

## تأثیر کودهای زیستی بر میزان و عملکرد اسانس و برخی خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه نعناع (*Mentha spicata* L.) در شرایط کم آبیاری

اختر زند<sup>۱</sup>، حسین آرویی<sup>۲\*</sup>، محمدرضا چائی چی<sup>۳</sup> و سید حسین نعمتی<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی دکترا، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

۲- نویسنده مسئول، استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

پست الکترونیک: aroiee@ferdowsi.um.ac.ir

۳- استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

۴- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۵

تاریخ اصلاح نهایی: اردیبهشت ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۴

### چکیده

خشکی مهمترین عامل محدودکننده تولید محصولات زراعی به ویژه در نواحی خشک و نیمه خشک دنیا می باشد. به منظور بررسی اثر تنش خشکی و کود بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی، درصد و عملکرد اسانس در نعناع (*Mentha spicata* L.)، آزمایشی در سال ۱۳۹۳ در مزرعه تحقیقاتی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران در کرج انجام شد. آزمایش به صورت کرت های خرد شده در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل سه تیمار آبیاری (تأمین ۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه) به عنوان کرت اصلی و چهار رژیم کود شامل شاهد (عدم مصرف کود)، کود شیمیایی (اوره و سوپرفسفات تریپل)، کود زیستی (ترکیبی از باکتری های ازتوباکتر، سودوموناس و قارچ مایکوریزا) و تلفیق کود زیستی + ۵۰٪ کود شیمیایی به عنوان کرت فرعی در نظر گرفته شدند. نتایج بدست آمده نشان داد که اثرات اصلی و متقابل کم آبیاری و کود بر همه صفات اندازه گیری شده معنی دار می باشد. با افزایش شدت تنش، میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئید، کلروفیل کل، درصد اسانس، عملکرد اسانس و عملکرد خشک گیاه کاهش و مقادیر کربوهیدرات، پرولین و درصد نشت الکترولیت افزایش یافت. همچنین نتایج نشان داد که در نظام آبیاری ۱۰۰٪ و تأمین ۷۵٪ نیاز آبی گیاه، کاربرد کود شیمیایی و تلفیقی باعث بهبود خصوصیات فیزیولوژیکی، عملکرد خشک و درصد و عملکرد اسانس شد و در نظام کم آبیاری شدید (تأمین ۵۰٪ نیاز آبی گیاه)، کاربرد کود زیستی بهتر از سایر کودها عمل کرد.

واژه های کلیدی: نعناع (*Mentha spicata* L.)، کم آبیاری، کود زیستی، اسانس، پرولین.

## مقدمه

یکی از عوامل محیطی که رشد و نمو گیاهان را کنترل می‌کند، فراهمی آب می‌باشد (Gadallah, 1995). خشکی شایع‌ترین تنش محیطی غیرزنده و مهمترین عامل محدودکننده تولید محصولات زراعی به‌ویژه در نواحی خشک و نیمه‌خشک دنیا می‌باشد (Kramer & Boyer, 1995). کمبود آب، بر بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاهان اثرات نامطلوب می‌گذارد. تنش خشکی و تنش‌های محیطی دیگر تأثیر منفی بر رشد و عملکرد گیاه دارد (Gadallah, 1995; Jones & Tardieu, 1998). محققان گزارش کردند که مواد مؤثره گیاهان تحت تأثیر عوامل محیطی تغییر یافته و تنش خشکی را مهمترین عامل مؤثر بر سنتز این ترکیب‌های طبیعی معرفی کردند (Solinas & Deiana, 1996; Zobayed et al., 2007). در مطالعات زیادی، تغییر میزان اسانس گیاهان دارویی و تغییر ترکیب آنها در شرایط تنش خشکی گزارش شده است (Mirsa & Strivastava, 1999; Sabih et al., 2000; Hendawy & Khalid, 2005). نتایج تحقیقی بر روی گیاه دارویی *Parthenium argentatum* Gray نشان داد که میزان اسانس گیاه تحت شرایط تنش خشکی افزایش یافت و بیشترین درصد اسانس تحت تنش متوسط و شدید خشکی و کمترین میزان آن در شرایط بدون تنش گزارش شد. تنش خشکی سبب کاهش وزن تر و خشک ساقه گیاه نیز گردید (Baher Nik et al., 2008). تنش خشکی سبب کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی *Thymus carmanicus* شد. همچنین درصد اسانس این گیاه تحت تنش ملایم و شدید خشکی در مقایسه با شاهد به ترتیب ۱۲/۵٪ و ۴۴/۹٪ افزایش یافت، در حالی که عملکرد اسانس در تنش ملایم و شدید خشکی به ترتیب ۴۳٪ و ۴۴/۱٪ کاهش یافت (Bahreininejad et al., 2014). گیاهان برای مقابله با تنش خشکی سازوکارهای حفاظتی متفاوتی را در پیش می‌گیرند که از آن جمله می‌توان به تجمع اسمولیت‌هایی مانند پرولین و قندهای محلول اشاره

کرد (Huang et al., 2000). پرولین یکی از شایع‌ترین اسمولیت‌های سازگار است که در گیاهانی که با تنش خشکی مواجه می‌شوند، تجمع می‌یابد (Alexieva et al., 2001) و پتانسیل اسمزی را در سیتوپلاسم تنظیم می‌کند (Caballero et al., 1988). در مطالعه‌ای افزایش مقدار اسانس و پرولین در ریحان در واکنش به تنش خشکی گزارش شده است (Baeck et al., 2001). تنش خشکی شدید در مرزه سبب افزایش اسانس نسبت به تنش خشکی ملایم گردید (Baher et al., 2002). مطالعه روی دو گونه ریحان *Ocimum basilicum* L. و *Ocimum americanum* L. نشان داد که در هر دو گونه تحت تنش خشکی، درصد اسانس، ترکیب‌های اصلی اسانس، میزان پرولین و کربوهیدرات کل افزایش یافت (Khalid, 2006). محققان در نتیجه مطالعات خود روی گیاه نعناع ژاپنی (*Mentha arvensis* L.) بیان کردند که تنش خشکی سبب کاهش سطح فتوسنتزکننده کل، مقدار ماده خشک و تر، میزان کلروفیل، کاروتنوئید و عملکرد اسانس در این گیاه شد (Mirsa & Strivastava, 2000). Safikhani و همکاران (۲۰۰۷)، بیشترین عملکرد اسانس، پرولین، قند محلول و کلروفیل در گیاه دارویی بادرشیبو (*Dracocephalum moldavica*) را به ترتیب در تیمارهای ۶۰، ۴۰، ۴۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی گزارش کردند.

غشاهای بیولوژیکی اولین هدف بسیاری از تنش‌های زیستی هستند. حفظ یکپارچگی و پایداری غشاءها، مکانیزم اصلی تحمل گیاهان به تنش خشکی است (Bajji et al., 2002). میزان نشت الکترولیت پارامتری است که برای سنجش پایداری غشای سلولی استفاده می‌گردد و هرچه مقدار نشت الکترولیت بیشتر باشد، پایداری غشای سلولی ضعیف‌تر خواهد بود (Valentovi et al., 2006). Jabari و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که دیواره‌های سلولی تحت تنش خشکی تخریب می‌شوند.

در مورد گیاهان دارویی که به طور مستقیم با سلامت انسان در ارتباط هستند، محرز می‌باشد. کودهای زیستی تولیدی شامل انواع گوناگون از باکتری‌ها یا قارچ‌های زنده‌ای هستند که توانایی تثبیت بیولوژیکی نیتروژن یا حل کردن و افزایش جذب فسفات موجود در خاک را دارند (Narula et al., 2000). این میکروارگانیسم‌ها با تولید مقادیر قابل ملاحظه‌ای از هورمون‌های تحریک‌کننده رشد به ویژه انواع اکسین، جیبرلین و سیتوکینین، رشد و نمو و عملکرد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Ravikumar et al., 2004).

نعناع (*Mentha spicata*) به تنش خشکی حساس است (Okwany et al., 2012). آبیاری مطلوب برای افزایش رشد، عملکرد و اسانس گونه‌های مختلف این گیاه در طول فصل رشد ضروریست (Ram et al., 2006). با توجه به حساسیت نعناع به کاهش آب خاک طی فصل رشد، بررسی واکنش این گیاه به تنش کم‌آبی لازم می‌باشد. بنابراین هدف از این آزمایش، بررسی اثرات رژیم‌های مختلف آبیاری و سه نوع کود شیمیایی، زیستی و تلفیقی بر درصد و عملکرد اسانس و پارامترهای فیزیولوژیک در گیاه دارویی نعناع است.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال زراعی ۱۳۹۳-۱۳۹۲ در مزرعه آموزشی-پژوهشی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران واقع در دولت‌آباد کرج با عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۵۶ دقیقه شمالی، طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۸ دقیقه شرقی و ارتفاع ۱۳۱۶ متر از سطح دریا اجرا شد. متوسط بارندگی سالیانه منطقه ۲۴۵ میلی‌متر، متوسط حداقل و حداکثر دمای سالیانه آن به ترتیب ۱/۲ و ۲۶/۱ درجه سانتی‌گراد و از لحاظ اقلیمی جزء مناطق خشک تا نیمه‌خشک به‌شمار می‌رود. مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش در جدول ۱ مشخص شده است.

قابلیت دسترسی عناصر غذایی مختلف در خاک تحت تأثیر تنش خشکی تغییرات قابل ملاحظه‌ای می‌یابد (Munns, 1993). تغییرات چند درصدی میزان آب در بستر رشد گیاه می‌تواند سبب کاهش چهار تا پنج برابر هدایت هیدرولیکی بستر شود و به‌طور بالقوه کسب مواد غذایی به‌وسیله گیاهان را محدود سازد (Raviv et al., 1999). مدیریت تغذیه گیاه در شرایط تنش یکی از مسائل مهم در تولید محصولات زراعی محسوب می‌شود (Mohammadkhani & Heidari, 2007). از این رو کاربرد مقادیر مناسب کود برای تولید گیاهان دارویی در مناطق خشک و نیمه‌خشک مهم می‌باشد (Zhu et al., 2009). مطالعات مختلف نشان داده‌اند که استفاده از کودهای مناسب، اثر مخرب تنش خشکی را بر عملکرد زیست‌توده کاهش می‌دهد (Ram et al., 2006; Graciano et al., 2005). Zhu et al., 2009. گیاهی که خوب تغذیه شده و به‌مقدار کافی عناصر غذایی را دریافت کرده باشد، مقاومت بهتری به خشکی خواهد داشت (Lal et al., 1993) و در این راستا کمیت و کیفیت محصول نیز تحت تأثیر قرار خواهد گرفت. با این حال کود اضافی تحت شرایط تنش خشکی می‌تواند به شدت رشد را کاهش دهد و یا برای گیاه سمی باشد (Wu et al., 2008). در واقع با توجه به میزان دسترسی به آب، اضافه کردن عناصر غذایی می‌تواند موجب افزایش و یا کاهش مقاومت به تنش گردد و یا حتی بی‌تأثیر باشد (Sreevalli et al., 2001).

با توجه به اثر مخرب زیست محیطی کشاورزی متداول که ناشی از مصرف بی‌رویه نهاده‌های شیمیایی می‌باشد، روز به روز بر اهمیت توجه به کشاورزی جایگزین افزوده می‌شود. یکی از ارکان اصلی کشاورزی پایدار استفاده از کودهای زیستی در اکوسیستم‌های زراعی با هدف حذف کاربرد کود شیمیایی است. کودهای آلی سبب تأمین سلامت انسان و محیط زندگی می‌شوند (Sharma, 2002) و اهمیت کاربرد آنها

جدول ۱- مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش در عمق صفر تا ۳۰ سانتی متری

نیترژن کل (%)	فسفر قابل جذب (میلی گرم بر کیلوگرم)	پتاسیم قابل جذب (میلی گرم بر کیلوگرم)	اسیدیته عصاره اشباع (pH)	هدایت الکتریکی عصاره اشباع (EC) (دسی زیمنس بر متر)	بافت خاک (لوم)		
					رس (%)	سیلت (%)	شن (%)
۰/۰۹	۸/۸۷	۱۰۹	۸	۱/۸۶	۲۹	۳۶	۳۵

فواصل زمانی هر چهار روز یکبار و تا پایان فصل انجام شد. در سال دوم اجرای طرح، در تاریخ ۱۰ اردیبهشت سال ۱۳۹۳ پس از پایان بارشها، نعناعها کفبر شدند. پس از کفبر کردن، تیمارهای کودی دوباره اعمال شد و آبیاری هر چهار روز یکبار تا پایان دوره رشد انجام شد. تیمار کود زیستی به صورت کودآبیاری اعمال گردید، بدین ترتیب که مقدار مشخص از باکتریها و قارچ (پنج میلی لیتر سوسپانسیون باکتری و ۱ گرم خاک آلوده به اسپور قارچ به ازای هر بوته) در حجم مشخصی از آب حل شد و به طور مساوی بین کرت های مورد نظر در اواسط زمان آبیاری تقسیم شد. حجم آب در هر بار آبیاری با استفاده از کنتور اندازه گیری شد و برای محاسبه حجم آب مورد نیاز در هر بار آبیاری از فرمول زیر استفاده شد (Chaichi et al., 2015).

$$I_n = \frac{0.623 \times A \times ET_c}{IE}$$

$$ET_c = ET_0 \times K_c$$

$K_c$  = ضریب ثابت گیاهی

$ET_0$  = مقدار تبخیر بالقوه در منطقه بر حسب اینچ (هر چهار روز یکبار)

$ET_c$  = مقدار تبخیر و تعرق گیاه بر حسب اینچ (هر چهار روز یکبار)

$I_n$  = حجم آب مورد نیاز در هر دور آبیاری (بر حسب گالن)

$IE$  = بازدهی آبیاری (۹۰-۸۰٪)

$A$  = مساحت پوشش گیاهی در هر کرت در زمان آبیاری (بر حسب فوت مربع)

این آزمایش به صورت کرت های خرد شده در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. در این تحقیق سه تیمار آبیاری (تأمین ۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه) به عنوان کرت اصلی و چهار رژیم کودی شامل شاهد (عدم مصرف کود)، تغذیه شیمیایی (بر اساس آزمون خاک)، کود زیستی و تلفیق کود زیستی به اضافه ۵۰٪ کود شیمیایی به عنوان کرت فرعی در نظر گرفته شد. کود شیمیایی شامل ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار اوره و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار سوپرفسفات تریپل و کود زیستی مورد استفاده، تلفیقی از باکتریهای *Pseudomonas* و *Azotobacter chroococcom* و *fluorescens* با غلظت  $10^7$  CFU/ml و قارچ مایکوریزا (*Glomus mosseae*) با تعداد ۱۰۰۰ عدد از اسپور در هر گرم خاک بود که از آزمایشگاه میکروبیولوژی گروه خاک شناسی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج تهیه گردید.

آزمایش در کرت هایی به ابعاد ۲×۲ متر اجرا شد. هر کرت شامل چهار ردیف کاشت به فاصله ۵۰ سانتی متر از یکدیگر بود. ریزومها بر روی پشته ها و با فاصله ۳۰ سانتی متر در ۱۵ تیرماه سال ۱۳۹۲ کاشته شد. تیمارهای کود زیستی با تلفیق ریزومها با قارچ و باکتری در زمان کاشت در مزرعه انجام شد، بدین ترتیب که ریزومها به مدت پنج دقیقه در مخلوط غلیظ و چسبنده باکتری و قارچ قرار گرفتند و بعد کشت شدند. کود شیمیایی فسفر در زمان کاشت به صورت باند ردیفی در فاصله ۱۰ سانتی متری ریزومها و کود اوره در سه مرحله رویشی چهار تا پنج برگی، ابتدای ساقه دهی و آغاز گلدهی به کرت های مربوط داده شد. بلافاصله پس از کشت، آبیاری با

b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها از یک روند کاهشی پیروی کرد (جدول ۳). اثر تیمارهای کودی نیز بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در سطح احتمال ۱٪ و بر میزان کاروتنوئید در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود (جدول ۲). مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در تیمار کود شیمیایی نسبت به شاهد (عدم مصرف کود) به ترتیب ۱۵، ۲۷ و ۱۹ درصد افزایش به بالاترین مقدار خود رسید. به طوری که از نظر مقادیر کلروفیل a و کلروفیل کل بین کود شیمیایی و تیمار تلفیق کود زیستی با ۵۰٪ کود شیمیایی تفاوت معنی‌دار وجود نداشت. حداکثر میزان کاروتنوئید با ۱۲٪ افزایش نسبت به تیمار شاهد، در تیمار تلفیق کود زیستی با ۵۰٪ کود شیمیایی بدست آمد (جدول ۳).

اثر متقابل نظام کم‌آبیاری و تیمارهای کودی بر مقادیر کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشترین میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در رژیم آبیاری تأمین ۱۰۰٪ نیاز آبی و کاربرد کود شیمیایی مشاهده گردید. بالاترین میزان کاروتنوئید را نظام آبیاری تأمین ۱۰۰٪ نیاز آبی گیاه و تیمار کودی تلفیق کود زیستی و ۵۰٪ کود شیمیایی به خود اختصاص داد. کمترین مقادیر کلروفیل a، کلروفیل کل و کاروتنوئید نیز در نظام کم‌آبیاری ۵۰٪ و کاربرد کود شیمیایی و کمترین مقدار کلروفیل b مربوط به نظام کم‌آبیاری ۵۰٪ و تیمار کود زیستی بود (جدول ۳).

#### پرویلین

تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی نظام کم‌آبیاری و کود و اثر متقابل آبیاری و کود بر میزان پرویلین در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که از تیمار آبیاری ۱۰۰٪ به طرف نظام کم‌آبیاری ۵۰٪ بر میزان پرویلین افزوده شد. در بین تیمارهای کودی، بیشترین میزان پرویلین مربوط به کاربرد کود شیمیایی و کمترین

K<sub>c</sub> برای نعناع در اوایل، اواسط و اواخر دوره رشد به ترتیب ۰/۶، ۱/۱۵ و ۱/۱ می‌باشد (Allen, 1998). پس از انجام محاسبات فوق در مورد هر تیمار آبیاری، حجم آب مورد نیاز برای هر کرت به لیتر تبدیل و با استفاده از کنتور اعمال شد.

در این تحقیق نمونه‌برداری از گیاه در مرحله گلدهی کامل انجام شد و صفاتی از قبیل عملکرد گیاه، درصد و عملکرد اسانس، میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید، پرویلین، کربوهیدرات‌های محلول و درصد نشت الکتروولیت اندازه‌گیری شد. به منظور حفظ کمیّت و کیفیت اسانس نمونه‌های گیاهی در سایه و در درجه حرارت محیط خشک شدند. استخراج اسانس با روش تقطیر با بخار آب و با استفاده از دستگاه کلونجر انجام شد. اسانس با استفاده از سولفات سدیم بدون آب، آب‌گیری شد و درصد اسانس محاسبه گردید. اندازه‌گیری میزان محتوای کلروفیل و کاروتنوئید بر مبنای روش Arnon (۱۹۶۷) انجام شد. برای اندازه‌گیری پرویلین از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. برای اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول، ابتدا عصاره‌گیری از گیاه به روش Wojdylo و همکاران (۲۰۰۷) انجام گردید و بعد میزان قندهای محلول عصاره با روش Yemm و Willis (۱۹۵۴) اندازه‌گیری شد. برای تعیین پایداری غشاء سلول‌های برگ‌گی از شاخص نشت الکتروولیت‌ها استفاده شد (Marcum, 1998). نتایج حاصل با استفاده از نرم‌افزار SAS تجزیه واریانس شد و برای مقایسه میانگین از آزمون LSD استفاده شد.

#### نتایج

کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها اثر نظام کم‌آبیاری بر کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۲). البته با افزایش میزان تنش خشکی، مقدار کلروفیل a، کلروفیل

### عملکرد

نتایج نشان داد که اثرات اصلی نظام کم آبیاری و کود و اثر متقابل آبیاری و کود بر عملکرد خشک گیاه در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود (جدول ۲). تنش خشکی سبب کاهش عملکرد خشک گیاه شد. براساس جدول ۳، تنش متوسط (تأمین ۷۵٪ نیاز آبی) و شدید خشکی (تأمین ۵۰٪ نیاز آبی) عملکرد گیاه را به ترتیب به میزان ۱۵ و ۳۶ درصد کاهش دادند. حداکثر عملکرد خشک با ۱۰٪ افزایش نسبت به تیمار شاهد در تیمار کودی تلفیق کود زیستی با ۵۰٪ کود شیمیایی مشاهده گردید. مقایسه میانگین اثر متقابل رژیم کم آبیاری و کود بر عملکرد نشان داد که بیشترین عملکرد مربوط به آبیاری کامل و تیمار کود شیمیایی بود، البته تفاوت معنی دار بین تیمار کود شیمیایی و تلفیقی وجود نداشت. کمترین میزان عملکرد نیز مربوط به تأمین ۵۰٪ نیاز آبی گیاه و کاربرد کود شیمیایی بود (جدول ۳).

### درصد و عملکرد اسانس

تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی آبیاری و کود و همچنین اثر متقابل آنها بر درصد و عملکرد اسانس در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود (جدول ۲). تنش شدید خشکی سبب کاهش درصد و عملکرد اسانس به ترتیب به میزان ۱۹ و ۴۸ درصد نسبت به رژیم آبیاری کامل گردید. اثر تیمارهای کودی نشان داد که کمترین درصد و عملکرد اسانس مربوط به شاهد و بیشترین آنها به ترتیب مربوط به تیمار کود زیستی و تیمار تلفیق کود زیستی با ۵۰٪ کود شیمیایی بود (جدول ۳). بیشترین میزان اسانس در نظام آبیاری ۱۰۰٪ و کاربرد کود تلفیقی و کمترین مقدار آن در نظام کم آبیاری ۵۰٪ و مصرف کود تلفیقی مشاهده شد. بیشترین عملکرد اسانس را تیمار نظام آبیاری ۱۰۰٪ و کاربرد کود تلفیقی و کمترین آن را تیمار نظام کم آبیاری ۵۰٪ و مصرف کود شیمیایی به خود اختصاص داد (جدول ۳).

آن در تیمار کود زیستی مشاهده شد (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر متقابل نظام کم آبیاری و کود بر میزان پرولین نشان داد که حداکثر میزان پرولین در شرایط تأمین ۵۰٪ نیاز آبی گیاه و کاربرد کود شیمیایی بدست آمد و حداقل آن در شرایط تأمین ۱۰۰٪ نیاز آبی گیاه و عدم مصرف کود مشاهده گردید (جدول ۳).

### کربوهیدرات

اثر اصلی آبیاری و کود و همچنین اثر متقابل آنها بر میزان کربوهیدرات در گیاه معنی دار بود (جدول ۲). حداکثر میزان کربوهیدرات به نظام کم آبیاری ۵۰٪ و حداقل آن به آبیاری کامل (۱۰۰٪) اختصاص یافت. همچنین اثر تیمارهای کودی نشان داد که تیمار کود زیستی بیشترین و تیمار کاربرد کود شیمیایی کمترین مقدار کربوهیدرات را داشتند (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین نیز نشان داد که تیمار نظام آبیاری ۱۰۰٪ و عدم مصرف کود، کمترین میزان کربوهیدرات محلول و تیمار تأمین ۵۰٪ نیاز آبی گیاه و مصرف کود زیستی بیشترین میزان آن را به خود اختصاص داد (جدول ۳).

### درصد نشت الکترولیت

اثرات اصلی آبیاری، کود و اثر متقابل آبیاری و کود بر درصد نشت الکترولیت در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود (جدول ۲). با افزایش شدت تنش خشکی درصد نشت الکترولیت افزایش و پایداری غشای سلولی کاهش یافت. اثرات اصلی کود نشان داد که بیشترین درصد نشت الکترولیت در تیمار کود شیمیایی و کمترین آن در تیمار کود زیستی اتفاق می افتد (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر متقابل نظام کم آبیاری و کود بر درصد نشت الکترولیت نشان داد که حداکثر درصد نشت الکترولیت در شرایط تأمین ۵۰٪ نیاز آبی گیاه و کاربرد کود شیمیایی بدست آمد و حداقل آن در شرایط تأمین ۱۰۰٪ نیاز آبی گیاه و عدم مصرف کود مشاهده شد (جدول ۳).

تأثیر کودهای زیستی بر میزان و عملکرد اسانس و ...

ریانس اثر سطوح متفاوت آبیاری و کود بر عملکرد خشک، درصد و عملکرد اسانس و برخی خصوصیات فیزیولوژیکی نعناع

نشت الکترولیت	پرولین	کربوهیدرات‌های محلول	کلروفیل کل	کاروتنوئید	کلروفیل b	کلروفیل a	عملکرد اسانس	درصد اسانس
۲/۷۷ ns	۰/۰۲ ns	۹/۷۹ ns	۱/۷۳ ns	۰/۰۶ ns	۰/۰۱ ns	۱/۳۲ ns	۱۲/۳۳ ns	۰/۰۰۴ ns
۳۶۰/۱۹ **	۱۹/۷۱ **	۱۵۵/۸۸ **	۴۶۲/۵۳ **	۲۹/۳۷ **	۴۴/۳۵ **	۲۲۱/۰۱ **	۹۶۹/۴۷ **	۰/۰۷ **
۲/۶۳	۰/۱۰	۸/۳۲	۱/۰۲	۰/۱۹	۰/۵۸	۰/۶۷	۳/۸۳	۰/۰۰۱
۵۸/۶۱ **	۳/۳۱ **	۳۶/۰۴ *	۸۲/۹۸ **	۰/۷۱ *	۱۷/۱۶ **	۲۴/۹۸ **	۵۲/۱۷ **	۰/۰۱ **
۱۴/۲ **	۱/۷۲ **	۵۹/۵۵ **	۴۰/۹۵ **	۳/۰۳ **	۵/۸۴ **	۱۸/۵۵ **	۶۶/۳۴ **	۰/۰۱ **
۱/۰۵	۰/۰۸	۱۰/۶۴	۴/۲۵	۰/۲۸	۰/۶۵	۳/۹۳	۵/۸۴	۰/۰۰۱
۵/۳۵	۶/۴۴	۶/۰۱	۶/۱۸	۹/۶۶	۷/۹۷	۸/۵۵	۸/۲۸	۵/۸۱

و ۵٪ و ns عدم معنی‌دار بودن را نشان می‌دهد.

مقایسه عملکرد اسانس و عملکرد خشک، درصد و عملکرد اسانس و برخی پارامترهای فیزیولوژیک نعنای

درصد اسانس (%)	عملکرد اسانس (کیلوگرم در هکتار)	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئید	کلروفیل کل	کربوهیدرات‌های محلول	پرولین	نشت الکترولیت
(%)	(کیلوگرم در هکتار)			(میکروگرم در گرم وزن تر)		(میلی گرم گلوکز در گرم وزن خشک)	(میکرومول در گرم وزن تر)	(%)
۰/۷۹ a	۳۷/۲۵ a	۲۷/۱ a	۱۲/۰۸ a	۶/۷۵ a	۳۹/۱۹ a	۵۰/۸۸ b	۳/۵۵ c	۱۴/۸۰ c
۰/۷۷ a	۳۰/۷۶ b	۲۳/۸۴ b	۱۰/۱۸ b	۵/۹۸ b	۳۴/۱۱ b	۵۳/۸۸ b	۴/۱۱ b	۱۷/۲۹ b
۰/۶۴ b	۱۹/۴۸ c	۱۸/۶ c	۸/۲۳ c	۳/۷۴ c	۲۶/۸۳ c	۵۸/۰۵ a	۵/۹۹ a	۲۵/۲۹ a
۰/۶۸ b	۲۵/۷۲ b	۲۱/۰۵ b	۸/۶۱ d	۵/۱۴ b	۲۹/۶۶ c	۵۴/۸۹ ab	۴/۳۶ b	۱۷/۴۱ c
۰/۷۵ a	۳۰/۸۲ a	۲۴/۵۹ a	۱۱/۷۹ a	۵/۵۲ ab	۳۶/۳۹ a	۵۲/۶۲ b	۵/۳۶ a	۲۲/۵۹ a
۰/۷۳ ab	۳۰/۸۳ a	۲۴/۴۲ a	۱۰/۷ b	۵/۸۳ a	۳۵/۲۴ a	۵۲/۷۴ b	۴/۵۹ b	۱۹/۴۸ b
۰/۷۷ a	۲۹/۲۹ a	۲۲/۶۵ ab	۹/۵۶ c	۵/۴۸ ab	۳۲/۲۲ b	۵۶/۸۳ a	۳/۹۰ c	۱۷/۰۲ c
۰/۷۴ cde	۳۰/۸۹ e	۲۳/۵۹ bcd	۹/۱ c	۶/۰۳ cd	۳۲/۶۹ d	۴۷/۸۱ d	۳/۲۹ g	۱۲/۰۵ e
۰/۷۹ bcd	۳۹/۶۶ ab	۳۱/۲۲ a	۱۵/۳۶ a	۷/۱۸ ab	۴۶/۵۸ a	۵۴/۶۴ b	۳/۹ ef	۱۷/۵۹ c
۰/۸۷ a	۴۳/۵۴ a	۲۸/۹۵ a	۱۲/۳۱ b	۷/۵۵ a	۴۱/۲۶ b	۴۷/۸۳ cd	۳/۷ gf	۱۶/۹۷ cd
۰/۷۷ cd	۳۴/۹ cd	۲۴/۶۶ bc	۱۱/۵۵ b	۶/۲۷ cd	۳۶/۲۱ c	۵۳/۲۴ bc	۳/۳۱ g	۱۲/۶۱ e
۰/۶۸ ef	۲۴/۹ f	۲۱/۲۹ de	۸/۲۸ c	۴/۹۷ ef	۲۹/۵۷ def	۵۴/۴۷ b	۳/۳۸ g	۱۶/۹۸ cd
۰/۸۴ ab	۳۶/۵۸ bc	۲۵/۸۴ b	۱۱/۴۸ b	۶/۹ abc	۳۷/۳۲ c	۵۱/۷۲ bcd	۴/۶۷ d	۱۸/۵۷ c
۰/۷۴ cde	۳۱/۰۱ de	۲۵/۶۴ bc	۱۱/۷۴ b	۵/۴۳ de	۳۷/۷۴ c	۵۵/۸۸ b	۴/۲۱ de	۱۸/۵۷ c
۰/۸ abc	۳۰/۵۵ e	۲۲/۵۹ cd	۹/۲۳ c	۶/۶۳ bc	۳۱/۸۲ de	۵۳/۴۶ b	۴/۱۹ def	۱۵/۰۴ d
۰/۶۴ fg	۲۱/۳۶ fg	۱۸/۲۸ ef	۸/۴۵ c	۴/۴۲ fg	۲۶/۷۳ fg	۶۲/۴۱ a	۶/۴۱ b	۲۳/۱۹ b
۰/۶۳ fg	۱۶/۲۲ h	۱۶/۷۲ f	۸/۵۴ c	۲/۹۴ h	۲۵/۲۷ g	۵۱/۵۰ bcd	۷/۵ a	۳۱/۶۳ a
۰/۵۷ g	۱۷/۹۳ gh	۱۸/۶۶ ef	۸/۰۶ c	۴/۵۱ f	۲۶/۷۲ fg	۵۴/۵۱ b	۵/۸۵ c	۲۲/۹۱ b
۰/۷۳ de	۲۲/۴۲ f	۲۰/۷۲ de	۷/۹ c	۳/۵۶ g	۲۸/۶۲ ef	۶۳/۸۰ a	۴/۲۲ de	۲۳/۴۲ b

نی‌دار در بین میانگین تیمارهاست.



## بحث

سلول‌هایی که آب خود را از دست داده‌اند، داشته باشند. این اسمولیت‌ها در گونه‌های مختلف تغییر می‌کنند و شامل پرولین، بتائین، دی‌متیل‌سولفونیوپروپیرینات (DMSP)، پیلول‌ها (مانیتول، سوربیتول و پینیتول) و ترهالوز می‌باشند (Smirnoff, 1998). تجمع پرولین در بافت‌های گیاهی یکی از نشانه‌های واضح تنش‌های محیطی به‌ویژه در گیاهان تحت تنش خشکی است (Routley, 1966). در این تحقیق نیز با افزایش تنش، ساخت اسیدآمین‌ها پرولین در گیاه افزایش یافت و بیشترین میزان آن در نظام کم‌آبیاری ۵۰٪ و تیمار کاربرد کود شیمیایی مشاهده گردید، بدین معنی که گیاه با تجمع مواد تنظیم‌کننده اسمزی سعی بر مقابله با تنش داشت. کمترین میزان کلروفیل a، کاروتنوئید و کلروفیل کل نیز مربوط به اثر متقابل تأمین ۵۰٪ نیاز آبی گیاه به‌همراه کاربرد کود شیمیایی بود. به‌نظر می‌رسد گیاه بیشتر انرژی خود را صرف تولید پرولین و بالا بردن غلظت شیره سلولی کرده، در نتیجه میزان تولید کلروفیل و عملکرد در این تیمار کاهش یافت. پرولین ترکیبی پروتئینی با ساختار نیتروژنی است که مصرف کودهای حاوی نیتروژن به تولید بیشتر آن در گیاه کمک خواهد کرد (Malakouti & Homae, 2004). عمده ترکیب‌های رنگدانه‌های فتوسنتزی دارای ساختار نیتروژنی هستند. از این‌رو کاربرد نیتروژن می‌تواند تا حد زیادی سبب افزایش مقدار آنها در گیاه شود (Zgallai et al., 2006). نتایج این آزمایش نشان داد که در شرایط تنش شدید خشکی، تیمار کود زیستی در مقایسه با سایر کودها توانسته بهتر عمل کند و این تیمار کودی از میزان کلروفیل a و کلروفیل کل بیشتری برخوردار می‌باشد، اما مقدار پرولین کمتری تولید شده است که نشان می‌دهد نیتروژن مصرفی بدلیل کود زیستی بیشتر صرف تولید کلروفیل شده و گیاه در مقایسه با کاربرد کود شیمیایی در وضعیت بهتری بوده و مجبور به تولید پرولین برای تنظیم فشار اسمزی نبوده است. با بالا رفتن سطح تنش تا تأمین ۵۰٪ نیاز آبی گیاه، درصد نشت الکتروولت افزایش و پایداری غشای سلولی کاهش

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که از نظام کم‌آبیاری ۱۰۰٪ به طرف نظام کم‌آبیاری ۵۰٪ از میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها کاسته و در مقابل بر مقادیر تنظیم‌کننده‌های اسمزی (کربوهیدرات‌های محلول و پرولین) افزوده می‌شود (جدول ۳). این نتایج در راستای نتایج محققانی مانند Safikhani و همکاران (۲۰۰۷)، Ahmadian و همکاران (۲۰۱۰)، Khalid (۲۰۰۶)، Mirsa و Strivastava (۲۰۰۰) می‌باشد. تحت تنش خشکی، به دلیل بسته شدن روزنه‌ها، تثبیت دی‌اکسید کربن کاهش می‌یابد، در حالی‌که واکنش‌های نوری و انتقال الکترون به‌طور نرمال ادامه می‌یابد. تحت چنین شرایطی قابلیت دسترسی NADP (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) برای پذیرش الکترون محدود می‌شود. بنابراین اکسیژن می‌تواند پذیرنده الکترون جایگزین باشد که منجر به تجمع گونه‌های اکسیژن سمی از جمله رادیکال‌های سوپراکسید ( $O_2^-$ )، پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) و رادیکال‌های هیدروکسیل (OH) می‌شود (Jabari et al., 2006). تولید گونه‌های اکسیژن فعال تحت برخی تنش‌های محیطی از جمله تنش خشکی تحریک می‌شود (Sharma & Dubey, 2005). عمدتاً کاهش کلروفیل تحت تنش خشکی، در نتیجه آسیب به کلروپلاست به‌وسیله گونه‌های اکسیژن فعال (Smirnoff, 1998)، به دلیل جلوگیری از سنتز این رنگیزه، یا تخریب رنگیزه و همچنین آسیب به کلروپلاست‌ها (Lessani & Mojtahedi, 2002) می‌باشد. کاهش میزان کاروتنوئیدها در شرایط تنش نیز احتمالاً به علت تجزیه بتاکاروتن و تشکیل زآزانتین در چرخه زانتوفیل است (Sultana et al., 1999). گیاهان در مواجهه با تنش اسمزی ناشی از خشکی، شوری بالا و دمای پایین، اسمولیت‌های سازگاری را در خود تجمع می‌کنند. وظیفه اصلی این اسمولیت‌ها حفظ فشار تورگر است، اما ممکن است آنها اثرات حفاظتی دیگری نیز بر ماکرومولکول‌های موجود در

برخوردار بود. علت بالاتر بودن عملکرد ماده خشک در تیمار کود تلفیقی می‌تواند این باشد که علاوه بر اینکه کودهای زیستی سبب بهبود شرایط فیزیکی و شیمیایی خاک می‌شوند، بلکه کودهای شیمیایی نیز موجب تأمین عناصر نیتروژن و فسفر مورد نیاز گیاه مخصوصاً در اوایل دوره رشد گیاه شده که در نتیجه باعث ایجاد شرایط مناسب‌تر برای رشد و تولید گیاه می‌شوند. این دستاوردها با نتایج بسیاری از محققان از جمله Dadrasan و همکاران (۲۰۱۵) و Adediran و همکاران (۲۰۰۴) مبنی بر برتری روش‌های تلفیقی از نظر وزن خشک نسبت به روشهای شیمیایی و آلی مطابقت دارد.

نتایج این آزمایش نشان داد که با کاهش آب مورد نیاز گیاه از میزان اسانس گیاه کاسته شد. Omidbaigi (۲۰۰۷) گزارش کرد که مقدار اسانس تولید شده در پیکر رویشی نعنای، با مقدار رطوبت خاک رابطه مستقیم دارد، به همین دلیل برای تولید محصولی با کمیّت و کیفیت مناسب، رطوبت خاک در طول رویش باید برابر ۸۰٪ باشد و گیاهان از سه تا چهار هفته پس از رویش تا قبل از گلدهی به مقادیر مناسبی آب نیاز دارند و باید تحت آبیاری منظم قرار گیرند. در این تحقیق عملکرد اسانس نیز متأثر از تنش خشکی تغییر یافت و با قرار گرفتن گیاه تحت تنش متوسط و شدید خشکی، از عملکرد اسانس گیاه کاسته شد. کاهش عملکرد اسانس تحت تنش خشکی با نتایج Mirsa و Strivastava (۲۰۰۰) و Bahreininejad و همکاران (۲۰۱۴) مطابقت دارد. از آنجا که عملکرد اسانس از حاصل ضرب درصد اسانس در عملکرد گیاه بدست می‌آید، بنابراین با افزایش عملکرد گیاه و درصد اسانس، عملکرد اسانس نیز افزایش می‌یابد. تنش خشکی سبب تغییر رنگدانه‌ها و اجزای فتوسنتزی (Anjum *et al.*, 2003)، تخریب دستگاه فتوسنتزی (Fu & Huang, 2001) و سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های چرخه کالوین (Monakhova & Chernyadèv, 2002) که از دلایل مهم کاهش عملکرد هستند، می‌شود و با کاهش عملکرد، عملکرد اسانس نیز

یافت. در شرایط تنش خشکی غشای پلاسمایی یکی از اولین بخش‌های سلول است که آسیب می‌بیند (Levitt, 1980)، به طوری که نفوذپذیری غشای سلولی افزایش می‌یابد و سبب نشت الکترولیت‌های سلول به خارج می‌شود (Blum & Ebercon, 1980). رادیکال‌های پراکسید هیدروژن و سوپراکسید نسبتاً غیرواکنش‌پذیر هستند، اما آنها می‌توانند رادیکال‌های هیدروکسیل را که به پروتئین‌ها، چربی‌ها و DNA آسیب می‌رسانند، تشکیل دهند (Dat *et al.*, 2000). پراکسیداسیون چربی‌ها یکپارچگی غشای سلول گیاهی را تخریب می‌کند (Blokhina *et al.*, 2003). در این تحقیق در شرایط تنش شدید، کاربرد کود زیستی و کود تلفیقی به پایداری غشاء سلولی کمک کرد و درصد نشت الکترولیت را نسبت به کاربرد کود شیمیایی کاهش داد. بیشترین درصد نشت الکترولیت در شرایط تنش شدید خشکی و مصرف کود شیمیایی مشاهده شد که به نظر می‌رسد مصرف کود شیمیایی در شرایط تنش شدید خشکی نتوانسته به مقاومت گیاه به خشکی کمک کند.

تنش خشکی سبب کاهش عملکرد خشک گیاه شد. این نتایج با نتایج محققانی مانند Daneshnia و همکاران (۲۰۱۵)، Dadrasan و همکاران (۲۰۱۵) و Afshar و همکاران (۲۰۱۴) مطابقت دارد. وقتی گیاه با تنش خشکی مواجه می‌شود، سعی بر کاهش از دست رفتن آب از طریق بستن روزنه‌های خود دارد، که به نوبه خود سبب کاهش قابلیت دسترسی CO<sub>2</sub> برای فتوسنتز و کاهش عملکرد خواهد شد (Sun *et al.*, 2013). همچنین در خاک‌های خشک جریان عناصر غذایی به سمت ریشه گیاه و جذب مواد غذایی به وسیله گیاه کاهش می‌یابد که این خود دلیلی برای کاهش عملکرد در این شرایط می‌باشد (Díaz-López *et al.*, 2012). نتایج نشان داد که استفاده از کود سبب افزایش عملکرد گیاه نسبت به شاهد شد و در بین کودهای مورد استفاده کود تلفیقی (تلفیق کود زیستی با ۵۰٪ کود شیمیایی) از عملکرد بیشتری

- Anjum, F., Yaseen, M., Rasool, E., Wahid, A. and Anjum, S., 2003. Water stress in barley (*Hordeum vulgare* L.). II. Effect on chemical composition and chlorophyll contents. *Pakistan Journal of Agricultural Science*, 40(1-2): 45-49.
- Arnon, A.N., 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23: 112-121.
- Baeck, H., Kuenwoo, P., Baeck, H.W. and Park, K.W., 2001. Effect of watering on growth and oil content of sweet basil (*Ocimum americanum* L.). *Korean Journal of Horticultural Science & Technology*, 19(1): 81-86.
- Baher, Z.F., Mirza, M., Ghorbanli, M. and Rezaii, M.B., 2002. The influence of water stress on plant height, herbal and essential oil yield and composition in *Satureja hortensis* L. *Flavour and Fragrance Journal*, 17(4): 275-277.
- Baher Nik, Z., Mirza, M. and Ghaffari, M., 2008. Effect of drought stress on growth and essential oil contents in *Parthenium argentatum* Gray. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 11(4): 423-429.
- Bahreininejad, B., Razmjoo, J. and Mirza, M., 2014. Effect of water stress on productivity and essential oil content and composition of *Thymus carmanicus*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 17(5): 717-725.
- Bajji, M., Kinet, J. and Lutts, S., 2002. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. *Plant Growth Regulation*, 36(1): 61-70.
- Bates, L.S., Waldern, R.P. and Tear, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-207.
- Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagerstedt, K.V., 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress. *Annals of Botany*, 91: 179-194.
- Blum, A. and Ebercon, A., 1980. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. *Crop Science*, 21(1): 43-47.
- Caballero, J.I., Verduzco, C.V., Galan, J. and Jimenez, E.S.D., 1988. Proline accumulation as a symptom of drought stress in maize: a tissue differentiation requirement. *Journal of Experimental Botany*, 39(7): 889-897.
- Chaichi, M.R., Nurre, P., Slaven, J. and Rostamza, M., 2015. Surfactant application on yield and irrigation water use efficiency in corn under limited irrigation. *Crop Science*, 55(1): 386-393.
- Dadrasan, M., Chaichi, M.R., Pourbabae, A.A., Yazdani, D. and Keshavarz Afshar, R., 2015. Deficit

کاهش می‌یابد. تأثیر مهم دیگر تنش خشکی که مانع از رشد و توانایی‌های فتوسنتزی گیاهان می‌شود، کاهش تعادل بین تولید گونه‌های اکسیژن فعال و دفاع آنتی‌اکسیدانتی است که سبب تجمع گونه‌های اکسیژن فعال در گیاه و ایجاد تنش اکسیداتیو در پروتئین‌ها، لیپیدهای غشاء و دیگر ترکیب‌های سلولی می‌شود (Reddy *et al.*, 2004؛ Fu & Hang, 2001).

نتایج این تحقیق حکایت از آن دارد که کاربرد کودهای زیستی به تنهایی و یا در ترکیب با کودهای شیمیایی و با هدف کاهش مصرف و افزایش کارایی مصرف کودهای شیمیایی، در بهبود درصد و عملکرد اسانس و خصوصیات فیزیولوژیکی نعنای بخصوص در شرایط تنش متوسط و شدید خشکی و همچنین در جهت پایداری تولید و حفظ محیط‌زیست تأثیر مثبتی داشته و به‌نظر می‌رسد کودهای زیستی و یا کودهای تلفیقی جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی باشند.

#### منابع مورد استفاده

- Adediran, J.A., Taiwo, L.B., Akande, M.O., Sobulo, R.A. and Idowu, O.J., 2004. Application of organic and inorganic fertilizer for fertilizer for sustainable maize and cowpea yields in Nigeria. *Journal of Plant Nutrition*, 27(7): 1163-1181.
- Afshar, R.K., Jovini, M.A., Chaichi, M.R. and Hashemi, M., 2014. Grain sorghum response to *Arbuscular Mycorrhiza* and phosphorus fertilizer under deficit irrigation. *Agronomy Journal*, 106(4): 1212-1218.
- Ahmadian, A., Ghanbari, A., Siahshar, B.A., Heidari, M., Ramroodi, M. and Mousavinik, M., 2010. Effects of Residual of chemical fertilizer, manure and compost on yield, yield components, some physiological characteristics and essential oil content of *Matricaria chamomilla* under drought stress condition. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 8(4): 668-676.
- Allen, R.G., Pereira, L.S., Raes, D. and Smith, M., 1998. *Crop evapotranspiration-Guidelines for computing crop water requirements- FAO Irrigation and drainage paper 56*. FAO, Rome, 300p.
- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S. and Karanov, E., 2001. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell & Environment*, 24(12): 1337-1344.

- Jones, H.G. and Tardieu, F., 1998. Modelling water relation of horticultural crops: a review. *Scientia Horticulturae*, 74(1-2): 21-46.
- Khalid, Kh.A., 2006. Influence of water stress on growth, essential oil, and chemical composition of herbs (*Ocimum* sp.). *International Agrophysics*, 20(4): 289-296.
- Kramer, P.J. and Boyer, J.S., 1995. *Water Relations of Plants and Soils*. Academic Press, Inc, 482p.
- Lal, P., Chhipa, B.R. and Kumar, A., 1993. *Salt Affected Soil and Crop Production: A Modern Synthesis*. Agro Botanical publishers, India, 375p.
- Levitt, J., 1980. *Responses of Plants to Environmental Stresses*. Academic Press, New York, 607p.
- Lessani, H. and Mojtahedi, M., 2002. *Introduction to Plant Physiology (Traslation)*. Tehran University Press, Iran, 726p.
- Malakouti, M.J. and Homaei, M., 2004. *Soil Fertility in Arid and Semi-arid Regions "Problems and Solutions"*. Tarbiat Modares University Press, Iran, 518p.
- Marcum, K.B., 1998. Cell membrane theromotability and whole-plant heat tolerance of Kentucky bluegrass. *Crop Science*, 38(5): 1214-1218.
- Mirsa, A. and Strivastava, N.K., 2000. Influence of water stress on Japanese mint. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 7(1): 51-58.
- Mohammadkhani, N. and Heidari, R., 2007. Effects of water stress on respiration, photosynthetic pigments and water content in tow Maize cultivar. *Pakistan Journal of Biological Science*, 10(22): 4022-4028.
- Monakhova, O.F. and Chernyadèv, I.I., 2002. Protective role of kartolin-4 in soil drought in wheat plants. *Prikl Biokhim Mikrobiol*, 38(4): 433-440.
- Munns, R., 1993. Physiological process limiting plant growth in saline soil: some dogmass and hypotheses. *Plant Cell & Environment*, 16(1): 15-24.
- Narula, N., Kumar, V., Behl, R.K., Deubel, A., Gransee, A. and Merbach, W., 2000. Effect of P-solubilizin *Azotobacter chroococcum* on N, P, K uptake in P-responsive wheat genotypes grown under greenhouse conditions. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 163(4): 393-398.
- Okwany, R.O., Peters, T.R., Ringer, K.L., Walsh, D.B. and Rubio, M., 2012. Impact of sustained deficit irrigation on spearmint (*Mentha spicata* L.) biomass production, oil yield, and oil quality. *Irrigation Science*, 30(3): 213-219.
- irrigation and biological fertilizer influence on yield and trigonelline production of fenugreek. *Industrial Crops and Products*, 77: 156-162.
- Daneshnia, F., Amini, A. and Chaichi, M.R., 2015. Surfactant effect on forage yield and water use efficiency for berseem clover and basil in intercropping and limited irrigation treatments. *Agricultural Water Management*, 160: 57-63.
- Dat, J., Vandenabeele, S., Vranová, E., Van Montagu, M., Inzé, D. and Van Breusegem, F., 2000. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cellular and Molecular Life Science*, 57(5): 779-795.
- Díaz-López, L., Gimeno, V., Simón, I., Martínez, V., Rodríguez-Ortega, W.M. and García-Sánchez, F., 2012. *Jatropha curcas* seedlings show a water conservation strategy under drought conditions based on decreasing leaf growth and stomatal conductance. *Agricultural Water Management*, 105: 48-56.
- Fu, J. and Huang, B., 2001. Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. *Environmental and Experimental Botany*, 45(2): 105-114.
- Gadallah, M.A.A., 1995. Effects of water stress, abscisic acid and proline on cotton plants. *Journal of Arid Environments*, 30(3): 315-325.
- Graciano, C., Guiamet, J.J. and Goya, J.F., 2005. Impact of nitrogen and phosphorus fertilization on drought responses in *Eucalyptus grandis* seedlings. *Forest Ecology and Management*, 212(1-3): 40-49.
- Hendawy, S.F. and Khalid, K.A., 2005. Response of sage (*Salvia officinalis* L.) plants to zinc application under different salinity levels. *Journal of Applied Sciences Research*, 1(2): 147-155.
- Huang, J., Hirji, R., Adam, L., Rozwadowski, K.L., Hammerlindl, J.K., Keller, W.A. and Selvaraj, G., 2000. Genetic engineering of glycinebetaine production toward enhancing stress tolerance in Plants: metabolic limitations. *Plant Physiology*, 122(3): 747-756.
- Jabari, F., Ahmadi, A., Poostini, K. and Alizadeh, H., 2006. Study of relationship of activities of some antioxidant enzymes with cell membrane stability and chlorophyll of drought-resistant and drought-sensitive bread wheat cultivars. *Journal of Agricultural Science*, 31(2): 307-316.

- Sreevalli, Y., Baskaran, K., Chandrashekar, R., kuikkarni, R., Sushil Hasan, S., Samresh, D., Kukre, J., Ashok, A., Sharmr Singh, K., Srikant, S. and Rakesh, T., 2001. Preliminary observations on the effect of irrigation frequency and genotypes on yield and alkaloid concentration in periwinkle. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Science*, 22: 356-358.
- Sultana, N., Ikeda, T. and Itoh, R., 1999. Effect of Na Cl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. *Environmental and Experimental Botany*, 42(3): 211-220.
- Sun, X.P., Yan, H.L., Kang, X.Y. and Ma, F.W., 2013. Growth, gas exchange, and water-use efficiency response of two young apple cultivars to drought stress in two scion-one rootstock grafting system. *Photosynthetica*, 51(3): 404-410.
- Valentovi , P., Luxová, M., Kolarovi , L. and Gašparíková, O., 2006. Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relations in two maize cultivars. *Plant, Soil and Environment*, 52(4): 186-191.
- Wojdylo, A., Oszmianski, J. and Czemerys, R., 2007. Antioxidant activity and phenolic compound in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105(3): 940-949.
- Wu, F.Z., Bao, W.K., Li, F.L. and Wu, N., 2008. Effects of drought stress and N supply on the growth, biomass partitioning and water-use efficiency of *Sophora davidii* seedlings. *Environmental and Experimental Botany*, 63(1-3): 248-255.
- Yemm, E.W. and Willis, A.J., 1954. The estimation of carbohydrates in plant extracted by anthrone. *Biochemical Journal*, 57(3): 508-514.
- Zgallai, H., Steppe, K. and Lemeur, R., 2006. Effects of different levels of water stress on leaf water potential, stomatal resistance, protein and chlorophyll content and certain anti-oxidative enzymes in Tomato plants. *Journal of Integrative Plant Biology*, 48(6): 679-685.
- Zhu, Z., Liang, Z., Han, R. and Wang, X., 2009. Impact of fertilization on drought response in the medicinal herb *Bupleurum chinense* DC. Growth and saikosaponin production. *Industrial Crops and Products*, 29(2-3): 629-633.
- Zobayed, S.M.A. Afreen, F. and Kozai, T., 2007. Phytochemical and physiological changes in the leaves of St. John's wort plants under a water stress condition. *Environmental and Experimental Botany*, 59(2): 109-116.
- Omidbaigi, R., 2007. *Production and Processing of Medicinal Plants (Vol 2)*. Behnashr Press, Iran, 438p.
- Ram, D., Ram, M. and Singh, R., 2006. Optimization of water and nitrogen application to menthol mint (*Mentha arvensis* L.) through sugarcane trash mulch in a sandy loam soil of semi-arid subtropical climate. *Bioresource technology*, 97(7): 886-893.
- Ravikumar, S., Kathiresan, K., Thadedus Maria Ignatiammal, S., Babu Selvam, M. and Shanthi, S., 2004. Nitrogen fixing azotobacters from mangrove habitat and their utility as marine biofertilizers. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 312(1): 5-17.
- Raviv, M., Wallach, R., Silber, A., Medina, S. and Krasnovsky, A., 1999. The effect of hydraulic characteristics of volcanic materials on yield of roses grown in soilless culture. *Journal of the American Society for Horticulture Science*, 124(2): 205-209.
- Reddy, A.R., Chaitanya, K.V. and Vivekanandan, M., 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology*, 161(11): 1189-1202.
- Routley, D.G., 1966. Proline accumulation in wilted ladino clover leaves. *Crop Science*, 6(4): 358-361.
- Sabih, F., Abad Farooqi, A.H., Ansari, S.R. and Sharama, S., 1999. Effect of water stress on growth and essential oil metabolism in *Cymbopogon martinii* (Palmarosa) cultivars. *Journal of Essential Oil Research*, 11(4):491-496.
- Safikhani, F., Heydari sharifabad, H., Syadat, A., Sharifi ashorabadi, A., Syednedjad, M. and Abbaszadeh, B., 2007. The effect of drought stress on percentage and yield of essential oil and physiological characteristics of *Dracocephalum moldavica* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 23(1): 86-99.
- Sharma, A.K., 2002. *Biofertilizers for Sustainable Agriculture*. Agrobios, India, 300p.
- Sharma, P. and Dubey, R.Sh., 2005. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Growth Regulation*, 46(3): 209-221.
- Smirnov, N., 1998. Plant resistance to environmental stress. *Current Opinion Biotechnology*. 9(2): 214-219.
- Solinas, V. and Deiana, S., 1996. Effect of water and nutritional conditions on the *Rosmarinus officinalis* L. phenolic fraction and essential oil yields. *Rivista Italiana Eppos*, 19: 189-198.

## Effects of bio-fertilizers on some physiological characteristics, essential oil percentage and yield of spearmint (*Mentha spicata* L.) under deficit irrigation

A. Zand<sup>1</sup>, H. Aroiee<sup>2\*</sup>, M.R. Chaichi<sup>3</sup> and S.H. Nemati<sup>4</sup>

1- Ph.D. Student, Department of Horticulture Science, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

2\*- Corresponding author, Department of Horticulture Science, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran  
E-mail: aroiee@ferdowsi.um.ac.ir

3- Department of Agronomy, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

4- Department of Horticulture Science, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Received: February 2016

Revised: April 2016

Accepted: May 2016

### Abstract

Water scarcity adversely affects many physiological and metabolic processes of the plants. To study the effects of drought stress and fertilization on some physiological characteristics, essential oil percentage and yield of spearmint, a field experiment was conducted at the Research Farm of the College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. The experiment was conducted in a split plot arrangement based on a randomized complete block design with three replications. Treatments included three irrigation treatments (100%, 75% and 50% of plant water requirement) as the main plot and four fertilizer regimes including no fertilizer (control), chemical fertilizer (N+P), bio-fertilizer (rhizome inoculation with *Azotobacter*, *Pseudomonas* and mycorrhiza) and integration of biological fertilizer and 50% chemical fertilizer as the sub-plot. The results showed that all traits measured were significantly affected by the main and interaction effects of deficit irrigation and fertilizer. The content of chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids, total chlorophyll, percentage and yield of essential oil and yield decreased with increasing water stress while the rate of carbohydrate and proline as well as the electrolyte leakage percentage increased. Furthermore, the results showed that under 100% and 75% irrigation systems, application of chemical and integrated fertilizers improved the physiological characteristics, yield and percentage and yield of essential oil. Under 50% irrigation regime, the best performance was related to bio fertilizer.

**Keywords:** Spearmint (*Mentha spicata* L.), deficit irrigation, bio-fertilizer, essential oil, proline.