

تأثیر تنش خشکی و قارچ‌های میکوریزا بر صفات فیزیولوژیک و درصد اسانس مرزه سهندی (*Satureja sahendica* Bornm.)

فاطمه ذاکریان^۱، فاطمه سفیدکن^{۲*}، بھلول عباسزاده^۳ و سپیده کلاته جاری^۴

۱ و ۴. دانشجوی دکتری و استادیار، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۲ و ۳. استاد و استادیار، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۷/۲۴ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۹/۲۸)

چکیده

مرزه سهندی یکی از گیاهان دارویی انحصاری ایران است که علاوه بر کاربرد در صنایع دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی، به دلیل تحمل بالا به تنش خشکی و قابلیت تولید در مناطق دیم از اهمیت زراعی بالایی برخوردار می‌باشد. به منظور بررسی تغییرات صفات فیزیولوژیک مرزه سهندی، این تحقیق در دو سال در شب‌ابط مزرعه در قالب کرت های خرد شده در سه تکرار اجرا شد. تنش خشکی به عنوان کرت اصلی در چهار سطح (آبیاری کامل و قطع آبیاری در مراحل ساقه‌دهی، غنچه‌دهی و ۵۰٪ گلدهی) و تلقیح با قارچ مایکوریزا به عنوان کرت فرعی در چهار سطح (*G.intraradices* + *G.mosseae*, *G.mosseae*, *Glomus intraradices*) در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد اثر مقابله سال×تنش میکوریزا در سطح ۱ درصد بر دو آنزیم پراکسیداز و پلی‌اکسیداز و نیز درصد اسانس معنی‌دار بود. مقایسه میانگین‌ها نشان داد کاتالاز، سوپراکسیدیسموتاز، پراکسیداز و فنل کل در سال دوم بیشترین بودند. بیشترین مقدار کلروفیل b، کلروفیل کل، مالوندی آلدید و قند محلول در تنش خشکی در مرحله ساقه‌دهی بدست آمد. بیشترین سوپراکسیدیسموتاز و پرولین متعلق به تنش خشکی ۵۰ درصد در زمان گلدهی بود. بیشترین درصد اسانس (۱/۸۷) در تیمار مصرف هر دو گونه میکوریزا به دست آمد. بنابراین استفاده از کودهای زیستی می‌تواند اثرات تنش خشکی را کاهش داد.

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

Effect of drought stress and mycorrhizal fungi on physiological traits and essential oil percentage of *Satureja sahendica* Bornm.

Fatemeh Zakerian¹, Fatemeh Sefidkon^{2*}, Bohloul Abbaszadeh³ and Sepideh Kalate-Jari¹

1, 4. Ph. D. Candidate and Assistant Professor, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran

2, 3. Professor and Assistant Professor, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

(Received: Oct. 16, 2018 - Accepted: Dec. 19, 2018)

ABSTRACT

Satureja sahendica is one of the endemic Iranian medicinal plants which, has application in pharmaceutical, food, cosmetic and sanitary industries and has high agricultural importance due to its high tolerance to drought stress and production capacity in rainfed areas. In order to investigate the changes in the physiological traits of *Satureja sahendica*, this research was carried out in two years under field conditions with split plot design in three replications. Drought stress considered as main slot at four levels (full irrigation and interrupted irrigation at shoot, budding and 50% flowering stages) and inoculation with mycorrhiza as sub plot at four levels (non-use of bio fertilizer (control), *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae*, and *Glomus mosseae* + *Glomus intraradices*). The results showed interaction effect of year * drought stress * mycorrhiza at 1% level on peroxidase and polyphenol oxidase and percentage of essential oil was significant. Mean comparison of traits showed that catalase, superoxide dismutase, peroxidase and total phenol were the highest in the second year. The highest amount of chlorophyll b, total chlorophyll, malondialdehyde, soluble sugar was obtained in drought stress at stem elongation. The highest superoxide dismutase, proline, and total phenol belonged to drought stress at 50% flowering. The highest percentage of essential oil (1.87%) obtained in use of both species of mycorrhiza. So using bio fertilizers can reduce effects of drought stress.

Keywords: Antioxidant enzymes, essential oil percentage, proline, *Satureja sahendica*, soluble sugar.

* Corresponding author E-mail: sefidkon@rifr.ac.ir

کلروفیل گیاه (Fu & Huang, 2001)، افزایش کاروتینوئیدها و آنتوسبانین‌ها می‌شود (Chalker-Scott, 2002). کاروتینوئیدها با خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد در تعديل اثرات سوء تنش در گیاه نقش مهمی ایفا می‌کنند (Mittler, 2002). همچنین در شرایط تنش خشکی رادیکال‌های آزاد اکسیژن (Blokhina, et al., 2003) آزاد می‌شوند و آنتی‌اکسیدان‌هایی از قبیل کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و غیره در کلروپلاست‌ها و میتوکندری‌ها برای جاروب کردن آنها افزایش می‌یابند (Ardakani et al., 2010 Amini et al., 2008;). کاهش فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز می‌تواند سبب تجمع پراکسید هیدروژن شده و سبب کاهش فعالیت برخی از آنزیم‌های چرخه کالوین نظیر ریبولوز مونوفسفات، کیناز و بی‌فسفاتازها گردد (Amini et al., 2008). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، رادیکال سوپراکسید را به پراکسیدهیدروژن 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 آنتی‌اکسیدان‌ها هستند، مقاومت بیشتری نسبت به سوپراکسیدها نشان می‌دهند (Dionisio-Sec & Tobita, 1998).

در گیاهان دفاع آنزیمی مربوط به حذف یا خنثی کردن حدواسطه‌های اکسیژنی می‌شود (Ghorbani Ghogy & Ladan Moghaddam, 2005 p. 2010) (Koc et al., 2010) و کاروتینوئید و آنتوسبانین باونه را افزایش و کلروفیل باونه را کاهش افزایش پرولین و قندهای محلول در گیاهان واپولی (Arazmjo et al., 2010) و همچنین پروتئین کاسنی را کاهش داد (Jazizadeh & Mortezayee nejad, 2017).

افزایش پرولین و قندهای محلول در گیاهان واپولی (Baher Nik, et al., 2007) و زیان (Razavizadeh, 2007) در شرایط خشکی مشاهده شد.

جهت کاهش اثر نامطلوب تنش خشکی بر گیاه راه کارهای گوناگونی از جمله مدیریت مصرف کود به ویژه کودهای نیتروژنی (Hirell et al., 2007)، مدیریت مصرف آب (Galle et al., 2009) و افزایش توانایی تحمل گیاه به کم آبی (Valente et al., 2008) پیشنهاد شده است.

استفاده از برقراری همزیستی گیاه با قارچ‌های آرسکولاری میکوریزا و بهبود روابط آبی آن با گیاه

مقدمه

جنس مرزه (*Satureja*) از تیره نعناع (El-Gazzar & Watson, 1970) اغلب در مناطق مدیترانه‌ای پراکنده‌گی دارد. از میان ۱۶ گونه موجود در ایران، ۱۰ گونه *S. intermedia* *S. khuzistanica* *S. bachtiarica* *S. rechingeri* *S. isophylla* *S. sahendica* و *S. atropatana* *S. kallarica* *S. edmondi* و *S. kermanshahensis* انصاری ایران هستند (Rechinger, 1982). مرزه سهندی با نام علمی *S. sahendica* Bornm. است (Akbarinia & Sefidkon, 2009). رویشگاه‌های طبیعی مرزه سهندی در شمال غرب، غرب (Rechinger, 1982) و شمال شرق ایران در ناحیه ایران- تورانی در ارتفاعات ۱۳۰۰ الی ۲۵۰۰ متر از سطح دریا می‌باشد (Jamzad, 2009). از نظر خصوصیات ظاهری، مرزه سهندی گیاهی بوته‌ای با ساقه و برگ‌های زیاد، هر چرخه گل مشکل از دو تا شش گل سفید یا صورتی مایل به بنفش که در جذب حشرات گردافشان مؤثر بوده (Ghahreman, 1990) و دو پرچم جلویی بلندتر بوده و از لوله جام بیرون آمده است (Jamzad, 2009). رشد رویشی این گیاه از اواخر اسفند شروع می‌شود در سال اول امکان برداشت یک چین و در سال‌های بعد بسته به شرایط آب و هوایی می‌توان دو الی سه چین در مرحله گلدهی برداشت نمود (Akbarinia et al., 2009). برای گونه‌های مختلف مرزه خواص دارویی متعددی Zargari, 1982; Tabatabaei Raisi, 2007 (et al., 2007). انسنس مرزه سهندی در صنایع دارویی، غذایی، بهداشتی و آرایشی کاربرد دارند (Sefidkon & Akbarinia, 2009). خاصیت ضد ویروسی انسنس مرزه سهندی گزارش شده است (Sefidkon et al., 2004).

تنش خشکی از مهمترین تنش‌های محیطی می‌باشد که باعث کاهش جذب آب، هدایت روزنامه‌ای، تعرق، فتوسنتر و به هم خوردن موازنۀ هورمونی گیاه می‌شود (Khalafalla & Abo- Ghalia, 2008). گیاهان مکانیزم‌های مختلفی برای کاهش اثرات نامطلوب تنش دارند که از آن جمله می‌توان به افزایش تنظیم‌کننده اسمزی مانند قندها، اسید آمینه پرولین و پروتئین‌ها اشاره کرد (Ashraf et al., 1994). تنش خشکی باعث کاهش

خصوصیات فیزیولوژیک مرزه در شرایط تنفس آبی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوك‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، مجتمع تحقیقاتی البرز در سال‌های ۱۳۹۵-۹۶ اجرا گردید. ایستگاه تحقیقات البرز در پنج کیلومتری جنوب شهرستان کرج در عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۸ دقیقه شمالی و ۵۱ درجه شرقی، در ارتفاع ۱۳۲۰ متری از سطح دریا و با متوسط بارندگی حدود ۲۳۵ میلی‌متر، قرار دارد (IRMO, 2016). ابعاد کرت‌ها 3×2 متر، فاصله بلوك‌ها ۲ متر، فاصله کرت‌های فرعی از یکدیگر ۱ متر، فاصله خطوط کشت ۴۰ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها بر روی یک خط ۳۰ سانتی‌متر بود. بدز گیاه موردنظر از بخش گیاهان دارویی مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع که در طرح جامع فاز اول توسط بخش گیاه‌شناسی، شناسایی شده است، تهیه گردید. بدزها ۱۵ اسفند ماه در شرایط شاسی سرد (گلخانه) کشت و نشاء‌ها در اوخر اردیبهشت ماه پس از گذراندن یک هفت‌ه در شرایط بیرون از گلخانه به زمین اصلی منتقل شدند. قبل از شروع کشت گیاه در مزرعه به منظور تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه، تعداد نه نمونه خاک به طور تصادفی از عمق ۰-۳۰ سانتی‌متری از قسمت‌های مختلف مزرعه برداشت و پس از مخلوط کردن آن‌ها، یک نمونه مرکب تهیه و در آزمایشگاه Bulk خاک در آزمایشگاه مؤسسه خاک و آب (density, %PWP and %FC) و مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع (بقیه صفات) اندازه‌گیری شدند (جدول ۱).

میزان از راهکارهای مطرح شده در دهه‌های اخیر است (Smith & Read., 2008). قارچ‌های میکوریزایی دارای رابطه همزیستی با ریشه اغلب گیاهان زراعی می‌باشند و از طریق افزایش جذب عناصر غذایی مثل فسفر و برخی عناصر کم مصرف، افزایش جذب آب، کاهش تأثیر منفی تنش‌های محیطی و افزا یش مقاومت در برابر عوامل بیماریزا، سبب بهبود در رشد و عملکرد گیاهان میزان در سیستمهای کشاورزی پایدار می‌شوند (Marschner & Dell, 1994; Sharma, 2002). قارچ‌های میکوریزا باعث افزایش سطح جذب ریشه شده و با تعییر سرعت حرکت آب در گیاهان میزان، روی آب‌گیری بافت و فیزیولوژی برگ تأثیر می‌گذارد (Auge et al., 2001). در گیاه بادرنجبویه تحت تنفس خشکی (۰٪، ۴۰٪، ۶۰٪ و ۸۰٪ 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 (Abbaszadeh et al., 2008). در مرزه یکساله (Satureja hortensis L.) تحت تنفس ۳۰٪ و ۶۰٪ ظرفیت زراعی و شاهد، پرولین تحت تنفس افزایش و در تیمارهای تلقیح شده با قارچ‌های *Glomus etunicatum* و *versiformis* یافت (Ismaeil pour, et al., 2013). در گیاه پونه معطر (Mentha pulegium L.), خشکی موجب افزایش آنزیم Afsharmohammadian کاتالاز و کاهش پراکسیداز شد (Afsharmohammadian et al., 2016). با توجه به اینکه روی مسائل بهزراعی گیاهان دارویی به خصوص مرزه سهندی تا حال تحقیقات زیادی انجام نشده است، بنابراین ارائه تکنیک‌های مناسب زراعی به منظور افزایش کمیت و کیفیت آنها از اهمیت بالایی برخوردار است (Abbaszadeh et al., 2014) و در همین راستا پژوهش حاضر برای بررسی تأثیر قارچ میکوریزا بر برخی

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه از عمق صفر الی ۳۰ سانتی‌متری
Table 1. Physical and chemical properties of soil from the depth of 0-30cm

| TNV (%) | Organic carbon (%) | Organic matter (%) | EC (ds/m) | pH | Sand (%) | Silt (%) | Clay (%) | K (av.) (mg/kg) |
|-----------------|--------------------|--------------------|------------|------------|----------|--|-----------------|------------------|
| 11.8 | 0.96 | 1.60 | 1.13 | 7.48 | 41 | 33 | 26 | 198 |
| P (av.) (mg/kg) | Fe (mg/kg) | Mn (mg/kg) | Cu (mg/kg) | Zn (mg/kg) | N (%) | Bulk density (Bd) (g/cm ³) | PWP (15bar) (%) | FC (0.33bar) (%) |
| 11.2 | 1.31 | 10.82 | 0.56 | 0.62 | 0.08 | 1.76 | 12.21 | 23.41 |

دستگاه اسپکتروفوتومتر ۸ شعاعی مدل LUV-100A ساخت آمریکا در طول موج ۶۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و از آلبومین سرم گاوی برای رسم منحنی استاندارد استفاده گردید (Lowry *et al.*, 1995). اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنلی با روش فولین سیوکالتون انجام شد و از کاکتول برای رسم منحنی استاندارد استفاده گردید (Shehab *et al.*, 2010).

اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کاروتینوئید، با استفاده از روش آرنون انجام گرفت بدین ترتیب که برگ ترکیب در هاون چینی با استن به صورت تدریجی سائیده شده و در هر مرحله محلول شفاف رویی به بالن ژوژه منتقل گردیده و سپس محلول را با استن به حجم رسانده، محلول حاصل سانتریفیوژ و جذب نوری در طول موج‌های ۴۸۰، ۵۱۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر به وسیله اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. در نهایت مقدار کلروفیل و کاروتینوئید بر حسب میلی گرم در گرم بافت ترکیب از طریق رابطه‌های زیر محاسبه شدند (Arnon, 1949):

$$\text{رابطه ۲} = \text{کلروفیل a (میلی گرم در گرم بافت تر)} \times V/W \times 1000 \\ \{12/7(A663)-2/69(A645)\}$$

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

$$= \text{کلروفیل کل (میلی گرم در گرم بافت تر)} \times V/W \times 1000 \\ \{20/2(A663)-8/02(A645)\}$$

= کاروتینوئید (میلی گرم در گرم بافت تر) $\times V/W \times 1000$

برای تعیین میزان پرولین برگ از ۰/۵ گرم برگ از هر کرت نمونه برداری و پس از شستشو، 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 شد. مقدار ۰/۱ گرم پودر برگ با ترازوی دیجیتالی توزین و در ظرف شیشه‌ای کوچک ریخته و روی آن ۱۰ میلی‌لیتر محلول سولفوسالیسیلیک اضافه کرده و پس از ۴۸

کرت اصلی شامل تنفس خشکی در چهار سطح (آبیاری کامل (شاهد)، قطع آبیاری در مرحله ساقه‌های کاملاً خشکی و ایستاده را عنوان مرحله ساقه‌های در نظر گرفته و قطع آبیاری انجام شد و با شروع مرحله غنچه‌دهی آبیاری مجدداً برقرار شد)، قطع آبیاری در مرحله غنچه‌دهی (عدم آبیاری تا انتهای دوره گلدنهی)، قطع آبیاری در مرحله ۵۰ درصد گلدنهی (عدم آبیاری تا انتهای دوره گلدنهی)، کرت فرعی شامل تلقیح با قارچ مایکوریزا در چهار سطح (عدم استفاده از کود زیستی (شاهد)، تلقیح با *Glomus mosseae*, تلقیح با *Glomus intraradices* (*Glomus intraradices* + *Glomus mosseae*) تلقیح با بود.

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

کودهای زیستی حاوی قارچ میکوریزایی به نام *Glomus mosseae* و *Glomus intraradices* اندام فعال قارچی (شامل اسپور، هیف و ریشه) بود 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 آماده سازی 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):

$$\text{رابطه ۱} = V = \rho Z A (FC \cdot PWP) / 100 \quad (1)$$

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

میزان پروتئین محلول، با روش لوری و به کمک

روش Rios-Gonzalez (2002) سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با روش Pereira *et al.* (2002) و میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش Fielding & Hall (1978) (Fielding & Hall 1978) اندازه‌گیری شد. اسانس‌گیری از سرشاخه‌های گلدار گیاهان خشک شده در سایه ۱۰۰٪ گرم سرشاخه در ۱۵۰۰ سی سی آب (مقطر) به روش تقطیر با آب با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت دو ساعت انجام گرفت (Sefidkon & Akbarinia, 2009). آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین آنها به روش آزمون چند دامنه‌ای در سطح ۵٪ انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد اثر سال \times تنفس \times میکوریزا در سطح ۱ درصد بر میزان فعالیت دو آنزیم پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز و نیز درصد اسانس معنی دار بود (جدول ۱). اثر متقابل تنفس آبی در میکوریزا بر پروتئین، کاتالاز، سوپراکسیدیسموتاز، کلروفیل a، کلروفیل کل، پرولین، قند محلول و درصد اسانس در سطح احتمال ۱ درصد و بر کاروتینوئید، فنل کل در سطح ۵ درصد معنی دار بود. اثر سال در میکوریزا بر پلی‌فنل اکسیداز در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود. اثر تنفس آبی بر کلروفیل b، کاروتینوئید، فنل کل و مالون‌دی‌آلدهید در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود.

ساعت محلول‌ها با کاغذ صاف شده و برای اندازه گیری 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 شد. لوله‌های آزمایش به مدت یک ساعت در بن ماری جوشان ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا زمانی که رنگ آجری تولید شده تثبیت شود. لوله‌ها بلافصله در آب یخ قرار داده شدند تا واکنش سریعاً متوقف گردد. به هر لوله دو میلی‌لیتر تولوئن افزوده و محتويات لوله به خوبی مخلوط گردید. از محلول قرمز رنگ فاز بالايی نمونه‌برداری و میزان جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد (Bartles & Sunkar, 2005) و مقدار پرولین با استفاده از رابطه زیر (رابطه ۳) محاسبه شد.

رابطه ۳

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

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

میزان مالون‌دی‌آلدهید مطابق با روش Turkan *et al.* (2005)، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس مرکب اثر تنفس خشکی و قارچ میکوریزا بر صفات فیزیولوژی مرزه سهندی

(*Satureja sahendica* Bornm.)

Table 1. Results of combined variance analysis effect of drought stress and mycorrhizal fungi on physiological traits of *Satureja sahendica* Bornm.

| Source of variation | d.f. | Mean Square | | | | | | | |
|--|------|-------------|------------|---------------------|------------|---------------|---------------|-------------------|------------|
| | | Protein | Catalase | Super oxid dismutas | Peroxidase | Chlorophyll-a | Chlorophyll-b | Chlorophyll-total | Carotenoid |
| Year | 1 | 1.23ns | 0.009* | 8568** | 0.001** | 0.102ns | 0.322** | 0.050ns | 0.021ns |
| Error (year) | 4 | 0.19 | 0.0006 | 1920 | 0.00006 | 0.014 | 0.001 | 0.008 | 0.003 |
| Stress | 3 | 22.73** | 0.172** | 207507** | 0.023** | 0.519** | 0.070** | 0.97** | 0.04** |
| Year \times Stress | 3 | 0.009ns | 0.00001ns | 15.97ns | 0.005** | 0.013ns | 0.0003ns | 0.002ns | 0.000003ns |
| Error (a) | 12 | 0.75 | 0.0001 | 261.86 | 0.0004 | 0.017 | 0.002 | 0.04 | 0.001 |
| Mycorrhiza | 3 | 7.40** | 0.13** | 369330** | 0.054** | 0.313** | 0.070** | 0.73** | 0.137** |
| Year \times Mycorrhiza | 3 | 0.004ns | 0.000006ns | 128.02ns | 0.000006ns | 0.009ns | 0.00009ns | 0.007ns | 0.00001ns |
| Stress \times Mycorrhiza | 9 | 1.35** | 0.04** | 21382** | 0.002** | 0.046** | 0.010ns | 0.096** | 0.013* |
| Year \times Mycorrhiza \times Stress | 9 | 0.01ns | 0.000006ns | 148.06ns | 0.002** | 0.016ns | 0.0003ns | 0.005ns | 0.000003ns |
| Error | 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 |

* ** ns: به ترتیب نشان‌دهنده نبود تفاوت معنی دار و وجود تفاوت معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

ns, *, **: non-significant, significantly different at 5 and 1 %, respectively;

ادامه جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس مرکب اثر تنفس خشکی و قارچ میکوریزا بر صفات فیزیولوژی مرزه سهندی
(*Satureja sahendica* Bornm.)

Continued Table 1. Results of combined variance analysis effect of drought stress and mycorrhizal fungi on physiological traits of *Satureja sahendica* Bornm.

| Source of variation | d.f. | Mean Square | | | | |
|------------------------|------|--------------------------|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|
| | | Proline | Total phenol | Malon-dialdehyde | Polyphenol oxidase | Soluble sugar |
| Year | 1 | 0.240** | 9.21** | 0.290* | 0.002 ^{ns} | 0.107 ^{ns} |
| Error (year) | 4 | 0.011 | 0.328 | 0.024 | 0.0006 | 0.026 |
| Stress | 3 | 1.73** | 2.594** | 0.690** | 0.261** | 0.363** |
| Year×Stress | 3 | 0.00000001 ^{ns} | 0.144** | 0.0001 ^{ns} | 0.007** | 0.001 ^{ns} |
| Error (a) | 12 | 0.002 | 0.009 | 0.086 | 0.001 | 0.009 |
| Mycorrhiza | 3 | 1.05** | 7.36** | 0.950** | 1.019** | 0.076** |
| Year×Mycorrhiza | 3 | 0.000002 ^{ns} | 0.010 ^{ns} | 0 ^{ns} | 0.006** | 0.0004 ^{ns} |
| Stress×Mycorrhiza | 9 | 0.272** | 0.56* | 0.182 ^{ns} | 0.273** | 0.067** |
| Year×Mycorrhiza×Stress | 9 | 0.000002 ^{ns} | 0.20 ^{ns} | 0.071 ^{ns} | 0.088** | 0.0003 ^{ns} |
| Error | 48 | 0.008 | 0.24 | 0.160 | 0.001 | 0.017 |
| Cv% | | 10.64 | 11.73 | 22.75 | 12.48 | 16.06 |
| | | | | | | 25.74 |

* و **: نشان‌دهنده نبود تفاوت معنی‌دار و وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

ns, * , **: Non-significantly difference and significantly different at $\alpha=0.05$ and $\alpha=0.01$ probability levels, respectively.

نتایج همبستگی ساده صفات نشان داد بین همه صفات فیزیولوژیک اندازه‌گیری شده، به جز کلروفیل a، رابطه مثبت معنی‌دار وجود داشت. کلروفیل a با مقدار پروتئین، سوپراکسید دیسموتاز، کاروتونوئید و مالون‌دی‌آلدهید همبستگی معنی‌دار نشان نداد و همبستگی مثبت معنی‌دار بین کلروفیل a با کاتالاز، پراکسیداز، کلروفیل b، کلروفیل کل، فنل کل، پلیفل‌اکسیداز و قند محلول همبستگی مثبت معنی‌دار داشت (جدول ۵).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر سال×تنفس خشکی × کود زیستی بر آنزیم‌های پراکسیداز، پلیفل‌اکسیداز و درصد اسانس معنی‌دار بود (جدول ۱). بررسی میانگین آنزیم پراکسیداز نشان داد مقدار آنها در سال دوم در تنفس قطع آبیاری در مرحله ساقه‌دهی در شرایط بدون استفاده از کودهای زیستی بیشتر از بقیه تیمارها بود که موید افزایش آن در شرایط تنفس می‌باشد. در تحقیقات مختلف افزایش برخی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن در میتوکندری‌ها و کلروپلاست در شرایط تنفس گزارش شده است Blokhina *et al.*, 2003; Amini *et al.*, 2008; Ardakani *et al.*, 2010 برای مقابله با تنفس اتخاذ می‌کند، به طوری که در شرایط قطع آبیاری در مرحله غنچه‌دهی، برخلاف تیمارهای دیگر، افزایش درصد اسانس اتفاق افتاد، این

اثر میکوریزا بر تمامی صفات در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. مشاهده شد بین دو سال در صفات سوپراکسید دیسموتاز، کلروفیل b، پرولین، فنل کل در سطح احتمال ۱ درصد و کاتالاز و مالون‌دی‌آلدهید در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار وجود داشت.

مقایسه میانگین نشان داد کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کلروفیل b، پرولین، فنل کل، درصد اسانس در سال دوم بیشتر بودند (جدول ۲).

بیشترین مقدار پروتئین، کاتالاز، پراکسیداز، کلروفیل b، کلروفیل کل، مالون‌دی‌آلدهید، قند محلول در تیمار تنفس خشکی در مرحله ساقه‌دهی بهدست آمد. بیشترین پلیفل‌اکسیداز و درصد اسانس در تیمار تنفس خشکی در مرحله غنچه‌دهی بود. بیشترین سوپراکسید دیسموتاز، پرولین در تیمار تنفس خشکی در مرحله ۵۰ درصد گلدهی بود (جدول ۳).

مقایسه میانگین‌ها نشان داد مقدار پروتئین، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتونوئید، پرولین، فنل کل، مالون‌دی‌آلدهید، پلیفل‌اکسیداز، قند محلول در تیمار عدم مصرف میکوریزا بیشترین بودند و با مصرف میکوریزا کاهش نشان دادند. بیشترین درصد اسانس در تیمار مصرف هر دو کود زیستی مشاهده شد (جدول ۴).

تنش، ترکیبات تنظیم‌کننده دیگری از قبیل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پروولین افزایش یافتند که وجود همبستگی منفی بین سایر صفات با درصد اسانس در جدول ۵ تأیید کننده مطلب فوق می‌باشد.

نتیجه با نتایج تحقیقات Abbaszadeh (2011)، مطابقت دارد. زیرا ایشان گزارش کرد که در تنش‌های خشکی ملایم یک‌سری ترکیبات از جمله اسانس در گیاهان مورد مطالعه افزایش داشتند و با افزایش شدت

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر سال بر صفات فیزیولوژی مرزه سهندی (*Satureja sahendica* Bornm.)

Table 2. Mean comparison effect of year on physiological traits of *Satureja sahendica* Bornm.

| Year | Protein (mg/g.f.w.) | Catalase (unit/mg.pro) | Super oxid dismutase (unit/mg.pro) | Peroxidase (unit/mg.pro) | Chlorophyll-a (mg/g.f.w.) | Chlorophyll-b (mg/g.f.w.) | Chlorophyll-total (mg/g.f.w.) | Carotenoid (mg/g.f.w.) |
|-------------|------------------------|---------------------------|---------------------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|----------------------------------|---------------------------|
| First year | 2.99a | 0.20b | 268.98b | 0.09b | 0.87b | 0.34b | 1.37a | 0.43b |
| Second year | 3.22a | 0.22a | 287.88a | 0.10a | 0.94a | 0.46a | 1.41a | 0.46a |

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون فقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد هستند.

Means in each column with same letters are not significant at probability level of 5%.

ادامه جدول ۲. مقایسه میانگین اثر سال بر صفات فیزیولوژی مرزه سهندی (*Satureja sahendica* Bornm.)

Continued table 2. Mean comparison effect of year on physiological traits of *Satureja sahendica* Bornm.

| Year | Proline (µg/g.f.w.) | Total phenol (mg/g.f.w.) | Malon-dialdehyde (µg/g.f.w.) | Polyphenol oxidase (unit/mg pro) | Soluble sugar (mg/g.f.w.) | Essential oil percentage |
|-------------|------------------------|-----------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| First year | 0.80b | 3.92b | 1.70a | 0.26a | 0.79b | 1.49b |
| Second year | 0.90a | 4.54a | 1.81a | 0.25a | 0.86a | 1.87a |

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون فقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد هستند.

Means in each column with same letters are not significant at probability level of 5%.

جدول ۳. مقایسه میانگین مرکب اثر تنش خشکی بر صفات فیزیولوژی مرزه سهندی (*Satureja sahendica* Bornm.)

Table 3. Combined mean comparison effect of drought stress on physiological traits of *Satureja sahendica* Bornm.

| Drought stress | Protein (mg/g.f.w.) | Catalase (unit/mg.pro) | Super oxid dismutase (unit/mg.pro) | Peroxidase (unit/mg.pro) | Chlorophyll-a (mg/g.f.w.) | Chlorophyll-b (mg/g.f.w.) | Chlorophyll-total (mg/g.f.w.) | Carotenoid (mg/g.f.w.) |
|--|------------------------|---------------------------|--|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|----------------------------------|---------------------------|
| without stress | 1.73c | 0.09c | 177.39d | 0.07c | 0.97a | 0.34b | 1.12d | 0.38b |
| no irrigation in the stem elongation stage | 4.01a | 0.29a | 246.96c | 0.13a | 0.98a | 0.47a | 1.59a | 0.48a |
| no irrigation in the start of blooming stage | 3.38b | 0.22b | 290.13b | 0.11b | 0.98a | 0.38b | 1.48b | 0.46a |
| no irrigation at 50% flowering stage | 3.31b | 0.22b | 399.27a | 0.07c | 0.68b | 0.41b | 1.38c | 0.45a |

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون فقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد هستند.

Means in each column with same letters are not significant at probability level of 5%.

ادامه جدول ۳. مقایسه میانگین مرکب اثر تنش خشکی بر صفات فیزیولوژی مرزه سهندی (*Satureja sahendica* Bornm.)

Continued Table 3. Combined mean comparison effect of drought stress on physiological traits of *Satureja sahendica* Bornm.

| Drought stress | Proline (µg/g.f.w.) | Total phenol (mg/g.f.w.) | Malon-dialdehyde (µg/g.f.w.) | Polyphenol oxidase (unit/mg pro) | Soluble sugar (mg/g.f.w.) | Essential oil percentage |
|--|------------------------|-----------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| without stress | 0.58c | 3.75b | 1.68ab | 0.18c | 0.68c | 1.63b |
| No irrigation in the stem elongation stage | 0.82b | 4.43a | 1.89a | 0.27b | 0.98a | 1.50b |
| No irrigation in the blooming stage | 0.79b | 4.25a | 1.55b | 0.40a | 0.83b | 1.91a |
| No irrigation at 50% flowering stage | 1.22a | 4.47a | 1.89a | 0.18c | 0.79b | 1.67ab |

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون فقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد هستند.

Means in each column with same letters are not significant at probability level of 5%.

جدول ۴. مقایسه میانگین مرکب اثر قارچ میکوریزا بر صفات فیزیولوژی مرزه سهندی (*Satureja sahendica* Bornm.)

Table 4. Combined mean comparison effect of mycorrhizal fungi on physiological traits of *Satureja sahendica* Bornm.

| Mycorrhiza | Protein (mg/g.f.w.) | Catalase (unit/mg.pro) | Super oxid dismutase (unit/mg.pro) | Peroxidase (unit/mg.pro) | Chlorophyll-a (mg/g.f.w.) | Chlorophyll-b (mg/g.f.w.) | Chlorophyll-total (mg/g.f.w.) | Carotenoid (mg/g.f.w.) |
|--|------------------------|---------------------------|--|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|----------------------------------|---------------------------|
| Control | 3.67a | 0.32a | 450.67a | 0.16a | 1.004a | 0.45a | 1.52a | 0.51a |
| <i>Glomus intraradices</i> | 2.37c | 0.16b | 167.51d | 0.04d | 0.74c | 0.32b | 1.14c | 0.36b |
| <i>Glomus mosseae</i> | 3.34b | 0.17b | 281.84b | 0.11b | 0.96ab | 0.42a | 1.49ab | 0.50a |
| <i>Glomus mosseae+ Glomus intraradices</i> | 3.05b | 0.17b | 213.72c | 0.07c | 0.92b | 0.40a | 1.41b | 0.400b |

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون فقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد هستند.

Means in each column with same letters are not significant at probability level of 5%.

ادامه جدول ۴. مقایسه میانگین مرکب اثر قارچ میکوریزا بر صفات فیزیولوژی مرزه سهندی (*Satureja sahendica* Bornm.)
Continued Table 4. Combined mean comparison effect of mycorrhizal fungi on physiological traits of *Satureja sahendica* Bornm.

| Mycorrhiza | Proline ($\mu\text{g/g.f.w.}$) | Total phenol (mg/g.f.w.) | Malon-dialdehyde ($\mu\text{g/g.f.w.}$) | Polyphenol oxidase (unit/mg pro) | Soluble sugar (mg/g.f.w.) | Essential oil percentage |
|------------------------------------|-------------------------------------|--|--|-------------------------------------|---|-----------------------------|
| Control | 1.15a | 5.04a | 1.95a | 0.53a | 0.90a | 1.62ab |
| <i>G. intraradices</i> | 0.68d | 3.81b | 1.51c | 0.09d | 0.80b | 1.65ab |
| <i>G. mosseae</i> | 0.82b | 4.03b | 1.69bc | 0.11c | 0.83ab | 1.57b |
| <i>G. mosseae+ G. intraradices</i> | 0.76c | 4.03b | 1.87ab | 0.30b | 0.76b | 1.87a |

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون قادر تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد هستند.

Means in each column with same letters are not significant at probability level of 5%.

جدول ۵. همبستگی بین صفات فیزیولوژی اندازه‌گیری شده گیاه مرزه سهندی (*Satureja sahendica* Bornm.)

Table 5. Correlation between measured physiological traits of *Satureja sahendica* Bornm.

| Protein (1) | Catalase (2) | Superoxid dismutas (3) | Peroxidase (4) | Chlorophyll-a (5) | Chlorophyll-b (6) | Chlorophyll-total (7) | Carotenoid (8) | Proline (9) | Total phenol (10) | Malon-dialdehyde (11) | Polyphenol oxidase (12) | Soluble sugar (13) | Essential oil percentage (14) |
|----------------|-----------------|---------------------------|-------------------|----------------------|----------------------|--------------------------|-------------------|----------------|----------------------|--------------------------|----------------------------|-----------------------|----------------------------------|
| 1 | 1 | | | | | | | | | | | | |
| 2 | 0.68** | 1 | | | | | | | | | | | |
| 3 | 0.45** | 0.52** | 1 | | | | | | | | | | |
| 4 | 0.54** | 0.59** | 0.51** | 1 | | | | | | | | | |
| 5 | 0.13ns | 0.20* | 0.06ns | 0.53** | 1 | | | | | | | | |
| 6 | 0.45** | 0.41** | 0.40** | 0.46** | 0.21* | 1 | | | | | | | |
| 7 | 0.65** | 0.61** | 0.41** | 0.62** | 0.30** | 0.51** | 1 | | | | | | |
| 8 | 0.61** | 0.55** | 0.56** | 0.66** | 0.33** | 0.39** | 0.62** | 1 | | | | | |
| 9 | 0.55** | 0.61** | 0.70** | 0.32** | -0.17ns | 0.41** | 0.39** | 0.48** | 1 | | | | |
| 10 | 0.54** | 0.65** | 0.67** | 0.50** | 0.21* | 0.51** | 0.45** | 0.55** | 0.64** | 1 | | | |
| 11 | 0.31** | 0.39** | 0.34** | 0.37** | 0.10ns | 0.44** | 0.34** | 0.33** | 0.43** | 0.32** | 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 | |
| 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 |
| 14 | 0.10ns | 0.17ns | -0.06ns | 0.007ns | 0.02ns | ns • / 0.5 | 0.08ns | 0.03ns | 0.12ns | 0.11ns | 0.10ns | 0.14ns | -0.05ns |

ns, **: نشان‌دهنده نبود تفاوت معنی دار وجود تفاوت معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

ns, *, **: Non-significantly difference and significantly difference at 5 and 1 %, respectively.

بیشتر اندام‌های هوایی و توسعه سطح تعرق کننده، گیاه بیشتر از سال اول دچار تنفس بوده است و گیاه برای جلوگیری از اثرات سوء رادیکال‌های آزاد اکسیژن، اقدام به افزایش مقدار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نموده است تا از کاهش فعالیت برخی از آنزیم‌های چرخه کالوین نظری ریبولوز مونوفسفات، کیناز و بی‌فسفاتازها جلوگیری نماید (Amini et al., 2008). زیرا آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، رادیکال سوپراکسید را به پراکسیدهیدروژن تبدیل می‌کند و کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، تجمع رادیکال سوپراکسید را در بی خواهد داشت (Mittler et al., 2004). عدم وجود تفاوت معنی دار در آنزیم

بررسی جدول‌های مقایسه میانگین (جدول‌های ۲، ۳ و ۴) نشان داد پراکسیداز در سال دوم بیشتر بود، هر چند گیاهان در سال دوم به دلیل توسعه ریشه و سازگار شدن با شرایط مزرعه، استقرار بهتری نسبت به سال اول داشتند، اما برخلاف انتظار، شاهد افزایش میزان تجمع کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کلروفیل‌ها، کاروتئوئید، پرولین، فل کل و قندهای محلول بودیم که نشان می‌دهد گیاهان به طور کلی نسبت به سال اول در معرض تنفس بیشتری قرار داشتند. با توجه به این‌که نحوه اعمال تیمارهای تنفس آبی در سال دوم نیز همانند سال اول بود، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که در سال دوم به دلیل رشد

توسط تولید کننده و با افزایش آزیم‌های آنتی‌اکسیدان و سایر اسمولیت‌ها، اعمال مدیریت افزایش مقابله با تنفس توسط گیاه اتفاق افتاده است. زیرا در دهه‌های اخیر استفاده از قارچ‌های آربیکولاری میکوریزا (Smith & Read, 2008) برای افزایش سطح جذب ریشه و کاهش اثرات تنفس خشکی تایید شده است (Auge *et al.*, 2001).

همچنین افزایش اسمولیت‌های تنظیم‌کننده اسمزی نشان‌دهنده عزم گیاه برای کاهش اثرات تنفس وارد می‌باشد. بطوری که در جدول ۲ مشاهده شده، اکثر تنظیم‌کننده‌های اسمزی در سال دوم افزایش داشتند. همچنین همه این ترکیبات در تیمارهای قطع آبیاری (جدول ۳) بیشتر از آبیاری کامل بودند. با توجه به این که خشکی از مهمترین تنفس‌های محیطی بوده و باعث کاهش جذب آب و به هم خودن موازنی هورمونی گیاه می‌شود (Khalafalla & Abo-Ghalia, 2008). افزایش تنظیم‌کننده اسمزی مانند قندها، اسید آمینه پرولین توسط گیاه در شرایط تنفس گزارش شده است که با نتایج این تحقیق مطابقت نشان می‌دهد (Ashraf *et al.*, 1994). همچنین افزایش کاروتوئیدها مطابق با نتایج تحقیقات Chalker-Scott (2002) و Arazmjo *et al.* (2010) بود و در کلیه مراحل قطع آبیاری افزایش تنفس مشاهده شد زیرا کاروتوئیدها با خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد در تعديل اثرات سوء تنفس در گیاه نقش مهمی ایفا می‌کنند (Mittler, 2002). افزایش پرولین و قندهای محلول در جهت افزایش غلظت شیره سلولی و کاهش اثرات تنفس در گیاه مرزه سهندی نیز اتفاق افتاده است، بطوری که نتایج این تحقیق با نتایج تحقیقات بر روی فلفل (Koc *et al.*, 2010)، واپولی (Bahir Nik *et al.*, 2014)، زینیان (Razavizadeh, 2007 *et al.*)، زینیان (Fu & Huang, 2001)، نتایج این تحقیق با نتایج روی بابونه (Arazmjo *et al.*, 2010) و بادرنجبویه مطابقت نشان داد (Abbaszadeh *et al.*, 2008). عدم انطباق با نتایج برخی تحقیقات در مقدار پروتئین تجمع یافته یکی از موارد قابل بررسی بیشتر

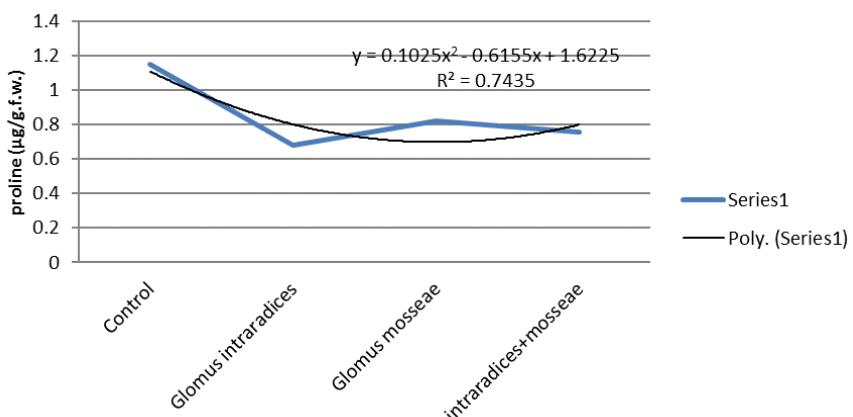
مالون‌دی‌آلدهید و پلی‌فنل‌اکسیداز نشان‌گر مؤثر بودن اقدامات تدافعی گیاه در مقابله با تنفس‌های وارد بوده و گیاه توانسته بخوبی تنفس را تحمل نموده و از آسیب به سلولهای خود جلوگیری کند، زیرا گیاهانی که دارای سطح بالاتری از آزیم‌های آنتی‌اکسیدان‌ها هستند، مقاومت بیشتری نسبت به سوپر اکسیدها نشان می‌دهند (Dionisio-Sec & Tobita, 1998). در این گیاه نوع دفاع آزیمی (حذف یا خنثی کردن حدواسط‌های اکسیژنی) (Ghorbani Ghogy & Ladan Moghaddam, 2005) مشخص نیست، اما مهار آنها توسط مکانیزم‌های دفاعی گیاه به خوبی روشن است. بررسی وضعیت آزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحت تیمار تنفس خشکی نشان داد (جدول ۳) کاتالاز، پراکسیداز و مالون‌دی‌آلدهید در تنفس خشکی قطع آبیاری در مرحله ساقه‌دهی بیشتر بودند که بالا بودن مقدار مالون‌دی‌آلدهید در این مرحله نشان‌دهنده تنفس بیشتر وارد بوده گیاه در این مرحله می‌باشد. با توجه به همبستگی مثبت بین آزیم‌های آنتی‌اکسیدان (جدول ۵) می‌توان بیان کرد افزایش برخی دیگر از آزیم‌های در سایر تنفس‌های قطع آبیاری امر طبیعی بوده و بسته به مکانیزم تولید این آزیم‌ها و شرایط محیطی، این تغییرات اتفاق می‌افتد. افزایش فعالیت آزیم پراکسیداز را در مرحله ساقه دهی را می‌توان چنین توجیه کرد که فعالیت این آزیم با دما رابطه عکس دارد و با افزایش دمای محیط در مراحل غنچه‌دهی و گلدنه، از میزان فعالیت آن کاسته شده است (Ghorbani Ghogy & Ladan Moghaddam, 2005). همچنین بالا بودن مقدار آزیم‌های آنتی‌اکسیدان در تیمارهای بدون تلقیح در ابتدا نشان‌دهنده نقش مایکوریزا در افزایش میزان جذب آب و کاهش اثرات تنفس‌های محیطی بوده و در ادامه تایید کننده تنفس وارد در شرایط بدون استفاده از کود زیستی بوده و افزایش آزیم‌های آنتی‌اکسیدان برای مقابله با تنفس می‌باشد؛ زیرا در تحقیقات مختلف مدیریت مصرف کود (Hirel1 *et al.*, 2007)، آب (Galle *et al.*, 2009) و افزایش توانایی گیاه به کم آبی (Valente *et al.*, 2008) مورد تأکید بوده است که بنظر می‌رسد با اعمال کودهای زیستی، اعمال مدیریت آب و کود

بررسی واکنش گیاه به کودهای زیستی نشان داد که به لحاظ درصد اسانس بنظر می‌رسد استفاده از ناموفق بوده و یا حداقل استفاده از این کود زیستی به تنها یی در گیاه مرزه سهندی مناسب نمی‌باشد (جدول ۴).

نتایج به دست آمده با نتایج تحقیقات Ismaeilpour (2013) همخوانی دارد، بنابراین بنظر می‌رسد با توجه به محدودیت استفاده از نهادهای 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 اکثر گیاهان دارویی از تیمارهای استراتژیک باشند.

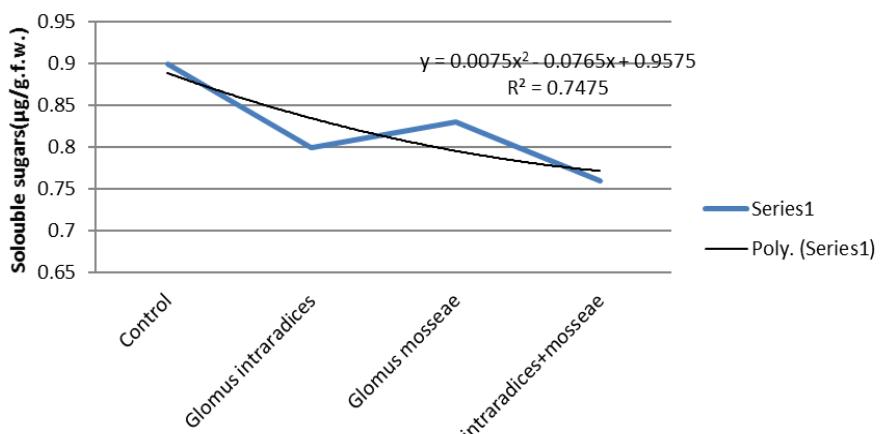
Jazizadeh در آینده می‌باشد زیرا در برخی تحقیقات (Jazizadeh & Mortezayee nejad, 2017) کاهش میزان پروتئین در اثر تنش گزارش شده است. اثرات مثبت استفاده از قارچ‌های میکوریزا در کاهش اثر سوء تنش در صفات آنزیمهای آنتی‌اکسیدانی، کلروفیل‌ها، کاروتونوئید، پرولین و قندهای محلول در جدول ۴ مشاهده می‌شود. روند تغییرات پرولین در اثر استفاده از کودهای زیستی کاهشی از نوع پلی‌نومیال درجه ۲ بوده (شکل ۱) و نشان می‌دهد که استفاده جداگانه قارچ‌های اینترا و مؤسسه بهتر از استفاده مخلوط آنها می‌باشد.

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



شکل ۱. اثر کودهای زیستی بر مقدار پرولین مرزه سهندی

Figure 1. Effect of bio fertilizers on the proline content of *Satureja sahendica* Bornm.



شکل ۲. اثر کودهای زیستی بر مقدار قندهای محلول مرزه سهندی

Figure 2. The effect of bio fertilizers on the amount of soluble sugars of *Satureja sahendica* Bornm.

نموده و ضمن جلوگیری از کاهش اندام هوایی، با افزایش درصد اسانس در شرایط تنش، عملکرد اقتصادی گیاه افزایش می‌یابد. استفاده از کودهای زیستی به صورت جداگانه ضمن افزایش تحمل پذیری گیاه به تنش خشکی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و اسمولیت‌های تنظیم‌کننده را کاهش داده و به تولید بیشتر گیاه کمک می‌نماید.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد استفاده از کودهای میکوریزا به صورت مخلوط در کشت مرزه سهندی اثر افزایشی بر درصد اسانس داشته است. در سال دوم احتمالاً به دلیل رشد زیاد گیاه و اثر عوامل محیطی از جمله تنش خشکی و نیز به دلیل تعرق زیاد از طریق سرشاخه‌های انبوه تولید شده درصد اسانس گیاه افزایش پیدا کرد. همچنین بررسی روابط بین صفات نشان داد که مسیر سنتز صفات فیزیولوژیک اندازه‌گیری شده با درصد اسانس متفاوت بوده به طوری که در بین اکثر صفات فیزیولوژیک همبستگی مثبت مشاهده شد. این درحالی بود که درصد اسانس با صفات یاد شده عدم همبستگی یا همبستگی منفی نشان داد.

همچنین با استفاده از کودهای زیستی مناسب، ضمن کاهش اثرات تنفس خشکی، به افزایش کمیت و کیفیت گیاهان کمک کرده و نسبت به تولید گیاهان دارویی طبیعی اقدام نمود. وجود همبستگی مثبت (جدول ۵) در بین اکثر صفات فیزیولوژیک نشان دهنده آن است که تولید آنها بسته به شرایط محیطی می‌تواند به سمت مثبت یا منفی از یک روند مشخصی تعییت کند یا به عبارتی مسیرهای تولید آنها کاملاً به هم مرتبط می‌باشد. به عنوان مثال اکثر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت 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 نشان دهنده اهمیت زراعی کردن و امکان شناسایی بیشتر عوامل تأثیرگذار بر افزایش درصد اسانس را نشان می‌دهد.

گیاه مرزه سهندی یکی از گونه‌های با ارزش دارویی و انحصاری، تحمل بالایی به تنش قطع آبیاری داشته و با استفاده از مکانیزم‌های افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و اسمولیت‌های تنظیم‌کننده اسمزی با خشکی مقابله

REFERENCES

1. Abbaszadeh, B. (2011). *Ecophysiological effect of salty stress on Camphorosma monspeliacum and Artemisia sieberi Bess.* Ph.D. Thesis. Faculty of Agriculture, Karaj Islamic Azad University, Iran.
2. Abbaszadeh, B., Rahmani, A., Narimani, K., Lebaschi, M. H., Shariat, A., Mirza, M., Naderi, M., Meshkizadeh, S. Jaymand, K. & Tabaei Aghdaei, S. R. (2014). Investigation effect of survival time of chemical and manure fertilizers and application of nano fertilizer on quantity and quality of *Rosa damascena* in Iran. (Final report 2-09-090-90045). *Research Institute of Forests and Rangelands.* (In Farsi)
3. Abbaszadeh, B., Sharifi ashourabadi, E., Lebaschi M. H., Naderi hajibagher Kandy, M. & 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), 504-514. (In Farsi)
4. Afsharmohammadian, M., Ghanati, F., Ahmadiani, S. & 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.
5. Akbarinia, A. & 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. (In Farsi)
6. Akbarinia, A., Sefidkon, F. & 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. (In Farsi)
7. Amini, Z., Haddad R. & Moradi. F. (2008). Effect of water deficit on the activity of antioxidant enzymes in plant reproductive development Barley. *Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 12, 46-58. (In Farsi)
8. Arazmjo, A., Heidari, M., Ghanbari, A., Siahzar, B. & 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.

9. Ardakani, M. R., Abbaszadeh, B., Sharifi Ashourabadi, E., Lebaschy, M.H., Moaveni, P. & Mohebbati, F. (2010). The effect of drought stress on growth indices of Balm (*Melissa officinalis* L.). *Plant and Ecosystem*, 5(21), 58-47.
10. Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24, 1-15.
11. Ashraf, M. Y., Azmi, A. R., Khan, A. H. & Ala, S. A. (1994). Effect of water stress on total phenols, peroxidase activity and chlorophyll content in wheat. *Acta Physiologia Plantarum*, 16(3), 185-191.
12. Auge, R. M., Stodola, A. J. W., Tims, J. E. & Saxton, A. M. (2001). Moisture retention properties of a mycorrhizal soil. *Plant and Soil*, 230, 87-97.
13. Baher Nik, Z., Mirza, M., Abbaszadeh, B. & 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. (in Farsi)
14. Bartels, D. & Sunkar R., (2005). Drought and salt tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 24, 23-58.
15. Behera, S. K. & Panda R. K. (2009). Effect of fertilization and irrigation schedule on water and fertilizer solute transport for wheat crop in a subhumid subtropical region. *Agriculture, Ecosystem & Environment*, 130, 141-155.
16. Blokhina, O., Virolainen E. & Fagerstedt K.V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*, 91, 179-194.
17. Chalker-Scott, L. (2002). Do anthocyanins function as osmoregulators in leaf tissues? *Advances in Botanical Research*, 37, 103-106.
18. Dionisio-Sese, M. L. & Tobita, S. (1998). Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science*, 135, 1-9.
19. El-Gazzar, A. & Watson, A. (1970). Taxonomic study of Labiateae and related genera. *New Phytologist*, 69, 451-486.
20. Fielding, J. L. & Hall, J. (1978). A biochemical and cytochemical study of peroxidase activity in root of *Pisum sativum*. *Journal of Experimental Botany*, 29, 981-989.
21. Fu, J. & 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.
22. Galle, A., Florez-Sarasal, I., Thameur, A., Paepe, R. D., Flexas, J. & Ribas-Carb, M. (2009). Effects of drought stress and subsequent rewetting on photosynthetic and respiratory pathways in *Nicotiana sylvestris* wild type and the mitochondrial complex I-deficient CMSII mutant. *Journal of Experimental Botany*, 61, 765-775.
23. Ghahreman, A. (1990). *Plant systematics: cormophytes of Iran*. Tehran University Publication, 736p. (in Farsi)
24. Ghorbani Ghogy H. & Ladan Moghaddam A. R. (2005). Introduction to oxidative stresses and plant strains, Dwavin, 128 p. (In Farsi).
25. Hirell, B., Gouis, J. L., Ney, B. & 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.
26. IRMO. (2016). Islamic, Republic of Iran Meteorological Organization Climatology Methods, www.IRMO.IR.
27. 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.), *Agroecology*, 5 (2), 177-169.
28. Jamzad, Z. (2009). *Thymus and Satureja species of Iran*. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, 171 p. (in Farsi)
29. 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. (in Farsi)
30. Khalafallah, A. A. & 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.
31. Koc, E., Islek, C. & Üstün, 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, 1-6.
32. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L. & Randall R. J. (1955). Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal Biology Chemistry*, 193, 265-276.
33. Marschner, H. & Dell, B. (1994). Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil*, 159(1), 89-102.

34. Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 9, 405- 410.
35. Mittler, R., Vanderauwera S., Gollery M. & Breusegem F.V. (2004). Reactive oxygen gene Net work of plants. *Trends in Plant Science*, 9, 490-498.
36. Pereira, G. J. G., Milina, S. M. G., Lea, P. J. & Azevido, R. A. (2002). Activity of antioxidant enzymes in response to cadmium in *Crotalaria juncea*. *Plant and Soil*, 239, 123-132.
37. Razavizadeh, R., Shafeqhat, M. & Najafi, Sh. (2014). Effect of water deficit on morphological and physiological parameters of *Carum copiticum*. *Iranian Journal of Plant Biology*, 6th Year, 22 (10), 15-24. (in Farsi)
38. Rechinger, KH. (1982). *Satureja in Flora Iranica*. Akademische Druck-u Verlagsanstalt, Graz.
39. Rios-Gonzalez, K., Erdei, L. & 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, 923-930.
40. Sefidkon, F. & 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.
41. Sefidkon, F., Jamzad, Z. & Mirza, M. (2004). Chemical variation in the essential oil of *Satureja sahendica* from Iran. *Food Chemistry*, 88, 325-328.
42. Sharma, A. K. (2002). *Biofertilizers for sustainable agriculture*. AgroBios. India. 300p.
43. Shehab G. G., Ahmed, O. K. & 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, 139-148.
44. Smith, S. E. & Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal symbiosis*. (3rd ed.). Academic Press, London.
45. Soltanpour, P. N., Workman, S. M. & Schwab, A. P. (1979). Use of inductively- coupled plasma spectrometry for the simultaneous determination of macro and micro-nutrients in NH₄HCO₃-DTPA extracts of soils. *Agronomy Soil Science Society of America Journal*, 43, 75-78.
46. Tabatabaei raisi, A., Khaligi, A., Kashi, A., Asnaashari, S., Bamdad mogadam, S. & Delazar, A. (2007). Antioxidant activity and Chemical compositions of essential oil of aerial parts of *Satureja sahendica* Bornm. *Pharmaceutical Sciences*, 3, 1-6.
47. Turkan, I., Bor, M., Ozdemir, F., & 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, 223-231.
48. Valente, M. A. S., Faria, J. A., Soares-Ramos, J. R. L., Reis, P. A. B., Pinheiro1, 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., & Fontes E. P. B. (2008). The ER luminal binding protein (BiP) mediates an increase in drought tolerance in soybean and delays droughtinduced leaf senescence in soybean and tobacco. *Journal of Experimental Botany*, 60, 533-546.
49. Wahing, I., Van, W., Houba, V.J.G. & Van der lee, J.J. (1989). *Soil and plant analysis, a series of syllabi*. Part 7, plant analysis procedure. Wageningen Agriculture University, The Netherlands.
50. Zargari, A. (1982). *Medicinal herbs*. University of Tehran Press. Tehran. (in Farsi)