



## Effect of drought stress and mycorrhizal fungi on some physiological traits of *Satureja sahendica* Bornm.

Fatemeh Zakerian<sup>1</sup>, Fatemeh Sefidkon<sup>1</sup>, Bohloul Abbaszadeh<sup>2\*</sup>, Massoumeh Layeghhaghighi<sup>1</sup> and Najmeh Hadi<sup>1</sup>

1- Research Division of Medicinal plants, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

2\*- Corresponding author, Research Division of Medicinal plants, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran, E-mail: babaszadeh@rifr-ac.ir

Received: June 2023

Revised: November 2023

Accepted: November 2023

### Abstract

**Background and objectives:** Among the 16 species of *Satureja* in Iran, 10 are endemic, including *S. bachtiarica*, *S. khuzistanica*, *S. intermedia*, *S. sahendica*, *S. isophylla*, *S. rechingeri*, *S. edmondi*, *S. kallarica*, *S. atropatana*, and *S. kermanshahensis*. *Satureja sahendica* Bornm. is a perennial plant with essential oil widely used in the pharmaceutical, food, health, and cosmetic industries. Its antiviral properties have also been documented. Drought stress is one of the most significant environmental challenges for plants, leading to reduced water absorption, stomatal conductance, transpiration, and photosynthesis, while also disrupting hormonal balance. Plants adopt various mechanisms to mitigate drought stress, such as increasing osmotic regulators like sugars, proline amino acids, and proteins. Drought conditions typically decrease chlorophyll content while increasing carotenoids. Additionally, oxidative stress intensifies under drought, leading to the accumulation of reactive oxygen species such as catalase, superoxide dismutase, and ascorbate peroxidase in chloroplasts and mitochondria. Mycorrhizal fungi play a crucial role in enhancing root absorption, regulating water movement within host plants, and ultimately improving tissue water uptake and leaf physiology.

**Methodology:** This experiment was conducted using a split-plot design within a randomized complete block design (RCBD) with three replications at the Research Institute of Forests and Rangelands during 2015–2016. The main factor was irrigation treatment, consisting of full irrigation (control), irrigation interruption at the stem stage (resumed at the budding stage), irrigation interruption at the budding stage (no irrigation until the end of the flowering period), and irrigation interruption at the 50% flowering stage (no irrigation until the end of flowering). The secondary factor was biological fertilizer application, which included no biofertilizer (control), inoculation with *Glomus intraradices*, inoculation with *Glomus mosseae*, and inoculation with *Glomus mosseae* + *Glomus intraradices*. Throughout the growth period, irrigation was maintained at 80–90% of field capacity, and drought treatments were applied based on plant morphology. The biofertilizers contained mycorrhizal fungi (*Glomus intraradices* and *Glomus mosseae*) in the form of active fungal structures, including spores, hyphae, and roots. Before transplanting the seedlings, 10 grams of biofertilizer, containing 400 to 500 active fungal units, was applied to each planting hole.



**Results:** The interaction effect of drought stress and mycorrhiza was significant at the 1% probability level for protein, catalase, superoxide dismutase, peroxidase, chlorophyll a, total chlorophyll, proline, polyphenol oxidase, soluble sugars, essential oil percentage, essential oil yield, and flowering shoot yield, while its effect on carotenoid and total phenol was significant at the 5% level. The results indicated that the yield of *p*-cymene,  $\gamma$ -terpinene, and thymol was significantly influenced at the 1% level by the triple interaction of year, drought stress, and mycorrhiza. Mean comparisons revealed that catalase, superoxide dismutase, chlorophyll b, proline, total phenol, essential oil percentage, and essential oil yield were higher in the second year. Regarding drought stress, the highest flowering shoot yield was observed under full irrigation and moisture stress applied at the full flowering stage. Mycorrhizal treatment comparisons showed that the highest malondialdehyde release occurred in plants without inoculation and those treated with the combination of *Glomus intraradices* + *Glomus mosseae*. Essential oil analysis revealed that the highest percentage (2.23%) was obtained in the budding stage treatment with *G. mosseae*, while the highest essential oil yield (51.78 kg/ha) was recorded under full irrigation with *G. intraradices* inoculation. The triple interaction (year  $\times$  drought stress  $\times$  mycorrhiza) analysis showed that in the first year, the highest thymol yield (74.59%) resulted from full irrigation combined with *G. mosseae* inoculation.

**Conclusion:** Therefore, it can be concluded that the application of biological fertilizers effectively mitigated the effects of drought stress, leading to an increase in both the essential oil percentage and thymol content.

**Keywords:** *Satureja sahendica* Bornm., antioxidant enzymes, proline, soluble sugar.

## تأثیر تنش خشکی و قارچ‌های میکوریزا بر عملکرد، اسانس و برخی از صفات فیزیولوژیک *Satureja sahendica* Bornm.

فاطمه ذاکریان<sup>۱</sup>، فاطمه سفیدکن<sup>۲</sup>، بهلول عباس‌زاده<sup>۳\*</sup>، معصومه لایق حقیقی<sup>۱</sup> و نجمه هادی<sup>۴</sup>

۱- دکتری، بخش تحقیقات گیاهان دارویی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۲- استاد، بخش تحقیقات گیاهان دارویی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۳- نویسنده مسئول، دانشیار، بخش تحقیقات گیاهان دارویی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران،

پست الکترونیک: babaszadeh@rifr-ac.ir

۴- استادیار، بخش تحقیقات گیاهان دارویی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: آذر ۱۴۰۲

تاریخ اصلاح نهایی: آبان ۱۴۰۲

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۷

### چکیده

سابقه و هدف: از میان ۱۶ گونه موجود در ایران، ۱۰ گونه *S. sahendica*، *S. intermedia*، *S. khuzistanica*، *S. bachtiarica*، *S. kermanshahensis*، *S. atropatana*، *S. kallarica*، *S. edmondi*، *S. rechingeri* و *S. isophylla* مرزه *Satureja sahendica* Bornm. به لحاظ دوره رشد، چندساله است. اسانس مرزه *Satureja sahendica* در صنایع دارویی، غذایی، بهداشتی و آرایشی کاربرد دارد. اثر ضد ویروسی اسانس آن گزارش شده است. تنش خشکی از مهمترین تنش‌های محیطی می‌باشد و باعث کاهش جذب آب، هدایت روزنه‌ای، تعرق، فتوسنتز و به هم خوردن موازنه هورمونی گیاه می‌شود. راه‌های مختلفی برای کاهش شدت تنش توسط گیاهان مختلف از جمله افزایش تنظیم‌کننده اسمزی مانند قندها، اسید آمینه پرولین و پروتئین‌ها گزارش شده است. تنش خشکی باعث کاهش کلروفیل گیاه و افزایش کاروتنوئیدها می‌شود. همچنین در شرایط تنش خشکی رادیکال‌های آزاد اکسیژن از قبیل کاتالاز، سوپراکسید دسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و غیره در کلروپلاست‌ها و میتوکندری‌ها افزایش می‌یابند. قارچ‌های میکوریزا باعث افزایش سطح جذب ریشه شده و با تغییر سرعت حرکت آب در گیاهان میزبان، روی آب‌گیری بافت و فیزیولوژی برگ تأثیر می‌گذارد.

مواد و روش: این آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده (اسپلیت پلات) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار در مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور در سال‌های ۹۶-۱۳۹۵ اجرا گردید. عامل اصلی شامل: آبیاری کامل (شاهد)، قطع آبیاری در مرحله ساقه‌دهی (شروع دوباره از مرحله غنچه‌دهی)، قطع آبیاری در مرحله غنچه‌دهی (عدم آبیاری تا پایان دوره گلدهی) و قطع آبیاری در مرحله ۵۰٪ گلدهی (عدم آبیاری تا پایان دوره گلدهی) بود. عامل فرعی شامل: عدم استفاده از کود زیستی (شاهد)، تلقیح با *Glomus intraradices*، تلقیح با *Glomus mosseae* و تلقیح با *Glomus intraradices* + *Glomus mosseae* بود. آبیاری در دوره رشد در محدوده ۹۰-۸۰ درصد ظرفیت زراعی بود. تیمارهای قطع آبیاری بر اساس مورفولوژی گیاه اعمال گردید. کودهای زیستی حاوی قارچ میکوریزایی به نام *Glomus intraradices* و *Glomus mosseae* به صورت اندام فعال قارچی (شامل اسپور، هیف و ریشه) بود که قبل از کاشت نشاء در مزرعه در هر چاله کاشت ۱۰ گرم از کود زیستی که حاوی ۴۰۰ تا ۵۰۰ اندام فعال قارچی بود، ریخته شد.

نتایج: نتایج نشان داد که بین دو سال در صفات پراکسیداز، کلروفیل b، پرولین، فنل کل در سطح احتمال ۱٪ و کاتالاز، سوپراکسید دسموتاز، مالون‌دی‌آلدئید و پارا-سیمن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌دار بود. اثر متقابل تنش در میکوریزا بر پروتئین، کاتالاز، سوپراکسید دسموتاز، پراکسیداز، کلروفیل a، کلروفیل کل، پرولین، پلی‌فنل اکسیداز، قندهای محلول، درصد اسانس، عملکرد اسانس و عملکرد سرشاخه‌گلدان در سطح احتمال ۱٪ و بر کاروتنوئید و فنل کل در سطح ۵٪ معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که بازده

ترکیب‌های پارا-سیمن، گاما تریپنن و تیمول تحت تأثیر اثرهای سه‌گانه سال×تنش×میکوریزا در سطح ۱٪ معنی‌دار بود. مقایسه میانگین صفات نشان داد که کاتالاز، سوپراکسیددسموتاز، کلروفیل b، پرولین، فنل کل، درصد اسانس و عملکرد اسانس در سال دوم بیشتر بودند. مقایسه میانگین تنش نشان داد که بالاترین عملکرد سرشاخه‌گلداز نیز در تیمارهای آبیاری کامل و اعمال تنش رطوبتی در مرحله گلدهی کامل بود. مقایسه میانگین عامل میکوریزا نشان داد که بیشترین انتشار مالون‌دی‌آلدهید هم در شرایط بدون تلقیح و استفاده از مخلوط قارچ‌های *G. intraradices* + *G. mosseae* رخ داد. بررسی درصد اسانس نشان داد که بالاترین مقدار آن با ۲۳٪ در تیمار تنش در مرحله غنچه‌دهی در تلقیح با *G. mosseae* بود. مشاهده شد که بالاترین عملکرد اسانس با ۵۱/۷۸ کیلوگرم در هکتار از تیمار آبیاری کامل در تلقیح با *G. intraradices* بدست آمد. مقایسه میانگین اثر متقابل سه‌گانه (سال×تنش×میکوریزا) بر ترکیب‌های اسانس نشان داد که بیشترین بازده تیمول در سال اول از آبیاری کامل و مصرف قارچ *G. mosseae* با ۷۴/۵۹٪ حاصل شد.

نتیجه‌گیری کلی: بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از کودهای زیستی در کاهش اثرهای تنش خشکی بر مرزه سهندی موثر بوده است و توانسته سبب افزایش درصد اسانس و درصد تیمول نیز گردد.

واژه‌های کلیدی: مرزه سهندی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پرولین، قندهای محلول.

## مقدمه

جنس مرزه (*Satureja*) از خانواده نعناع (El-Gazzar & Watson, 1970) اغلب در مناطق مدیترانه‌ای پراکندگی دارد. از میان ۱۶ گونه موجود در ایران، ۱۰ گونه *S. S. intermedia*, *S. khuzistanica*, *S. bachtiarica*, *S. edmondi*, *S. rechingeri*, *S. isophylla*, *S. sahendica*, *S. kermanshahensis* و *S. atropatana*, *S. kallarica* انحصاری ایران هستند (Rechinger, 1982). مرزه سهندی با نام علمی *S. sahendica* Bornm. به لحاظ دوره رشد، چندساله است (Akbarinia & Sefidkon, 2009). رویشگاه‌های طبیعی آن در شمال غرب در آذربایجان و غرب ایران (Rechinger, 1982) و شمال شرق در ناحیه ایران- تورانی در ارتفاعات ۱۳۰۰ تا ۲۵۰۰ متر از سطح دریا می‌باشد (Jamzad, 2009). گیاه بوته‌ای با ساقه و برگ‌های زیاد است، هر چرخه گل متشکل از ۲ تا ۶ گل سفید یا صورتی مایل به بنفش می‌باشد، دو پرچم جلویی بلندتر بوده و از لوله جام بیرون آمده است (Jamzad, 2009). رشد رویشی این گیاه از اواخر اسفند شروع (در سال اول امکان برداشت یک چین) و در سال‌های بعد با توجه به شرایط آب و هوایی می‌توان ۲ تا ۳ چین در مرحله گلدهی برداشت نمود (Akbarinia et al., 2009). برای گونه‌های

مختلف مرزه خواص دارویی متعددی گزارش شده است (Tabatabaei Raisi, 2007). اسانس مرزه *sahendica* در صنایع دارویی، غذایی، بهداشتی و آرایشی کاربرد دارد (Sefidkon and Akbarinia, 2009). اثر ضد ویروسی اسانس آن گزارش شده است (Sefidkon et al., 2004). تنش خشکی از مهمترین تنش‌های محیطی می‌باشد و باعث کاهش جذب آب، هدایت روزنه‌ای، تعرق، فتوسنتز و به هم خوردن موازنه هورمونی گیاه می‌شود (Khalafalla & Abo- Ghalia, 2008). راه‌های مختلفی برای کاهش شدت تنش توسط گیاهان مختلف از جمله افزایش تنظیم‌کننده اسمزی مانند قندها، اسید آمینه پرولین و پروتئین‌ها گزارش شده است (Ashraf et al., 1994). تنش خشکی باعث کاهش کلروفیل گیاه (Fu & Huang, 2001)، افزایش کاروتنوئیدها و آنتوسیانین می‌شود (Chalker-Scott, 2002). کاروتنوئیدها با خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد در تعدیل اثرهای سوء تنش در گیاه نقش مهمی ایفا می‌کنند (Mittler, 2002). همچنین در شرایط تنش خشکی رادیکال‌های آزاد اکسیژن دسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و غیره در کلروپلاست‌ها و میتوکندری‌ها افزایش می‌یابند (Ardakani et al., 2010). کاهش فعالیت کاتالاز و آسکوربات (Amini et al., 2009)؛

پراکسیداز می‌تواند سبب تجمع پراکسید هیدروژن شده و سبب کاهش فعالیت برخی از آنزیم‌های چرخه کالوین مانند ریبولوز مونوفسفات، کیناز و بی‌فسفاتازها گردد (Amini et al., 2009). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، رادیکال سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌کند و کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، تجمع رادیکال سوپراکسید را در پی دارد (Mittler et al., 2004). گیاهانی که دارای سطح بالاتری از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان هستند، مقاومت بیشتری نسبت به سوپر اکسیدها نشان می‌دهند (Dionisio-Sec & Tobita, 1998). در گیاهان دفاع آنزیمی مربوط به حذف (Removing) یا خنثی کردن (Neutralizing) حدواسط‌های اکسیژنی می‌شود (Ghorbani & Ladan Moghaddam, 2005). تنش خشکی پرولین فلفل (Koc et al., 2010)، کاروتنوئید و آنتوسیانین بابونه را افزایش و کلروفیل بابونه را کاهش داد (Arazmjo et al., 2010) و پروتئین کاسنی را کاهش داد (Jazizadeh & Mortezaee nejad, 2017). افزایش پرولین، قندهای محلول در گیاهان و ایولی (Baher Nik, 2007) و زنیان (Razavizadeh, 2014) در شرایط خشکی مشاهده شد. برای کاهش اثر نامطلوب تنش خشکی بر گیاه، راهکارهای گوناگونی از جمله مدیریت مصرف کود به‌ویژه کودهای نیتروژنی (Hirell et al, 2007)، مدیریت مصرف آب (Galle et al., 2009) و افزایش توانایی گیاه به کم آبی (Valente et al., 2008) پیشنهاد شده است. استفاده از برقراری همزیستی گیاه با قارچ‌های آربسکولاری میکوریزا و بهبود روابط آبی آن با گیاه میزبان از راهکارهای مطرح شده در دهه‌های اخیر است. قارچ‌های میکوریزا باعث افزایش سطح جذب ریشه شده و با تغییر سرعت حرکت آب در گیاهان میزبان، روی آب‌گیری بافت و فیزیولوژی برگ تأثیر می‌گذارد (Auge et al, 2001). در گیاه بادرنجبویه تحت تنش خشکی (۲۰٪، ۴۰٪، ۶۰٪، ۸۰٪ و ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی) بیشترین تجمع پرولین و کلروفیل b در تیمار ۲۰٪ قند محلول در تیمار ۶۰٪ ظرفیت زراعی، کلروفیل a و کلروفیل کل در تیمار ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی مشاهده شد.

### مواد و روش‌ها

این تحقیق در ادامه تحقیقات جامع بر روی مرزهای چندساله در مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور و در راستای بررسی بیشتر رقم در حال معرفی مرزه سهندی (اکسشن ۷)، به صورت کرت‌های خرد شده (اسپلیت پلات) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار در مجتمع تحقیقاتی البرز در سال‌های ۹۶-۱۳۹۵ اجرا گردید. ابعاد کرت‌ها ۲ در ۳ متر، فاصله بلوک‌ها ۲ متر، فاصله کرت‌های فرعی از یکدیگر ۱ متر، فاصله خطوط کشت ۴۰ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها بر روی یک خط ۳۰ سانتی‌متر بود. ابتدا نشاءها در گلخانه تولید و بعد در اواخر اردیبهشت به زمین اصلی منتقل شدند.

عامل اصلی شامل:

- ۱- آبیاری کامل (شاهد)
- ۲- قطع آبیاری در مرحله ساقه‌دهی (شروع دوباره از مرحله غنچه‌دهی)
- ۳- قطع آبیاری در مرحله غنچه‌دهی (عدم آبیاری تا پایان دوره گلدهی)
- ۴- قطع آبیاری در مرحله ۵۰٪ گلدهی (عدم آبیاری تا

میزان پروتئین محلول، در نهایت به وسیله اسپکتروفتومتر با استفاده از آلومین سرم گاوی به عنوان منحنی استاندارد در طول موج ۶۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Lowry et al., 1995). میزان ترکیب‌های فنلی، با استفاده از روش فولین سیوکالتو در نهایت به وسیله اسپکتروفتومتر با استفاده از کاتکول به عنوان منحنی استاندارد در طول موج ۷۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (Shehab et al., 2010).

میزان پتاسیم و کلسیم، به بافت خشک اسید نیتریک غلیظ اضافه شده و بعد از حدود ۴۸ تا ۷۲ ساعت با استفاده از اجاق برقی، محلول‌ها تا دمای تبخیر حرارت داده شدند و در پایان میزان پتاسیم محلول توسط دستگاه نورسنج شعله‌ای اندازه‌گیری شد. با استفاده از تهیه محلول‌های استاندارد، غلظت عناصر پتاسیم و کلسیم در محلول بافت گیاهی تعیین و در نهایت درصد عناصر مذکور در بافت محاسبه شد (Walinga et al., 1989).

میزان عنصر فسفر، با استفاده از روش رنگ‌سنجی و در نهایت جذب آن در طول موج ۷۳۰ نانومتر با استفاده از محلول‌های استاندارد فسفر در محدوده ۱۰ تا ۱۰۰ پی‌پی‌ام اندازه‌گیری و نتیجه براساس درصد فسفر در بافت محاسبه شد (Soltanpour et al., 1979).

اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کارتنوئید، با استفاده از روش آرنون بدین ترتیب که برگ تر گیاه در هاون چینی با استون به صورت تدریجی سائیده شده و در هر مرحله محلول شفاف رویی به بالن ژورته منتقل گردیده و بعد محلول را با استون به حجم رسانده، محلول حاصل سانتیفریژ و جذب نوری در طول موج‌های ۴۸۰، ۵۱۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. در نهایت مقدار کلروفیل و کارتنوئید برحسب میلی‌گرم در گرم بافت تر برگ از طریق رابطه‌های زیر (رابطه ۲) محاسبه شدند (Arnon, 1949).

پایان دوره گلدهی)

عامل فرعی شامل:

۱- عدم استفاده از کود زیستی (شاهد)

۲- تلقیح با *Glomus intraradices*

۳- تلقیح با *Glomus mosseae*

۴- تلقیح با *Glomus* + *Glomus mosseae*

*intraradices* بود. قارچ‌ها به توصیه مؤسسه تحقیقات خاک و آب از زیست فناوری سبز تهیه گردید.

آبیاری در دوره رشد در محدوده ۹۰-۸۰٪ ظرفیت زراعی بود. تیمارهای قطع آبیاری براساس مورفولوژی گیاه اعمال گردید.

کودهای زیستی حاوی قارچ میکوریزی به نام اندام فعال قارچی (شامل اسپور، هیف و ریشه) بوده و از مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهیه گردید. قبل از کاشت نشاء در مزرعه، در هر چاله کاشت ۱۰ گرم از کود زیستی که حاوی ۴۰۰ تا ۵۰۰ اندام فعال قارچی بود، ریخته شد.

در فصل بهار پس از آماده‌سازی زمین، نسبت به انتقال نشاها اقدام گردید. آبیاری از طریق شلنگ‌های ۱۶ میلی‌متری انجام شد. برای کنترل میزان آب مصرفی از روش وزنی استفاده شد. میزان آب مصرفی از طریق رابطه ۱ برآورد و اعمال گردید (Behera & Panda, 2009).

$$V = pZA (FC - PWP) / 100 \quad (\text{رابطه ۱})$$

در این رابطه،  $V$  حجم آب آبیاری که در هر نوبت آبیاری به واحدهای آزمایشی داده شد،  $p$  وزن مخصوص ظاهری خاک،  $Z$  عمق توسعه مؤثر ریشه‌ها،  $A$  مساحت واحد آزمایشی،  $FC$  مقدار رطوبت خاک در ظرفیت زراعی و  $PWP$  مقدار رطوبت خاک در نقطه پژمردگی دائم می‌باشد.

(رابطه ۲)

$$a = \left\{ \frac{12}{7}(A_{663}) - \frac{2}{69}(A_{645}) \right\} \times V/W \times 1000$$

(میلی‌گرم در گرم بافت تر)

$$b = \left\{ \frac{22}{9}(A_{645}) - \frac{4}{68}(A_{663}) \right\} \times V/W \times 1000$$

(میلی‌گرم در گرم بافت تر)

$\text{Proline} = \frac{V}{W} \times 1000 \times \{20/2(A645) - 8/0.2(A663)\}$  = کلروفیل کل (میلی گرم در گرم بافت تر)

$\text{Proline} = \frac{V}{W} \times 1000 \times \{22/9(A645) - 4/68(A663)\}$  = کارتنوئید (میلی گرم در گرم بافت تر)

قرار گرفتن در نیتروژن مایع در ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شوند. از بافت‌های تازه گیاه برای استخراج آنزیم‌ها استفاده می‌شود. میزان مالون دی‌آلدهید مطابق با روش Turkan و همکاران (۲۰۰۵)، فعالیت آنزیم سوپراکسیددسموتاز به روش Rios Gonzalez و همکاران (۲۰۰۲) بود. سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (Pereira et al., 2002) و آنزیم پراکسیداز (Fielding & Hall, 1978) نیز انجام شد.

اسانس‌گیری از سرشاخه‌های مرزه سهندی در مرحله گلدهی کامل انجام شد. از گیاهان خشک شده در سایه و خردشده، به روش تقطیر با آب، با استفاده از دستگاه طرح کلونجر اسانس استخراج و پس از تعیین بازده اسانس، جهت شناسایی ترکیب‌های آنها مورد آنالیز دستگاهی با کروماتوگرافی گازی (GC-FID) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC-MS) قرار گرفتند. از دستگاه کروماتوگرافی گازی (مدل Shimadzu، ساخت ژاپن) و گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی (مدل Varian-3400، ساخت آمریکا) از نوع تله یونی استفاده شد. ستون هر دو دستگاه DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر با ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر بود. برنامه ریزی حرارتی ستون از ۲۴۰-۴۰ درجه سانتیگراد با سرعت افزایش دمای ۳ درجه سانتیگراد در دقیقه بود. دمای محفظه تزریق ۱۰ درجه بیشتر از دمای نهایی ستون تنظیم شد. گاز حامل هلیوم بود که با سرعت ۳۱/۵ سانتی‌متر بر ثانیه در طول ستون حرکت میکرد. زمان اسکن برابر یک ثانیه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۴۰ بود.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS تجزیه و با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪، مقایسه میانگین‌ها انجام گردید.

میزان پرولین: ۰/۵ گرم برگ از هر کرت نمونه برداری و پس از شستشو، برگ‌ها در کاغذ آبگیری شدند. برگ‌ها به مدت سه روز در پاکت درون آون ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از تثبیت وزن خشک، نمونه با هاون چینی پودر شده و در لوله‌های در بسته نگهداری گردید. مقدار ۰/۱ گرم پودر برگ با ترازوی دیجیتالی توزین و در ظرف شیشه‌ای کوچک ریخته و روی آن ۱۰ میلی‌لیتر محلول اسید سولفوسالیسیلیک اسید (ASS) اضافه کرده و پس از ۴۸ ساعت محلول‌ها با کاغذ صافی صاف شده و برای اندازه‌گیری پرولین استفاده شد، به گونه‌ای که یک میلی‌لیتر از محلول هر نمونه را در لوله آزمایش ریخته و به آن یک میلی‌لیتر معرف ناین هیدرین و یک میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال اضافه می‌شود. لوله‌های آزمایش به مدت یک ساعت در بن‌ماری جوشان ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا زمانی که رنگ آجری تولید شده تثبیت شود. لوله‌ها بلافاصله در آب یخ قرار داده شد تا واکنش به سرعت متوقف شود. به هر لوله دو میلی‌لیتر تولوئن افزوده و محتویات لوله به خوبی مخلوط شد. از محلول قرمز رنگ بخش بالایی نمونه برداری و در طول موج ۵۲۰ نانومتر مقدار جذب آن قرائت شد (Bartles & Sunkar, 2005) و مقدار پرولین با استفاده از رابطه زیر (رابطه ۳) محاسبه شد.

(رابطه ۳)

$$\text{Proline} = \frac{\text{CDV}}{\text{DM} \times 115.5 \times 10^6} \times 1 \times 10^5$$

که در آن، C میزان جذب پرولین در طول موج ۵۲۰ نانومتر بر اساس غلظت‌های مشخص پرولین در معادله رگرسیون، D درجه رقت، V حجم تولوئن استفاده شده و DM وزن خشک نمونه برگ استفاده شده می‌باشد.

برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل سوپراکسید دسموتاز (SOD)، پرکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز (مواد تازه گیاهی) برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها پس از

## نتایج

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که بین دو سال در صفات پراکسیداز، کلروفیل b، پرولین، فنل کل در سطح احتمال ۱٪ و کاتالاز، سوپراکسیددسموتاز، مالون دی آلدئید و پارا-سیمن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی دار بود.

عامل تنش بر پروتئین، کاتالاز، سوپراکسیددسموتاز، پراکسیداز، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید، پرولین، فنل کل، مالون دی آلدئید، پلی فنل اکسیداز، قندهای محلول، عملکرد اسانس، عملکرد سرشاخه گلدار، بازده ترکیب های پارا-سیمن و تیمول در سطح ۱٪ معنی دار شد.

مشاهده شد که عامل سال در تنش بر پراکسیداز، فنل کل، پلی فنل اکسیداز، بازده ترکیب های پارا-سیمن، گاماترینین و تیمول در سطح ۱٪ معنی دار شد.

میکوریزا بر صفات پروتئین، کاتالاز، سوپراکسیددسموتاز، پراکسیداز، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید، پرولین، فنل کل،

مالون دی آلدئید، پلی فنل اکسیداز، قندهای محلول، عملکرد اسانس، عملکرد سرشاخه گلدار، بازده ترکیب های پارا-سیمن، گاماترینین و تیمول در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود.

سال در میکوریزا بر پلی فنل اکسیداز، عملکرد اسانس، بازده ترکیب های پارا-سیمن، گاماترینین و تیمول در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود.

اثر متقابل تنش در میکوریزا بر پروتئین، کاتالاز، سوپراکسیددسموتاز، پراکسیداز، کلروفیل a، کلروفیل کل، پرولین، پلی فنل اکسیداز، قندهای محلول، درصد اسانس، عملکرد اسانس و عملکرد سرشاخه گلدار در سطح احتمال ۱٪ و بر کاروتنوئید و فنل کل در سطح ۵٪ معنی دار بود. نتایج نشان داد که بازده ترکیب های پارا-سیمن، گاماترینین و تیمول تحت تأثیر اثرهای سه گانه سال × تنش × میکوریزا در سطح ۱٪ معنی دار بود. بنابراین با توجه به معنی دار بودن اثرهای متقابل نسبت به ارائه مقایسه های میانگین اقدام شد.

جدول ۱- تجزیه واریانس مرکب اثر تنش کم آبی و قارچ میکوریزا بر صفات فیزیولوژیک گیاه *Satureja sahendica*  
Table 1. Combined ANOVA of dehydration stress and mycorrhizal fungi effects on physiological traits of *Satureja sahendica*

S.O.V.	d.f.	M.S.							
		Protein	Catalase	Superoxide dismutase	Peroxidase	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Total chlorophyll	Carotenoids
Year (Y)	1	1.23 <sup>ns</sup>	0.009*	8568*	0.001**	0.102 <sup>ns</sup>	0.322**	0.050 <sup>ns</sup>	0.021 <sup>ns</sup>
Error	4	0.19	0.0006*	1920	0.00006	0.014	0.001	0.008	0.003
Dehydration stress (D)	3	22.73**	0.172**	207507**	0.023**	0.519**	0.070**	0.97**	0.04**
Y*D	3	0.009 <sup>ns</sup>	0.00001 <sup>ns</sup>	15.97 <sup>ns</sup>	0.005**	0.013 <sup>ns</sup>	0.0003 <sup>ns</sup>	0.002 <sup>ns</sup>	0.000003 <sup>ns</sup>
Error (A)	12	0.75	0.0001	261.86	0.0004	0.017	0.002	0.04	0.001
Mycorrhizal fungi (M)	3	7.40**	0.13**	369330**	0.054**	0.313**	0.070**	0.73**	0.137**
Y*M	3	0.004 <sup>ns</sup>	0.000006 <sup>ns</sup>	128.02 <sup>ns</sup>	0.000006 <sup>ns</sup>	0.009 <sup>ns</sup>	0.00009 <sup>ns</sup>	0.007 <sup>ns</sup>	0.00001 <sup>ns</sup>
D*M	9	1.35**	0.04**	21382**	0.002**	0.046**	0.010 <sup>ns</sup>	0.096**	0.013*
M*D*Y	9	0.01 <sup>ns</sup>	0.000006 <sup>ns</sup>	148.06 <sup>ns</sup>	0.0002 <sup>ns</sup>	0.016 <sup>ns</sup>	0.0003 <sup>ns</sup>	0.005 <sup>ns</sup>	0.000003 <sup>ns</sup>
Error (B)	48	0.32	0.0005	1224	0.0004	0.014	0.011	0.021	0.004
CV. (%)		18.40	11.40	12.56	19.90	13.32	26.57	10.62	15.79



ادامه جدول ۱- تجزیه واریانس مرکب ...

Continued Table 1. Combined ANOVA of ...

S.O.V.	d.f.	M.S.							
		Proline	Total phenols	Malondialdehyde	Polyphenol oxidase	Soluble sugars	Essential oil percentage	Essential oil yield	Flowering branches yield
Year (Y)	1	0.240**	9.21**	0.290 <sup>ns</sup>	0.002 <sup>ns</sup>	0.107 <sup>ns</sup>	3.46 <sup>ns</sup>	28.17 <sup>ns</sup>	3597029 <sup>ns</sup>
Error	4	0.011	0.328	0.024	0.0006	0.026	0.90	4.66	521755
Dehydration stress (D)	3	1.73**	2.594**	0.690**	0.261**	0.363**	0.68**	12.001**	2694710**
Y*D	3	0.0000001 <sup>ns</sup>	0.144**	0.0001 <sup>ns</sup>	0.007**	0.001 <sup>ns</sup>	0.11 <sup>ns</sup>	0.65 <sup>ns</sup>	172281 <sup>ns</sup>
Error (A)	12	0.002	0.009	0.086	0.001	0.009	0.26	0.66	62905
Mycorrhizal fungi (M)	3	1.05**	7.36**	0.950**	1.019**	0.076**	0.41 <sup>ns</sup>	6.31**	1377175**
Y*M	3	0.000002 <sup>ns</sup>	0.010 <sup>ns</sup>	0.00 <sup>ns</sup>	0.006**	0.0004 <sup>ns</sup>	0.49 <sup>ns</sup>	2.60**	128651 <sup>ns</sup>
D*M	9	0.272**	0.56*	0.182 <sup>ns</sup>	0.273**	0.067**	0.86**	7.34**	1195779**
M*D*Y	9	0.00002 <sup>ns</sup>	0.20 <sup>ns</sup>	0.071 <sup>ns</sup>	0.0018 <sup>ns</sup>	0.0003 <sup>ns</sup>	0.24 <sup>ns</sup>	0.73 <sup>ns</sup>	100430 <sup>ns</sup>
Error (B)	48	0.008	0.24	0.160	0.001	0.017	0.18	0.62	156593
C.V. (%)		10.64	11.73	22.75	12.48	16.016	25.74	15.74	23.64

ادامه جدول ۱- تجزیه واریانس مرکب ...

Continued Table 1. Combined ANOVA of ...

S.O.V.	d.f.	M.S.		
		<i>p</i> -Cymene	<i>γ</i> -Terpinene	Thymol
Year (Y)	1	2587.63*	126.67 <sup>ns</sup>	1905.75 <sup>ns</sup>
Error	4	205.27	42.06	332.41
Dehydration stress (D)	3	92.64**	2.93 <sup>ns</sup>	130.66**
Y*D	3	282.79**	19.26**	447.64**
Error (A)	12	3.72	2.36	0.75
Mycorrhizal fungi (M)	3	70.85**	8.54**	148.57**
Y*M	3	30.66**	8.74**	32.59**
D*M	9	112.10**	31.55**	166.31**
M*D*Y	9	48.03**	7.005**	128.09**
Error (B)	48	2.43	1.65	0.64
C.V. (%)		5.43	8.288	4.72

n.s., \*, and \*\*: non-significant, significant at 1, and 5% probability levels, respectively.

مقایسه میانگین صفات نشان داد که کاتالاز، اسانس و عملکرد اسانس در سال دوم بیشتر بودند سوپراکسیدسموتاز، کلروفیل b، پرولین، فنل کل، درصد (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر سال بر برخی صفات فیزیولوژیک گیاه *Satureja sahendica*Table 2. Means comparison of year effects on some physiological traits of *Satureja sahendica*

Treatment	Catalase (unit.mg <sup>-1</sup> protein)	Superoxide dismutase (unit.mg <sup>-1</sup> protein)	Chlorophyll <i>b</i> (mg.g <sup>-1</sup> FW)	Proline (μg.g <sup>-1</sup> FW)
First year	0.20 <sup>b</sup>	268.98 <sup>b</sup>	0.34 <sup>b</sup>	0.80 <sup>b</sup>
Secend year	0.22 <sup>a</sup>	287.88 <sup>a</sup>	0.46 <sup>a</sup>	0.90 <sup>a</sup>

In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

آبیاری کامل و قطع آبیاری در محله غنچه‌دهی بود. بالاترین عملکرد سرشاخه‌گلداز نیز در تیمارهای آبیاری کامل و اعمال تنش رطوبتی در مرحله گلدهی کامل بود (جدول ۳).

مقایسه میانگین تنش نشان داد که بیشترین مقدار کلروفیل b از اعمال تیمار تنش در مرحله ساقه‌دهی بدست آمد. کمترین میزان آزاد شدن مالون‌دی‌آلدهید هم در تیمار

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر تنش کم آبی بر برخی صفات فیزیولوژیک گیاه *Satureja sahendica*

**Table 3. Means comparison of dehydration stress effects on some physiological traits of *Satureja sahendica***

Treatment	Chlorophyll <i>b</i> (mg.g <sup>-1</sup> FW)	Malondialdehyde (μg.g <sup>-1</sup> FW)	Total yield (kg.ha <sup>-1</sup> )
D0	0.34 <sup>b</sup>	1.68 <sup>ab</sup>	1800.6 <sup>ab</sup>
D1	0.47 <sup>a</sup>	1.89 <sup>a</sup>	1202.5 <sup>c</sup>
D2	0.38 <sup>b</sup>	1.55 <sup>b</sup>	1706.2 <sup>b</sup>
D3	0.41 <sup>b</sup>	1.89 <sup>a</sup>	1986.2 <sup>a</sup>

In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

D0- Full irrigation, D1- Stopping irrigation during the stem formation stage (restarting irrigation from the budding stage), D2- Stopping irrigation during the budding stage (no irrigation until the end of flowering period), and D3- Stopping irrigation at the 50% flowering stage (no irrigation until the end of flowering period).

مقایسه میانگین‌های عامل میکوریزا نشان داد که کمترین میزان کلروفیل *b* در تلقیح با *G. intraradices* مشاهده شد (جدول ۴)، همچنین بیشترین انتشار مالون‌دی‌آلدئید هم در شرایط بدون تلقیح و استفاده از مخلوط قارچ‌های *G. intraradices* + *G. mosseae* بدست آمد.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر قارچ میکوریزا بر برخی صفات فیزیولوژیک گیاه *Satureja sahendica*

**Table 4. Means comparison of mycorrhizal fungi effects on some physiological traits of *Satureja sahendica***

Treatment	Chlorophyll <i>b</i> (mg.g <sup>-1</sup> FW)	Malondialdehyde (μg.g <sup>-1</sup> FW)	Flowering branches yield (kg.ha <sup>-1</sup> )
M0	0.45 <sup>a</sup>	1.95 <sup>a</sup>	1784.8 <sup>a</sup>
M1	0.32 <sup>b</sup>	1.51 <sup>c</sup>	1868.6 <sup>a</sup>
M2	0.42 <sup>a</sup>	1.69 <sup>bc</sup>	1327.1 <sup>b</sup>
M3	0.40 <sup>a</sup>	1.87 <sup>ab</sup>	1715 <sup>a</sup>

In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

M0- No use of biological fertilizer, M1- Inoculation with *Glomus intraradices*, M2- Inoculation with *G. mosseae*, and M3- Inoculation with *G. mosseae* + *G. intraradices*.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر سال × تنش کم آبی بر برخی صفات فیزیولوژیک گیاه *Satureja sahendica*

**Table 5. Means comparison of year × dehydration stress effects on some physiological traits of *Satureja sahendica***

Treatment	Peroxidase (unit.mg <sup>-1</sup> protein)	Total phenols (μg.g <sup>-1</sup> FW)	Polyphenol oxidase (unit.mg <sup>-1</sup> protein)
Y1*D0	0.088 <sup>c</sup>	3.455 <sup>d</sup>	0.178 <sup>d</sup>
Y1*D1	0.131 <sup>ab</sup>	4.02 <sup>c</sup>	0.267 <sup>c</sup>
Y1*D2	0.115 <sup>b</sup>	3.96 <sup>c</sup>	0.44 <sup>a</sup>
Y1*D3	0.052 <sup>d</sup>	4.25 <sup>bc</sup>	0.187 <sup>d</sup>
Y2*D0	0.061 <sup>d</sup>	4.06 <sup>c</sup>	0.196 <sup>d</sup>
Y2*D1	0.14 <sup>a</sup>	4.85 <sup>a</sup>	0.273 <sup>c</sup>
Y2*D2	0.124 <sup>ab</sup>	4.557 <sup>ab</sup>	0.377 <sup>b</sup>
Y2*D3	0.097 <sup>c</sup>	4.7 <sup>a</sup>	0.182 <sup>d</sup>

In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

Y1- First year and Y2- Second year; D0- Full irrigation, D1- Stopping irrigation during the stem formation stage (restarting irrigation from the budding stage), D2- Stopping irrigation during the budding stage (no irrigation until the end of flowering period), and D3- Stopping irrigation at the 50% flowering stage (no irrigation until the end of flowering period).

مقایسه میانگین اثر متقابل سال در تنش نشان داد که کمترین مقدار پراکسیداز در سال اول در تنش قطع آبیاری در مرحله ۵۰٪ گلدهی و در سال دوم در تیمار شاهد بود (جدول ۵). مقایسه میانگین اثر سال در میکوریزا نشان داد که بیشتر مقدار پلی فنل اکسیداز در سال اول در عدم تلقیح مشاهده شد (جدول ۶). همچنین بیشترین عملکرد

اسانس با ۴۲/۵۰۶ و ۴۱/۵۸۱ کیلوگرم در هکتار به ترتیب از تیمارهای سال دوم در تلقیح مخلوط قارچ‌ها و سال دوم با تلقیح *G. intraradices* بدست آمد.

جدول ۶- مقایسه میانگین اثر سال × قارچ میکوریزا بر برخی صفات فیزیولوژیک گیاه *Satureja sahendica*

**Table 6. Means comparison of year × mycorrhizal fungi effects on some physiological traits of *Satureja sahendica***

Treatment	Polyphenol oxidase (unit.mg <sup>-1</sup> protein)	Essential oil yield (kg.ha <sup>-1</sup> )
Y1*M0	0.566 <sup>a</sup>	26.586 <sup>bc</sup>
Y1*M1	0.089 <sup>d</sup>	24.143 <sup>bc</sup>
Y1*M2	0.111 <sup>d</sup>	17.839 <sup>c</sup>
Y1*M3	0.302 <sup>c</sup>	21.885 <sup>bc</sup>
Y2*M0	0.507 <sup>b</sup>	30.370 <sup>b</sup>
Y2*M1	0.096 <sup>d</sup>	41.581 <sup>a</sup>
Y2*M2	0.118 <sup>d</sup>	25.199 <sup>bc</sup>
Y2*M3	0.307 <sup>c</sup>	42.506 <sup>a</sup>

In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

Y1- First year and Y2- Second year; M0- No use of biological fertilizer, M1- Inoculation with *Glomus intraradices*, M2- Inoculation with *G. mosseae*, and M3- Inoculation with *G. mosseae* + *G. intraradices*.

تولید سوپراکسید دسموتاز در تیمار تنش در مرحله غنچه‌دهی در عدم تلقیح اندازه‌گیری شد. مقدار تولید کلروفیل در همه تیمارهای تنش آبیاری در مرحله ۵۰٪ گلدهی کمترین بودند، هر چند این تیمارها با چند تیمار دیگر نیز در یک گروه آماری قرار داشتند.

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش در میکوریزا (جدول ۷) نشان داد که میزان تجمع پروتئین در تیمار تنش در مرحله ساقه‌دهی در عدم تلقیح و تلقیح با *G. mosseae* بود. میزان تجمع آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز در تیمار تنش در مرحله ساقه‌دهی در عدم تلقیح بود. میزان

جدول ۷- مقایسه میانگین اثر تنش کم آبی × قارچ میکوریزا بر برخی صفات فیزیولوژیک گیاه *Satureja sahendica*

**Table 7. Means comparison of dehydration stress × mycorrhizal fungi effects on some physiological traits of *Satureja sahendica***

Treatment	Protein (μg.g <sup>-1</sup> FW)	Catalase (unit.mg <sup>-1</sup> protein)	Superoxide dismutase (unit.mg <sup>-1</sup> protein)	Peroxidase (unit.mg <sup>-1</sup> protein)	Chlorophyll a (mg.g <sup>-1</sup> FW)	Total chlorophyll (mg.g <sup>-1</sup> FW)	Carotenoids (mg.g <sup>-1</sup> FW)
D0*M0	1.72 <sup>f</sup>	0.1 <sup>i</sup>	305.25 <sup>ef</sup>	0.115 <sup>dc</sup>	1.02 <sup>ab</sup>	1.16 <sup>f</sup>	0.398 <sup>b</sup>
D0*M1	1.71 <sup>f</sup>	0.08 <sup>i</sup>	58.88 <sup>j</sup>	0.038 <sup>h</sup>	0.75 <sup>c</sup>	1.098 <sup>f</sup>	0.368 <sup>b</sup>
D0*M2	1.77 <sup>f</sup>	0.1 <sup>i</sup>	205.54 <sup>gh</sup>	0.091 <sup>ef</sup>	1 <sup>ab</sup>	1.108 <sup>f</sup>	0.376 <sup>b</sup>
D0*M3	1.70 <sup>f</sup>	0.098 <sup>i</sup>	139.88 <sup>i</sup>	0.055 <sup>gh</sup>	1.12 <sup>a</sup>	1.118 <sup>f</sup>	0.388 <sup>b</sup>
D1*M0	4.74 <sup>a</sup>	0.48 <sup>a</sup>	361 <sup>cd</sup>	0.225 <sup>a</sup>	1.14 <sup>a</sup>	1.838 <sup>a</sup>	0.586 <sup>a</sup>
D1*M1	2.96 <sup>de</sup>	0.14 <sup>h</sup>	147 <sup>i</sup>	0.075 <sup>fg</sup>	0.78 <sup>c</sup>	1.118 <sup>f</sup>	0.378 <sup>b</sup>
D1*M2	4.52 <sup>ab</sup>	0.28 <sup>c</sup>	288.83 <sup>f</sup>	0.145 <sup>c</sup>	0.075 <sup>ab</sup>	1.768 <sup>ab</sup>	0.568 <sup>a</sup>
D1*M3	3.85 <sup>bc</sup>	0.29 <sup>c</sup>	191 <sup>h</sup>	0.096 <sup>ef</sup>	0.94 <sup>b</sup>	1.635 <sup>bc</sup>	0.408 <sup>b</sup>
D2*M0	3.72 <sup>bcd</sup>	0.27 <sup>cd</sup>	589 <sup>a</sup>	0.185 <sup>b</sup>	1.14 <sup>a</sup>	1.608 <sup>bcd</sup>	0.548 <sup>a</sup>
D2*M1	2.87 <sup>e</sup>	0.19 <sup>g</sup>	138.7 <sup>i</sup>	0.045 <sup>h</sup>	0.78 <sup>c</sup>	1.233 <sup>ef</sup>	0.358 <sup>b</sup>
D2*M2	3.58 <sup>cde</sup>	0.23 <sup>ef</sup>	242 <sup>g</sup>	0.135 <sup>cd</sup>	1.07 <sup>ab</sup>	1.601 <sup>bcd</sup>	0.538 <sup>a</sup>
D2*M3	3.67 <sup>cde</sup>	0.21 <sup>fg</sup>	190.83 <sup>h</sup>	0.113 <sup>de</sup>	0.94 <sup>b</sup>	1.505 <sup>cd</sup>	0.398 <sup>b</sup>
D3*M0	4.52 <sup>ab</sup>	0.45 <sup>b</sup>	547.41 <sup>b</sup>	0.115 <sup>de</sup>	0.72 <sup>c</sup>	1.485 <sup>cd</sup>	0.536 <sup>a</sup>
D3*M1	1.93 <sup>f</sup>	0.25 <sup>de</sup>	325.5 <sup>def</sup>	0.04 <sup>h</sup>	0.65 <sup>c</sup>	1.12 <sup>f</sup>	0.348 <sup>b</sup>
D3*M2	3.43 <sup>cde</sup>	0.1 <sup>i</sup>	391 <sup>c</sup>	0.09 <sup>ef</sup>	0.69 <sup>c</sup>	1.516 <sup>cd</sup>	0.526 <sup>a</sup>
D3*M3	3.31 <sup>cde</sup>	0.1 <sup>i</sup>	333.17 <sup>de</sup>	0.053 <sup>gh</sup>	0.68 <sup>c</sup>	1.415 <sup>de</sup>	0.406 <sup>b</sup>

مقدار کلروفیل کل در دو تیمار تنش در ساقه‌دهی در  
عدم تلقیح و تلقیح با *G. mosseae* بیشترین بود. میزان  
کاروتنوئید در تنش‌های ساقه‌دهی و غنچه‌دهی و دو تیمار  
بدون تلقیح و تلقیح با *G. mosseae* بیشتر از بقیه بودند.

ادامه جدول ۷- مقایسه میانگین اثر تنش کم آبی × قارچ مایکوریزا ...

Continued Table 7. Means comparison of dehydration stress × mycorrhizal fungi effects ...

Treatment	Proline ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ FW)	Total phenols ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ FW)	Polyphenol peroxidase (unit.mg <sup>-1</sup> protein)	Soluble sugars ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ FW)	Essential oil (%)	Essential oil yield (kg.ha <sup>-1</sup> )	Flowering branches yield (kg.ha <sup>-1</sup> )
D0*M0	0.59 <sup>h</sup>	3.93 <sup>bc</sup>	0.42 <sup>d</sup>	0.74 <sup>de</sup>	1.29 <sup>def</sup>	30.74 <sup>b-e</sup>	2383.32 <sup>ab</sup>
D0*M1	0.57 <sup>h</sup>	3.66 <sup>c</sup>	0.097 <sup>ef</sup>	0.70 <sup>ef</sup>	1.97 <sup>a-d</sup>	51.78 <sup>a</sup>	2589.22 <sup>a</sup>
D0*M2	0.59 <sup>h</sup>	3.73 <sup>c</sup>	0.117 <sup>ef</sup>	0.56 <sup>f</sup>	1.43 <sup>b-f</sup>	11.81 <sup>gh</sup>	777.12 <sup>h</sup>
D0*M3	0.58 <sup>h</sup>	3.7 <sup>c</sup>	0.107 <sup>ef</sup>	0.73 <sup>de</sup>	1.85 <sup>a-e</sup>	27.08 <sup>b-f</sup>	1452.87 <sup>efg</sup>
D1*M0	1.35 <sup>b</sup>	5.42 <sup>a</sup>	0.747 <sup>b</sup>	1.14 <sup>a</sup>	1.73 <sup>a-e</sup>	22.01 <sup>d-h</sup>	1282.85 <sup>fg</sup>
D1*M1	0.62 <sup>h</sup>	3.88 <sup>bc</sup>	0.097 <sup>ef</sup>	0.96 <sup>bc</sup>	1.03 <sup>f</sup>	8.24 <sup>h</sup>	1001.80 <sup>gh</sup>
D1*M2	0.65 <sup>gh</sup>	4.235 <sup>bc</sup>	0.127 <sup>e</sup>	1.1 <sup>ab</sup>	1.38 <sup>def</sup>	14.65 <sup>fgh</sup>	1001.87 <sup>gh</sup>
D1*M3	0.65 <sup>gh</sup>	4.193 <sup>bc</sup>	0.107 <sup>ef</sup>	0.72 <sup>e</sup>	1.89 <sup>a-e</sup>	29.11 <sup>b-e</sup>	1523.46 <sup>def</sup>
D2*M0	0.88 <sup>e</sup>	5.423 <sup>a</sup>	0.553 <sup>c</sup>	0.89 <sup>cd</sup>	1.4 <sup>c-f</sup>	20.77 <sup>e-h</sup>	1498.05 <sup>def</sup>
D2*M1	0.73 <sup>fg</sup>	3.83 <sup>bc</sup>	0.077 <sup>f</sup>	0.79 <sup>de</sup>	1.91 <sup>a-e</sup>	38.37 <sup>bc</sup>	1975.72 <sup>bcd</sup>
D2*M2	0.79 <sup>ef</sup>	3.9 <sup>bc</sup>	0.097 <sup>ef</sup>	0.84 <sup>cde</sup>	2.23 <sup>a</sup>	35.57 <sup>bcd</sup>	1560.6 <sup>def</sup>
D2*M3	0.75 <sup>fg</sup>	3.87 <sup>bc</sup>	0.897 <sup>a</sup>	0.81 <sup>cde</sup>	2.09 <sup>ab</sup>	27.1bc	790.57 <sup>cde</sup>
D3*M0	1.8 <sup>a</sup>	5.418 <sup>a</sup>	0.417 <sup>d</sup>	0.81 <sup>cde</sup>	2.08 <sup>abc</sup>	40.91 <sup>ab</sup>	1975.08 <sup>bcd</sup>
D3*M1	0.8 <sup>f</sup>	3.878 <sup>bc</sup>	0.097 <sup>ef</sup>	0.76 <sup>de</sup>	1.7 <sup>a-e</sup>	33.03 <sup>b-e</sup>	1907.52 <sup>b-e</sup>
D3*M2	1.25 <sup>c</sup>	4.253 <sup>bc</sup>	0.116 <sup>ef</sup>	0.81 <sup>cde</sup>	1.24 <sup>ef</sup>	24.02 <sup>c-g</sup>	1968.88 <sup>bcd</sup>
D3*M3	1.05 <sup>d</sup>	4.358 <sup>b</sup>	0.103 <sup>ef</sup>	0.76 <sup>de</sup>	1.65 <sup>a-f</sup>	35.47 <sup>bcd</sup>	2093 <sup>bc</sup>

In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

D0- Full irrigation, D1- Stopping irrigation during the stem formation stage (restarting irrigation from the budding stage), D2- Stopping irrigation during the budding stage (no irrigation until the end of flowering period), and D3- Stopping irrigation at the 50% flowering stage (no irrigation until the end of flowering period); M0- No use of biological fertilizer, M1- Inoculation with *Glomus intraradices*, M2- Inoculation with *G. mosseae*, and M3- Inoculation with *G. mosseae* + *G. intraradices*.

غنچه‌دهی در تلقیح با *G. mosseae* بود.

مشاهده شد که بالاترین عملکرد اسانس با ۵۱/۷۸ کیلوگرم در هکتار از تیمار آبیاری کامل در تلقیح با *G. intraradices* بدست آمد. این تیمار از نظر آماری با تیمار تنش در ۵۰٪ گلدهی در عدم تلقیح قارچ (۴۰/۹۱ کیلوگرم در هکتار) در یک گروه قرار داشت. بیشترین عملکرد سرشاخه‌گلدان نیز با ۲۵۸۹/۲۲ کیلوگرم در هکتار متعلق به تیمار آبیاری کامل در تلقیح با *G. intraradices* بود.

مقایسه میانگین اثر متقابل سه‌گانه (جدول ۸) بر ترکیب‌های اسانس نشان داد که بیشترین میزان ترکیب

بررسی صفت پرولین نشان داد که بیشترین مقدار آن در تیمار تنش در مرحله گلدهی در عدم تلقیح حاصل شد (جدول ۷). مقدار فنل کل در سه تیمار تنش در مرحله ساقه‌دهی در عدم تلقیح، تنش در مرحله غنچه‌دهی در عدم تلقیح و تنش در مرحله ۵۰٪ گلدهی در عدم تلقیح در بالاترین مقدار بود. بیشترین میزان تجمع پلی فنل اکسیداز در تیمار تنش در مرحله غنچه‌دهی در *G. intraradices* + *G. mosseae* بود. بیشترین قندهای محلول نیز در تیمارهای تنش در مرحله ساقه‌دهی در عدم تلقیح و تلقیح با *G. mosseae* بود. بررسی درصد اسانس نشان داد که ده تیمار از مجموع ۱۶ تیمار در گروه a قرار داشتند، منتهی بالاترین مقدار آن با ۲/۲۳٪ در تیمار تنش در مرحله

پارا-سیمن با ۴۴/۴۵٪ در سال دوم از تنش در مرحله ساقه‌دهی در قارچ *G. mosseae* بدست آمد. ترکیب گاما-ترین در ۴ تیمار در سال اول بیشتر بود و بیشترین بازده

تیمول در سال اول از آبیاری کامل و مصرف قارچ *G. mosseae* با ۷۴/۵۹٪ حاصل شد.

جدول ۸- مقایسه میانگین اثر سال × تنش کم آبی × قارچ میکوریزا بر درصد ترکیبات عمده اسانس گیاه *Satureja sahendica*

Table 8. Means comparison of year × dehydration stress × mycorrhizal fungi effects on essential oil main compounds percentage of *Satureja sahendica*

Treatment	<i>p</i> -cymene (First year)	<i>p</i> -cymene (Second year)	$\gamma$ -terpinene (First year)	$\gamma$ -terpinene (Second year)	Thymol (First year)	Thymol (Second year)
D0*M0	25.39 <sup>ijk</sup>	40.11 <sup>b</sup>	13.40 <sup>h-k</sup>	15.55 <sup>e-h</sup>	52.38 <sup>e</sup>	34.10 <sup>q</sup>
D0*M1	30.7 <sup>fg</sup>	38.32 <sup>bc</sup>	16.51 <sup>def</sup>	14.88 <sup>f-i</sup>	43.89 <sup>l</sup>	35.92 <sup>p</sup>
D0*M2	9.41 <sup>p</sup>	31.45 <sup>fg</sup>	11.45 <sup>kl</sup>	13.35 <sup>h-k</sup>	74.59 <sup>a</sup>	45.12 <sup>kl</sup>
D0*M3	21.78 <sup>mn</sup>	37.79 <sup>bcd</sup>	19.89 <sup>ab</sup>	17.85 <sup>b-e</sup>	50.53 <sup>fg</sup>	35.4 <sup>pq</sup>
D1*M0	23.43 <sup>ikl</sup>	35.64 <sup>cd</sup>	19.29 <sup>abc</sup>	16.02 <sup>d-g</sup>	45.12 <sup>kl</sup>	38.48 <sup>n</sup>
D1*M1	17.68 <sup>o</sup>	38.84 <sup>bc</sup>	16.87 <sup>c-f</sup>	13.56 <sup>g-k</sup>	55.32 <sup>d</sup>	38.01 <sup>no</sup>
D1*M2	23.58 <sup>ikl</sup>	44.45 <sup>a</sup>	14.44 <sup>fj</sup>	10.45 <sup>l</sup>	55.49 <sup>d</sup>	36.66 <sup>po</sup>
D1*M3	22.69 <sup>kml</sup>	36.73 <sup>cd</sup>	18.16 <sup>bcd</sup>	14.86 <sup>f-i</sup>	50.08 <sup>ef</sup>	39.65 <sup>mn</sup>
D2*M0	25.19 <sup>ijk</sup>	26.30 <sup>hij</sup>	16.48 <sup>def</sup>	14.96 <sup>f-i</sup>	51.21 <sup>ef</sup>	50.79 <sup>efg</sup>
D2*M1	25.99 <sup>h-k</sup>	31.76 <sup>ef</sup>	16.07 <sup>d-g</sup>	16.90 <sup>c-f</sup>	49.29 <sup>gh</sup>	40.92 <sup>m</sup>
D2*M2	24.31 <sup>ikl</sup>	34.65 <sup>de</sup>	20.76 <sup>a</sup>	15.90 <sup>d-h</sup>	46.19 <sup>jk</sup>	39.56 <sup>mn</sup>
D2*M3	28.09 <sup>ghi</sup>	38.27 <sup>bc</sup>	14.79 <sup>f-i</sup>	12.52 <sup>i-l</sup>	47.15 <sup>ij</sup>	39.15 <sup>n</sup>
D3*M0	28.14 <sup>ghi</sup>	29.27 <sup>efh</sup>	17.06 <sup>c-f</sup>	14.51 <sup>f-j</sup>	46.72 <sup>j</sup>	47.46 <sup>ij</sup>
D3*M1	11.80 <sup>no</sup>	30.44 <sup>fg</sup>	16.75 <sup>def</sup>	15.53 <sup>e-h</sup>	57.48 <sup>e</sup>	44.19 <sup>l</sup>
D3*M2	23.02 <sup>ikl</sup>	19.68 <sup>mn</sup>	19.53 <sup>ab</sup>	11.33 <sup>kl</sup>	44.92 <sup>kl</sup>	61.97 <sup>b</sup>
D3*M3	28.54 <sup>f-i</sup>	29.16 <sup>efh</sup>	15.49 <sup>e-h</sup>	2.03 <sup>kl</sup>	48.34 <sup>hi</sup>	50.75 <sup>efg</sup>

In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

D0- Full irrigation, D1- Stopping irrigation during the stem formation stage (restarting irrigation from the budding stage), D2- Stopping irrigation during the budding stage (no irrigation until the end of flowering period), and D3- Stopping irrigation at the 50% flowering stage (no irrigation until the end of flowering period); M0- No use of biological fertilizer, M1- Inoculation with *Glomus intraradices*, M2- Inoculation with *G. mosseae*, and M3- Inoculation with *G. mosseae* + *G. intraradices*.

مالون‌دی‌آلدهید همبستگی معنی‌دار نشان نداد و همبستگی مثبت معنی‌دار بین کلروفیل a با کاتالاز، پراکسیداز، کلروفیل b، کلروفیل کل، فنل کل، پل فنل اکسیداز و قند محلول داشت (جدول ۹).

نتایج همبستگی ساده صفات نشان داد که بین همه صفات فیزیولوژیک اندازه‌گیری شده، به جز کلروفیل a با یکدیگر رابطه مثبت معنی‌دار وجود داشت. کلروفیل a با مقدار پروتئین، سوپراکسید دسموتاز، کاروتنوئید و

جدول ۹- همبستگی بین صفات فیزیولوژیک گیاه مرزه *Satureja sahendica*

Table 9. Correlation between physiological traits of *Satureja sahendica*

Trait	Protein (1)	Catalase (2)	Superoxide dismutase (3)	Peroxidase (4)	Chlorophyll a (5)	Chlorophyll b (6)	Total chlorophyll (7)	Carotenoids (8)	Proline (9)	Total phenols (10)	Malondialdehyde (11)	Polyphenol oxidase (12)	Soluble sugars (13)	Essential oil percentage (14)	Essential oil yield (15)
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2	0.68**	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3	0.45**	0.52**	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
4	0.54**	0.59**	0.51**	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5	0.13ns	0.20*	0.06 <sup>ns</sup>	0.53**	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
6	0.45**	0.41**	0.40**	0.46**	0.21*	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
7	0.65**	0.61**	0.41**	0.62**	0.30*	0.51**	1	1	1	1	1	1	1	1	1
8	0.61**	0.55**	0.56**	0.66**	0.33*	0.39*	0.62**	1	1	1	1	1	1	1	1
9	0.55**	0.61**	0.70**	0.32*	-0.17 <sup>ns</sup>	0.41**	0.39*	0.48**	1	1	1	1	1	1	1
10	0.54**	0.65**	0.67**	0.50**	0.21*	0.51**	0.45**	0.55**	0.64**	1	1	1	1	1	1
11	0.31*	0.39*	0.34*	0.37*	0.10 <sup>ns</sup>	0.44**	0.34*	0.33*	0.43**	0.32*	1	1	1	1	1
12	0.30*	0.44**	0.34*	0.61**	0.29**	0.24*	0.35*	0.27*	0.30*	0.39*	0.22*	1	1	1	1
13	0.59**	0.47**	0.22*	0.46**	0.25*	0.38*	0.44**	0.51**	0.24*	0.41**	0.20*	0.25*	1	1	1
14	0.10 <sup>ns</sup>	0.17 <sup>ns</sup>	-0.06 <sup>ns</sup>	0.007 <sup>ns</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	0.05 <sup>ns</sup>	0.08 <sup>ns</sup>	0.03 <sup>ns</sup>	0.12 <sup>ns</sup>	0.11 <sup>ns</sup>	0.10 <sup>ns</sup>	0.14 <sup>ns</sup>	-0.05 <sup>ns</sup>	1	1
15	-0.02 <sup>ns</sup>	0.01 <sup>ns</sup>	-0.05 <sup>ns</sup>	-0.19 <sup>ns</sup>	-0.20*	0.04 <sup>ns</sup>	-0.04 <sup>ns</sup>	-0.1 <sup>ns</sup>	0.16 <sup>ns</sup>	0.06 <sup>ns</sup>	0.004 <sup>ns</sup>	0.06 <sup>ns</sup>	-0.16 <sup>ns</sup>	0.77**	1

ادامه جدول ۹- همبستگی ...

Continued Table 9. Correlation ...

Trait	Essential oil percentage (14)	Essential oil yield (15)	Flowering branches yield (16)	<i>p</i> -cymene (17)	$\gamma$ -terpinene (18)	Thymol (19)
14	1					
15	0.77**	1				
16	0.15 <sup>ns</sup>	0.70**	1			
17	0.32*	0.36*	0.29*	1		
18	0.07 <sup>ns</sup>	-0.04 <sup>ns</sup>	-0.13 <sup>ns</sup>	-0.01 <sup>ns</sup>	1	
19	0.36*	-0.45**	-0.41**	-0.63**	0.05 <sup>ns</sup>	1

n.s., \*, and \*\*: non-significant, significant at 1, and 5% probability levels, respectively.

عدم تلقیح بیشتر از بقیه بود (جدول ۷)، سوپراکسیددسموتاز در تنش غنچه‌دهی در عدم تلقیح بیشترین بود (جدول ۷)، پرولین، فنل کل و قندهای محلول هم در تنش‌های مختلف در عدم تلقیح بیشترین بودند (جدول ۷) که نتایج حکایت از تأثیر مثبت استفاده از کودهای زیستی در کاهش اثر تنش و ایجاد راهکارهای مناسب گیاه برای مقابله با تنش داشته است. گیاه برای جلوگیری از اثرهای سوء رادیکال‌های آزاد اکسیژن، اقدام به افزایش مقدار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نموده است تا از کاهش فعالیت برخی از آنزیم‌های چرخه کالوین مانند ریبولوز مونوفسفات، کیناز و بی‌فسفاتازها جلوگیری نماید (Amini *et al.*, 2009). زیرا آنزیم سوپراکسید دسموتاز، رادیکال سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌کند و کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز، تجمع رادیکال سوپراکسید را در پی خواهد داشت (Mittler *et al.*, 2004). عدم وجود اختلاف معنی‌دار در آنزیم مالون دی‌آلدهید در اثرهای متقابل، نشانگر مؤثر بودن اقدامات تدافعی گیاه در مقابله با تنش‌های وارده بوده و گیاه توانسته بخوبی تنش را تحمل کرده و از آسیب به سلول‌های خود جلوگیری کند، زیرا گیاهانی که دارای سطح بالاتری از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان‌ها هستند، مقاومت بیشتری نسبت به سوپراکسیدها نشان می‌دهند (Dionisio-Sec & Tobita, 1998). در این گیاه نوع دفاع آنزیمی (حذف یا خنثی کردن حدواسط‌های اکسیژنی) (Ghorbani & Ladan, 2005) مشخص نیست اما مهار آنها توسط سازوکارهای دفاعی گیاه به خوبی روشن است.

نتایج همبستگی صفات نشان داد که بین عملکرد سرشاخه‌گلدار با عملکرد اسانس همبستگی مثبت معنی‌دار وجود داشت. اما عملکرد سرشاخه‌گلدار با درصد تیمول رابطه منفی معنی‌دار داشت. همچنین بین پارا-سیمن و تیمول رابطه منفی معنی‌دار مشاهده شد.

### بحث

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که ترکیب‌های اسانس از جمله پارا-سیمن، گاما-تریپین و تیمول تحت تأثیر اثرهای سه‌گانه سال×تن×کود زیستی معنی‌دار بودند (جدول ۱)، بنابراین به لحاظ آماری، بررسی اثرهای متقابل سه‌گانه این صفات از اهمیت بالاتری برخوردار هستند. همچنین در صفاتی که اثرهای متقابل آنها معنی‌دار شده‌اند، بررسی میانگین متقابل‌ها از ارزش و اهمیت بیشتری نسبت به اثرهای ساده برخوردار می‌باشند.

نتایج میانگین کاتالاز، سوپراکسیددسموتاز، کلروفیل b و پرولین (جدول ۲) حکایت از وجود تنش بیشتر در سال دوم داشته است (جدول ۵)، هر چند در سال دوم گیاهان به خوبی استقرار یافته‌اند اما به دلیل بیشتر بودن میزان تعرق از جذب، با توجه به رشد بیشتر اندام‌های هوایی (اعم از ارتفاع گیاه، تعداد پنجه، تعداد ساقه‌های جانبی و تعداد و سطح برگ) در سال دوم، شدت تنش افزایش می‌یابد که نتایج این بخش از تحقیقات با گزارش (Abbaszadeh, 2011) و (Fu & Huang, 2001) مطابقت داشت. میزان تجمع پروتئین، کاتالاز، پراکسیداز و کاروتنوئید در شرایط تنش در

بررسی میانگین آنزیم پراکسیداز، فنل کل و پلی فنل اکسیداز نشان داد که مقدار آنها در سال دوم در تنش قطع آبیاری در مرحله ساقه‌دهی بیشتر از بقیه تیمارها بود و پلی فنل اکسیداز در سال اول در تنش قطع آبیاری در مرحله غنچه‌دهی بیشتر بود که مؤید افزایش آنها در شرایط تنش می‌باشد، زیرا نتایج بررسی صفات مورفولوژیک و عملکرد سرشاخه‌گلداز (جدول ۷) نشان داد که رشد گیاه در قطع آبیاری در مرحله ساقه‌دهی و غنچه‌دهی کاهش قابل توجهی نداشته و با قطع آبیاری در مرحله گلدهی در یک گروه آماری قرار داشتند و برخی از پارامترها مانند تعداد گل‌آذین افزایش معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها داشت، به‌نظر می‌رسد در چنین وضعیتی میزان تعرق گیاه افزایش یافته و گیاهان با سطح اندام هوایی زیاد نسبت به بقیه به دلیل تعرق بیشتر و دریافت نور و حرارت بیشتر، در معرض تنش بیشتری قرار گرفته‌اند. در تحقیقات مختلف افزایش برخی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن در میتوکندری‌ها و کلروپلاست در شرایط تنش گزارش شده است (Blokina *et al.*, 2003; Amini *et al.*, 2009; Ardakani *et al.*, 2010). گیاه، سازوکارهای مختلفی را برای مقابله با تنش اتخاذ می‌کند، به‌طوری‌که در شرایط قطع آبیاری در مرحله غنچه‌دهی، بر خلاف تیمارهای دیگر، افزایش درصد اسانس اتفاق افتاد، این نتیجه با نتایج تحقیقات Abbaszadeh (۲۰۱۱) مطابقت دارد. زیرا نامبرده گزارش کرد که در تنش‌های ملایم یکسری ترکیب‌ها از جمله اسانس در گیاهان مورد مطالعه افزایش داشتند و با افزایش شدت تنش، ترکیب‌های تنظیم‌کننده دیگری از قبیل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پرولین افزایش یافتند که وجود همبستگی منفی بین سایر صفات با درصد اسانس در جدول ۹ تأییدکننده مطلب ذکر شده می‌باشد.

با توجه به همبستگی مثبت بین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (جدول ۹)، می‌توان بیان کرد که افزایش برخی دیگر از آنزیم‌ها در سایر تنش‌های قطع آبیاری موضوعی طبیعی بوده و با توجه به سازوکار تولید این آنزیم‌ها و شرایط محیطی، این تغییرات اتفاق می‌افتد. به عنوان مثال، افزایش فعالیت

آنزیم پراکسیداز در مرحله ساقه‌دهی را می‌توان چنین توجیه کرد که فعالیت این آنزیم با دما رابطه عکس دارد و با افزایش دمای محیط در مراحل غنچه‌دهی و گلدهی، از میزان فعالیت آن کاسته شده است (Ghorbani & Ladan, 2005). همچنین بالا بودن مقدار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در تیمارهای بدون تلقیح، اولاً نشان‌دهنده نقش مایکوریزا در افزایش میزان جذب آب و کاهش اثرهای تنش‌های محیطی بوده و ثانیاً تأییدکننده تنش وارده در شرایط بدون استفاده از کود زیستی و افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برای مقابله با تنش می‌باشد، زیرا در تحقیقات مختلف مدیریت مصرف کود (Hirel *et al.*, 2007)، آب (Galle *et al.*, 2009) و افزایش توانایی گیاه به کم آبی (Valente *et al.*, 2008) مورد تأکید بوده است که به‌نظر می‌رسد با اعمال کودهای زیستی، اعمال مدیریت آب و کود توسط تولیدکننده و با افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و سایر اسمولیت‌ها، اعمال مدیریت افزایش مقابله با تنش توسط گیاه اتفاق افتاده است. زیرا استفاده از قارچ‌های آریسکولاری میکوریزا برای افزایش سطح جذب ریشه و کاهش اثرهای تنش خشکی تأیید شده است (Auge *et al.*, 2001). همچنین افزایش اسمولیت‌های تنظیم‌کننده اسمزی نشان‌دهنده عزم گیاه برای کاهش اثرهای تنش وارده می‌باشد. به‌طوری‌که در جدول ۵ و ۷ مشاهده شده، بیشتر تنظیم‌کننده‌های اسمزی در سال دوم افزایش داشتند، همچنین همه این ترکیب‌ها در تیمارهای قطع آبیاری (جدول ۵) بیشتر از آبیاری کامل بودند، با توجه به اینکه خشکی از مهمترین تنش‌های محیطی بوده و باعث کاهش جذب آب و به هم خوردن موازنه هورمونی گیاه می‌شود (Khalafalla & Abo-Ghali, 2008). افزایش تنظیم‌کننده اسمزی مانند قندها، اسید آمینه پرولین و پروتئین‌ها توسط گیاه در شرایط تنش گزارش شده است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد (Ashraf *et al.*, 1994). همچنین افزایش کاروتنوئیدها مطابق با نتایج تحقیقات Chalker-Scott (۲۰۰۲) و Arazmjo و همکاران (۲۰۱۰) بود و در کلیه مراحل قطع آبیاری افزایش تنش مشاهده شد، زیرا کاروتنوئیدها با

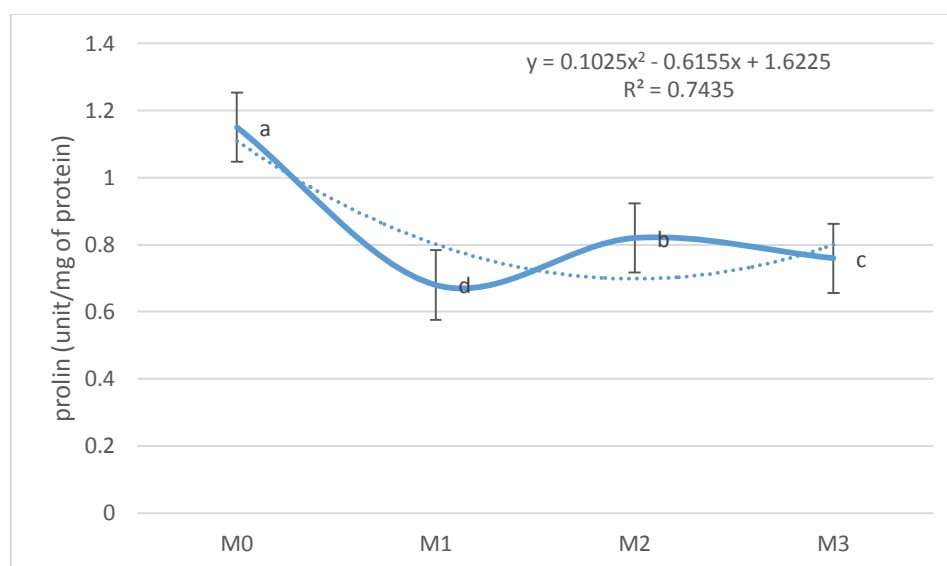
بررسی میانگین آنزیم پراکسیداز، فنل کل و پلی فنل اکسیداز نشان داد که مقدار آنها در سال دوم در تنش قطع آبیاری در مرحله ساقه‌دهی بیشتر از بقیه تیمارها بود و پلی فنل اکسیداز در سال اول در تنش قطع آبیاری در مرحله غنچه‌دهی بیشتر بود که مؤید افزایش آنها در شرایط تنش می‌باشد، زیرا نتایج بررسی صفات مورفولوژیک و عملکرد سرشاخه‌گلداز (جدول ۷) نشان داد که رشد گیاه در قطع آبیاری در مرحله ساقه‌دهی و غنچه‌دهی کاهش قابل توجهی نداشته و با قطع آبیاری در مرحله گلدهی در یک گروه آماری قرار داشتند و برخی از پارامترها مانند تعداد گل‌آذین افزایش معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها داشت، به‌نظر می‌رسد در چنین وضعیتی میزان تعرق گیاه افزایش یافته و گیاهان با سطح اندام هوایی زیاد نسبت به بقیه به دلیل تعرق بیشتر و دریافت نور و حرارت بیشتر، در معرض تنش بیشتری قرار گرفته‌اند. در تحقیقات مختلف افزایش برخی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن در میتوکندری‌ها و کلروپلاست در شرایط تنش گزارش شده است (Blokina *et al.*, 2003; Amini *et al.*, 2009; Ardakani *et al.*, 2010). گیاه، سازوکارهای مختلفی را برای مقابله با تنش اتخاذ می‌کند، به‌طوری‌که در شرایط قطع آبیاری در مرحله غنچه‌دهی، بر خلاف تیمارهای دیگر، افزایش درصد اسانس اتفاق افتاد، این نتیجه با نتایج تحقیقات Abbaszadeh (۲۰۱۱) مطابقت دارد. زیرا نامبرده گزارش کرد که در تنش‌های ملایم یکسری ترکیب‌ها از جمله اسانس در گیاهان مورد مطالعه افزایش داشتند و با افزایش شدت تنش، ترکیب‌های تنظیم‌کننده دیگری از قبیل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پرولین افزایش یافتند که وجود همبستگی منفی بین سایر صفات با درصد اسانس در جدول ۹ تأییدکننده مطلب ذکر شده می‌باشد.

با توجه به همبستگی مثبت بین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (جدول ۹)، می‌توان بیان کرد که افزایش برخی دیگر از آنزیم‌ها در سایر تنش‌های قطع آبیاری موضوعی طبیعی بوده و با توجه به سازوکار تولید این آنزیم‌ها و شرایط محیطی، این تغییرات اتفاق می‌افتد. به عنوان مثال، افزایش فعالیت



انطباق با نتایج برخی تحقیقات در مقدار پروتئین تجمع یافته یکی از موارد قابل بررسی بیشتر در آینده می‌باشد، زیرا در برخی تحقیقات (Jazizadeh & Mortezaee nejad, 2017) کاهش میزان پروتئین در اثر تنش گزارش شده است. اثرهای مثبت استفاده از قارچ‌های میکوریزا در کاهش اثر سوء تنش در صفات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، کلروفیل‌ها، کاروتنوئید، پرولین و قندهای محلول مشاهده می‌شود، روند تغییرات پرولین در اثر استفاده از کودهای زیستی کاهش از نوع پلی‌نومیال درجه ۲ بوده (شکل ۱) و نشان می‌دهد که استفاده تک تک قارچ‌های *G. intraradices* و *G. mosseae* بهتر از استفاده مخلوط آنها می‌باشد.

خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد در تعدیل اثرهای سوء تنش در گیاه نقش مهمی ایفا می‌کنند (Mittler, 2002). افزایش پرولین و قندهای محلول در جهت افزایش غلظت شیره سلولی و کاهش اثرهای سوء تنش در گیاه *S. sahendica* نیز اتفاق افتاده است، به طوری که نتایج این تحقیق با نتایج تحقیقات بر روی فلفل (Koc et al., 2010)، وایولی (Baher Nik et al., 2007) و زنیان (Razavizadeh, 2014) مطابقت نشان داد. کاهش میزان کلروفیل a در حالت تنش، نشان از اثرهای سوء تنش بر گیاه و فتوسنتز آن می‌باشد (Fu & Huang, 2001)، نتایج این تحقیق با نتایج بر روی بابونه (Arazmjo et al., 2010) و بادرنجبویه (Abbaszadeh et al., 2008) مطابقت نشان داد.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر کودهای زیستی بر مقدار پرولین گیاه مرزه *Satureja sahendica*

**Figure 1. Means comparison of biofertilizers effects on proline content of *Satureja sahendica***

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

M0- No use of biological fertilizer, M1- Inoculation with *Glomus intraradices*, M2- Inoculation with *G. mosseae*, M3- Inoculation with *G. mosseae* + *G. intraradices*.

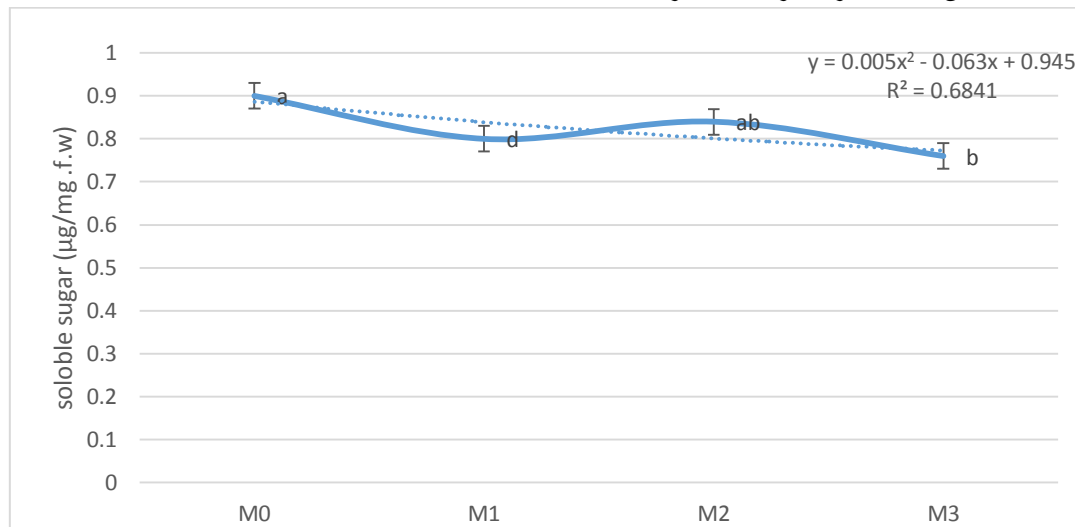
توجه به نوسان کم این صفت و قرار گرفتن در تیمار در یک گروه (جدول ۷)، نمی‌توان نتیجه قطعی گرفت. با توجه به اینکه عملکرد اسانس تابع دو مؤلفه درصد اسانس و عملکرد سرشاخه‌گلدان است و عملکرد اسانس تیمار کود زیستی *G. intraradices* نیز بیشتر از بقیه تیمارها بوده، بنابراین

همچنین بررسی تغییرات قندهای محلول نیز نشان‌دهنده روند کاهش این صفت با استفاده از کودهای زیستی بود (شکل ۲).

بررسی واکنش گیاه به کودهای زیستی در صفات درصد و عملکرد اسانس نشان داد که به لحاظ درصد اسانس با

مؤثر بوده است (جدول ۷).

نتیجه نشان می‌دهد که استفاده از کود زیستی ذکر شده در هر دو مؤلفه درصد اسانس و عملکرد سرشاخه بهتر از بقیه



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر کودهای زیستی بر مقدار قندهای محلول گیاه مرزه *Satureja sahendica*

Figure 2. Means comparison of biofertilizers effects on soluble sugars content of *Satureja sahendica*

سرشاخه گلدار و کاهش مقدار کلروفیل b در تیمار مذکور (جدول ۴) مؤید تأثیر مثبت قارچ *G. intraradices* در مرزه سهندی می‌باشد، نتایج ما با گزارش Auge و همکاران (۲۰۰۱) تطابق نشان داد.

مشاهده شد که بالاترین کیفیت یعنی تیمول بالا در شرایط آبیاری کامل و استفاده از قارچ *G. mosseae* بود (جدول ۸)، بنابراین در انتخاب نوع قارچ بایستی مسئله کمیت و کیفیت را لحاظ کرد.

وجود همبستگی مثبت (جدول ۹) در بین بیشتر صفات فیزیولوژیک نشان‌دهنده آن است که سنتز آنها بستگی به شرایط محیطی می‌تواند به سمت مثبت یا منفی از یک روند مشخصی تبعیت کند، یا به عبارتی مسیرهای سنتز آنها کاملاً بهم مرتبط می‌باشند، به عنوان مثال بیشتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در شرایط خاصی تولید می‌شوند، یا به عبارتی همزمان با تولید اسمولیت‌های تنظیم‌کننده مانند پرولین‌ها و قندها، تولید کلروفیل دچار نقصان می‌شود. عدم وجود همبستگی بین درصد اسانس با سایر صفات فیزیولوژیک هم مربوط به همین موضوع می‌باشد، که البته نشان‌دهنده اهمیت زراعی کردن و امکان شناسایی بیشتر عوامل تأثیرگذار بر

نتایج بدست آمده با نتایج تحقیقات (Ismaeilpour, 2013) هم‌خوانی دارد، بنابراین به نظر می‌رسد با توجه به محدودیت استفاده از نهاده‌های شیمیایی برای استفاده در تولید گیاهان دارویی و محدودیت آب قابل در دسترس صنعت کشاورزی، استفاده از گیاهان دارویی متحمل به تنش برای مقابله با خشکی و خشکسالی و اعمال تنش خشکی به منظور افزایش کیفیت بیشتر گیاهان دارویی از تیمارهای راهبردی باشد، همچنین با استفاده از کودهای زیستی مناسب، ضمن کاهش اثرهای تنش خشکی، به افزایش کمیت و کیفیت گیاهان کمک کرده و نسبت به تولید گیاهان دارویی طبیعی اقدام نمود.

مشاهده شد که بیشترین عملکرد سرشاخه گلدار در شرایط بدون تنش و اعمال تنش در مرحله ۵۰٪ گلدهی و در برخی تیمارها در تنش مرحله غنچه‌دهی بود (جدول ۷) که همگی نشان می‌دهد اعمال تنش در مرحله ۵۰٪ گلدهی یک تیمار کیفی بوده و گیاه تا آن مرحله رشد رویشی خود را انجام داده است، بنابراین یکی از تیمارهای صرفه‌جویی در مصرف آن می‌تواند قطع آبیاری در مرحله ۵۰٪ گلدهی باشد. کاهش انتشار مالون‌دی‌آلدهید در تلقیح با *G. intraradices* و بدست آمدن بیشترین عملکرد

اسانس در شرایط تنش، عملکرد اقتصادی گیاه افزایش می‌یابد. استفاده از کودهای زیستی به صورت جداگانه ضمن افزایش تحمل‌پذیری گیاه به تنش خشکی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و اسمولیت‌های تنظیم‌کننده را کاهش داده و می‌تواند به تولید بیشتر گیاه از طریق کاهش تنفس و افزایش فتوسنتز کمک نماید.

افزایش درصد اسانس را نشان می‌دهد. *Satureja sahendica* یکی از گونه‌های انحصاری و با ارزش دارویی است که تحمل بالایی به تنش قطع آبیاری داشته و با استفاده از سازوکارهای افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و اسمولیت‌های تنظیم‌کننده اسمزی با خشکی مقابله نموده و ضمن جلوگیری از کاهش اندام هوایی، با افزایش درصد

## References

- Abbaszadeh, B., 2011. Ecophysiological effect of salty stress on *Camphorosma monspeliaca* and *Artemisia sieberi* Bess. Ph.D thesis, Islamic Azad University, Karaj Branch. 527p.
- Abbaszadeh, B., Sharifi ashourabadi, E., Lebaschi M.H., Naderi hajibagher Kandy, M. and Moghadami, F., 2008. The effect of drought stress on proline contents, soluble sugars, chlorophyll and relative water contents of balm (*Melissa officinalis* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 23(4): 504-513.
- Afsharmohammadian, M., Ghanati, F., Ahmadiani, S. and Sadrzamani, K., 2016. Effect of drought stress on the activity of antioxidant enzymes and soluble sugars content of pennyroyal (*Mentha pulegium* L.). *Nova Biologica Reperta*, 3 (3): 228-237.
- Akbarinia, A. and Sefidkon, F., 2009. Identification of essential oil components of *Satureja sahendica* Bornm., In cultivated condition in Qazvin. *Journal of Qazvin University of Medical Sciences*, 13(2): 60-63.
- Akbarinia, A., Sefidkon, F. and Razaz Hashemi, S.R., 2009. Essential oil components of cultivated and wild accessions of *Satureja sahendica* Bornm. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 25(3): 376-385.
- Amini, Z., Haddad R. and Moradi. F., 2009. Effect of water deficit stress on antioxidant enzymes during generative growth stages in Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Water and Soil Science*, 12 (46): 65-74.
- Arazmjoo, A., Heidari, M., Ghanbari, A., Siahsar, B. and Ahmadian, A., 2010. Effects of three types of fertilizers on essential oil, photosynthetic pigments, and osmoregulators in chamomile under drought stress. *Environmental stresses in crop sciences*, 3(1): 23-33
- Ardakani, M.R., Abbaszadeh, B., Sharifi Ashourabadi, E., Lebaschy, M.H., Moaveni, p. and Mohebbati, F., 2010. The effect of Drought Stress on Growth Indices of Balm (*Melissa officinalis* L.). *Plant and Ecosystem*, 5(21): 58-47.
- Arnon, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24 (1): 1-15.
- Ashraf, M.Y., Azmi, A.R., Khan, A.H. and Ala, S.A., 1994. Effect of water stress on total phenols, peroxidase activity and chlorophyll content in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Acta Physiology Planta*, 16(3): 185-191.
- Auge, R.M., Stodola, A.J.W., Tims, J.E. and Saxton, A.M., 2001. Moisture retention properties of a mycorrhizal soil. *Plant and Soil*, 230: 87-97.
- Baher, Nik, Z., Mirza, M., Abbaszadeh, B. and Naderi hajibagher Kandy, M., 2007. The effect of metabolism in response to water stress in *Parthenium argentatum* Gray. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 23(3): 315-322.
- Bartels, D. and Sunkar R., 2005. Drought and salt tolerance in Plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 24 (1): 23-10.
- Behera, S. K. and R. K. Panda. 2009. Effect of fertilization and irrigation schedule on water and fertilizer solute transport for wheat crop in a subhumid subtropical region. *Agriculture, Ecosystem and Environment*, Elsevier Science, 130 (3-4): 141-155.
- Blokhina, O., Virolainen E. and K.V. Fagerstedt, 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A review. *Annals of Botany*, 91(2): 179-194.
- Chalker-Scott, L., 2002. Do anthocyanins function as osmoregulators in leaf tissues? *Advances in Botanical Research*, 37: 103-106.
- Dionisio-Sese, M.L. and Tobita, S., 1998, Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant science*, 135 (1): 1-9.
- El-Gazzar, A. and Watson, A., 1970. Taxonomic study of Labiatae and related genera. *New Phytologist*, 69 (2): 451-486.
- Fielding, J. L. and Hall, J., 1978. A biochemical and cytochemical study of peroxidase activity in root of *pisum sativum*. *Journal of Experimental Botany*, 29: 981-989.

- 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*, 45:105–114.
- Galle, A., Florez-Sarasal, I., Thameur, A., Paepe, R. D., Flexas, J. and Ribas-Carb, M., 2009. Effects of drought stress and subsequent rewatering on photosynthetic and respiratory pathways in *Nicotiana sylvestris* wild type and the mitochondrial complex I-deficient CMSII mutant. *Journal of Experimental Botany*, 61 (3): 765-775.
- Ghorbani H. and Ladan Moghaddam, A., 2005. Introduction to oxidative stresses and plant strains. Davavin Publication Institute, Iran, 128p.
- Hirell, B., Gouis, J. L., Ney, B. and Gallais, A., 2007. The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: towards a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches. *Journal of experimental botany*, 58 (9): 2369-2387.
- IsmaeilPour, B., Jalilvand P., Javad Hadian, J., 2013. Effects of drought stress and arbuscular mycorrhizal fungi on some morphophysiological traits and yield of savory (*Satureja hortensis* L.). *Journal of Agroecology*, 5(2): 177-169.
- Jamzad, Z., 2009. Thymus and Satureja species of Iran, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, 171 p.
- Jazizadeh, E., Mortezaee nejad, F., 2017. Effects of Water stress on Morphological and Physiological Indices of *Cichorium intybus* L. for introduction in urban landscapes. *Journal of plant process and function*, 6 (21): 279-290.
- 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. *Journal of Applied Sciences Research*, 4(5): 559-569.
- Koc, E., İslek, C. and Üstun, A.S., 2010. Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. *Gazi University Journal of Science*, 23 (1): 1-6.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. and Randall R.J., 1955. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal Biology Chemistry*, 193: 265-276.
- Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7 (9): 405- 410.
- Mittler, R., Vanderauwera S., Gollery M. and Breusegem F.V., 2004. Reactive oxygen gene net work of plants. *Trends in Plant Science*, 9 (10): 490-498.
- Pereira, G.J.G., Milina, S.M.G., Lea, P.J. and Azevedo, R.A., 2002. Activity of antioxidant enzymes in response to cadmium in *crotalaria juncea*. *Plant and Soil*, 239: 123-132.
- Razavizadeh, R., Shafeghat, M. and Najafi, Sh., 2014. Effect of water deficit on morphological and physiological parameters of *Carum copticum*. *Iranian Journal of Plant Biology*, 6 (22): 25-38.
- Rechinger K.H., 1982. *Satureja* in *Flora Iranica*. Akademische Druck-u Verlagsanstalt, Graz. N: 150.
- Rios-Gonzalez, K., Erdei, L. and Lips, S.H., 2002. The activity of antioxidant enzymes in maize and sunflower seedlings as affected by salinity and different nitrogen sources. *Plant Science*, 162 (6): 923-930.
- Sefidkon, F., Jamzad, Z., Mirza, M., 2004. Chemical variation in the essential oil of *Satureja sahendica* from Iran. *Food Chemistry*, 88:325-328.
- Sefidkon, F. and Akbarinia, A., 2009. Essential oil content and composition of *Satureja sahendica* Bornm. In different stages of plant growth. *Journal of Essential Oil Research*, 21(2): 112-114.
- Shehab G.G., Ahmed, O.K. and El-Beltagi, H.S., 2010. Effects of various chemical agents for alleviation of drought stress in rice plants (*Oryza sativa* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38 (1): 139-148.
- Soltanpour, P.N., Workman, S.M. and Schwab, A.P., 1979. Use of inductively- coupled plasma spectrometry for the simultaneous determination of macro and micro-nutrients in NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>-DTPA extracts of soils. *Soil Science Society of America Journal*, 43 (1):75-78.
- Tabatabaei raisi, A., Khaligi, A., Kashi, A., Asnaashari, S., Bamdad mogadam, S., and Delazar, A., 2007. Antioxidant activity and chemical compositions of essential oil of aerial parts of *Satureja sahendica* Bornm., *Pharmaceutical Sciences*, 13(3): 1-6
- Turkan, I., Bor, M., Ozdemir, F. and Koca, H., 2005. Differential response of lipid peroxidation and antioxidant in the leaves of drought tolerance (*P. acutifolius* Gray) and drought sensitive (*P. vulgaris* L.) subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Science*, 168 (1): 223-231.
- Valente, M.A.S., Faria, J.A., Soares-Ramos, J.R.L., Reis, P.A.B., Pinheiro, G.L., Piovesan, N.D., Morais, A.L.T., Menezes, C.C., Cano, M.A.O., Fietto, L.G., Loureiro, M.E., Araga, F.J.L. and Fontes, E.P.B., 2008. The ER luminal binding protein (BiP) mediates an increase in drought tolerance in soybean and delays drought-induced leaf senescence in soybean and tobacco. *Journal of Experimental Botany*, 60 (2): 533–546.
- Walinga, I., van Vark, W., Houba, V.J.G., 1989. Plant analysis procedures of Soil and plant analysis., Vol. 7, Agricultural University, Agricultural University Wageningen, 263p.