نشریه بوم شناسی کشاورزی
جلد ۹، شماره ۱، بهار ۱۳۹۶، ص. ۴۹-۳۱

Journal of Agroecology
Vol. 9, No. 1, Spring 2017, p. 31-49

اثر تنش خشکی و تلقیح کودهای زیستی بر ویژگی‌های کمی و کیفی ماریتیغال (*Silybum marianum* L.)

رقیه محمدپور وشوایی[1*]، محمود رمرودی[2] و براتعلی فاخری[3]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۲/۰۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۴/۰۷

محمدپور وشوایی، ر.، رمرودی، م.، و فاخری، ب. ۱۳۹۶. اثر تنش خشکی و تلقیح کودهای زیستی بر ویژگی‌های کمی و کیفی ماریتیغال (*Silybum marianum* L.). بوم‌شناسی کشاورزی، ۹(۱): ۴۹-۳۱.

چکیده

خار مریم یا ماریتیغال (*Silybum marianum* L.) گیاهی دارویی، علفی و یک‌ساله است که برای درمان بیماری‌های کبدی استفاده می‌شود. به منظور بررسی اثر تنش خشکی و کودهای زیستی بر خصوصیات کمی و کیفی ماریتیغال، آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک-های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زابل در سال زراعی ۹۲-۱۳۹۱ اجرا شد. کرت‌های اصلی شامل آبیاری با ۵۰، ۷۰ و ۹۰ درصد ظرفیت زراعی و کرت‌های فرعی شامل تغذیه گیاه با کودهای زیستی نیتروکسین، سوپرنیتروپلاس، فسفات بارور ۲، میکوریزا به صورت بذر مال و عدم مصرف کود بود. صفات مورد مطالعه شامل عملکرد دانه، تعداد کاپیتول در بوته، تعداد دانه در کاپیتول، وزن هزار دانه، درصد اسانس، درصد ماده آلی گیاه، درصد پرولین و درصد پروتئین دانه بودند. نتایج نشان داد که اثر تنش خشکی، کود زیستی و برهمکنش آن‌ها بر کلیه صفات مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. بیشترین عملکرد دانه (۱۳۰۰/۰۰ گیلوگرم)، تعداد کاپیتول در بوته (۱۲/۰۰ عدد)، وزن هزار دانه (۲۳/۲۷ گرم)، درصد ماده آلی گیاه (۹۵/۰۰ درصد) و درصد پروتئین دانه (۱۷/۱۹ درصد) در تیمار ۹۰ درصد آبیاری و کود زیستی نیتروکسین حاصل شد. حداکثر تعداد دانه در کاپیتول با ۸۷/۶۷ عدد به تیمار ۹۰ درصد آبیاری و کود زیستی میکوریزا تعلق داشت. تیمارهای ۷۰ و ۹۰ درصد آبیاری و کود زیستی نیتروکسین به ترتیب حداکثر و حداقل صفات درصد اسانس (۳/۷۲ درصد) و درصد پرولین (۰/۰۴ درصد) را تبیین نمودند. تعداد کاپیتول در بوته مهم‌ترین جزء تعیین-کننده عملکرد بود. کود زیستی نیتروکسین نسبت به سایر کودها توانست تنش خشکی را بیشتر تعدیل نماید و موجب بهبود ویژگی‌های کمی و کیفی گیاه ماریتیغال شود. بنابراین، به نظر می‌رسد که در راستای نیل به اهداف کشاورزی پایدار به جای کودهای شیمیایی قابل توصیه باشد.

واژه‌های کلیدی: تنش کم‌آبی، خارمریم، کود زیستی، گیاه دارویی

مقدمه

خار مریم یا ماریتیغال (*Silybum marianum* L.) گیاهی دارویی، علفی، یک‌ساله، از خانواده کمپوزیته[4] و بومی اروپای غربی و مرکزی و شمال هند است که در نقاط مختلف ایران به صورت وحشی یافت می‌شود. این گیاه در رویشگاه‌های طبیعی خود در برخی مناطق معتدله با شرایط آب و هوای مدیترانه‌ای قادر به گذراندن دوره سرمای زمستان می‌باشد. به همین دلیل می‌تواند به صورت یک محصول پاییزه نیز در آن مناطق کشت شود، ولی در نواحی سردسیر مناطق مدیترانه‌ای باید در فصل بهار کشت گردد (Omidbaygi, 2006). عصاره این گیاه از قرن چهارم پیش از میلاد مسیح به عنوان گیاه دارویی برای درمان بیماری‌های کبدی تجویز می‌شد. در قرون وسطی در اروپا توسط راهبان در صومعه‌ها کشت و از ریشه، ساقه و برگ‌های

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی دکتری اگرواکولوژی، دانشیار، گروه زراعت و استاد اصلاح نباتات، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل
(*- نویسنده مسئول: (Email: ro_mohammadpour@yahoo.com
DOI:10.22067/jag.v9i1.32650
4 - Asteraceae

آن برای مصارف دارویی استفاده می‌گردید. از سال ۱۷۵۵ میلادی استفاده اصلی از بذر این گیاه به منظور درمان بیماری‌های کبدی آغاز شد و امروزه، اسانس استخراج شده از دانه‌های آن بر ضد مسمومیت های کبدی و غیره استفاده می‌شوند (Hikino & Kiso, 1984; Hammmoda et al., 1991). اسانس دانه‌های گیاه ماریتیغال از نوع فلاونولیگنان‌ها (خانواده فنل‌ها) هستند که این مواد ۱/۵ تا ۳ درصد وزن دانه آن را تشکیل می‌دهند (Dewick, 1998). مهم‌ترین فلاونوئیدهای موجود در دانه‌های این گیاه سیلی‌بین، سیلی‌کریستین و سیلی‌دیانین می‌باشد که مجموعه آن‌ها تحت عنوان ترکیبات سیلی-مارین شناخته می‌شوند و به رنگ زرد می‌باشند (Omidbaygi, 2006).

مشکلات اقتصادی ناشی از افزایش رو به رشد هزینه کودهای شیمیایی از یک سو و مسائل زیست‌محیطی مرتبط با مصرف غیراصولی آن‌ها از سوی دیگر، تفکر استفاده از شیوه‌های زیستی تثبیت عناصر برای تقویت رشد محصولات را قوت بخشید (Gholami & Koocheki, 2002; Bockman, 1997). بر همین اساس، در دو دهه گذشته طیف گسترده‌ای از موجودات خاکزی در ریزوسفر شناخته شده‌اند که می‌توانند رشد بسیاری از گونه‌های گیاهی مهم را بهبود بخشند. بنابراین، به منظور جبران کمبود عناصر غذایی و رفع نیاز غذایی گیاهان در جهت افزایش عملکرد، هماهنگ با سالم-سازی محیط زیست و نیل به کشاورزی پایدار، استفاده از این موجودات یکی از مؤثرترین شیوه‌های مدیریت بهبود حاصلخیزی خاک می‌باشد (Pallai, 2005). بنابراین برای حفظ کیفیت خاک در راستای نیل به اهداف کشاورزی پایدار استفاده از کودهای زیستی، به خصوص در خاک‌های فقیر از عناصر غذایی، ضرورتی اجتناب‌ناپذیر است. کودهای زیستی در حقیقت متشکل از انواع مختلف ریزموجودات آزادزی بوده که توانایی تبدیل عناصر غذایی اصلی را از فرم غیر قابل دسترس به فرم قابل دسترس طی فرآیندهای بیولوژیک دارند و به منظور تأمین عناصر غذایی گیاه استفاده می‌شوند (Rajendran & Chen, 2006; Vessey, 2003; Devarj, 2004). این ریزموجودات از طریق مکانیسم‌های مختلفی نظیر افزایش میزان جذب و دسترسی به عناصر غذایی (Kartikeyan et al., 2008) از جمله تثبیت نیتروژن (Piromyou et al., 2011; Sahin et al., 2004)، تبدیل فسفات معدنی به آلی (Singh et al., 2011; Aslantas et al., 2007)، افزایش جذب آب و مواد غذایی (Yadegari et al., 2010)، مقابله با بیماری‌های خاکزاد (Singh et al., 2011; Dey et al., 2004) آزاد کردن متابولیت‌ها و تولید انواع هورمون‌های رشد گیاهی نظیر اکسین (Piromyou et al., 2011; Egamberdiyeeva, 2007)، جیبرلین (Aslantas et al., 2007)، سیتوکینین (Gutierrez-Manero et al., 2001) و کنترل تولید اتیلن (Pirlak & Kose, 2009)، کنترل زیستی (Walsh et al., 2001)، افزایش تحریک رشد گیاهان، توسعه سیستم ریشه‌ای، ترشح انواع مواد فعال بیولوژیک مانند ویتامین‌های گروه B، اسید نیکوتینیک، اسید پنتوتینیک و بیوتین (Kader, 2002) و ایجاد مقاومت سیستمیک (Van Loon & Glick, 2004; Van Loon et al., 1998) باعث تحریک رشد گیاه می‌شوند. علاوه بر این، این ریزموجودات موجب افزایش ماده آلی خاک و فعالیت میکروارگانیسم‌ها شده و بدین ترتیب ساختمان خاک به طور قابل ملاحظه‌ای بهبود می‌یابد (Biyari et al., 2008). نتایج یافته‌ها حاکی از بهبود کمیت و کیفیت محصولات تحت تأثیر کودهای بیولوژیک می‌باشد. دلیل این امر پیچیده است و می‌توان آن را به اثرات متقابل گیاه و ریزموجودات، انتقال سیگنال توسط ریزموجودات و پاسخ‌های دفاعی گیاه نسبت داد (Kartikeyan et al., 2008). تلقیح با کود زیستی نه تنها نقش اساسی در افزایش عملکرد گیاهان دارویی دارند، بلکه برکمیت و کیفیت مواد مؤثره آن نیز مؤثر است (Omidbaygi, 2006). بهبود تولید کمی و کیفی گیاهان دارویی از جمله رازیانه (*Foeniculum vulgare* L.) (Kapoor et al., 2004)، سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) (Shaalan, 2005) و افسنطین (*Artemisia absinthium* L.) (Kapoor et al., 2007) در اثر تلقیح با کودهای بیولوژیک گزارش شده است.

از جمله کودهای زیستی که حاوی ریزموجودات متعددی هستند می‌توان به نیتروکسین، سوپرنیتروپلاس، فسفات بارور ۲ و میکوریزا اشاره نمود. نیتروکسین و سوپرنیتروپلاس علاوه بر تثبیت نیتروژن هوا و متعادل کردن جذب عناصر پرمصرف و ریزمغذی‌های مورد نیاز گیاه، ترشح اسیدهای آمینه و انواع آنتی بیوتیک، سیانید هیدروژن و سیدروفور را نیز بر عهده دارند و موجب رشد و توسعه ریشه و قسمت های هوایی گیاه، محافظت از ریشه‌ها در برابر عوامل بیماری‌زای خاکزی و در نتیجه افزایش محصول می‌گردند (Gilik et al., 2001). فعالیت اصلی میکروارگانیسم‌های فسفات بارور ۲ تولید اسیدهای آلی و افزایش اسیدیته توسط اکسیداسیون ناقص قندها است که باعث کاهش حلالیت فسفر محیط می‌شوند. از طرفی واکنش‌های آنزیمی به

ویژه آنزیم‌های گروه فسفاتاز تولید شده توسط برخی از این میکروارگانیسم‌ها بر معدنی شدن فسفر نیز مؤثر است (Kumutha et al., 2004) از طرف دیگر، این باکتری‌ها قادرند شرایط را برای افزایش راندمان استفاده از کود از طریق کاهش تثبیت فسفر فراهم نمایند (Mehnaz & Lazarovits, 2006). میکوریزا همزیستی مسالمت آمیز قارچ‌های خاکزی و ریشه گیاهان است. میکوریزا در سال‌های اخیر برای مقابله با کم‌آبی و تنش‌های خشکی در بسیاری از گیاهان مورد استفاده قرار گرفته است (Song, 2005). مطالعات بوم-شناسی و فیزیولوژیک اثبات کرده است که اغلب همزیستی میکوریزا باعث جذب بهتر آب از خاک می‌شود. قارچ‌های میکوریزا، باعث افزایش سطح جذب ریشه می‌شوند که به گیاه میزبان کمک می‌کنند تا میزان آب بیشتری از خاک جذب نماید (Auge et al., 2001). همزیستی میکوریزا اغلب منجر به تغییر سرعت حرکت آب در خارج و داخل گیاهان میزبان شده و روی آبگیری بافت و فیزیولوژی برگ تأثیر می‌گذارد (Auge et al., 2001). گاهی اوقات رابطه همزیستی میکوریزا از طریق اجتناب از خشکی، گیاهان را در مقابل تنش حفظ می‌کند و این‌کار را با افزایش جذب عناصر فسفر و سایر عناصر ضروری برای رشد و توسعه گیاه انجام می‌دهد (Auge et al., 2001).

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین و رایج‌ترین تنش‌های محیطی است که تولیدات کشاورزی را در مناطق خشک و نیمه‌خشک با محدودیت رو به رو می‌سازد و راندمان تولید را به شدت کاهش می دهد (Reddy et al., 2004). تنش خشکی ضمن کاهش محتوای آب در بافت‌های گیاهان، باعث محدود شدن رشد، کاهش عملکرد و بروز یا تشدید سایر تنش‌ها به خصوص تنش کمبود عناصر غذایی برای گیاه می‌شود (Munns, 1993). یکی از زیان‌بارترین اثرات تنش خشکی اختلال در روند جذب و تجمع عناصر غذایی است که علاوه بر تلفات کود، باعث کاهش عملکرد دانه می‌گردد. قابلیت دسترسی عناصر غذایی مختلف در خاک تحت تأثیر تنش خشکی تغییرات قابل ملاحظه‌ای می‌یابد. بنابراین، مدیریت تغذیه گیاه در شرایط تنش یکی از مسائل مهم در تولید محصولات گیاهی محسوب می‌شود (Mohammadkhani & Heidari, 2007). گیاهی که خوب تغذیه شده باشد و به مقدار کافی عناصر غذایی را دریافت کرده باشد، مقاومت بهتری به خشکی خواهد داشت (Lal et al., 1993) و در این راستا کمیت و کیفیت محصول نیز تحت تأثیر قرار خواهد گرفت. شناخت بهتر نقش عناصر غذایی در مقاومت گیاهان به تنش خشکی، با بهبود مدیریت کود در مناطق خشک و نیمه‌خشک و مناطقی که از خشکی رنج می‌برند در ارتباط است (Solinas & Deiana, 1996). در واقع بسته به میزان دسترسی به آب، اضافه کردن عناصر غذایی می‌تواند موجب افزایش و یا کاهش مقاومت به تنش گردد و یا حتی بی‌تأثیر باشد (Sreevalli et al., 2001).

با توجه به لزوم مدیریت تغذیه گیاهی در راستای رفع نیاز غذایی گیاهان در جهت افزایش عملکرد و پایداری تولید در شرایط تنش کم-آبی هماهنگ با محیط زیست و نیل به کشاورزی پایدار و اهمیت و جایگاه گیاه ماریتیغال به عنوان یک گیاه دارویی مهم، هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات تنش کم‌آبی بر برخی خصوصیات کمی و کیفی ماریتیغال و تأثیر مصرف کودهای زیستی در جهت جبران خسارت ناشی از تنش کم‌آبی بوده است.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر تنش خشکی و کود زیستی بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه ماریتیغال آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زابل با طول جغرافیایی بین ۶۰ درجه و ۱۵ دقیقه تا ۶۱ درجه و ۵۰ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۰ درجه و ۵۰ دقیقه تا ۳۱ درجه و ۲۸ دقیقه شمالی و با ارتفاع ۴۸۰ متر از سطح دریا آزاد در سال زراعی۹۲-۱۳۹۱ اجرا شد. این منطقه دارای اقلیمی بیابانی با تابستان بسیار خشک و زمستان ملایم است. میانگین دمای سالانه ۲۱/۷، حداکثر مطلق دما ۴۹ و حداقل مطلق آن ۷- درجه سانتی‌گراد می‌باشد. میانگین سالانه رطوبت نسبی ۳۹/۲۰ درصد و میانگین بارندگی و تبخیر سالانه به ترتیب ۵۳ و ۵۰۰۰-۴۰۰۰ میلی‌متر است. بر اساس نتایج آزمایش خاک از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متر، بافت خاک رسی‌سیلتی، اسیدیته ۷/۲، هدایت الکتریکی ۱/۵ دسی‌زیمنس بر متر، نیتروژن ۰/۱۷ درصد، فسفر ۱۲ppm و پتاسیم ۱۴۰ppm بود.

کرت‌های اصلی شامل سطوح آبیاری با ۵۰، ۷۰ و ۹۰ درصد ظرفیت زراعی و کرت‌های فرعی شامل تغذیه گیاه با کودهای زیستی نیتروکسین (حاوی باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن از جنس *Azospirillum lipoferoum*، *Azotobacter chorococum* و حل کننده فسفات از جنس *Pseudomonas* sp. با 10^8 سلول زنده در هر میلی‌لیتر)، سوپرنیتروپلاس (مجموعه‌ای از گونه‌های مختلف

باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن، کنترل‌کننده عوامل بیماری‌زای خاکزی *Bacillus subtilis* و باکتری‌های محرک رشد (PGPR)[۱] از جمله *Azospirillum* spp. و *Pseudomonas fluorescens* با 10^8 سلول زنده در هر میلی‌لیتر)، فسفات بارور ۲ (شامل دو نوع باکتری حل‌کننده فسفر از گونه‌های *Bacillus lentus* که با ترشح اسیدهای آلی و گونه‌ای از *Pseudomonas putida* با ترشح اسید فسفاتاز سبب افزایش حلالیت فسفر نامحلول می‌شوند با 10^8 سلول زنده در هر گرم)، قارچ میکوریزا (*Glomus etunicatum* و *G. versiformis*) و عدم مصرف کود زیستی (شاهد) بود. نیتروکسین و سوپرنیتروپلاس به میزان دو لیتر در هکتار، فسفات بارور ۲ به میزان ۱۰۰ گرم در هکتار، و میکوریزا به میزان ۴۰۰ گرم در هکتار به صورت بذر مال استفاده شد. کودهای بیولوژیک استفاده شده در این تحقیق توسط شرکت فن‌آوری زیستی مهر آسیا (MABCO[۲]) و تحت لیسانس و نظارت مستقیم مؤسسه خاک و آب کشور تولید شده بودند. عملیات بذر مال کردن کودها شامل قرار دادن بذور به مدت ۳۰ دقیقه در محلول باکتریایی بود و بلافاصله پس از خشک شدن بذرها در سایه و به دور از تابش مستقیم نور خورشید، اقدام به کاشت گردید. در طول اجرای آزمایش، هیچ نوع کود شیمیایی، علف‌کش، آفت‌کش و یا قارچ‌کشی مصرف نشد.

کاشت به صورت هیرم‌کاری صورت گرفت. بدین منظور ۴-۳ بذر در هر کپه با عمق سه سانتی‌متر به روش جوی و پشته در چهار ردیف سه متری با فاصله ۳۰ سانتی‌متر روی ردیف و ۵۰ سانتی‌متر بین ردیف کشت شدند. رطوبت در ظرفیت زراعی و نقطه پژمردگی به ترتیب ۲۸/۵ و ۱۲/۵ درصد حجمی خاک تعیین گردید. تفاضل رطوبت ظرفیت مزرعه‌ای و رطوبت نقطه پژمردگی، به عنوان رطوبت قابل دسترس در نظر گرفته شد. هر روز درصد حجمی رطوبت خاک تعیین شد و زمان آبیاری تیمارهای مختلف به دست آمد. آبیاری هر کرت پس از رسیدن رطوبت به ۵۰، ۷۰ و ۹۰ درصد ظرفیت زراعی (به ترتیب ۱۴/۲۵، ۱۹/۹۵ و ۲۵/۶۵ درصد حجمی رطوبت خاک) با تانکر انجام شد. اندازه‌گیری رطوبت با دستگاه رطوبت سنج TDR[۳] مدل دلتا تی (Delta-T Devices Ltd. UK) انجام گرفت. عملیات تنک کردن در مرحله ۴-۲ برگی انجام شد. وجین علف‌های هرز در سه نوبت با دست انجام گردید. ویژگی‌های تعداد دانه در کاپیتول[۴]، تعداد کاپیتول در بوته، وزن هزار دانه، درصد اسانس، درصد ماده آلی گیاه، درصد پرولین و درصد پروتئین روی ۱۰ بوته که به طور تصادفی از هر کرت انتخاب شده بودند مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری درصد پرولین از روش بیتز و همکاران (Bates et al., 1973) استفاده شد. بدین منظور به ۰/۵ گرم از هر نمونه گیاهی ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک سه درصد اضافه، در هاون چینی خوب سائیده و هموژنیزه شد. سپس مخلوط حاصل در درون لوله آزمایش ریخته و ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. دو میلی‌لیتر از عصاره صاف شده برداشته و در یک لوله آزمایش ریخته شد. سپس به هر لوله آزمایش دو میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک اضافه گردید. لوله‌های آزمایش در حمام بن-ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار داده شدند و پس از آن جهت خاتمه واکنش به حمام یخ منتقل شدند. پس از سرد شدن لوله‌ها، به آن‌ها چهار میلی‌لیتر تولوئن افزوده شد و ۳۰ ثانیه به هم زده شدند و پس از تشکیل دو فاز مجزا قسمت رنگی برداشته شد و توسط اسپکتروفتومتر میزان جذب آن‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید. آن‌گاه غلظت پرولین بر حسب میکرومول بر گرم ماده تر با استفاده از معادله (۱) محاسبه گردید.

معادله (۱) {پرولین= [(عدد اسپکتروفتومتر) × (تولوئن مصرفی)/۱۱۵/۶]/(وزن نمونه به گرم)/۵/}

عملکرد دانه پس از حذف اثرات حاشیه از وسط هر کرت به دست آمد. داده‌های هر کرت پس از میانگین‌گیری (برای ۱۰ نمونه اندازه-گیری شده) مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد و با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. همبستگی‌های ساده بین صفات محاسبه گردید. تجزیه و تحلیل آماری نتایج تحقیق با استفاده از نسخه ۹/۲ نرم افزار SAS[۵] (SAS Institute, 2013, Cary, NC.) صورت گرفت.

نتایج و بحث

عملکرد دانه

اثر تنش خشکی، کود زیستی و اثر متقابل آن‌ها بر عملکرد دانه معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۱) بود (جدول ۱). بیشترین عملکرد دانه (۱۲۲۴/۶۰

۱ - Plant growth promoting rhizobacteria

۲- Mehr Asia Biotechnology Company

۳- Time domain reflectometry

۴ - Capitule

۵- Statistical analysis system

کیلوگرم در هکتار) از تیمار ۹۰ درصد آبیاری و کمترین آن (۹۷۸/۱۳ کیلوگرم در هکتار) در تیمار ۵۰ درصد آبیاری به دست آمد (جدول ۲). کاهش عملکرد دانه و اجزای آن در شرایط تنش کم‌آبی شدید نسبت به آبیاری بیشتر را می‌توان به کاهش فتوسنتز و ماده‌سازی در گیاه تحت شرایط تنش نسبت داد. چرا که کاهش فتوسنتز خالص و کاهش مواد غذایی انتقال یافته از برگ به دانه از پیامدهای تنش کمبود آب است که باعث کاهش عملکرد دانه می‌شود. کاهش میزان فتوسنتز به علت بسته شدن روزنه‌ها (کاهش رشد گیاه)، کمبود مواد فتوسنتزی لازم برای پر کردن دانه‌ها و کاهش دوره پر شدن دانه‌ها از مهم‌ترین اثرات تنش خشکی بر گیاه است (Reddy et al., 2004).

جدول ۱- آنالیز واریانس (میانگین مربعات) ویژگی‌های کمی و کیفی ماریتغال تحت شرایط تنش خشکی و کودهای زیستی

Table 1- Analysis of variance (mean of squares) for quantitative and qualitative characteristics of Marian thistle under drought stress and bio-fertilizers conditions

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	عملکرد دانه Grain yield	تعداد کاپیتول در بوته No. of capitule per plant	تعداد دانه در کاپیتول No. of seed per capitule	وزن هزار دانه 1000-seed weight	درصد اسانس Essential oil	درصد ماده آلی Organic matter	درصد پرولین Proline	درصد پروتئین Protein
تکرار Replication	2	3102.62^{ns}	0.02^{ns}	2.33^{ns}	0.23^{ns}	0.01^{ns}	0.03^{ns}	0.04^{ns}	0.11^{ns}
تنش خشکی Drought stress	2	232821.26**	56.42**	3699.27**	90.86**	16.54**	71.29**	0.91**	103.57**
تنش خشکی× تکرار Drought stress×Replication	4	776.93	0.01	2.97	0.11	0.01	0.01	0.02	0.12
کود زیستی Bio-fertilizer	4	89517.31**	13.48**	438.41**	11.06**	1.86**	16.22**	0.29**	18.26**
تنش خشکی× کود زیستی Drought stress× bio-fertilizer	8	3597.71**	0.31**	34.21**	1.47**	0.30**	1.23**	0.12**	0.50**
خطا Error	24	315.95	0.01	1.03	0.03	0.01	0.01	0.02	0.02
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)		4.60	1.12	1.54	1.54	1.38	1.08	1.21	1.35

*، ** و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد و غیر معنی‌دار

*, ** and ns: Are significant at 0.05 and 0.01 probability levels and non significant, respectively.

شرایط تنش باعث شکل‌گیری رادیکال سوپر اکسید (O_2) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، رادیکال هیدروکسیل (OH) می‌گردند (Turkan et al., 2005; Sairam & Saxena, 2000). فعالیت این گونه‌های فعال اکسیژن (ROS[۶]) باعث بروز صدماتی مثل اکسید شدن چربی‌ها، تغییر ساختار غشاء و از هم پاشیدگی یکپارچگی آن، تغییر ساختار پروتئین‌ها، غیر فعال شدن آنزیم‌ها، بی‌رنگ شدن یا از بین رفتن رنگدانه‌هایی مثل کلروفیل، حمله به مولکول‌های آبی مثل DNA و اختلال در این رشته‌های پروتئینی می‌گردد (Mittler, 2002; Habibi et al., 2004; Mohanty, 2003). این صدمات فیزیولوژیک موجب کاهش رشد و توسعه سلول‌ها به ویژه در ساقه و برگ‌ها و از بین رفتن کلروفیل می‌گردد. کاهش رشد و توسعه سلول‌ها و از بین رفتن کلروفیل موجب کاهش سطح برگ و در نتیجه کاهش فتوسنتز، اجزای رشد رویشی و اجزای عملکرد می‌گردد. به عبارت دیگر کاهش مواد فتوسنتزی تولیدی به علت کاهش سطح برگ و کاهش انتقال مواد اسیمیلاتی به سمت اندام‌های زایشی در اثر تنش کمبود آب سبب کاهش عملکرد دانه می‌گردد.

بیشترین عملکرد دانه (۱۱۷۳/۱۱ کیلوگرم در هکتار) متعلق به تیمار کود فسفات بارور ۲ بود و اختلاف آن با تیمارهای کود زیستی

۶- Reactive oxygen speices

سوپرنیتروپلاس (۱۱۵۵/۲۲ کیلوگرم در هکتار)، نیتروکسین (۱۱۴۸/۸۹ کیلوگرم در هکتار) و میکوریزا (۱۱۴۸/۰۰ کیلوگرم در هکتار) معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تنش خشکی و کود زیستی نشان داد که بیشترین مقدار عملکرد دانه (۱۳۰۰/۰۰ کیلوگرم در هکتار) به تیمار ۹۰ درصد آبیاری و کود زیستی نیتروکسین تعلق داشت که اختلاف معنی‌داری با تیمار۹۰ درصد آبیاری و کودهای زیستی فسفات بارور ۲ (۱۲۸۰/۰۰ کیلوگرم در هکتار) و سوپر نیتروپلاس (۱۲۷۲/۳۳ کیلوگرم در هکتار) نداشت. کمترین مقدار عملکرد دانه (۸۶۰/۰۰ کیلوگرم در هکتار) متعلق به تیمار ۵۰ درصد آبیاری و عدم مصرف کود زیستی بود (جدول ۳).

استفاده از کودهای زیستی از طریق بهبود فعالیت میکروبی خاک و در دسترس قرار دادن انواع هورمون‌ها و مواد محرک رشد (سیتوکنین، اکسین، بیوتین و اسید پنتوتنیک) و نیز فراهمی عناصر غذایی (Kartikeyan et al., 2008)، سبب افزایش فتوسنتز و بهبود ماده خشک گیاهی گردیده است که این مسئله در نهایت باعث افزایش عملکرد دانه ماریتیغال شد. چنین به نظر می‌رسد که استفاده از کودهای زیستی موجب افزایش فراهمی عناصر غذایی برای ریشه گیاه شده است. فراهمی عناصر غذایی موجب تحریک رشد گیاه و افزایش اجزای عملکرد (تعداد کاپیتول در بوته، تعداد دانه در کاپیتول و وزن هزار دانه) و به تبع آن افزایش عملکرد گردیده است.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات ساده تنش خشکی و کود زیستی بر ویژگی‌های کمی و کیفی ماریتغال

Table 2- Mean comparision for simple effect of drought stress and bio-fertilizer on quantitative and qualitative characteristics of marian thistle

تیمارها Treatments	سطوح Levels	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار) seed yield ($kg.ha^{-1}$)	تعداد کاپیتول در بوته No. of capitule per plant	تعداد دانه در کاپیتول No. of seed per capitule	وزن هزار دانه (گرم) 1000-seed weight (g)	درصد اسانس Essential oil (%)	درصد ماده آلی Organic matter (%)	درصد پرولین Proline (%)	درصد پروتئین Protein (%)
تنش خشکی (بر اساس ظرفیت زراعی) Drought stress (based on field capacity)	50	978.13^{c*}	7.00^{c}	49.33^{c}	17.17^{c}	2.01^{b}	89.27^{c}	0.67^{a}	1.96^{c}
	70	1133.07^{b}	8.67^{b}	68.87^{b}	19.77^{b}	3.20^{a}	91.72^{b}	0.42^{b}	13.52^{b}
	90	1224.60^{a}	10.87^{a}	80.40^{a}	22.09^{a}	1.10^{c}	93.62^{a}	0.18^{c}	15.94^{a}
کود زیستی Bio-fertilizer	میکوریزا Mycorrhiza	1148.00^{b}	9.22^{d}	68.44^{b}	20.14^{a}	2.09^{c}	92.03^{b}	0.57^{b}	14.14^{a}
	نیتروکسین Nitroxin	1148.89^{b}	9.56^{a}	70.00^{a}	20.30^{a}	2.46^{b}	92.66^{a}	0.20^{c}	14.15^{a}
	فسفات بارور ۲ Rich phosphate 2	1173.11^{a}	9.33^{c}	70.78^{a}	20.10^{b}	2.56^{a}	91.74^{c}	0.40^{c}	13.93^{b}
	سوپر نیتروپلاس Super nitroplus	1155.22^{b}	9.44^{b}	67.89^{b}	20.15^{ab}	1.99^{d}	92.05^{b}	0.36^{d}	13.87^{b}
	عدم مصرف کود Control	934.44^{c}	6.67^{e}	53.89^{c}	17.70^{c}	1.41^{e}	89.21^{d}	0.58^{a}	10.85^{c}

* در هرستون و برای هر تیمار، حروف مشابه نمایان‌گر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

* In the each column for every treatment, similar letters indicate not significant at 0.05 probability levels.

از آن‌جایی که کمبود عناصر غذایی یکی از عوامل اصلی تعیین-کننده عملکرد دانه است، تیمار شاهد (عدم مصرف کود زیستی) به علت کمبود مواد غذایی از رشد کمتری برخوردار بوده است و به تبع آن عملکرد کمتری داشته است. افزایش عملکرد دانه گندم (*Triticum aestivum* L.) تحت تأثیر کودهای زیستی حل‌کننده فسفر و باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن نیز توسط کمار و همکاران (Kumar et al., 2007) و شاهارونا و همکاران (Shaharoona et al., 2006) گزارش شده است. به نظر می‌رسد که تولید ایندول

استیک اسید و سیتوکنین با استفاده از اسیدهای آمینه تریپتوفان و آدنین ترشح شده از ریشه، هیدرولیز پیش ماده اتیلن، ۱- آمینوسیکلو پروپان-۱- کربوکسیلیک دی آمیناز -۷ و تولید مواد هورمونی در اثر واکنش نیتریت ACC به وسیله آنزیم ACC دآمیناز اسید حاصل از تنفس نیتراتی با اسید اسکوربیک مهم‌ترین سازوکار تأثیر این باکتری-ها باشند (Zahir et al., 2004).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی و کود زیستی بر ویژگی‌های کمی و کیفی ماریتغال

Table 3- Mean comparision of drought stress and bio-fertilizer intraction on quantitative and qualitative characteristics of marian thistle

تنش خشکی (بر اساس ظرفیت زراعی) Drought Stress (based on field capacity)	کود زیستی Bio-fertilizer	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار) seed yield ($kg.ha^{-1}$)	تعداد کاپیتول در بوته No. of capitule per plant	تعداد دانه در کاپیتول No. of seed per capitule	وزن هزار دانه (گرم) 1000-seed weight (g)	درصد اسانس Essential oil (%)	درصد ماده آلی Organic matter (%)	درصد پرولین Proline (%)	درصد پروتئین Protein (%)
50	میکوریزا Mycorrhiza	994.00^{f*}	7.67^{h}	48.33^{i}	17.63^{i}	2.15^{g}	87.70^{i}	0.87^{b}	11.29^{i}
	نیتروکسین Nitroxin	1003.33^{ef}	7.33^{i}	56.67^{h}	17.30^{j}	1.53^{i}	89.73^{i}	0.35^{i}	11.67^{h}
	فسفات بارور ۲ Rich phosphate 2	1033.33^{e}	7.67^{h}	55.67^{h}	17.40^{ij}	2.63^{e}	89.67^{i}	0.64^{c}	11.21^{i}
	سوپر نیتروپلاس Super nitroplus	1000.00^{f}	7.33^{i}	48.34^{i}	17.70^{i}	2.43^{f}	89.53^{j}	0.60^{d}	11.52^{h}
	عدم مصرف کود Control	860.00^{h}	5.00^{k}	37.67^{j}	15.83^{k}	1.29^{k}	87.73^{k}	0.88^{a}	7.77^{j}
70	میکوریزا Mycorrhiza	1183.33^{c}	9.00^{f}	69.33^{e}	19.73^{f}	3.17^{d}	92.33^{e}	0.52^{f}	13.91^{f}
	نیتروکسین Nitroxin	1143.33^{d}	9.33^{e}	71.67^{d}	20.34^{d}	3.72^{a}	91.77^{f}	0.21^{k}	14.23^{e}
	فسفات بارور ۲ Rich phosphate 2	1206.00^{c}	9.00^{f}	74.00^{d}	19.99^{ef}	3.61^{b}	91.57^{g}	0.41^{g}	13.96^{f}
	سوپر نیتروپلاس Super nitroplus	1193.33^{c}	9.67^{d}	72.33^{d}	20.30^{de}	3.39^{c}	93.43^{d}	0.40^{h}	13.98^{f}
	عدم مصرف کود Control	939.33^{g}	6.33^{j}	59.00^{g}	18.47^{h}	2.08^{h}	89.50^{j}	0.55^{e}	11.54^{h}
90	میکوریزا Mycorrhiza	1266.67^{b}	11.00^{c}	87.67^{a}	23.07^{ab}	0.94^{n}	94.07^{c}	0.31^{j}	16.83^{b}
	نیتروکسین Nitroxin	1300.00^{a}	12.00^{a}	81.67^{c}	23.27^{a}	1.04^{m}	95.00^{a}	0.04^{n}	17.19^{a}
	فسفات بارور ۲ Rich phosphate 2	1280.00^{ab}	11.33^{b}	84.67^{b}	22.90^{b}	1.43^{j}	94.00^{c}	0.14^{l}	16.10^{d}
	سوپر نیتروپلاس Super nitroplus	1272.33^{ab}	11.33^{b}	83.00^{bc}	22.43^{c}	1.23^{l}	94.64^{b}	0.09^{m}	16.35^{c}
	عدم مصرف کود Control	1004.00^{ef}	8.67^{g}	65.00^{f}	18.80^{g}	0.87^{o}	90.40^{h}	0.31^{j}	13.23^{g}

* در هرستون برای برهمکنش تیمارها، حروف مشابه نمایان‌گر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

* In the each column for intraction of treatments, similar letters indicate not significant at 0.05 probability levels.

جدول ٤- همبستگی‌های ساده بین ویژگی‌های کمی و کیفی ماریتغال تحت شرایط تنش خشکی و کود زیستی

Table 4- Simple correlations between quantitative and qualitative characteristics of marian thistle under drought stress and bio-fertilizer conditions

صفات گیاهی Plant charactristics	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار) seed yield ($kg.ha^{-1}$)	تعداد کاپیتول در بوته No. of capitule per plant	تعداد دانه در کاپیتول No. of seed per capitule	وزن هزار دانه (گرم) 1000- Seed weight (g)	درصد اسانس Essential oil (%)	درصد ماده آلی Organic matter (%)	درصد پرولین Proline (%)
تعداد کاپیتول در بوته No. capitule per plant	0.96^{**}						
تعداد دانه در کاپیتول No. seed per capitule	0.94^{**}	-0.54^{*}					
وزن هزار دانه (گرم) 1000- seed weight (g)	0.94^{**}	-0.56^{*}	-0.57^{*}				
درصد اسانس Essential oil (%)	-0.04^{ns}	-0.15^{ns}	-0.10^{ns}	-0.19^{ns}			
درصد ماده آلی Organic matter (%)	0.93^{**}	0.91^{**}	0.89^{**}	0.90^{**}	-0.09^{ns}		
درصد پرولین Proline (%)	-0.34^{ns}	-0.41^{ns}	-0.52^{*}	-0.53^{*}	0.39^{ns}	-0.45^{ns}	
درصد پروتئین Protein (%)	-0.55^{*}	-0.49^{*}	-0.47^{*}	-0.48^{**}	-0.13^{ns}	0.90^{**}	-0.55^{*}

*، ** و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد و غیر معنی‌دار

*, ** and ns: Are significant at 0.05 and 0.01 probability levels and non significant, respectively.

بسیاری از محققین (Kumar et al., 2009; Adesemoye et al., 2010; Yadegari et al., 2010) به نقش مثبت ریزوباکترهای محرک رشد گیاه، بر عملکرد محصولات زراعی مختلف اشاره کرده‌اند و آن را به ترشح هورمون‌های گیاهی، تولید و آزادسازی انواع اسیدهای آلی در خاک، تثبیت نیتروژن و در نهایت، برهمکنش مثبت بین آن‌ها و سایر ریزموجودات خاک نسبت داده‌اند. سانچز و همکاران (Sanches et al., 2008) در بارهنگ (*Plantago major* L.) و *P. lanceolota* L.) گزارش کردند که مصرف کودهای بیولوژیک سبب افزایش عملکرد بیولوژیک می‌شود. نتایج تحقیقات کاپور و همکاران (Kapoor et al., 2002, 2004 & 2007) در گشنیز (*Coriandrum sativum* L.)، رازیانه و گندواش (*Artemisia annua* L.)، قریب و همکاران (Gharib et al., 2008) در مرزنجوش (*Oriyganum vulgare* L.) و محفوظ و شرف‌الدین (Mahfoz & Sharaf- Eldin, 2007) در رازیانه بیانگر اثر مثبت کاربرد کودهای زیستی بر عملکرد دانه بود. عملکرد دانه همبستگی مثبتی با تعداد کاپیتول در بوته (۰/۹۶)، تعداد دانه در کاپیتول (۰/۹۴)، وزن هزار دانه (۰/۹۴) و درصد ماده آلی گیاه (۰/۹۳) داشت (جدول ۴). این نتیجه با یافته‌های قوامی و همکاران (Qavami et al., 2013) مطابقت داشت.

تعداد کاپیتول در بوته[۷]

عملکرد نهایی دانه را می‌توان به صورت تعداد کاپیتول در بوته، تعداد دانه در کاپیتول و وزن دانه بیان نمود. تعداد کاپیتول در بوته مهمترین جزء افزایش عملکرد دانه می‌باشد (Qavami et al., 2013). همبستگی مثبت و بسیار معنی‌دار عملکرد دانه با تعداد کاپیتول در بوته نیز مؤید این موضوع بود (جدول ۴). اثر تنش خشکی، کود زیستی و برهمکنش آن‌ها بر تعداد کاپیتول در بوته در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). بیشترین تعداد کاپیتول در بوته (۱۰/۸۷ عدد) از تیمار ۹۰ درصد آبیاری و کمترین تعداد آن (۷/۰۰ عدد) از تیمار ۵۰ درصد آبیاری به دست آمد (جدول ۲). تنش

۷- Number of capitules per plant

خشکی موجب محدود شدن رشد گیاه و کاهش شاخسارهای جانبی و به تبع آن کاهش تعداد کاپیتول در بوته گردیده است. بیشترین تعداد کاپیتول در بوته (۹/۵۶ عدد) از تیمار نیتروکسین و کمترین تعداد آن (۶/۶۷ عدد) از تیمار عدم مصرف کود زیستی حاصل گشت (جدول ۲). مقایسه میانگین تیمارهای تنش خشکی و کود زیستی حاکی از آن بود که بیشترین تعداد کاپیتول در بوته (۱۲/۰۰ عدد) از تیمار ۹۰ درصد آبیاری و کود زیستی نیتروکسین و کمترین تعداد آن (۵/۰۰ عدد) از تیمار ۵۰ درصد آبیاری و عدم مصرف کود زیستی حاصل شد (جدول ۳). کاربرد کودهای زیستی به علت تولید هورمون‌های گیاهی به خصوص جیبرلین و سیتوکنین از طریق تحریک تقسیم سلولی اندام‌های گیاهی، ایجاد جوانه گل و نمو آن و تولید گل موجب افزایش ظرفیت مخزن در گیاه می‌شود (Rivera-Cruz et al., 2008). علاوه بر این کودهای زیستی از طریق بهبود فراهمی مواد غذایی و بهبود خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک باعث افزایش شاخص‌های رشدی گیاهان می‌شوند (Azeez et al., 2010). نتایج پژوهش‌های زیادی حاکی از اثر مثبت کاربرد منابع تغذیه‌ای بر اجزای عملکرد گیاهان است. محفوظ و شرف‌الدین (Mahfoz & Sharaf-Eldin, 2007) و کاپور و همکاران (Kapoor et al., 2004) در پژوهشی بر روی گیاه دارویی رازیانه نتیجه گرفتند که کاربرد کودهای بیولوژیک باعث افزایش تعداد چتر در بوته شد. نتایج کاپور و همکاران (Kapoor et al., 2002) نیز بیانگر اثر مثبت کاربرد قارچ میکوریزا بر اجزای عملکرد گیاه داروئی گشنیز بود. تعداد کاپیتول در بوته همبستگی مثبتی با عملکرد دانه (۰/۹۶) و درصد ماده آلی گیاه (۰/۹۱) داشت (جدول ۴)، بنابراین سطوح بالاتر نیتروژن و فسفر حاصل از تثبیت آن به وسیله باکتری‌های کودهای زیستی (بالاخص نیتروکسین) با افزایش درصد ماده آلی گیاه موجب افزایش تعداد کاپیتول در بوته و به تبع آن افزایش عملکرد دانه شد.

تعداد دانه در کاپیتول

اثر تنش خشکی، کود زیستی و برهمکنش آن‌ها بر تعداد دانه در کاپیتول معنی‌دار ($p\leq$ ۰/۰۱) شد (جدول ۱). بیشترین تعداد دانه در کاپیتول (۸۰/۴۰ عدد) از تیمار ۹۰ درصد آبیاری و کمترین تعداد آن (۴۹/۳۳ عدد) از تیمار ۵۰ درصد آبیاری به دست آمد (جدول ۲). بیشترین تعداد دانه در کاپیتول (۷۰/۷۸ عدد) از تیمار کود زیستی فسفات بارور ۲ به دست آمد که اختلاف معنی‌داری با تیمار نیتروکسین (۷۰/۰۰ عدد) نداشت (جدول ۲). اثر متقابل تنش خشکی و کود زیستی بر تعداد دانه در کاپیتول حاکی از آن بود که بیشترین تعداد آن (۸۷/۶۷ عدد) از تیمار ۹۰ درصد آبیاری و میکوریزا (*Glomus etunicatum* و *G. versiformis*) به دست آمد و کمترین تعداد آن (۳۷/۶۷ عدد) از تیمار ۵۰ درصد آبیاری و عدم مصرف کود زیستی حاصل شد (جدول ۳).

مکانیسم‌های مختلفی در ارتباط با تأثیر میکوریزا بر رشد گیاهان ذکر شده است. یکی از مهم‌ترین این مکانیسم‌ها، تأثیر میکوریزا بر جذب عناصر غذایی از جمله نیتروژن، فسفر و پتاسیم خاک است (Abdelhafez & Abdel-Monsief, 2006). به طور کلی تحرک فسفر در خاک کم می‌باشد و زمانی که تنش خشکی ایجاد می‌شود، از تحرک این عنصر بیشتر کاسته شده و سرعت انتشار آن در خاک محدود می‌شود. قارچ‌های میکوریزا قادرند با استفاده از گسترش ریسه-های خارجی و تغییر مورفولوژی ریشه گیاهان، سطح جذب ریشه و انتقال مواد غذایی به ریشه را افزایش دهند (James et al., 2008). همچنین تولید و ترشح آنزیم فسفاتاز توسط ریسه‌های میکوریزا باعث می‌شود که فسفات غیرمحلول و تثبیت شده در خاک به فرم محلول در آید و برای ریشه قابل جذب گردد (Song, 2005). با توجه به نقش عنصر فسفر در افزایش تعداد دانه در گیاه، می‌توان افزایش توان تولیدی بذر را در اثر کاربرد میکوریزا به این موضوع نسبت داد (Paradi et al., 2003). همزیستی قارچ میکوریزا با ریشه از طریق افزایش سطح جذب آب و عناصر غذایی، سبب بهبود کارایی جذب عناصر غذایی و افزایش فتوسنتز شده و این امر موجب تولید فرآورده بیشتر و بهبود رشد، عملکرد و اجزای عملکرد می‌گردد (Khalvati et al., 2005). پس از میکوریزا کودهای زیستی فسفات بارور ۲ و سوپر نیتروپلاس بیشترین تأثیر را بر تعداد دانه در کاپیتول داشتند (جدول ۳) که این مسئله حاکی از این است که باکتری‌های موجود در کودهای زیستی نیز از طریق ترشح هورمون‌های مختلف گیاهی می-توانند بر نفوذپذیری سلول‌های ریشه، مقاومت روزنه‌ای و به طور کلی بر روابط آبی و رشد عمومی گیاه اثر بگذارند. وجود انواع ریزموجودات در کودهای زیستی از طریق تولید موادی همانند ایندول استیک اسید باعث افزایش رشد گیاه می‌شوند و مراحل اولیه رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند. در نتیجه ریشه حجم بیشتری از خاک را اشغال می‌کند و سطح جذب افزایش می‌یابد (Patten & Glick, 2002) که منجر به افزایش رشد، سرشاخه‌های گل‌دار، تعداد دانه در گل و وزن

دانه می‌شود. بهبود خصوصیات رشدی گیاهان تلقیح شده با ریزوباکترهای محرک رشد گیاه در گزارش‌های متعددی مورد تأکید قرار گرفته است (Van Loon, 2004؛ Orhan et al., 2006؛ Tahami, 2011). احتمالاً این باکتری‌ها از طریق تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه نظیر اکسین، سیتوکنین و جیبرلین (Pirlak & Kose, 2009; Aslantas et al., 2007; Piromyou et al., 2011) ویژگی‌های رشدی گیاه از جمله تعداد دانه در کاپیتول را افزایش داده‌اند. همبستگی تعداد دانه در کاپیتول با عملکرد دانه (۰/۹۴) و درصد ماده آلی گیاه (۰/۸۹) مثبت و بسیار معنی‌دار بود (جدول ۴)، بنابراین می‌توان چنین بیان نمود که احتمالاً سطوح بالاتر جذب نیتروژن و فسفر حاصل از تثبیت آن به وسیله باکتری‌های کودهای زیستی با افزایش درصد ماده آلی گیاه موجب افزایش تعداد دانه در کاپیتول و به تبع آن عملکرد دانه گردیده است.

وزن هزار دانه

وزن دانه از مهم‌ترین اجزاء عملکرد دانه و نشان‌دهنده اختصاص مواد فتوسنتزی به دانه‌ها می‌باشد. تنوع وزن هزار دانه برای تیمار تنش خشکی، کود زیستی و اثر متقابل آن‌ها معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۱) شد (جدول ۱). بیشترین مقدار وزن هزار دانه (۲۲/۰۹ گرم) از تیمار ۹۰ درصد آبیاری و کمترین مقدار آن (۱۷/۱۷ گرم) از تیمار ۵۰ درصد آبیاری به دست آمد (جدول ۲). بیشترین مقدار وزن هزار دانه (۲۰/۳۰ گرم) متعلق به تیمار کود زیستی نیتروکسین بود که با تیمارهای میکوریزا (۲۰/۱۴ گرم) و سوپرنیتروپلاس (۲۰/۱۵ گرم) اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۲). مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تنش خشکی و کود زیستی نشان داد که بیشترین مقدار وزن هزار دانه (۲۳/۲۷ گرم) متعلق به تیمار ۹۰ درصد آبیاری و کود زیستی نیتروکسین بود که با تیمار ۹۰ درصد آبیاری و کود زیستی میکوریزا (۲۳/۰۷ گرم) اختلاف معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۵) نداشت. کمترین مقدار وزن هزار دانه (۱۵/۸۳ گرم) به تیمار ۵۰ درصد آبیاری و عدم مصرف کود زیستی تعلق داشت (جدول ۳).

باکتری‌های محرک رشد گیاه احتمالاً از طریق افزایش تولید هورمون‌های گیاهی به خصوص جیبرلین و سیتوکنین و تشدید فعالیت آنزیم‌هایی نظیر گلوتامات دهیدروژناز و گلوتامین سینتتاز از طریق تحریک تقسیم سلولی اندام‌های گیاهی، رشد گیاه را بهبود بخشیده و باعث افزایش ظرفیت مخزن در گیاه می‌شوند (Rivera-Cruz et al., 2008). مرادی و همکاران (Moradi et al., 2010) و ریبائودو و همکاران (Ribaudo et al., 2001) اظهار داشتند که استفاده از کودهای بیولوژیک *سودوموناس* و *ازتوباکتر* در رازیانه سبب افزایش معنی‌دار وزن دانه در بوته شد. درزی و همکاران (Darzi et al., 2007) کاربرد کودهای زیستی بیوفسفات و میکروریزا را بر وزن هزار دانه گیاه رازیانه مثبت گزارش کردند. همبستگی وزن هزار دانه با عملکرد دانه (۰/۹۴) و درصد ماده آلی گیاه (۰/۹۰) مثبت بسیار معنی‌دار بود (جدول ۴).

درصد اسانس

اختلاف درصد اسانس در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر تنش خشکی، کود زیستی و برهمکنش آن‌ها بود (جدول ۱). بیشترین درصد اسانس (۳/۲۰ درصد) از تیمار ۷۰ درصد آبیاری و کمترین مقدار آن (۱/۱۰ درصد) از تیمار ۹۰ درصد آبیاری به دست آمد (جدول ۲). تنش خشکی تا میزان ۷۰ درصد، موجب افزایش درصد اسانس شده است. با افزایش تنش خشکی برای جلوگیری از مخاطرات حیاتی برای گیاه، درصد اسانس کاهش یافته است. تأثیر تنش خشکی بر کاهش درصد اسانس گیاهان را می‌توان این گونه بیان داشت که به طور کلی، کمبود آب در هر مرحله از رشد گیاه، جذب، انتقال و مصرف عناصر غذایی را کاهش می‌دهد که پیامد آن کم شدن ذخیره کربن و کاهش درصد اسانس می‌باشد. از طرف دیگر به واسطه همبستگی منفی عملکرد کمی گیاه با درصد اسانس (جدول ۴) و افزایش عملکرد کمی در تیمار ۹۰ درصد آبیاری، درصد اسانس در این تیمار به حداقل مقدار رسیده است. به عبارت دیگر، اسانس گیاه ماریتیغال (فلاونولیگنان‌ها) همبستگی منفی با میزان نیتروژن داشت (همبستگی منفی میزان پروتئین با درصد اسانس) و افزایش بیش از حد نیتروژن در این تیمار موجب کاهش درصد اسانس شده است (جدول ۴).

بیشترین درصد اسانس (۲/۵۶ درصد) از تیمار فسفات بارور ۲ و کمترین مقدار آن (۱/۴۱ درصد) از تیمار عدم مصرف کود زیستی به دست آمد (جدول ۲). مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تنش خشکی و کود زیستی بر درصد اسانس حاکی از آن بود که بیشترین مقدار آن (۳/۷۲ درصد) از تیمار ۷۰ درصد آبیاری و کود زیستی نیتروکسین به دست آمد و پس از آن تیمارهای ۷۰ درصد آبیاری و کودهای زیستی فسفات بارور ۲ (۳/۶۱ درصد)، سوپرنیتروپلاس (۳/۳۹ درصد) و میکوریزا (۳/۱۷ درصد) قرار داشتند (جدول ۳). تحقیقات نشان داده

است که CO_2 و گلوکز به عنوان پیش ماده مناسب در سنتز اسانس مطرح هستند، فتوسنتز و تولید فرآورده‌های فتوسنتزی ارتباط مستقیمی با تولید اسانس دارند. کود زیستی از طریق کمک به جذب نیتروژن و فسفر و نقشی که این عناصر در تولید کلروفیل و تأمین آنزیم‌های مورد نیاز گیاه دارند، باعث افزایش میزان بافت‌های فتوسنتزی و نهایتاً افزایش درصد اسانس شده است (Sangwan, et al., 2001). عبدالعزیز و همکاران (Abdelaziz et al., 2007) در رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) و قریب و همکاران (Gharib et al., 2008) در مرزنجوش افزایش مقدار اسانس در اثر تلقیح با *ازتوباکتر* و *باسیلوس* را ناشی از افزایش تعداد غده‌های ترشحی و بیوسنتز مونوترپن‌ها بیان کردند. علاوه بر این به دلیل این که سیلی‌مارین جزو ترکیبات فلاونوئیدی می‌باشد، تجمع مواد فنلی حساس به تنش عناصر غذایی بوده و میزان کل فنل با کاهش میزان نیتروژن محیط افزایش می‌یابد. بنابراین مقادیر اضافی نیتروژن معمولاً رشد را تحریک نموده و از تولید فنل جلوگیری می‌کند (Omidbaigi & Nobakht, 2001) ولی چون اسانس‌ها از گروه مواد شیمیایی ترپن‌ها بوده و یا منشأ ترپنی دارند و واحدهای سازنده ترپن‌ها از جمله ایزوپنتنیل پیروفسفات[۸] (IPP) و دی‌متیل‌آلیل پیرو فسفات[۹] (DMAPP) نیاز مبرم به ATP و NADPH دارند و با توجه به این موضوع که حضور عناصری نظیر نیتروژن و فسفر برای تشکیل ترکیب‌های فوق ضروری می‌باشد، بنابراین باکتری‌های حل‌کننده فسفات و تثبیت‌کننده نیتروژن از طریق جذب کارآمد فسفر و نیتروژن توسط ریشه ماریتیغال، موجب افزایش درصد اسانس این گیاه دارویی شده‌اند. این موضوع با نتیجه تحقیقات کاپور و همکاران (Kapoor et al., 2004) در رازیانه، راتی و همکاران (Ratti et al., 2001) در علف لیمو (*Cymbopogon citratus* L.)، قریب و همکاران (Gharib et al., 2008) در مرزنجوش و محفوظ و شرف‌الدین (Mahfoz & Sharaf-Eldin, 2007) در رازیانه مطابقت داشت. لیتی و همکاران (Leithy et al., 2006) در آزمایشی به اثر مثبت استفاده از کود بیولوژیک *ازتوباکتر* در افزایش اسانس گیاه دارویی رزماری اشاره داشتند. حاج سید هادی و همکاران (Haj Seyed Hadi al., 2008) با بررسی اثرات سیستم‌های تولید رایج و کم‌نهاده روی ماریتیغال نشان دادند که استفاده از ورمی‌کمپوست در سیستم تولید کم نهاده با اثرات مفید آن بر فعالیت‌های میکروبی خاک باعث افزایش سیلی‌مارین و عملکرد آن شد. نتایج پژوهش کاپور و همکاران (Kapoor et al., 2002) بیانگر اثر مثبت کاربرد کود زیستی میکوریزا بر درصد اسانس گیاه دارویی گشنیز بود. همچنین محفوظ و شرف‌الدین (Mahfoz & Sharaf-Eldin, 2007) بر روی گیاه رازیانه نتیجه گرفتند که کاربرد کودهای زیستی بیولوژیک باعث افزایش درصد اسانس گیاهان مذکور شد. دلیل بهبود کیفیت گیاهان دارویی در شرایط استفاده از کودهای بیولوژیک به اثرات متقابل گیاه با ریزجاندار و انتقال سیگنال توسط ریزجاندار نسبت داده شده است (Karthikeyan et al., 2008). همچنین گزارش شده است که برخی از ریزموجودات خاکزی باعث تحریک مسیرهای بیوسنتزی متابولیت-های ثانویه می‌شوند (Demir, 2004).

درصد ماده آلی گیاه

اثر تنش خشکی، کود زیستی و برهمکنش آن‌ها بر درصد ماده آلی گیاه معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۱) شد (جدول ۱). بیشترین درصد ماده آلی گیاه (۹۳/۶۲ درصد) متعلق به تیمار ۹۰ درصد آبیاری بود و کمترین آن (۸۹/۲۷ درصد) به تیمار ۵۰ درصد آبیاری تعلق داشت (جدول ۲). بیشترین درصد ماده آلی گیاه (۹۲/۶۶) برای کود زیستی نیترکسین و کمترین درصد آن (۸۹/۲۱ درصد) برای تیمار عدم مصرف کود زیستی به دست آمد (جدول ۲). مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تنش خشکی و کود زیستی بر درصد ماده آلی گیاه بیانگر این بود که بیشترین مقدار آن (۹۵/۰۰ درصد) متعلق به تیمار ۹۰ درصد آبیاری و کود زیستی نیتروکسین بود و پس از آن تیمار ۹۰ درصد آبیاری و کود زیستی سوپرنیتروپلاس (۹۴/۶۴ درصد) قرار داشت. کمترین درصد ماده آلی گیاه (۸۷/۷۳ درصد) به تیمار ۵۰ درصد آبیاری و عدم مصرف کود زیستی تعلق داشت (جدول ۳).

از آن‌جایی که درصد ماده آلی گیاه رابطه مستقیمی با فراهمی نیتروژن دارد (Marschner, 1995)، در کودهای زیستی نیتروکسین و سوپرنیتروپلاس به واسطه تثبیت نیتروژن و فراهمی آن برای گیاه، بیشترین درصد ماده آلی در گیاه حاصل شده است. علاوه بر این، ریشه تلقیح شده با کودهای زیستی توانایی ساخت و ترشح مواد بیولوژیک فعال مانند ویتامین‌های B، اسید نیکوتنیک، اسید پنتوتنیک، بیوتین، اکسین‌ها، جبرلین‌ها و غیره را دارند که این مواد موجب افزایش نیتروژن قابل دسترس و محتوای ماده آلی گیاه می‌شوند.

۸ - Isopentenyl pyrophosphate

۹ - Dimethylallyl pyrophosphate

همبستگی درصد ماده آلی گیاه با عملکرد دانه (۰/۹۳)، تعداد کاپیتول در بوته (۰/۹۱)، تعداد دانه در کاپیتول (۰/۸۹) و وزن هزار دانه (۰/۹۰) مثبت بسیار معنی‌دار بود (جدول ۴)، بنابراین سطوح بالاتر نیتروژن و فسفر حاصل از تثبیت آن به وسیله باکتری‌های کودهای زیستی با افزایش درصد ماده آلی گیاه موجب افزایش اجزای عملکرد و به تبع آن عملکرد دانه شد. همبستگی درصد ماده آلی گیاه با پروتئین دانه (۰/۹۰) مثبت بسیار معنی‌دار بود. از آن‌جایی که درصد ماده آلی گیاه رابطه مستقیمی با فراهمی نیتروژن دارد، سطوح بالاتر نیتروژن حاصل از تثبیت آن به وسیله باکتری‌های کودهای زیستی و فراهمی آن برای گیاه، موجب افزایش درصد ماده آلی و درصد پروتئین شد.

درصد پرولین

درصد پرولین در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر تنش خشکی، کود زیستی و برهمکنش آن‌ها بود (جدول ۱). بیشترین درصد پرولین (۰/۶۷ درصد) از تیمار ۵۰ درصد آبیاری و کمترین مقدار آن (۰/۱۸ درصد) از تیمار ۹۰ درصد آبیاری به دست آمد (جدول ۲). تنظیم‌کننده‌های اسمزی یکی از مهم‌ترین عوامل حفظ گیاهان در مقابل تنش‌های غیر زنده می‌باشند (Heuer, 1994; Omidi, 2010). یکی از مکانیسم‌های کارآمدی که گیاه به هنگام مواجه با خشکی، برای حفظ تورژسانس و آماس سلولی به خدمت می‌گیرد، تنظیم اسمزی است. مطالعات بیوشیمیایی نشان داده است که در گیاهان تحت تنش خشکی، مواد محلول با وزن مولکولی پایین (مواد محلول سازگار یا اسمولیت) در گیاه تجمع می‌یابند و به عنوان عامل یا محافظ اسمزی عمل می‌نمایند (Parvaiz & Satyawati, 2008). در طی این پدیده فیزیولوژیک، پتانسیل اسمزی بافت‌های تحت تنش، در اثر انباشت یک سری مواد اسمزی در سلول‌ها کاهش می‌یابد، بنابراین فشار آماس سلول‌ها در حد مطلوب نگهداری می‌شود (Omidi, 2010). از جمله ترکیبات آلی که در کاهش پتانسیل اسمزی درون سلول گیاه و در نتیجه برقراری شیب پتانسیل آبی و سرانجام جذب آب به وسیله گیاه در شرایط تنش نقش قابل توجهی دارند، اسیدهای آمینه (پرولین)، هیدرات‌های کربن محلول در آب (مونوساکاریدها)، یون‌های معدنی (پتاسیم، سدیم و کلسیم)، هورمون‌ها و پروتئین‌ها می‌باشند. این ترکیب‌های انباشته شده حتی در غلظت‌های بالا نیز با متابولیسم طبیعی سلول سازگاری دارند، به همین دلیل به متابولیت‌های سازگار نیز معروف هستند (Apse & Blumwald, 2002).

امروزه یکی از شاخص‌های ارزیابی برای گزینش ارقام تحت شرایط تنش، تجمع پرولین در اندام‌های مختلف گیاهی است (Leinhose & Bergman, 1995). انباشتگی میزان پرولین با میزان تحمل تنش گیاه ارتباط مستقیم دارد (Van Rensburg et al., 1993). تنظیم فشار اسمزی سیتوپلاسم با افزایش مقدار پرولین صورت می‌گیرد (Rhodes & Hanson, 1993). به عبارتی در شرایط تنش، تجمع پرولین سریع‌تر از اسید آمینه‌های دیگر رخ می‌دهد (Leinhose & Bergman, 1995). گیاه با تجمع پرولین، پلی‌آمین، ترهالوز، افزایش فعالیت آنزیمی نیترات ردوکتاز، افزایش ذخیره‌سازی کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌سازی می‌تواند در برابر تنش ایجاد شده مقاومت کند (Hong et al., 2000).

کمترین درصد پرولین (۰/۲۰ درصد) متعلق به کود زیستی نیتروکسین بود و بیشترین درصد آن (۰/۵۸ درصد) به تیمار عدم مصرف کود زیستی تعلق داشت (جدول ۲). مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تنش خشکی و کود زیستی مبین این بود که بیشترین درصد پرولین (۰/۸۸ درصد) برای تیمار ۵۰ درصد آبیاری و عدم مصرف کود زیستی به دست آمد. کمترین درصد پرولین (۰/۰۴ درصد) برای تیمار ۹۰ درصد آبیاری و کود زیستی نیتروکسین حاصل گشت (جدول ۳). کودهای زیستی در سطوح بالای تنش خشکی در کاهش میزان پرولین از کارآیی بیشتری برخوردار بودند و میزان انباشت پرولین را در بافت برگ به مقدار زیادی در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده کاهش دادند. مصرف کودهای بیولوژیک مانند نیتروکسین در شرایط تنش‌های محیطی مانند خشکی نه تنها سبب افزایش مقاومت گیاهان به تنش می‌شود، بلکه موجب افزایش ظرفیت نگهداری آب و ساختمان گرانول‌های خاک، افزایش فعالیت‌های میکروبی و آنزیمی و آزادسازی عناصر غذایی موجود در کلوئیدهای خاک و جبران میکروارگانیسم‌های از دست رفته خاک می‌گردد (Gilik et al., 2001). باکتری‌های کود زیستی نیتروکسین باعث جذب بهتر آب از خاک و افزایش سطح جذب ریشه می‌شوند که به گیاه میزبان کمک می‌کنند تا میزان آب بیشتری از خاک جذب نماید. این باکتری‌ها همچنین اغلب منجر به تغییر سرعت حرکت آب در خارج و داخل گیاهان میزبان شده و روی آبگیری بافت و فیزیولوژی برگ تأثیر می‌گذارند (Gilik et al., 2001). باکتری‌های همزیست نیتروکسین از طریق اجتناب از خشکی، گیاهان را در مقابل تنش حفظ می‌کنند و این کار را با افزایش جذب عناصر فسفر و سایر عناصر ضروری برای رشد و نمو گیاه انجام می‌

دهند (Gilik et al., 2001). معمولاً گیاهان تلقیح شده با استفاده از روابط آبی و تغذیه بهتر نسبت به گیاهان بدون تلقیح، قادرند از شرایط تنش خشکی به طور موقت فرار کنند و کمتر دچار آسیب شوند و در نتیجه میزان پرولین و قندهای محلول نسبت به گیاهان بدون تلقیح افزایش کمتری نشان می‌دهد (Ruiz-Lozano, 2003).

درصد پروتئین

اثر تنش خشکی، کود زیستی و برهمکنش آن‌ها بر درصد پروتئین دانه معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۱) شد (جدول ۱). بیشترین درصد پروتئین دانه (۱۵/۹۴) به تیمار ۹۰ درصد آبیاری تعلق داشت و کمترین آن (۱/۹۶) متعلق به تیمار ۵۰ درصد آبیاری بود (جدول ۲). بیشترین درصد پروتئین دانه (۱۴/۱۵) به تیمار کود زیستی نیتروکسین تعلق داشت و پس از آن کود زیستی میکوریزا (۱۴/۱۴) قرار داشت. کمترین درصد پروتئین دانه (۱۰/۸۵) از تیمار عدم مصرف کود زیستی به دست آمد (جدول ۲). نتایج حاصل از اثر متقابل تیمارها حاکی از آن بود که بیشترین درصد پروتئین دانه (۱۷/۱۹) از تیمار ۹۰ درصد آبیاری و کود زیستی نیتروکسین به دست آمد و پس از آن تیمارهای ۹۰ درصد آبیاری و کودهای زیستی میکوریزا (۱۶/۸۳)، سوپرنیتروپلاس (۱۶/۳۵) و فسفات بارور ۲ (۱۶/۱۰) قرار داشتند. کمترین درصد پروتئین دانه (۷/۷۷) برای تیمار ۵۰ درصد آبیاری و عدم مصرف کود زیستی به دست آمد (جدول ۳).

کاربرد کودهای زیستی با فراهمی نیتروژن مقدار تقسیط نیتروژن از قسمت‌های رویشی به دانه را در مقایسه با هیدرات‌های‌کربن افزایش داده و موجب افزایش غلظت نیتروژن دانه و درصد پروتئین آن می‌گردند. دلیل بالا بودن پروتئین دانه با کاربرد کودهای زیستی را می‌توان به جذب سریعتر نیتروژن و افزایش غلظت نیتروژن در اندام‌های هوایی و در نتیجه انتقال بیشتر به دانه ذکر کرد (Marschner, 1995). همچنین کاربرد کودهای زیستی موجب تثبیت نیتروژن می‌گردد که این عنصر ماده اولیه تشکیل دهنده پروتئین می‌باشد. همبستگی درصد پروتئین با درصد پرولین (۰/۵۵) منفی و معنی‌دار بود. همبستگی منفی بین این دو صفت احتمالاً به واسطه بروز تنش خشکی بوده است. زمانی که گیاهان با تنش‌های محیطی از جمله خشکی مواجه می‌شوند، مواد آلی با وزن مولکولی پایین مانند پرولین را انباشته می‌کنند. این انباشتگی می‌تواند به دلیل تخریب ماکرو-مولکول‌هایی مانند پروتئین باشد که به اجزای سازنده خود تبدیل می‌شوند. هر چه مدت زمان تنش بیشتر باشد، پرولین بیشتری در گیاه ساخته می‌شود و در نتیجه میزان پروتئین بیشتری تخریب می‌گردد.

نتیجه‌گیری

نتایج مقایسه میانگین‌های برهمکنش تیمارهای تنش خشکی و کود زیستی نشان داد که بیشترین مقدار عملکرد دانه به تیمار ۹۰ درصد آبیاری و کود زیستی نیتروکسین تعلق دارد که اختلاف معنی‌داری با تیمار ۹۰ درصد آبیاری و کودهای زیستی فسفات بارور ۲ و سوپرنیتروپلاس نداشت. بیشترین تعداد کاپیتول در بوته، درصد ماده آلی گیاه و پروتئین دانه از تیمار ۹۰ درصد آبیاری و کود زیستی نیتروکسین حاصل شد. بیشترین تعداد دانه در کاپیتول از تیمار ۹۰ درصد آبیاری و کود زیستی میکوریزا به دست آمد. بیشترین مقدار وزن هزار دانه متعلق به تیمار ۹۰ درصد آبیاری و کود زیستی نیتروکسین بود که با تیمار ۹۰ درصد آبیاری و کود زیستی میکوریزا اختلاف معنی‌داری نداشت. بیشترین درصد اسانس از تیمار ۷۰ درصد آبیاری و کود زیستی نیتروکسین به دست آمد. بیشترین درصد پرولین برای تیمار ۵۰ درصد آبیاری و عدم مصرف کود زیستی به دست آمد. کود زیستی نیتروکسین بهترین تیمار مورد استفاده بود و نسبت به سایر تیمارها توانست تنش خشکی را بیشتر تعدیل نماید و موجب بهبود ویژگی‌های کمی و کیفی گیاه ماریتیغال شود. عملکرد دانه همبستگی مثبت بسیار معنی‌دار با اجزای عملکرد (تعداد کاپیتول در بوته، تعداد دانه در کاپیتول و وزن هزار دانه) داشت و تعداد کاپیتول در بوته مهمترین جزء تعیین‌کننده عملکرد بود. استفاده از کودهای زیستی سبب تعدیل اثر تنش خشکی و بهبود ویژگی‌های کمی و کیفی گیاه ماریتیغال شدند، بنابراین در راستای نیل به اهداف کشاورزی پایدار به جای کودهای شیمیایی مناسب خواهند بود که این امر کمک قابل توجهی به سالم‌سازی محیط زیست نموده و راهبرد مهمی در جهت حرکت به سمت کشاورزی پایدار می‌باشد.

منابع

Abdelaziz, M., Pokluda, R., and Abdelwahab, M.M. 2007. Influence of compost, microorganisms and NPK fertilizer upon growth, chemical composition and essential oil production of *Rosmarinus officinalis* L. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici cluj-Napoca 35: 86-90.

Abdelhafez, A.A., and Abdel-Monsief, R.A. 2006. Effects of VA mycorrhizal inoculation on growth, yield and nutrient content of cantaloupe and cucumber under different water regimes. Journal of Agricultural and Biological Science 2(6): 503-508.

Adesemoye, A.O., Torbert, H.A., and Kloepper, J.W. 2008. Enhanced plant nutrient use efficiency with PGPR and AMF in an integrated nutrient management system. Canadian Journal of Microbiology 54: 876-886.

Apse, M.P., and Blumwald, E. 2002. Engineering salt tolerance in plants. Current Opinion in Biotechnology 13(2): 146-150.

Aslantas, R., Cakmakci, R., and Sahin, F. 2007. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on young apple tree growth and fruit yield under orchard conditions. Scientia Horticulturae 111: 371-377.

Auge, R.M., Stodola, A.J.W., Tims, J.E., and Saxton, A.M. 2001. Moisture retention properties of a mycorrhizal soil. Plant and Soil 230: 87-97.

Azeez, J.O., Van Averbek, W., and Okorogbona, A.O.M. 2010. Differential responses in yield of pumpkin (*Cucurbita maxima* L.) and nightshade (*Solanum retroflexum* Dun.) to the application of three animal manures. Bioresource Technology 101: 2499-2505.

Bates, I.S., Walden, R.P., and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.

Biyari, A., Gholami, A., and Asadi Rahmani, H. 2008. Sustainable production and improvement of nutrient absorption by maize in reaction to seed inoculation by PGPR. Proceeding of the 2nd National Iranian Agroecology Conference, Gorgan, Iran p. 8. (In Persian)

Bockman, O.C. 1997. Fertilizers and biological nitrogen fixation as sources of plant nutrients: perspectives for future agriculture. Plant and Soil 194: 303-334.

Chen, J. 2006. The combined use of chemical and organic fertilizers and/ or biofertilizer for crop growth and soil fertility. International workshop on sustained management of the soil rhizosphere system for efficient crop production and fertilizer use. October 2007 p. 16-20.

Darzi, M.T., Galavand, A., Rejali, F., and Sefidkon, F. 2007. Effect of biofertilizers application on yield and yield components in fennel (*Foeniculum vulgare*). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 22(4): 276-292. (In Persian with English Summary)

Demir, S. 2004. Influence of Arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. Turkish Journal of Biology 28: 85-90.

Dewick, P.M. 1998. Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach. John Wiley and Sons, New York. 507p.

Dey, R., Pal, K.K., Bhatt, D.M., and Chauhan, S.M. 2004. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. Microbiological Research 159: 371-394.

Egamberdiyeva, D. 2007. The effect of plant growth promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils. Appllied Soil Ecology 36: 184-189.

Gharib, F.A., Moussa, L.A., and Massoud, O.N. 2008. Effect of compost and bio-fertilizers on growth, yield and essential oil of sweet marjoram (*Marjorana hortensis* L.). Journal of Agriculture and Biological Science 10: 381-387.

Gholami, A., and Koocheki, A. 2001. Mycorrhizae in Sustainable Agriculture. Shahroud University Press, Semnan, Iran 212 pp. (In Persian)

Gilik, B.R., Penrose, D., and Wenbo, M. 2001. Bacterial promotion of plant growth. Biotechnology Advances 19: 135-138.

Gutierrez-Manero, F.J., Ramos-Solano, B., Probanza, A., Mehouachi, J., Tadeo, F.R., and Talon, M. 2001. The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *B. licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. Physiologia Plantarum 111: 206-211.

Habibi, D.M., Boojar, M.A., Mahmodi, A., Ardakani, M.R., and Taleghani, D. 2004. Antioxidative enzayme in sunflower subjected to drought stress. 4th International Crop science Congress, Brishbane, Australia, 26 septamber

1- Octobr p. 1-4.

Haj Seyed Hadi, M.R., Dorzi, M.T., and Sharifi Ashoorabadi, E. 2008. Study the effects of conventional and low input production system on quantitative and qualitative yield of *Silybum marianum* L. 2nd Conference of the International Society of Organic Agriculture Research ISOFAR, Modena, Italy.

Hammouda, F.M., Ismail, S.I., Hassan, N.M., Zaki, A.K., Kamel, A., and Rimpler, H. 1991. Evaluation of the Silymarin Content in *Silybum marianum* cultivated under different agricultural conditions. Planata Medica 57(8): A29 (DOI: 10.1055/s-2006-960276).

Heuer, B. 1994. Osmoregulatory role of proline in water stress and salt-stressed plants. In: M. Pessarkli (Ed.), Handbook of Plant and Crop Stress. Marcel Dekker Pub. New York p. 363-481.

Hikino, H., and Kiso, Y. 1984. Antihepatoxic action of flavono lignans from *Silybum mariamum* fruits, Planta Medica 4: 248-250.

Hong, Z., Lakkineni, K., Zhang, Z., and Verma, D.S. 2000. Removal of feedback inhibition of 1-pyrrolin-5-carboxylate synthetas resalts in increased prolin accumulation and prodaction of plant from osmotic stress .Plant Physiolology 122: 1129-1136.

James, B., Rodel, D., Lorettu, U., Reynaldo, E., and Tariq, H. 2008. Effect of *Vesicular arboscular* mycorrhiza (VAM) fungi inoculation on coppicing ability and drought resistance of Senna Spectabilis. Pakistan Journal of Botany 40(5): 2217-2224.

Kader, M.A. 2002. Effects of *Azotobacter* inoculant on the yield and nitrogen uptake by wheat. Journal of Biological Sciences 2: 259-261.

Kapoor, R., Chaudhary, V., and Bhatnagar, A.K. 2007. Effects of arbuscular mycorhiza and phosphorus application on artemisinin concenteration in *Artemisia annua* L. Mycoriza 17: 581-587.

Kapoor, R., Giri, B., and Mukerji, K.G. 2004. Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare* Mill. On mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. Bioresource Technology 93: 307-311.

Kapoor, R., Giri, B., and Mukerji, K.G. 2002. Mycorrhization of coriander (*Coriandrum sativum* L.) to enhance the concentration and quality of essential oil. Jornal of Science Food and Agriculture 82(4): 339-342.

Kartikeyan, B.C., Abdul Jaleel, G.M., Lakshmanan, A., and Deiveekasundaram, M. 2008. Studies on rhizosphere microbial diversity of some commercially important medicinal plants. Colloids and Surfaces B: Bionterfaces 62: 143-145.

Khalvati, M.A., Mzafar, A., and Schmidhalter, U. 2005. Quantification of water uptake by arbuscular mycorrhizal hypha and its signification for leaf growth, water relations and gas exchange of barley subjected to drought stress. Plant Biology (Stuttgart) 7(6): 706-712.

Kumar, B., Trivedi, P., and Pandey, A. 2007. *Pseudomonas corrugates*: A suitable bacterial inoculants for maize grown under rain fed conditions of Himalayan region. Soil Biology and Biochemistry 39: 3093-3100.

Kumar, S., Pandey, P., and Maheshwari, D.K. 2009. Reduction in dose of chemical fertilizers and growth enhancement of sesame (*Sesamum indicum* L.) with application of rhizospheric competent *Pseudomonas aeruginosa* LES4. European Journal of Soil Biology 45: 334-340.

Kumutha, K., Sempaualan, J., and Krishnan, P.S. 2004. Effect of insoluble phosphate and dual inoculation on soybean. In: S. Kannaryan, K. Kumar, K. Gouidarajan, (eds.), Biofertilizer p. 354-358.

Lal, P., Chhipa, B.R., and Kumar, A. 1993. Salt Affected Soil and Crop Production: A Modern Synthesis. Agro Botanical Publishers, India.

Leinhose, V., and Bergman, H. 1995. Changes in the yield lignin content and protein pattern of barley induced by drought stress. Angewandte-Botanik 69: 206-210.

Leithy, S., El-Meseiry, T.A., and Abdallah, E.F. 2006. Effect of biofertilizers, cell stabilizer and irrigation regime on rosemary herbage oil yield and quality. Journal of Appllied Research 2: 773-779.

Mahfouz, S.A., and Sharaf-Eldin, A. 2007. Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield, and essential oil content of fennel *(Foeniculum vulgare* Mill.). Agrophysics Journal 21: 361-366.

Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press. Ltd, London.

Mehnaz, S., and Lazarovits, G. 2006. Inoculation effects of *Pseudomonas putida*, *Gluconacetobacter azotocaptans*, and *Azospirillum lipoferum* on corn plant growth under greenhouse conditions. Microbiology and Ecology 51: 326-335.

Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidatnt and stress tolerance. Annual Review of Plant Science 7: 405-415.

Mohammadkhani, N., and Heidari, R. 2007. Effects of water stress on respiration, photosynthetic pigments and water

content in tow Maize cultivar. Pakistan Journal of Biology Science 10(22): 4022-4028.

Mohanty, N. 2003. Photosynthetic characteristics and enzymatic antioxidant capacity of flag leaf and the grain yield in two cultivars of *Triticum aestivum* L. exposed to warmer growth conditions. Journal of Plant Physiology 160: 71-74.

Moradi, R., Rezvanimoghadam, P., Nassiri Mahallati, M., and Lakzian, A. 2010. The effect of application of organic and biological fertilizers on yield, yield components and essential oil of *Foeniculum vulgare* (Fennel). Iranian Journal of Field Crops Research 7: 625-637. (In Persian with English Summary)

Munns, R. 1993. Physiological process limiting plant growth in saline soil: some dogmas and hypotheses. Plant, Cell and Environment 16: 15-24.

Omidbaygi, R. 2006. Approaches Processing Medicinal Plants. Vol. 1, Astan Ghods Razavi Publisher, Mashhad, Iran. (In Persian)

Omidbaygi, R., and Nobakht, A. 2001. Nitrogen fertilizer affecting growth, seed yield and active substances of Milk thistle. Pakistan Journal of Biological Science 4: 1345-1349.

Omidi, H. 2010. Changes of proline content and activity of antioxidative enzymes in two canola genotype under drought stress. American Journal of Plant Physiology 5(6): 338-349.

Orhan, E., Esitken, A., Ercisli, S., Turan, M., and Sahin, F. 2006. Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contents in organically growing raspberry. Scientia Horticulturae 111: 38-43.

Pallai, R. 2005. Effect of plant growth-promoting rhizobacteria on canola (*Brassica napus* L.) and lentil (*Lens culinaris* Medik.) plants. MSc thesis, University of Saskatchewan, Saskaton.

Paradi, I., Bratek, Z., and Lang, F. 2003. Influence of arbuscular mycorrhiza and phosphorus supply on polymine content, growth and photosynthesis of Plantago anceolata. Biologia Plantarum 46: 563-569.

Parvaiz, A., and Satyawati, S. 2008. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants. Plant, Soil and Environment 54: 89-99.

Patten, C.L., and Glick, B.R. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indole acetic acid in development of the host plant root system. Applied Environmental Microbiology 68: 3795-3801.

Pirlak, L., and Kose, M. 2009. Effects of plant growth promoting rhizobacteria on yield and some fruit properties of strawberry. Journal of Plant Nutrition 32: 1173-1184.

Piromyou, P., Buranabanyat, B., Tantasawat, P., Tittabutr, P., Boonkerd, N., and Teaumroong, N. 2011. Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) inoculation on microbial community structure in rhizosphere of forage corn cultivated in Thailand. European Journal of Soil Biolology 47: 44-54.

Qavami, N., Labbafi, M.R., Dehghani-Meshkani, M.R., and Mehrafarin, A. 2013. Determination of seed and oil yield and yield Components in two variety of milk thistle (*Silybum marianum* Gaetrn.) based on path analysis and regression. Medicinal Plants 11(44): 78-85.

Rajendran, K., and Devarj, P. 2004. Biomass and nutrient distribution and their return of *Casuarina equisetifolia* inoculated with biofertilizers in farm land. Biomas and Bioenergy 26: 235-249.

Ratti, N., Kumar, S., Verma, H.N., and Gautam, S.P. 2001. Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to *Cymbopogon martini* var. motia by rhizobecteria, AMF and *Azospirillum* inoculation. Microbiology Research 156: 145-149.

Reddy, A.R., Chaitanya, K.V., and Vivekanandan, M. 2004. Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Journal of Plant Physiology 161: 1189-1202.

Ribaudo, C.M., Rondanini, D.P., Cura, J.A., and Fraschina, A.A. 2001. Response of *Zea mays* to the onoculation with Azospirillum on nitrogen metabolism under greenhouse conditions. Journal of Plant Biolology 44: 631-634.

Rivera-Cruz, M.C., Narca, A.T., Ballona, G.C., Kohler, J., Caravaca, F., and Rold, A. 2008. Poultry manure and banana wastes are effective biofertilizer carriers for promoting plant growth and soil sustainability in banana crops. Soil Biology and Biochemistry 40: 3092 3095.

Rhodes, D., and Hanson, A.D. 1993. Quatenary ammonium and tertiary solfonium compounds in higher plants. Plant Physiology 44: 357-384.

Ruiz-Lozano, J.M. 2003. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic strees, new perspectives for molecular studies. Mycorrhiza 13: 309-17.

Sahin, F., Cakmakci, R., and Kantar, F. 2004. Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N_2-fixing and phosphate solubilizing bacteria. Plant and Soil 265: 123-129.

Sairam, R.K., and Saxena, D.C. 2000. Oxidative stress and antioxidant in wheat genotypes: possible mechanism of

water stress tolerance. Journal of Agronomy and Crop Science 184: 55-61.
Sanchez, G.E., Carballo, G.C., and Romos, G.S.R. 2008. Influence of organic manures and biofertilizers on the quality of two plantaginaceae: *Plantago major* L. and *P. lanceolota* L. Revista cubana de plants. Medicinales 13: 12-15.
Sangwan, N.S., Farooqi, A.H.A., Shabih, F., and Sangwan, R.S. 2001. Regulation of essential oil production in plants. Plant Growth Regulation 34: 3-21.
SAS Institute. 2013. The SAS system for Windows. Release 9.2. SAS Institute. Cary, NC.
Shaalan, M.N. 2005. Effect of compost and different sources of biofertilizers, on borage plants (*Borago officinalis*). Egyptian Journal of Agricultural Research 83: 271-284.
Shaharoona, B., Arshad, M., Zahir, A., and Azeem, K. 2006. Performance of maize (*Zea mays* L.) in the presence of nitrogenous fertilizer. Soil Biology and Biochemistry 38: 2971-2975.
Singh, J.S., Pandey, V.C., and Singh, D.P. 2011. Efficient soil microorganisms: a new dimension for sustainable agriculture and environmental development. Agricultural Ecosystem and Environment 140: 339-353.
Solinas, V., and Deiana, S. 1996. Effect of water and nutritional conditions on the *Rosmarinus officinalis* L. phenolic fraction and essential oil yields. Rivista Italiana Eppos 19: 189-198.
Song, H. 2005. Effects of VAM on host plant in the condition of drought stress and its Mechanisms. Electronic Journal of Biology 1(3): 44-48.
Sreevalli, Y., Baskaran, K., Chandrashekara, R., kuikkarni, R., SuShil Hasan, S., Samresh, D., Kukre, J., Ashok, A., Sharmar Singh, K., Srikant, S., and Rakesh, T. 2001. Preliminary observations on the effect of irrigation frequency and genotypes on yield and alkaloid concentration in petriwinkle. Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences 22: 356-358.
Tahami, M.K. 2010. Study of biological fertilizer effects on yield and yield components and essential oil of *Ocimum bacilicum.* MSc thesis in Agroecology. Ferdowsi University of Mashhad, Iran. (In Persian with English Summary)
Turkan, I., Bor, M., Ozdemir, F., and Koca, H. 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidant in the leaves of drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyetylen glycol mediated water stress. Plant Science 168: 223-231.
Van Loon, L.C., Bakker, P., and Pieterse, C.M.J. 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. Annual Review of Phytopathology 36: 453-483.
Van Loon, L.C., and Glick, B.R. 2004. Increased Plant Fitness By Rhizobacteria. In: H. Sandermann (ed.). Molecular Ecotoxicology of Plants. Ecological Suites. Springer-Verlag, Berlin p. 178-205.
Van Rensburg, L., Kruger, C.H., and Kruger, H. 1993. Proline accumulation as drought tolerance selection criterion: its relationship to member integrity and chloroplast ultra structure in *Nicotiana tobacum* L. Journal of Plant Physiology 141: 188-194.
Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer. Plant and Soil 255: 571-586.
Walsh, U.F., Morrissey, J.P., and O'Gara, F. 2001. *Pseudomonas* for biocontrol of phytopathogens: from functional genomics to commercial exploitation. Curent Opinion in Biotechnology 12: 289-295.
Yadegari, M., Asadirahmani, H., Noormohammadi, G., and Ayneband, A. 2010. Plant growth promoting rhizobacteria increase growth, yield and nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris*. Journal of Plant Nutrition 33: 1733-1743.
Zahir, A.Z., Arshad, M., and Frankenberger, W.F. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria. Advanced in Agronomy 81: 97-168.

Journal of Agroecology
Vol. 9, No. 1, Spring 2017, p. 31-49

نشریه بوم شناسی کشاورزی
جلد ۹، شماره ۱، بهار ۱۳۹۶، ص. ۴۹-۳۱

Effects of Drought Stress and Bio-fertilizer Inoculation on Quantitative and Qualitative Characteristics of Marian Thistle (*Silybum marianum* L.)

R. Mohammadpour Vashvaei[10*], M. Ramroudi[2] and B.A. Fakheri[3]

Submitted: 24-02-2014
Accepted: 28-06-2014

Mohammadpour Vashvaei, R., Ramroudi, M., and Fakheri, B.A. 2017. Effects of drought stress and bio-fertilizer inoculation on quantitative and qualitative characteristics of Marian thistle (*Silybum marianum* L.). Journal of Agroecology 9(1): 31-49.

Introduction

Marian thistle (Silybum marianum L.) is a medicinal, herbaceous and annuals plant belongs to the Asteraceae family which is used to treat liver disease. The essential oil of Marian thistle seeds is the type of flavonolignans (phenols family) that forms 1.5 to 3% of its seeds weight. The important flavonoids found in the seeds of this plant are silybin, silychristin and silydianin is known as silymarin compounds, that is yellow. Increasing the desired compounds of medicinal plants is possible by cultivation techniques manipulation such as irrigation, fertilization or photo-bioreactor systems. Water deficient is the most important factors limiting the growth and yield of medicinal crops, especially in arid and semi-arid regions. Bio-fertilizers as an alternative in some cases and in most cases as a complement to chemical fertilizers can help to ensure the sustainability of agricultural production systems. Han et al. (2006) in the study of the effect of phosphate solubilizing bacteria (PSB), Bacillus megaterium var. phosphaticum and potassium solubilizing bacteria (KSB), Bacillus mucilaginosus in nutrient limited soil planted with pepper and cucumber stated that Rock P and K applied either singly or in combination did not significantly enhance soil availability of P and K. PSB was a more potent P-solubilizer than KSB, and co-inoculation of PSB and KSB resulted in consistently higher P and K availability than in the control. Rock P with inoculation of PSB increased the availability of P and K, the uptake of N, P and K by shoots and roots, and the growth of both pepper and cucumber. Similar but less pronounced results were obtained when rock K and KSB were added concomitantly. Combined together, rock materials and both bacterial strains consistently increased further mineral availability, uptake and plant growth, suggesting their potential use as fertilizer. The present study was designed to evaluate the effect of bio-fertilizers inoculation and drought stress on quantitative and qualitative characteristics of Marian thistle.

Materials and methods

This experiment was conducted in a split plot based on randomized complete block design with three replications, at the Research Farm of Zabol University, during growing season of 2012 and 2013. Main plots consisted of irrigation with 50, 70 and 90% field capacity and subplots including plant nutrition with nitroxin, supernitroplus, rich phosphate II, mycorrhiza and non-use of bio-fertilizer. Plant traits such as seed yield (kg.ha-1), the number of capitols per plant, the number of seeds per capitol, 1000-seed weight (g.plant^{-1}), essential oil percentage, plant organic matter percentage, proline percentage and protein percentage of Marian thistle were measured. For statistical analysis, analysis of variance (ANOVA), Duncan's multiple range test (DMRT) and simple correlation analysis were performed using SAS version 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

Results and discussion

In this experiment, the effects of drought stress, bio-fertilizer and their interactions on all studied traits were significant at the 1% probability level. The highest grain yield (1300.00 kg), the number of capitols per plant (12.00 no.), 1000-seed weight (23.27g), plant organic matter percentage (95.00%) and protein percentage (17.19%) belong to treatment of irrigation with 90% field capacity and nitroxin bio-fertilizer. The maximum number of seeds per capitol (87.67) were obtained by irrigation with 90% field capacity and mycorrhiza bio-fertilizer. Irrigation with 70 and 90% field capacity and nitroxin bio-fertilizer application were explained the maximum and minimum of essential oil percentage (3.72%) and proline percentage (0.04%), respectively. The number of capitols per plant was the most important component in determining grain yield. The use of bio-fertilizers damped the effect of drought stress and improved qualitative and quantitative characteristics of Marian

10, 2 and 3- PhD student of Agroecology, Associate Professor, Department of Agronomy and Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Iran, respectively.
(*- Corresponding author Email: ro_mohammadpour@yahoo.com)

thistle.

Conclusion

Inoculation with nitroxin bio-fertilizer compared to the others could further amend drought stress and improved the quantitative and qualitative characteristics of Marian thistle. Thus, it appears that in order to achieve sustainable agriculture instead of chemical fertilizers is recommended.

Keywords: Bio-fertilizer, Dehydration stress, Medicinal plant, Milk thistle