- آزمایش به صورت گلدانی در جهت مطالعه تاثیر تنش خشکی و کودهای زیستی و غیرزیستی بر تغییرات مورفوفیزیولوژیکی ریشه بررسی شود .

مراجع

احمدیان ا. قنبری ا. سیاهسر ب. حیدری م. رمرودی م. و موسوی نیک س.م، (۱۳۸۹) “اثر بقایای کود شیمیایی، دامی و کمپوست بر عملکرد، اجزای عملکرد، برخی خصوصیات فیزیولوژیک و میزان اسانس بابونه تحت شرایط تنش خشکی” پژوهش‌های زراعی ایران، شماره ۸۸، دوره ۴: ص ۶۶۸-۶۷۶.

احیایی ح.ر. رضوانی مقدم پ. و امیری م.ب، (۱۳۸۸) “تأثیر تنش خشکی بر برخی شاخصهای مورفولوژیکی ریحان و شنبلیله شیرین در شرایط گلخانه ای” اولین کنفرانس ملی تنش های محیطی در علوم کشاورزی ، ص ۱۳۶، بیرجند.

اردکانی م.ر. مظاهری د. مجد ف. و نورمحمدی ق، (۱۳۹۱) “ نقش همیاری باکتری آروسپیریوم در جذب عناصر غذایی میکرو و ماکرو گندم” ششمین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران، ص ۱۲۰، بابلسر.

اردلانی ش. سعیدی م. جلالی هنرمند س. قبادی م.ا. و عبدلی م، (۱۳۹۳) “پاسخ های فیزیولوژیک و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در ژنوتیپ های گندم نان تحت تنش خشکی پس از گرده افشانی” فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی گیاهان زراعی، شماره ۶، دوره ۲۱: ص ۴۵-۵۹.

آرمجو ا. حیدری م. و قنبری ا، (۱۳۸۸) “بررسی تنش خشکی و سه نوع کود بر عملکرد گل، پارامتر های فیزیولوژیک و جذب عناصر غذایی در گیاه دارویی بابونه (*Matricaria chamomilla* L.)” تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، شماره ۴، ص ۴۸۲-۴۹۴.

افشارمحمدیان م. قناتی ف. احمدیانی س. و صدزمانی ک، (۱۳۹۵) “اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و میزان قندهای محلول پونه معطر (*Memtha Pulegium* L.)” یافته های نوین در علوم زیستی، شماره ۳، دوره ۳: ص ۲۲۸-۲۳۷.

اکبری نیا ا. قلاوند ا. سفیدکن ف. رضایی م. ب. و شریفی عاشورآبادی ا، (۱۳۸۲) “بررسی تأثیر کودهای شیمیایی و دامی و تلفیقی بر عملکرد و میان ترکیبات اسانس دانه گیاه دارویی زنیان” پژوهش و سازندگی، دوره ۶۱: ص ۳۲-۴۱.

امیدبیگی ر. حسنی ا. و سفیدکن ف، (۱۳۸۱) “روغن و ترکیب اسانس ریحان شیرین (*Ocimum basilicum*) در رژیم های مختلف آبیاری” مجله اسانس گیاهان متحمل، دوره ۶: ص ۱۰۴-۱۰۸.

امیدبیگی ر، (۱۳۸۴) “تولید و فرآوری گیاهان دارویی” جلد اول، انتشارات به نشر، آستان قدس رضوی، مشهد، ص ۳۴۷.

امید بیگی ر، (۱۳۷۹) “رهیافت های تولید و فرآوری گیاهان دارویی” جلد اول. انتشارات طراحان نشر، ص ۲۸۳.

امیدبیگی ر. و محمودی سורستانی م، (۱۳۸۹) “اثر تنش خشکی بر برخی صفات مرفولوژی، میزان و عملکرد اسانس گیاه گل مکزیکی (*Agastache foeniculum* Pursh Kuntze)” علوم باغبانی ایران، شماره ۲، ص ۱۵۳-۱۶۱.

امیدی ح، (۱۳۸۹) “تغییرات محتوای پرولین و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در دو رقم کلزا تحت تنش خشکی” مجله فیزیولوژی گیاهی، شماره ۵، دوره ۶: ۳۳۸-۳۴۹.

امینی ز. معلمی ن. و سعادت ص، (۱۳۹۳) “مقایسه اثر تنش کم آبی بر تغییرات میزان پرولین و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در سه رقم زیتون (*Olea europaea* L.)” مجله پژوهش های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)، شماره ۲۷، دوره ۲: ص ۱۵۶-۱۶۷.

انتشاری ش. حاجی باقری س. و رضوی زاده ر، (۱۳۹۱) “نقش قارچ مایکوریزا و سالیسیلیک اسید در القای مقاومت *Ocimum basilicum* به شوری” مجله بیوتکنولوژی، شماره ۱۱، ص ۲۲۲۳-۲۲۳۵.

انصاری ا. رزمجو ج. کریم مجنی ح. و زارعی م، (۱۳۹۳) “تأثیر تلقیح با میکوریز و پیش تیمار با سا لیسیلیک اسید در سطوح مختلف خشکی بر خصوصیات مورفولوژیکی و عملکرد بزرک” **تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی**، شماره ۴، دوره ۱۲ : ص ۱۹۴-۱۸۱.

اوجاقلو ف، (۱۳۸۶)، پایان نامه کارشناسی ارشد: “تأثیر تلقیح با کودهای زیستی (ازتوباکتر و فسفات بارور) بر رشد، عملکرد و اجزای عملکرد گلرنگ”، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز.

ایران نژاد ح. و رسام ق، (۱۳۸۱) “بررسی تأثیر مقادیر مختلف ازت و فسفر بر عملکرد و میزان اسانس دانه گیاه انسیون” **مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی**، شماره ۹، دوره ۱: ص ۱۰۱-۹۳.

بابایی ک. امینی دهقی م. مدرس ثانوی، س. ع. م. و جباری ر، (۱۳۸۹) “اثر تنش خشکی بر صفات مورفولوژیک، میزان پرولین و درصد تیمول در آویشن (*Thymus vulgaris* L.)” **تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران**، شماره ۲، ص ۲۵۱-۲۳۹.

بزاز ن. خدامباشی م. و محمدی ش، (۱۳۹۲) “تأثیر تنش خشکی بر خصوصیات مورفولوژیک و اجزای عملکرد گیاه دارویی شنبلیله” **تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی**، شماره ۸، ص ۲۳-۱۱.

بویری ده شیخ پ. محمودی سורستانی م. ذوالفقاری م. و عنایتی ضمیر ن، (۱۳۹۵) “مطالعه تأثیر کودهای زیستی، شیمیایی و اسیدهیومیک بر شاخص های رویشی، فیزیولوژیکی و میزان اسانس گیاه نعناع گربه ای (*Nepeta cataria* L.)” **نشریه پژوهش های تولید گیاهی**، شماره ۲، دوره ۲۴: ص ۷۶-۶۱.

پورابتهاج م. حبیبی د. پاکنژاد ف. فاضلی ف. و داوودی فرد م، (۱۳۹۱) “بررسی تأثیر باکتری های محرک رشد محلول پاشی سیلیسیک اسید و اسیدهای آمینه بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در شرایط تنش خشکی در گیاه جو (*Hurdeum vulgar* L.)” **مجله زراعت و اصلاح نباتات**، شماره ۸، دوره ۲: ص ۱۶۰-۱۴۷.

پیرزاد ا. شکبیا م.ر. زهتاب سلماسی س. و محمدی س.ا، (۱۳۹۴) “تأثیر تنش خشکی بر جذب برخی مواد غذایی در *Matricaria chamomilla* L.” **تحقیقات کاربردی محصولات زراعی**، دوره ۱۰۴: ص ۷-۱.

ترابی پشایی س. نیکنام و. ابراهیم زاده ح. و شریفی گ، (۱۳۹۵) “بررسی مقایسه ای پاسخ های بیوشیمیایی جمعیت های مختلف زعفران مزروعی به تنش شوری و نقش سالیسیلیک اسید در بهبود اثر تنش” **مجله پژوهش های گیاهی**، شماره ۲۹، دوره ۴: ص ۷۱۷-۷۲۹.

جباری ح. اکبری غ. خوش خلق سیما ن.ا. اله دادی ا. شیرانی راد ا.ح. طباطبایی س.ع. و حامد ع، (۱۳۹۳) “مقایسه نقش آنزیم های آنتی اکسیدان و پرولین در تحمل به تنش خشکی در گیاه کلزا” **(*Brassica napus* L.) نشریه تولید گیاهان روغنی**، شماره ۱، دوره ۱: ص ۳۱-۱۵.

جهانشاهی س.ح. باقری زاده م. و ابوطالبی ا، (۱۳۹۲) “تأثیر ورمی کمپوست، ازتوباکتر و بارور II بر برخی صفات کمی و کیفی گشنیز (*Coriandrum sativum* L.)” **مجله تحقیقات تولید محصولات زراعی**، شماره ۴، دوره ۴: ص ۳۹۱-۴۰۰.

حسنی ع. و امیدبیگی ر، (۱۳۸۱) “اثرات تنش آبی بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاه ریحان” **دانش کشاورزی**، شماره ۱۲، دوره ۳: ص ۵۹-۴۷.

حشمتی س. امینی دهقانی م. رضازاده ا.ر. و فتحی امیرخیزک، (۱۳۹۵) “بررسی تأثیر کودهای مختلف فسفر بر خصوصیات فیزیولوژیکی رنگدانه های فتوسنتزی و قندهای محلول گلرنگ در شرایط تنش خشکی” **مجله تحقیقات محصولات زراعی ایران**، شماره ۱۴، دوره ۲: ص ۳۰۷-۳۰۴.

حق بهاری م. و سید شریفی ر، (۱۳۹۳) “مطالعه عملکرد کمی و کیفی، محتوای کلروفیل و برخی شاخص های رشدی گندم در پاسخ به پیش تیمار بذر با باکتری PGPR در سطوح مختلف شوری خاک” **علوم و فنون کشت های گلخانه ای**، شماره ۵، دوره ۱۸: ص ۶۴-۵۱.

حمزه ئ ج. و صادقی می آبادی ف، (۱۳۹۳) اثر دور آبیاری و قارچ میکوریزا آربوسکولار بر شاخص کلروفیل، عملکرد و اجزای عملکرد سورگوم دانه ای “ تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی، شماره ۴، دوره ۱۲: ص ۲۱۱-۲۲۰.

حیدری م. میری ح. و مینایی ا، (۱۳۹۲) “ فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان و ترکیبات بیوشیمیایی گیاه گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis* L.) در واکنش به تیمارهای تنش خشکی و اسیدهیومیک “ تنشهای محیطی در علوم زراعی، شماره ۲، دوره ۶: ص ۱۷۰-۱۵۹.

خاتمی م. رمرودی م. و گلوی م، (۱۳۹۷) “ تأثیر تنش خشکی و کودهای زیستی و شیمیایی فسفره بر ویژگی های مورفولوژیک، عملکرد گل و اسانس گیاه دارویی بابونه (*Matricaria chamomilla* L.) “ علوم گیاهان زراعی ایران، شماره ۴، ص ۱۸۴-۱۷۵.

خرم دل س. کوچکی س. نصیری محلاتی م. و قربانی ر، (۱۳۸۶) “ کاربرد کودهای بیولوژیکی در شاخص های رشد زیره سیاه (*Nigella sativa* L.) “ مجله پژوهشی محصولات زراعی ایران، دوره ۲: ص ۲۹۴-۲۸۵.

درزی م.ت. قلاوند ا. و رجالی ف، (۱۳۸۸) “ تأثیر کاربرد کودهای بیولوژیکی بر روی جذب، نیکل، پتاسیم و عملکرد دانه رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.) “ مجله گیاهان دارویی و معطر ایران، شماره ۲۵، دوره ۱: ص ۱۹-۱.

رحیمی ع. جهانبین ش. صالحی ا. و فرجی ه، (۱۳۹۵) “ اثر مایکوریزا بر خصوصیات مورفولوژیک، مقدار ترکیبات فنلی و فلورسانس کلروفیل گیاه دارویی گاوزبان (*Borago officinails* L.) تحت خشکی “، فیزیولوژی محیطی گیاهی، شماره ۴۲، ص ۴۵-۵۵.

رضاپور ع.ر. . حیدری م. . گلوی م. و رمرودی م. ، (۱۳۹۰) “تأثیر تنش آبی و مقادیر مختلف کود گوگرد بر عملکرد دانه، اجزای عملکرد دانه و تنظیم اسمزی درسیاهدانه (*Nigella sativa* L.)” **مجله گیاهان دارویی و معطر ایران**، شماره ۳ ، دوره ۲۷: ص ۳۸۴-۳۹۶.

ریاست م. . نصیرزاده ع.ر. . جعفری ع.ه. و جوکار ل. ، (۱۳۸۴) “مقاومت الحاقات چندساله شنبلیله به تنش خشکی” **مجله ایرانی مراتع و اصلاح نژاد گیاهان جنگلی و تحقیقات ژنتیکی**، دوره ۱۳: ص ۲۰۸-۱۸۹.

زند ا. آروبی چ. . چایچی م.ر. و نعمتی س.چ. ، (۱۳۹۶) “تأثیر کودهای زیستی بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی، درصد اسانس و عملکرد بگونیا (*Mentha spicata* L.) تحت تنش خشکی” **مجله علوم گیاهان دارویی و معطر**، شماره ۳۲ ، دوره ۱: ص ۱۱۲-۱۲۵.

ساعی م. حبیبی د. مشهدی اکبربوجار م. محمودی ع. و اردکانی م. ، (۱۳۸۴) “تعیین سطح فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان به عنوان یک پارامتر در تعیین گونه های مقاوم سورگوم علوفه ای به تنش خشکی” **چکیده مقالات اولین همایش بین المللی علوم زیستی ایران** ، ص ۱۲۸، تهران.

سپهری م. . جهاننیده مهجن آبادی و . اسدی رحمانی ه. و صادقی حسنی ع. ، (۱۳۹۴) “اثر باکتری *Rhizobium leguminosarum b.v. phaseoli* بر رشد فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان و جذب عناصر غذایی گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) در شرایط تنش شوری” **نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار**، شماره ۵ ، دوره ۲: ص ۱۶۵-۱۸۰.

سیدشریفی ر. ، (۱۳۹۸) “اثر مصرف کودهای زیستی بر عملکرد، میزان روغن و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) در تیمارهای قطع آبیاری” **فرآیند و کارکرد گیاهی**، شماره ۲۹، دوره ۸: ص ۹۷-۱۰۷.

سیف زاده س. حبیبی د. و فتح الله د.ف، (۱۳۸۹) “ پاسخ فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان و عملکرد ریشه به تنش خشکی در چغندر قند ” **مجله بیولوژی کشاورزی**، شماره ۱۳، دوره ۳: ص ۳۶۲-۳۵۸.

شرفزاده س. و زارع م، (۱۳۹۰) “ تأثیر تنش خشکی بر خصوصیات کمی و کیفی برخی گیاهان دارویی از خانواده Lamiaceae ” **پیشرفت در زیست شناسی محیط زیست**، شماره ۵، دوره ۸: ص ۲۰۶۲-۲۰۵۸.

صالحی ا. قلاوند ا. سفیدکن ف. اصغر زاده ا. و سعیدی ک، (۱۳۹۵) “ تأثیر کاربرد کودهای زئولیت، زیستی و کودهای آلی بر رشد، عملکرد و اجزای عملکرد بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.) در کشت آلی ” **مجله گیاهان دارویی و معطر ایران**، شماره ۳۲، دوره ۲: ص ۲۱۵-۲۰۳.

عسکری م. بهدانی م.ا. پارسا س. جامی الاحمدی م. و محمودی س، (۱۳۹۵) “ ارزیابی تغییرات در اجزای عملکرد، عملکرد و برخی خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه *Thymus daenensis* و *Thymus vulgaris* L. در شرایط تنش خشکی و کاربرد کود دامی ” **مجله تنش های محیطی در غلات**، شماره ۳، دوره ۲: ص ۴۱-۲۶.

عسکری م. بهدانی م.ا. پارسا س. جامی الاحمدی م. و محمودی س، (۱۳۹۶) “ اثرات تنش خشکی و کود دامی بر برخی ویژگی های فیزیولوژیک و عملکرد *Thymus daenensis* Celak و *Thymus vulgaris* L. ” **دو مهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران**، شماره ۵، دوره ۳۳: ص ۸۱۱-۷۹۳.

عیدی زاده ک.ج. مهدوی دهقانی ا.م. ابراهیم پور ف. و صباحی ح، (۱۳۹۰) “ تأثیر هماهنگ کاربرد کودهای بیولوژیکی و شیمیایی و روش کاربرد کودهای بیولوژیکی بر عملکرد و اجزای عملکرد ذرت ” **مجله الکترونیکی تولید محصولات زراعی**، شماره ۴، دوره ۳: ص ۳۵-۲۱.

فاروخی ا.ح.ا. فاطیما س. انصاری س.ر. و شارما س، (۱۳۷۷) “تأثیر تنش آب بر رشد و متابولیسم اسانس در ارقام “ *Cymbopogon martini (plamerosa)* مجله تحقیقات اسانس، شماره ۱۱: ۴۹۶-۴۹۱.

قلی نژاد ر. سیروس مهر ع. و فاخری ب، (۱۳۹۳) “تأثیر تنش خشکی و کودهای آلی بر فعالیت برخی آنزیم های آنتی اکسیدانی، رنگدانه های فتوسنتزی، پرولین و عملکرد گاوزبان“ (*Borago officinalis*) نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)، شماره ۲۸، دوره ۳: ص ۲۳۳۸-۳۴۶.

قنبری ا. فتحی زاده ا. و طبری کوچکسرای م، (۱۳۹۹) “تأثیر قارچ میکوریز و ریزوباکتری محرک رشد بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی نهال استبرق تحت تنش خشکی“ فصلنامه علمی پژوهش و توسعه جنگل، شماره ۴، دوره ۳: ص ۴۲-۲۸.

کافی م. و مهدوی ا، (۱۳۹۱) “مکانیسم های تحمل به تنش های محیطی“ انتشارات دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران، شماره ۷: ص ۴۶۶.

کوچکی ع. تبریزی ل. و قربانی ر، (۱۳۸۷) “ارزیابی اثر کودهای بیولوژیکی بر ویژگی های رشد ، عملکرد و خصوصیات کیفی گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis*)“ مجله پژوهش های زراعی ایران، شماره ۶: ص ۱۳۷-۱۲۷.

محدپوروشوایی ر. گلوی م. رمرودی م. و فاخری ب. (۱۳۹۴) “اثرات تنش خشکی و تلقیح کود های زیستی بر رشد، عملکرد و ترکیبات اسانس آویشن (*Thymus vulgaris* L.)“ بوم شناسی کشاورزی، شماره ۲: ص ۲۵۳-۲۳۷.

محمدخانی ن. و حیدری ر، (۱۳۸۶) “تأثیر تنش خشکی بر تنفس، رنگدانه های فتوسنتزی و محتوای آب در دو رقم ذرت“ مجله علوم زیستی پاکستان، شماره ۱۰: ص ۴۰۲۸-۴۰۲۲.

ملکی نارگ موسی م. بلوچی ح. فرجی ح. و یدوی ع، (۱۳۹۱) “اثر کودهای زیستی و شیمیایی نیتروژنه و فسفره بر عملکرد دانه و صفات کیفی ذرت شیرین” نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار، شماره ۳، دوره ۲۳: ص ۸۹-۱۰۴.

نادری زرنقی ر. و ولیزاده م، (۱۳۹۳) “بررسی فعالیت آنزیم های گلوکاتایون ردوکتاز و آسکوربات پراکسیداز در ژنوتیپهای گندم تحت تنش خشکی در مرحله گلدهی” فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی گیاهان زراعی، شماره ۲۳، دوره ۶: ص ۸۵-۹۷.

ناصری ر. براری م. زارع م.ج. خاوازی ک. و طهماسبی ز، (۱۳۹۶) “تاثیر کاربرد کود فسفر، باکتری سودوموناس پوتیدا و قارچ گلوموس موسه آ و اثرات تلفیقی آن ها بر فعالیت برخی از آنزیم های آنتی اکسیدان، خصوصیات فیزیولوژیکی و عملکرد دانه گندم در شرایط دیم” نشریه زراعت دیم ایران، شماره ۶، دوره ۱: ص ۱-۳۴.

نجفی ف. مهدوی دهقانی م. تبریزی ل. و نژادابراهیمی س، (۱۳۹۳) “اثر کودهای زیستی بر رشد، عملکرد و اسانس (*thyme (Thymus vulgaris L.)* و *sage (Salvia officinalis L.)*” مجله گیاهان روغنی، شماره ۲، دوره ۱۷: ص ۲۵۰-۲۳۷.

نیک آور ب. مجاب ف. و دولت آبادی ر، (۱۳۸۴) “آنالیز اسانس دو گونه آویشن در ایران” شیمی تغذیه شماره ۹۰: ص ۶۰۹-۶۱۱.

Abdalla M.M. and 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” **J. Sci.Res.**, **3**, pp 2062-2074.

Abdul-Jaleel C. Manivannan P. Sankar B. Kishorekumar A. Gopi R. Somasundaram R. and Panneerselvam R. (2007). “*Pseudomonas fluorescens* enhances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress” **Colloids Surf., B.**, **60**, pp7-11.

- Abreu I.N. and Mazzafera P. (2005). "Effect of water and temperature stress on the content of active in medicinal" **J. Aromat Crops** ., **2**, pp **413-416**.
- Aebi H. (1984). "Catalase in vitro" **Methods Enzymol.**, **105**, pp**121-126**.-
- Aghaei K. Komatsu S. (2013). "Crop and medicinal plants proteomics in response to salt stress" **Front. Recent Dev. Plant Sci.**, pp **4-8**.
- Ahmad Alhadi F. Taha Yasseen B. and Jabr M. (1999). "Water stress and gibberellic acid effects on growth of fenugreek plants" **Irrig. Sci** ., **18**, pp **185-190**.
- Ahmad P. Hakeem KR. Kumar A. Ashraf M. and Akram NA.(2012). "Salt-induced changes in photosynthetic activity and oxidative defense system of three cultivars of mustard (Brassicajuncea L.) " **Afr. J. Biotechnol** ., **11** ,**11**, pp **2694-2703**.
- Ali MB. Hahn E. and Paek K.(2005). "Effects of temperature on oxidative stress defense systems, lipid peroxidation and lipoxygenase activity in Phalaenopsis" **Plant physiol. Biochem.**, **43**, pp **213-223**.
- Al-Karaki G. McMichael B. and Zak J. (2004). "Field response of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress" **Mycorrhiza**1.,**4**, pp **263-269**.
- Alkire B.H. Simon J.E Palevitch D. and Putievsky E.(1993). "Water management for Midwestern peppermint (Mentha piperita L.) growing in highly organic soil" **Indiana, USA. Acta Horticulture** ., **344**, pp **544-556**.
- André C.M. Schafleitner R. Legay S. Lefèvre I. Aliaga C.A.A. Nomberto G. Hoffmann L. Hausman J.F. Larondelle Y. and Evers D.(2009). "Gene expression changes related to the production of phenolic compounds in potato tubers grown under drought stress" **Phytochemistry.**, **70**, **9**, pp **1107-1116**.
- AOAC. (1995). "*Official method of analysis*" (16th ed). **Arlington,UA,USA:AOAC**.
- Apel K. and Hirt H.(2004). "Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction" **Annu. Rev. Plant Biol.**, **55**, pp **373-399**.
- Arnon A.N.(1967). "Method of extraction of chlorophyll in the plants" **Agron. J.**, **23**, pp **112-121**.
- Arora A. Sairam R.K. and Sriuastava G.C.(2002). " Oxidative stress and antioxidative system in plants" **Annu. Rev. Curr.Sci.**, **82**, pp **1227-1238**.

- Auge R.M. (2001). "Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis" **Mycorrhiza**, **11**, pp 3-42.
- Augé R.M. Moore J.L. Cho K. Stutz J.C. Sylvia D.M. Al-Abady A.K. and Saxton A.M. (2003). "Relating foliar dehydration tolerance of mycorrhizal *Phaseolus vulgaris* to soil and root colonization by hyphae" **J. Plant Physiol.**, **160**, pp 1147-1156.
- Balandrin M.F. Klocke J.A. Wurtele E.S. and Bollinger W.H. (1985). "Natural plant chemicals: sources of industrial and medicinal materials" **Science**, **228**, pp 1154-1160.
- Barnes J. Andreson L.A. and Phillipson J.D. (2002). "Herbal Medicines", Pharmaceutical Press, London, pp 268.
- Barrios A.N. Hoogenboom G. and Ne Smith D.S. (2005). "Drought stress and the distribution of vegetative and reproductive of bean cultivar" **Sci. Agric.**, **62**, pp 18-22.
- Bashan Y. Dubrovsky J. (1996). "Azospirillum spp. participation in dry matter partitioning in grasses at the whole plant level" **Biol. Fertil. Soils**, **23**, pp 435-440.
- Basta N. Gradwohl R. Snethen K. and Schroder J. (2001). "Chemical immobilization of lead, zinc, and cadmium in smelter-contaminated soils using biosolids and rock phosphate" **J. Environ. Qual.**, **30**, pp 1222-1230.
- Basu M. and Srivastava N.K. (1998) "Root endophytes in medicinal plants: their population and effects" **Root Dis. Soil-Borne Pathog., Int. Symp.**, Edinburgh, Scotland, pp 9-16.
- Bates I.S. Waldren R.P. and Teare I D. (1973). "Rapid determination of free proline for water-stress studies" **Plant Soil**, **39**, pp 205-207.
- Beauchamp C. and Fridovich I. (1971). "Superoxide dismutase. improved assays and an assay applicable to acrylamide gels" **Anal. Biochem.**, **44**, 1, pp 276-287.
- Beauchamp C. (1993). "Mode of action of plant growth-promoting rhizobacteria and their potential use as biological control agent" **Phytoprotection**, **74**, pp 19-28.
- Beneduzi A. Ambrosini A. and Passaglia L.M. (2012). "Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents" **Genet. Mol. Biol.**, **35**, pp 1044-1051.
- Blum C. Kubeczka K.H. and Becker K. (1997). "Supercritical fluid chromatography-mass spectrometry of thyme extracts (*Thymus vulgaris* L.)" **J. Chromatogr.**, **773**, pp 377-380.

- Blumwald E. Aharon G.S. and Apse M.P. (2000). "Sodium transport in plant cells" **Acta Biochim.Biophys.**, **1465**, pp140-151.
- Bolan N. (1991). "A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants" **Plant and soil.**, **134**, pp 189-207.
- Branch K. and Branch C. (2012). "Some of thyme (*Thymus vulgaris*) properties in ruminant's nutrition" **Ann.Biol.Res.**, **3**, pp 1191-1195.
- Brar S. Sarma S. and Chaabouni E. (2012). "Shelf-life of biofertilizers: an accord between formulations and genetics" **J Biofertil Biopestici**, p 3.
- Boughalleb F. Mhamdi M. and Hajlaoui H. (2011). "Response of young citrus trees to NPK fertilization under greenhouse and field conditions" **Agric. J.**, **6**, **3**, pp 66-73.
- Cabuslay G. S. Ito O. and Alejar A. A. (2002). "Physiological evaluation of responses of rice (*Oryza sativa* L.) to water deficit" **Plant Sci.**, **163**, pp 815-827.
- Casson S.A. and Lindsey K.(2003). "Genes and signalling in root development" **New Phytol.**, **158**, pp 11-38.
- Chakraborty U. Chakraborty BN. Chakraborty AP. And Dey PL.(2013). "Water stress amelioration and plant growth promotion in wheat plants by osmotic stress tolerant bacteria" **World J. Microbiol. Biotechnol.**, **29**, pp 789-803.
- Chalker-Scott L.(2002). "Do anthocyanins function as osmoregulators in leaf tissues" **Adv. Bot. Res.**, **37**, pp 103-106.
- Chance B. and Maehly A.C. (1955). " Assay of catalases and peroxidases" **Methods , -Enzymol.**, **11**, pp 764-755.
- Chapman H.D. and Pratt P.F.(1982). "**Method of Analysis for Soil, Plants and Water**"- Chapman Publisher., Riverside, CA.
- Chen J. Lü S. Zhang Z. Zhao X. Li X. Ning P. and Liu M. (2018). "Environmentally friendly fertilizers: A review of materials used and their effects on the environment" **Sci.Total Environ.**, **613**, pp 839-829.
- Cho U. and Seo N.(2005). T. F. T.Oxidative stress in Arabidopsis thaliana exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation" **Plant Sci.**, **168**, pp 113-120.

- Clarke J.M. Smith T. F. T. McCaig T. N. and Grean D. G. (1984). "Growth analysis of spring wheat cultivars of varying drought resistance" **Crop Sci.**, **24**, pp 537-541.
- Crowe J.H. Hoekstra F. A. and Crowe L. M.(1992). "Anhydrobiosis" **Annu. Rev. Plant Biol.**, **54**, pp 579-599.
- Devau N. Cadre E.L. Hinsinger P. Jaillard B. and Gérard F. (2009). "Soil pH controls the environmental availability of phosphorus" **Appl Geo.**, **24**, **11**, pp 2163-2174.
- Dhindsa R.S. and Clenland R.E.(1975). "Water stress and protein synthesis" **Plant Physiol.**, **55**, pp 782-785.
- Dogan E. Kirnak H. and Copur O. (2007). "Deficit irrigation during soybean reproductive stages and CROPGRO-soybean simulations under semi-arid climatic conditions" **Field Crops Res.**, **103**, pp 154-159.
- Dudal R. (1976). "Inventory of major soils of the world with special reference to mineral stress" **Plant Adapt. Miner. Stress Probl. Soils.**, pp 160-166
- Epure L.I. Roman G. and Maracineanu R. (2011). "Studies on medicinal and aromatic plants used in the therapeutic recipes in the bucharest university hospital" **Sci. Pap UASVM.**, **54**, pp 304-313.
- Feller U. (2004). "Proteolysis. In: Plant Cell Death Processes" **Ed. Elsevier.**, pp 107-123.
- Fernandez R. Scull R. Gonzales J. L. Crespo M. Sanchez E. and Carballo C.(1993). "Effect of fertilization on yield and quality of *Matricaria recutita* L. (Chamomile)". **Aspects of mineral nutrition of the crop**. Memorias 11th congreso latinoamericano de la ciencia del suelo. 2ed congreso cubcno de la Ciencia del Suelo. Vol. 3, 891-894.
- Fhatuwani N M.(2007). "Effects of nitrogen, phosphorus, and potassium nutrition on total polyphenol content of Bush tea (*Athrixia phylicoides* L.) leaves in shaded nursery environment" **Hortscience.**, **42**, **2**, pp 334 – 8.
- Frederick J.R. Camp C.R. and Bauer J.B. (2001). "Drought stress effects on branch and main stem seed yield and yield components of determinate soybean" **Crop Sci.**, **41**,pp 759-763.
- Fu J. and Huang B. (2001). "In volvement of antioxidant and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress" **Environ. Exp. Bot.**, **45**, pp 105-114.

- Gamalero E. Berta G. and Glick B. R., (2009) “ The use of microorganisms to facilitate the growth of plants in saline soils“ , pp 1-22, London.
- Garratt L. C. Janagoudar B.S. Lowe K.C. Anthony P. Bower J.B. and Devey M.R. (2002). “ Salinity tolerance and antioxidant status in cotton cultures“ **Free Radical Biol.Med.**, **33**, pp 502-511.
- Gilik B.R. Penrose D. and Wenbo M.(2001). “Bacterial promotion of plant growth“ **Biotechnol. Adv.**, **19**, pp 135- 138.
- Gogoi P. Singh R. (2011). “Differential effect of some arbuscular mycorrhizal fungi on growth of *Piper longum* L.(Piperaceae) “ **Indian J. Sci. Technol.**, **4**, pp 119-125.
- Gong ZP. Li S. Guo X and Jing X. (2001). “Bioslurry remediation of soil contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons“ **China Environ. Sci.**, **22** ,5, pp 112-116.
- Gouda S. Kerry R.G. Das G. Paramithiotis S. Shin H-S. and Patra J.K. (2018). “Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture“ **Microbiol. Res.**, **206**, pp 131-140.
- Guo Z. Ou W. Lu S. and Zhong Q.(2006). “Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity” **Plant Physiol. Biochem.**, **44**, pp 828-836.
- Gupta M. Prasad A. Ram M. and 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” **Bioresour. Technol.**, **81**, pp 77-79.
- Gutierrez-Manero F.J. Ramos-Solano B. Probanza A. Mehouchi J. Tadeo F.R. and Talon M.(2001).“The plant-growth promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins” **Physiol. Plant.**, **111**, pp 206-211.
- Hadidi N. (1999). “Germination and early growth of two common bean cultivars as affected by water stress and seed size” **Agric.Sci.**, **26**, **1**, pp 23- 35.
- Han H.S. and Lee K.D.(2006). “Effect of inoculation with phosphate and potassium co-insolubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber” **Plant, Soil Environ.**, **52**, pp 130-136.

- Harb A. Krishnan A. Ambavaram M.M. Pereira A.(2010). "Molecular and physiological analysis of drought stress in Arabidopsis reveals early responses leading to acclimation in plant growth" **Plant Physiol.**, **154**, pp **1254-1271**.
- Harridy I.M. and Amara M.(1998). "Effect of presowing inoculation of seeds by nitrogen fixed bacteria on growth, fruit production, sepals yield and the chemical composition of roselle plants"., **Egypt . J. Appl. Sci.**, **13**, pp **217-231**.
- Hazzit M. Baaliouamer A. Verissimo A. Faleiro M. Miguel M.G.(2009). "Chemical composition and biological activities of Algerian Thymus oils" **Food Chem.**,**116**,7,pp 714-721.
- He F.L. Mu G. Yan L. Liang N. Wang J. Reeves M. and Duan C. (2010). "Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes" **Mol.**, **15**, pp **9057-9091**.
- Heing B. Ugrinovic K. Sustar-Vozlic J. and Kidric M.(2004). "Different classes of proteases are involved in the response to drought of *Phaseolus vulgaris* L. cultivars differing in sensitivity" **J. Plant Physiol.**, **161** ,5, pp **519-530**.
- Hendawy S. Ezz El-Din A. Aziz E E. and Omer E.(2010). "Productivity and oil quality of *Thymus vulgaris* L. under organic fertilization conditions" **Ozean J. Appl Sci.**, **3**, pp **203-216**.
- Hun H.S. and Lee K.D. (2005). "Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis, mineral uptake and growth of lettuce under soil salinity" **Res.J. Agric.Biol.Sci.**, **1**, **3**, pp **210-215**.
- Islam F. Yasmeen T. Ali Q. Ali S. Arif MS. Hussain S. Rizvi H.(2014). "Influence of *Pseudomonas aeruginosa* as PGPR on oxidative stress tolerance in wheat under Zn stress" **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, **104**, pp **285-93**.
- Jaleel C.A. Sankar B. Murali P.V. Gomathinayagam M. Lakshmanan G.M.A. and Panneerselvam R.(2008). "Water deficit stress effects on reactive oxygen metabolism in *Catharanthus roseus* L. impact on ajmalicine accumulation" **Colloids Surf B.**, **62**,pp **105-111**.

Jang I.B. Hyun D.Y. Lee S.W. and Kim G.H. (2014). "Analysis of growth characteristics affected by application of azospirillum and pseudomonas in barley field" **Crop Sci.**, **22**, pp 441-450.

Jones C.A. Jacobsen J.S. and Wraith J.M. (2003). The effects of P fertilization on drought tolerance of *malt barley*. In *Westem Nutrient Management Conference*, 5, 88-93.

Jones, C.A., Jacobsen, J.S. and Wraith, J.M., (2003) "The effects of P fertilization on drought tolerance of *malt barley*" *Westem Nutrient Management Conference*, 5, pp 88-93.

Joshee N. Mentreddy S. Yadav A.K. (2007). "Mycorrhizal fungi and growth and development of micropropagated *Scutellaria integrifolia* plants" **Ind.Crops Prod.**, **25**, pp 169-177.

Jung S. (2004). "Variation in antioxidant metabolism of young and mature leaves of *Arabidopsis thaliana* subjected to drought" **Plant Sci.**, **166**, **2**, pp 459- 466.

Kader M.A. (2002). "Effects of Azotobacter inoculant on the yield and nitrogen uptake by wheat" **J. Biol. Sci.**, **2**, pp 259-261.

Kapoor R. Giri B. and Mukerji K.G. (2002). "Mycorrhization of coriander (*Coriandrum sativum* L) to enhance the concentration and quality of essential oil" **J.Sci.Food Agric.**, **82**, pp 339-342.

Karagiannidis N. Thomidis T. Panou-Filotheou E. and Karagiannidou C. (2012). "Response of three mint and two oregano species to *Glomus etunicatum* inoculation" **Aust. J. Crop Sci.**, **6**, pp 164.

Karam F. Masaad R. Sfeir T. Mounzer O. and Roupheal Y.(2005). "Evapotranspiration and seed yield of field grown soybean under deficit irrigation conditions" **Agric.Manage.Water.**, **75**, **3**, pp 226-244.

Kasaei A. Mobini-Dehkordi M. Mahjoubi F. and Saffar B. (2017). "Isolation of taxol-producing endophytic fungi from Iranian yew through novel molecular approach and their effects on human breast cancer cell line" **Curr. Microbiol.**, **74**, pp702-709.

Keles Y. and Oncel I. (2002). "Response of the antioxidative defence system to temperature and water stress combinations in wheat seedlings" **Plant Sci.**, **163**, pp 783-90.

Kennedy A.C. and Smith K., (1995) "Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils", pp75-86, Springer.

- Khalafallah A. A. and Abo-Ghalia H. H. (2008). "Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the metabolic products and activity of antioxidant system in wheat plants subjected to short-term water stress, followed by recovery at different growth stages" **J.Appl.Sci.Res.**, **4**, pp 559–569.
- Khalid K.A.(2006). "Influence of water stress on growth, essential oil, and chemical composition of herbs (*Ocimum* spp.)" **Int.Agrophys.**, **20**, pp 289-296.
- Khalvati M.A. Mozafar Y. HU. and Schmidhalter U.(2005). "Quantification of water uptake by arbuscular mycorrhiza hyphae and its significance for leaf growth, water relations, and gas exchange of barley subjected to drought stress" **Plant Boil.**, **7**,pp 706-712.
- Kim B.J. Kim J.H. Kim H.P. and Heo M.Y.(1997). " Biological screening of 100 plant extracts for cosmetic use (II):Antioxidative activity and free radical scavenging activity" **Int.JCosmet.Sci.**, **19**, **6**, pp 299-307.
- Kintzios S.E. (2006). "Terrestrial plant-derived anticancer agents and plant species used in anticancer research" **Crit.Rev.Plant Sci.**, **25**, pp79-113.
- Kizilkaya R.(2008). "Yield response and nitrogen concentrations of spring wheat(*Triticum aestivum*) inoculated with(*Azotobacter chroococum*) strains" **Ecol.Eng.**, **3**, **3**, pp150-156.
- Krishnamoorthy V. and Madalager M. B. (1999). "Bishop weed (*Trachyspermum ammi*): An essential crop for north Karntaka" **J.Med.Aromat.Plant Sci.** **21**, **4**, pp 996-998.
- Krizek D.T. Britz S.J. and 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" **Physiol.Plant.**, **103**, pp 131-137
- Kumari P. Meena M. and Upadhyay R. (2018). "Characterization of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) isolated from the rhizosphere of *Vigna radiata* (mung bean)" **Biocatal.Agric.Biotechnol.**, **16**, pp 155-162.
- Lawless J. (2013). "The Encyclopedia of essential oils: the complete guide to the use of aromatic oils in aromatherapy, herbalism, health, and well being Conari Press". pp 168-176
- Lee S. J. Umano K. Shibamoto T. Lee K.G. (2005). " Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties" **Food Chem.**, **91**, pp.

- Mahfouz S.A. and Sharaf-Eldin M.A. (2007). "Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield and essential oil content of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) " **Inter. Agrophysio.**, **21**, pp 361-366.
- Manju K. Jat R. Anju G. (2017). "A review on medicinal plants used as a source of anticancer agents" **Inter.J. Drug. Res ,Technol.**, **2**, pp 6.
- Miller G. Suzuki N. and Ciftci-Yilmaz S. (2010). "Reactive oxygen species homeostasis and signaling during drought and salinity stresses" **Plant Cell and Enviro.**, **33**, pp 453-467.
- Mita S. Murano N. Akaike M. and 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.J.**, **11**, pp 841-851.
- Mittler R and Poulos T.L.(2005). "Ascorbate peroxidase. In Antioxidants and reactive oxygen species in plants" , Blackwell Publishing Ltd , Chennai, India, pp 87-100.
- Muni Ram D. and Singh S.(1995). "Irrigation and nitrogen requirements of Bergamot min on a sandy loam soil under sub-tropical conditions" **Agric.Manage.Water.**, **27**, pp 45-54.
- Nakano Y. and Asada K.(1981). "Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts" **Plant Cell physiol.**, **22**, pp 867-880.
- Narsian V. and Patel H. (2006). " Biodiversity of phosphate solubilizing microorganisms in various rhizosphere soils of bhavnagar district" **Asian J.Microbiol.,Biotechnol.EnvIRON. Sci.**, **8**, pp 201.
- Nikolić M. Glamočlija J. Ferreira I.C. Calhella R.C. Fernandes Â. Marković T. Marković D. Giweli A. and Soković M. (2014). "Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut and *Thymus vulgaris* L. essential oils" **Ind.Crops Prod.**, **52**, pp 183-190.
- Olsen S.R. Cole C.V. Watanabe F.S. and Dean L.A. (1954). "**Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate**" , Agriculture. depart. U.S. pp 939.
- Ortas I.(2010). "Effect of mycorrhiza application on plant growth and nutrient uptake in cucumber production under field conditions" **Spanish J. Agri. Res.**, **8**, pp 116-122.

- Oussalah M. Caillet S. Saucier L. and Lacroix M. (2006). "Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat" **Meat Sci.**, **73**, pp 236-244.
- Pal K.K. Tilak V.B.R. Saxena A.K. Dey R. and Singh C.S. (2001). "Suppression of maize root diseases caused by *Macrophomia phaseolina*, *Fusarium moniliforme* and *Fusarium graminearum* caused by plant growth promoting rhizobacteria" **Microbiol. Res.**, **156**, pp 209–223.
- Pedrol N. Ramos P. and Riegosa M. J. (2000). "Phenotypic plasticity and acclimation to water deficits in velvet-grass: a long-term greenhouse experiment Changes in leaf morphology, photosynthesis and stress-induced metabolites" **Plant Physiol.**, **157**, pp 383-393.
- Pezzuto J.M. (1997). "Plant-derived anticancer agents" **Biochem. Pharmacol.**, **53**, pp 121-133.
- Porcel R. Ruiz-Lozano JM.(2004). " Arbuscularmycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress" **J.Exp.Bot.**, **55**, pp 1743–50.
- Rademacher W.(1994). " Gibberellin formation in microorganisms" **Plant Growth Regul.**, **15**, pp 303-314.
- Raja N. (2013). "Biopesticides and biofertilizers: ecofriendly sources for sustainable agriculture" **J Biofertil Biopestici.**, pp 4.
- Rajendran K. Devaraj P. (2004). "Biomass and nutrient distribution and their return of *Casuarina equisetifolia* inoculated with biofertilizers in farm land" **Biomass Bioenergy.**,**26**, pp 235-249.
- Rao A. Weisany W. and Punja Z.K. (2014). "Physiological responses of barley to biofertilizer application under low water stress" **Aust. J. Crop Sci.**, **5**, pp 1441-1447.
- Ratti N. Kumar S. Verma H.N. and Gautam S.P. (2001). "Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to *Cymbopogon martini* var. *Motia* by *Rhizobacteria*, AMF and *Azospirillum* inoculation" **Microbiol.Res.**, **156**, pp 145-149.
- Redecker D. Morton J.B. and Bruns T.D. (2000). "Ancestral lineages of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales) " **Mol. Phylogenet. Evol.**, **14**, pp 276-284.

- Rooster DE. Snyman JC. Smith BL. Fourie PF. De Villiers AE. Willers P. and Schwartz A. (1985). "Tea cultivation in South Africa" **Tea.**, **1**, pp 1 – 7.
- Rubio M. C. González E. M. Minchin F. R. Webb K. J. Arrese-Igor C. Ramos J. and Becana M. (2002). " Effects of water stress on antioxidant enzymes of leaves and nodules of transgenic alfalfa overexpressing superoxide dismutases" **Physiol.Plant.**, **115**, pp 40-531.
- Ruiz-Lozano J.M.(2003). "Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stresses, new perspectives for molecular studies" **Mycorrhiza.**, **13**, pp 309-17.
- Sánchez-Blanco M.J. Ferrández T. Morales M.A. Morte A. Alarcón J.J. (2004). "Variations in water status, gas exchange, and growth in *Rosmarinus officinalis* plants infected with *Glomus deserticola* under drought conditions" **J. Plant Physiol.**, **161**, pp 675-682.
- Sanchez Govin E. Rodriguez Gonzales H. Carballo Guerra C. and 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. Cub. De Plants Med.**, **10** ,**1**, pp 1-5.
- Sangtarash M.H. Qaderi M.M. Chinnappa C.C. and Reid D.M. (2009). "Carotenoid differential sensitivity of canola (*Brassica napus*) seedlings to ultraviolet-B radiation, water stress and abscisic acid" **Environ.Exp.Bot.**, **66**, **2**, pp 212-219.
- Seevers P.M. and Daly J.M.(1970). "Studies on wheat stem rust resistance controlled at the Sr6 locus. II. Peroxidase activities" **Phytopathology.**, **60**,**11**,pp 1642-1647.
- Selye H. (1956), "**The stress of life**". McGraw-Hill Book Compan, New York, pp 538-546.
- Shinozaki K. Yamaguchi-Shinozaki K. (2006). "Gene networks involved in drought stress response and tolerance" **J.Exp.Bot.**, **58**, pp 221-227.
- Selmar D. (2008). "Potential of salt and drought stress to increase pharmaceutical significant secondary compounds in plants" **Land. Vol.**, **58**, pp139.
- Selosse M.A. Baudoin E. Vandenkoornhuyse P. (2004). "Symbiotic microorganisms, a key for ecological success and protection of plants" **C.R.Biol.**, **327**, pp 639-648.
- Seyoum A. Asres K. avd El-Fiky F.K.(2006). "Structure radical scavenging activity relationships of flavonoid" **Phytochemistry.**, **67**, **18**, pp 2058-2070.

- Schonfeld M. A. Johnson R. C. Carver B. F. and Mornhinweg D.W.(1988). "Water relation in winter wheat as drought resistance indicators" **Crop Sci**, **28**, pp 526-531.
- Schutz M. and Fangmeir E. (2001). "Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv.Minaret) to elevated CO₂ and water limitation" **Environ. Pollut.**, **114**, **2**, pp 187-194.
- Sharma P. and Dubey R.S. (2005). "Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings" **Plant Growth Regul.**, **46**, p 209-221.
- Simon J.E. Bubenheim R.D. Joly R.J. and Chrles D.J. (1992). "Water stress induced alternations in essential oil content and composition of sweet basil" **J.Essent.Oil Res.**, **4**, pp 71-75.
- Singh H.P. Batish D.R. Kaur S. Arora K. and Kohli R.K. (2006). "A-pinene inhibits growth and induces oxidative stress in roots" **Ann.Bot.**, **98**, pp 1261- 1269.
- Singh J.S. Pandey V.C. and Singh D. (2011). "Efficient soil microorganisms: a new dimension for sustainable agriculture and environmental development" **Agric., Ecosyst. Environ.**, **140**, pp 339-353.
- Smith S.E. Facelli E. Pope S. and Smith F.A.(2010). "Plant performance in stressful environments: interpreting new and established knowledge of the roles of *Arbuscular mycorrhizas*" **Plant soil.**, **326**, pp 3-20.
- Song H. (2005). "Effects of VAM on host plant in the condition of drought stress and its mechanisms" **El. J.Biolog.**, **1**, pp 44-48.
- 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" **J.Med.Aromat.Plant Sci.**, **22**, pp 356-358.
- Stahl-Biskup E. and Sáez F. (2003). "Thyme: the genus *Thymus* CRC Press" **J.Biol.**, **56**, pp 228-236
- Totten P.A. Lara J.C. and Lory S. (1990). "The rpoN gene product of *Pseudomonas aeruginosa* is required for expression of diverse genes, including the flagellin gene" **J.Bacteriol.**, **172**, pp 389-396.

- Thomas M.T. and Gausling T. (2000). "Morphological and physiological responses of oak (*Quercus petraea* and *Q. robur*) to moderate drought" **Ann.For.Sci.**, **57**, pp 325-333.
- Tilak K.V. Ranganayaki N. Pal K.K. De R. Saxena A. K. Shekhar Nautiyal C. Shilpi Mittal Tripathi A. K. and Johri B. N. (2005). "Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria" **Curr Sci.**, **89**, pp 136-150.
- Vessey J.K. (2003). "Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers" **Plant soil.**, **255**, pp 571-586.
- Wise R.R. and Naylor A.W. (1987). "Chilling enhanced photo-oxidation, the peroxidative destruction of lipids during chilling injury to photosynthesis and ultrastructure" **Plant Physiology.**, **83**, pp 272-287.
- Wu Q. and Xia R. (2006). "Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and water stress conditions" **J.Plant Physiol.**, **163**, pp 417-425.
- Wu Q.S. Xia R. X. and Zou Y. N. (2008). "Improved soil structure and citrus growth after inoculation with three arbuscular mycorrhizal fungi under drought stress" **Eur J.Soil Biol.**, **44**, **1**, pp 122-128.
- Wu S. Cao Z. Li Z. Cheung K. Wong M. (2005). "Effects of biofertilizer containing N-fixers, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial" **Geoderma.**, **125**, pp 155-166.
- Youssef A. Edris A. and Gomaa A. (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. " **Plants Ann . Agri Sci-Cairo.**, **49**, pp 299-312.
- Zahir Z.A. Arshad M. and Frankenberger W.T. (2003). "Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture" **Adv.Agron.**, **81**, pp 97-168.
- Zaidi A. Khan M.S. and Amil M.D. (2003). "Interactive effect of rhizotrophic microorganisms on yield and nutrient uptake of chickpea (*Cicer arietinum* L.) " **Eur.J.Agron.**, **19**, pp 15-21.
- Zelong L. and Junhui P. (2017). "A practical method for extending the biuret assay to protein determination of corn-based products" **Food Chem.**, pp 289-293.

Zhang J. and Kirkham M.B.(1996). “Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings” **New Phytol.**, **132**, pp **361-373**.

Zhang K. M. Yu H. J. Shi K. Zhou Y. H. Yu J. Q. and Xia X. J. (2010). “Photoprotective roles of anthocyanins in *Begonia semperflorens*” **Plant Sci.**, **179,3**, pp **202-208**.

Zhu J.K. (2002). “Salt and drought stress signal transduction in plants” **Annu.Rev.Plant Biol.**, **53**, pp **247-273**.

Zhu X. Song F. and Liu S.(2011). “ Arbuscular mycorrhiza impacts on drought stress of maize plants by lipid peroxidation, proline content and activity of antioxidant system” **J.Food,Agric.EnvIRON.**, **9**, pp **583–587**.

پورت

پیوست ۱- ضرایب همبستگی ساده صفات در سال اول زراعی

صفات	ارتفاع	تعداد شاخه جانبی	عملکرد سرشاخه گلدان	عملکرد بیولوژیک	کلروفیل کل	کاروتنوئید	آنتوسیانین	فلاونوئید	اسانس	فنل	قندهای محلول	پروتئین	پرولین	نیتروژن	فسفر	پتاسیم	کاتالاز	پراکسیداز	آسکوربات	سوپراکسید دیسموتاز
ارتفاع	۱																			
تعداد شاخه جانبی	۰/۴۰**	۱																		
عملکرد سرشاخه گلدان	۰/۵۰**	۰/۴۹**	۱																	
عملکرد بیولوژیک	۰/۴۰**	۰/۷۸**	۰/۸۷**	۱																
کلروفیل کل	۰/۵۵**	۰/۶۰**	۰/۶۲**	۰/۵۵**	۱															
کاروتنوئید	۰/۲۴ ^{ns}	۰/۵۴**	۰/۴۵**	۰/۵۱**	۰/۷۴**	۱														
آنتوسیانین	۰/۲۴ ^{ns}	۰/۱۷ ^{ns}	۰/۲۳ ^{ns}	۰/۱۴ ^{ns}	۰/۲۷ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}	۱													
فلاونوئید	۰/۲۰ ^{ns}	۰/۱۷ ^{ns}	۰/۲۴ ^{ns}	۰/۲۳ ^{ns}	۰/۲۷ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}	۱													
اسانس	۰/۳۰*	۰/۴۵**	۰/۶۴*	۰/۲۵ ^{ns}	۰/۲۵ ^{ns}	۰/۳۵*	۰/۲۴ ^{ns}	۱												
فنل	۰/۳۰*	۰/۴۵**	۰/۶۴*	۰/۲۵ ^{ns}	۰/۲۵ ^{ns}	۰/۳۵*	۰/۲۴ ^{ns}	۱												
قندهای محلول	۰/۷۱ ^{ns}	۰/۴۲**	۰/۲۵ ^{ns}	۰/۲۵ ^{ns}	۰/۲۵ ^{ns}	۰/۲۵ ^{ns}	۰/۲۵ ^{ns}	۱												
پروتئین	۰/۴*	۰/۳۰*	۰/۳۴*	۰/۳۰*	۰/۳۰*	۰/۳۰*	۰/۳۰*	۱												
پرولین	۰/۵ ^{ns}	۰/۴۵**	۰/۶۴*	۰/۲۵ ^{ns}	۰/۲۵ ^{ns}	۰/۲۵ ^{ns}	۰/۲۵ ^{ns}	۰/۲۵ ^{ns}	۱											
نیتروژن	۰/۱۵ ^{ns}	۰/۱۶ ^{ns}	۰/۲۳ ^{ns}	۰/۲۳ ^{ns}	۰/۲۳ ^{ns}	۰/۲۳ ^{ns}	۰/۲۳ ^{ns}	۰/۲۳ ^{ns}	۰/۲۳ ^{ns}	۱										
فسفر	۰/۰۸ ^{ns}	۰/۱۳ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}	۱									
پتاسیم	۰/۲۰ ^{ns}	۰/۰۴ ^{ns}	۰/۰۷ ^{ns}	۰/۰۷ ^{ns}	۰/۰۷ ^{ns}	۰/۰۷ ^{ns}	۰/۰۷ ^{ns}	۰/۰۷ ^{ns}	۰/۰۷ ^{ns}	۰/۰۷ ^{ns}	۰/۰۷ ^{ns}	۱								
کاتالاز	۰/۰۹ ^{ns}	۰/۰۴ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	۱							
پراکسیداز	۰/۱۵ ^{ns}	۰/۲۳ ^{ns}	۰/۳۸**	۰/۳۸**	۰/۳۸**	۰/۳۸**	۰/۳۸**	۰/۳۸**	۰/۳۸**	۰/۳۸**	۰/۳۸**	۰/۳۸**	۰/۳۸**	۱						
آسکوربات	۰/۱۵ ^{ns}	۰/۲۳ ^{ns}	۰/۳۸**	۰/۳۸**	۰/۳۸**	۰/۳۸**	۰/۳۸**	۰/۳۸**	۰/۳۸**	۰/۳۸**	۰/۳۸**	۰/۳۸**	۰/۳۸**	۰/۳۸**	۰/۳۸**	۱				
سوپراکسید دیسموتاز	۰/۳۲**	۰/۴۳**	۰/۴۷**	۰/۴۷**	۰/۴۷**	۰/۴۷**	۰/۴۷**	۰/۴۷**	۰/۴۷**	۰/۴۷**	۰/۴۷**	۰/۴۷**	۰/۴۷**	۰/۴۷**	۰/۴۷**	۰/۴۷**	۱			

ns، *، ** به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی دار، اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

پیوست ۲- ضرایب همبستگی ساده صفات در سال دوم زراعی

صفات	ارتفاع	تعداد شاخه جانبی	عملکرد سرشاخه گلدار	عملکرد بیولوژیک	کلروفیل کل	کاروتنوئید	آنتوسیانین	فلاونوئید	اسانس	فنل	قندهای محلول	پروتئین	پرولین	نیتروژن	فسفر	پتاسیم	کاتالاز	پراکسیداز	آسکوربات	سوپراکسید دیسموتاز
ارتفاع	۱	۰/۴۳**	۰/۴۴**	۰/۷۸**	۰/۵۸**	۰/۳۳*	۰/۱۸ ^{ns}	۰/۱۷ ^{ns}	۰/۶۱**	۰/۳۸**	۰/۱۴ ^{ns}	۰/۳۱*	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۳۰*	۰/۱۷ ^{ns}	۰/۳۱ ^{ns}	۰/۰۷ ^{ns}	۰/۰۵ ^{ns}	۰/۰۹ ^{ns}	۰/۲۷ ^{ns}
تعدادشاخه جانبی	۰/۴۳**	۱	۰/۴۴**	۰/۷۸**	۰/۵۸**	۰/۵۶**	۰/۱۲ ^{ns}	۰/۶۱**	۰/۵۵**	۰/۴۶**	۰/۴۳**	۰/۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۴۵**	۰/۱۴ ^{ns}	۰/۱۱ ^{ns}	۰/۰۵ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۲۳ ^{ns}	۰/۲۴**
جانبی عملکرد سرشاخه گلدار	۰/۴۷**	۰/۴۴**	۱	۰/۸۴**	۰/۵۶**	۰/۴۴**	۰/۲۴ ^{ns}	۰/۲۴ ^{ns}	۰/۶۱**	۰/۴۲**	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۳*	۰/۱ ^{ns}	۰/۱ ^{ns}	۰/۰۹ ^{ns}	۰/۱۲ ^{ns}	۰/۲۰ ^{ns}	۰/۱۸ ^{ns}	۰/۳۴*	۰/۳۵*
عملکرد بیولوژیک	۰/۳۷*	۰/۷۸**	۰/۸۴**	۱	۰/۵۱**	۰/۵۳**	۰/۱۵ ^{ns}	۰/۵۱**	۰/۵۳**	۰/۳۹**	۰/۲۶ ^{ns}	۰/۰۹ ^{ns}	۰/۰۹ ^{ns}	۰/۱۰ ^{ns}	۰/۰۰۹ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۰۸ ^{ns}	۰/۰۹ ^{ns}	۰/۳۸**	۰/۴۹**
کلروفیل کل	۰/۶۰**	۰/۵۸**	۰/۵۶**	۰/۵۱	۱	۰/۷۱**	۰/۱۵ ^{ns}	۰/۲۹ ^{ns}	۰/۷۵**	۰/۷۰**	۰/۱۹ ^{ns}	۰/۴۷**	۰/۳۱*	۰/۴۵**	۰/۲۳ ^{ns}	۰/۰۴ ^{ns}	۰/۲۲۰ ^{ns}	۰/۲۴ ^{ns}	۰/۳۱*	۰/۱۸ ^{ns}
کاروتنوئید	۰/۳۳*	۰/۵۶**	۰/۴۴**	۰/۵۳**	۰/۷۱**	۱	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۳۵*	۰/۳۳**	۰/۶۹**	۰/۴۰**	۰/۰۲ ^{ns}	۰/۴۲**	۰/۵۲**	۰/۰۹ ^{ns}	۰/۲۵*	۰/۱۸ ^{ns}	۰/۳۴*	۰/۵۷**	۰/۲۷ ^{ns}
آنتوسیانین	۰/۱۸ ^{ns}	۰/۱۲ ^{ns}	۰/۲۴ ^{ns}	۰/۱۵ ^{ns}	۰/۱۵ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}	۱	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۲۶ ^{ns}	۰/۲۰ ^{ns}	۰/۱۵ ^{ns}	۰/۱۷*	۰/۱۱ ^{ns}	۰/۱۲ ^{ns}	۰/۰۴ ^{ns}	۰/۱۴ ^{ns}	۰/۳۱*	۰/۳۳*	۰/۲۱ ^{ns}	۰/۰۱ ^{ns}
فلاونوئید	۰/۱۷ ^{ns}	۰/۰۶۱**	۰/۲۴ ^{ns}	۰/۵۱**	۰/۲۹ ^{ns}	۰/۳۵*	۰/۰۱ ^{ns}	۱	۰/۴۱**	۰/۳۱*	۰/۱۸ ^{ns}	۰/۳۷*	۰/۳۵*	۰/۰۵ ^{ns}	۰/۱۲ ^{ns}	۰/۲۴ ^{ns}	۰/۲۴ ^{ns}	۰/۳۴*	۰/۱۵ ^{ns}	۰/۴۸**
اسانس	۰/۰۶۱**	۰/۵۵**	۰/۶۱**	۰/۵۳**	۰/۷۵**	۰/۳۳**	۰/۲۳ ^{ns}	۰/۴۱**	۱	۰/۵۶**	۰/۱۴ ^{ns}	۰/۳۳*	۰/۱۶ ^{ns}	۰/۲۷ ^{ns}	۰/۱ ^{ns}	۰/۲۹*	۰/۳۳*	۰/۱۳ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}	۰/۴۱**
فنل	۰/۳۸**	۰/۷۸**	۰/۸۴**	۰/۳۹**	۰/۷۰**	۰/۳۱*	۰/۲۰ ^{ns}	۰/۳۱*	۰/۵۶**	۱	۰/۱۱ ^{ns}	۰/۰۴ ^{ns}	۰/۵۰**	۰/۰۶۱**	۰/۰۴ ^{ns}	۰/۰۷ ^{ns}	۰/۳۱*	۰/۱۸ ^{ns}	۰/۱۸ ^{ns}	۰/۲۸ ^{ns}
قندهای محلول	۰/۱۴ ^{ns}	۰/۴۳**	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۲۶ ^{ns}	۰/۱۹ ^{ns}	۰/۱۴ ^{ns}	۰/۱۵ ^{ns}	۰/۱۸ ^{ns}	۰/۱۴ ^{ns}	۰/۱۱ ^{ns}	۱	۰/۰۴ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۲۴ ^{ns}	۰/۱۲ ^{ns}	۰/۱۲ ^{ns}	۰/۰۷ ^{ns}	۰/۰۳*	۰/۳۲*	۰/۱۳ ^{ns}
پروتئین	۰/۳۱*	۰/۰۰۲ ^{ns}	۰/۳*	۰/۰۹ ^{ns}	۰/۴۷**	۰/۳۷*	۰/۲۷*	۰/۲۷*	۰/۳۳*	۰/۰۴ ^{ns}	۰/۰۴ ^{ns}	۱	۰/۳۳*	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۰۷ ^{ns}	۰/۱۱ ^{ns}	۰/۰۵ ^{ns}	۰/۰۸ ^{ns}	۰/۰۸ ^{ns}
پرولین	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۰۴۵**	۰/۱ ^{ns}	۰/۰۹ ^{ns}	۰/۳۳*	۰/۵۰**	۰/۱۶ ^{ns}	۰/۳۵*	۰/۱۶ ^{ns}	۰/۵۰**	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۳۳*	۱	۰/۱۴ ^{ns}	۰/۳۳*	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۰۹ ^{ns}	۰/۰۳*	۰/۳۳*	۰/۰۸ ^{ns}
نیتروژن	۰/۳۰*	۰/۱۴ ^{ns}	۰/۱ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}	۰/۲۴ ^{ns}	۰/۰۶۱**	۰/۱۲ ^{ns}	۰/۰۵ ^{ns}	۰/۰۲۷ ^{ns}	۰/۰۶۱**	۰/۰۲ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}	۱	۰/۱ ^{ns}	۰/۱۷ ^{ns}	۰/۱۶ ^{ns}	۰/۲۷ ^{ns}	۰/۰۷ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}
فسفر	۰/۱۷ ^{ns}	۰/۰۴ ^{ns}	۰/۱ ^{ns}	۰/۰۹ ^{ns}	۰/۲۳ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۰۴ ^{ns}	۰/۲۳ ^{ns}	۰/۱۰ ^{ns}	۰/۰۴ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۱ ^{ns}	۰/۱۷ ^{ns}	۰/۰۴ ^{ns}	۰/۰۴ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}
پتاسیم	۰/۳۱*	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۱ ^{ns}	۰/۰۹ ^{ns}	۰/۱۸ ^{ns}	۰/۲۹ ^{ns}	۰/۰۴ ^{ns}	۰/۲۳ ^{ns}	۰/۱۰ ^{ns}	۰/۰۷ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۱ ^{ns}	۰/۱۷ ^{ns}	۰/۰۴ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}
کاتالاز	۰/۰۲ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۱ ^{ns}	۰/۰۸ ^{ns}	۰/۲۰ ^{ns}	۰/۳۱*	۰/۱۸ ^{ns}	۰/۲۳ ^{ns}	۰/۰۸ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}	۱	۰/۲۷ ^{ns}	۰/۳۹**	۱	۰/۱۲ ^{ns}	۰/۱۲ ^{ns}	
پراکسیداز	۰/۰۵ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۱۸ ^{ns}	۰/۰۹ ^{ns}	۰/۰۳۴*	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۱۴ ^{ns}	۰/۲۴ ^{ns}	۰/۱۳ ^{ns}	۰/۲۰ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۱۱ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۰۱۷ ^{ns}	۰/۰۳۱ ^{ns}	۰/۰۱۴ ^{ns}	۰/۳۹**	۱	۰/۴۲**	۰/۱۰ ^{ns}
آسکوربات	۰/۰۹ ^{ns}	۰/۰۲۳ ^{ns}	۰/۰۳۴*	۰/۰۳۸**	۰/۰۳۱*	۰/۰۳۱*	۰/۰۲۱ ^{ns}	۰/۰۲۷ ^{ns}	۰/۰۲۰ ^{ns}	۰/۱۸ ^{ns}	۰/۰۳۲*	۰/۰۰۵ ^{ns}	۰/۰۱۸ ^{ns}	۰/۰۱۷ ^{ns}	۰/۰۱۷ ^{ns}	۰/۰۳۳*	۰/۱۲ ^{ns}	۰/۴۲**	۱	۰/۰۸ ^{ns}
پراکسیداز	۰/۰۴۴**	۰/۰۴۴**	۰/۰۳۵*	۰/۰۴۹**	۰/۰۴۹**	۰/۰۱۸ ^{ns}	۰/۰۴۹**	۰/۰۲۳ ^{ns}	۰/۰۴۹**	۰/۰۲۸ ^{ns}	۰/۰۱۸ ^{ns}	۰/۰۳۳*	۰/۰۸ ^{ns}	۰/۰۷ ^{ns}	۰/۰۲۸ ^{ns}	۰/۰۳۰*	۰/۱۸ ^{ns}	۰/۱۸ ^{ns}	۰/۱۸ ^{ns}	۱
سوپراکسید دیسموتاز	۰/۰۲۷ ^{ns}	۰/۰۴۴**	۰/۰۳۵*	۰/۰۴۹**	۰/۰۴۹**	۰/۰۲۳ ^{ns}	۰/۰۲۳ ^{ns}	۰/۰۴۸**	۰/۰۴۱**	۰/۰۲۸ ^{ns}	۰/۰۱۳ ^{ns}	۰/۰۳۳*	۰/۰۸ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۰۲۸ ^{ns}	۰/۰۳۰*	۰/۱۸ ^{ns}	۰/۱۸ ^{ns}	۰/۱۸ ^{ns}	۱

ns، *، ** به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی دار، اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

Abstract

Water deficit is one of the inhibitors of agricultural production. Since the global approach in the production of medicinal plants is effective in improving the quantity and quality of effective substances, it seems that the healthy nutrition of plants through the use of biofertilizers is most in line with the goals of medicinal plant production. In order to investigate the effect of bio-fertilizers and non-bio fertilizers on yield and some physiomorphological *Thymus vulgaris* traits on water deficit stress, During 2017-18, Experiment was conducted as a split plot based a randomized complete block design with three replications in the Askariyeh field in Yazd. Experimental treatments including water deficit stress at three levels including $W_1=7$ (Control), $W_2=12$ and $W_3=17$ days irrigation interval as a main plot and bio and non bio fertilizers at five levels including B_1 =control(without fertilizer), B_2 =Endomycorrhizal (*Glomus mosseae*, *G.intraradics*, *G.etunicatum*), B_3 =*Azospirillum brasilense*, B_4 =*Pseudomonas fluorescens* and B_5 = chemical fertilizer(NPK) were the sub plots. The results of combined analysis showed that, the interaction of the year, water deficit stress fertilizers was significant in terms of on flavonoid and protein contents. The second year, had more flavonoid and protein levels than the first year. At stress levels from W_1 to W_3 , the amount of flavonoids was increased while the amount of leaf protein was reduced. Meanwhile, *Pseudomonas* was more efficient at the W_3 stress level. The interaction of water deficit stress and biological and non-biological fertilizers had a significant effect on flowering branches yield and biological yield. So that, with increasing the level of water deficit stress, their amount was reduced by 63%. Mycorrhiza and *Azospirillum* fertilizers were more effective in these conditions, respectively. Also, the interaction of water deficit stress and biological and non-biological fertilizers had a significant effect on total leaf chlorophyll content. with increasing the level of water deficit stress, the total chlorophyll content of the leaves decreased by 54%. At the highest level of water deficit stress, the use of *Pseudomonas* ameliorated the adverse effect of water deficit stress on the reduction of total chlorophyll in the leaves of thyme. About the percentage of essential oil and essential oil yield, simple effect of water deficit stress and biological and non-biological fertilizers on the percentage of essential oil and interaction of water deficit stress and biological and non-biological fertilizers on essential oil yield were

significant. So that water deficit stress at the highest level increased it by 31%. Among biological and non-biological fertilizers, mycorrhiza and pseudomonas fertilizer had a greater effect on the percentage of essential oil and essential oil yield respectively. In the case of the two elements nitrogen and phosphorus, the results of combined data analysis showed that the interaction of water deficit stress and bio- and non-bio-fertilizers had a significant effect on the concentration of these two elements in thyme leaves and caused a decrease in their concentration in the leaves by 54% and 59%, respectively. Azospirillum had a greater effect on water deficit stress in relation to the concentration of these two elements in thyme leaves. water deficit stress increased the amount of proline and soluble sugars in the leaves as well as the activity of antioxidant enzymes such as catalase, peroxidase and superoxidedismutase in the leaves of thyme and among biological and non-biological fertilizers, Pseudomonas fertilizer had a greater effect on these compounds. In general, from the results of two years of experimentation, it can be concluded that although water deficit stress reduces biological yield, yield of flowering branches and the amount of photosynthetic pigments (chlorophyll "a" and chlorophyll "b"), But in general, the use of Pseudomonas fertilizer by improving physiological and biochemical traits, improved the growth, biological yield and flowering branches yield. The use of biofertilizers, especially Pseudomonas fertilizer can greatly reduce adverse effects of water deficit stress. Therefore, the use of Pseudomonas in of water deficit stress conditions in this plant is recommended.

Keywords: *Thymus vulgaris*, Water deficit stress, Biofertilizers, Yield, Biochemical compounds



Shahrood University of
Technology

Faculty of Agriculture

Ph.D. Thesis in Agronomy-Crop physiology

**Effects of bio fertilizers and non- bio fertilizers on yield and some
physiomorphological *Thymus vulgaris* traits on water deficit stress**

By: Farideh Goshasbi

Supervisor:
Dr. Mostfa Heidari

Advisors:
Dr. Seyed Kazem Sabbagh
Dr. Hassan Makarian

September 2020