DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.12.2
مقاله پژوهشی

تاثیر کودهای زیستی و شیمیایی بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و فعالیت چند آنزیم آنتی‌اکسیدانتی گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) در شرایط تنش کم‌آبی

مهدی پارسا*، رضا کمائی و بهناز یوسفی

ایران، مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، گروه زراعت و اصلاح نباتات

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۱۴

چکیده

به منظور بررسی اثر رژیم‌های مختلف آبیاری و ترکیبات مختلف کودی بر برخی از صفات مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita*)، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در سال زراعی ۹۷-۹۶، در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا گردید. فاکتورها شامل سطوح مختلف رژیم‌های آبیاری در سه سطح ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (FC)، ۷۵ درصد ظرفیت زراعی (FC) و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی (FC) و ۶ نوع کودهای مختلف زیستی و شیمیایی شامل: ۱-کود زیستی باکترایی NPK+NPP، ۲- کود زیستی باکترایی NPP ، ۳-NPK، ۴-کود ریزمغذی (MIC)، ۵-MIC + کود آمینه اسید (AP) بود. نتایج نشان داد که اثر متقابل رژیم آبیاری و کودهای مختلف زیستی فقط روی پرولین در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. بیشترین میزان پرولین (به‌میزان ۰/۲۲ میلی گرم بر گرم وزن تر) در تیمار آبیاری ۵۰ درصد FC و تیمار کودی NPK بدست آمد. همچنین نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثرات اصلی رژیم‌های آبیاری و انواع مختلف کودی روی شاخص‌های کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئید، مجموع کلروفیل، آنزیم آسکوربات، کاتالاز، پراکسیداز و درصد اسانس معنی‌دار بود. بیشترین میزان کلروفیل a (۲/۵۲ گرم در گرم وزن تر)، کلروفیل b (۱/۳۲ گرم در گرم وزن تر)، کارتنوئید (۰/۵۷ گرم در گرم وزن تر) و مجموع کلروفیل (۴/۴ گرم در گرم وزن تر) در تیمار آبیاری ۱۰۰ درصد FC و تیمار کودی ترکیبی NPK+NPP، بیشترین میزان آنزیم آسکوربات (۰/۳۲ تغییرات جذب در دقیقه در میلی گرم پروتئین)، کاتالاز (۰/۲ تغییرات جذب در دقیقه در میلی گرم پروتئین)، پراکسیداز (۰/۶۹ تغییرات جذب در دقیقه در میلی گرم پروتئین) در تیمار آبیاری ۵۰ درصد FC و تیمار شاهد و بیشترین میزان درصد اسانس (۲/۰۹ درصد) را در تیمار آبیاری ۵۰ درصد FC و تیمار کودی ترکیبی NPK+NPP، دارا بود. نتایج گویای آن است که کاربرد ترکیبی کودهای زیستی و شیمیایی (NPK+NPP) نسبت به استفاده تنها از کودهای شیمیایی، برتری نسبی دارد. زیرا عناصر ماکرو مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم به میزان کافی و به تدریجی در اختیار گیاه قرار می‌گیرد که باعث می شود با تامین متعادل عناصر غذایی مورد نیاز گیاه و تامین انرژی کافی برای رشد و بقای گیاه از شدت تنش در گیاه بکاهد و با توجه به کاهش شدت تنش میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانتی نیز کاهش پیدا کرده است.

واژه های کلیدی: آسکوربات، کاتالاز، پراکسیداز، مجموع کلروفیل، ظرفیت زراعی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۵۵۱۷۴۱۹۵ ، پست الکترونیکی: parsa@ferdowsi.um.ac.ir

مقدمه

رویکرد روزافزون به استفاده از گیاهان دارویی در سطح جهان، اهمیت کشت و تولید این گیاهان را روشن‌تر می‌سازد. در حال حاضر تقاضا برای گیاهان دارویی به‌عنوان تولیدات قابل مصرف در صنایع بهداشتی و دارویی در حال افزایش است (۵۶). از میان گیاهان دارویی، نعناع فلفلی (با نام علمی *Mentha piperitia* L. متعلق به خانواده Lamiaceae) از جمله گیاهان دارویی و معطر است که اسانس آن مصارف دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.12.2

دارد. مهم‌ترین ماده شیمیایی نعناع فلفلی اسانس آن است (بیش از ۱/۵ درصد) که از ۲۰ نوع ماده مختلف تشکیل شده است. ترکیبات اصلی اسانس نعناع فلفلی را منتول (۳۵ تا ۵۵ درصد)، منتون (۱۰ تا ۴۰ درصد) و متیل‌استات (۱ تا ۳ درصد) تشکیل می‌دهند (۱۵).

از طرفی، خشکی شایع‌ترین تنش محیطی است که به طور تقریبی موجب محدودیت تولید در ۲۵ درصد زمین‌های دنیا شده است و پراکنش گیاهان تا حدود زیادی متاثر از آب می‌باشد. در نتیجه از میان عوامل محیطی تنش‌زا، خشکی به عنوان دومین عامل اصلی کاهش عملکرد، بعد از عوامل بیماری‌زایی اثرگذار می‌باشد (۱۳). به طور کلی گیاهان به وسیله راهکارهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی تکامل پیدا کرده‌اند تا بتواند تنش خشکی را تحمل کنند. با توجه به محدودیت منابع آب، شناسایی و کاشت گیاهان مقاوم به خشکی با پتانسیل عملکرد بالا از اهمیت زیادی برخوردار است. گیاهان در طول دوره رشد در معرض انواع تنش‌های زنده (آفات و بیماری) و تنش‌های غیر زنده (خشکی، شوری و گرما) قرار داشته که آنها را وادار به واکنش فیزیولوژیک می‌نماید (۵۴). از نقطه نظر زراعی، تنش خشکی شرایطی است که آب از نظر مقدار و توزیع به اندازه‌ای نیست تا گیاه بتواند عملکرد بالقوه خود را تولید کند و این پدیده موجب آسیب به گیاه و محدودیت در بروز پتانسیل ژنتیکی عملکرد می‌شود (۱۴). تغییرات صفات فیزیولوژیکی از مهم‌ترین مکانیسم‌ها برای سازگاری گیاه به شرایط تنش خشکی است (۳۳).

علیرغم مطالعات گسترده‌ای که در مورد تاثیر تنش‌های محیطی بر رشد و عملکرد گیاهان زراعی انجام شده، اطلاعات در مورد واکنش گیاهان دارویی به این تنش‌ها، اندک می‌باشد. حسنی و امیدبیگی (۱) اظهار داشتند که تنش آبی اثر معنی‌داری بر رشد، عملکرد، مقدار کلروفیل و اسانس ریحان داشت. با کاهش مقدار آب خاک، شاخص‌هایی چون ارتفاع بوته، تعداد و سطح برگ‌ها، وزن تر و خشک برگ‌ها، ساقه و ریشه‌ها و عملکرد اسانس کاهش یافت.

خشکی باعث شکسته شدن کلروپلاست‌ها و کاهش میزان کلروفیل می‌گردد. گیاهانی که حساسیت بیشتری به خشکی دارند کمپلکس کلروفیل-پروتئین و لیپید آن‌ها ناپایدار می‌باشد. در اثر خشکی، تشکیل پلاستیدهای جدید، کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتن، ویولوگزانتین و نئوگزانتین کاهش می‌یابد و نسبت کلروفیل a به کلروفیل b تغییر می‌کند (۴۲). همچنین گزارش شده است کاهش شدید رنگدانه‌ها در سطوح بالای تنش آبی، ممکن است به دلیل کاهش انتقال مواد معدنی و آب ضروری برگ‌ها در اثر کاهش مکش ناشی از تعرق در آوند چوب و افزایش تنش اکسیداتیو ناشی از ROS در سلول‌های برگی و تجزیه این رنگدانه‌ها باشد (۲). کاهش محتوای کلروفیل تحت تنش خشکی در زیتون (*Olea europaea*)، لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) و گندم (*Triticum aestivum*) گزارش‌شده است (۱۲).

افزایش پرولین در شرایط تنش خشکی، به‌عنوان یک پاسخی دفاعی گیاه به تنش خشکی مطرح است. تجمع زیاد پرولین در سلول‌های تحت تنش سبب محافظت از سلول در شرایط تنش و همچنین جلوگیری از ایجاد سمیت در سلول می‌شود (۵۵). پرولین همچنین در حفظ ساختار غشا، ایجاد سازگاری اسمزی و حفظ ساختار آنزیم‌ها در سلول، ایفای نقش می‌کند (۵۵). در بررسی که بر روی گیاه آهوماش ژاپنی Lotus japonicas صورت گرفت افزایش میزان پرولین در شرایط تنش خشکی و شوری تایید شد (۱۷). همچنین گزارش شده است تنش کمبود آب غلظت پرولین و پروتئین‌های محلول را در برگ‌های نخود افزایش داد به‌طوری‌که غلظت پروتئین‌های محلول در برگ‌ها تا ۴۳ درصد در مقایسه با تیمارهای شاهد افزایش یافت (۳۸).

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.12.2

اولین سد دفاعی در مقابله با افزایش ROS در سلول‌های گیاهان را آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز تشکیل می‌دهند. بنابراین افزایش فعالیت این آنزیم‌ها سبب افزایش پتانسیل دفاعی گیاه در مقابل تنش‌های محیطی می شود که این امر در جهت کاهش اثر منفی ROSها تحت تنش خشکی منطقی است و میزان تحمل به خشکی را درگیاهانی مانند گندم و نخود (*Cicer arietinum*) افزایش می‌دهد (۲۲). سوپراکسید دیسموتاز در پاک‌سازی سوپراکسید و تبدیل آن به پراکسید هیدروژن نقش دارد (۵). افزایش فعالیت پراکسیداز تحت تنش آب در اندامک‌ها از قبیل سیتوزول، میتوکندری، کلروپلاست و پراکسی‌زوم نشان‌دهنده شکل‌گیری بخش زیادی پراکسیدهیدروژن در طول تنش آبی است (۵). ارقام مقاوم به تنش‌های محیطی، سازوکارهایی برای مقابله با افزایش شدید ROSها دارند که یکی از این راه‌کارها تجزیه و پاک‌سازی سریع گونه‌های واکنش‌دهنده اکسیژن در سلول‌ها است (۲).

از طرفی عوامل محیطی و شرایط کشت خصوصاً نوع و میزان کود و یا نوع خاک می‌تواند اثرات آشکاری بر رشد، عملکرد، کیفیت و ترکیب شیمیایی گیاهان داشته باشد. یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی مؤثر در کمیت و کیفیت گیاهان دارویی تغذیه است. کمیت و کیفیت کود مناسب گیاهان اثرات مثبت زیادی بر اجتناب از کاربرد غیر ضروری و بیش از اندازه عناصر غذایی دارد که باعث کاهش هزینه‌های تولید می‌شود و این امر می‌تواند به عنوان راهکاری برای کشاورزی پایدار در نظر گرفته شود (۴۴ و ۴۵).

از سوی دیگر این مسئله که افزایش عملکرد و کیفیت محصولات کشاورزی منجر به استفاده بیش از حد کودهای شیمیایی شده و آلودگی‌های زیست‌محیطی جدی را ایجاد کرده است، استفاده از کودهای مفید مثل کودهای زیستی یا بیولوژیک می‌تواند در بهبود استفاده از عناصر غذائی موجود در خاک و تحریک رشد گیاهی نقش مهمی داشته و جانشین مناسبی برای افزایش تولید با کمترین اثرات اکولوژیکی باشد (۲۶).

کودهای زیستی علاوه بر افزایش فراهمی زیستی عناصر خاک از طریق تثبیت زیستی نیتروژن، محلول کردن فسفر و پتاسیم و مهار عوامل بیماری‌زا، با تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه باعث افزایش عملکرد گیاهان زراعی می‌شوند (۲۳). در برخی موارد مشاهده شده است که حتی در سطوح و مقادیر کافی کودهای نیتروژنی، تلقیح گیاهان با عوامل زیستی موجب افزایش رشد و نمو گیاهان شده است که در این صورت احتمالاً وجود مکانیسم‌های دیگری به غیر از تثبیت نیتروژن، از جمله مواد تنظیم‌کننده رشد مانند اکسین علت افزایش رشد گیاه بوده است (۴۳). هم‌چنین محققین در مورد تأثیر کودهای زیستی روی گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) اعلام نمودند که با کاربرد کودهای زیستی تریکودرما مقدار اسانس افزایش پیدا کرده است (۲۳). رای و همکاران (۴۳) نیز گزارش کردند که طول ریشه و ساقه، وزن، اندازه سطح برگ و تولید بذر در گیاهان دارویی در حضور عوامل زیستی افزایش می‌یابد.

از آنجایی که تنش خشکی به عنوان یکی از عوامل محدودکننده در تولیدات گیاهی مطرح است، بنابراین مقابله با اثرات مخرب این تنش به روش‌های مختلف از جمله استفاده از کودهای زیستی دارای اهمیت بسیار زیادی می‌باشد. این کودها دارای کارایی بالایی در تعدیل اثرات منفی برخی از تنش‌ها هستند. بنابراین هدف از انجام این تحقیق بررسی تاثیر کودهای زیستی باکتریایی، آمینه‌اسید و شیمیایی بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی گیاه نعناع فلفلی در شرایط تنش کم‌آبی بود.

مواد و روشها

این آزمایش در سال ۱۳۹۶ به‌صورت فاکتوریل در قالب

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.12.2

طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط کنترل‌شده در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. ریزوم‌های نعناع فلفلی از مزرعه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شد. گلدان‌های مورد استفاده از نوع پلاستیکی، با قطر دهانه ۱۹ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر و گنجایش ۵ کیلوگرم با بستر کاشت مخلوط ماسه و خاک مزرعه با نسبت وزنی ۱:۱ به وزن ۴ کیلوگرم پر و در هر گلدان دو عدد ریزوم کشت شد. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در جدول ۱ ارایه شده است. گلخانه مجهز به سیستم هواشناسی هوشمنده بوده و هر یک از واحدهای گلخانه از لحاظ درجه حرارت، رطوبت‌نسبی، دی‌اکسید کربن و نور به طور مستقل و خودکار قابل کنترل و برنامه‌ریزی می‌باشد. در گلخانه شرایط رشد از جمله دمای روز و شب (با استفاده از ترموستات دیجیتالی و دمای کمینه و بیشینه گلخانه ۲۲ و ۳۸ درجه سانتی‌گراد)، شدت و کیفیت نور (چراغ LED دار مخصوص رشد گیاه و به خاطر روز بلند بودن گیاه و همچنین کشت در آذر ماه در طول شب به مدت سه ساعت در روشنایی رشد کردند) و رطوبت نسبی (دستگاه رطوبت‌سنج دیجیتالی و رطوبت نسبی ۶۸ تا ۷۹ درصد) در حد مطلوب حفظ شد. عوامل آزمایشی شامل رژیم آبیاری در سه سطح ظرفیت زراعی (۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد) و کودهای مختلف زیستی و شیمیایی شامل: ۱- کود زیستی باکتریایی ترکیبی (NPP) (نیترو باکتر (میکروارگانسیم‌های تثبیت کننده نیتروژن) + فسفوپاور باکتر (باکتری‌های حل کننده فسفات) + پتاپاور باکتر(میکروارگانیسم‌های حل کننده پتاسیم))، ۲- کود شیمیایی NPK (۲۰-۲۰-۲۰)، ۳-ترکیب کود زیستی باکتریایی ترکیبی و کود شیمیایی NPK (NPP+NPK)، ۴- کودهای ریز مغذی (به‌صورت سوسپانسیون محلول که شامل آهن، منگنز، روی، مس، بر، مولیبدات، کبالت، سیلیسیوم، سولفور و ویتامین‌ها می‌باشد) (mic)، ۵-ترکیب کود ریز مغذی و کودهای اسید آمینه (mic+AP) و ۶- شاهد بود. مقدار مصرف کودهای زیستی باکتریایی مطابق دستور استفاده، هر کدام به‌میزان ۲ سی‌سی در لیتر آب در هر گلدان مورد استفاده قرار گرفت. همچنین مقدار مصرف ریز مغذی‌ها و کود آمینه اسید میزان ۲ سی‌سی در لیتر آب بود. اعمال کودها در طی دو مرحله (در اوایل کاشت و ۸ هفته پس از کاشت) صورت پذیرفت. کودها از شرکت دانش بنیان خوشه‌پروران زیست فناور تهیه شد.همچنین به میزان ۴۰ تن در هکتار کود دامی به بستر کاشت اضافه شد. اعمال تیمارهای رژیم آبی بر اساس روش وزنی بود. به‌طوری‌که ابتدا در کف هر کدام از گلدان‌ها به مقدار مساوی سنگ‌ریزه (جهت انجام زهکشی) ریخته شد و با استفاده از ترازو به‌صورت هم وزن از خاک پر شدند (در داخل هر گلدان ۴ گیلوگرم خاک). سپس با افزودن آب، خاک هر گلدان را به درجه اشباع رسانده و به‌مدت ۴۸ ساعت روی سطح مشبک قرار داده شد تا هر گلدان پس از زهکشی آب اضافی به ظرفیت زراعی برسد. در این مرحله گلدان‌ها به‌سرعت وزن شده و خاک آنها در دمای ۱۰۵ درجه به‌مدت ۴۸ ساعت کاملا خشک گردید. در ادامه پس از مشخص شدن درصد وزنی رطوبت خاک در ظرفیت زراعی مزرعه، میزان رطوبت موجود در خاک برای اعمال تیمارهای رطوبتی مختلف مشخص شده تا با توزین رزوانه گلدان، کسری آب محاسبه و مقدار آب مورد نیاز به گلدان‌ها اضافه گردید. در طول دوره رشد به منظور دست یابی به میزان رطوبت قابل‌دسترس موجود در هر گلدان، از دستگاه TDR (Time Domain Reflectometer) مورد استفاده قرار گرفت. به این طریق که لوله دستگاه را در عمق ۱۰ سانتی‌متری خاک گلدان قرار داده و میزان رطوبت قابل‌دسترس قرائت شد. زمان اعمال تنش خشکی و کودهای مختلف بعد از استقرار و سبز شدن گیاه نعناع فلفلی اعمال گردید.

جهت بررسی ویژگی‌های فیزیولوژیک، آنزیمی و بیوشیمیایی نمونه‌گیری از جوان‌ترین برگ‌های کاملا توسعه یافته در زمان برداشت انجام شد.

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.12.2

برای استخراج و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، بافت برگ داخل هاون حاوی ازت مایع پودر گردیده و سپس استخراج آنزیمی به روش سایرام و همکاران (۴۶) انجام گردید. برای استخراج آنزیم کاتالاز ۰/۵ گرم پودر در ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار سرد (اسیدیته ۷/۵) حاوی ۰/۵ میلی‌مول EDTA به هم زده شد. برای استخراج آسکوربات پراکسیداز ۰/۵ گرم پودر در ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار سرد (اسیدیته ۷) حاوی ۰/۵ میلی‌مول اسید آسکوربیک به هم زده شد. مواد نامحلول توسط سانتریفیوژ یخچال‌دار سیگما مدل ۳–K۱۸ با ۱۲۰۰۰ جی به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد جدا شد و محلول بالایی به عنوان منبع برای استخراج آنزیم‌ها استفاده شد.

آنزیم آسکوربات پراکسیداز طبق روش ناکانو و آسادا (۳۹) اندازه‌گیری گردید. ۳ میلی‌لیتر محلول واکنش آسکوربات پراکسیداز شامل ۵۰ میلی‌مول بافر فسفات (اسیدیته ۷)، ۰/۵ میلی‌مول اسید آسکوربیک، ۰/۱ میلی‌مول H_2O_2 و ۱۰۰ میکرولیتر آنزیم استخراجی بود. فعالیت APX با کاهش جذب اسید آسکوربیک طی ۱ دقیقه در ۲۹۰ نانومتر محاسبه شد. ۱ واحد APX به عنوان مقدار آنزیم لازم گرفته شد. فعالیت آنزیم کاتالاز به روش چانس و مهلی (۱۹) اندازه‌گیری شد. ۳ میلی‌لیتر محلول واکنش کاتالاز شامل ۱۵ میلی‌مول H_2O_2، ۵۰ میلی‌مول بافر فسفات (اسیدیته ۷) و ۱۰۰ میکرولیتر آنزیم استخراجی بود. واکنش با افزودن آنزیم شروع گردید و کاهش جذب H_2O_2 در طی ۱ دقیقه در ۲۴۰ نانومتر ثبت گردید. یک واحد کاتالاز به عنوان مقدار آنزیم لازم برای اکسید کردن ۱ میلی‌مول H_2O_2 در دقیقه در نظر گرفته شد. همچنین جهت اندازه‌گیری آنزیم پراکسیداز به روش چنس و مهلی (۱۹)، اندازه‌گیری بر اساس میزان اکسید شدن گایکول توسط این آنزیم انجام می‌گیرد. در این روش ۳۳ میکرولیتر از عصاره استخراج را با یک میلی‌لیتر از محلول پراکسیداز که شامل ۱۳ میلی‌مولار گوایکول، ۵ میلی‌مولار بافر فسفات پتاسیم (اسیدیته ۸) است مخلوط نموده و به مدت یک دقیقه با فواصل ۱۰ ثانیه در طول موج ۴۷۰ نانومتر جذب آن خوانده شد. برای ساختن ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم، ۳۹ میلی‌لیتر فسفات پتاسیم مونو بازیک ۵۰ میلی‌مولار را با ۶۱ میلی‌لیتر فسفات پتاسیم دی بازیک ۵۰ میلی‌مولار ترکیب شد.

جهت اندازه‌گیری پرولین، میزان ۱۰۰ میلی‌گرم نمونه برگ تازه در میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری با استفاده از هموژنایزر در یک میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک هموژنایز شد. با استفاده از سانتریفیوژ ۳۰۰۰ جی در پنج دقیقه مواد جامد نامحلول جدا شد و به میزان ۲۰۰ میکرولیتر از محلول شفاف بالایی جدا شد و به آن ۲۰۰ میکرولیتر ناین هیدرین و ۲۰۰ میکرولیتر اسید استیک گلاسیال اضافه شد. ۵ میلی‌گرم ناین هیدرین با میزان ۸۰۰ میکرولیتر اسید فسفریک و ۱۲۰ میکرولیتر اسیداستیک به منظور تهیه معرف ناین هیدرین مخلوط شد. سپس در میزان جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد (۱۱).

در این آزمایش به‌منظور اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی از روش آرنون (۱۰) اندازه‌گیری شد. برای این منظور ۱۰۰ میلی‌گرم برگ تازه از برگ‌های جوان کاملاً توسعه‌یافته استفاده و رنگ‌دانه‌ها با استفاده از اتانول ۹۶ درصد استخراج شد. میزان جذب با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول‌موج‌های ۴۷۰،۶۴۸ و ۶۶۴ نانومتر انجام شد. بر اساس معادله‌های زیر غلظت کلروفیل‌های a و b و کاروتنوئیدها محاسبه گردید. به‌منظور اندازه‌گیری غلظت رنگ‌دانه‌ها از جمع غلظت کلروفیل و کاروتنوئیدهای برگ استفاده شد. همچنین نسبت کلروفیل a به b نیز محاسبه گردید.

معادله ۱: $Chla=13.36\times A664-5.19\times A648$

معادله ۲: $Chlb=27.43\ A648-8.12\ A664$

معادله ۳:

$C(x+c)=(1000\times A470-2.13\times Ca-97.64\times Cb)/209$

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.12.2

جهت اسانس‌گیری نمونه ها، مقدار ۳۰ گرم از نمونه خشک شده و پودر شده را همراه با ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر درون بالن دستگاه کلونجر ریخته و اسانس‌گیری انجام شد و در نهایت جهت جداسازی آب از اسانس از NA_2SO_4 استفاده شد.

تجزیه‌های آماری بر اساس مدل آماری طرح‌های مورد استفاده توسط نرم‌افزار SAS 9.1 انجام شد. مقایسه میانگین‌های هر صفت با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت. همچنین برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

جدول ۱-خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

Chemical and physical characteristics of soil for experimental site

بافت خاک	نیتروژن (ppm)	فسفر (ppm)	پتاسیم (ppm)	اسیدیته	هدایت الکتریکی EC (dS/m)	OC (%)
شنی لومی	1200	20.5	133	7.92	1.2	1.30

نتایج

کلروفیل a: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی آبیاری و مصرف کودهای مختلف بر روی کلروفیل a در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. ولی اثر متقابل آنها معنی‌دار نبود (جدول ۲). نتایج بدست آمده از جدول مقایسه میانگین نشان داد با افزایش سطح تنش خشکی میزان کلروفیل a کاهش یافت. بیشترین میزان کلروفیل a در رژیم آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی میزان ۲/۲۵ گرم در گرم وزن تر و کمترین آن در رژیم آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی به میزان ۱/۸۳ گرم در گرم وزن تر گزارش شد. همچنین در این آزمایش تفاوت معنی‌داری در طی استفاده از کودهای مختلف بر میزان کلروفیل a مشاهده شد. بیشترین میزان کلروفیل a نعناع فلفلی در تیمار ترکیبی NPK+NPP به میزان ۲/۲۶ گرم در گرم وزن تر و کمترین میزان کلروفیل a را تیمار شاهد بدون کود به میزان ۱/۶۷ گرم در گرم وزن تر مشاهده شد (جدول ۳).

کلروفیل b: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی آبیاری در سطح ۵ درصد و مصرف کودهای مختلف بر روی کلروفیل b در سطح یک درصد معنی‌دار بود. ولی اثر متقابل آنها معنی‌دار نبود (جدول ۲). نتایج بدست آمده از جدول مقایسه میانگین نشان داد با افزایش سطح تنش خشکی میزان کلروفیل b کاهش یافت. بیشترین میزان کلروفیل b در رژیم آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی میزان ۱/۰۱ گرم در گرم وزن تر و کمترین آن در رژیم آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی به میزان ۰/۷۴ گرم در گرم وزن تر گزارش شد. همچنین در این آزمایش تفاوت معنی‌داری در طی استفاده از کودهای مختلف بر میزان کلروفیل b مشاهده شد. بیشترین میزان کلروفیل b نعناع فلفلی در تیمار ترکیبی NPK+NPP به میزان ۱/۱۶ گرم در گرم وزن تر و کمترین میزان کلروفیل b را تیمار شاهد بدون کود به میزان ۰/۶۳ گرم در گرم وزن تر مشاهده شد (جدول ۳).

کاروتنوئید: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی آبیاری در سطح یک درصد و مصرف کودهای مختلف بر روی کاروتنوئید در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. ولی اثر متقابل آنها معنی‌دار نبود (جدول ۲). نتایج بدست آمده از جدول مقایسه میانگین نشان داد با افزایش سطح تنش خشکی میزان کاروتنوئید کاهش یافت. بیشترین میزان کارتنوئید در رژیم آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی میزان ۰/۴۹ گرم در گرم وزن تر و کمترین آن در رژیم آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی به میزان ۰/۳۶ گرم در گرم وزن تر گزارش شد. همچنین در این آزمایش تفاوت معنی‌داری در طی استفاده از کودهای مختلف بر میزان کاروتنوئید مشاهده شد. بیشترین میزان کاروتنوئید نعناع فلفلی در تیمار ترکیبی NPK+NPP به میزان ۰/۴۸ گرم در گرم وزن تر و کمترین میزان کاروتنوئید را تیمار

مقاله پژوهشی
DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.12.2

شاهد بدون کود به میزان ۰/۳۵ گرم در گرم وزن تر مشاهده شد (جدول ۳).

نسبت کلروفیل a/b: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی آبیاری و مصرف کودهای مختلف و همچنین اثر متقابل آنها بر روی نسبت کلروفیل a/b معنی‌دار نبود.(جدول ۲). در این بین طبق جدول مقایسه میانگین، بیشترین نسبت کلروفیل a/b را تیمار آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی و کود NPK به میزان ۲/۸۷ دارا بود.

جدول ۲-تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی نعناع فلفلی تحت رژیم‌های مختلف آبیاری و ترکیبات مختلف کود

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات									
		کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئید	نسبت a/b	مجموع کلروفیل	پرولین	آسکوربات	کاتالاز	پراکسیداز	درصد اسانس
خشکی	2	0.78*	0.33*	0.07**	0.25ns	2.97**	0.09**	0.069**	0.01**	0.87**	1.26**
کود	5	0.41*	0.26**	0.02*	0.72ns	1.5**	0.003**	0.009**	0.009**	0.01**	0.23**
خشکی × کود	10	0.02ns	0.008ns	0.0008ns	0.087ns	0.03ns	0.0005*	0.001ns	0.002ns	0.002ns	0.04ns
خطا	36	0.16	0.069	0.009	0.51	0.28	0.0002	0.001	0.0001	0.001	0.046
ضریب تغییرات		20.03	30.2	22.6	29.01	16.05	19.2	11.5	11.4	15.3	15.7

**، * و ns به‌ترتیب بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و عدم تفاوت معنی‌دار می‌باشند

جدول ۳-مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیکی نعناع فلفلی تحت رژیم‌های مختلف آبیاری و ترکیبات مختلف کود

		کلروفیل a (گرم در گرم وزن تر)	کلروفیل b (گرم در گرم وزن تر)	کاروتنوئید (گرم در گرم وزن تر)	نسبت a/b	مجموع کلروفیل(گرم در گرم وزن تر)	پرولین (میلی گرم بر گرم وزن تر)	آسکوربات (تغییرات جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)	کاتالاز (تغییرات جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)	پراکسیداز (تغییرات جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)	درصد اسانس (٪)
رژیم آبیاری	۱۰۰	2.25a	1.01a	0.49a	2.38a	3.75a	0.05c	0.11c	0.08c	0.16c	1.12c
	۷۵	1.98ab	0.85ab	0.41b	2.41a	3.24b	0.13b	0.18b	0.1b	0.39b	1.34b
	۵۰	1.83b	0.74b	0.36b	2.6a	2.95b	0.19a	0.23a	0.13a	0.60a	1.64a
کود	C	1.67b	0.63b	0.35b	2.7a	2.6c	0.13a	0.22a	0.16a	0.43a	1.11c
	NPK	2.19a	0.79b	0.46a	2.84a	3.4ab	0.14a	0.16bc	0.09c	0.37bc	1.48ab
	NPK+NPP	2.26a	1.16a	0.48a	2.12a	3.9a	0.1b	0.14c	0.08c	0.34c	1.57a
	NPP	2.1a	0.89b	0.45a	2.53a	3.4ab	0.1b	0.14c	0.07c	0.35c	1.28bc
	MIC	2.01ab	0.85b	0.39ab	2.39a	3.2b	0.14a	0.193ab	0.12b	0.41ab	1.35ab
	MIC+AP	1.88ab	0.9b	0.41ab	2.19a	3.1b	0.146a	0.19a	0.12b	0.41ab	1.41ab

میانگین های مربوط به سطوح هر عامل اصلی که دارای حداقل یک حرف مشترک باشند اختلاف معنی‌داری ندارند

مجموع کلروفیل: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی آبیاری و مصرف کودهای مختلف بر روی مجموع کلروفیل در سطح یک درصد معنی‌دار بود. ولی اثر متقابل آنها معنی‌دار نبود (جدول ۲). نتایج بدست آمده از جدول مقایسه میانگین نشان داد با افزایش سطح تنش خشکی میزان مجموع کلروفیل کاهش یافت. بیشترین میزان مجموع کلروفیل در رژیم آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی میزان ۳/۷۵ گرم در گرم وزن تر و کمترین آن در رژیم آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی به میزان ۲/۹۵ گرم در گرم وزن تر گزارش شد. همچنین در این آزمایش

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.12.2

تفاوت معنی‌داری در طی استفاده از کودهای مختلف بر میزان مجموع کلروفیل مشاهده شد. بیشترین میزان مجموع کلروفیل نعناع فلفلی در تیمار ترکیبی NPK+NPP به میزان ۳/۹ گرم در گرم وزن تر و کمترین میزان مجموع کلروفیل را تیمار شاهد بدون کود به میزان ۲/۶ گرم در گرم وزن تر مشاهده شد (جدول ۳).

آسکوربات پراکسیداز: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی آبیاری و مصرف کودهای مختلف بر روی آسکوربات پراکسیداز در سطح یک درصد معنی‌دار بود. ولی اثر متقابل آنها معنی‌دار نبود (جدول ۲). نتایج بدست آمده از جدول مقایسه میانگین نشان داد با افزایش سطح تنش خشکی میزان آسکوربات پراکسیداز افزایش یافت. در این افزایش بین هر سه تیمار خشکی تفاوت معنی‌داری وجود داشت. بیشترین میزان آسکوربات پراکسیداز در رژیم آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی میزان ۰/۲۳ تغییرات جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین و کمترین آن در رژیم آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به میزان ۰/۱۱ تغییرات جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین گزارش شد. همچنین در این آزمایش تفاوت معنی‌داری در طی استفاده از کودهای مختلف بر میزان آسکوربات پراکسیداز مشاهده شد. بیشترین میزان آسکوربات پراکسیداز نعناع فلفلی در تیمار شاهد بدون کود به میزان ۰/۲۲ تغییرات جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین و کمترین میزان آسکوربات پراکسیداز را تیمار NPP و تیمار ترکیبی NPP+NPK به میزان ۰/۱۴ تغییرات جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین مشاهده شد (جدول ۳).

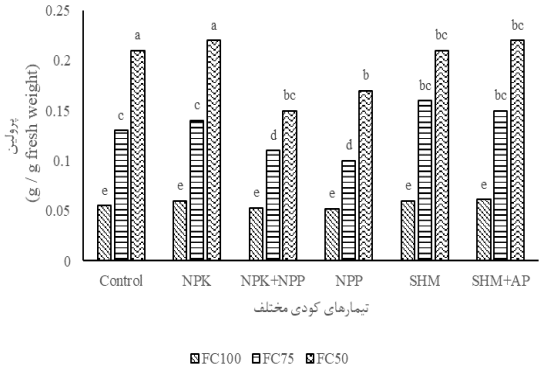
پراکسیداز: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی آبیاری و مصرف کودهای مختلف بر روی پراکسیداز در سطح یک درصد معنی‌دار بود. ولی اثر متقابل آنها معنی‌دار نبود (جدول ۲). نتایج بدست آمده از جدول مقایسه میانگین نشان داد با افزایش سطح تنش خشکی میزان پراکسیداز افزایش یافت. در این افزایش بین هر سه تیمار خشکی تفاوت معنی‌داری وجود داشت. بیشترین میزان پراکسیداز در رژیم آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی میزان ۰/۶ تغییرات جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین و کمترین آن در رژیم آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به میزان ۰/۱۶ تغییرات جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین گزارش شد. همچنین در این آزمایش تفاوت معنی‌داری در طی استفاده از کودهای مختلف بر میزان پراکسیداز مشاهده شد. بیشترین میزان پراکسیداز نعناع فلفلی در تیمار شاهد بدون کود به میزان ۰/۴۳ تغییرات جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین و کمترین میزان کاتالاز را تیمار ترکیبی NPK+NPP به میزان ۰/۳۴ تغییرات جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین مشاهده شد (جدول ۳).

کاتالاز: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی آبیاری و مصرف کودهای مختلف بر روی کاتالاز در سطح یک درصد معنی‌دار بود. ولی اثر متقابل آنها معنی‌دار نبود (جدول ۲). نتایج بدست آمده از جدول مقایسه میانگین نشان داد با افزایش سطح تنش خشکی میزان کاتالاز افزایش یافت. در این افزایش بین هر سه تیمار خشکی تفاوت معنی‌داری وجود داشت. بیشترین میزان کاتالاز در رژیم آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی میزان ۰/۱۳ تغییرات جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین و کمترین آن در رژیم آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به میزان ۰/۰۸ تغییرات جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین گزارش شد. همچنین در این آزمایش تفاوت معنی‌داری در طی استفاده از کودهای مختلف بر میزان کاتالاز مشاهده شد. بیشترین میزان پراکسیداز نعناع فلفلی در تیمار شاهد بدون کود به میزان ۰/۱۶ تغییرات جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین و کمترین میزان کاتالاز را تیمار NPP به میزان ۰/۰۷ تغییرات جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین مشاهده شد (جدول ۳).

پرولین: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی آبیاری و مصرف کودهای مختلف در سطح یک

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.12.2
مقاله پژوهشی

درصد و همچنین اثر متقابل آنها در سطح پنج درصد بر روی پرولین معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج بدست آمده نشان داد که اثر متقابل آبیاری با ظرفیت زراعی ۵۰ و کود NPK بالاترین میانگین را به خود اختصاص داد که در مقایسه با شاهد پرولین را ۴/۴ برابر افزایش داد. نتایج نشان داد پرولین تقریباً در تمام تیمارهای حاوی رژیم آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی افزایش یافته، به‌نحوی که بیشترین میزان پرولین مربوط به تیمار ترکیبی ۵۰ درصد رژیم آبیاری و کود NPK به میزان ۰/۲۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بود (شکل ۱).



شکل ۱- اثر متقابل رژیم های مختلف آبیاری و مصرف کودهای مختلف بر پرولین. تفاوت بین اعداد مربوط به ستون‌ها که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند معنی‌دار می‌باشد (P≥۰/۰۵). (NPP: کود زیستی باکتریایی ترکیبی- NPK: کود شیمیایی- NPP+NPK: ترکیب کود زیستی باکتریایی ترکیبی و کود شیمیایی- SHM: کودهای ریز مغذی- SHM+AP: ترکیب کود ریز مغذی و کودهای اسید آمینه – Control: شاهد) (FC 100: ظرفیت زراعی ۱۰۰ درصد- FC 75: ظرفیت زراعی ۷۵ درصد- FC 50: ظرفیت زراعی ۵۰ درصد)

درصد اسانس: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی آبیاری و مصرف کودهای مختلف بر روی درصد اسانس در سطح یک درصد معنی‌دار بود. ولی اثر متقابل آنها معنی‌دار نبود (جدول ۲). نتایج بدست آمده از جدول مقایسه میانگین نشان داد با افزایش سطح تنش خشکی درصد اسانس افزایش یافت. در این افزایش بین هر سه تیمار خشکی تفاوت معنی‌داری وجود داشت. بیشترین درصد اسانس در رژیم آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی میزان ۱/۶۴ درصد و کمترین آن در رژیم آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به میزان ۱/۱۲ درصد گزارش شد. همچنین در این آزمایش تفاوت معنی‌داری در طی استفاده از کودهای مختلف بر درصد اسانس مشاهده شد. بیشترین درصد اسانس نعناع فلفلی در کود ترکیبی NPK+NPP به میزان ۱/۵۷ درصد و کمترین درصد اسانس را تیمار شاهد به میزان ۱/۱۱ درصد مشاهده شد (جدول ۳).

همبستگی بین صفات: با توجه به جدول ۴ همبستگی بین کلروفیل a با کلروفیل b، کارتنوئید، نسبت a/b و مجموع کلروفیل در سطح یک درصد معنی‌دار و همبستگی از نوع مثبت می باشد. ولی کلروفیل a با پرولین، آسکوربات، کاتالاز و پراکسیداز همبستگی از نوع منفی و در سطح یک درصد معنی‌دار بود. کلروفیل b با کارتنوئید و مجموع کلروفیل در سطح یک درصد همبستگی مثبتی داشتند اما با نسبت a/b، پرولین، آسکوربات، کاتالاز و پراکسیداز در سطح یک درصد معنی‌دار و همبستگی منفی داشتند. کارتنوئید با مجموع کلروفیل در سطح یک درصد معنی‌دار و همبستگی مثبتی دارد ولی با پرولین، آسکوربات، کاتالاز و پراکسیداز در سطح یک درصد معنی‌دار و همبستگی از نوع منفی را داشت. همچنین مجموع کلروفیل با پرولین، آسکوربات، کاتالاز و پراکسیداز در سطح یک درصد معنی‌دار و همبستگی از نوع منفی را داشت. پرولین با آسکوربات، کاتالاز، پراکسیداز و درصد اسانس در سطح یک درصد معنی‌دار و همبستگی از نوع مثبتی داشت. آسکوربات با کاتالاز، پراکسیداز و درصد اسانس در سطح یک درصد معنی‌دار و همبستگی از نوع مثبتی داشت. کاتالاز با پراکسداز و همچنین پراکسیداز با درصد اسانس در سطح یک درصد معنی‌دار و همبستگی مثبتی داشت.

بحث

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد اثر ساده رژیم آبیاری

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.12.2

و تیمار کودی NPK+NPP اثرات معنی‌داری بر روی میزان کلروفیل a نعناع فلفلی داشتند بطوری‌که بیشترین میزان کلروفیل a در تیمار رژیم آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و تیمار ترکیبی NPK+NPP بدست آمد (جدول ۳).

جدول ۴- نتایج همبستگی صفات نعناع فلفلی تحت تیمارهای مختلف

	کلروفیل a (A)	کلروفیل b (B)	کارتنوئید (C)	نسبت a/b (D)	مجموع کلروفیل (E)	پرولین (F)	آسکوربات (G)	کاتالاز (H)	پاکسیداز (I)	درصد اسانس (J)
(B)	0.35**	1								
(C)	0.63**	0.38**	1							
(D)	0.35**	-0.68**	0.04ns	1						
(E)	0.89**	0.72**	0.72**	-0.06ns	1					
(F)	-0.42**	-0.42**	-0.51**	0.15ns	-0.53**	1				
(G)	-0.51**	-0.44**	-0.55**	0.12ns	-0.61**	0.83**	1			
(H)	-0.53**	-0.45**	-0.55**	0.09ns	-0.62**	0.63**	0.79**	1		
(I)	-0.42**	-0.4**	-0.49**	0.14ns	-0.52**	0.91**	0.81**	0.67**	1	
(J)	-0.17ns	0.18ns	-0.17ns	-0.18ns	-0.09ns	0.52**	0.31**	0.13ns	0.54**	1

**، * و ns به‌ترتیب بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و عدم تفاوت معنی‌دار می‌باشند

همان‌طوری که ملاحظه می‌گردد در کلیه سطوح کودی بالاترین میزان کلروفیل a به گیاهان تحت آبیاری مطلوب تعلق داشت. با بروز تنش خشکی، میزان کلروفیل a برگ نعناع فلفلی کاهش پیدا کرد. مقدار کافی آب، احتمالا در حفظ کلروپلاست و در پی آن در انجام وظایف کلروفیل‌ها مانند جذب و انتقال انرژی موثر واقع می‌شود (۳۱). طبق بررسی‌ها، کاهش غلظت کلروفیل در شرایط خشکی می‌تواند به دلیل تاثیر تنش خشکی بر تجزیه کلروفیل‌ها و پراکسیداسیون آنها توسط گونه‌های فعال اکسیژن باشد (۳۱)، چرا که گونه‌های فعال اکسیژن باعث تخریب لیپیدها، پروتئین‌ها و رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌شوند. در مقایسه بین سطوح کودی مورد استفاده مشاهده گردید که تقریبا در تمامی سطوح آبیاری، بیشترین میزان کلروفیل a برگ به گیاهان نعناع فلفلی‌ای تعلق داشت که تحت تیمار ترکیب کودهای زیستی و شیمیایی قرار داشتند (جدول ۳). در بیان علت برتری تیمار ترکیب کودهای زیستی و شیمیایی می‌توان اظهار داشت تامین مناسب، کافی و تدریجی نیتروژن هم از طریق استفاده از کود نیتروژن و هم به‌واسطه حضور باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن در کود زیستی، باعث گردید که گیاه، نیتروژن کافی جهت تولید کلروفیل در اختیار داشته باشد، سایر عناصر مورد نیاز در فتوسنتز و سنتز کلروفیل نیز تا حدود زیادی به‌واسطه استفاده از این کودها تامین گردید.

همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌گردد اثرات ساده رژیم مختلف آبیاری و تیمارهای کودی بر روی کلروفیل b معنی‌دار بود. بطوری‌که در رژیم‌های مختلف آبیاری بیشترین میزان کلروفیل b در تیمار رژیم آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی گزارش شد. همچنین در اثر ساده کودهای ترکیبی، تیمار ترکیبی NPK+NPP بهترین تیمار بود (جدول ۳). کاهش میزان کلروفیل گونه‌های حساس به تنش می‌تواند نتیجه تخریب ساختار ظریف کلروپلاست، تغییر نسبت چربی-پروتئین رنگیزه‌ها و یا افزایش فعالیت کلروفیلاز باشد. سیار و همکاران (۴۷) کاهش محتوای کلروفیل را در اثر تنش خشکی در گندم گزارش کرده‌اند که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد. همچنین لنبانی و آرزونی (۳۴) کاهش محتوای کلروفیل را در برخی از ژنوتیپ‌های گندم و تریتیکاله در اثر تنش خشکی گزارش کردند و سی و سه مرده و همکاران (۵۲) نیز شاهد کاهش

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.12.2

محتوای کلروفیل در اثر تنش خشکی در آزمایش خود بودند همچنین مقایسه میانگین اثر سطوح کودی نشان می‌دهد که بیشترین مقدار کلروفیل b در نعناع فلفلی‌های تحت تیمار عدم مصرف کود حاصل گردید. دلیل این تفاوت، میزان نیتروژن در دسترس گیاه می‌باشد چون نیتروژن تاثیر مستقیم و قطعی در ساختمان کلروفیل دارد (۴۰)، لذا تامین نیتروژن توسط باکتری‌های تثبیت کننده ازت اتمسفری (کودهای زیستی) و کود شیمیایی باعث افزایش میزان فتوسنتز و همچنین میزان تولید کلروفیل گردید.

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده آبیاری (رژیم آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) و مصرف کودهای مختلف (در تیمار ترکیبی NPK+NP) بیشترین تاثیر را بر روی میزان کارتنوئید داشتند (جدول ۲). نقش اصلی کاروتنوئید جلوگیری از آسیب‌های ناشی از تنش اکسیداتیو می‌باشد، در واقع کاروتنوئیدها ازطریق تعدیل کردن وضعیت براگیخته کلروفیل، در حفاظت نوری تاثیرگذار است. در شرایط تنش، مقدار کاروتنوئید کاهش یافته و نمی‌توانند نقش حفاظتی خود را انجام دهند، ولی بررسی‌ها نشان داد کاهش آنها نسبت به کلروفیل‌ها کمتر می‌باشد.کاهش محتوای کاروتنوئید ظاهراً به دلیل اکسید شدن توسط اکسیژن فعال و تخریب ساختار آنها است (۱۶ و ۵۸). کاربرد مقادیر بالای کودهای شیمیایی در خاک، موجب افزایش جذب نیتروژن توسط گیاه می‌شود و از آنجا که کارتنوئید با نیتروژن ارتباط مستقیم دارد، با افزایش میزان نیتروژن گیاه از طریق کود شیمیایی NPK، کود زیستی باکترایی تثبیت کننده نیتروژن و کود آمینه اسید، مقدار این صفت هم افزایش می‌یابد.

نتایج نشان داد که اثرات ساده آبیاری و مصرف کودهای مختلف بر روی مجموع کلروفیل معنی‌دار بود اما اثرات متقابل آنها معنی‌دار نبود (جدول ۲). بیشترین میزان مجموع کلروفیل در رژیم آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و تیمار کودی NPK+NP گزارش شد (جدول ۳). سیلوا و همکاران (۴۹) تغییرات متابولیکی را عامل کاهش سطوح رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه ذرت خوشه‌ای در شرایط تنش خشکی بیان نمودند. این محققان گزارش کردند که کاهش کارآیی استفاده از کربن و افزایش تولید اتانول و لاکتات سبب کاهش سنتز کاروتنوئیدها و کلروفیل ها میشود. همچنین اعمال تنش خشکی در مرحله زایشی گیاه، تسریع پیری برگ و تجزیه رنگدانه‌های فتوسنتزی را در پی داشت. همچنین عمده‌ی ترکیبات رنگدانه‌های فتوسنتزی دارای ساختار نیتروژنی هستند. از این رو کاربرد نیتروژن می‌تواند تا حد زیادی منجر به افزایش مقدار آنها در گیاه گردد (۵۹). به عقیده‌ی برخی از محققین همبستگی زیادی بین کلروفیل برگ و غلظت نیتروژن برگ وجود دارد (۵۶).

اثر ساده آبیاری و اثر ساده مصرف کودهای مختلف بر روی آنزیم آسکوربات معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج بدست آمده از جدول مقایسه میانگین نشان داد با افزایش سطح تنش خشکی میزان آسکوربات افزایش یافت. بیشترین میزان آسکوربات در رژیم آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی و در تیمار بدون کود شاهد دیده شد (جدول ۳). در بررسی انجام شده روی چمن پوآ فعالیت آنزیم آسکوربات در مواجه شدن با تنش خشکی افزایش یافته است (۳۷) که نتایج ما نیز آن را تایید می کند. پژوهش های قبلی هم نشان داد که پیش تیمار خشکی آنزیم آسکوربات را بیش از فعالیت آن در گیاهان شاهد افزایش داده است (۲۸). نتایج بدست آمده با یافته‌های خانا–چوپرا و سلوته (۳۰) و امجد و همکاران (۷) که نشان دادند تنش خشکی سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آسکوربات پراکسیداز در ارقام گندم می‌شود. همچنین نادری و همکاران (۳۷) نیز در بررسی تاثیر کاربرد کودهای زیستی و شیمیایی بر صفات کمی و کیفی ذرت تحت سطوح تنش خشکی بیان کردند که کمترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی در شرایط عدم تنش خشکی، به

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.12.2

ذرت‌های تحت تیمار مصرف توام کود زیستی و شیمیایی تعلق داشت.

میزان آنزیم پراکسیداز تنها در اثرات ساده رژیم آبیاری و مصرف کودها معنی‌دار شد (جدول ۲). نتایج بدست آمده نشان داد بیشترین میزان پراکسیداز در رژیم آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی و تیمار بدون کود شاهد بدست آمد (جدول ۳). نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های جانگ (۲۸) مطابقت دارد. جانگ در بررسی تغییرات متابولیسم آنتی‌اکسیدانت در برگ‌های جوان و بالغ آرابیدوپسیس در معرض تنش خشکی نسبت به گیاهان فاقد تنش به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و کاتالاز نقش موازی و مشابهی را در سیستم دفاعی گیاه ایفا می‌نمایند، به‌طوری که وظیفه هر سه این آنزیم‌ها سم‌زدایی و تجزیه پراکسید هیدروژن تولید شده در سلول‌ها می‌باشد (۹). در همین زمینه مطابق با نتایج این پژوهش بیان شده است که فعالیت آنزیم POD در گیاه گندم با افزایش سطح تنش خشکی افزایش یافته است (۱۸). همچنین گزارش شده است در چمن پوآ با پیشرفت خشکی فعالیت آنزیم POD در ابتدا افزایش و سپس کاهش پیدا کرد (۲۱). نتایج گویای آن است که کاربرد کودهای زیستی در مقایسه با دیگر کودهای شیمیایی باعث کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز گردید، احتمالا تامین تدریجی نیتروژن و فسفر در طی رشد گیاه به‌واسطه کاربرد کودهای زیستی توانسته با تامین متعادل عناصر غذایی مورد نیاز گیاه و تامین انرژی کافی برای رشد و بقای گیاه از شدت تنش در گیاه بکاهد و با توجه به کاهش شدت تنش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز کاهش پیدا کرده است.

نتایج حاصل تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده آبیاری (رژیم آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و تیمار بدون کود شاهد بیشترین تاثیر را بر روی آنزیم کاتالاز داشتند (جدول ۲). افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش‌ها برای زنده ماندن سلول و ادامه یافتن فعالیت ارگانیسم گیاه، حیاتی می‌باشد. به‌طور کلی می‌توان چنین عنوان داشت که علت افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش خشکی آن است که با کاهش آب قابل دسترس برای گیاه و افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن، این آنزیم به‌عنوان یکی از اجزای مهم مکانیسم دفاعی در گیاه عمل می‌نماید. از گزارشاتی که حاکی از افزایش آنزیم کاتالاز در شرایط تنش خشکی است، نتیجه تحقیقات شهاب و همکاران (۴۸) بر روی گیاه *Oryza sativa* می‌باشد. از طرفی همان‌گونه که ملاحظه می‌گردد مصرف کودهای زیستی در مقایسه با دیگر کودها و شاهد باعث کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز شد.با توجه به اینکه تغذیه مناسب گیاهی در بالا بردن سطح تحمل گیاهان در برابر انواع تنش‌ها نقش به‌سزایی دارد، احتمالا تامین مناسب عناصر غذایی مورد نیاز گیاه به‌واسطه استفاده از کودهای زیستی توانسته اثر تنش بر گیاه را کاهش داده و گیاه را در شرایط مناسب‌تری قرار دهد و به تبع آن، گیاه مقدار کاتالاز کمتری تولید نموده است. عمر و همکاران (۴۱) نیز در تحقیقی نشان دادند که در گیاهچه‌های جو در معرض تنش در شرایط تلقیح با باکتری آزوسپریلیوم فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش پیدا کرد.

نتایج نشان داد اثر متقابل رژیم آبیاری و مصرف کودها بر روی میزان پرولین معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج بدست آمده نشان داد که اثر متقابل آبیاری با ظرفیت زراعی ۵۰ و کود NPK بالاترین میانگین را به خود اختصاص داد که در مقایسه با شاهد پرولین را ۴/۴ برابر افزایش داد. پرولین اسید آمینه‌ای می‌باشد که بخش عمده بسیاری از پروتئین‌های درگیر در تنظیم اسمزی، دیواره سلولی و غشا را تشکیل می‌دهد (۵۳). در شرایط تنش خشکی، پرولین در حفظ پتانسیل اسمزی، حذف رادیکال های آزاد و ROS، حفاظت ماکرومولکول‌ها از دناتوره شدن، تنظیم pH سلولی نقش دارد. همچنین پرولین به عنوان منبع نیتروژن و کربن برای گیاهان تحت تنش شدید عمل می‌کند و تحمل گیاه در برابر تنش را افزایش می‌دهد (۶). افزایش میزان

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.12.2

پرولین در مطالعات بسیاری تحت تنش خشکی گزارش شده است (۲۵). بنابراین گیاهانی که در تحت تنش خشکی قرار می‌گیرند، مقدار زیادی از منابع کربن و نیتروژن خود را صرف سنتز تنظیم‌کننده‌های اسمزی از قبیل پرولین می‌کنند تا بتوانند تورژسانس سلول‌های خود را حفظ نمایند (۸). نتایج تحقیق ساعدی و همکاران (۴) که بر روی گیاه نعناع فلفلی در شرایط تنش خشکی انجام دادند بیان داشتند با افزایش شدت تنش بر میزان پرولین افزوده شد. بر اساس نظریه مارشنر (۳۶) عمده ترکیبات پرولین دارای ساختار نیتروژنی هستند، از این رو استفاده از نیتروژن می‌تواند تا حد زیادی باعث افزایش مقدار آنها در گیاه شود. در بین تیمارهای کودی، کود شیمیایی به‌دلیل سهولت نسبی در تهیه آنها، همچنین پویایی عناصری مانند نیتروژن در آن‌ها، می‌تواند به آسانی نیتروژن و سایر عناصر لازم را در اختیار گیاهان قرار دهد (۳۵). همچنین گوسین و همکاران (۲۴) اظهار داشتند که استفاده از باکتری‌های محرک رشد با تامین نیتروژن مورد نیاز گیاه باعث افزایش میزان پرولین می‌گردد.

درصد اسانس تنها در اثرات ساده رژیم آبیاری و مصرف کودها معنی‌دار شد (جدول ۲). نتایج بدست آمده نشان داد بیشترین درصد اسانس در رژیم آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی و کود ترکیبی NPK+NPP به دست آمد (جدول ۳).تشکیل و تجمع اسانس در گیاهان تحت شرایط محیطی خشک تمایل به افزایش نشان می‌دهد. امروزه فرضیه‌ای با عنوان فرضیه موازنه رشد–تمایز مطرح شده که بیان می‌کند هر کمبودی که رشد را بیش از فتوسنتز محدود کند، تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه را گیاهان افزایش می‌دهد (۲۷). نتایج تحقیق خوش اقبال قرابایی (۳) موید این مطلب است که تشکیل و تجمع اسانس در گیاهان تحت شرایط محیطی خشک‌تر تمایل به افزایش دارند. در تحقیقی بر روی گیاهچه ریحان مشخص گردید، با اعمال تنش خشکی، میزان اسانس برگ‌های تازه از ۳/۱ به ۶/۲ میکرولیتر در وزن خشک گیاه افزایش می‌یابد(۵۰). همچنین کالرا (۲۹) گزارش کرد که درصد اسانس در گیاه دارویی نعناع فلفلی در تیمار ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم با تیمار کاربرد کودهای شیمیایی برابری می‌کند. از طرفی نتایج تحقیق حاضر با نتایج لیتی و همکاران (۳۲) در بررسی کاربرد ازتوباکتر در افزایش میزان اسانس در گیاه رزماری و فاتما و همکاران (۲۰) در خصوص اثر مثبت ازتوباکتر، آزوسپریلیوم و باکتری‌های حل کننده فسفات بر اسانس گیاه *Mazorana hortensis* مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج بدست آمده در این آزمایش می‌توان بیان کرد هر چند با کاهش میزان آب مصرفی و به تبع آن بروز تنش خشکی برخی از شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاه نعناع فلفلی کاسته می‌شود اما با مصرف کود، بخصوص کود زیستی باکتریایی همراه با کود شیمیایی، می‌توان تا حدی از بروز اثرات سوء تنش خشکی بر این شاخص‌های مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی این گیاه کاست. همچنین نتایج گویای آن است که کاربرد کودهای زیستی در مقایسه با دیگر کودهای شیمیایی باعث کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانتی گردید، احتمالا تامین تدریجی نیتروژن و فسفر در طی رشد گیاه به‌واسطه کاربرد کودهای زیستی توانسته با تامین متعادل عناصر غذایی مورد نیاز گیاه و تامین انرژی کافی برای رشد و بقای گیاه از شدت تنش در گیاه بکاهد و با توجه به کاهش شدت تنش میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانتی نیز کاهش پیدا کرده است.

سپاسگزاری

بودجه این تحقیق از محل اعتبارات طرح پژوهه شماره ۴۸۰۶۵ مورخ ۹۷/۰۸/۳۰ توسط معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد تامین شده که بدین‌وسیله سپاسگزاری می‌شود.

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.12.2
مقاله پژوهشی

منابع

۱–حسنی، ع. و ر. امیدبیگی. (۱۳۸۱). اثرات تنش آبی بر برخی خصوصیات موفولوژیکی و متابولیکی گیاه ریحان. مجله دانش کشاورزی. جلد ۱۲ (۳): ۵۹–۴۷.

۲–حسین زاده، س.ر. امیری، ح. اسماعیلی، آ. (۱۳۹۵). تاثیر کود ورمی کمپوست بر خصوصیات فتوسنتزی نخود (*Cicer arietinium* L.) تحت تنش خشکی. نشریه فتوسنتتیکا (Photosynthetica) . ۵۴: ۹۲–۸۷.

۳–خوش اقبال قرابایی، ف.، قاسمی پیربلوطی، ع.، انتشاری، ش و داورپناه, س. ج. ۱۳۹۹. اثرات کمی و کیفی تنش خشکی بر ترکیبات شیمیایی اسانس زوفا (*Hyssopus officinalis* L.)مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)(علمی). ۳۳(۲): ۲۹۲–۳۰۳.

۴–ساعدی، ف.، سیروس مهر، ع. ر و جوادی، ت. ۱۳۹۹. 'اثر کود نانوپتاسیم بر برخی صفات مورفوفیزیولوژیکی نعناافلفلی (*Mentha piperita* L.) در شرایط تنش خشکی ,'مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)(علمی). ۳۳(۱): ۴۵–۳۵.

۵–نظری، م.ر. حبیب پور مهربان، ف. ماعلی امیری، ر. (۱۳۹۱). تغییر در پاسخ های آنتی اکسیدانی در برابر آسیب اکسیداتیو در نخود به دنبال سازگاری با سرما. نشریه فیزیولوژی گیاهی. ۵۹: ۱۸۳–۸۹

6-Amini, S., Ghobadi, C. and Yamchi, A. (2015). Proline accumulation and osmotic stress: an overview of P5CS gene in plants. Journal of Plant Molecular Breeding, 3(2): 44-55.

7-Amjad, H., Noreen, B., Javed, A. and Nayyer, I. (2011). Differential changes in antioxidants, proteases, and lipid peroxidation in flag leaves of wheat genotypes under different levels of water deficit conditions. Plant Physiology Biochemistry 49: 178-185.

8-Aranjuelo, I., Molero, G., Erice, G., Christophe Avice, J. and Nogues, S. (2011). Plant physiology and proteomics reveals the leaf response to drought in alfalfa (*Medicago sativa* L.). Journal of Experimental Botany 62:111-123.

9-Ariano, S., Bartolomeo, D., Cristos, X. and Andras, M. (2005). Antioxidant defenses in Olive trees during drought stress changes in activity of some antioxidant enzymes. Functional Plant Biology, 32: 45-53.

10-Arnon, A. N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal, 23: 112-121.

11-Bates, L. S., Waldran, R. P. and Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water studies. Plant and Soil. 39: 205–208.

12-Bayoumi, T.Y., Eid, M. and Metwali, E. M. (2008). Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes. African Journal of Biotechnology. 7: 2341-2352.

13-Biglouie, M. H., Assimi, M. H. and Akbarzadeh, A. (2010). Effect of water stress at different stages on quantity and quality traits of virginia (flue cured) tobacco type. Plant Soil Environment-2: 67-75.

14-Blum, A. (2011). Plant Breeding for Water-Limited Environments. Springer, New York.

15-Boyer, J.S. (1982). Plant productivity and environment. Science,218:443-448.

16-Bruce, W. B., Edmeades, G. O. and Barker, T. C. (2002). Molecular and physiological approaches to maize improvement for drought tolerance. Journal of Experimental Botany 53: 13- 25.

17-Diaz, P. Monza, J. and Marquez, A. (2005). Drought and saline stress, Lotus japonicas. Haworth Press, Inc. San Diego.

18-Copra, R. K. and Selote, D. S. (2007). Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought – resistant than- susceptible wheat cultivar under field conditions. Environmental Experimental Botany, 60, 276-283.

19-Chance, B. and Maehly, C. (1955). Assay of catalase and peroxidases. Methods in Enzymology 11:764–775

20-Fatma, E. M., El-Zamik, I., Tomader, T., El-Hadidy, H. I., El-Fattah, L. and Seham, H. (2006). Efficiency of biofertilizers, organic and in organic amendments app. lication on growth and essential oil pf marjoram (*Majorana hortensis* L.) plants grown in sandy and calcareous. Agric. Microbiology Dept., Faculty of Agric., Zagazig University and Soil Fertility and Microbiology Dept., Desert Research Center, Cairo, Egypt.

21-Fu, J. and Huang, B. (2001). Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool- season grasses to localized drought stress. Environment Experimental Botany, 45, 105-114.

22-Gunes, A., Cicek, N., Inal, A., Alpaslan, M., Eraslan, F., Guneri, E. and Guzelordu, T. (2006). Genotypic responses of chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars to drought stress implemented at pre-and post a thesis stages and its relations with nutrient uptake and efficiency. Plant, Soil and Environment. 52: 868-876.

23-Gupta, M. L., Prasad, A., Ram, M. and Kumar, S. (2002). Effect of the vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus Glomus fasciculatum on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crop of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. Bioresource Technology. 81: 77-9.

24-Gusain, Y. S., Singh, U. S. and Sharma, A. K. (2015). Bacterial mediated amelioration of drought stress in drought tolerant and susceptible cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). African Journal of Biotechnology 14: 764-773.

25-Hanson, A. D., Nelson, C. E. and Pederson, A. R. (1999). Capacity for proline accumulation during water stress in barley and implications for breeding for drought stress. Crop Science 19: 489-493.

26-Hermosa, R., Viterbo, A., Chet, I. and Monte, E. (2012). Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. Microbiology. 158: 17-25.

27-Herms, D. A. and Mattson, W. J. (1992). The dilemma of plants: To grow or defend. Quarterly Review Biology. 67:283 – 325.

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

29-Kalra, A. (2003). Organic cultivation of Medicinal and aromatic plants. A hope for sustainability and qualility enhancement. J. Organic Production of Medicinal, Aromatic and Dye-Yielding Plants (MADPs). FAO. pp: 198.

30-Khanna-Chopra, R. and Selote, D. S. (2007). Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than susceptible wheat cultivar under field conditions. Environmental and Experimental Botany 60: 276-283.

31-Klynger da Silva Lobato, A., Maria Silva Guedes, E., Jose Marques, D. and Ferreira de Oliveira Neto, C. (2013). Silicon: A benefic element to improve tolerance in plants exposed to water deficiency, Pp. 95-113.

32-Leithy, S., El-Meseiry, T. and Abdallah, E. F. (2006). Effect of biofertilizers, cell stabilizer and irrigation regime on Rosemary herbage oil yield and quality. Journal of Applied Research. 2: 773-779.

33-Liu, C., Liu, Y., Guo, K., Fan, D., Li, G., Zheng, Y., Yu, L. and Yang, R. (2011). Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in sixwoody plant species in karst habitats of southwestern China. Environmental and Experimental Botany. 71:174–183.

34-Lonbani, M. and Arzani, A. (2011). Morpho-physiological traits associated with terminal drought-stress tolerance in triticale and wheat. Agronomy Research 9: 315–329.

35-Malakouti, M. (1995). Sustainable agriculture and increasing of chemical fertilizers. Journal of Agric Training. pp 279.

36-Marschner, H. (1995). Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd Academic Press. Ltd. London.

37-Naderi, T., Sohrabi, Y. and Heidari, Gh. (2013). Effects of biological and chemical fertilizers on quantitative and qualitative traits of corn (*Zea mays* L.) under drought stress. MSc. Thesis University of Kurdistan.

38-Najafi, A., Niari khamssi, N., Mostafaie, A. and Mirzaee, H. (2010). Effect of progressive water deficit stress on praline accumulation and protein profiles of leaves in chickpea. African Journal of Biotechnology. 9: 7033-7036.

39-Nakano, Y. and K. Asada. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology. 22: 867-880.

40-Ojaghloo, F., Farah, F., Hassanzadeh, Sh. A. and Javanshir, A. (2007). Effect of inoculation with azotobacter and barvar 2 phosphate biofertilizers on safflower yield. Journal of Agricultural Science, Islamic Azad University, Tabriz Branch. 1(3): 5-39.

41-Omar, M. N. A., Osman, M. E. H., Kasim, W. A. and Abd El-Daim, L. A. (2009). Improvement of salt tolerance mechanisms of barley cultivated under salt stress using Azospirillum brasilense. Pp: 133.

42-Pagter, M., Bragato, C. and Brix, H. (2005). Tolerance and physiological responses of Phragmites australis to water deficit. Aquatic Botany. 81: 285-299.

43-Rai, M., Acharya, D., Singh, A. and Varma, A. (2001). Positive growth responses of the medicinal plants *Spilanthes calva* and *Withania somnifera* to inoculation by *Piriformospora indica* in a field trial. Mycorrhiza.11: 123 – 8.

44-Rouphael, Y., Raimondi, G., Paduano, A., Sacchi, R., Barbieri, G. and De Pascale, S. (2015). Influence of organic and conventional farming on seed yield, fatty acid composition and tocopherols of Perilla. Australian Journal of crop science.9:303-308.

45-Safaei, Z., Azizi, M. Davarynejad, G. H. and Aroiee, H. (2014). The Effect of Foliar Application of Humic Acid and Nanofertilizer on Yield and Yield Components of Black Cumin (*Nigella sativa* L.). Journal of Medicinal Plants and By-products. 2: 133-140.

46-Sairam, R. K., Deshmukh, P. S. and Saxena, D. C. (1998). Role of antioxidant systems in wheat genotype tolerance to water stress. Biologia Plantarum 41: 387-394.

47-Sayar, R., Khemira, H., Kameli, A. and Mosbahi, M. (2008). Physiological tests as predictive appreciation for drought tolerance in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). Agronomy Research 6: 79-90.

48-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. 38, 139 -148.

49-Silva, M. A., Jifon, J. L., Silva, J. A. G. and Sharma, V. (2007). Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. Brazilian Journal of Plant Physiology, 19: 193-201.

50-Simon, J. E., Bubenheim, R. D., Joly, R. J. and Chares, D. J. (1992). Water stress induced alteration in essential oil content and composition of sweet basil. Journal of Essential Oil Research. 4: 71 – 75.

51-Singh, R., Shushni, M. A. M. and Belkheir, A. (2015). Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. Arabian Journal of Chemistry, 8(3): 322-328.

52-Sio-Se Mardeh, A., Ahmadi, A., Poustini, K., and Mohammadi, V. (2006). Evaluation of drought resistance indices under various environmental conditions. Field Crops Research 98: 222–229.

53-Szabados, L. and Savoure, A. (2009). Proline: a multifunctional amino acid. Trends in Plant Science 15: 89-97.

54-Tas, S. and Tas, B. (2007). Some physiological responses of drought stress in wheat genotypes with different ploidity in Turkiye. World Journal of Agriculture and Science-3:178-183.

55-Tawfik, K. M. (2008). Effect of water stress in addition to potassium application on mungbean. Australian Journal Basic Apply Science.2: 42-52.

56-Telci, I., Toncer, O. G. and Sahbaz, N. (2006). Yield, essential oil content and composition of Coriandrum sativum varieties (var. vulgare Alef. and var. microcarpum DC.) grown in two different locations. Journal of Essential Oil Research. 18: 189-193.

57-Vidal, I., Longeri, L. and Hétier, J. M. (1999). Nitrogen uptake and chlorophyll meter measurements in spring wheat, Nutrient Cycling in Agroecosystems. 55: 1–6.

58-Wang L., Fan, L., Loescher, W., Duan, W., Liu, G., Cheng, J., Luo, H. and Li, S. (2010). Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under heat stress and accelerates recovery in grapevine leaves. BMC Plant Biology. 10: 34-48.

59-Zgallai, H., Steppe, K. and Lemeur, R. (2006). Effects of different levels of water stress on leaf water potential, stomatal resistance, protein and chlorophyll content and certain anti oxidative enzymes in Tomato plants. Journal of Integrative Plant Biology, 48(6): 679-685.

60-Zhao, J., Davis, L. C., Tang, X. Y. and Verpoorte, R. (2005). Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. Biotechnology Advances. 23: 283-333.

مقاله پژوهشی
DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.12.2

Effect of chemical and biological fertilizers on the physiological characteristics and activity of some antioxidant enzymes of peppermint (*Mentha piperita*) under drought stress conditions

Parsa M., Kamaei R. and Yousefi B.

Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, I.R. of Iran.

Abstract

In order to evaluate the effect of various irrigation regimes and different fertilizer combinations on some morphological and physiological traits of *Mentha piperita*, a greenhouse experiment was carried out at the research greenhouse of Ferdowsi University of Mashhad, during growing season 2017-2018. The experiment was conducted in factorial experiment based on completely randomized design with three replicates. Factors were consisted of different irrigation regimes levels: 100% FC, 75% FC and 50% FC, and different biological and chemical fertilizers combinations including:1-biochemical bacterial NPK + NPP, 2- NPP bio-fertilizer, 3-NPK, 4-micronutrient fertilizer (MIC), 5-MIC + amino acid fertilizer (AP). The results showed that interaction of irrigation regimes and different biofertilizers on Proline had different significant at 5% level. The highest proline amount (0.22 mg /g fresh weight) were obtained in irrigation of 100% FC and NPK + NPP combination fertilizer treatments. Also, the results of variance analysis showed that the main effects of irrigation regimes and fertilizer types on chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoid, total chlorophyll, ascorbate enzyme, catalase, peroxidase and essential oil percentage were significant. The highest chlorophyll a (2.52 mg/g fresh weight), chlorophyll b (1.32 mg/g fresh weight), carotenoid (0.57 mg/g fresh weight) and total chlorophyll (4.4 mg/g fresh weight) were observed in FC 100% irrigation and NPK + NPP combination treatment, the highest ascorbate (0.32 µmol $min^{-1}mg^{-1}$ protein), catalase (0.2 µmol $min^{-1}mg^{-1}$ protein), peroxidase (0.69 µmol $min^{-1}mg^{-1}$ protein) were observed in irrigation of 50% FC and control treatment and highest percentage of essential oil (2.9 %) were observed in irrigation of 50% FC and NPK + NPP combination fertilizer treatments. The results show that the combined application of biofertilizers and chemical fertilizers (NPK + NPP) have a relative advantage compared to using chemical fertilizers alone. Because macro elements such as nitrogen, phosphorus and potassium are provided to the plant in sufficient quantities and gradually which reduces the severity of stress in the plant by providing a balanced supply of the plant needed nutrients and providing sufficient energy for plant growth and survival and due to the decrease in stress intensity, the activity of antioxidant enzymes has also decreased.

Key words: ascorbate, catalase, peroxidase, total chlorophyll, field capacity.