Journal of Agroecology
Homepage: http://agry.um.ac.ir

Research Article
Vol. 18, No. 1, 2026, p. 1-37

Effects of Irrigation Regimes, Titanium Dioxide Nanoparticles, and Mycorrhizal Fungi on the Quantitative and Qualitative Yield and Physiological Traits of Sage (*Salvia officinalis* L.) in Intercropping with Peppermint (*Mentha piperita* L.)

Abdollah Javanmard[1*], Ali Ostadi[1] and Haniyeh Shabkhiz[1]

1- Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran
(*- Corresponding author's Email: a.javanmard@maragheh.ac.ir)

Received: 29-09-2025
Revised: 09-12-2025
Accepted: 14-12-2025
Available Online: 04-04-2026

How to cite this article:
Javanmard, A., Ostadi, A., & Shabkhiz, H. (2026). Effects of irrigation regimes, titanium dioxide nanoparticles, and mycorrhizal fungi on the quantitative and qualitative yield and physiological traits of sage (*Salvia officinalis* L.) in intercropping with peppermint (*Mentha piperita* L.). *Journal of Agroecology*, *17*(4), 1–37. (In Persian with English abstract)
https://doi.org/10.22067/AGRY.2025.95607.1254

Introduction

Currently, due to the adverse effects of climate change and rising global temperatures, agricultural yields are declining, with the most severe impacts in arid and semi-arid regions. Drought stress is one of the most critical abiotic factors limiting plant growth and productivity in many areas, including Iran. With limited water resources and an average annual rainfall of only 250 mm, approximately two-thirds less than the global average (Biglari et al., 2019). Iran is particularly vulnerable. The severity and duration of drought stress significantly alter the ecophysiological, biochemical, and molecular characteristics of plants, adversely affecting both the quantity and quality of growth and yield (Salehi-Lisar & Bakhshayeshan-Agdam, 2020). Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), as biofertilizers, enhance plant tolerance to various biotic and abiotic stresses, including drought, nutrient deficiency, heavy metal toxicity, and salinity. In medicinal plants, the application of AMF has been shown to improve photosynthesis, enhance water uptake, increase chlorophyll and carotenoid levels, and boost antioxidant enzyme activity under stressful conditions (Varma et al., 2018). Within the framework of sustainable agriculture, the use of nanotechnology-based alternatives to conventional fertilizers is considered a promising strategy to increase crop productivity and help meet the food demands of the rapidly growing global population (Liu et al., 2015). Among nanomaterials, titanium dioxide nanoparticles (TiO_2 NPs) have been recognized as effective plant growth stimuland (Ingle, 2021). Additionally, intercropping one of the most important sustainable agricultural practices plays a crucial role in enhancing biodiversity and improving overall productivity.

Materials and Methods

This study was carried out at the Research Farm of the Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Maragheh. The experiment followed a split–split plot design within a randomized complete block design (RCBD) with three replications, conducted over two consecutive years. The main factor

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

https://doi.org/10.22067/AGRY.2025.95607.1254

consisted of three irrigation regimes: 25% (MAD_{25}), 50% (MAD_{50}), and 75% (MAD_{75}) maximum allowable depletion (MAD) of soil available water (SAW), representing normal irrigation, mild water stress, and severe water stress, respectively. The sub-factor was planting pattern, including peppermint monoculture, sage monoculture, and peppermint–sage intercropping. The sub–sub factor involved fertilizer treatments, including: (i) no fertilizer (control), (ii) TiO_2 nanoparticles (100 $mg.L^{-1}$), (iii) arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) inoculation, and (iv) combined application of AMF and TiO_2 (AMF + TiO_2). Each plot consisted of five planting rows, with inter-row and intra-row spacings of 40 and 25 cm, respectively, for peppermint and sage. The AMF inoculum (*Funneliformis mosseae*) was obtained from Varian Biotechnological Company, Karaj, Iran. At planting, 80 g of soil containing fungal hyphae (equivalent to 1000 spores per 10 g of soil) was applied to each row. Peppermint and sage seedlings were established at a density of 10 $plants.m^{-2}$. The first irrigation was applied immediately after transplanting. To facilitate seedling adaptation and optimal establishment, drought stress treatments were initiated one month after planting. Soil moisture content was monitored using a moisture meter to ensure accurate application of drought stress. At full flowering, dry matter yield, essential oil (EO) content and yield, EO composition, and photosynthetic pigments were measured. Data were tested for normality before analysis. A combined analysis of variance was performed using a two-way split–split plot design in SAS (version 9.4). Mean comparisons were conducted using the least significant difference (LSD) test at the 5% probability level, and graphical illustrations were generated in Microsoft Excel.

Results and Discussion

The results indicated that sage dry matter yield decreased by 27% and 64.1% under mild and severe drought stress, respectively. Considering the interaction effect of cropping pattern and fertilizer sources, the highest sage dry matter yield (172.7 g m^{-2}) was observed in monoculture with the combined application of AMF + TiO_2. The combined application of AMF + TiO_2 increased sage dry matter yield by 36.1% compared to the control (absence of fertilizer). The highest essential oil (EO) content in sage (1.33%) was obtained under intercropping with the integrated application of AMF + TiO_2. Notably, EO content under mild drought stress was 41.2% higher than that under normal irrigation. Chemical analysis of EO compounds revealed that the maximum levels of dominant compounds, namely *cis*-thujone and 1, 8-cineole, were achieved in intercropping with AMF + TiO_2 under both mild and severe stress conditions. Enhanced secondary metabolite production serves as an effective defense mechanism in medicinal and aromatic plants, mitigating the adverse effects of drought stress. Typically, EO formation and accumulation increase under environmental stress, protecting the plant against excessive light and water deficiency. The observed increase in sage EO with AMF + TiO_2 application is associated with improved photosynthetic activity, enhanced absorption and availability of key EO-forming nutrients such as nitrogen and phosphorus, and the development of additional EO-secreting glands.

Conclusion

In summary, the integrative application of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) combining TiO_2 in the intercropping system of sage with peppermint is highly recommended as a sustainable and effective approach to improve both the yield and quality of essential oils, particularly under drought stress conditions. This strategy not only enhances plant resilience against water deficit but also promotes more efficient nutrient uptake, leading to healthier growth and higher production of valuable secondary metabolites. Implementing this combined approach can be a practical,eco-friendly solution for farmers seeking to optimize essential oil production while maintaining soil health and long-term agricultural sustainability.

Keywords: Bio-fertilizer, Drought stress, Essential oil, Medicinal plants, Sustainable agriculture

نشریه بوم شناسی کشاورزی
Homepage: http://agry.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۱۸، شماره ۱، بهار ۱۴۰۵، ص ۳۷-۱

اثر رژیم‌های آبیاری، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و قارچ مایکوریزا بر عملکرد کمّی و کیفی و خصوصیات فیزیولوژیکی مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) در کشت مخلوط با نعناع‌فلفلی (*Mentha piperita* L.)

عبدالله جوانمرد[1*]، علی استادی[1] و حانیه شب‌خیز[1]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۷/۰۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۲۳

چکیده

به‌منظور بررسی اثر رژیم‌های مختلف آبیاری، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و قارچ مایکوریزا بر کمیت و کیفیت اسانس مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) در کشت مخلوط با نعناع‌فلفلی (*Mentha piperita* L.)، آزمایشی به‌صورت کرت‌های دو بار خردشده برپایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه در سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ اجرا شد. عامل اول رژیم‌های مختلف آبیاری در سه سطح، آبیاری پس از ۲۵ درصد حداکثر تخلیه مجاز رطوبتی به‌عنوان آبیاری نرمال، آبیاری پس از ۵۰ درصد حداکثر تخلیه مجاز رطوبتی به‌عنوان تنش ملایم و آبیاری پس از ۷۵ درصد حداکثر تخلیه مجاز رطوبتی به‌عنوان تنش شدید بود. عامل فرعی الگوهای مختلف کشت (کشت خالص نعناع‌فلفلی، کشت خالص مریم‌گلی، کشت مخلوط نعناع‌فلفلی و مریم‌گلی) و عامل فرعی فرعی شامل منابع مختلف کودی (عدم مصرف نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و قارچ مایکوریزا به‌عنوان شاهد، نانو دی‌اکسید تیتانیوم، قارچ مایکوریزا و کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم) بود. نتایج نشان داد که عملکرد ماده خشک مریم‌گلی در تنش ملایم و شدید نسبت به حالت نرمال آبیاری به‌ترتیب ۲۷ و ۶۴/۱ درصد کاهش یافت. بیشترین عملکرد ماده خشک مریم‌گلی (۱۷۲/۷ گرم در مترمربع) در کشت خالص با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم به دست آمد. با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم، عملکرد ماده خشک مریم‌گلی ۳۶/۱ درصد نسبت به عدم مصرف کود افزایش یافت. همچنین بیشترین درصد اسانس مریم‌گلی (۱/۳۳ درصد) در کشت مخلوط و با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم حاصل شد. علاوه‌بر این، درصد اسانس مریم‌گلی در تنش ملایم ۴۱/۲ درصد بیشتر از آبیاری نرمال بود. براساس تجزیه شیمیایی ترکیب‌های اسانس، بیشترین میزان ترکیب (سیس–توجن و ۱و۸ سینئول) غالب مریم‌گلی در کشت مخلوط و با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم در تنش ملایم حاصل شد. نتایج این تحقیق می‌تواند به بهینه‌سازی مدیریت آبیاری و استفاده از تکنولوژی‌های نوین کشاورزی برای افزایش بهره‌وری و کیفیت گیاهان دارویی در کشاورزی پایدار کمک کند.

واژه‌های کلیدی: تنش خشکی، کشاورزی پایدار، کود زیستی، گیاهان دارویی، میزان اسانس

مقدمه

تمایل به تولید گیاهان دارویی و معطر و تقاضا برای این محصولات در شرایط اکولوژیک رو به افزایش می‌باشد. زیرا این سیستم‌های کشاورزی براساس اصول اکولوژیکی بوده و در آن کیفیت محصولات مهم‌تر از کمیت آن‌ها می‌باشد. مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) جزء گیاهان چندساله دارویی و متعلق به خانواده نعنائیان[2] و بومی منطقه مدیترانه است، امّا در حال حاضر در سراسر

۱- گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: a.javanmard@maragheh.ac.ir)
https://doi.org/10.22067/AGRY.2025.95607.1254

2- Lamiaceae

جهان کشت می‌شود (Farruggia et al., 2024). انـدام‌های هـوایی گیاه و به‌ویژه برگ‌ها دارای محتوای قابل توجه اسانس هستند. مقـدار اسانس بسته به شرایط اقلیمی متفاوت است و معمولاً بـین ۱ تـا ۲/۵ درصد گزارش می‌شود. مهم‌ترین ترکیب‌هـای تشـکیل‌دهنده اسـانس مریم‌گلی شامل سـیس‌توجن، کـامفور، ترنس‌تـوجن و ۱و۸- سـینئول می‌باشند (Farahpour et al., 2020). مریم‌گلی در طـب سـنتی بـه عنوان داروی مؤثر بـرای معالجـه عـوارض نـیش حشـرات، ضدسـم، ضدمیکروب، ضدروماتیسم، ضدنفخ و ضدسرطان مـورد اسـتفاده قـرار می‌گیرد. همچنین خصوصیات ضدالتهابی بارز ترپنوئیدهای مریم‌گلـی سبب شده است که با استفاده از عصاره این گیاه، مولکول‌های دارویی قدرتمندی برای درمان بیماری‌های التهـابی مـزمن ماننـد روماتیسـم، آسم، التهابات روده‌ای و تصلب شرائین و غیره طراحی و ساخته مـی-شـود (Govahi et al., 2015). برگ‌هـای مـریم‌گلـی حـاوی انـواع مختلفی از فلاونوئیدهـا و ترکیبـات فنلـی می‌باشـند و دارای خـواص دارویی مهمی همچون فعالیت آنتـی‌اکسـیدانی و ضـدالتهابی هسـتند (El-Haddad et al., 2020).

امروزه به‌واسطه اثرات منفـی تغییـرات اقلیمـی و افـزایش دمـای جهانی، عملکرد محصولات کشاورزی رو به کاهش است، به‌طوری‌که در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهـان، ایـن کـاهش عملکـرد بیشـتر می‌باشد. تنش خشکی از مهم‌تـرین عوامـل غیرزیسـتی محدودکننـده رشد و عملکرد در بسیاری از نواحی جهـان از جملـه ایـران می‌باشـد. ایران از لحـاظ ذخـایر منـابع آبـی دارای محـدودیت بـوده و متوسـط بارندگی سالانه در ایران ۲۵۰ میلی‌متر می‌باشـد کـه حـدود دو سـوم کمتر از میانگین جهانی است (Biglari et al., 2019). در طی مراحل رشدی گیاه، بروز تنش خشکی باعث کاهش رشد ریشه، افـت جـذب آب و مواد غذایی، بزرگ شدن سـلول‌هـا، سـنتز کلروفیـل، گسـترش برگ، فتوسـنتز، ارتفـاع بوتـه و سـطح بـرگ می‌شـود (Gao et al., 2020). تنش خشکی با توجه به مدت زمان، دوام و انـدازه کمبـود آن منجر به تغییر در صفت‌های فیزیولوژیکی، ریخت‌شناختی، بوم‌شناختی، بیوشیمیایی و مولکولی گیاهان شده و می‌تواند بر کمیت و کیفیت رشد و عملکـرد گیاهـان تـأثیر منفـی داشـته باشـد (Salehi-Lisar & Bakhshayeshan-Agdam, 2020). افزون‌بر این، تنش کم‌آبـی بـه دلیل کاهش هدایت روزنه‌ای باعث کاهش جذب CO_2، انـدازه بـرگ، ارتفاع ساقه و توسعه ریشه می‌شود. همچنین تنش خشکی، روابط آبی گیاه را مختل نموده، کارآیی مصرف آب را کاهش داده و باعث ایجـاد اختلال در تولید رنگدانه‌های فتوسنتزی شده و همچنین تبادل گـازی با محیط را کاهش می‌دهد که این عوامل در نهایت منجر به کـاهش رشـد و بهـره‌وری گیـاه مـی‌گـردد (Anjum et al., 2011). نتـایج پژوهش‌های قبلی نشان‌دهنده این است کـه تولیـد اسـانس در اغلـب گیاهان دارویی تحت تنش خشکی ملایم افزایش می‌یابـد. در شـرایط تنش ملایم، بسته شدن روزنه‌ها و کـاهش فتوسـنتز رخ نمـی‌دهـد و پیش‌ماده‌های لازم برای سنتز اسانس‌ها در گیاه به‌میزان کافی وجـود دارد. در نتیجه تولید ترپنوئیدها و ترکیب‌های فرار گیاه بـه‌دلیل نقـش محافظتی این ترکیب‌ها در برابـر دمـا و نـور بـالا، افـزایش مـی‌یابـد (Llusia et al., 2006). در مطالعـه‌ای روی گیـاه مرزنجـوش (*Origanum vulgare* L.)، مشاهده شد که با افزایش سطوح تـنش خشکی، وزن تر و عملکرد اسانس به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کـرد (Said-Al Ahl & Hussein, 2010). در پژوهشـی دیگـری روی مریم‌گلی گزارش شد که تنش خشکی متوسط منجر به افزایش درصد و عملکرد اسانس گیاه نسبت به شاهد شد. همچنین بیشـترین میـزان آلفا توجن ۱و۸ سینئول و کـامفور در تـنش خشـکی متوسـط حاصـل گردید (Govahi et al., 2015).

کودهای زیستی حاوی قارچ‌هـا و بـاکتری‌هـای مفیـد حل‌کننـده عناصر غذایی هستند که معمولاً با اسیدی کـردن خـاک و یـا ترشـح آنزیم‌ها باعث آزادسازی این عناصر از ترکیب‌هـای پیچیـده معـدنی و آلی شده و در نتیجه منجر به افزایش جذب آن‌ها توسط گیاه می‌شوند. قارچ‌های مایکوریزا آربوسکولار، یکی از عوامل بیولوژیک خـاک‌هـای زراعی می‌باشند که به‌دلیل افزایش سـطح مـؤثر ریشـه و بـه‌دنبال آن سطح جذب و توانایی افزایش جذب فسفر و سایر عناصـر غـذایی بـه واسطه فعالیت آنزیم فسـفاتاز و ترکیب‌هـای آلـی حل‌کننـده فسـفات نامحلول موجب استفاده تجـاری از ایـن قـارچ‌هـا بـه‌عنوان کودهـای زیسـتی شـده اسـت (Willmann et al., 2013). همچنـین قـارچ مـایکوریزا، مقاومـت گیـاه در برابـر تعـدادی از تنش‌هـای زیسـتی و غیرزیستی از قبیل خشکی، کمبود مواد غـذایی، رسـوب فلـز سـمی و شوری را بهبود می‌بخشد. علاوه‌بر این نتایج پژوهش‌های قبلی نشـان داده است که کاربرد قارچ مایکوریزا به‌ویژه در گیاهان دارویـی منجـر به افزایش فتوسنتز، جذب رطوبت بیشتر از خاک، افزایش کلروفیـل و کاروتنوئید و فعالیت بیشتر آنزیم‌های آنتی‌اکسـیدانی در شـرایط تـنش شده است (Varma et al., 2018). تـاراف و همکـاران (Tarraf et al., 2017) با کاربرد قارچ مایکوریزا روی مریم‌گلی گزارش کردند که

کاربرد قارچ مایکوریزا منجر به افزایش تعداد برگ، وزن خشک برگ، تراکم غده‌های ترشح‌کننده اسانس، درصد و ترکیب‌های اسانس نسبت به عدم مصرف کود گردید. در مطالعه دیگری با بررسی اثر انواع قارچ‌های مایکوریزا در بهبود رشد، زیست‌توده و متابولیت‌های ثانویه گونه‌ای از مریم‌گلی (*Salvia miltiorrhiza* Bge) گزارش شد که همزیستی با قارچ‌های مایکوریزا سبب افزایش رشد ریشه و متابولیت‌های ثانویه گردید (Wu et al., 2021). عبدالهی ارپناهی و فیضیان (Abdollahi Arpanahi & Feizian, 2020) با کاربرد قارچ مایکوریزا (*Rhizophagus intraradices*, *Funneliformis mosseae*) روی آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) مشاهده کردند که تلقیح با قارچ مایکوریزا، اثرات سوء تنش خشکی را کاهش داد، به‌طوری‌که در شرایط تنش، تلقیح با قارچ مایکوریزا به افزایش وزن خشک ریشه، ساقه، درصد و عملکرد اسانس منجر گردید، همچنین بیشترین میزان تیمول در شرایط بدون تنش و تلقیح با قارچ مایکوریزا به دست آمد. در تحقیقی دیگر که روی دو ژنوتیپ ریحان (*Ocimum gratissimum* L.) IC_{599368} و IC_{589192} مشخص شد که کاربرد قارچ مایکوریزا(*Rhizophagus intraradices*) باعث افزایش وزن خشک برگ‌ها و درصد اسانس در هر دو ژنوتیپ نسبت به گیاهانی شد که قارچ دریافت نکرده بودند. دلیل آن است که قارچ مایکوریزا با تشکیل ارتباط همزیستی با ریشه‌های گیاه، توانایی جذب آب و عناصر غذایی مانند فسفر و نیتروژن را افزایش می‌دهد. این افزایش دسترسی به مواد مغذی باعث رشد برگ‌ها و تولید بیشتر متابولیت‌های ثانویه مانند اسانس می‌شود. همچنین بیشترین میزان ترکیبات ارزشمند بتا- کاریوفیلن و بتا- الیمن نیز در گیاهان همزیست با قارچ مایکوریزا مشاهده شد که نشان می‌دهد این قارچ نه‌تنها رشد گیاه را بهبود می‌بخشد، بلکه کیفیت شیمیایی اسانس‌ها را نیز افزایش می‌دهد (Thokchom et al., 2020).

فناوری نانو به‌عنوان نوعی فناوری مدرن، پیشتاز در رفع مشکلات و کمبودها در بسیاری از عرصه‌های علمی، به‌خوبی جایگاه خود را در علوم کشاورزی به اثبات رسانده است. نانوتکنولوژی نوعی راهبرد جدید می‌باشد که نشان داده است می‌تواند مقاومت محصولات را در برابر تنش خشکی افزایش دهد. نانوذره‌ها موادی با اندازه ۱ تا ۱۰۰ نانومتر تعریف می‌شوند که به‌راحتی جذب گیاه می‌شوند. نانوذره‌ها دارای خصوصیات فیزیکی و شیمیایی منحصربه‌فرد از جمله مساحت سطح بالا، حداکثر جذب، واکنش‌پذیری بالا، پایداری و آلودگی کمتر می‌باشند (Toksha et al., 2021). در کشاورزی پایدار، استفاده از تکنولوژی جدید نانو برای ساخت کودها به‌عنوان یک روش امیدبخش در افزایش تولید و تأمین نیاز غذایی جمعیت رو به رشد جهان در نظر گرفته می‌شود (Liu et al., 2015). پاسخ گیاه به نانوذره‌ها برحسب نوع گونه، مرحله رویشی و ماهیت نانوذره متفاوت می‌باشد. افزایش مقاومت در برابر تنش‌های غیرزیستی از جمله تنش خشکی با کاربرد نانو ذره دی‌اکسید تیتانیوم در برخی از گیاهان به اثبات رسیده است (Manzer et al., 2015). نانو دی‌اکسید تیتانیوم به‌عنوان محرک رشد گیاه شناخته می‌شود. واکنش گیاهان به این نانوذره در سطوح مختلف رخ می‌دهد (Ingle, 2021). به طوری که، نانو دی‌اکسید تیتانیوم می‌تواند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش و از تجمع انواع گونه‌های فعال اکسیژن و آسیب به بخش‌های حیاتی سلول ممانعت نماید. همچنین نانو دی‌اکسید تیتانیوم منجر به افزایش جذب عناصر غذایی (فسفر و نیتروژن)، محتوای کلروفیل (a و b)، فتوسنتز و رشد گیاه می‌گردد (Chaudhary & Singh, 2020). همچنین تأثیر نانو دی‌اکسید تیتانیوم در افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان مختلف مورد بررسی قرار گرفته است (Khater et al., 2021 ; Shabbir et al., 2019;). نانو دی‌اکسید تیتانیوم دارای خاصیت فتوکاتالیستی می‌باشد و جذب نور را بهبود می‌بخشد و باعث انتقال انرژی نورانی به الکترون‌ها و تبدیل آن‌ها به انرژی شیمیایی و در نهایت افزایش تثبیت کربن دی‌اکسید می‌گردد. همچنین نانو دی‌اکسید تیتانیوم می‌تواند با افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتار و فسفاتاز، جذب نیتروژن و فسفر را بهبود بخشیده و باعث افزایش فعالیت آنزیمی، فتوسنتز و تولید متابولیت‌های ثانویه گردد (Ingle, 2021; Ahmad et al., 2018). در پژوهشی با ارزیابی سطوح مختلف نانو دی‌اکسید تیتانیوم (صفر، ۱۰ و ۴۰ پی‌پی‌ام) در شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی روی بادرشبی (*Dracocephalum moldavica* L.) گزارش کردند که بیشترین عملکرد اسانس با محلول‌پاشی ۱۰ پی‌پی‌ام نانو دی‌اکسید تیتانیوم تحت شرایط تنش خشکی به دست آمد (Mohammadi et al., 2016). غلامی و همکاران (Golami et al., 2018) گزارش کردند که کاربرد ۲۰ پی پی‌ام نانو دی‌اکسید تیتانیوم منجر به افزایش عملکرد و ترکیب‌های اسانس (۱و۸ سینئول، اندو وبرنئول، کاریوفیلین و آلفا– هیومولین) رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) گردید.

هرچند کشت خالص دارای عملکرد بالایی است و در تأمین

نیازهای غذایی جمعیت رو به رشد نقش مهمی ایفا می‌کند، ولی به هزینه و انرژی بالایی نیاز داشته و از نظر بوم‌شناختی باعث بروز مشکلاتی از جمله آلودگی آب‌های زیرزمینی، افزایش آفات، بیماری‌ها و علف‌های هرز، از بین رفتن منابع طبیعی و کاهش تنوع زیستی می شود. بنابراین، بازنگری در روش‌های متداول کشاورزی و راهکارهای مربوط به استفاده بیشتر و بهتر از منابع و افزایش کارآیی تولید ضروری است (Nasiri Mahallati et al., 2015). کشت مخلوط به‌عنوان یکی از مهم‌ترین سیستم‌های کشاورزی پایدار، می‌تواند برای افزایش تنوع و سود حاصل از آن‌ها در واحد سطح و زمان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار باشد. افزایش تولید در کشت مخلوط را می‌توان به کاهش رشد علف‌های هرز، کاهش خسارت آفات و بیماری‌ها، سرعت رشد بیشتر و استفاده بهتر از منابع در دسترس نسبت داد. نظام کشت مخلوط، با افزایش تعداد گونه‌ها در واحد سطح، به‌عنوان یک راه حل برای افزایش تولید در کشاورزی پیشرفته پیشنهاد شده است (Monti et al., 2016). نتایج پژوهشی نشان داد که درصد اسانس رازیانه (*Foeniculum vulgare* L.) در کلیه الگوهای کشت مخلوط با لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) بیشتر از کشت خالص آن بود. همچنین بیشترین میزان درصد اسانس در الگوی کشت مخلوط ۲ ردیف رازیانه + ۲ ردیف لوبیا به دست آمد و ۲۱ درصد نسبت به کشت خالص رازیانه بیشتر بود. علاوه‌بر این، بیشترین میزان اسیدهای چرب غیراشباع (اسید اولئیک و لینولئیک) در الگوی کشت مخلوط دو ردیف رازیانه + دو ردیف لوبیا و با کاربرد باکتری‌های محرک رشد به دست آمد (Rezaei-Chiyaneh et al., 2020). بر این اساس، با توجه به اهمیت موارد ذکرشده، این پژوهش با هدف بررسی اثرات رژیم‌های مختلف آبیاری، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و قارچ مایکوریزا بر کمیت و کیفیت اسانس مریم‌گلی در کشت مخلوط با نعناع‌فلفلی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال‌های زراعی ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ در مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه با طول جغرافیایی ۴۶ درجه و ۱۶ دقیقه شرقی و عرض ۳۷ درجه و ۲۳ دقیقه شمالی و با ارتفاع ۱۴۸۵ متر از سطح دریا اجرا شد. قبل از اجرای آزمایش، سه نمونه خاک به‌صورت تصادفی از قسمت‌های مختلف محل اجرای آزمایش برداشته و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن اندازه‌گیری شد (جدول ۱). علاوه‌بر این، مجموع بارش و میانگین دمای ماهانه سال‌های مورد آزمایش در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۱- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش

Table 1- Some physical and chemical properties of the soil where the experiment was conducted

بافت Texture	ظرفیت زراعی Field capacity (%)	نقطه پژمردگی دائم Permanent wilting point (%)	نیتروژن کل Total nitrogen ($g.kg^{-1}$)	فسفر قابل جذب Absorbable phosphorus ($mg.kg^{-1}$)	پتاسیم قابل جذب Absorbable potassium ($mg.kg^{-1}$)	ظرفیت تبادل کاتیونی Cation exchange capacity ($cmol.kg^{-1}$)	اسیدیته pH	هدایت الکتریکی EC ($dS.m^{-1}$)	ماده آلی Organic matter ($g.kg^{-1}$)
Sandy clay loam لوم رسی شنی	27.1	13.7	0.87	9.7	563.85	26.5	7.73	1.17	8.1

جدول ۲- میانگین دما و مجموع بارش ماهانه در طول دوره رشد

Table 2- Mean temperature and cumulative monthly precipitation throughout the growth period

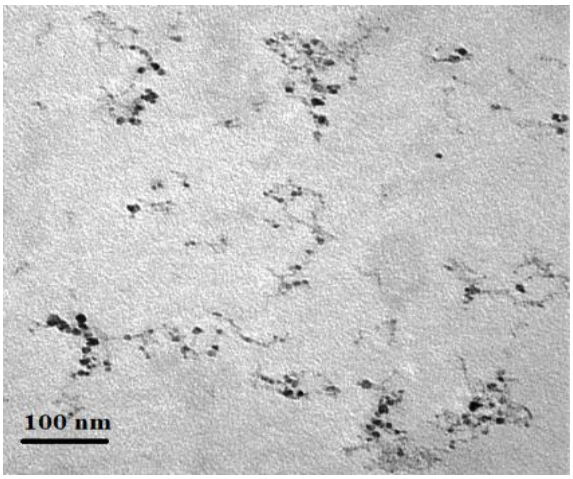
شهریور September	مرداد August	تیر July	خرداد June	اردیبهشت May	فروردین April	میانگین دمای ماهانه (درجه سانتیگراد) Monthly mean temperature (°C)
22.1	27.8	27.6	25.7	18.5	10.4	2019
23.8	25.1	28	24.2	19.1	11.8	2020
						بارش ماهانه (میلیمتر) Monthly precipitation (mm)
0	0	0	4.2	37.8	51.3	2019
0	1.2	0.1	2.6	12	63.3	2020

آزمایش به‌صورت کرت‌های دو بار خرد شده[1] برپایه طرح بلوک های کامل تصادفی (RCBD) با سه تکرار اجرا شد. عامل اول رژیم-های مختلف آبیاری در سه سطح، آبیاری پس از ۲۵ درصد حداکثر تخلیه مجاز رطوبتی (MAD_{25}) به‌عنوان آبیاری نرمال، آبیاری پس از ۵۰ درصد حداکثر تخلیه مجاز رطوبتی (MAD_{50}) به‌عنوان تنش ملایم و آبیاری پس از ۷۵ درصد حداکثر تخلیه مجاز رطوبتی (MAD_{75}) به‌عنوان تنش شدید می‌باشد. عامل فرعی الگوهای مختلف کشت (کشت خالص نعناع‌فلفلی، کشت خالص مریم‌گلی، کشت مخلوط یک ردیف نعناع‌فلفلی + یک ردیف مریم‌گلی) و عامل فرعی فرعی منابع مختلف کودی شامل عدم مصرف کود به‌عنوان شاهد، نانو دی‌اکسید تیتانیوم، قارچ مایکوریزا (*Funneliformis mosseae*) و کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم بود.

برای سنتز نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، ابتدا مقدار مورد نظر از تیتانیوم ایزوپروپوکساید[2] در شرایط سرد (صفر درجه سانتی‌گراد) با سرعت به هم زده شد تا رسوب تیتانیوم هیدرواکسید[3] تشکیل شود. رسوب تیتانیوم هیدرواکسید سه بار با آب مقطر شست‌وشو و سپس در اسید نیتریک حل شد تا محلول شفاف و همگن تیتانیل نیترات[4] به دست آید. در ادامه برای تولید نانو دی‌اکسید تیتانیوم، تیتانیل نیترات را با محلول اوره به نسبت مولی ۱:۱ در بشر ۲۵۰ میلی‌لیتری مخلوط و سپس در کوره الکتریکی با دمای ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از دو ساعت، محصول جامد نانو دی‌اکسید تیتانیوم تولید و جمع‌آوری گردید. نانو دی‌اکسید تیتانیوم تولیدشده تا زمان استفاده در آون خلاء نگهداری گردید (Nagaveni et al., 2004). عکس‌برداری TEM[5] با دستگاه Zeiss EM-09 (شکل ۱) و بررسی توزیع اندازه ذرات به‌روش پراکندگی نور دینامیکی[6] و با استفاده از دستگاه زتا سایزر[7] و در مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام پذیرفت. میانگین اندازه ذره‌ها مابین ۶۰ تا ۷۰ نانومتر بود (شکل ۲). همچنین عکس‌برداری SEM[8] در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه تبریز انجام پذیرفت (شکل ۳). قبل از محلول‌پاشی، نانو دی‌اکسید تیتانیوم با آب مقطر (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) مخلوط و به‌مدت دو ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به‌وسیله همزن مکانیکی هم زده شد. سپس محلول به‌دست‌آمده به‌مدت یک ساعت در داخل دستگاه التراسونیک پروب‌دار قرار داده شد تا محلول پایدار تشکیل گردد. در نهایت محلول به‌دست‌آمده در مرحله قبل از گل‌دهی با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر روی بوته‌های مریم‌گلی و نعناع‌فلفلی محلول‌پاشی شد.

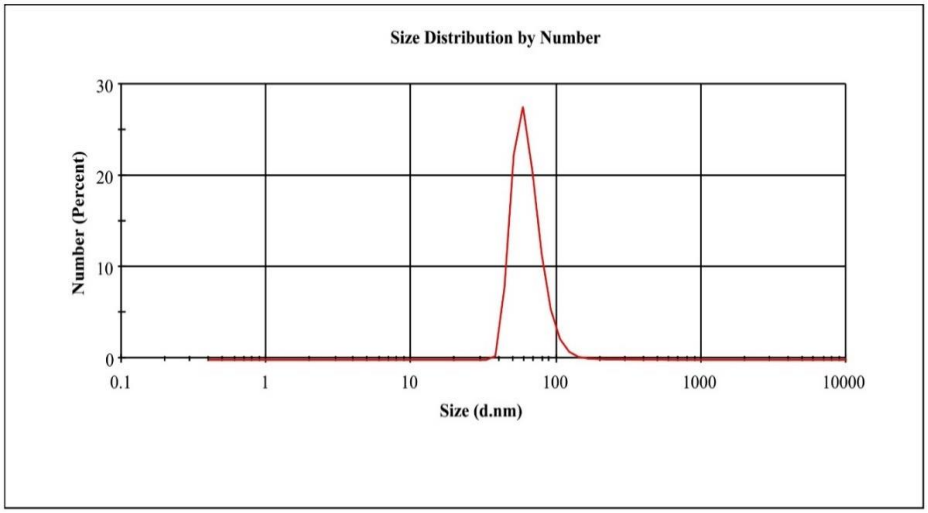
به‌منظور آماده‌سازی زمین برای کاشت، شخم نیمه‌عمیق در اوایل پاییز توسط گاوآهن برگردان‌دار انجام و در بهار پس از شخم سطحی، برای نرم کردن خاک از دو نوبت دیسک عمود بر هم استفاده شد. هر کرت شامل شش خط کاشت به طول سه متر با فواصل بین و روی ردیف به‌ترتیب ۴۰ و ۲۵ سانتی‌متر برای نعناع‌فلفلی و مریم‌گلی بود. مساحت کرت ۴/۸ مترمربع در نظر گرفته شد. قارچ مایکوریزای مورد استفاده در این پژوهش (*Funneliformis mosseae*) از شرکت زیست‌فناور پیشتاز واریان کرج تهیه شد. هنگام کاشت، ۸۰ گرم از خاک حاوی هیف‌های قارچ مایکوریزا، بقایای ریشه و اسپور (۱۰۰۰ اسپور در هر ۱۰ گرم خاک)، در هر خط کشت استفاده گردید. تلقیح مایکوریزا در شرایط محیطی کاملاً کنترل‌شده انجام گردید تا از کلونیزاسیون مؤثر ریشه و یکنواختی تیمارها اطمینان حاصل شود. تلقیح در مرحله استقرار اولیه گیاه (کاشت/نشاکاری) و در خاکی با رطوبت مناسب برای فعالیت قارچ (۷۰–۶۰ درصد ظرفیت زراعی) صورت گرفت. دمای محیط رشد در محدوده بهینه فعالیت مایکوریزا (۲۲–۲۸ درجه سانتی‌گراد) حفظ شد و از کود فسفری که می‌تواند کلونیزاسیون را کاهش دهد، استفاده نشد. نشاهای مریم‌گلی و نعناع فلفلی با تراکم ۱۰ بوته در مترمربع در عمق ۱۰ سانتی‌متری خاک به‌صورت همزمان کاشته شدند. بلافاصله اولین نوبت آبیاری پس از کاشت انجام پذیرفت. برای سازگاری بیشتر نشاهای منتقل‌شده به خاک و دستیابی به رشد بهینه، در ماه نخست هیچ‌گونه تنشی اعمال نشد.

1 - Split split plot
2 - Titanium isopropoxide
3 - $TiO(OH)_2$
4 - Homogeneous titanyl nitrate [$TiO(NO_3)_2$] solution
5 - Transmission electron microscopy
6 - Dynamic light scattering
7 - Zetasizer Nano ZS90- Malvern, ZEN3600
8 - Scanning electron microscopy



شکل ۱- عکس TEM از نانو دی‌اکسید تیتانیوم مورد استفاده در این آزمایش

Fig. 1- TEM image of the titanium dioxide nanoparticles used in this experiment



شکل ۲- اندازه نانو دی‌اکسید تیتانیوم مورد استفاده در این آزمایش

Fig. 2- Size of the titanium dioxide nanoparticles used in this experiment

همچنین مبارزه با علف‌های هرز به‌صورت منظم و به‌طور دستی انجام شد. برای اعمال سطوح تنش خشکی از دستگاه رطوبت‌سنج[1] استفاده گردید. تیمارهای آبیاری براساس بیشینه درصد تخلیه مجاز از آب در دسترس[2] انجام شد. اعمال تنش‌ها با استفاده از معادله‌های زیر مورد محاسبه قرار گرفت (Bahreininejad et al., 2013).

معادله (۱) $SAW= (\theta_{fc}- \theta_{pwp}) \times d$

معادله (۲) $I_d= SAW \times p$

معادله (۳) $Ig= [I_d \times 100] / Ea$

که در آن، θ_{fc}، θ_{pwp}، d، p، I_d، E_a و Ig به‌ترتیب ظرفیت زراعی خاک (۲۷/۱ درصد)، نقطه پژمردگی دائم (۱۳/۷ درصد)، عمق خاک (سانتی‌متر)، درصد تنش اعمال‌شده (۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد)، عمق خالص آبیاری (۲۰ سانتی‌متر)، کارآیی آبیاری (۶۵ درصد در نظر گرفته شده است) و عمق ناخالص آبیاری در تنش‌های مختلف می‌باشد. برای تعیین زمان آبیاری در مراحل مختلف رشد از معادله ۴ استفاده گردید (Gheysari et al., 2015).

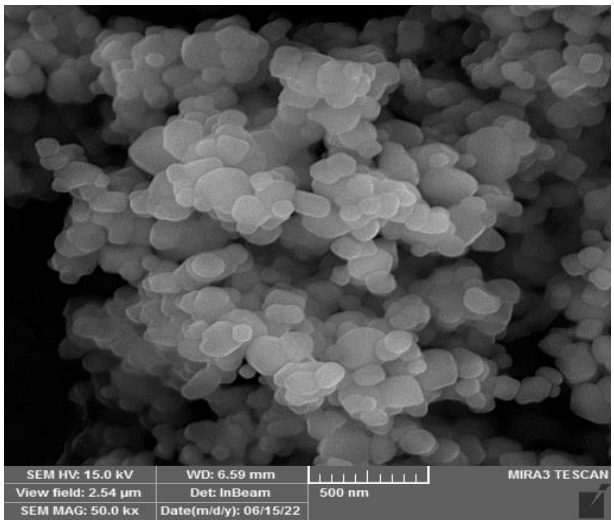
معادله (۴) $MAD= \theta_{fc} - (\theta_{fc}- \theta_{pwp}) \times a$

که در آن، a: تنش‌های اعمال‌شده در تیمارهای آبیاری (۰/۲۵، ۰/۵۰ و ۰/۷۵) می‌باشد. همچنین برای محاسبه حجم آبیاری، از

1- Time domain reflectometry
2- Soil available water

حاصل ضرب مقدار عمق ناخالص آبیاری محاسبه‌شده در مساحت هر کرت استفاده شد. براساس میانگین دو سال، حجم آبیاری نهایی در طول فصل رشد در آبیاری نرمال، تنش ملایم و شدید به‌ترتیب ۱/۱۶، ۰/۸۷ و ۰/۵۸ مترمکعب (معادل ۱۱۶۰، ۸۷۰ و ۵۸۰ لیتر) بود.

با توجه به اینکه نوع آبیاری مورد استفاده در این آزمایش قطره‌ای بود، برای محاسبه میزان زمان مورد نیاز برای رسیدن به حجم مطلوب هر کرت، نیاز به تعیین میزان سطح خیس‌شوندگی خاک (P_W) بود.



شکل ۳- عکس SEM از نانو دی‌اکسید تیتانیوم مورد استفاده در این آزمایش

Fig. 3- SEM image of the titanium dioxide nanoparticles used in this experiment

معادله (۵)
$$P_W = \frac{W}{D}$$

که در آن، P_W، W و D: به‌ترتیب درصد سطح خیس‌شده مزرعه، عرض خیس‌شده توسط قطره چکان و فاصله بین ردیف‌های کشت می‌باشد. برای اندازه‌گیری دبی از یک بشر با حجم مشخص استفاده گردید. مدت زمان لازم برای پر شدن بشر به‌وسیله کورنومتر اندازه‌گیری و دبی از طریق معادله ۶ محاسبه گردید.

معادله (۶)
$$Q = \frac{V}{t}$$

که در آن، Q، V و t: به‌ترتیب دبی آب برحسب مترمکعب در ثانیه، حجم ظرف برحسب مترمکعب و مدت زمان لازم برای پر شدن ظرف برحسب ثانیه می‌باشد. با توجه به اینکه تعداد قطره چکان موجود در هر کرت و همچنین دبی آب ورودی به سطح هر کرت مشخص می‌باشد، زمان مورد نیاز برای رسیدن به حجم آبیاری مورد نظر برای هر کرت از طریق معادله ۷ محاسبه گردید (Li et al., 2024).

معادله (۷)
$$\text{زمان مورد نیاز} = \frac{\text{حجم آب مورد نیاز}}{\text{دبی آب ورودی} \times \text{تعداد قطره چکان در هر کرت}}$$

درصد کلونیزاسیون ریشه

به‌منظور تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه، نمونه‌برداری در آخر فصل رشد از تیمارهای تلقیح‌شده با قارچ مایکوریزا صورت گرفت. ابتدا ریشه‌ها را داخل آب قرار داده تا خیس شوند، سپس به‌آرامی با آب شست‌وشو داده شدند. در ادامه برای حذف محتویات داخل سلول، ریشه‌ها در داخل محلول پتاسیم هیدرواکسید[1] ده درصد به‌مدت ۵ الی ۱۰ دقیقه روی چراغ بونزن حرارت داده شدند. سپس ریشه‌ها با آب مقطر شست‌وشو داده شد. پس از آن، ریشه‌ها در داخل محلول اسید هیدروکلریک[2] دو درصد به‌مدت ۱۵ الی ۲۰ دقیقه اسیدی شدند. سپس برای رنگ‌آمیزی، ریشه‌ها در داخل لاکتوفنول کاتن بلو ۲۰ درصد به‌مدت ۱۰ دقیقه روی چراغ بونزن حرارت داده شد. بعد از رنگ آمیزی، ریشه‌ها با آب مقطرشست‌وشو داده شدند. سپس ریشه‌ها در یک محلول حاوی اسیدلاکتیک، گلیسرول و آب به نسبت ۱:۱:۱ (v:v:v) تا زمان سنجش نگه داشته شد (McGonigle et al., 1990; Koske & Gemm, 1989; Phillips & Hayman, 1970). نمونه‌های رنگ‌آمیزی‌شده توسط میکروسکوپ نوری الیمپوس مدل

1- KOH
2- HCL

BH-2 مورد بررسی و مطالعه قرار گرفتند. درصد کلونیزاسیون به‌روش خطوط متقاطع محاسبه شد. بدین صورت که در مورد هر تیمار، ریشه‌های رنگ‌آمیزی‌شده به قطعات یک سانتی‌متری برش داده و به‌صورت تصادفی درون پلیت شیشه‌ای قرار داده شد. سپس یک صفحه شطرنجی به ابعاد ۱×۱ سانتی‌متر تهیه و زیر پلیت قرار گرفت، برای مشاهده و شمارش ریشه‌های آلوده و غیرآلوده از یک استیرو میکروسکوپ (بینوکولار) با بزرگنمایی × ۴۰ استفاده گردید. ریشه‌های آلوده و غیرآلوده که با خطوط عمودی و افقی صفحه شطرنجی تقاطعی را ایجاد کرده بودند، هرکدام جداگانه شمارش شدند و درصد کلونیزاسیون از معادله ۸ محاسبه شد (Giovannetti & Mosse, 1980).

معادله (۸) درصد کلونیزاسیون = (مجموع ریشه‌های آلوده / مجموع کل ریشه‌های آلوده و غیرآلوده) × ۱۰۰

استخراج اسانس

برای استخراج اسانس از دستگاه کلونجر طرح آپاراتوس استفاده شد. در مرحله گل‌دهی کامل، سرشاخه‌های گلدار مریم‌گلی برداشت شد و به اتاق تاریک و خنک جهت خشک شدن انتقال یافت. سپس به هر نمونه خشک‌شده در بالن ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه نموده و اسانس‌گیری به‌مدت سه ساعت صورت گرفت، اسانس‌های استخراج شده با سدیم سولفات خشک آبگیری و سپس داخل ویال شیشه‌ای در دمای چهار درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگهداری شدند. درصد و عملکرد اسانس براساس معادله‌های ۹ و ۱۰ محاسبه شدند (Morshedloo et al., 2017).

معادله (۹)

درصد اسانس = (وزن خشک نمونه (گرم)/ وزن اسانس) × ۱۰۰

معادله (۱۰) عملکرد اسانس = درصد اسانس × عملکرد ماده خشک

شناسایی ترکیبات اسانس

برای شناسایی ترکیبات اسانس گیاه مریم‌گلی از دستگاه کروماتوگرافی گازی[1] متصل‌شده به طیف‌سنجی جرمی[2] مدل آجایلنت[3] ساخت کشور آمریکا، با ستون HP-5 MS (پنج درصد فنیل متیل پلی‌سیلوکسان، به‌طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت ماده جاذب ۰/۲۵ میکرومتر) استفاده گردید. در برنامه‌ریزی دمایی آون، ابتدا دما در عرض ۵ دقیقه به ۶۰ درجه سانتی‌گراد رسیده، سپس به‌تدریج دما با سرعت ۳ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت تا به دمای ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد رسید. بعد از آن به‌مدت ۲۰ دقیقه در این دما نگه‌داری شد. هلیوم به‌عنوان گاز حامل با سرعت جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه استفاده شد. ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی گراد بود. محفظه تزریق در حالت تقسیم (نسبت تقسیم ۱:۳۰) تنظیم شده بود و محدوده جذب جرمی از ۴۰ تا m/z ۴۰۰ بود. به‌منظور محاسبه شاخص بازداری ترکیبات، مخلوطی از هیدروکربن‌های آلیفاتیک[4] تحت شرایط برنامه دمایی آنالیز نمونه اسانس به داخل سیستم جی‌سی تزریق شد. نرم‌افزار مورد استفاده Chemstation بود. محاسبه و شناسایی ترکیبات اسانس به کمک شاخص‌های بازداری خطی آن‌ها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتاب مرجع (Adams, 2007) و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری صورت گرفت. برای جداسازی ترکیبات از دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل Agilent 7990B ساخت کشور آمریکا با آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای[5] و ستون VF-5MS استفاده گردید. دمای تزریق و آشکارساز به‌ترتیب روی ۲۳۰ و ۲۴۰ سانتی‌گراد تنظیم شد. گاز هلیوم با سرعت جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه و نسبت تقسیم ۱:۲۴ استفاده شد. نمونه‌های اسانس به نسبت ۱:۱۰۰ در هگزان رقیق‌سازی و به‌میزان یک میکرولیتر تزریق شدند. کمّی کردن ترکیبات اسانس با استفاده از نرمال‌سازی سطح قله و بدون استفاده از ضرایب اصلاح انجام پذیرفت (Morshedloo et al., 2018).

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی

کلروفیل و کاروتنوئید موجود در برگ‌های مریم‌گلی به‌روش لیشتنتالر (Lichtenthaler, 1987) مشخص گردید. بدین منظور، ۱۰۰ میلی‌گرم وزن تر برگ در داخل هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد خوب ساییده گردید. سپس فالکون‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه در دور ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. حجم محلول

1- Chromatograph gas
2- Spectrometer mass
3- Agilent Co. USA

4- C8-C40
5- Flame ionization detector

فوقانی توسط استون ۸۰ درصد به ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد و مقدار کلروفیل و کاروتنوئید توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-1800 Shimadzu, Japan) با میزان جذب در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۶۳/۲ و ۶۴۶/۸ تعیین و غلظت کلروفیل و کاروتنوئید با استفاده از معادله های ۱۱ تا ۱۴ محاسبه گردید.

معادله (۱۱) $Chl\ a= (12.25A_{663.2}) - (2.79A_{646.8})$

معادله (۱۲) $Chl\ b= (21.5A_{646.8}) - (5.1A_{663.2})$

معادله (۱۳) $Chl\ a+b= (7.15A_{663.2}) + (18.71A_{646.8})$

معادله (۱۴) $Car = [1000A_{470}-1.82C_a-85.02C_b]/198$

آنالیز آماری

در نهایت، بعد از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها با آزمون Shapiro–Wilk، تجزیه واریانس مرکب داده‌ها به‌صورت کرت‌های دو بار خردشده با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS ورژن ۹/۴ و رسم نمودارها توسط نرم‌افزار Excel صورت پذیرفت. همچنین مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

کلونیزاسیون ریشه مریم‌گلی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که کلونیزاسیون ریشه مریم‌گلی تحت تأثیر معنی‌دار اثرات ساده سال، رژیم‌های مختلف آبیاری، منابع کودی و اثر متقابل رژیم‌های آبیاری × منابع کودی قرار گرفت (جدول ۳). بیشترین میزان کلونیزاسیون ریشه مریم‌گلی (۸۵ درصد) در شرایط آبیاری نرمال با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم به دست آمد. با افزایش شدت تنش خشکی از میزان کلونیزاسیون ریشه کاسته شد، به‌طوری‌که کلونیزاسیون ریشه در شرایط تنش ملایم و شدید به‌ترتیب ۱۷/۳ و ۴۲/۸ درصد کاهش یافت (شکل ۴). علاوه‌بر این، درصد کلونیزاسیون ریشه مریم‌گلی در سال اول ۴/۵ درصد نسبت به سال دوم بیشتر بود. (شکل ۵). تنش خشکی تأثیر منفی روی فیزیولوژی، رشد و بهره‌وری گیاهان دارد. یکی از راهکارها برای افزایش سازگاری با این شرایط نامطلوب، ایجاد رابطه همزیستی با میکروارگانسیم‌ها می‌باشد. در پژوهش حاضر، درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه مریم‌گلی با افزایش روند خشکی کاهش یافت که می‌تواند با تخریب فعالیت و جمعیت میکروبی خاک و همچنین با کاهش جوانه‌زنی اسپورها، تراکم اسپورها، ترشحات ریشه‌ای، تحرک و دسترسی به عناصر غذایی و تأمین کربوهیدرات توسط گیاه میزبان مرتبط باشد (Abdollahi Arpanahi et al., 2020). قنبرزاده و همکاران (Ghanbarzadeh et al., 2019) با بررسی سطوح مختلف تنش کم‌آبی و کاربرد قارچ مایکوریزا (*Claroideoglomus etunicatum*) روی بادرشبی گزارش کردند که تنش خشکی باعث کاهش درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه گردید، به‌طوری‌که بیشترین و کمترین درصد کلونیزاسیون ریشه به‌ترتیب در ۱۰۰ و۴۰ درصد ظرفیت زراعی به دست آمد. همچنین این پژوهشگران اظهار داشتند که میزان رطوبت خاک و در دسترس بودن کربن برای گیاه میزبان از عوامل تأثیرگذار بر کلونیزاسیون ریشه می‌باشد. در مطالعه‌ای دیگر با کاربرد قارچ مایکوریزا (*Glomus versiforme*) و اعمال تنش خشکی روی گیاه تنباکو (*Nicotiana tabacum* L. Variety Yunyan 87) مشاهده کردند که با افزایش تنش خشکی، درصد کلونیزاسیون ریشه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. به‌طوری‌که درصد کلونیزاسیون در تنش‌های ملایم و شدید به‌ترتیب ۲۴/۱ و ۳۸/۶ کاهش یافت (Begum et al., 2021). شوکلا و همکاران (Shukla et al., 2013) مشاهده کردند که میزان رطوبت خاک یکی از عوامل تأثیر-گذار بر میزان کلونیزاسیون ریشه می‌باشد. همچنین این پژوهشگران بیان کردند که بیشترین و کمترین درصد کلونیزاسیون ریشه در دو گیاه ماش سیاه (*Vigna mungo* (L.) Hepper) و گندم به‌ترتیب در ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی به دست آمد. همچنین در پژوهشی دیگر با ارزیابی کشت مخلوط سویا (*Glycine max* L.) با گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) و کاربرد قارچ میکوریزا گزارش کردند که در بین الگوهای مختلف کشت، تفاوت معنی‌داری از لحاظ درصد کلونیزاسیون وجود نداشت (Weisany et al., 2021).

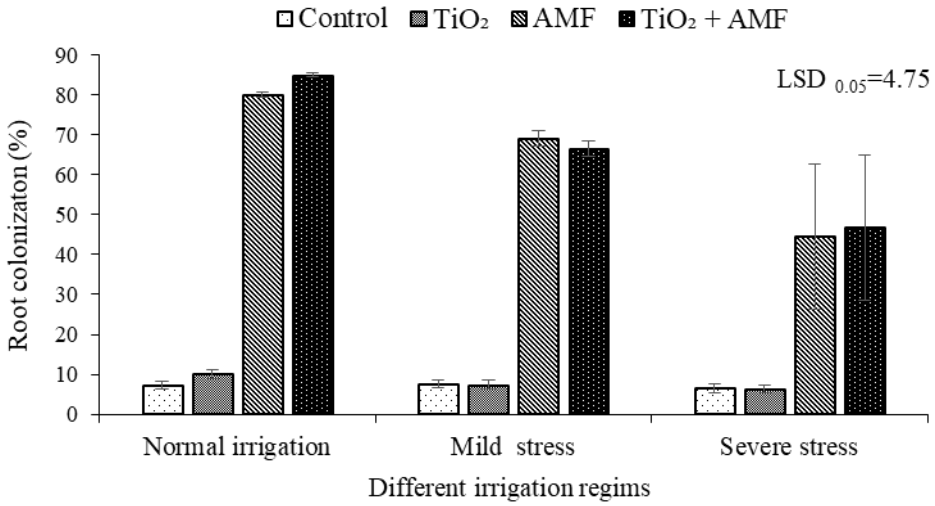
جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تیمارها بر درصد کلونیزاسیون، عملکرد ماده خشک، درصد و عملکرد اسانس مریم‌گلی

Table 3- Results of variance analysis of the effect of different treatments on colonization percentage, dry matter yield, EO content and yield of sage

منابع تغییر S.O.V	میانگین مربعات Mean of squares				
	درجه آزادی df	درصد کلونیزاسیون Colonization percentage	عملکرد ماده خشک Dry matter yield	درصد اسانس Essential oil content	عملکرد اسانس Essential oil yield
سال Year	1	93.61*	27.031$^{n.s}$	0.0001$^{n.s}$	0.20$^{n.s}$
خطای a Error a	4	9.64	474.94	0.02	0.04
رژیم‌های آبیاری Irrigation regimes	2	4635.65**	170478.55*	4.10**	47.03
سال × رژیم آبیاری Year × Irrigation regimes	2	43.18$^{n.s}$	733.58$^{n.s}$	0.04$^{n.s}$	0.15$^{n.s}$
خطای b Error b	8	18.17	183.35	0.01	0.05
الگوی کشت Planting patterns	1	94.58	49276.79*	0.52*	2.40**
الگوی کشت × رژیم آبیاری Irrigation regimes × Planting patterns	2	1.69$^{n.s}$	4129.75$^{n.s}$	0.04*	0.33$^{n.s}$
سال الگوی × کشت Year × Planting patterns	1	1.54$^{n.s}$	44.00$^{n.s}$	0.0004$^{n.s}$	0.00001$^{n.s}$
سال × رژیم آبیاری × الگوی کشت Year × Irrigation regimes × Planting patterns	2	2.92$^{n.s}$	340.76$^{n.s}$	0.0005$^{n.s}$	0.10$^{n.s}$
خطای c Error c	12	0.81	102.38	0.003	0.03
(دی‌اکسید تیتانیوم + قارچ مایکوریزا) (Nano titanium dioxide + Arbuscular mycorrhizal fungi)	3	40140.69	24978.84**	0.56**	4.42*
رژیم آبیاری × (دی‌اکسید تیتانیوم + قارچ مایکوریزا) (Nano titanium dioxide + Arbuscular mycorrhizal fungi) × Irrigation regimes	6	1262.55**	7695.55*	0.12**	1.85**
الگوی کشت × (دی‌اکسید تیتانیوم + قارچ مایکوریزا) Planting patterns × (Nano titanium dioxide + Arbuscular mycorrhizal fungi)	3	10.86$^{n.s}$	1456.12*	0.007*	0.033$^{n.s}$
رژیم آبیاری × الگوی کشت × منابع کودی Irrigation × Planting patterns × Fertilizer sources	6	0.63$^{n.s}$	396.69$^{n.s}$	0.012$^{n.s}$	0.08$^{n.s}$
سال× (دی‌اکسید تیتانیوم + قارچ مایکوریزا) Year × (Nano titanium dioxide + Arbuscular mycorrhizal fungi)	3	17.11$^{n.s}$	586.20$^{n.s}$	0.010$^{n.s}$	0.09$^{n.s}$
سال × رژیم آبیاری × (دی‌اکسید تیتانیوم + قارچ مایکوریزا) Year × Irrigation regimes × (nano titanium dioxide + arbuscular mycorrhizal fungi)	6	22.70$^{n.s}$	345.60$^{n.s}$	0.014$^{n.s}$	0.06$^{n.s}$
سال × الگوی کشت × (دی‌اکسید تیتانیوم + قارچ مایکوریزا) Year × Planting patterns × (Nano titanium dioxide + Arbuscular mycorrhizal fungi)	3	1.30$^{n.s}$	116.21$^{n.s}$	0.001$^{n.s}$	0.01$^{n.s}$
سال× رژیم آبیاری × الگوی کشت × (دی‌اکسید تیتانیوم + قارچ مایکوریزا) Year × Irrigation regimes × Planting patterns × (Nano titanium dioxide + Arbuscular mycorrhizal fungi)	6	0.85$^{n.s}$	109.64$^{n.s}$	0.003$^{n.s}$	0.02$^{n.s}$
خطای کل Total error	72	11.11	304.17	0.01	0.05
ضریب تغییرات CV (%)		9.16	13.53	8.48	15.19

**، * و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح یک و پنج درصد و عدم تفاوت معنی‌دار.

**, * and ns: are significant at the 1 and 5 percent levels, respectively, and there is no significant difference.

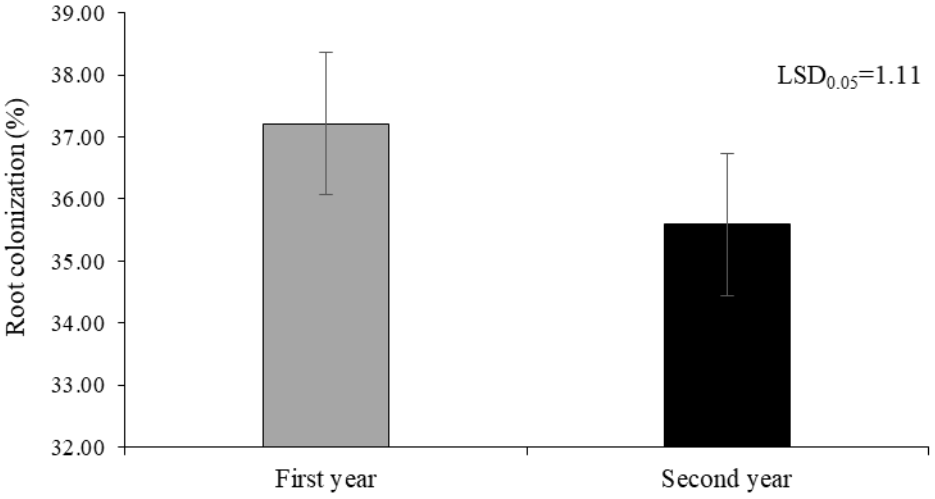


شکل ٤- مقایسه میانگین کلونیزاسیون ریشه مریم‌گلی تحت تأثیر رژیم‌های مختلف آبیاری، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و قارچ مایکوریزا

Fig. 4- Mean comparison of sage roots colonization under the influence of different different irrigation regimes, nano titanium dioxide and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF)

TiO_2: نانو دی‌اکسید تیتانیوم و AMF: قارچ آرباسکولار مایکوریزا

TiO_2: Nano titanium dioxide and AMF: Arbuscular mycorrhizal fungi



شکل ٥- مقایسه میانگین درصد کلونیزاسیون ریشه مریم‌گلی در سال‌های اول و دوم آزمایش

Fig. 5– Mean comparison of the sage root colonization in the first and second years of the experiment

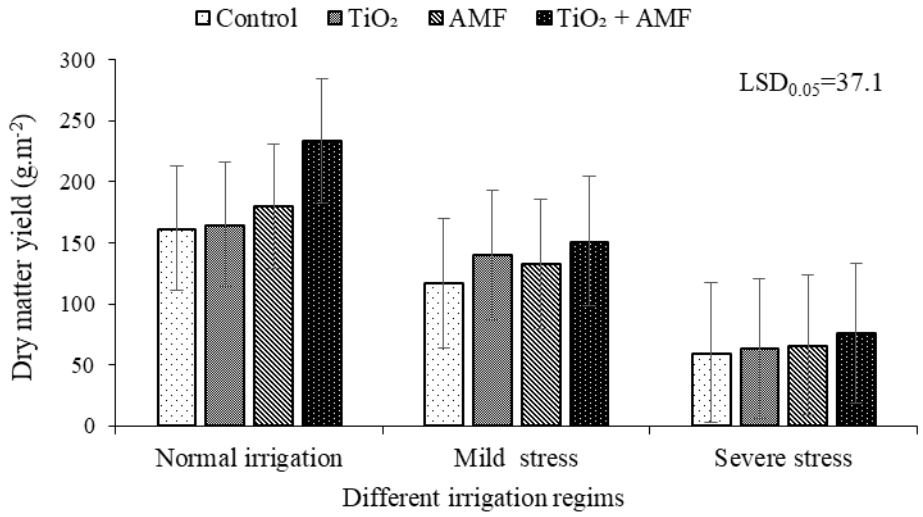
عملکرد ماده خشک مریم‌گلی

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که عملکرد ماده خشک مریم‌گلی تحت تأثیر معنی‌دار اثرات ساده رژیم‌های مختلف آبیاری، الگوی کشت، منابع کودی و اثرات متقابل رژیم‌های آبیاری × منابع کودی و الگوهای کشت × منابع کودی قرار گرفت. براساس ترکیب تیماری رژیم‌های آبیاری و منابع کودی، بیشترین (۲۳۳/۷ گرم در مترمربع) عملکرد ماده خشک مریم‌گلی در آبیاری نرمال با کاربرد تلفیقی قارچ میکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم به دست آمد. در تنش‌های ملایم و شدید، عملکرد ماده خشک مریم‌گلی به‌ترتیب ۲۷ و ۶۴/۱ درصد کاهش یافت (شکل ۶). همچنین براساس اثر متقابل الگوی کشت × منابع کودی، بیشترین (۱۷۲/۷ گرم در مترمربع) عملکرد ماده خشک مریم‌گلی در کشت خالص با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم به دست آمد. کاربرد تلفیقی قارچ میکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم منجر به افزایش ۳۶/۱ درصدی

عملکرد ماده خشک نسبت به عدم مصرف کود گردید. علاوه‌براین، کشت خالص منجر به افزایش ۳۳/۵۲ درصدی عملکرد ماده خشک نسبت به کشت مخلوط گردید (شکل ۷).

کاهش عملکرد ماده خشک با افزایش تنش خشکی را می‌توان به کاهش صفات رشدی از قبیل ارتفاع بوته نسبت داد. کاهش در عملکرد وزن تر و خشک با افزایش تنش خشکی ممکن است به‌دلیل تخصیص ترجیحی و بیشتر مواد به ریشه‌ها به‌دلیل محدود شدن رطوبت در خاک و یا کاهش محتوای کلروفیل و در نتیجه کاهش کارآیی فتوسنتزی باشد (Govahi et al., 2015). بر اثر تنش خشکی، گیاه با بستن روزنه‌ها سعی در به حداقل رساندن تعرق داشته و همین امر باعث کاهش تبادلات گازی شده و دی‌اکسید کربن ورودی کاهش یافته، ولی اکسیژن افزایش می‌یابد که موجب کاهش فعالیت کربوکسیلاسیونی آنزیم ریبولوز ۱و۵- بی‌فسفات کربوکسیلاز/ اکسیژناز (رابیسکو) می‌گردد و در نهایت باعث کاهش تولید ماده خشک خواهد شد (Madhava et al., 2006). همچنین افزایش ماده خشک تولیدی در شرایط آبیاری مطلوب می‌تواند به‌دلیل گسترش بیشتر سطح برگ و نیز دوام سطح برگ باشد که با ایجاد منبع بیولوژیکی کارآمد برای استفاده هرچه بیشتر از نور دریافتی باعث افزایش تولید ماده خشک خواهد شد (Gao et al., 2020). همچنین بیشترین عملکرد ماده خشک با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا و نانو دی‌اکسید تیتانیوم به دست آمد که منجر به افزایش ۳۶/۱ درصدی عملکرد ماده خشک مریم‌گلی گردید. قارچ مایکوریزا با کاهش اسیدیته ریشه و ترشح آنزیم‌های حل‌کننده عناصر غذایی منجر به افزایش دسترسی ریشه گیاهان به عناصر غذایی می‌شود. همچنین قارچ مایکوریزا قادر به استفاده از نیتروژن معدنی مواد آلی و آمینو اسیدها نیز می‌باشد، ولی به یکسری عوامل از جمله گستردگی شبکه قارچی، آنزیم‌های تجزیه‌کننده مانند گزیلوگلوکاناز، پکتیناز و تعامل با سایر ریزجانداران خاک بستگی دارد که توانایی قارچ را در معدنی کردن مقادیر زیادی از نیتروژن آلی تحت تأثیر قرار می‌دهد (Varma et al., 2018). در مطالعه‌ای با بررسی اثرات قارچ مایکوریزا (*Glomus intradices* و *Glomus mosseae*) در شرایط تنش خشکی و نرمال روی پونه معطر (*Mentha pulegium* L.) گزارش شد که تنش خشکی سبب کاهش وزن خشک گیاه گردید. امّا این کاهش با کاربرد قارچ مایکوریزا کمتر بود. همچنین همزیستی با قارچ‌های مایکوریزا سبب بهبود عملکرد ماده خشک نسبت به عدم مصرف کود گردید (Zare Hassanabdi et al., 2020). ازآنجایی‌که عملکرد ماده خشک در گیاهان برآیندی از صفت‌های رشدی مختلف و اجزای عملکرد می‌باشد، بنابراین می‌توان بیان کرد که کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم منجر به بهبود صفت‌های رشدی مریم‌گلی از طریق بهبود جذب عناصر غذایی، جذب رطوبت و افزایش تحمل گیاهان در برابر تنش خشکی شده است (Varma et al., 2018). یانگ و همکاران (Yang et al., 2006) گزارش کردند که نانو دی‌اکسید تیتانیوم با افزایش فعالیت آنزیم‌های دخیل در متابولیسم نیتروژن از جمله نیترات ردوکتاز باعث تسریع در تبدیل نیتروژن معدنی به فرم‌های آلی آن مثل کلروفیل و پروتئین شده و باعث بهبود صفات رشدی گیاه از جمله عملکرد ماده خشک گیاه می‌گردد. زیرا نیتروژن با افزایش تقسیم و تورژسانس سلول‌های مریستمی باعث افزایش رشد رویشی و شاخه‌دهی در گیاهان می‌شود. علاوه‌بر این، زمانی‌که نیتروژن کافی در دسترس گیاه باشد، آسیمیلاسیون کربن فتوسنتزی از طریق افزایش فعالیت کربوکسیلاسیونی آنزیم ریبولوز ۱و۵- بی‌فسفات کربوکسیلاز/ اکسیژناز (رابیسکو) افزایش یافته و فعالیت فتوسنتزی گیاه بیشتر شده که این امر منجر به افزایش رشد و زیست‌توده گیاه می‌گردد (Manzer et al., 2015). بنابراین افزایش عملکرد با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا و نانو دی‌اکسید تیتانیوم قابل توجیه می‌باشد. در پژوهشی با بررسی سطوح مختلف تنش خشکی و کاربرد نانو دی‌اکسید تیتانیوم (صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) روی مریم‌گلی گزارش کردند که با افزایش تنش خشکی عملکرد ماده خشک کاهش یافت. کاربرد نانو دی‌اکسید تیتانیوم منجر به بهبود عملکرد ماده خشک گردید، به‌طوری‌که بیشترین میزان عملکرد ماده خشک در آبیاری نرمال با کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو دی‌اکسید تیتانیوم به دست آمد (Mazarie et al., 2019). علاوه‌بر این نتایج نشان داد که عملکرد ماده خشک مریم‌گلی در کشت مخلوط با نعناع فلفلی کمتر از کشت خالص آن بود. ازآنجایی‌که میزان تراکم گیاهان برداشت‌شده در کشت مخلوط نسبت به کشت خالص کمتر می‌باشد، لذا کاهش میزان عملکرد تولیدشده در کشت مخلوط به کاهش میزان تراکم گیاهان در واحد سطح برداشت‌شده و افزایش رقابت برون گونه‌ای توسط اجزای کشت مخلوط نسبت داده می‌شود. به‌طور مشابه، امانی ماچیانی و همکاران (Amani Machiani et al., 2018) گزارش کردند که عملکرد دانه سویا و ماده خشک نعناع فلفلی در کلیه الگوهای کشت

مخلوط کمتر از کشت خالص دو گیاه بود. در تحقیقی دیگر، رضائی چیانه و همکاران (Rezaei-Chiyaneh et al., 2020) گزارش کردند که عملکرد ماده خشک رازیانه و عملکرد دانه لوبیا در الگوهای مختلف کشت مخلوط کمتر از کشت خالص دو گیاه بودند که دلیل آن را افزایش رقابت برون گونه‌ای بین اجزای کشت مخلوط بیان نمودند. همچنین در پژوهشی دیگر، بیشترین عملکرد دانه در کشت مخلوط یولاف (*Avena sativa* L.) با نخود فرنگی (*Pisum sativum* L.) در کشت خالص دو گیاه به دست آمد (Jannoura et al., 2014).

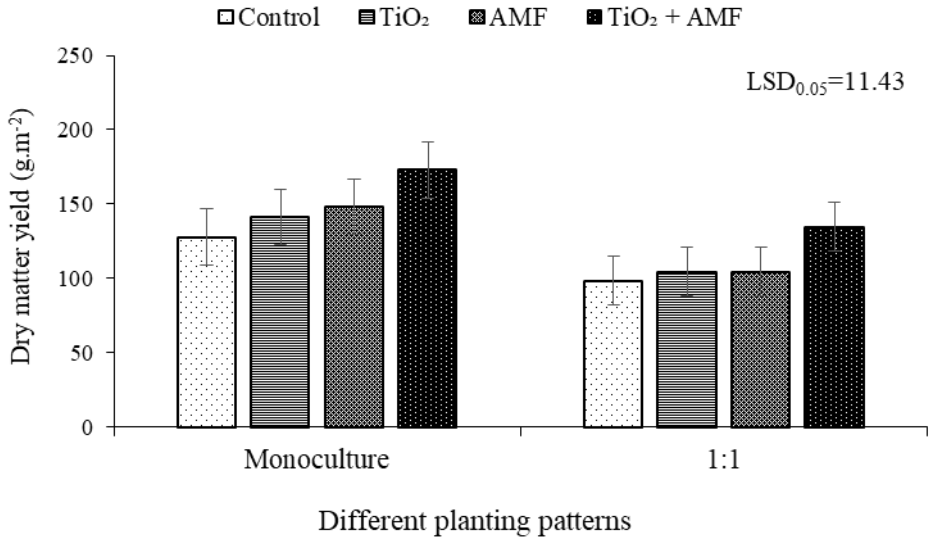


شکل ٦- مقایسه میانگین عملکرد ماده خشک مریم‌گلی تحت تأثیر رژیم‌های مختلف آبیاری، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و قارچ مایکوریزا

Fig. 6- Mean comparison of sage dry matter yield under the influence of different irrigation regimes, nano titanium dioxide and arbuscular mycorrhizal fungi

TiO_2: نانو دی‌اکسید تیتانیوم و AMF: قارچ آرباسکولار مایکوریزا

TiO_2: Nano titanium dioxide and AMF: Arbuscular mycorrhizal fungus



شکل ۷- مقایسه میانگین عملکرد ماده خشک مریم‌گلی تحت تأثیر الگوهای مختلف کشت (کشت خالص و مخلوط با نعناع فلفلی)، نانوذرات دی اکسید تیتانیوم و قارچ مایکوریزا

Fig. 7- Mean comparison of sage dry matter yield under the influence of different planting patterns (Monoculture and intercropping with peppermint), nano titanium dioxide (TiO_2), and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF)

درصد اسانس مریم‌گلی

درصد اسانس مریم‌گلی تحت تأثیر معنی‌دار اثرات ساده رژیم‌های مختلف آبیاری، الگوی کشت، منابع کودی و اثرات متقابل رژیم‌های آبیاری × الگوی کشت، رژیم‌های آبیاری × منابع کودی و الگوی کشت × منابع کودی قرار گرفت (جدول ۳). بیشترین (۱/۶۰ درصد) و کمترین (۷۳/درصد) درصد اسانس مریم‌گلی به‌ترتیب در تنش ملایم با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم و آبیاری نرمال بدون مصرف کود به دست آمد. درصد اسانس در آبیاری نرمال و تنش شدید به‌ترتیب ۲۹/۲ و ۲۱/۹ درصد کاهش یافت. همچنین درصد اسانس با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم ۳۰/۲۰ درصد نسبت به عدم مصرف کود افزایش یافت (شکل ۸). براساس اثر متقابل رژیم‌های آبیاری × الگوی کشت، بیشترین (۱/۴۴ گرم در مترمربع) درصد اسانس مریم‌گلی در تنش ملایم در کشت مخلوط به دست آمد. درصد اسانس در کشت مخلوط نسبت به کشت خالص ۱۱/۱ درصد افزایش یافت (شکل ۹). علاوه بر این براساس نتایج اثر متقابل الگوی کشت × منابع کودی، بیشترین (۱/۳۳درصد) درصد اسانس مریم‌گلی در کشت مخلوط با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم به دست آمد. همچنین درصد اسانس با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم ۳۰/۲۰ درصد نسبت به عدم مصرف کود افزایش یافت (شکل ۱۰). نتایج نشان داد که با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌نواکسید تیتانیوم، درصد اسانس مریم‌گلی افزایش یافت.

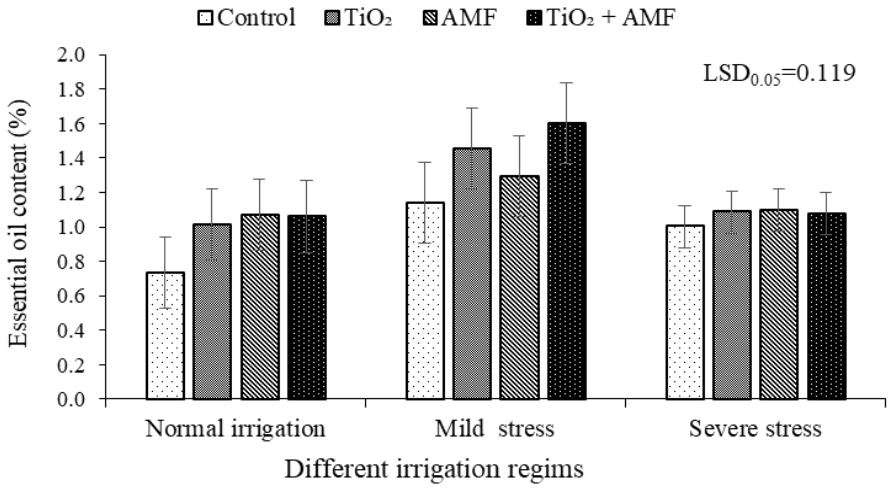
افزایش اسانس مریم‌گلی با کاربرد قارچ مایکوریزا به بهبود فعالیت فتوسنتزی گیاه از طریق افزایش سطح جذب و فراهمی عناصر اصلی سازنده اسانس از جمله نیتروژن و فسفر (Sharifi-Rad et al., 2017) و تولید بیشتر غده‌های تشکیل‌دهنده اسانس مرتبط می‌باشد (Golubkina et al., 2020; Amani Machiani et al., 2021). رابطه مستقیمی بین قارچ مایکوریزا و عملکرد کمّی و کیفی اسانس در بسیاری از گیاهان دارویی و معطر وجود دارد. به‌طوری‌که تغییرات کمّی و کیفی اسانس در گشنیز و نعناع فلفلی با کاربرد قارچ مایکوریزا گزارش شده است (Mucciarelli et al., 2003). کاپور و همکاران (Kapoor et al., 2017) نتیجه گرفتند که قارچ‌های مایکوریزا باعث ایجاد تغییراتی در غلظت فیتوهورمون‌های گیاهی از جمله سیتوکینین، اسیدجیبرلیک و اسیدجاسمونیک می‌شوند که این فیتوهورمون‌ها، تشکیل غده‌های ترشح‌کننده اسانس را بیشتر نموده و در نتیجه سبب تولید بیشتر متابولیت‌های ثانویه می‌شوند. همچنین کوپتا و همکاران (Copetta et al., 2006) نتیجه گرفتند که کاربرد قارچ مایکوریزا از طریق افزایش غده‌های ترشح‌کننده اسانس منجر به افزایش میزان اسانس تولیدشده در گیاه ریحان گردید. به نظر می‌رسد که نانو دی‌اکسید تیتانیوم از طریق افزایش فعالیت آنزیمی و دسترسی به عناصر غذایی (نیتروژن و فسفر)، ظرفیت فتوسنتزی برگ را بهبود بخشیده و از این طریق منجر به بیوسنتز بیشتر کربوهیدارت‌ها، توسعه غده‌های ترشح‌کننده اسانس، کانال‌ها و مجاری ترشحی اسانس می‌گردد (Šebesta et al., 2021; Shabbir et al., 2019). مقدم و همکاران (Moghadam et al., 2016) اظهار داشتند که رابطه مستقیمی بین فتوسنتز و فرآورده‌های فتوسنتزی وجود دارد، به‌طوری‌که همبستگی بین فتوسنتز و تولید اسانس نشان می‌دهد که گلوکز به‌عنوان پیش‌ماده مناسب در سنتز اسانس به‌ویژه مونوترپن‌ها عمل می‌کند. ازاین‌رو به نظر می‌رسد که گلوکز حاصل از فتوسنتز پیش‌ماده لازم برای تأمین انرژی و سنتز ترکیب‌های مؤثر در اسانس را فراهم می‌کند. گیاهان دارویی در طول رویش برای تولید مناسب اسانس و مواد مؤثره به مقدار کافی عناصر غذایی نیاز دارند، به‌طوری‌که تأمین این عناصر غذایی، میزان و عملکرد اسانس را به‌طور قابل توجهی افزایش می‌دهد. یکی از روش‌های افزایش غلظت عناصر غذایی در گیاهان، استفاده از نانو دی‌اکسید تیتانیوم می‌باشد (Šebesta et al., 2021). در تطابق با نتایج پژوهش حاضر، گوهری و همکاران (Gohari et al., 2020) با کاربرد غلظت‌های مختلف نانو دی‌اکسید تیتانیوم روی بادرشبی گزارش کردند که بیشترین درصد اسانس با کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو دی‌اکسید تیتانیوم به دست آمد. در پژوهشی دیگر با ارزیابی اثر سطوح مختلف نانو دی‌اکسید تیتانیوم و اسیدجاسمونیک روی مریم‌گلی گزارش کردند که درصد اسانس با کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو دی‌اکسید تیتانیوم افزایش یافت و دلیل آن این‌طور بیان کردند که نانو دی‌اکسید تیتانیوم می‌تواند ظرفیت فتوسنتزی گیاه را افزایش داده که به‌تبع آن تولید پیش‌ماده سنتز اسانس به‌ویژه مونوترپن‌ها (گوکز) بیشتر شده و در نتیجه درصد اسانس افزایش پیدا خواهد کرد (Mazarie et al., 2019). علاوه‌بر این، میزان اسانس تولیدی مریم‌گلی در تنش ملایم نسبت به آبیاری نرمال و تنش شدید افزایش معنی‌داری پیدا کرد.

گیاهان دارویی برخلاف همه محصولات کشاورزی که در شرایط تنش خشکی از نظر تولید صدمه می‌بینند، ممکن است در این اوضاع تولید مواد شیمیایی بیشتر و در نتیجه بازدهی اقتصادی بالاتری پیدا کنند (Morshedloo et al., 2017). تولید متابولیت‌های ثانویه برای سازگاری گیاه نسبت به عوامل نامساعد و تنش‌های محیط زندگی صورت گرفته و به‌منزله به کار افتادن یک نوع جریان دفاعی به‌منظور استمرار تعادل فعالیت‌های حیاتی به حساب می‌آید. معمولاً تشکیل و تجمع اسانس در گیاهان دارویی در شرایط نامساعد محیطی افزایش می‌یابد که این امر گیاه را درمقابل آسیب‌های نوری زیاد و کمبود احتمالی آب محافظت می‌کند. در شرایط تنش خشکی با کاهش پتانسیل آب برگ، روزنه‌ها بسته شده و به‌دنبال آن تعرق کاهش می‌یابد. در نتیجه این اتفاق با کم شدن غلظت کربن دی‌اکسید، فتوسنتز کاهش می‌یابد. پایین بودن غلظت کربن دی‌اکسید درون سلولی باعث کاهش واکنش‌های چرخه کالوین می‌شود. با ادامه این روند، فرآیند اکسایش و کاهش اکی والانت $NADP^+$ به‌عنوان پذیرنده الکترون در زنجیره انتقال، کاهش می‌یابد، در نتیجه مقادیر زیادی H^+ و NADPH در سلول تجمع پیدا کرده و نسبت H^+ و NADPH به NADP+ افزایش می‌یابد؛ در این حالت، بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه از قبیل ترکیب‌های اسانس، فنلی، آلکالوئیدی و ... با مصرف $NADPH+ H^+$ تجمع‌یافته منجر به متعادل شدن نسبت $NADP^+$/ $NADPH+ H^+$ می‌شود. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که تولید متابولیت‌های ثانویه به‌عنوان یک روش دفاعی مؤثر در گیاهان دارویی و معطر به‌منظور کاهش اثرات منفی ناشی از تنش شناخته می‌شود (Kleinwächter & Selmar, 2015). علی‌رغم اینکه میزان اسانس مریم‌گلی در دو تنش ملایم و شدید نسبت به شاهد افزایش یافته است، ولی میزان اسانس تولیدشده در تنش شدید نسبت به ملایم کاهش پیدا کرده است. زیرا در تنش‌های شدیدتر، گیاه بیشتر مواد فتوسنتزی تولیدشده را به‌جای رشد به تولید ترکیب‌های تنظیم‌کننده اسمزی از جمله پرولین، گلیسین بتائین و ترکیب‌های قندی مانند ساکارز و فروکتور تخصیص می‌دهد تا از این طریق شرایط لازم برای بقای حیات گیاه در تنش‌های شدیدتر فراهم شود. افزایش درصد اسانس در تنش ملایم را می‌توان این‌گونه توضیح داد که با کاهش سطح برگ، تراکم‌های غده‌های ترشح‌کننده اسانس و تجمع اسانس در واحد بافت برگ افزایش می‌یابد (Amani Machiani et al., 2021). در تطابق با نتایج پژوهش حاضر، گواهی و همکاران (Govahi et al., 2015) مشاهده کردند که میزان اسانس تولیدی مریم گلی در تنش ملایم و شدید به‌ترتیب ۱۰۸ و ۸۴ درصد نسبت به آبیاری نرمال افزایش پیدا کرد. در مطالعه‌ای دیگر روی مریم‌گلی تحت شرایط تنش خشکی مشخص گردید که بیشترین و کمترین میزان درصد اسانس به‌ترتیب در تنش متوسط و آبیاری نرمال به دست آمد (Bettaieb et al., 2009). در پژوهشی دیگر با ارزیابی الگوهای کشت مخلوط شنبلیله (*Trigonella foenum- graceum* L.) و نعناع‌فلفلی گزارش شد که بیشترین درصد اسانس دو گیاه در الگوی کشت ۱:۱ به دست آمد (Ebrahimghochi et al., 2018). امانی ماچیانی و همکاران (Amani Machiani et al., 2019) گزارش کردند که بیشترین درصد و عملکرد اسانس گیاه رازیانه در کشت مخلوط دو ردیف رازیانه + چهار ردیف لوبیا + دو ردیف بادرشبو به دست آمد. همچنین درصد و عملکرد اسانس رازیانه در این الگوی کشت مخلوط به‌ترتیب ۳۷ و ۲۴ درصد بیشتر از کشت خالص رازیانه بود. علاوه‌بر این، میانگین ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس رازیانه از قبیل (*E*)-anethole، fenchone، methyl chavicol و limonene در الگوهای مختلف کشت مخلوط به‌ترتیب ۴/۹، ۳/۴، ۲۱/۲ و ۲/۱ درصد نسبت به کشت خالص رازیانه بیشتر بود.

عملکرد اسانس مریم‌گلی

اثرات ساده رژیم‌های مختلف آبیاری، الگوی کشت، منابع کودی و اثر متقابل رژیم‌های آبیاری × منابع کودی بر عملکرد اسانس مریم‌گلی معنی‌دار گردید (جدول ۳). براساس اثر متقابل رژیم‌های آبیاری × منابع کودی، بیشترین (۲/۴۵ گرم در مترمربع) عملکرد اسانس در آبیاری نرمال با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم به دست آمد که تفاوت معنی‌داری با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم و کاربرد جداگانه نانو دی‌اکسید تیتانیوم در تنش ملایم نداشت. عملکرد اسانس در آبیاری نرمال و تنش شدید به‌ترتیب ۳/۷ و ۶۲/۸ درصد نسبت به تنش ملایم کاهش یافت. همچنین کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم و کاربرد جداگانه نانو دی‌اکسید تیتانیوم به‌ترتیب منجر به افزایش ۸۳/۵ و ۴۲/۷ درصدی عملکرد اسانس نسبت به عدم مصرف کود گردید (شکل ۱۱). علاوه‌براین کشت خالص منجر به افزایش ۱۹/۵درصدی عملکرد اسانس نسبت به کشت مخلوط گردید (شکل ۱۲). نتایج نشان داد که عملکرد اسانس با کاربرد تلفیقی قارچ

مایکوریزا و نانو دی‌اکسید تیتانیوم افزایش یافت. عملکرد اسانس از حاصل‌ضرب عملکرد ماده خشک در میزان اسانس تولیدشده توسط گیاه به دست می‌آید. لذا هر عاملی که منجر به افزایش دو شاخص ذکرشده گردد منجر به افزایش عملکرد اسانس نیز خواهد شد. رضائی چیانه و همکاران (Rezaei-Chiyaneh et al., 2021) با ارزیابی منابع مختلف کودی و کشت مخلوط شنبلیله با بالنگو (*Lallemantia iberica* L.) گزارش شد که عملکرد اسانس بالنگو در کشت خالص با کاربرد قارچ مایکوریزا به‌دلیل افزایش عملکرد دانه و درصد اسانس افزایش یافت. در پژوهشی دیگر با بررسی سطوح مختلف تنش خشکی و نانو دی‌اکسید تیتانیوم روی گیاه *Vetiveria zizanioides* L. Nash گزارش شد که بیشترین عملکرد ماده خشک و اسانس با کاربرد ۹۰ میلی‌گرم در لیتر نانو دی‌اکسید تیتانیوم به دست آمد (Shabbir et al., 2019).

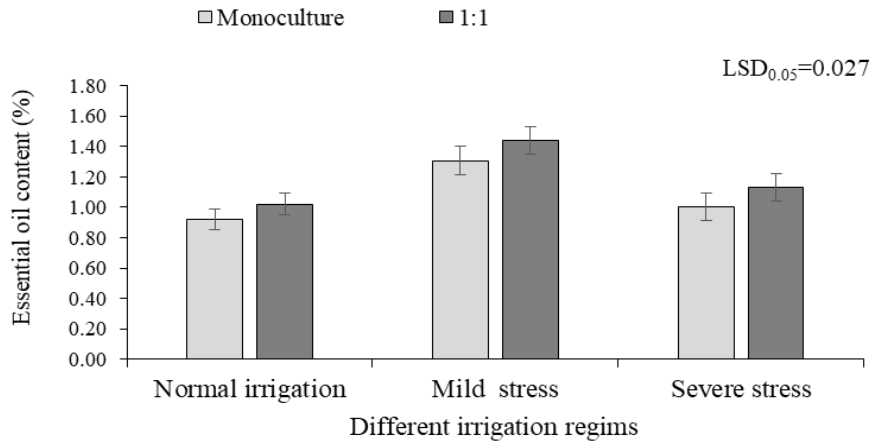


شکل ۸- مقایسه میانگین درصد اسانس مریم‌گلی تحت تأثیر رژیم‌های مختلف آبیاری، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و قارچ مایکوریزا

Fig. 8- Mean comparison of the essential oil content of sage under the influence of different irrigation regimes, nano titanium dioxide, and arbuscular mycorrhizal fungi

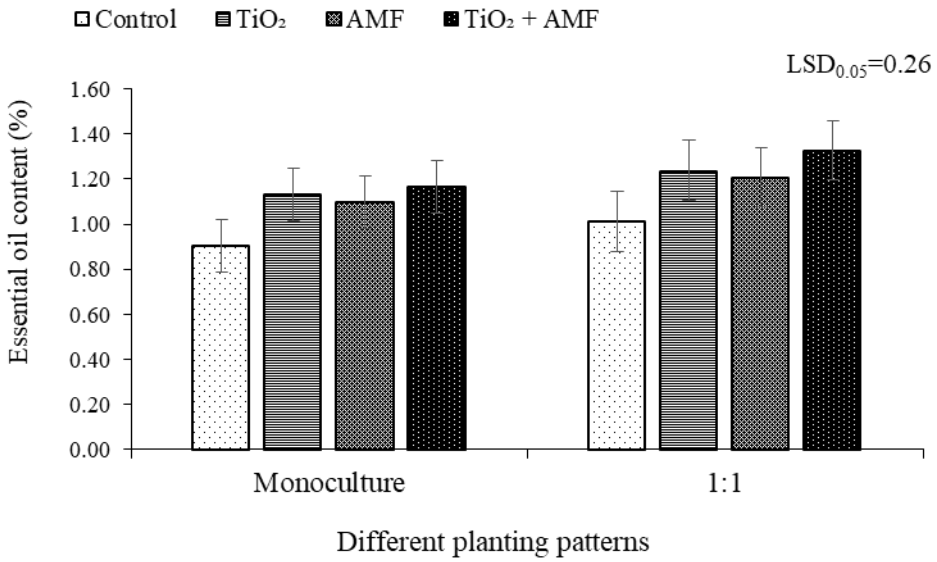
TiO_2: نانو دی‌اکسید تیتانیوم و AMF: قارچ آرباسکولار مایکوریزا

TiO_2: Nano titanium dioxide and AMF: Arbuscular mycorrhizal fungus



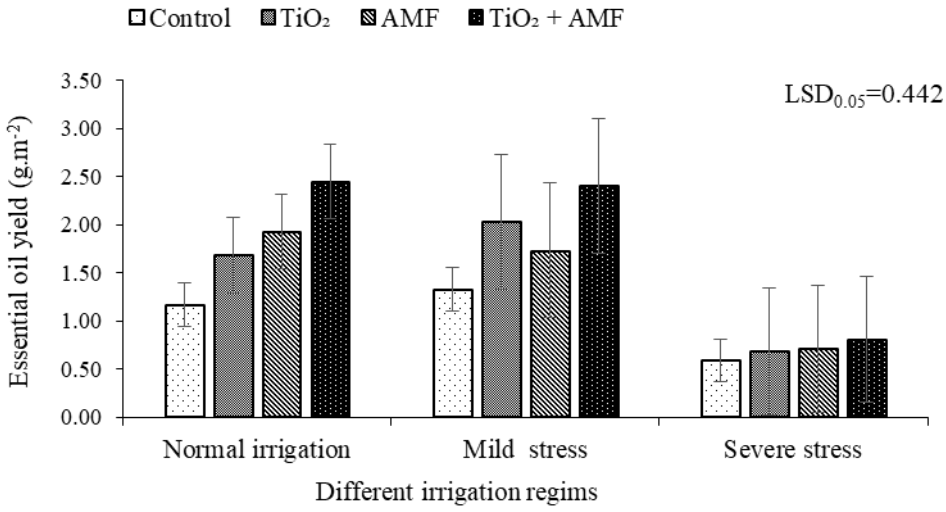
شکل ۹- مقایسه میانگین درصد اسانس مریم‌گلی تحت تأثیر رژیم‌های مختلف آبیاری و الگوهای کشت (کشت خالص و مخلوط با نعناع فلفلی)

Fig. 9- Mean comparison of the sage essential oil content under the influence of different irrigation regimes and planting patterns (Monoculture and intercropping with peppermint)



شکل ۱۰- مقایسه میانگین درصد اسانس مریم‌گلی تحت تأثیر الگوهای مختلف کشت (کشت خالص و مخلوط با نعناع‌فلفلی)، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و قارچ مایکوریز

Fig. 10- Mean comparison of the sage essential oil content under the influence of different planting patterns (Monoculture and intercropping with peppermint), nano titanium dioxide (TiO_2) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF)

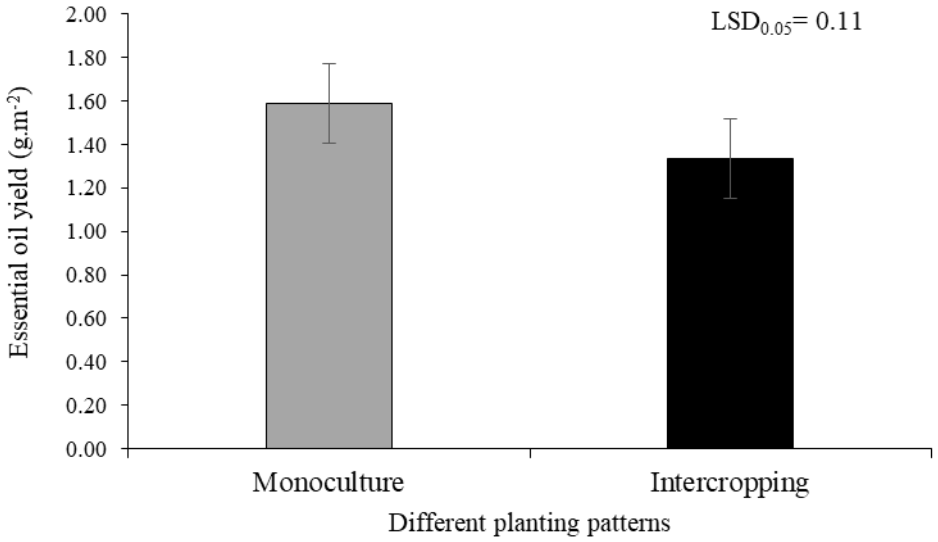


شکل ۱۱- مقایسه میانگین عملکرد اسانس مریم‌گلی تحت تأثیر رژیم‌های مختلف آبیاری، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و قارچ مایکوریزا

Fig. 11- Mean comparison of the sage essential oil yield under the effect of different irrigation regimes, nano titanium dioxide and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF)

TiO_2: نانو دی‌اکسید تیتانیوم و AMF: قارچ آرباسکولار مایکوریزا

TiO_2: Nano titanium dioxide and AMF: Arbuscular mycorrhizal fungus



شکل ۱۲- مقایسه میانگین عملکرد اسانس مریم‌گلی در الگوهای کشت خالص و مخلوط با نعناع‌فلفلی

Fig. 12- Mean comparison of the sage essential oil yield in planting patterns of monoculture and intercropping with peppermint

اجزای اسانس مریم‌گلی

با تجزیه اسانس مریم‌گلی، ۳۳ ترکیب شناسایی شد. در بین ترکیب‌های اسانس سیس-توجن (۳۰/۷۳ تا ۳۸/۳۵ درصد)، کامفور (۱۲/۹۷ تا ۱۹/۳۴ درصد)، ۸ و۱ سینئول (۹/۱۷ تا ۱۰/۷۱ درصد)، ترنس-توجن (۴/۳۶ تا ۵/۷۸ درصد)، کامفن (۲/۷۴ تا ۴/۳۵ درصد) و ویریدیفلورول (۳/۱۶ تا ۴/۳۷ درصد)، ترکیب‌های غالب اسانس بودند (جداول ۴، ۵ و ۶). بیشترین میزان سیس-توجن (۳۸/۳۵ درصد) در تنش ملایم در کشت مخلوط با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم به دست آمد. میزان سیس-توجن در کشت مخلوط ۶/۵۰ درصد بیشتر از کشت خالص مریم‌گلی بود. علاوه‌بر این، میزان سیس-توجن در تنش ملایم به‌ترتیب ۲/۲ و ۳ درصد بیشتر از تنش شدید و آبیاری نرمال بود. همچنین کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم، کاربرد جداگانه قارچ مایکوریزا و نانو دی‌اکسید تیتانیوم به‌ترتیب منجر به افزایش ۴/۸، ۳/۱ و ۳/۳ درصدی این ترکیب نسبت به عدم مصرف کود گردید. علاوه‌بر این، بیشترین میزان کامفور (۱۹/۳۴ درصد) در کشت مخلوط در آبیاری نرمال با کاربرد قارچ مایکوریزا به دست آمد. همچنین آبیاری نرمال به‌ترتیب منجر به افزایش ۳/۳ و ۴/۷ درصدی این ترکیب نسبت تنش ملایم و تنش شدید گردید. کاربرد قارچ مایکوریزا منجر به افزایش ۳/۷ درصدی میزان کامفور نسبت به عدم مصرف کود شد. همچنین بیشترین میزان ۱و۸ سینئول (۱۰/۷۱ درصد) در کشت خالص در تنش شدید و با کاربرد نانو دی‌اکسید تیتانیوم به دست آمد. علاوه‌بر این، میزان ۱و۸ سینئول در آبیاری نرمال ۲/۷ درصد کمتر از تنش شدید بود. همچنین کاربرد نانو دی‌اکسید تیتانیوم منجر به افزایش ۵/۴ درصدی این ترکیب نسبت به عدم مصرف کود گردید. علاوه‌بر این، بیشترین میزان ترنس-توجن در تنش شدید در کشت مخلوط با کاربرد نانو دی‌اکسید تیتانیوم به دست آمد. کاربرد نانو دی‌اکسید تیتانیوم منجر به افزایش ۳/۲ درصدی ترنس-توجن نسبت به عدم مصرف کود گردید. کشت مخلوط منجر به افزایش ۲/۱ درصدی این ترکیب نسبت به کشت خالص شد. همچنین تنش شدید منجر به افزایش ۶/۶ درصدی ترنس-توجن نسبت به آبیاری نرمال گردید. علاوه‌براین، بیشترین میزان کامفن (۴/۳۵ درصد) در تنش ملایم در کشت خالص با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم به دست آمد. کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم منجر به افزایش ۶/۱ درصدی کامفن نسبت به عدم مصرف کود گردید. علاوه‌بر این، بیشترین میزان ویریدیفلورول در تنش ملایم در کشت خالص با کاربرد نانو دی‌اکسید تیتانیوم به دست آمد. کشت خالص منجر به افزایش ۲/۴ درصدی ویریدیفلورول نسبت به کشت مخلوط گردید.

کیفیت اسانس گیاهان دارویی به درصد ترکیب‌های غالب تولید

شده در اسانس این گیاهان وابسته است. افزایش درصد ترکیب‌های غالب در مریم‌گلی (سیس-توجن، کامفور و ۱و۸ سینئول) منجر به افزایش کیفیت اسانس تولیدی خواهد شد. طبق نتایج این پژوهش مشاهده شد که اکثر ترکیب‌های غالب اسانس مریم‌گلی (سیس-توجن و ۱و۸ سینئول) در تنش‌های ملایم و شدید افزایش پیدا کرد. دلیل افزایش ترکیب‌های اسانس مریم‌گلی در تنش‌های ملایم و شدید، تخصیص بیشتر کربن‌های تثبیت‌شده طی فرآیند فتوسنتز به تولید متابولیت‌های ثانویه می‌باشد که طی این فرآیند، میزان مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های محیطی از طریق کاهش خسارت‌های رادیکال‌های فعال اکسیژن افزایش می‌یابد (Farahani et al., 2009). بحرینی نژاد و همکاران (Bahreininejad et al., 2013) گزارش کردند که میزان تیمول در اسانس آویشن دنایی در تنش‌های ملایم و شدید نسبت به آبیاری نرمال افزایش پیدا کرد. در پژوهشی دیگر با بررسی سطوح مختلف تنش خشکی (۱۰۰، ۶۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی) روی زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) گزارش کردند که درصد اسانس در تنش ملایم به‌ترتیب ۳۶/۹ و ۱۵/۹ درصد بیشتر از آبیاری نرمال و تنش شدید بود. همچنین بیشترین میزان بتا-پینن، سیس-پینوکامفون و میرتینول در تنش ملایم به دست آمد (Khosheghbal Ghorabaee et al., 2020). همچنین نتایج نشان داد که میزان ترکیب‌های غالب اسانس مریم‌گلی با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم و کاربرد جداگانه آن‌ها افزایش یافت. اسانس‌ها، ترکیب‌های ترپنوئیدی بوده و واحدهای سازنده آن‌ها (ایزوپرنوئیدها) مانند ایزوپنتنیل پیروفسفات و دی متیل آلیل پیروفسفات نیاز به ترکیب‌هایی از قبیل استیل کوآنزیم آ، ATP و NADPH دارند (Kapoor et al., 2017). با توجه به این موضوع که حضور عناصری نظیر نیتروژن و فسفر برای تشکیل ترکیب‌های نام برده ضروری می‌باشد، ازاین‌رو احتمالاً کاربرد قارچ مایکوریزا و نانو دی‌اکسید تیتانیوم با تأمین فسفر و نیتروژن مورد نیاز گیاه می‌تواند باعث افزایش کلروفیل، فعالیت آنزیم روبیسکو و به‌دنبال آن فعالیت‌های فتوسنتزی و میزان و ترکیب‌های اسانس گردد (Rafique et al., 2018; Tarraf et al., 2017; Kapoor et al., 2017). در پژوهشی با کاربرد قارچ مایکوریزا روی نعناع گزارش شد که قارچ میکوریزا منجر به افزایش درصد کاروون نسبت به عدم مصرف گردید (Urcoviche et al., 2015). توحیدی و همکاران (Tohidi et al., 2019) گزارش کردند که کیفیت اسانس آویشن با افزایش درصد تیمول افزایش می‌یابد. لذا می‌توان نتیجه گرفت که کیفیت اسانس این گیاه در تنش‌های ملایم و شدید و با کاربرد قارچ مایکوریزا بهبود یافته است. مطالعه‌ای روی گشنیز نشان داد که کاربرد چهار گرم در لیتر نانو دی‌اکسید تیتانیوم منجر به افزایش درصد لینالول نسبت به عدم مصرف کود گردید (Khater et al., 2021).

کلروفیل a

اثرات ساده رژیم‌های مختلف آبیاری، الگوی کشت و منابع کودی و اثرات متقابل رژیم‌های آبیاری × منابع کودی، الگوی کشت × منابع کودی و رژیم‌های آبیاری × الگوی کشت × منابع کودی بر غلظت کلروفیل a معنی‌دار گردید (جدول ۷). بیشترین (۵/۵۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر) غلظت کلروفیل a در آبیاری نرمال و در کشت مخلوط با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم به دست آمد که در همان سطح آبیاری تفاوت معنی‌داری با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم در کشت خالص نداشت. تنش‌های ملایم و شدید به‌ترتیب منجر به کاهش ۳۴/۵ و ۵۵/۶ درصدی کلروفیل a شدند (جدول ۸). علاوه‌براین، غلظت کلروفیل a مریم‌گلی با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم، کاربرد جداگانه قارچ مایکوریزا و نانودی‌اکسید تیتانیوم به‌ترتیب ۶۸/۴، ۱۸/۲ و ۳۷/۲ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت. همچنین کلروفیل a در کشت مخلوط نسبت به کشت خالص ۳۱/۴ درصد افزایش یافت (جدول ۸).

کلروفیل b

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که غلظت کلروفیل b مریم‌گلی تحت تأثیر معنی‌دار اثرات ساده رژیم‌های مختلف آبیاری، الگوی کشت و منابع کودی و اثرات متقابل رژیم‌های آبیاری × منابع کودی، الگوی کشت × منابع کودی و رژیم‌های آبیاری × الگوی کشت × منابع کودی قرار گرفت (جدول ۷). بیشترین (۱/۳۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر) غلظت کلروفیل b مریم‌گلی در آبیاری نرمال در الگوی کشت مخلوط با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم به دست آمد که در همان سطح آبیاری به‌ترتیب تفاوت معنی‌داری با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم در کشت خالص و کاربرد جداگانه نانو دی‌اکسید تیتانیوم در کشت مخلوط نداشت.

جدول ٤- ترکیب اسانس مریم‌گلی در الگوهای کشت خالص و مخلوط با نعناع‌فلفلی، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و قارچ مایکوریزا تحت آبیاری نرمال (میانگین دو سال)

Table 4- Identified compounds of sage essential oil in planting patterns of monoculture and intercropping with peppermint, nano titanium dioxide and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) under normal irrigation (average of two years)

ردیف	ترکیب‌ها	شاخص بازداری	MAD_{25} control		MAD_{25} TiO_2		MAD_{25} AMF		MAD_{25} AMF+TiO_2	
			کشت خالص	کشت مخلوط	کشت خالص	کشت مخلوط	کشت خالص	کشت مخلوط	کشت خالص	کشت مخلوط
Row	Ingredients	RI	Monoculture	Intercropping	Monoculture	Intercropping	Monoculture	Intercropping	Monoculture	Intercropping
1	*cis*-Salvene سیس- سالون	847	0.36	0.479	0.47	0.244	0.39	0.27	0.46	0.31
2	*trans*-Salvene ترنس-سالون	858	0.1	0.095	0.09	0	0.11	0.08	0.09	0.07
3	Tricyclene تریسیکلن	921	0.15	0.14	0.14	0.10	0.14	0.11	0.12	0.12
4	α-Thujene آلفا-توجن	924	0.15	0.17	0.16	0.10	0.18	0.16	0.21	0.15
5	α-Pinene بتا-پینن	932	2.51	3.13	3.34	2.50	3.33	2.41	3.13	3.7
6	Camphene کامفن	946	3.11	3.22	3.44	2.74	3.32	2.9	3.58	3.5
7	β-Pinene بتا-پینن	974	1.26	1.33	1.29	1.06	1.47	1.02	1.28	0.99
8	Myrcene میرسن	988	0.94	0.963	0.96	0.747	1.07	0.891	0.94	0.96
9	*n*-Decane *n*-دکان	1000	0.13	0.119	0.12	0.15	0.14	0.11	0.14	0.1
10	α-Terpinene آلفا-ترپینن	1014	0.31	0.372	0.39	0.266	0.4	0.313	0.36	0.37
11	ρ-Cymene ρ-میرسن	1022	1.44	1.39	1.41	1.20	1.5	1.2	1.35	1.44
12	1,8-Cineole ۱و۸ سینئول	1026	9.17	9.53	10.49	10.23	10.37	9.23	9.89	10.02
13	γ-Terpinene گاما-ترپینن	1054	0.36	0.36	0.34	0.28	0.36	0.33	0.33	0.34
14	*cis*-Sabinene hydrate سیس-سابینن هیدرات	1065	0.24	0.20	0.24	0.187	0.23	0.15	0.18	0.15
15	Terpinolene ترپینولن	1086	0.2	0.17	0.16	0.18	0.16	0.16	0.15	0.12
16	*trans*-Sabinene hydrate ترانس-سابینن هیدرات	1098	0.66	0.42	0.44	0.3	0.41	0.34	0.45	0.23
17	*cis*-Thujone سیس-توجون	1101	30.73	34.29	33.63	33.79	34.7	34.61	33.89	35.29
18	*trans*-Thujone ترانس-توجون	1112	4.59	5.14	4.97	4.36	4.94	5.22	5.3	5.29

19	Camphor کامفور	1141	17.48	16.90	17.19	18.45	14.58	19.34	16.88	17.40
20	*neo-iso*-3-Thujanol نئو-ایزو-۳-توجانول	1147	0.84	0.53	0.51	0.58	0.46	0.52	0.57	0.4
21	*trans*-Pinocamphone ترانس-پینوکامفون	1158	0.12	0.14	0.12	0.07	0.05	0.08	0.11	0.05
22	Borneol بورنئول	1165	3.64	2.34	2.16	3.54	2.06	2.72	3.23	2.61
23	*cis*-Pinocamphone سیس-پینوکامفون	1172	0.6	0.334	0.32	0.37	0.35	0.314	0.36	0.35
24	Terpinen-4-ol ترپینن-۴-ال	1174	0.06	0.08	0.1	0.07	0.1	0.06	0.06	0.06
25	*α*-Terpineol آلفا-ترپینئول	1186	0.15	0.17	0.19	0.09	0.15	0.16	0.14	0.11
26	Bornyl acetate بورنیل استات	1284	2.27	1.51	1.57	1.4	1.84	1.42	1.8	1.38
27	*trans*-Sabinyl acetate ترانس-سابینیل استات	1289	0	0.079	0.12	0.081	0.08	0.062	0.13	0.06
28	(*E*)-Caryophyllene ای-کاریوفیلن	1417	2.16	2.11	2.32	3.23	2.3	2.57	2.13	2.26
29	*α*-Humulene آلفا-هومولن	1452	2.64	2.79	2.84	3.85	2.81	3.68	2.63	3.38
30	Caryophyllene oxide کاریوفیلن اکساید	1582	0.38	0.321	0.36	0.32	0.35	0.37	0.36	0.3
31	Viridiflorol ویریدی فورول	1592	4.19	4.05	4.1	3.39	4.2	4.28	3.37	3.94
32	Humulene epoxide II هومولن اکساید II	1608	0.61	0.57	0.64	0.90	0.75	0.79	0.75	0.5
33	Manool مانول	2056	2.82	2.71	2.18	3.71	2.86	2.67	2.65	2.56
	مجموع ترکیب‌ها Total combinations		94.37	96.15	96.8	98.48	96.16	98.55	97.02	98.52

MAD_{25}: آبیاری پس از ۲۵ درصد حداکثر تخلیه مجاز رطوبتی، Control: شاهد، TiO_2: نانو دی‌اکسید تیتانیوم، AMF: قارچ آبوسکولار مایکوریزا. شاخص بازداری خطی در ستون HP-5 MS با استفاده از نرمال آلکان‌های C_8-C_{40} محاسبه شد.

MAD_{25}: Irrigation after 25% of maximum allowable moisture discharge, Control: Control, TiO_2: Nano titanium dioxide, AMF: Avascular mycorrhizal fungus. Linear inhibition index was calculated on HP-5 MS column using C8-C40 normal alkanes.

جدول ۵- ترکیب اسانس مریم‌گلی در الگوهای کشت خالص و مخلوط با نعناع‌فلفلی، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و قارچ مایکوریزا تحت تنش ملایم (میانگین دو سال)

Table 5- Identified compounds of sage essential oil in planting patterns of monoculture and intercropping with peppermint, nano titanium dioxide and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) under mild stress (average of two years)

ردیف	ترکیب‌ها	شاخص بازداری	MAD_{50} control		MAD_{50} TiO_2		MAD_{50} AMF		MAD_{50} AMF+TiO_2	
			کشت خالص	کشت مخلوط	کشت خالص	کشت مخلوط	کشت خالص	کشت مخلوط	کشت خالص	کشت مخلوط
Row	Ingredients	RI	Monoculture	Intercropping	Monoculture	Intercropping	Monoculture	Intercropping	Monoculture	Intercropping
1	*cis*-Salvene سیس- سالون	847	0.48	0.3	0.44	0.47	0.56	0.33	0.52	0.44
2	*trans*-Salvene ترنس-سالون	858	0.12	0.09	0.12	0.09	0.13	0.08	0.11	0.05
3	Tricyclene تریسیسلن	921	0.13	0.13	0.12	0.13	0.15	0.14	0.13	0.12
4	*α*-Thujene آلفا-توجن	924	0.2	0.18	0.2	0.18	0.19	0.18	0.21	0.20
5	*α*-Pinene بتا-پینن	932	3.65	3.17	3.46	2.82	3.49	2.86	3.88	3.48
6	Camphene کامفن	946	3.71	3.35	3.64	3.51	4	2.83	4.35	3.25
7	*β*-Pinene بتا-پینن	974	1.39	1.05	1.44	1.40	1.49	1.09	1.35	1.56
8	Myrcene میرسن	988	0.98	0.95	0.95	0.98	1.01	0.97	1.03	1.07
9	*n*-Decane *n*-دکان	1000	0.12	0.12	0.12	0.14	0.12	0.11	0.12	0
10	*α*-Terpinene آلفا-ترپینن	1014	0.38	0.38	0.38	0.36	0.4	0.31	0.42	0.52
11	*ρ*-Cymene *ρ*-میرسن	1022	1.55	1.3	1.35	1.44	1.52	1.05	1.4	1.36
12	1,8-Cineole ۱و۸ سینئول	1026	9.25	9.66	9.87	10.05	10.57	10.11	9.56	10.64
13	*γ*-Terpinene گاما-ترپینن	1054	0.34	0.35	0.31	0.36	0.34	0.34	0.37	0.37
14	*cis*-Sabinene hydrate سیس-سابینن هیدرات	1065	0.19	0.2	0.21	0.19	0.21	0.21	0.24	0.20
15	Terpinolene ترپینولن	1086	0.21	0.17	0.16	0.16	0.17	0.16	0.17	0.18
16	*trans*-Sabinene hydrate ترانس-سابینن هیدرات	1098	0.45	0.35	0.41	0.40	0.38	0.29	0.23	0.32

17	*cis*-Thujone سیس-توجون	1101	31.41	35.56	33.55	34.83	33.37	36.09	35.84	38.35
18	*trans*-Thujone ترانس-توجون	1112	5.04	5.12	5.53	5.04	4.91	4.87	5.68	5.69
19	Camphor کامفور	1141	17.02	18.18	16.02	17.49	17.95	18.60	15.54	12.97
20	*neo-iso*-3-Thujanol نئو-ایزو-۳-توجانول	1147	0.57	0.47	0.52	0.525	0.5	0.32	0.47	0.358
21	*trans*-Pinocamphone ترانس-پینوکامفون	1158	0.13	0.11	0.06	0.11	0.12	0.05	0.06	0.05
22	Borneol بورنئول	1165	2.88	2.63	2.67	2.29	2.44	2.58	1.94	1.44
23	*cis*-Pinocamphone سیس-پینوکامفون	1172	0.34	0.34	0.37	0.33	0.36	0.30	0.34	0.36
24	Terpinen-4-ol ترپینن-۴-ال	1172	0.06	0.06	0.06	0.06	0.07	0.06	0.06	0.07
25	α-Terpineol آلفا-ترپینئول	1186	0.14	0.13	0.14	0.15	0.17	0.15	0.13	0.16
26	Bornyl acetate بورنیل استات	1284	1.94	1.49	1.69	1.54	1.37	1.42	1.41	1.54
27	*trans*-Sabinyl acetate ترانس-سابینیل استات	1289	0.08	0.15	0.06	0.07	0.04	0.11	0.05	0.12
28	(*E*)-Caryophyllene ای-کاریوفیلن	1417	2.41	2.32	2.05	1.94	2.40	2.42	3.55	2.12
29	α-Humulene آلفا-هومولن	1452	3.04	2.68	2.65	2.49	3.48	3.35	2.62	3.13
30	Caryophyllene oxide کاریوفیلن اکساید	1582	0.42	0.35	0.43	0.33	0.32	0.4	0.4	0.38
31	Viridiflorol ویریدی فورول	1592	4.11	3.85	4.37	3.16	3.35	3.76	3.88	3.83
32	Humulene epoxide II هومولن اکساید II	1608	0.79	0.65	0.77	0.6	0.52	0.68	0.76	0.71
33	Manool مانول	2056	3.04	2.62	3.01	2.16	3.12	3.42	2.95	3.28
	مجموع ترکیب‌ها Total combinations		96.57	98.46	97.13	98.63	96.91	98.69	98.71	98.80

MAD_{50}: آبیاری پس از ۵۰ درصد حداکثر تخلیه مجاز رطوبتی، Control: شاهد، TiO_2: نانو دی‌اکسید تیتانیوم، AMF: قارچ آبوسکولار مایکوریزا. شاخص بازداری خطی در ستون HP-5 MS با استفاده از نرمال آلکان‌های C_8-C_{40} محاسبه شد.

MAD_{50}: Irrigation after 50% of maximum allowable moisture discharge, Control: Control, TiO_2: Nano titanium dioxide, AMF: Abovascular mycorrhizal fungus. Linear inhibition index was calculated on HP-5 MS column using C8-C40 normal alkanes.

جدول ٦- ترکیب اسانس مریم‌گلی در الگوهای کشت خالص و مخلوط با نعناع‌فلفلی، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و قارچ مایکوریزا تحت تنش شدید (میانگین دو سال)

Table 6- Identified compounds of sage essential oil in planting patterns of monoculture and intercropping with peppermint, nano titanium dioxide and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) under severe stress (average of two years)

ردیف	ترکیب‌ها	شاخص بازداری	MAD_{75} control		MAD_{75} TiO_2		MAD_{75} AMF		MAD_{75} AMF+TiO_2	
			کشت خالص	کشت مخلوط	کشت خالص	کشت مخلوط	کشت خالص	کشت مخلوط	کشت خالص	کشت مخلوط
Row	Ingredients	Ri	Monoculture	Intercropping	Monoculture	Intercropping	Monoculture	Intercropping	Monoculture	Intercropping
1	*cis*-Salvene سیس- سالون	847	0.54	0.49	0.44	0.4	0.5	0.35	0.44	0.32
2	*trans*-Salvene ترنس-سالون	858	0.11	0.14	0.17	0.10	0	0.11	0.11	0.05
3	Tricyclene تریسیسلن	921	0.14	0.14	0.12	0.13	0.14	0.12	0.13	0.15
4	*α*-Thujene آلفا-توجن	924	0.18	0.16	0.17	0.20	0.2	0.28	0.14	0.18
5	*α*-Pinene بتا-پینن	932	3.56	3.24	2.69	4.40	3.67	4.26	3.34	4.23
6	Camphene کامفن	946	3.87	3.46	3.15	3.43	4.17	3.74	3.4	3.86
7	*β*-Pinene بتا-پینن	974	1.51	1.39	1.29	1.45	1.49	1.38	1.24	1.1
8	Myrcene میرسن	988	1.02	1.03	0.97	1.01	0.91	1.04	0.93	0.95
9	*n*-Decane *n*-دکان	1000	0.12	0.16	0.13	0.14	0.12	0.12	0.13	0.123
10	*α*-Terpinene آلفا-ترپینن	1014	0.37	0.46	0.4	0.44	0.38	0.45	0.4	0.34
11	*ρ*-Cymene *ρ*-میرسن	1022	1.59	1.52	1.37	1.49	1.61	1.55	1.44	1.4
12	1,8-Cineole ۱و۸ سینئول	1026	9.98	10.51	10.71	9.82	9.91	9.46	10.03	10.44
13	*γ*-Terpinene گاما-ترپینن	1054	0.4	0.59	0.38	0.37	0.39	0.3	0.33	0.31
14	*cis*-Sabinene hydrate سیس-سابینن هیدرات	1065	0.2	0.22	0.21	0.198	0.26	0.21	0.17	0.2
15	Terpinolene ترپینولن	1086	0.2	0.14	0.17	0.182	0.19	0.16	0.14	0.22
16	*trans*-Sabinene hydrate ترانس-سابینن هیدرات	1098	0.41	0.38	0.5	0.40	0.41	0.32	0.42	0.29
17	*cis*-Thujone سیس-توجون	1101	33.01	35.16	33.99	36.97	32.32	35.19	32.08	34.29

18	*trans*-Thujone ترانس-توجون	1112	4.97	5.36	5.52	5.78	4.87	5.44	5.07	5.50
19	Camphor کامفور	1141	15.77	16.16	15.07	14.96	18.36	16.43	18.61	16.62
20	*neo-iso*-3-Thujanol نئو-ایزو-۳-توجانول	1147	0.55	0.49	0.59	0.45	0.31	0.47	0.53	0.36
21	*trans*-Pinocamphone ترانس-پینوکامفون	1158	0.1	0.104	0.15	0.11	0.05	0.10	0.12	0.06
22	Borneol بورنئول	1165	3.12	2.58	2.83	1.83	3.17	1.77	2.56	2.53
23	*cis*-Pinocamphone سیس-پینوکامفون	1172	0.35	0.35	0.36	0.34	0.38	0.34	0.34	0.30
24	Terpinen-4-ol ترپینن-۴-ال	1174	0.06	0.11	0.07	0.08	0.03	0.05	0.09	0.06
25	*α*-Terpineol آلفا-ترپینئول	1186	0.19	0.13	0.21	0.18	0.08	0.16	0.16	0.15
26	Bornyl acetate بورنیل استات	1284	2.21	1.44	2.25	1.68	2.5	1.35	1.41	1.40
27	*trans*-Sabinyl acetate ترانس-سابینیل استات	1289	0.08	0.06	0.09	0.06	0	0.05	0.1	0.04
28	(*E*)-Caryophyllene ای-کاریوفیلن	1417	1.92	2.05	2.07	2.32	1.95	2.32	2.32	2.92
29	*α*-Humulene آلفا-هومولن	1452	2.61	2.57	2.77	2.43	2.52	2.60	3.22	2.83
30	Caryophyllene oxide کاریوفیلن اکساید	1582	0.39	0.37	0.4	0.34	0.36	0.3	0.3	0.31
31	Viridiflorol ویریدی فورول	1592	3.69	3.21	3.87	3.57	3.73	3.92	4.02	4.23
32	Humulene epoxide II هومولن اکساید II	1608	0.75	0.63	0.74	0.47	0.64	0.65	0.68	0.41
33	Manool مانول	2056	2.78	2.92	2.53	2.68	2.68	2.72	2.34	2.15
	مجموع ترکیب‌ها Total combinations		96.75	97.72	96.38	98.43	98.3	97.71	97.01	98.32

MAD_{75}: آبیاری پس از ۷۵ درصد حداکثر تخلیه مجاز رطوبتی، Control: شاهد، TiO_2: نانو دی‌اکسید تیتانیوم، AMF: قارچ آبوسکولار مایکوریزا. شاخص بازداری خطی در ستون HP-5 MS با استفاده از نرمال آلکان‌های C_8-C_{40} محاسبه شد.

MAD_{75}: Irrigation after 75% of maximum allowable moisture discharge, Control: Control, TiO_2: Nano titanium dioxide, AMF: Abovascular mycorrhizal fungus. Linear inhibition index was calculated on HP-5 MS column using C8-C40 normal alkanes.

جدول ۷- تجزیه واریانس اثر الگوهای کشت خالص و مخلوط با نعناع فلفلی، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و قارچ مایکوریزا بر کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید تحت رژیم‌های مختلف آبیاری

Table 7- The analysis of variance the effect of planting patterns of monoculture and intercropping with peppermint, nano titanim dioxide and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on chl a, b, total and carotenoids under different irrigation regimes

منابع تغییرات S.O. V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares			
		کلروفیل a Chlorophyll a (mg. g^{-1} Fresh weight)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg. g^{-1} Fresh weight)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg. g^{-1} Fresh weight)	کاروتنوئید Carotenoid (mg. g^{-1} Fresh weight)
سال Year	1	0.03$^{n.s}$	0.02$^{n.s}$	0.11n.s	0.005$^{n.s}$
خطای a Error a	4	4.62	0.41	7.77	0.43
رژیم‌های آبیاری Irrigation regimes	2	66.30**	3.84**	99.31**	9.84**
سال × رژیم آبیاری Year × Irrigation regimes	2	0.07$^{n.s}$	0.02$^{n.s}$	0.03n.s	0.01$^{n.s}$
Error b	8	0.20	0.01	0.22	0.12
الگوی کشت Planting patterns	1	24.30*	3.89*	47.66*	3.95$^{n.s}$
الگوی کشت × رژیم آبیاری Irrigation regimes × Planting patterns	2	0.27$^{n.s}$	0.08$^{n.s}$	0.17n.s	0.05$^{n.s}$
سال × الگوی کشت Year × Planting patterns	1	0.02$^{n.s}$	0.02$^{n.s}$	0.03n.s	0.09$^{n.s}$
سال × رژیم آبیاری × الگوی کشت Year × Irrigation regimes × Planting patterns	2	0.04$^{n.s}$	0.008$^{n.s}$	0.06n.s	0.003$^{n.s}$
خطای c Error c	12	0.37	0.008	0.39	0.06
(دی‌اکسید تیتانیوم + قارچ مایکوریزا) (Nano titanium dioxide + Arbuscular mycorrhizal fungi)	3	16.55**	1.08**	25.59**	1.19**
رژیم آبیاری × (دی‌اکسید تیتانیوم + قارچ مایکوریزا) Irrigation regimes × (Nano titanium dioxide + Arbuscular mycorrhizal fungi)	6	3.14**	0.29**	4.88**	0.16**
الگوی کشت × (دی‌اکسید تیتانیوم + قارچ مایکوریزا) Planting patterns × (Nano titanium dioxide + Arbuscular mycorrhizal fungi)	3	1.76*	0.26**	3.31*	0.05$^{n.s}$
رژیم آبیاری × الگوی کشت × منابع کودی Irrigation × Planting patterns × Fertilizer sources	6	1.49**	0.08**	1.72**	0.01$^{n.s}$
سال × (دی‌اکسید تیتانیوم + قارچ مایکوریزا) Year × (Nano titanium dioxide + Arbuscular mycorrhizal fungi)	3	0.02$^{n.s}$	0.004$^{n.s}$	0.03n.s	0.008$^{n.s}$
سال × رژیم آبیاری × (دی‌اکسید تیتانیوم + قارچ مایکوریزا) Year × Irrigation regimes × (Nano titanium dioxide + Arbuscular mycorrhizal fungi)	6	0.02$^{n.s}$	0.015$^{n.s}$	0.07n.s	0.007$^{n.s}$
سال × الگوی کشت × (دی‌اکسید تیتانیوم + قارچ مایکوریزا) Year × Planting patterns × (Nano titanium dioxide +Mycorrhizal fungi)	3	0.15$^{n.s}$	0.008$^{n.s}$	0.21n.s	0.008$^{n.s}$
سال × رژیم آبیاری × الگوی کشت × (دی‌اکسید تیتانیوم + قارچ مایکوریزا) Year × Irrigation regimes × Planting patterns × (Nano titanium dioxide + Arbuscular mycorrhizal fungi)	6	0.12$^{n.s}$	0.006$^{n.s}$	0.17n.s	0.003$^{n.s}$
خطای کل Total error	72	0.24	0.02	0.25	0.07
ضریب تغییرات CV (%)		16.22	19.79	13.25	22.02

**، * و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح یک و پنج درصد و عدم تفاوت معنی‌دار.

**, * and ns: are significant at the 1 and 5 percent levels, respectively, and there is no significant difference.

جدول ۸- مقایسه میانگین‌های غلظت کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل مریم‌گلی در ترکیب تیماری رژیم‌های مختلف آبیاری، الگوهای کشت خالص و مخلوط با نعناع فلفلی، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و قارچ مایکوریزا

Table 8- Mean comparisons of the sage chl a, b, and total under treatment combination of irrigation regimes, planting patterns of monoculture and intercropping with peppermint, nano titanium dioxideand and arbuscular mycorrhizal fungi

تیمارها Treatments			کلروفیل a Chlorophyll a (mg. g^{-1} Fresh weight)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg. g^{-1} Fresh weight)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg. g^{-1} Fresh weight)
آبیاری نرمال Normal irrigation	کشت خالص Monoculture	شاهد Control	2.10	0.35	2.45
		نانو دی‌اکسید تیتانیوم Nano titanium dioxide	4.51	0.79	5.30
		قارچ مایکوریزا AMF	3.82	0.90	4.72
		قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم Arbuscular mycorrhizal fungi + Nano titanium dioxide	5.21	1.30	6.51
	کشت مخلوط Intercropping	شاهد Control	3.89	0.92	4.81
		نانو دی‌اکسید تیتانیوم Nano titanium dioxideand	4.51	1.26	5.77
		قارچ مایکوریزا Arbuscular mycorrhizal fungi	5.00	0.99	5.99
		قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم Arbuscular mycorrhizal fungi + Nano titanium dioxide	5.56	1.33	6.89
تنش ملایم Mild stress	کشت خالص Monoculture	شاهد Control	1.56	0.22	1.77
		نانو دی‌اکسید تیتانیوم Nano titanium dioxide	2.43	0.75	3.18
		قارچ مایکوریزا Arbuscular mycorrhizal fungi	2.49	0.72	3.21
		قارچ مایکوریزا+ نانو دی‌اکسید تیتانیوم Arbuscular mycorrhizal fungi + Nano titanium dioxide	3.24	0.76	4.00
	کشت مخلوط Intercropping	شاهد Control	2.95	0.95	3.90
		نانو دی‌اکسید تیتانیوم TiO_2	3.35	1.08	4.43
		قارچ مایکوریزا AMF	2.72	0.98	3.70
		قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم Arbuscular mycorrhizal fungi + Nano titanium dioxide	3.90	1.22	5.12
تنش شدید Severe stress	کشت خالص Monoculture	شاهد Control	1.09	0.22	1.31
		نانو دی‌اکسید تیتانیوم Nano titanium dioxide	1.36	0.47	1.83
		قارچ مایکوریزا Arbuscular mycorrhizal fungi	1.15	0.22	1.37
		قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم Arbuscular mycorrhizal fungi + Nano titanium dioxide	2.40	0.30	2.70
	کشت مخلوط Intercropping	شاهد Control	2.26	0.53	2.79
		نانو دی‌اکسید تیتانیوم Nano titanium dioxide	2.84	0.79	3.63
		قارچ مایکوریزا Arbuscular mycorrhizal fungi	1.18	0.30	1.48
		قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم Arbuscular mycorrhizal fungi + Nano titanium dioxide	3.05	0.58	3.63
		$LSD_{0.05}$	0.4855	0.1085	0.5848

با افزایش روند خشکی، غلظت کلروفیل b مریم‌گلی کاهش یافت، به‌طوری‌که میزان صفت ذکرشده در تنش‌های ملایم و شدید به‌ترتیب ۱۵/۳ و۵۶/۱ درصد کاهش یافت. همچنین غلظت کلروفیل b مریم‌گلی با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم ۷۱/۷ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت. علاوه‌بر این، کشت مخلوط منجر به افزایش ۵۶/۹ درصدی غلظت کلروفیل b نسبت به کشت خالص گردید (جدول ۸).

کلروفیل کل

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۷) نشان داد که غلظت کلروفیل کل مریم‌گلی تحت تأثیر معنی‌دار اثرات ساده رژیم‌های مختلف آبیاری، الگوی کشت و منابع کودی و اثرات متقابل رژیم‌های آبیاری × منابع کودی، الگوی کشت × منابع کودی و رژیم‌های آبیاری × الگوی کشت × منابع کودی قرار گرفت. بیشترین (۶/۸۸ میلی‌گرم در گرم وزن تر) غلظت کلروفیل کل در آبیاری نرمال در الگوی کشت مخلوط با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم به دست آمد که در همان سطح آبیاری تفاوت معنی‌داری با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم در کشت خالص نداشت. غلظت کلروفیل کل مریم‌گلی در تنش‌های ملایم و شدید به‌ترتیب ۳۰/۹ و۵۵/۸ درصد کاهش یافت. همچنین غلظت کلروفیل کل مریم‌گلی با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم، کاربرد جداگانه قارچ مایکوریزا و نانو دی‌اکسید تیتانیوم به‌ترتیب ۶۹ ٪، ۲۰/۱ و ۴۱/۵ درصد نسبت به عدم مصرف کود افزایش یافت. علاوه‌بر این، کشت مخلوط منجر به افزایش ۳۶/۱ درصدی غلظت کلروفیل b نسبت به کشت خالص گردید (جدول ۸).

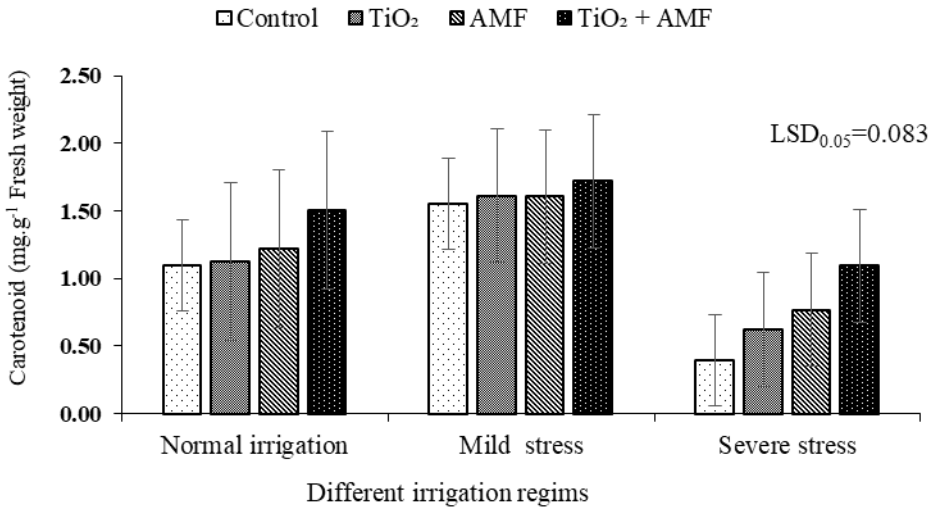
کاروتنوئید

اثرات ساده رژیم‌های مختلف آبیاری و منابع کودی و اثر متقابل رژیم‌های آبیاری × منابع کودی بر غلظت کاروتنوئید مریم‌گلی معنی‌دار گردید (جدول ۷). بیشترین (۱/۷۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و کمترین (۰/۳۹ میلی‌گرم در گرم وزن تر) غلظت کاروتنوئید در تنش ملایم با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم و تنش شدید بدون مصرف کود به دست آمد. کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانودی‌اکسید تیتانیوم، کاربرد جداگانه قارچ مایکوریزا و نانو دی‌اکسید تیتانیوم به‌ترتیب منجر به افزایش ۴۲/۶، ۱۸/۸ و ۱۰/۹ درصدی غلظت کاروتنوئید نسبت به عدم مصرف کود گردید (شکل ۳۱).

به‌طور کلی نتایج نشان داد که با افزایش تنش خشکی، میزان کلروفیل a، b و کل کاهش یافت. محتوای کلروفیل در گیاهان ارتباط نزدیکی با فتوسنتز، میزان عناصر غذایی و بهره‌وری محصول دارد (Varma et al., 2018). دلیل کاهش میزان کلروفیل با افزایش تنش خشکی را می‌توان به کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی، آسیب به ساختار کلروپلاست، تخریب پیش‌ساز کلروفیل و اکسیداسیون کلروفیل بر اثر افزایش میزان رادیکال‌های فعال اکسیژن نسبت داد که در نهایت منجر به مهار بیوسنتز کلروفیل خواهد شد (Mohammadi et al., 2019). شیواکریشنا و همکاران (Shivakrishna et al., 2018) گزارش کردند که قرار گرفتن گیاه در تنش خشکی منجر به افزایش میزان رادیکال‌های فعال اکسیژن شده که این امر به‌نوبه خود باعث پراکسیداسیون لیپیدها، آسیب به کلروپلاست و در نهایت تجزیه کلروفیل موجود در برگ گیاهان خواهد شد. همچنین یکی دیگر از دلایل کاهش میزان کلروفیل را می‌توان به کاهش جذب عناصر غذایی به‌منظور رشد و ساخت بیومولکول‌های حیاتی گیاه نسبت داد که این امر در نهایت منجر به کاهش تولید کلروفیل خواهد شد (Emami Bistgani et al., 2017). در تطابق با نتایج پژوهش حاضر، بحرینی نژاد و همکاران (Bahreininejad et al., 2013) گزارش کردند که میزان کلروفیل و کاروتنوئید آویشن دنایی در شرایط خشکی نسبت به آبیاری نرمال کاهش معنی‌داری پیدا کرد. بااین‌حال، نتایج نشان داد که میزان کاروتنوئید در تنش ملایم نسبت به شرایط آبیاری نرمال افزایش یافت. کاروتنوئیدها نوعی رنگدانه آنتی‌اکسیدانی می‌باشند که در افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش خشکی نقش مهمی را ایفا می‌کنند. کاروتنوئیدها متابولیت‌های ایزوپرنوئیدی می‌باشند که در اندامک‌های فتوسنتزکننده سنتز می‌شوند. در شرایط نامساعد محیطی، گیاهان با تنظیم ژن‌های مربوط به متابولیسم کاروتنوئیدها، تجمع و تخریب کاروتنوئیدها را تنظیم می‌کنند. علاوه‌بر این، کاروتنوئیدها به‌عنوان پیش‌ساز برای سنتز هورمون‌های گیاهی از جمله اسیدآبسیزیک می‌باشند (Sun et al., 2022). آسیب اکسیدی تنش خشکی در بافت‌های گیاهی معمولاً توسط سیستم‌های ضداکسیدکنندگی آنزیمی و غیرآنزیمی فرونشانده می‌شود. این

ضداکسیدکننده‌ها شامل کاروتنوئیدها، فنولیک‌ها، فلاونوئیدها، آسکوربات‌ها، آلفا-توکوفرول و آنزیم‌های آنتی اکسیدانی می‌باشند. این ترکیب‌ها نه‌تنها از اجزای سلول محافظت می‌کنند، بلکه منجر به افزایش طول سلول شده و مرگ سلول و پیری را با تأخیر می‌اندازند. افزایش غلظت کاروتنوئید در شرایط تنش خشکی احتمالاً به نقش آنتی‌اکسیدانی آن مرتبط باشد. بنابراین، افزایش میزان کاروتنوئید در تنش ملایم به‌عنوان یک ترکیب غیرآنزیمی برای کاهش میزان رادیکال‌های فعال اکسیژن و افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش خشکی توجیه‌پذیر می‌باشد (Zhang et al., 2021). در پژوهشی با ارزیابی سطوح مختلف تنش خشکی (۸۰، ۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی) روی درصد و عملکرد موسیلاژ قدومه (*Alyssum homolocarpum*) گزارش کردند که با افزایش تنش خشکی، کلروفیل کل کاهش یافت، به‌طوری‌که بیشترین و کمترین میزان کلروفیل کل به‌ترتیب در ۸۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی به دست آمد. همچنین بیشترین و کمترین میزان کاروتنوئید به‌ترتیب در ۴۰ و ۸۰ درصد ظرفیت زراعی حاصل شد (Zaferanieh & Mahdavi, 2021).

همچنین نتایج نشان داد که میزان کلروفیل و کاروتنوئید مریم‌گلی در کشت مخلوط با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم افزایش یافت. مولکول کلروفیل از دو بخش (یک سر پورفیرین و یک هیدروکربن طویل با دنباله فیتول) تشکیل شده است. پورفیرین از چهار حلقه پیرول حاوی نیتروژن که به‌صورت حلقوی قرار گرفته‌اند، تشکیل شده است. کامل‌کننده مولکول کلروفیل یک یون منیزیم است که با چهار اتم نیتروژن در مرکز حلقه تشکیل کلات می‌دهد. با توجه به اینکه هر مولکول کلروفیل دارای چهار اتم نیتروژن می‌باشد و با توجه به همبستگی مثبت محتوای کلروفیل با میزان نیتروژن در دسترس گیاه می‌توان بیان کرد که با افزایش جذب نیتروژن، میزان کلروفیل گیاه افزایش می‌یابد (Mao et al., 2020). بنابراین می‌توان بیان نمود که با افزایش غلظت عناصر از طریق کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم، میزان فتوسنتز و به‌تبع آن غلظت کلروفیل و کاروتنوئید افزایش پیدا خواهد کرد. همچنین بیشتر بودن غلظت کلروفیل و کاروتنوئید در کشت مخلوط نسبت به کشت خالص به استفاده بهینه از منابع در دسترس نسبت داده می‌شود (Amani Machiani et al., 2021). در تطابق با نتایج پژوهش حاضر، سیلوا و همکاران (Silva et al., 2018) با ارزیابی کشت مخلوط بادرنجبویه با بومادران گزارش کردند که در هر دو گیاه، بیشترین میزان کلروفیل آ، کلروفیل ب و کلروفیل کل در کشت مخلوط دو گیاه به دست آمد.



شکل ۱۳- مقایسه میانگین غلظت کاروتنوئید مریم‌گلی تحت تأثیر رژیم‌های مختلف آبیاری، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و قارچ مایکوریزا

Fig. 13- Mean comparison of sage carotenoid concentrations under the influence of different Irrigation regimes, nano titanium dioxide and arbuscular mycorrhizal fungi

در پژوهشی دیگر با بررسی سطوح مختلف تنش خشکی و کاربرد قارچ مایکوریزا روی ریحان گزارش کردند که بیشترین میزان کلروفیل کل در آبیاری نرمال با کاربرد قارچ میکوریزا به دست آمد (Hazzoumi et al., 2015). همچنین بیشترین میزان کلروفیل آ در آبیاری نرمال و با کاربرد دو میلی‌گرم در لیتر نانو دی‌اکسید تیتانیوم به دست آمد. کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو دی‌اکسید تیانیوم روی بادرشبی منجر به افزایش غلظت کاروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید نسبت به عدم مصرف آن گردید (Gohari et al., 2020). همچنین، کاربرد ۹۰ میلی‌گرم در لیتر نانو دی‌اکسید تیتانیوم منجر به افزایش غلظت کلروفیل کل گیاه *Vetiveria zizanioides* L. Nash نسبت به شاهد گردید (Shabbir et al., 2019).

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش عملکرد ماده خشک و محتوای کلروفیل مریم‌گلی گردید. امّا کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم، بهره‌وری گیاه را در شرایط تنش خشکی بهبود بخشید. بیشترین عملکرد ماده خشک، کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل با کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تتیانیوم در شرایط آبیاری نرمال به دست آمد. با افزایش روند تنش خشکی، درصد اسانس مریم‌گلی افزایش یافت، به‌طوری‌که بیشترین درصد اسانس در تنش ملایم به دست آمد که ۴۱/۲ درصد نسبت به آبیاری نرمال افزایش پیدا کرد. علاوه‌بر این، درصد اسانس مریم‌گلی در کشت مخلوط ۱۱/۱ درصد بیشتر از کشت خالص آن بود. همچنین در تنش ملایم، کشت مخلوط به همراه کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم موجب افزایش ترکیب اصلی اسانس مریم‌گلی یعنی سیس–توجن گردید. به‌طور کلی، نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که کاربرد تلفیقی قارچ مایکوریزا + نانو دی‌اکسید تیتانیوم در کشت مخلوط می‌تواند به‌عنوان یک راهبرد پایدار برای بهبود کمیت و کیفیت اسانس مریم‌گلی در شرایط خشکی توصیه گردد.

References

1. Abdollahi Arpanahi, A., Feizian, M., Mehdipourian, G., & Khojasteh, D. N. (2020). Arbuscular mycorrhizal fungi inoculation improve essential oil and physiological parameters and nutritional values of *Thymus daenensis* Celak and *Thymus vulgaris* L. under normal and drought stress conditions. *European Journal of Soil Biology*, *100*, 1-11. http://dx.doi.org/10.1016/j.ejsobi.2020.103217.
2. Adams, R. P. (2007). Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Carol Stream: Allured Publishing Corporation.
3. Ahmad, B., Shabbir, A., Jaleel, H., Khan, M. M. A., & Sadiq, Y. (2018). Efficacy of titanium dioxide nanoparticles in modulating photosynthesis, peltate glandular trichomes and essential oil production and quality in *Mentha piperita* L. *Current Plant Biology*, *13*, 6-15. https://doi.org/10.1016/j.cpb.2018.04.002.
4. Amani Machiani, M., Javanmard, A., Morshedloo, M. R., Aghaee, A., & Maggi, F. (2021). *Funneliformis mosseae* inoculation under water deficit stress improves the yield and phytochemical characteristics of thyme in intercropping with soybean. *Scientific Reports*, *11*(1), 1-13. https://doi.org/10.1038/s41598-021-94681-9.
5. Amani Machiani, M., Javanmard, A., Morshedloo, M. R., & Maggi, F. (2018). Evaluation of competition, essential oil quality, and quantity of peppermint intercropped with soybean. *Industrial Crops and Products*, *111*, 743-754. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.11.052.
6. Amani Machiani, M., Rezaei-Chiyaneh, E., Javanmard, A., Maggi, F., & Morshedloo, M. R. (2019). Evaluation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seed yield and quali-quantitative production of the essential oils from fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) and dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) in intercropping system under humic acid application. *Journal of Cleaner Production*, *235*, 112-122. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.06.241 .
7. Anjum, S. A., Xie, X. Y., Wang, L. C., Saleem, M. F., Man, C., & Lei, W. (2011). Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*, *6*(9), 2026-2032. http://dx.doi.org/10.5897/AJAR10.027.
8. Bahreininejad, B., Razmjou, J., & Mirza, M. (2013). Influence of water stress on morpho-physiological and phytochemical traits in *Thymus daenensis*. *International Journal of Plant Production*, *7*(1), 151-166. https://doi.org/10.22069/ijpp.2012.927.

9. Begum, N., Akhtar, K., Ahanger, M. A., Iqbal, M., Wang, P., Mustafa, N. S., & Zhang, L. (2021). Arbuscular mycorrhizal fungi improve growth, essential oil, secondary metabolism, and yield of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) under drought stress conditions. *Environmental Science and Pollution Research*, *28*(33), 45276-45295. https://doi.org/10.1007/s11356-021-13755-3.
10. Bettaieb, I., Zakhama, N., Wannes, W. A., Kchouk, M. E., & Marzouk, B. (2009). Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition. *Scientia Horticulturae*, *120*(2), 271-275. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.10.016.
11. Biglari, T., Maleksaeidi, H., Eskandari, F., & Jalali, M. (2019). Livestock insurance as a mechanism for household resilience of livestock herders to climate change: Evidence from Iran. *Land Use Policy*, *87*, 1-9. http://dx.doi.org/10.1016/j.landusepol.2019.104043.
12. Chaudhary, I., & Singh, V. (2020). Titanium dioxide nanoparticles and its impact on growth, biomass and yield of agricultural crops under environmental stress: A Review. *Research Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, *10*, 1–8. http://dx.doi.org/10.3923/rjnn.2020.1.8.
13. Copetta, A., Lingua, G., & Berta, G. (2006). Effects of three AM fungi on growth, distribution of glandular hairs and essential oil production in *Ocimum basilicum* L. var. *Genovese*. *Mycorrhiza*, *16*, 485–494. https://doi.org/10.1007/s00572-006-0065-6.
14. Ebrahimghochi, Z., Mohsenabadi, G., & Majidian, M. (2018). Effect of planting date and intercropping with fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.) on yield and essential oil content of peppermint (*Mentha piperita* L.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, *21*(3), 759-768. http://dx.doi.org/10.1080/0972060X.2018.1465857.
15. El-Haddad, M. H., Zayed, M. S., El-Sayed, G. A. M., & Abd El-Satar, A. M. (2020). Efficiency of compost and vermicompost in supporting the growth and chemical constituents of *Salvia officinalis* L. cultivated in sand soil. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, *9*, 49-59. https://doi.org/10.30486/ijrowa.2020.671209.
16. Emami Bistgani, Z., Siadat, S. A., Bakhshandeh, A., Ghasemi Pirbalouti, A., & Hashemi, M. (2017). Interactive effects of drought stress and chitosan application on physiological characteristics and essential oil yield of *Thymus daenensis* Celak. *Crop Journal*, *5*(5), 407-415. http://dx.doi.org/10.1016/j.cj.2017.04.003.
17. Farahani, H. A., Valadabadi, S. A., Daneshian, J., & Khalvati, M. A. (2009). Evaluation changing of essential oil of balm (*Melissa officinalis* L.) under water deficit stress conditions. *Journal of Medicinal Plant Research*, *3*, 329-333. https://www.researchgate.net/publication/237559464.
18. Farahpour, M. R., Pirkhezr, E., Ashrafian, A., & Sonboli, A. (2020). Accelerated healing by topical administration of *Salvia officinalis* essential oil on *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* infected wound model. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *128*, 1-9. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110120.
19. Farruggia, D., Di-Miceli, G., Licata, M., Leto, C., Salamone, F., & Novak, J. (2024) Foliar application of various biostimulants produces contrasting response on yield, essential oil and chemical properties of organically grown sage (*Salvia officinalis* L.). *Frontiers in Plant Science, 15*, 1397489. https://doi.org 10.3389/fpls.2024.1397489.
20. Gao, S., Wang, Y., Yu, S., Huang, Y., Liu, H., Chen, W., & He, X. (2020). Effects of drought stress on growth, physiology, and secondary metabolites of two Adonis species in Northeast China. *Scientia Horticulturae*, *259*, 1-10. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108795.
21. Ghanbarzadeh, Z., Mohsenzadeh, S., Rowshan, V., & Moradshahi, A. (2019). Evaluation of the growth, essential oil composition and antioxidant activity of *Dracocephalum moldavica* under water deficit stress and symbiosis with *Claroideoglomus etunicatum* and *Micrococcus yunnanensis*. *Scientia Horticulturae*, *256*, 1-8. https://www.researchgate.net/publication/338633410.
22. Gheysari, M., Loescher, H. W., Sadeghi, S. H., Mirlatifi, S. M., Zareian, M. J., & Hoogenboom, G. (2015). Water-yield relations and water use efficiency of maize under nitrogen fertigation for semiarid environments: Experiment and synthesis. *Advances in Agronomy*, *130*, 175-229. https://dx.doi.org/10.1016/bs.agron.2014.12.001.
23. Giovannetti, M., & Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, *84*(3), 489-500. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x.
24. Gohari, G., Mohammadi, A., Akbari, A., Panahirad, S., Dadpour, M. R., Fotopoulos, V., & Kimura, S. (2020). Titanium dioxide nanoparticles (TiO_2 NPs) promote growth and ameliorate salinity stress effects on essential oil

profile and biochemical attributes of *Dracocephalum moldavica*. *Scientific Reports*, *10*(1), 1-14. https://doi.org/10.1038/s41598-020-57794-1.

25. Golami, A., Abbaspour, H., Hashemi-Moghaddam, H., & Gerami, M. (2018). Photocatalytic effect of TiO_2 nanoparticles on essential oil of *Rosmarinus officinalis*. *Journal of Biochemical Technology*, *9*(4), 50-56.
26. Golubkina, N., Logvinenko, L., Novitsky, M., Zamana, S., Sokolov, S., Molchanova, A., Shevchuk, O., Sekara, A., Tallarita, A., & Caruso, G. (2020). Yield, essential oil and quality performances of *Artemisia dracunculus*, *Hyssopus officinalis* and *Lavandula angustifolia* as affected by arbuscular mycorrhizal fungi under organic management. *Plants*, *9*, 1-16. https://doi.org/10.3390/plants9030375.
27. Govahi, M., Ghalavand, A., Nadjafi, F., & Sorooshzadeh, A. (2015). Comparing different soil fertility systems in sage (*Salvia officinalis*) under water deficiency. *Industrial Crops and Products*, *74*, 20-27. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.04.053.
28. Hazzoumi, Z., Moustakime, Y., & Joutei, K. A. (2015). Effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and water stress on growth, phenolic compounds, glandular hairs, and yield of essential oil in basil (*Ocimum gratissimum* L). *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, *2*(1), 1-11. https://doi.org/10.1186/s40538-015-0035-3.
29. Ingle, A. P. (2021). Nanotechnology in Plant Growth Promotion and Protection. Maharashtra India: John Wiley & Sons, Incorporated. https://doi.org/10.1002/9781119745884.
30. Jannoura, R., Joergensen, R. G., & Bruns, C. (2014). Organic fertilizer effects on growth, crop yield, and soil microbial biomass indices in sole and intercropped peas and oats under organic farming conditions. *European Journal of Agronomy*, *52*, 259-270. https://doi.org/10.1016/j.eja.2013.09.001.
31. Kapoor, R., Anand, G., Gupta, P., & Mandal, S. (2017). Insight into the mechanisms of enhanced production of valuable terpenoids by arbuscular mycorrhiza. *Phytochemistry Reviews*, *16*(4): 677-692. https://link.springer.com/article/10.1007/s11101-016-9486-9.
32. Khater, R. M., Sabry, R. M., Pistelli, L., Abd-ElGawad, A. M., Soufan, W., & El-Gendy, A. N. G. (2021). Effect of compost and titanium dioxide application on the vegetative yield and essential oil composition of Coriander. *Sustainability*, *14*(1), 322, 1-11. https://doi.org/10.3390/su14010322.
33. Khosheghbal Ghorabaee, F., Ghasemi Pirbalouti, A., Enteshari, S., & Davarpanah, S. J. (2020). Qualitative and quantitative effects of drought stress on essential oil compositions of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.). *Plant Research*, *33*(2), 349-356. https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.23832592.1399.33.2.1.3
34. Kleinwächter, M., & Selmar, D. (2015). New insights explain that drought stress enhances the quality of spice and medicinal plants: Potential applications. *Agronomy Sustainable Developments*, *35*, 121–131. https://doi.org/10.1007/s13593-014-0260-3.
35. Koske, R., & Gemma, J. (1989). A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycological Research*, *92*(4), 486-488. https://doi.org/10.1016/S0953-7562(89)80195-9.
36. Liu, R., & Lal, R. (2015). Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers for increasing agronomic productions. *Science of the Total Environment*, *514*, 131-139. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.01.104
37. Li, H., Ma, Z., Zhang, G., Chen, J., Lu, Y., & Li, P. (2024). Performance of a drip irrigation system under the co-application of water, fertilizer, and air. *Horticulturae*, *10*, 1-22. https://doi.org/10.3390/ horticulturae10010006
38. Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, *148*, 350-382. https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1
39. Llusia, J., Penuelas, J., Alessio, G. A., & Estiarte, M. (2006). Seasonal contrasting changes of foliar concentrations of terpenes and other volatile organic compound in four dominant species of a Mediterranean shrubland submitted to a field experimental drought and warming. *Physiologia Plantarum*, *127*(4), 632–649. http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00693.x
40. Madhava, K. V., Raghavendra, A. S., & Reddy, K. J. (2006). Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants. Springer Science & Business MediaIndia. https://doi.org/10.1007/1-4020-4225-6.
41. Manzer, H., Siddiqui, M. H., & Al-Whaibi, F. M. (2015). Nanotechnology and Plant Sciences, Nanoparticles and Their Impact on Plants. Springer, Cham. http://10.1007/978-3-319-14502-0.
42. Mao, Z. H., Deng, L., Duan, F. Z., Li, X. J., & Qiao, D. Y. (2020). Angle effects of vegetation indices and the influence on prediction of SPAD values in soybean and maize. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, *93*, 1-14. http://dx.doi.org/10.1016/j.jag.2020.102198.

43. Mazarie, A., Mousavi-Nik, S. M., Ghanbari, A., & Fahmideh, L. (2019). Effect of different spraying concentrations of jasmonic acid and titanium dioxide nanoparticles on some physiological traits and antioxidant system activity of sage (*Salvia officinalis* L.). *Iranian Journal of Plant Biology*, *11*(1), 1-22. https://doi.org/10.22108/ijpb.2018.110510.1092.
44. McGonigle, T., Miller, M., Evans, D., Fairchild, G., & Swan, J. (1990). A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular—arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, *115*(3), 495-501. https://nph.onlinelibrary.wiley.com/authored-by/EVANS/D.+G.
45. Mohammadi, H., Amirikia, F., Ghorbanpour, M., Fatehi, F., & Hashempour, H. (2019). Salicylic acid induced changes in physiological traits and essential oil constituents in different ecotypes of *Thymus kotschyanus* and *Thymus vulgaris* under well-watered and water stress conditions. *Industrial Crops and Products*, *129*, 561-574. http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.046.
46. Mohammadi, H., Esmailpour, M., & Gheranpaye, A. (2016). Effects of TiO_2 nanoparticles and water-deficit stress on morpho-physiological characteristics of dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) plants. *Acta Agriculturae Slovenica*, *107*(2), 385-396. https://doi.org/10.14720/aas.2016.107.2.11.
47. Moghadam, E., Mahmoodi Sourestani, M., Ramazani, Z., Farrokhian Firoozi, A., & Eskandari, F. (2016). Effects of iron foliar application on the number and size of glandular trichomes and essential oil content and composition of holy basil (*Ocimum sanctum* L.) at first and second harvests. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, *32*(1), 174-188. https://doi.org/10.22092/ijmapr.2016.106146.
48. Monti, M., Pellicanò, A., Santonoceto, C., Preiti, G., & Pristeri, A. (2016). Yield components and nitrogen use in cereal-pea intercrops in Mediterranean environment. *Field Crops Research*, *196*, 379-388. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2016.07.017 .
49. Morshedloo, M. R., Craker, L. E., Salami, A., Nazeri, V., Sang, H., & Maggi, F. (2017). Effect of prolonged water stress on essential oil content, compositions and gene expression patterns of mono-and sesquiterpene synthesis in two oregano (*Origanum vulgare* L.) subspecies. *Plant Physiology and Biochemistry*, *111*, 119-128. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.11.023.
50. Morshedloo, M. R., Maggi, F., Neko, H. T., & Aghdam, M. S. (2018). Sumac (*Rhus coriaria* L.) fruit: Essential oil variability in iranian populations. *Industrial Crops and Products*, *111*, 1-7. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.002.
51. Mucciarelli, M., Scannerini, S., Bertea, C., & Maffei, M. (2003). *In vitro* and *in vivo* peppermint (*Mentha piperita*) growth promotion by nonmycorrhizal fungal colonization. *New Phytologist*, *158*, 591–597. https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00762.x.
52. Nasiri Mahallati, M. N., Koocheki, A., Mondani, F., Feizi, H., & Amirmoradi, S. (2015). Determination of optimal strip width in strip intercropping of maize (*Zea mays* L.) and bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Northeast Iran. *Journal of Cleaner Production*, *106*, 343-350. http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.10.099
53. Phillips, J. M., & Hayman, D. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, *55*(1), 158-161. https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3
54. Rafique, R., Zahra, Z., Virk, N., Shahid, M., Pinelli, E., Park, T. J., Kallerhoff, J., & Arshad, M. (2018). Dose-dependent physiological responses of *Triticum aestivum* L. to soil applied TiO_2 nanoparticles: Alterations in chlorophyll content, H_2O_2 production, and genotoxicity. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, *255*, 95-101. http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2017.12.010.
55. Rezaei-Chiyaneh, E., Mahdavikia, H., Battaglia, M. L., Thomason, W. E., & Caruso, G. (2021). Intercropping and fertilizer type impact seed productivity and secondary metabolites of dragon's head and fenugreek. *Scientia Horticulturae*, *287*, 1-12. http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110277.
56. Rezaei-Chiyaneh, E., Amirnia, R., Amani Machiani, M., Javanmard, A., Maggi, F., & Morshedloo, M. R. (2020). Intercropping fennel (*Foeniculum vulgare* L.) with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by PGPR inoculation: A strategy for improving yield, essential oil and fatty acid composition. *Scientia Horticulturae*, *261*, 1-11. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108951.
57. Said-Al Ahl, H. A. H., & Hussein, M. S. (2010). Effect of water stress and potassium humate on the productivity of oregano plant using saline and fresh water irrigation. *Ozean Journal of Applied Sciences*, *3*(1), 125-141.

https://www.researchgate.net/publication/266967908.

58. Salehi-Lisar, S. Y., & Bakhshayeshan-Agdam, H. (2020). Agronomic crop responses and tolerance to drought stress. *Agronomic Crops*, *3*, 63-91. http://dx.doi.org/10.1007/978-981-15-0025-1_5.
59. Šebesta, M., Ramakanth, I., Zvěřina, O., Šeda, M., Diviš, P., & Kolenčík, M. (2021). Effects of titanium dioxide nanomaterials on plants growth. Nanotechnology in Plant Growth Promotion and Protection: Recent Advances and Impacts. pp. 17-44. New York, United States: John Wiley & Sons Ltd. https://doi.org/10.3390/plants11131659.
60. Shabbir, A., Khan, M. M. A., Ahmad, B., Sadiq, Y., Jaleel, H., & Uddin, M. (2019). Efficacy of TiO_2 nanoparticles in enhancing the photosynthesis, essential oil and khusimol biosynthesis in *Vetiveria zizanioides* L. Nash. *Photosynthetica*, *57*(2), 599-606. https://doi.org/10.32615/ps.2019.071.
61. Sharifi-Rad, J., Sureda, A., Tenore, G. C., Daglia, M., Sharifi-Rad, M., Valussi, M., Tundis, R., Sharifi-Rad, M., Loizzo, M. R., Ademiluyi, A. O., & Sharifi-Rad, R. (2017). Biological activities of essential oils: From plant chemoecology to traditional healing systems. *Molecules*, *22*(1), 1-55. https://doi.org/10.3390/molecules22010070.
62. Shivakrishna, P., Reddy, K. A., & Rao, D. M. (2018). Effect of PEG-6000 imposed drought stress on RNA content, relative water content (RWC), and chlorophyll content in peanut leaves and roots. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *25*(2), 285-289. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.04.008.
63. Shukla, A., Kumar, A., Jha, A., Salunkhe, O., & Vyas, D. (2013). Soil moisture levels affect mycorrhization during early stages of development of agroforestry plants. *Biology and Fertility of Soils*, *49*(5), 545-554. https://www.researchgate.net/journal/Biology-and-Fertility-of-Soils-1432-0789.
64. Silva, T. C., Pinto, J. E. B. P., Pacheco, F. V., Roza, H. L. H., Lordêllo, D. M. D. S., & Bertolucci, S. K. V. (2018). The growth, photosynthetic pigments and essential oil composition of monocropped and intercropped lemon balm with yarrow. *Acta Scientiarum. Agronomy*, *40*, 1-7. https://doi.org/10.4025/actasciagron.v40i1.35506.
65. Sun, T., Rao, S., Zhou, X., & Li, L. (2022). Plant carotenoids: Recent advances and future perspectives. *Molecular Horticulture*, *2*(1), 1-21. https://doi.org/10.1186/s43897-022-00023-2.
66. Tarraf, W., Ruta, C., Tagarelli, A., De Cillis, F., & De Mastro, G. (2017). Influence of arbuscular mycorrhizae on plant growth, essential oil production and phosphorus uptake of *Salvia officinalis* L. *Industrial Crops and Products*, *102*, 144-153. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.03.010.
67. Thokchom, S. D., Gupta, S., & Kapoor, R. (2020). Arbuscular mycorrhiza augments essential oil composition and antioxidant properties of *Ocimum tenuiflorum* L. A popular green tea additive. *Industrial Crops and Products*, *153*, 1-12. http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112418.
68. Tohidi, B., Rahimmalek, M., & Trindade, H. (2019). Review on essential oil, extracts composition, molecular and phytochemical properties of *Thymus* species in Iran. *Industrial Crops and Products*, *134*, 89-99. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.038.
69. Toksha, B., Sonawale, V. A. M., Vanarase, A., Bornare, D., Tonde, S., Hazra, C., Kundu, D., Satdive, A., Tayde, S., & Chatterjee, A. (2021). Nanofertilizers: A review on synthesis and impact of their use on crop yield and environment. *Environmental Technology & Innovation*, *24*, 1-19. https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101986.
70. Urcoviche, R. C., Gazim, Z. C., Dragunski, D. C., Barcellos, F. G., & Alberton, O. (2015). Plant growth and essential oil content of *Mentha crispa* inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi under different levels of phosphorus. *Industrial Crops and Products*, *67*, 103-107. http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.016.
71. Varma, A., Prasad, R., & Tuteja, N. (2018). Mycorrhiza-Nutrient Uptake, Biocontrol, Ecorestoration. Springer Nature, Cham. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-68867-1.
72. Weisany, W., Tahir, N. A. R., & Schenk, P. M. (2021). Coriander/soybean intercropping and mycorrhizae application lead to overyielding and changes in essential oil profiles. *European Journal of Agronomy*, *126*, 1-12. http://dx.doi.org/10.1016/j.eja.2021.126283.
73. Willmann, M., Gerlach, N., Buer, B., Polatajko, A., Nagy, R., Koebke, E., Jansa, J., Flisch, R., & Bucher, M. (2013). Mycorrhizal phosphate uptake pathway in maize: Vital for growth and cob development on nutrient poor agricultural and greenhouse soils. *Frontiers in Plant Science*, *4*, 1-6. https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00533.
74. Wu, Y. H., Wang, H., Liu, M., Li, B., Chen, X., Ma, Y. T., & Yan, Z. Y. (2021). Effects of native arbuscular mycorrhizae isolated on root biomass and secondary metabolites of *Salvia miltiorrhiza* Bge. *Frontiers in Plant*

Science, *12*, 1-13. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.617892.

75. Yang, F., Hong, F., You, W., Liu, C., Gao, F., Wu, C., & Yang, P. (2006). Influence of nano-anatase TiO_2 on the nitrogen metabolism of growing spinach. *Biological Trace Element Research*, *110*(2), 179-190. https://doi.org/10.1385/BTER:110:2:179.
76. Yang, F., Huang, S., Gao, R., Liu, W., Yong, T., Wang, X., Wu, X., & Yang W. (2014). Growth of soybean seedling in relay strip intercropping systems in relation to light quantity and red: Far red ratio. *Field Crops Research*, *155*, 245-253. http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2013.08.011.
77. Zare Hassanabdi, M., Dashti, M., & Akhondi, M. (2020). The effect of two species of arbuscular mycorrhiza fungi on the activity of antioxidant enzymes and morphophysiological characteristics of *Mentha pulegium* L. in drought stress. *Iranian Medicinal Plants Technology*, *2*, 83-99. https://doi.org/10.22092/mpt.2020.127803.1049.
78. Zhang, R. R., Wang, Y. H., Li, T., Tan, G. F., Tao, J. P., Su, X. J., Xu, Z. S., Tian, Y. S., & Xiong, A. S. (2021). Effects of simulated drought stress on carotenoid contents and expression of related genes in carrot taproots. *Protoplasma*, *258*(2), 379-390. https://doi.org/10.1007/s00709-020-01570-5.
79. Zaferanieh, M., & Mahdavi, B. (2021). Effect of water stress on morphological traits, mucilage percentage and yield of *Alyssum homolocarpum*. *Desert*, *26*(1), 99-113. https://doi.org/10.22059/jdesert.2020.305751.1006787.