

Effect of irrigation interval, bio and non-biofertilizers on yield components and some of biochemical compounds in Thyme (*Thymus vulgaris* L.)

Farideh Goshasbi¹, Mostafa Heidari^{2*}, Seyed Kazem Sabbagh³, Hassan Makarian⁴

1- PhD student of Physiology, Department of Agronomy, Shahrood University, Shahrood, Iran.

faridehgoshasbi@gmail.com

2- Corresponding Author and Associate Prof. in Agronomy- Department of Agronomy-Shahrood University, Shahrood, Iran. haydari2005@gmail.com

3- Associate Prof. in Department of Biology, Yazd University, Yazd, Iran.

sksabbagh@yazd.ac.ir

4- Associate Prof. in Agronomy, Department of Agronomy, Shahrood University, Shahrood, Iran.

h.makarian@yahoo.com

Received Date: 2020/01/16

Accepted Date: 2020/06/20

Abstract

Introduction: Aromatic Thyme (*Thymus vulgaris* L; Lamiaceae) is a valuable and common medicinal plant in traditional medicine. Due to its main composition, thymol, is used in the food, pharmaceutical, health and cosmetic industries. Among the different species of Thyme, *Thymus vulgaris* is cultivated and produced in many parts of the world, including Iran (Omidbaigi, 2000). Water stress can decrease leaf height, number and leaf area, dry weight, stomata closure, chlorophyll content reduction and root growth in medicinal plants. Therefore, it is important to deal with the damaging effects of drought in different ways such as the use of biofertilizers.

Material and methods: To investigate the effects of irrigation interval 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 = Endo mycorrhizal (Glomus), B_3 = Azospirillum bacteria, B_4 = Pseudomonas bacteria and B_5 = chemical fertilizer(NPK) were considered as a sub plot on flowering branches yield, percentage of essential oil and some biochemical compounds in *Thymus vulgaris*. An experiment was conducted in a split plot design with randomized complete block design with three replications in 2017 in Asgarya agricultural field in Yazd. Finally, the data were analyzed through SAS statistical software and Excel software was used to draw charts. Means comparison was performed through LSD test at 5% probability level.

Results and discussion: The results showed that the highest of flowering branches yield and total phenol were observed in control of irrigation (w_1) and NPK treatment (B_5), the highest of biological yield and number of lateral branches were observed in control of irrigation (w_1) and mycorrhiza treatment (B_2), the highest of protein was observed in control of irrigation (w_1) and Azospirillum treatment (B_3), the highest of soluble carbohydrates was observed in w_2 and pseudomonas treatment (B_4), the highest of height was observed in control of irrigation (w_1), The highest of proline and the percentage of essential oil were observed in w_3 . In terms of fertilizer treatment, the highest of height, proline and the percentage of essential oil were observed in pseudomonas treatment (B_4), NPK (B_5) and mycorrhiza (B_2). In general, the results in this experiment can be expressed, in terms of water deficit stress, use of biological fertilizers, especially mycorrhizal, can partly reduce the adverse effects on this plant.

Conclusions: In general, it can be concluded that the use of bio fertilizers, especially mycorrhiza, can reduce the side effects of this plant in water deficit conditions. According to the results of this study, it is concluded that accumulation of proline and carbohydrates in Thyme aerial parts in the face of water deficit stress, is one of the mechanisms of drought resistance in this plant. Rapid accumulation of osmotic pressure-regulating substances such as proline and carbohydrate decrease the osmotic potential of plant cells and thus water absorption of the plant. Also, similarity of yield increase and yield components of flowering shoots in Thyme with biofertilizers especially Mycorrhiza under stress conditions has positive effects of this fertilizer by improving physiological traits in the plant. Therefore, it seems that if the water deficit stress does not lead to a significant decrease in the economic performance of this plant, biofertilizers can be reduced on this plant.

Keywords: *Pseudomonas*, *Azospirillum*, Mycorrhiza, Carbohydrates, Phenolic compounds.

تأثیر دورآبیاری و کودهای زیستی و غیر زیستی بر اجزای عملکرد و برخی ترکیبات بیوشیمیایی آویشن زراعی (*Thymus vulgaris L.*)

فریده گشسی^۱، مصطفی حیدری^{۲*}، سیدکاظم صباغ^۳ و حسن مکاریان^۴
۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی، گروه زراعت، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران.
faridehghoshasbi@gmail.com
۲- نویسنده مسئول و دانشیار گروه زراعت دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران.
haydari2005@gmail.com
۳- دانشیار گروه زیست شناسی دانشگاه یزد، یزد، ایران.
sksabbagh@yazd.ac.ir
۴- دانشیار گروه زراعت دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران.
h.makarian@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۲۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۲۶

چکیده

خشکی و کم آبی به عنوان مهم‌ترین مشکل توسعه کشاورزی در ایران یکی از بازدارنده‌های اصلی در تولید محصولات کشاورزی به شمار می‌رود. لذا انتخاب گونه‌های مناسب در مناطق خشک و نیمه خشک بسیار حائز اهمیت است. گونه‌های مختلف گیاهی از نظر مقاومت به خشکی و کم آبی دامنه وسیعی را نشان می‌دهند که به دلیل سازگاری‌های فیزیولوژیکی، ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی آن‌ها می‌باشد. از آنجا که رویکرد جهانی در تولید گیاهان دارویی به سمت بهبود کمیت و کیفیت ماده مؤثره می‌باشد، بنابراین به نظر می‌رسد که تغذیه سالم گیاهان از طریق کاربرد کودهای بیولوژیک دارای بیشترین تطابق با اهداف تولید گیاهان دارویی باشد و منجر به بهبود عملکرد کمی و کیفی آن‌ها شود. به منظور بررسی اثر دورآبیاری و نقش تغذیه بر اجزای عملکرد و برخی خصوصیات بیوشیمیایی گیاه دارویی آویشن زراعی، از سه سطح آبیاری ۷= شاهد (W_1)، ۱۲= دورآبیاری ملایم (W_2) و ۱۷= دورآبیاری شدید (W_3) بر حسب روز به‌عنوان عامل اصلی و همچنین تعدادی کود بیولوژیک (قارچ گلو موس، باکتری‌های آزوسپریلیوم و سودوموناس و کود شیمیایی NPK) به عنوان عوامل فرعی استفاده شد. آزمایش به صورت اسپیلت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۶ در یک مزرعه زراعی انجام شد. بر اساس نتایج بدست آمده بیش‌ترین میزان عملکرد سرشاخه‌های گل‌دار و فنل کل به ترتیب در تیمار آبی شاهد (W_1)، تیمار آبی W_3 و تیمار کودی NPK مشاهده گردید. همچنین بیش‌ترین میزان عملکرد بیولوژیکی و تعداد شاخه‌های جانبی در تیمار آبی شاهد (W_1) و تیمار کودی قارچ- ریشه، بیش‌ترین میزان پروتئین در تیمار آبی شاهد (W_1) و تیمار کودی آزوسپریلیوم، بیش‌ترین میزان کربوهیدرات محلول در تیمار آبی W_2 و تیمار کودی سودوموناس بیش‌ترین میزان ارتفاع بوته در تیمار آبی شاهد (W_1) بیش‌ترین میزان پرولین و درصد اسانس در تیمار آبی W_3 مشاهده شد. از لحاظ تیمار کودی بیش‌ترین میزان ارتفاع بوته، میزان پرولین و درصد اسانس به ترتیب در تیمارهای کودی سودوموناس، NPK و قارچ- ریشه به دست آمد. با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق چنین نتیجه‌گیری می‌شود که تیمارهای کودی با کاهش اثرات نامطلوب تنش خشکی از طریق افزایش تعدادی از شاخص‌های بیوشیمیایی باعث افزایش میزان اجزای عملکرد و پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه تحت تنش شوند که در نهایت می‌تواند علاوه بر کمیت، کیفیت فراورده‌های گیاهان دارویی را تحت تأثیر مثبت قرار دهد. به‌طور کلی براساس نتایج حاصله از این آزمایش می‌توان چنین بیان کرد که در شرایط تنش آبیاری استفاده از کودهای زیستی به ویژه قارچ- ریشه می‌تواند تا حد زیادی از بروز اثرات سوء تغذیه‌ای در این گیاه بکاهد. البته با توجه به عدم وجود رابطه اختصاصی بین گونه قارچ- ریشه و آویشن، استفاده از گونه‌های دیگر قارچ- ریشه نیز توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: سودوموناس، آزوسپریلیوم، قارچ-ریشه، کربوهیدرات، ترکیبات فنلی.

مقدمه

کاهش بیماری‌ها و بهبود ساختمان خاک و در نتیجه تحریک بیشتر رشد گیاه و افزایش کمی و کیفی محصول می‌شوند (Wu et al., 2005). همزیستی قارچ-ریشه با ریشه گیاهان می‌تواند در بهبود صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیکی آن‌ها موثر باشد. قارچ-ریشه‌ها علاوه بر تاثیر در بهبود رشد گیاه، جذب عناصر غذایی را نیز افزایش می‌دهند. از مهمترین عناصری که توسط قارچ-ریشه‌ها به طور فعال و در سطح وسیع جذب می‌شود، عنصر فسفر است (Bolan, 1991). قارچ‌های همزیست مواد کربوهیدراتی را عمدتاً به شکل ساکارز از گیاه دریافت و عناصر غذایی (عمدتاً فسفر) را در اختیار گیاه قرار می‌دهند (Marulanda and Barea, 2009)، به این ترتیب که عناصر غذایی از غشای آربوسکول از طریق حامل‌های غشایی که با شیب پروتون عمل می‌کنند به صورت فعال در اختیار گیاه قرار می‌گیرد و مواد کربوهیدراتی موجود در آوند آبکش گیاه ابتدا توسط قارچ به گلوکز و فروکتوز تبدیل شده و سپس توسط حامل‌ها جذب می‌گردد (Smith et al., 2010) در آزمایشی بر روی گیاه دارویی بشقابی (*Scutellaria integrifolia*) مشخص شد که تلقیح ریشه این گیاه با قارچ-ریشه نه تنها در افزایش رشد و تکثیر گیاه، خصوصاً رشد ریشه مؤثر بوده، بلکه توانایی گیاه را برای رشد در خاک‌های دچار کمبود فسفر افزایش داده است (Joshee et al., 2007). تلقیح گیاه نعنای با قارچ-ریشه، به طور قابل توجهی توانسته است ارتفاع بوته و عملکرد بیولوژیکی گیاه را افزایش دهد (Gupta et al., 2002). در تحقیقی که بر روی اثر باکتری آزرپریلیوم بر صفات فیزیولوژیکی و ریخت‌شناسی گیاه ریحان تحت دورآبیاری صورت گرفت، مشخص شد که تنش خشکی باعث کاهش معنی‌داری در ارتفاع بوته، وزن خشک ریشه و ساقه، وزن تر ساقه و ریشه می‌شود. همچنین اثر سطوح تنش خشکی بر میزان نسبی آب برگ، نشت یونی معنی‌دار بوده است (انتشاری و همکاران، ۱۳۹۰). در بررسی دیگر بر روی گیاه دارویی گشنیز گزارش شد گیاهانی که تحت تنش خشکی قرار می‌گیرند، فضای بین سلولی و میزان آب

آویشن زراعی معطر (*Thymus vulgaris* L. Lamiales) از گیاهان دارویی با ارزش و متداول در طب سنتی است. به علت داشتن ترکیب اصلی تیمول در صنایع غذایی، دارویی، بهداشتی و آرایشی استفاده می‌شود. در بین گونه‌های مختلف آویشن، آویشن زراعی در بسیاری از نقاط دنیا از جمله ایران کشت و تولید می‌شود (امیدبگی و محمودی سورستانی، ۱۳۸۹). تحقیقات انجام شده در مورد اسانس این گیاه نشان می‌دهد که بالاترین عملکرد اسانس در مراحل گلدهی و در سرشاخه‌های گلدار آن می‌باشد (Lee et al., 2005; Stahl-Biskup and Saez, 2003). تنش خشکی از جمله تنش‌های محیطی مهم است که با ایجاد اختلال در عمل روزنه‌ها و سیستم فتوسنتزی، تخریب پروتئین‌ها و آنزیم‌ها و کاهش سطح برگ موجب ریزش گل و میوه گیاهان و در نهایت کاهش عملکرد گیاه می‌شود (Abdul Jaleel et al., 2007; Jaleel et al., 2008). افزایش سنتز فندهای محلول در شرایط خشکی، می‌تواند به عنوان تنظیم‌کننده اسمزی نقش مهمی در بقای گیاهان در این شرایط داشته باشد (Behra et al., 2002; DeCarvalho, 2005). تنش ناشی از کمبود آب می‌تواند باعث کاهش ارتفاع، تعداد و سطح برگ، وزن خشک، بسته شدن روزنه‌ها، کاهش میزان کلروفیل و کاهش رشد ریشه در گیاهان دارویی شود. بنابراین، مقابله با آثار مخرب تنش خشکی به شیوه‌های مختلف مانند کاربرد کودهای زیستی دارای اهمیت است (Taherkhanchi et al., 2013). کودهای بیولوژیک متشکل از باکتری‌ها و همچنین قارچ‌های مفیدی هستند که هر یک به منظور خاصی همانند تثبیت نیتروژن و رها سازی یون‌های فسفات، پتاسیم و آهن از ترکیبات نامحلول آن‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. این باکتری‌ها معمولاً در اطراف ریشه مستقر شده و گیاه را در جذب عناصر یاری می‌کنند. در حال حاضر مشخص شده است که این باکتری‌ها بیش از یک نقش را در بهبود شرایط رشدی گیاهان دارند. یعنی علاوه بر کمک به جذب عنصر خاص باعث جذب سایر عناصر غذایی،

خاک جداسازی و تست بیماری‌زایی شوند و اگر بیماری‌زا نبودند به عنوان تقویت‌کننده رشد یا Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) مورد استفاده قرارگیرند. شواهد بسیاری مبنی بر توانایی باکتری‌های ریزوسفری سودوموناس در تولید و ترشح مواد تنظیم‌کننده رشد از جمله اکسین، سیتوکنین و جیبرلین همچنین تأثیر آن‌ها بر ریخت‌شناسی، تغذیه و رشد گیاهان وجود دارد. امروزه محققین سنتز باکتریایی هورمون اکسین و تنظیم تولید اتیلن در گیاهچه‌های جوان را مهم‌ترین مکانیسم باکتری‌های ریزوسفری در تحریک رشد گیاهان دانسته‌اند (Glick et al., 1998). طی تحقیقی تأثیر تلقیح باکتری‌های ریزوسفری سودوموناس بر رشد، کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی مریم گلی صورت گرفت، نتایج نشان داد که وزن خشک ریشه و شاخساره گیاه در نتیجه تلقیح باکتری سودوموناس افزایش یافته است و تأثیر معنی داری بر رشد ریشه، برگ و افزایش محتوای و عملکرد اسانس گیاه مریم گلی داشته است (Oussalah et al., 2006). با توجه به کمبود آب در مناطق خشک و نیمه خشک و پیامدهای مصرف کودهای شیمیایی به لحاظ زیست محیطی، استفاده از کودهای زیستی جهت دستیابی به کشاورزی پایدار، حاصلخیزی و حفظ رطوبت خاک اهمیت زیادی دارد. این آزمایش به منظور بررسی تعیین مناسب‌ترین میزان مصرف کودهای زیستی و شیمیایی و تاثیر آن‌ها بر عملکرد سرشاخه‌های گلدار، درصد اسانس و برخی ترکیبات بیوشیمیایی در گیاه دارویی آویشن زراعی در واکنش به دورآبیاری انجام شد.

مواد و روش‌ها

داده‌های هواشناسی و آنالیز خاک

داده‌های هواشناسی از ایستگاه هواشناسی یزد تهیه شد. همچنین تجزیه شیمیایی خاک مزرعه توسط آزمایشگاه خصوصی تجزیه آب، خاک، گیاه و کود شرکت کویرجنوب یزد صورت گرفت و نتایج آن بترتیب در جداول ۱ و ۲ ارائه شده است.

در پیکره آن‌ها کاهش یافته تا آب از بافت خاک با نیروی بیشتری وارد گیاه شود، که این امر موجب کاهش میزان آب نسبی در شرایط تنش شده است (انجیلی و همکاران، ۱۳۹۷). اخیراً باکتری همزیست آزوسپریلیوم به دلیل توان تثبیت ازت مولکولی و تبدیل آن به فرم نیترات و نیتريت قابل جذب به صورت همزیستی با گیاهان و همچنین تولید هورمون‌های محرک رشد به عنوان یک کود بیولوژیک در کشاورزی مورد توجه قرار گرفته است (روستا، ۱۳۷۱). آزوسپریلیوم 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 تأثیرگذار بوده است (Tilak et al., 2005). در یک بررسی، تأثیر باکتری آزوسپریلیوم بر روند رشدی گیاه ریحان، مشخص شد که کاربرد این کود، اثر معنی داری بر تعداد شاخه جانبی، وزن تر و خشک اندام‌های گیاه، تعداد گل و میزان نسبی آب برگ داشته و همچنین آزوسپریلیوم باعث افزایش ارتفاع بوته نسبت به تیمار شاهد گردید. تأثیر مفید آزوسپریلیوم بر توسعه سیستم تارهای کشنده در گیاهان مختلف (Bianciotto et al., 2001) و همچنین در افزایش ارتفاع بوته و وزن تر و خشک اندام‌های گیاه دارویی مریم گلی به اثبات رسیده است (Youssef et al., 2004). نتایج سایر تحقیقات نشان داده است که استفاده از باکتری آزوسپریلیوم در قالب یک کود بیولوژیک در طول مرحله زایشی به خصوص مرحله گلدهی، موجب افزایش فعالیت آنزیم نیتروژناز در ریشه گیاهان تلقیح شده می‌شود و در نتیجه باعث افزایش جذب نیتروژن گیاه شده که این افزایش جذب منجر به افزایش تعداد گل و به دنبال آن افزایش عملکرد دانه شده است (Ratti et al., 2001). در کل درحوزه گیاه‌پزشکی باکتری‌های سودوموناس‌ها از عوامل بسیار خطرناک بیماری‌زا می‌باشند ولی گونه‌های غیر بیماری‌زایی نیز در طبیعت وجود دارند که می‌توانند به عنوان باکتری‌های تقویت‌کننده رشد نظیر سیدروفورها (تثبیت‌کننده آهن) در کشاورزی مورد استفاده قرارگیرند. این باکتری‌ها باید از

جدول ۱. داده‌های اقلیمی نزدیک‌ترین ایستگاه هواشناسی به منطقه مورد آزمایش

Table 1. climatic data of the nearest meteorological station to the test area

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

جدول ۲. نتایج تجزیه شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

Table 2. The results of the soil chemical analysis used in the experiment

Soil Texture	EC (ds/m)	pH	Sand(%)	Clay(%)	Loam (%)	CO(%)	K (mg/kg)	P (mg/kg)	N(%)
Sandy loam	2.05	7.66	75	10	15	0.339	190.8	14.8	0.029

بذرهای در گلدان‌های کشت کوچک (جیفی پات) جهت تهیه نشاء کشت شدند. در اوایل اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۶، نهال‌های تولیدی به زمین زراعی در قالب کرت‌های بلوک بندی شده با اندازه‌های مشخص منتقل گردیدند.

از کود زیستی قارچ-ریشه به صورت اینوکولوم ماسه که حاوی اسپورها و هیف قارچ بودند بنا به دستور شرکت تولید کننده (۴۰ کیلوگرم در هکتار) استفاده شد. معمولاً از اسپور این قارچ‌ها در بستر ماسه استفاده می‌شود. گیاه ذرت به‌عنوان تحریک کننده قارچ برای تولید اسپور مایه‌زنی می‌شود و با یک شوک کم‌آبی و قطع طوقه ذرت، قارچ-ریشه یا میکوریز دچار استرس شده و تولید اسپور می‌کند که به عنوان مایه اینوکولوم به خاک زراعی اضافه می‌شود. معمولاً به نسبت ۳۰-۵ درصد می‌توان با خاک بستر مخلوط کرد. از باکتری سودوموناس و آزوسپوریلوم، به صورت غوطه‌ور کردن ریشه در مایه تلقیح (سلول‌های باکتری همراه با تثبیت کننده) استفاده شد، بدین منظور در ابتدا مقدار ۲۰۰ گرم از گرانول حاوی باکتری تثبیت شده در ۱۰ لیتر آب حل شده و سپس ریشه‌ها به مدت ۱۵-۵ دقیقه در

این آزمایش به‌صورت اسپیلت پلات و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۱۳۹۶ در مزرعه زراعی عسگریه شهر یزد اجرا گردید.

تیمارهای آب و کودی

تیمارهای آزمایش شامل دورآبیاری در سه سطح شاهد، آبیاری با دور ۷ روز w_1 ، ۱۲ روز w_2 و ۱۷ روز w_3 به عنوان عامل اصلی و تغذیه شامل: تیمار شاهد (بدون مصرف کود) B_1 ، گونه قارچ-ریشه *Glomus intraradis* B_2 تهیه شده از شرکت زیست فناور پیش‌تاز واریان واقع در استان البرز (کرج)، باکتری‌های آزوسپیریلوم (*Azospirillum brasilense*) B_3 و سودوموناس (*Pseudomonas fluorescens*) B_4 که تهیه شده از شرکت دانش بنیان همیشه واقع در استان گلستان تهیه شد و کود شیمیایی $B_5 = NPK (20, 20, 20)$ شامل سه عنصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم به‌صورت آماده از فروشگاه کشاورزی تهیه شده است، به عنوان فاکتور فرعی لحاظ شد. در این آزمایش بذر آویشن زراعی از شرکت گیاه ایران (اصفهان) تهیه گردید. در اسفندماه ۱۳۹۵ ابتدا

(Aoac, 1995)، درصد پروتئین برگ به روش بیوره و مقادیر فنل با استفاده از روش (Seevers and Daly, 1970) اندازه گیری شد.

تهیه عصاره گیاهی

جهت عصاره گیری مقدار ۰/۲ گرم بافت گیاهی را در هاون چینی سرد با محلول عصاره (۱۶۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم با $\text{pH} = 6/8$ ، ۲۰ میکرولیتر EDTA ۰/۸ مولار و ۳۸۰ میکرولیتر آب مقطر) هموژن شد. سپس به مدت ۲۵ دقیقه در 14000 rpm در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شدند. پس از سانتریفیوژ از فاز بالایی عصاره برای اندازه گیری فعالیت فنل استفاده شد.

اندازه گیری فنل کل

برای اندازه گیری فنل کل در عصاره برگ از معرف فولین به شرح زیر استفاده شد. بدین منظور در ابتدا ۰/۵ میلی لیتر از عصاره گیاهی (تیمارهای شاهد و کودی) به دست آمده 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 (Seevers and Daly, 1970).

اندازه گیری پروتئین

برای اندازه گیری میزان پروتئین از روش بیوره استفاده شد (Zelong & Junhui, 2017). جهت تهیه محلول بیوره در ابتدا ۱/۵ گرم سولفات مس ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) و ۰/۶ گرم سدیم پتاسیم تارتارات در ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شده و سپس به آن ۳۰۰ میلی لیتر هیدروکسید سدیم ۱۰٪ اضافه گردید، حجم محلول تهیه شده با آب مقطر استریل به یک لیتر رسانده شد. محلول آماده شده در ظرف پلاستیکی و در جای تاریک نگهداری

داخل محلول غوطه ور شده سپس کشت انجام شد. کود شیمیایی NPK به صورت گرانولی و حدود ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار استفاده شد.

آماده سازی بستر کشت

جهت انجام این طرح تحقیقاتی، کرت های فرعی به طول ۳ متر و عرض ۲ متر آماده شد که فاصله بین هر کدام از ردیف کاشت، ۷۰ سانتی متر و فاصله بین بوته ها روی ردیف ها ۵۰ سانتی متر بود. تراکم براساس سه بوته در متر مربع بود. زمانی که نشاءها حدود ۱۱-۱۰ برگی بودند به زمین اصلی منتقل گردیدند. بعد از نشاء کاری اولین آبیاری در مزرعه به صورت غرقابی انجام شد. زمانی که گیاهان استقرار کامل پیدا کردند اعمال تیمار کم آبی با روش آبیاری قطره ای و تنظیم دور آبیاری و براساس نقشه طرح انجام گرفت که حجم آب آبیاری در هر بار برای تمامی تیمارها یکسان بود (با قرار دادن کنتور از حجم آب یکسان استفاده شد) و انتخاب دور آبیاری بر اساس نیاز آبی گیاه و اقلیم منطقه صورت گرفت. اعمال دور آبیاری تا زمان حداکثر گلدهی بوته ادامه یافت و برداشت سه ماه پس از تاریخ کاشت، در اواخر تیر ماه و در مرحله گلدهی کامل یعنی زمانی که تقریباً ۹۰ درصد بوته ها به گل رفته بودند، صورت گرفت.

اندازه گیری صفات مورد مطالعه

در مرحله گلدهی کامل جهت اندازه گیری عملکرد بیولوژیکی و نیز عملکرد سرشاخه های گلدار، بوته ها همزمان و به طور تصادفی و با رعایت اثرات حاشیه انتخاب و به آرامی از گیاه جدا و پس از خشک شدن با با ترازوی دقیق پارامترهای مورد نظر اندازه گیری شدند.

همچنین ارتفاع بوته و نیز تعداد شاخه های جانبی در سه بوته انتخابی در هر کرت صورت گرفت. در مرحله گلدهی همچنین، درصد اسانس گل ها با استفاده از دستگاه کلونجر به دست آمد. همچنین در این مرحله میزان پرولین موجود در برگ ها با استفاده از روش (Bates et al., 1973)، میزان کربوهیدرات محلول با استفاده از روش

شد. برای اینکه محلول برای مدت زیادی نگهداری شود، یک گرم محلول یدیدپتاسیم به آن اضافه شد، تا مانع احیای مس گردد. برای اندازه‌گیری میزان پروتئین هر نمونه، از پنج میلی‌لیتر محلول بیوره استفاده و محلول واکنش سریعاً تکان داده 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 آلبومن گاوی محاسبه و بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید. ضمناً بلانک دستگاه حاوی ۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر بعلاوه ۲/۵ میلی‌لیتر محلول بیوره می‌باشد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

در نهایت داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزارهای آماری SAS ver9.4 مورد تجزیه آماری قرار گرفت و جهت رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده گردید. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

عملکرد سرشاخه‌های گل‌دار و عملکرد بیولوژیکی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر متقابل تیمار دورآبیاری و تغذیه بر عملکرد بیولوژیکی و عملکرد سرشاخه‌های گل‌دار معنادار گردید (جدول ۳). همانطور که در (شکل ۱) مشاهده می‌شود، بیش‌ترین عملکرد سرشاخه‌های گل‌دار در تیمار آبی شاهد w_1 (۷روز یک بار آبیاری) و تیمار کودی NPK با میانگین $30/2$ کیلوگرم بر هکتار و کم‌ترین میزان آن مربوط به تیمار آبی w_3 (۱۷روز یک بار آبیاری) و تیمار کودی قارچ-ریشه با میانگین $11/7$ کیلوگرم بر هکتار به دست آمد. نتایج پژوهشی نشان داد که تنش خشکی در حد ۵۰ درصد ظرفیت زراعی، عملکرد گل گیاه دارویی بابونه را نسبت به تیمار شاهد به میزان $18/1$ درصد کاهش داشته است (آرمجو و همکاران، ۱۳۸۸). بروز تنش خشکی موجب

کاهش سطح برگ‌ها می‌شود، در نتیجه جذب نور و ظرفیت فتوسنتزی گیاه کاهش می‌یابد. بنابراین با محدود شدن فرآورده‌های فتوسنتزی در شرایط کمبود آب، تولید ماده خشک گیاه دارویی بادرشبو کاهش یافت (خاتمی و همکاران، ۱۳۹۷). مصرف کودهای زیستی سبب افزایش عملکرد گل گیاه دارویی بابونه شده است (Sanchez; Govin et al., 2005 فلاحی و همکاران، ۱۳۸۸). در پژوهش دیگری مشخص گردید که بیش‌ترین عملکرد گل بابونه آلمانی در تلقیح با کود زیستی حاصل شد (خاتمی و همکاران، ۱۳۹۷). با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق تشابه نسبی بین داده‌های حاصل و نتایج مطالعات مشابه مشاهده می‌شود. تجمع مواد آلی توسط باکتری‌ها در خاک باعث افزایش توسعه ریشه و دسترسی بیش‌تر به عناصر غذایی شده است، به طوریکه این شرایط موجب افزایش عملکرد می‌گردد (خاتمی و همکاران، ۱۳۹۷).

اما در مورد عملکرد بیولوژیکی همانطور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، بیش‌ترین میزان عملکرد بیولوژیکی با $406/16$ کیلوگرم بر هکتار در تیمار آبی شاهد (w_1) و تیمار کودی قارچ-ریشه و کم‌ترین آن با میانگین $163/5$ کیلوگرم بر هکتار از تیمار آبی w_3 (۱۷روز آبیاری) و تیمار کودی آزوسپریلیوم به دست آمد. در تحقیقی کاربرد کود زیستی آزوسپریلیوم و ازتوباکتر، سبب افزایش ارتفاع بوته و وزن تر و خشک اندام‌های هوایی گیاه مریم‌گلی در چین‌های اول و دوم طی دو فصل گردید با توجه به مطالبی که در ارتباط با این باکتری در بالا ذکر شد شرایط بسیار مرطوب مثل شالیزارها بسیار در عملکرد رشدی و تثبیت نیتروژن به وسیله این گونه باکتری مهم می‌باشد. در این تحقیق با توجه به تنش‌های آبی و وجود شرایط آب و هوایی خشک استان مورد مطالعه این نتایج دور از انتظار نبود (Yousse et al., 2004) محققان طی آزمایشی بر روی گیاه دارویی سیاهدانه گزارش کردند که تنش خشکی موجب کاهش بیوماس گیاهی، ارتفاع بوته و عملکرد اسانس گردید (رضایی چپانه و دباغ محمدی نسب، ۱۳۹۳).

جدول ۳. تجزیه واریانس تأثیر دور آبیاری و کودهای زیستی و غیر زیستی بر اجزای عملکرد در گیاه آویشن زراعی
Table 3- Analysis of variance of effect of irrigation interval, bio and non -bio-fertilizers on yield components in Thyme (*Thymus vulgaris* L.)

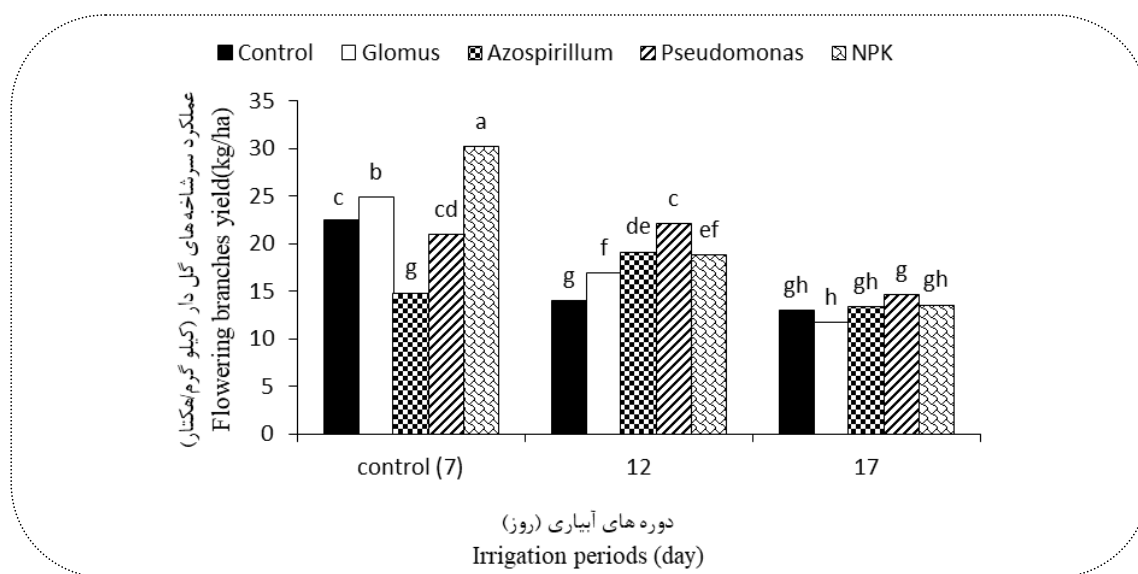
Mean Square					
Source of Variance	df	Height(cm)	Number of lateral branches	Flowering branches yield(kg/ha)	Biological yield(kg/ha)
(R)Repetition	2	5.45ns	18.02ns	4.37ns	715.97ns
(A) (irrigation interval)	2	83.19*	7029.44**	333.05**	72153.49**
Error a (R*A)	4	9.05	5.42	3.27	782.06
Fertilizers(B)	4	9.68*	2223.52**	38.12**	14796.67**
irrigation interval ×Fertilizers	8	2.66ns	756.75**	43.30**	13829.33**
Error (Error b)	24	3.381	6.76	1.32	164.13
C.V. (%)		9.6	2.05	6.37	5.35

ns, *, **: به ترتیب نبود اختلاف معنادار، اختلاف معنادار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد
 ns, *, **: non-significantly difference and significantly differences at 5 and 1% of probability levels, respectively

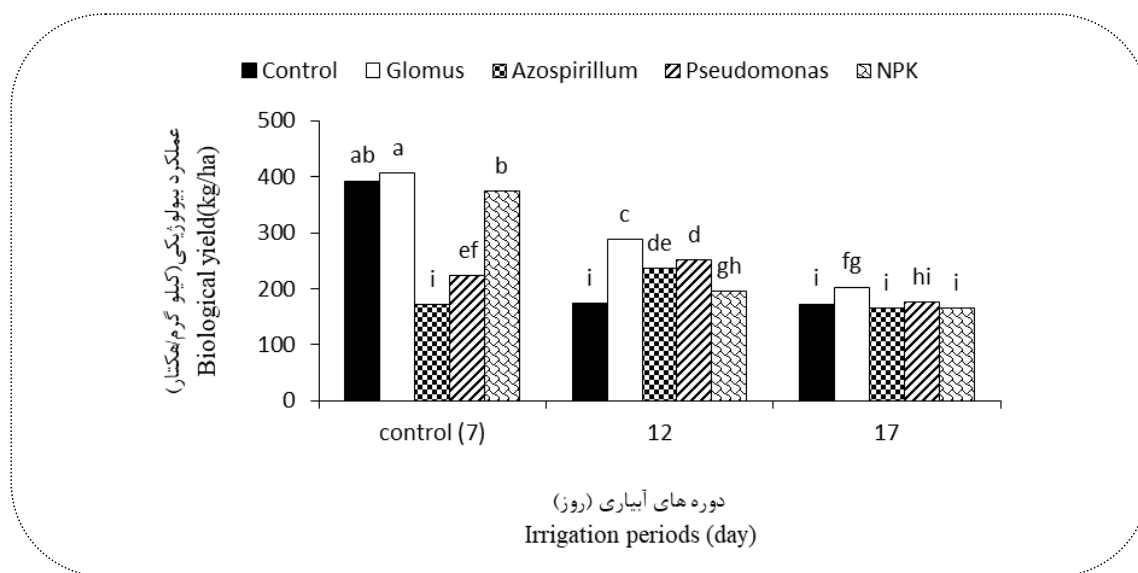
جدول ۴. تجزیه واریانس تأثیر دور آبیاری و کودهای زیستی و غیر زیستی بر برخی ترکیبات بیوشیمیایی آویشن زراعی
Table 4- Analysis of variance of effect of irrigation interval, bio and non -bio-fertilizers some of biochemical compounds in Thyme(*Thymus vulgaris* L.)

Mean Square						
Source of Variance	df	Essential oil(%)	Total Phenol(mg/g leaf fresh weight)	Soluble carbohydrates (µg/g leaf fresh weight)	Protein(mg/g leaf fresh weight)	Proline(mg/g leaf fresh weight)
(R)Repetition	2	0.00024ns	40.28ns	1419.96ns	0.052*	0.062ns
(irrigation interval) (A)	2	0.050**	2749.95**	2234979.37**	5.054**	0.36**
Error a(R*A)	4	0.000038	24.42	1656.34	0.016	0.009
Fertilizers(B)	4	0.0038**	276.18**	2969979.85**	11.11**	2.80**
irrigation interval ×Fertilizers	8	2884243.93ns	93.62*	2884243.93**	0.87**	0.031ns
Error(Error b)	24	0.000081	47.87	3985.55	0.013	0.028
C.V. (%)		3.03	3.92	1.73	2.38	15.83

ns, *, **: به ترتیب نبود اختلاف معنادار، اختلاف معنادار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد
 ns, *, **: non-significantly difference and significantly differences at 5 and 1% of probability levels, respectively



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر متقابل دور آبیاری و کوددهی بر میزان عملکرد سرشاخه‌های گل‌دار در گیاه آویشن باغی
 Figure1. Mean comparison of interaction of irrigation periods and fertilization on flowering branches yield in *Thymus vulgaris*



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر متقابل دور آبیاری و کوددهی بر میزان عملکرد بیولوژیکی در گیاه آویشن باغی
 Figure2. Mean comparison of interaction of irrigation periods and fertilization on biological yield in *Thymus vulgaris*

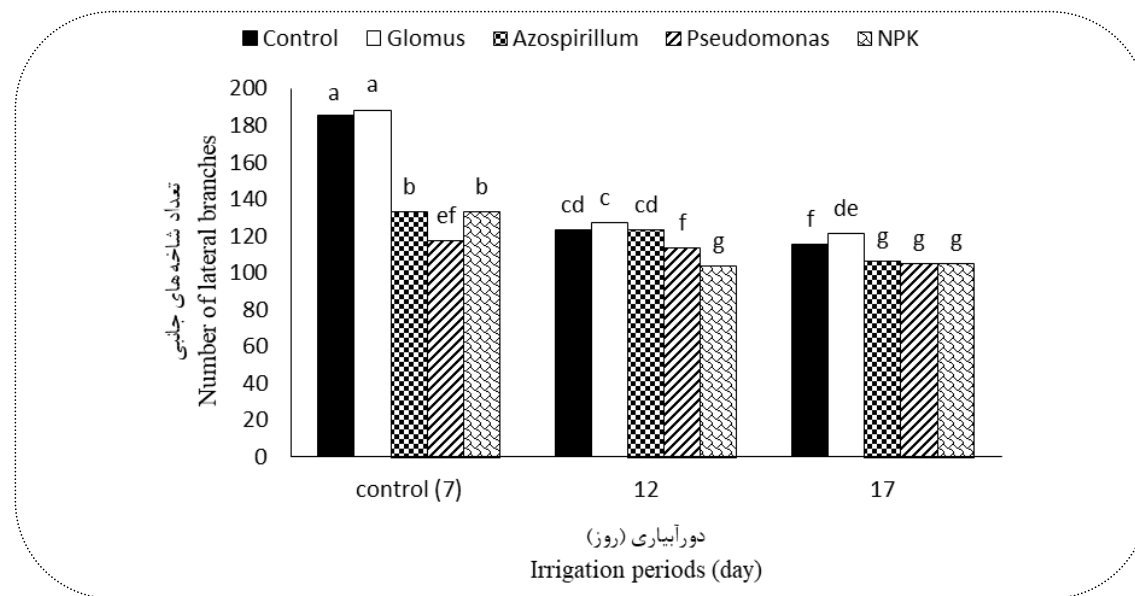
شدند. مقایسه میانگین‌های داده‌ها در جدول ۵ نشان داد با بالا رفتن دورآبیاری از w_1 به w_3 از ارتفاع بوته‌های کاسته شد به‌طوری‌که بیش‌ترین ارتفاع بوته با میانگین ۲۱/۸۶ سانتی‌متر در تیمار آبی شاهد (w_1) و کم‌ترین آن با میانگین ۱۷/۶۱ سانتی‌متر در تیمار آبی ۱۷ روز آبیاری

ارتفاع بوته و تعداد شاخه‌های جانبی

نتایج تجزیه آماری داده‌ها در نشان داد که اثر متقابل دورآبیاری و تغذیه تنها بر تعداد شاخه‌های جانبی معنادار و تأثیری بر ارتفاع بوته نداشت (جدول ۳). اما در این بین اثرات اصلی دورآبیاری و تغذیه بر ارتفاع بوته معنادار

شاخه‌های جانبی آویشن تحت تأثیر هر دو فاکتور دور آبیاری و تیمار کودی قرار گرفت به‌طوری‌که بیش‌ترین تعداد شاخه‌های جانبی (۱۸۸/۳۳) در تیمار آبی شاهد (w_1) و تیمار کودی قارچ-ریشه و کم‌ترین آن به تعداد ۱۰۳/۳۳ در تیمار آبی ۱۲ روز یک بار (w_2) و تیمار کودی NPK به دست آمد. محققان ادعان داشتند که تنش خشکی ارتفاع بوته، تعداد ساقه جانبی، وزن خشک اندام رویشی آویشن را کاهش می‌دهد (بابایی و همکاران، ۱۳۸۹). نتیجه یک بررسی نشان داد که با افزایش تنش خشکی، تعداد ساقه جانبی گیاه مرزه کاهش یافت و تلقیح با قارچ میکوریزا، شاخص‌های رشد رویشی گیاه مرزه را در شرایط تنش خشکی در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده به طور معناداری افزایش داد و استفاده از میکوریزا نسبت به شاهد (بدون قارچ-ریشه) مثبت ارزیابی شد (رحیمی و همکاران، ۱۳۹۵).

(w3) مشاهده شد (جدول ۵). همچنین تیمار کودی سودوموناس بیش‌ترین میزان ارتفاع (۲۰/۴۷ سانتی متر) و تیمار کودی آزوسپریلیوم کم‌ترین میزان ارتفاع بوته (۱۷/۹۷ سانتی متر) را نشان دادند (جدول ۶). علت کاهش ارتفاع بوته در شرایط تنش خشکی، کاهش فشار تورژسانس و متعاقب آن کاهش تقسیم و بزرگ شدن سلولی نسبت به شرایط بدون تنش می‌باشد (Cabuslay and Alejar, 2002). مطالعات مختلف نشان داده که معمولاً تنش خشکی منجر به کاهش ارتفاع بوته می‌شود از جمله می‌توان به مطالعات انجام شده در گیاه سنبله (Alhad et al., 2005; Riasat et al., 1999; Khalid, 2006 بزازی و همکاران، ۱۳۹۲)، مریم گلی، بومادران، اسفرزه، همیشه بهار، بابونه (بزازی و همکاران، ۱۳۹۲)، گل مکزیکی (امیدبگی و محمودی سورستانی، ۱۳۸۹) و بادرشبو (بزازی و همکاران، ۱۳۹۲) اشاره کرد. همان‌طور که در (شکل ۳) مشاهده می‌شود تعداد



شکل ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل دور آبیاری و کوددهی بر تعداد شاخه‌های جانبی در گیاه آویشن باغی
 Figure 3. Mean comparison of interaction of irrigation periods and fertilization on number of lateral branches in *Thymus vulgaris*

جدول ۵. مقایسه میانگین تأثیر دورآبیاری بر ارتفاع، درصد اسانسو پرولین در گیاه آویشن زراعی

Table 5- Means comparison of effect of irrigation interval on height, essential oil percentage and proline in Thyme (*Thymus vulgaris* L.)

Trait			
Treatment	Height (cm)	(%) Essential oil	Proline (mg/g leaf fresh weight)
Control (each 7 day)	21.86 ^a	0.22 ^c	0.90 ^c
Each 12 day	17.98 ^b	0.32 ^b	1.05 ^b
Each 17 day	17.61 ^b	0.33 ^a	1.22 ^a

میانگین دارای حروف یکسان در هر ستون، در سطح احتمال ۵ درصد، اختلاف معناداری با یکدیگر ندارند.
Similar letters in each column shows non- significant difference at 5% level.

جدول ۶. مقایسه میانگین تأثیر کودهای زیستی و غیرزیستی بر ارتفاع، درصد اسانس و پرولین در گیاه آویشن زراعی

Table 6- Means comparison of effect of bio and non -bio-fertilizers on height, essential oil percentage and proline in Thyme (*Thymus vulgaris* L.)

Trait			
Treatment)	Height (cm)	(%) Essential oil	Proline (mg/g leaf fresh weight)
Control	19.77 ^{ab}	0.27 ^d	0.59 ^c
Mycorrhizal (Glomus) (40kg/ha)	18.27 ^{bc}	0.32 ^a	0.99 ^b
brasilense Azospirillum (20kg/ha)	17.97 ^c	0.30 ^b	0.45 ^c
fluorescens Pseudomonas (20kg/ha)	20.47 ^a	0.29 ^c	1.55 ^a
NPK(200kg/ha)	19.27 ^{abc}	0.28 ^d	1.70 ^a

میانگین دارای حروف یکسان در هر ستون، در سطح احتمال ۵درصد، اختلاف معناداری با یکدیگر ندارند.
Similar letters in each column shows non- significant difference at 5% level.

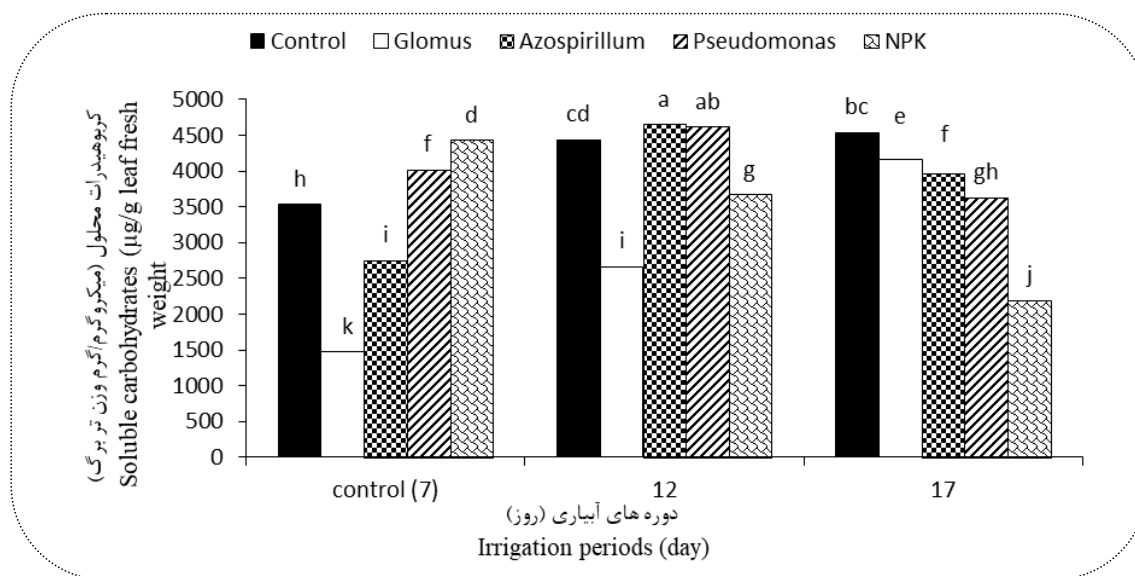
کربوهیدرات محلول و پرولین

آزوسپریلیوم و کمترین آن به میزان ۱۴۶۷/۸۸ میکروگرم برگرم وزن تر مربوط به تیمارآبی شاهد (W_1) و تیمار کودی قارچ-ریشه می‌باشد. افزایش قندهای محلول در پاسخ به تنش خشکی می‌تواند با افزایش فعالیت آنزیم آمیلاز و هیدرولیز نشاسته به قندهای ساده و کند شدن انتقال قندها از برگ به سایر مراکز رشد گیاه مرتبط باشد (Zhang et al., 2010). در هر صورت افزایش قندهای

نتایج تجزیه واریانس در (جدول ۴) نشان داد که اثر متقابل تیمار دورآبیاری و تغذیه بر میزان کربوهیدرات محلول بافت برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنادار گردید. در شکل ۴ مشاهده می‌شود که بیشترین میزان کربوهیدرات برگ به میزان ۴۶۴۹/۵ میکروگرم بر گرم وزن تر مربوط به تیمارآبی ۱۲روز آبیاری (W_2) و تیمار کودی

سوپرفسفات در گیاه جو نشان داد در نتیجه کاربرد کود زیستی فسفر میزان کربوهیدرات‌ها با کاربرد کود شیمیایی فسفر افزایش یافت (خاتمی و همکاران، ۱۳۹۷). نتایج پژوهشی نشان داد که مصرف ۵۰ درصد کودهای شیمیایی و زیستی فسفره سبب افزایش کربوهیدرات محلول در گیاه ذرت و برگ‌های گیاه خلر می‌گردد (رضایی چیاپه و دباغ محمدی نسب، ۱۳۹۳).

محلول با مقاومت به خشکی در گیاهان مرتبط است زیرا از یک سو با کاهش پتانسیل اسمزی سلول به تداوم جذب آب و حفظ تورژانس کمک می‌کند و از سوی دیگر با تشکیل پیوند هیدروژنی با دنباله‌های قطبی و پلی پپتیدها و گروه‌های فسفات لپید از پروتئین‌ها و غشاهای سلولی حفاظت می‌کنند (Crowe et al., 1992). نتایج بررسی اثر ریزجانداران حل کننده فسفات و کود شیمیایی



شکل ۴. مقایسه میانگین اثر متقابل دور آبیاری و کوددهی بر میزان کربوهیدرات محلول در گیاه آویشن باغی

Figure 4. Mean comparison of interaction of irrigation periods and fertilization on soluble carbohydrates in *Thymus vulgaris*

بر گرم وزن تر برگ) را دارا بود که با تیمار کودی شاهد تفاوت معنادار نداشت (جدول ۶). در بررسی واکنش گیاه دارویی آویشن به تنش خشکی مشاهده شده است که اسید آمینه پرولین تحت تأثیر تنش خشکی افزایش می‌یابد (بابایی و همکاران، ۱۳۸۹). در واقع تجمع پرولین در اثر تنش خشکی یک واکنش عمومی است که به علت ساخت پرولین در بافت‌ها (Schonfeld et al., 1988)، ممانعت از فعالیت اکسیداتیو پرولین و جلوگیری از شرکت پرولین در ساخت پروتئین‌ها می‌باشد (Pedrol et al., 2000). مصرف کودهای بیولوژیک در شرایط تنش‌های محیطی مانند خشکی نه تنها سبب افزایش مقاومت گیاهان به تنش

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنها اثرات اصلی دورآبیاری و تیمار تغذیه تأثیر معناداری بر میزان پرولین داشتند و اثر متقابل آن‌ها از تأثیر معناداری برخوردار نبود (جدول ۴). بیش‌ترین میزان پرولین به مقدار ۱/۲۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ در تیمار آبی هر ۱۷ روز آبیاری (w₃) و کم‌ترین آن به میزان ۰/۹۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ در تیمار آبی شاهد (w₁) به دست آمد (جدول ۵). همچنین تیمار کودی NPK بیش‌ترین میزان پرولین (۱/۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) را نشان داد که با تیمار کودی سودوموناس تفاوت معنادار نداشت و تیمار کودی آزوسپیریوم کم‌ترین میزان پرولین (۰/۴۵ میلی‌گرم

به دلیل جلوگیری از اکسیداسیون درون سلولی افزایش می‌یابد. در ریحان نیز گزارش شد که با کاهش رطوبت خاک، درصد اسانس افزایش می‌یابد (وشوایی و همکاران، ۱۳۹۴). محققان در طی مطالعه کاربرد کودهای بیولوژیک (باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن و حل کننده فسفات) بر روی گیاه مرزنجوش، افزایش در شاخص‌های رشدی و میزان اسانس در این گیاه را گزارش کردند (Fatma et al., 2006). محققان پس از بررسی اثر قارچ-ریشه بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی نعنای گزارش کردند که کلونیزاسیون ریشه تحت تأثیر تلقیح با این قارچ بهبود یافت و در نتیجه خصوصیات رشدی، عملکرد ماده خشک و محتوی اسانس گیاه از افزایش قابل توجهی در مقایسه با شاهد برخوردار شدند (Gupta et al., 2002).

جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که نشان داد که اثر متقابل دورآبیاری و تغذیه بر میزان پروتئین کل در سطح احتمال ۱درصد معنادار می‌باشد (جدول ۴). همانطور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، بیش‌ترین میزان پروتئین کل برگ به میزان ۷/۵۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر در تیمار آبی ۷ روز آبیاری (w_1) و تیمار کودی سودوموناس و کم‌ترین آن به میزان ۲/۶۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ در تیمار آبی (۱۷ روز آبیاری، w_3) و تیمار کودی شاهد به دست آمد. محققان عامل کاهش میزان پروتئین‌های محلول در گیاه ذرت تیمار شده با خشکی را افت شدید فرآیند فتوسنتز و متعاقب آن کاهش پیش ماده‌های تولید کننده پروتئین و در نهایت کاهش سنتز پروتئین‌ها بیان نمودند (خاتمی و همکاران، ۱۳۹۷). برخی محققان رکود سنتز پروتئین‌ها را به کاهش تعداد پلی زومهای اتصالی به غشاء نسبت داده‌اند. احتمالاً کاهش mRNA، تخریب و یا غیر فعال شدن ریبوزوم‌ها و کاهش سطح غشای سلولی سبب کاهش تعداد پلیزوم‌ها می‌شود (Dhindsa and Clenland, 1975). محققان دیگری گزارش کردند که تنش خشکی، بیان ژن‌های کد کننده پروتئین‌های درون سلولی را القا کرده و سبب تجزیه پروتئین‌ها و تحرک

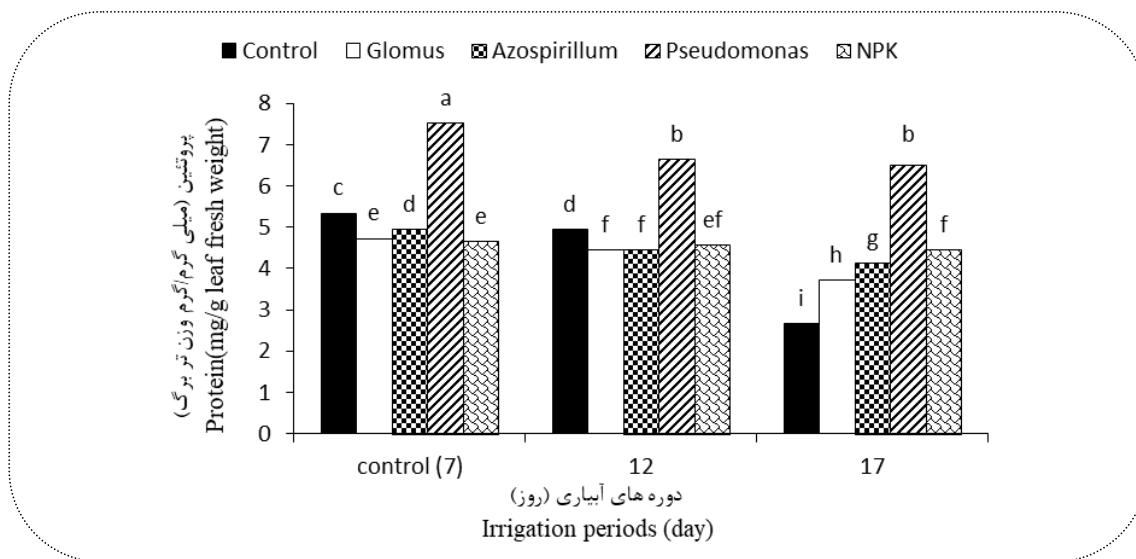
می‌شود، بلکه موجب افزایش ظرفیت نگهداری آب و ساختمان گرانول‌های خاک، افزایش فعالیت‌های میکروبی و آنزیمی و آزادسازی عناصر غذایی موجود در کلوئیدهای خاک و جبران میکروارگانیزم‌های از دست رفته خاک می‌گردد (Gilik et al., 2001). باکتری‌های همزیست از طریق اجتناب از خشکی، گیاهان را در مقابل تنش حفظ می‌کنند و این کار را با افزایش جذب عناصر فسفر و سایر عناصر ضروری برای رشد و نمو گیاه انجام می‌دهند (Gilik et al., 2001). معمولاً گیاهان تلقیح شده با استفاده از روابط آبی و تغذیه بهتر نسبت به گیاهان بدون تلقیح، قادرند از شرایط تنش خشکی به طور موقت فرار کنند و کم‌تر دچار آسیب شوند و در نتیجه میزان پرولین و قندهای محلول نسبت به گیاهان بدون تلقیح افزایش کمتری نشان می‌دهد (Ruiz-Lozano, 2003). نتایج بررسی تأثیر تنش خشکی و کودهای زیستی و شیمیایی روی گیاه بزرک بیانگر آن است که بیش‌ترین غلظت پرولین در تیمار تنش رطوبتی شدید و تیمارهای کود شیمیایی (نیتروژن + فسفر) و مخلوط کودهای زیستی - آزتوبارور ۱ و بارور ۲ و کم‌ترین آن در تیمار عدم کاربرد کود در شرایط بدون تنش مشاهده شد (خاتمی و همکاران، ۱۳۹۷).

درصد اسانس گل و میزان پروتئین کل برگ

نتایج حاصل از تعیین میزان پروتئین نشان داد که دورآبیاری و تغذیه تأثیر معناداری در سطح احتمال ۱ درصد بر درصد اسانس داشته اما اثر متقابل آن‌ها بر این صفت معنادار نبود (جدول ۴). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیش‌ترین درصد اسانس (۰/۳۳ درصد) در تیمار آبی ۱۷ روز آبیاری (w_3) و کم‌ترین آن (۰/۲۲۹ درصد) در تیمار کم آبی شاهد (۷ روز آبیاری، w_1) مشاهده شد (جدول ۵). همچنین تیمار کودی قارچ-ریشه بیش‌ترین درصد اسانس (۰/۳۲ درصد) و تیمار کودی شاهد کم‌ترین درصد اسانس (۰/۲۷ درصد) را نشان داد که با تیمار کودی NPK تفاوت معنادار نداشت (جدول ۶). تصور بر این است که در شرایط تنش خشکی و کم آبی تولید مواد مؤثره

بودن پروتئین با کاربرد کودهای زیستی را می‌توان به جذب سریعتر نیتروژن و افزایش غلظت نیتروژن در اندام‌های هوایی ذکر کرد (Marschner, 1995). همچنین کاربرد کودهای زیستی موجب تثبیت نیتروژن می‌گردد که این عنصر ماده اولیه تشکیل دهنده پروتئین می‌باشد.

مجدد نیتروژن و متعاقب آن سنتز مواد محلول سازگاز می‌گردد (Feller, 2004). از این رو به نظر می‌رسد که کاهش محتوای پروتئین تحت تنش خشکی با کاهش سنتز و افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئین مرتبط باشد که این موضوع با یافته‌های ما مطابقت دارد. دلیل بالا



شکل ۵. مقایسه میانگین اثر متقابل دور آبیاری و کود دهی بر میزان پروتئین در گیاه آویشن باغی

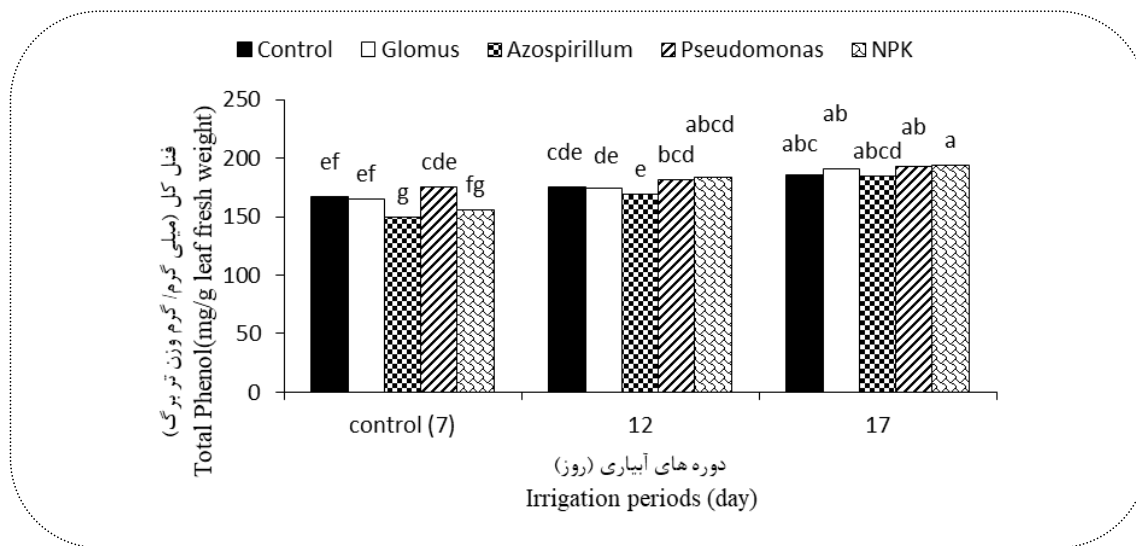
Figure 5. Mean comparison of interaction of irrigation periods and fertilization on total protein in *Thymus vulgaris*

می‌دهد (Andre et al., 2009). در تحقیقاتی مشابه روی گیاه Red Pine که با قارچ *Sphaeropsis sapinea* پوشیده شده بود، مشاهده شد که میزان ترکیب‌های فنلی در تنش آبی افزایش پیدا کرد. در سایر تنش‌های زیستی و غیرزیستی نیز این افزایش مشاهده شده است. برای مثال، در دو رقم از فلفل (*Capsicum annuum L.*) در تنش سرما میزان این ترکیب در گیاه افزایش پیدا کرد (Koc et al., 2010). در گیاه کتان با افزایش تنش خشکی مقدار این رنگیزه محافظ نیز افزایش می‌یابد که این افزایش احتمالاً به دلایل ذکر شده در بالاست. بررسی گیاه آرابیدوپسیس نیز نتیجه مشابهی را نشان داد (Jung, 2004). افزایش میزان فنل در تیمار کود NPK ممکن است به دلیل فراهمی بیشتر نیتروژن در این سیستم تغذیه‌ای باشد. در تحقیقی، افزایش در میزان نیتروژن و

فنل کل

جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل دورآبیاری و تغذیه بر میزان فنل کل در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار شده است (جدول ۴). همانطور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود، بیش‌ترین میزان فنل کل به مقدار ۱۹۳/۲۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر در تیمار آبی ۱۷ روز آبیاری (w_3) و تیمار کودی NPK و کم‌ترین آن به مقدار ۱۴۸/۹۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر در تیمار آبی شاهد (w_1) و تیمار کودی آزوسپریلیوم به دست آمد. افزایش میزان ترکیب‌های فنلی بر اثر افزایش تنش خشکی ارتباط مستقیم با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها دارد (Kim et al., 1997). تحقیقاتی که روی سیب زمینی انجام شد، نشان داد که ژن تولیدکننده فنل در گیاه در شرایط تنش خشکی، بیان و میزان این ترکیب را افزایش

فسفر سبب افزایش ترکیبات فنلی در گیاه (*Athrixia* *phylicoides* L.) شد. همچنین، افزایش میزان نیتروژن، سبب افزایش عملکرد و ترکیبات فنلی در مقایسه با سطح صفر نیتروژن شده است (Fhatuwani et al., 1985).



شکل ۶. مقایسه میانگین اثر متقابل دور آبیاری و کود دهی بر میزان فنل کل در گیاه آویشن باغی
Figure 6. Mean comparison of interaction of irrigation periods and fertilization on total phenol in *Thymus vulgaris*

نتیجه گیری و پیشنهادات

منجر به کاهش پتانسیل اسمزی سلول‌های گیاهی شده و از این طریق سبب بالا بردن جذب آب در گیاه می‌شود. همچنین هم‌سو بودن افزایش اجزای عملکرد در گیاه آویشن زراعی با کاربرد کودهای زیستی به ویژه قارچ-ریشه در شرایط تنش مؤید تأثیرات مثبت این کود از طریق بهبود صفات فیزیولوژیک در گیاه می‌باشد. بنابراین به نظر می‌رسد در صورتی که دور آبیاری منجر به کاهش فاحش در عملکرد اقتصادی این گیاه نشود، می‌توان با کاربرد کودهای زیستی حاوی اسپوره‌های میکوریز از تنش‌های این گیاه کاست.

به‌طور کلی براساس نتایج حاصله از این آزمایش می‌توان چنین بیان کرد که در شرایط تنش آبیاری استفاده از کودهای زیستی به ویژه قارچ-ریشه می‌تواند تا حد زیادی از بروز اثرات سوء تغذیه‌ای در این گیاه بکاهد. همچنین با توجه به نتایج این تحقیق چنین استنباط می‌شود که تجمع میزان پرولین و کربوهیدرات در اندام‌های هوایی آویشن، در مواجهه با دور آبیاری از جمله مکانیسم‌های مقاومت به خشکی در این گیاه محسوب می‌شود. تجمع سریع مواد آلی تنظیم کننده فشار اسمزی نظیر پرولین و کربوهیدرات

منابع

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

انتشاری، ش.، حاجی باقری، س.، و رضوی زاده، ر.، ۱۳۹۰. نقش قارچ قارچ-ریشه و سالیسیلیک اسید در القای مقاومت *Ocimum basilicum* به شوری، آفریقایی بیوتکنولوژی، شماره ۱۱، صص ۲۲۲۳-۲۲۳۵

- انجیلی، م.، اسماعیل پور، ب.، فاطمی، ح.، و جلیل وند، پ.، ۱۳۹۷. تاثیر قارچ میکوریزا بر رشد و عملکرد فلفل دلمه‌ای (*Capsicum annum L.*) تحت شرایط تنش خشکی، تنش‌های محیطی در علوم زراعی، شماره ۱، صص ۱۲۳-۱۳۹
- امیدیگی، ر.، و محمودی سورستانی، م.، ۱۳۸۹. اثر تنش خشکی بر برخی صفات مورفولوژی، میزان و عملکرد اسانس گیاه گل مکزیکی (*Agastache foeniculum Pursh Kuntze*)، علوم باغبانی ایران، شماره ۲، صص ۱۵۳-۱۶۱
- 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، صص ۲۳۹-۲۵۱
- باغبانی آرانی، ا.، مدرس ثانوی، س ع م.، مشهدی اکبر بوجار، م.، و مختصی بید گلی، ع.، ۱۳۹۶. واکنش برخی شاخص‌های رشد و عملکرد شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum L.*) به زئولیت و کود نیتروژن در شرایط تنش کم‌آبی، اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، شماره ۴، صص ۶۹۷-۷۲۰
- بزاز، ن.، خدامباشی، م.، و محمدی، ش.، ۱۳۹۲. تاثیر تنش خشکی بر خصوصیات مورفولوژیک و اجزای عملکرد گیاه دارویی شنبلیله، تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی، شماره ۸، صص ۱۱-۲۳
- خاتمی، م.، رمرودی، م.، و گلوی، م.، ۱۳۹۷. تاثیر تنش خشکی و کودهای زیستی و شیمیایی فسفره بر ویژگی‌های مورفولوژیک، عملکرد گل و اسانس گیاه دارویی بابونه (*Matricaria chamomilla L.*)، علوم گیاهان زراعی ایران، شماره ۴، صص ۱۷۵-۱۸۴
- رحیمی، ع.، جهانبین، ش.، صالحی، ا.، و فرجی، ه.، ۱۳۹۵. اثر قارچ-ریشه بر خصوصیات مورفولوژیک، مقدار ترکیبات فنلی و فلورسانس کلروفیل گیاه دارویی گاوزبان (*Borago officinalis L.*) تحت خشکی، فیزیولوژی محیطی گیاهی، شماره ۴۲، صص ۴۶-۵۵
- رضایی چپانه، ا.، و دباغ محمدی نسب، ع.، ۱۳۹۳. ارزیابی کاربرد تلفیقی کودهای زیستی و شیمیایی بر عملکرد کمی و کیفی زنیان (*Carum copticum L.*) درکشت مخلوط نواری با شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum L.*)، بوم‌شناسی کشاورزی، شماره ۳، صص ۵۸۲-۵۹۴
- روستا، ر.، ۱۳۷۱. فرآوانی و فعالیت آزوسپریلیوم در برخی خاک‌های ایران، چاپ دوم، انتشارات دانشگاه تهران.
- فلاحی، ج.، کوچکی، ع. ر. و رضوانی مقدم، پ.، ۱۳۸۸. بررسی تاثیر کودهای بیولوژیک بر عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla*)، پژوهش‌های زراعی ایران، صص ۱۲۵-۱۳۷
- وشوایی، ر.، گلوی، م.، رمرودی، م.، و فاخری، ب.، ۱۳۹۴. اثرات تنش خشکی و تلقیح کودهای زیستی بر رشد، عملکرد و ترکیبات اسانس آویشن (*Thymus vulgaris L.*)، بوم‌شناسی کشاورزی، شماره ۲، صص ۲۳۷-۲۵۳

Abdul- Jaleel, C., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Gopi, R., Somasundaram, R., and Panneerselvam, R. 2007(a). *Pseudomonas fluorescens* enhances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 60: 7-11.

- Amzad Hossain, M., and Shah, M.D. 2015. A study on the total phenols content and antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of endemic plant *Merremia Borneensis*. *Arabian Journal of Chemistry* 8:66-71.
- 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), 1107-1116.
- Aoac. 1995. *Official method of analysis* (16th ed). Arlington,UA,USA:AOAC.
- Bates I, S., Waldren R. P., and Teare I, D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Behra, R.K., Mishra, P.C., and Choudhury, N.K. 2002. High irradiance and water stress induce alterations in pigment composition and chloroplast activities of primary wheat leaves. *Journal of Plant Physiology* 159: 967-973.
- Bianciotto, V., Andreotti, S., Balestrini, R., Bonfante, P., and Perotto, S. 2001. Extracellular polysaccharides are involved in the attachment of *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium leguminosarum* to arbuscular mycorrhizal structures. *European journal of Histochemistry* 39-50.
- Bolan, N. 1991. A critical review on the role of *mycorrhizal* fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil* 134:189-207.
- Cabuslay, G. S., Ito, O., and Alejar, A. A. 2002. Physiological evaluation of responses of rice (*Oryza sativa* L.) to water deficit. *Plant Science* 163: 815-827.
- Crowe, J. H., Hoekstra, F. A., and Crowe, L. M. 1992. Anhydrobiosis. *Annual Review of Plant Biology* 54: 579-599.
- De Carvalho, I.M. 2005. Effects of water stress on the proximate composition and mineral contents of seeds of two Lupins (*Lupinus Albus*, *Lupinus Mutabilis*). *Journal of Food Quality* 28(4): 325-332.
- Dhindsa, R.S., and Cleland, R.E., 1975. Water stress and protein synthesis. *Plant Physiology* 55: 782-785.
- Fatma, E.M., El-Zamik, I., Tomader, T., El-Hadidy, H.I., Abd El-Fattah, L., and Seham Salem, H. 2006. Efficiency of biofertilizers, organic and inorganic amendments application on growth and essential oil of marjoram (*Majorana hortensis* L.) plants grown in sandy and calcareous. Zagazig University and Soil Fertility and Microbiology Department, Desert Research Center, Cairo, Egypt.
- Feller, U. 2004. Proteolysis. In: *Plant Cell Death Processes*. Ed. Elsevier 107-123.
- Fhatuwani, N M. 1985. Effects of nitrogen, phosphorus, and potassium nutrition on total polyphenol content of Bush tea (*Athrixia phyllicoides* L.) leaves in shaded nursery environment. *Hortscience* 42 (2): 334 – 8.
- Glick, BR., Penrose, MD., and Li, J. 1998. A model for the lowering of plant ethylene concentration by plant growth-promoting bacteria. *J. of Theoretical Biology* 190: 63 - 8.
- Gilik, B.R., Penrose, D., and Wenbo, M., 2001. Bacterial promotion of plant growth. *Biotechnology Advances* 19:135- 138.
- Gong, Y., Toivonen, P. M., Lau, O. L., and Wiersma, A. P. 2001. Antioxidant system level in "Braeburn" apple is related in its browning disorder. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 42: 259-264.

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. *Bioresource Technology* 81:77-79.

Jaleel, C.A., Gopi, R., and Panneerselvam, R. 2008. Growth and photosynthetic pigments responses of two varieties of *Catharanthus roseus* to triadimefon treatment. *Comptes Rendus Biol* 331: 272-277.

Joshee, N., Mentreddy, S., and Yadav, AK. 2007. Mycorrhizal fungi and growth and development of micropropagated *Scutellaria integrifolia* plants. *Industrial Crops and Products* 25:169-177.

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

Khalid, K. A. 2006. Influence of water stress on growth, essential oil, and chemical composition of herbs (*Ocimum spp.*). *International Agrophysics*20: 289-296.

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. *International Journal of Cosmetic Science* 19(6): 299-307.

Koc, E., İslək, C., and Üstun, A.S. 2010. Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annum L.*) varieties. Gazi University. *Journal of Science* 23: 1-6.

Lee, S.J., Umamo, K., Shibamoto, T., and Lee, K.G., 2005. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum L.*) and thyme leaves (*Thymus vulgaris L.*) and their antioxidant properties. *Food Chemistry* 91:131-137.

Marschner, H., 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press. Ltd, London.

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 Science* 73: 236-244.

Marulanda, A., and G.M, Barea. 2009. Stimulation of plant growth and drought to clearance by native micro-organisms from dry environments: mechanisms related to bacterial effectiveness. *Journal of Plant Growth Regulator* 28: 115- 124.

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 Physiology* 157: 383-393.

Ratti, N., Kumar, S., Verma, H., and Gautam, S. 2001. Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to *Cymbopogon martinii* var. *motia* by *rhizobacteria*, AMF and *Azospirillum* inoculation. *Microbiological Research* 156: 145-149.

Ruiz-Lozano, J.M. 2003. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stresses, new perspectives for molecular studies. *Mycorrhiza* 13: 309-17.

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 PlantsMed* 10: 1. 1-5.

Schonfeld, M. A., Johnson, R. C., Carver, B. F., and Mornhinweg, D.W. 1988. Water relation in winter wheat as drought resistance indicators. *Crop Science* 28:526-531.

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), 1642-1647.

Smith, S.E., and D.G.M, Read. 2008. Mycorrhizal Symbiosis. 3rd Ed. Academic, London 141 pp.

Tilak, K. V. B., N, Ranganayaki., K, K. Pal., R, De., R, K. Saxena., C, S. Nautiyal., S, Mitral., A. K, Tripathi., and B. N, Johri. 2005. Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. *Current Science* 89: 136-150.

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. *Journal of Bacteriology* 172:389-396.

Wu, S., Cao, Z., Li, Z., Cheung, K., and Wong, M. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma* 125:155-166.

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. *Annals of Agricultural Science-Cairo* 49:299-312.

Zelong, L., and Junhui, P. 2017. A practical method for extending the biuret assay to protein determination of corn-based products. *Food Chemistry* 289-293

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 Science* 179(3):202-208.